
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA

TESIS DE DOCTORADO



**DISEÑO RACIONAL DE ANTIOXIDANTES MULTIFUNCIONALES:
DERIVANDO NATURALEZA Y LABORATORIO**

Tesis que presenta

M.C. Eduardo Gabriel Guzmán-López

*para obtener el grado de
Doctor en Ciencias (Química)*

Grupo de Química Teórica y Aplicada (QTA-UAMI)

Departamento de Química

Ciudad de México, 2026

Autor:

M.C. Eduardo Gabriel Guzmán-López

Tutora:

Dra. Annia Galano Jiménez

Resumen

Se presenta el protocolo CADMA-Chem (*Computer-Assisted Design of Multifunctional Antioxidants based on CHEMical properties*), una metodología computacional para el diseño racional de antioxidantes multifuncionales con potencial neuroprotector. El protocolo fue desarrollado, optimizado y parcialmente validado a lo largo de este trabajo doctoral aplicándolo a la generación de candidatos basados en siete andamios estructurales: edaravona, melatonina, ácido ferúlico, ácido *p*-cumárico, chalcona, rasagilina y quinolina.

El protocolo evalúa cinco dimensiones de multifuncionalidad. I) La primera dimensión trata sobre el perfil farmacocinético de los candidatos: a) intersección de reglas farmacocinéticas: Lipinski, Ghose, Veber, REOS, Egan y Kelder; b) descriptores QSAR de toxicidad: LD₅₀, mutagenicidad, toxicidad al desarrollo, factor de bioacumulación; y c) estimación de la accesibilidad sintética. II) La segunda dimensión aborda la estimación termodinámica y cinética en la depuración de radicales libres, conocida como capacidad antioxidante de tipo I o AOX-I, aplicando el protocolo QM-ORSA (*quantum mechanics-based test for overall free radical scavenging activity*). III) La tercera dimensión evalúa la capacidad antioxidante de tipo II, AOX-II, que contempla la estimación de las constantes cinéticas para la inhibición de la producción de radical hidroxilo mediante quelación de metales redox y ciclos tipo Fenton. IV) La cuarta dimensión de la multifuncionalidad es la capacidad antioxidante de tipo III (AOX-III), y le concierne la posible reparación química de biomoléculas oxidadas: lípidos, residuos de aminoácidos y 2'-desoxiguanosina. V) Finalmente, la quinta dimensión, quizá la más ambiciosa, es la neuroprotección multidiana: afinidad simultánea por catecol-O-metiltransferasa (COMT), monoaminoxidasa B (MAO-B) y acetilcolinesterasa (AChE), cuantificada mediante acoplamiento molecular y, en casos seleccionados, validada con simulaciones de dinámica molecular.

Todas las dimensiones se integran a través de tres índices o puntajes. El primero, S^S , es el puntaje de selección, que toma en cuenta las propiedades fisicoquímicas, toxicológicas y la viabilidad de síntesis de cada candidato. Este puntaje de selección sirve para comparar candidatos contra fármacos orales que se usan para las enfermedades neurodegenerativas; es decir, el puntaje de selección evalúa si un candidato tiene propiedades semejantes a las de los fármacos (*drug-like*). El segundo puntaje, S^E , es el puntaje de eliminación y se interpreta como una desviación estándar que permite identificar valores fuera de rango en cada propiedad, valores que los promedios S^S pudieran ocultar. Por último, el tercer puntaje intenta capturar la actividad neuroprotectora multidiana, puntaje multidiana S^P , y se calcula a partir de las energías de unión pesadas por las fracciones molares ácido-base a pH 7.4.

La aplicación del protocolo a los siete sistemas produjo una biblioteca de más de 20 000 derivados. Tras el filtrado quedaron 89 candidatos, de los cuales 15 fueron propuestos para síntesis y tres han sido sintetizados a la fecha de presentación de esta tesis.

«Let us learn to dream, gentlemen; then perhaps we shall find the truth... but let us beware of publishing our dreams till they have been tested by the waking understanding.»

August Kekulé

Discurso ante la Sociedad Química Alemana, 15 enero 1890

«Si alguna vez decido abandonar este lugar seguro y tranquilo, será solo porque quisiera conocer el corazón del mundo.»

J. R. R. Tolkien

El Hobbit, cap. 1 (1937)

«Si te sientes pequeño, sube una montaña y verás lo grande que eres; si te empiezas a sentir demasiado grande, sube una montaña y verás lo pequeño que eres.»

Eduardo Gabriel Guzmán-López

Aventuras en el Iztaccíhuatl (2019)

«¿Regresar? ¡No sirve de nada! ¿Ir de lado? ¡Imposible! ¿Avanzar? ¡Lo único que queda! ¡Sigamos!»

Bilbo Bolsón

El Hobbit, cap. 10 (1937)

«You are here to learn the subtle science and exact art of potion-making. As there is little foolish wand-waving here, many of you will hardly believe this is magic. I don't expect you will really understand the beauty of the softly simmering cauldron with its shimmering fumes, the delicate power of liquids that creep through human veins, bewitching the mind, ensnaring the senses. . . I can teach you how to bottle fame, brew glory, even stopper death — if you aren't as big a bunch of dunderheads as I usually have to teach.»

Profesor Severus Snape

Harry Potter and the Philosopher's Stone, cap. 8 (1997)

«¡Nunca te rías de dragones vivos!»

Bilbo Bolsón, frente a Smaug

El Hobbit, cap. 12 (1937)

Agradecimientos

A mi asesora, la Dra. Annia Galano: ¿cómo agradecerle tanto en tan poco espacio? Para empezar, gracias por aceptarme como su estudiante; por su infinita paciencia, su calidez y su amistad; por la poesía, las ideas, las pláticas y las risas; por su confianza y su apoyo incondicional. *¡Gracias, de corazón, por todo y por tanto!*

A mis sinodales, los doctores Rodolfo Esquivel, Fernando Cortés, Luis Bahena, Marcelo Galván y Joel Ireta, por dedicar su tiempo a leer este trabajo y por sus valiosas observaciones, que contribuyeron a mejorar su calidad.

A CONAHCYT, por la beca núm. 762905 y por el respaldo al proyecto de ciencia básica CBF2023-2024-1141.

A los profesores de la UAM, de quienes aprendí casi todo: gracias por su cercanía y por la motivación que siempre me brindaron. Fue una experiencia maravillosa conocerlos y escucharlos en sus clases: Margarita Viniegra, Nancy Coromoto, Patricia Villamil, Annik Vivier, Rubicelia Vargas, Rafael Zubillaga, Jorge Garza, Marcelo Galván, José Luis Córdova, Annia Galano, Alberto Rojas, María Teresa Ramírez, José Alejandro, Rodolfo Esquivel, Robin Sagar, Fernando Rojas, Marcos Esparza, Ana María Soto y Miguel Ángel García. Ciertamente, ustedes hicieron fascinante y divertida esta aventura.

A la Dra. Patricia Villamil y a la memoria de la Dra. Annik Vivier, mis primeras maestras en la UAM Iztapalapa, quienes me guiaron por el buen camino de la química. Al Dr. Rodolfo Esquivel, por su amistad y sus ideas: aquella primera llamada por Skype, en mi tercer trimestre de licenciatura, hablando sobre química cuántica y teoría de la información, lo cambió todo. Al “*súper doctor*”, Dr. José Luis del Río Correa, con todo mi cariño y respeto; en sus cursos me enamoré de la ciencia. Al Dr. Raúl Idaboy, por las palabras de confianza que ha compartido conmigo y por su visión sincera de la ciencia.

A Luis Felipe H. Ayala, Miguel Reina y Antonio Reina: gracias por su apoyo y paciencia. Valoro mucho su amistad y admiro su trabajo científico.

A todo el grupo QTA-UAMI: trabajar con ustedes ha sido apasionante.

A mi *alma máter*, la UAM-I, por ser mi segundo hogar y concederme el honor de cursar licenciatura, maestría y doctorado. *¿Sería mucho pedir que ahora me den trabajo?* 🤔, 😂

A mis amigos entrañables —Tona, Madrid, Dany (Elena), Omar, Chuletas, Miau, Papepipopu e Iván Jar Jar Binks—, con quienes he compartido sueños, aventuras, cervezas y risas; ojalá seamos amigos toda la vida. A Samanta y Mirzam, gracias por la motivación para escribir este trabajo y por las risas en el camino.

A Omar, otra vez: gracias por ser un amigo tan leal y por todas las pláticas; eres un ser humano excepcional y me siento muy afortunado de tenerte como amigo.

A Edgar, Hilario y Silvia: son químicos muy talentosos y agradezco su amistad. La Facultad de Química es un lugar más divertido cuando podemos sentarnos a platicar.

A mi familia: sin ustedes no habría llegado hasta aquí. Todo mi esfuerzo es para ustedes, y en especial para ti, mamá. Emilia, madre, eres la persona más importante en mi vida; me lo has dado todo y no tengo palabras suficientes para agradecértelo. A mis hermanos, René y César, gracias por su cariño y por creer siempre en mí. Jerry, tú eres el mejor y nunca podré agradecerte lo suficiente por tu nobleza, por tu apoyo y por ser mi mejor amigo; es un privilegio tener un hermano tan inteligente y talentoso como tú.

Eduardo Gabriel Guzmán-López

Índice general

Resumen	i
Agradecimientos	v
Índice general	x
Índice de figuras	xiv
Índice de tablas	xvi
Abreviaturas	1
Introducción	7
Evolución histórica de CADMA-Chem	9
Hipótesis	11
Objetivo General	11
Objetivos específicos	11
Metodología	13
Generación de la biblioteca de derivados	13
Filtrado del espacio químico	13
Análisis de diversidad molecular	14
Farmacóforo de consenso	14
Búsqueda conformacional y equilibrio tautomérico	14
Cálculos de estructura electrónica	15
Especiación ácido-base a pH fisiológico	15
Descriptores de reactividad	16
Evaluación de la capacidad antioxidante	16
Depuración de radicales libres (AOX-I)	16
Inhibición de la producción de $\cdot\text{OH}$ mediada por metales (AOX-II)	17
Reparación de biomoléculas oxidadas (AOX-III)	17
Evaluación de la interacción con dianas terapéuticas	18
Selección de dianas y ligandos de referencia	18
Preparación de las proteínas	19
Preparación de los ligandos	19
Validación del protocolo de acoplamiento	19
Acoplamiento molecular	20
Análisis de interacciones	20
Dinámica molecular	20
Resultados	
1 CADMA-Chem	23

1.1	Espacio de candidatos	24
1.2	Farmacóforo de consenso	24
1.3	Conjunto de referencia de neuroprotectores (<i>RefSet</i>)	27
1.4	Intervalos fisicoquímicos CADMA-Chem	29
1.5	Puntajes de selección y criterios de eliminación	30
1.5.1	Índice de selección S^S	31
1.5.2	Criterios de advertencia	32
1.5.3	Apagadores de eliminación	34
1.6	Diagramas eH-DAMA	37
1.7	Multifuncionalidad antioxidante	38
1.8	Índices de evaluación multidiana	39
1.8.1	Puntaje poligénico S^P	39
1.8.2	Índices basados en dinámica molecular	40
1.9	Herramientas de implementación	41
2	Melatonina	43
2.1	Melatonina: la molécula reguladora como andamio de diseño	43
2.1.1	Multifuncionalidad antioxidante y neuroprotectora	43
2.1.2	Relevancia en trastornos neurodegenerativos	45
2.2	Derivados de Melatonina	47
2.3	Especiación ácido-base	47
2.4	Análisis de reactividad química y mapas eH-DAMA	48
2.5	El caso del derivado dM-38	52
2.5.1	Cinética de depuración de radicales libres (AOX-I)	53
2.5.2	Capacidad antioxidante de tipo II: Mecanismo de quelación y comportamiento OIL	53
	Termodinámica de quelación y efecto del pH	53
	Comportamiento OIL-1: Inhibición del ciclo de Haber-Weiss	54
2.5.3	Capacidad antioxidante de tipo III: Reparación de biomoléculas dañadas	55
	Restauración de lípidos y proteínas	55
	Reparación de lesiones en el ADN y el mecanismo TSAHD	56
	Compendio de datos de reparación de biomoléculas	56
2.6	Interacción con dianas enzimáticas	58
3	Edaravona	63
3.1	Edaravona: la molécula antioxidante	63
3.2	Aspectos químicos y estrategia de síntesis	64
3.3	Aspectos clínicos	64
3.4	Relación estructura–actividad y estrategias de modificación de edaravona	65
3.5	Estrategias de modificación y resultados obtenidos	66
3.6	Conclusiones	71
4	Ácido Ferúlico	73
4.1	El marco estructural del ácido ferúlico	73
4.2	Construcción y filtrado de la biblioteca	75
4.3	Especiación ácido-base	78
4.4	Reactividad química y capacidad antioxidante	79
4.5	Actividad neuroprotectora	80
4.6	Conclusiones	82
5	Ácido <i>p</i>-Cumárico	85
5.1	El marco estructural del ácido <i>p</i> -cumárico	85

5.2	Construcción y filtrado de la biblioteca	85
5.3	Especiación ácido-base	88
5.4	Reactividad química y mapas eH-DAMA	89
5.5	Actividad neuroprotectora: inhibición de COMT	91
5.5.1	Conclusiones sobre ácido <i>p</i> -cumárico	94
6	Chalcona	97
6.1	El marco estructural de la chalcona	97
6.2	Construcción y filtrado de la biblioteca	99
6.3	Especiación ácido-base	102
6.4	Reactividad química y capacidad antioxidante	103
6.5	Actividad neuroprotectora	104
6.5.1	Inhibición de COMT	105
6.5.2	Inhibición de MAO-B	106
6.5.3	Inhibición de AChE	107
6.6	Candidatos finales y relaciones estructura-actividad	108
6.7	Conclusiones	109
7	Rasagilina	111
7.1	El marco estructural de la rasagilina	111
7.2	Construcción y filtrado de la biblioteca	112
7.3	Especiación ácido-base	115
7.4	Reactividad química y capacidad antioxidante	117
7.5	Candidatos finales y relaciones estructura-actividad	118
7.6	Conclusiones	119
8	Quinolina	123
8.1	El marco estructural de la quinolina	123
8.2	Construcción y filtrado de la biblioteca	124
8.3	Especiación ácido-base	127
8.4	Reactividad química y capacidad antioxidante	128
8.5	Actividad neuroprotectora	129
8.6	Validación por dinámica molecular	130
8.6.1	Diseño del estudio	130
8.6.2	Estabilidad global de AChE y flexibilidad del sitio de unión	131
8.6.3	Referencias internas: ACh, dQ1 y donepezilo	132
8.6.4	Derivados neutros de quinolina	132
8.6.5	Especies aniónicas y efecto de la protonación	133
8.6.6	Relación entre acoplamiento molecular y MM/GBSA	134
8.6.7	Rutas retrosintéticas	134
8.7	Candidatos finales y relaciones estructura-actividad	135
8.8	Conclusiones	136
	Conclusiones	139
	Perspectivas	143
	Bibliografía	145
A	Criterios adicionales de diseño	151
A.1	Función química de los sustituyentes considerados	151
A.2	Sustituciones bioisostéricas	152

A.3	Puntos farmacofóricos y criterio de conteo	152
B	Química computacional	153
B.1	Mecánica cuántica	154
B.2	Principios jerárquicos de la mecánica cuántica	154
B.2.1	Indistinguibilidad	154
B.2.2	Simetría	155
B.2.3	Principio de Pauli	155
B.3	Métodos de función de onda	155
B.3.1	Método de Hartree-Fock	155
B.3.2	Métodos post-HF	158
B.3.3	Teoría del propagador del electrón	158
	Formulación EPT	158
	Aproximación P3	159
B.4	Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT)	159
B.5	Optimización de geometría, conformeros y tautómeros	160
B.5.1	El factor de boltzmann	161
B.6	Métodos de solvente	161
B.6.1	Modelos de solvente continuo	162
B.6.2	El modelo SMD	162
B.7	Descriptor de reactividad: IE, EA y BDE	163
B.8	Diagramas eH-DAMA	165
B.8.1	Conexión exacta entre eH-DAMA y la termodinámica de SET y <i>f</i> -HAT	166
B.9	Estimación de constantes de acidez (pKa)	166
C	Reconocimiento molecular: detalles complementarios	169
C.1	Construcción del farmacóforo de consenso	169
C.2	Alcance del acoplamiento molecular	170
C.3	Archivos .mdp de referencia	170
C.4	Descriptor estático de similitud de interacciones	172
D	Capacidad antioxidante	175
D.1	AOX-I: Depuración de radicales libres usando QM-ORSA	175
D.1.1	Detalles de la implementación de la barrera de Eckart.	177
D.2	AOX-II: Inhibición de la producción ·OH mediada por metales (OIL: ·OH-inactivating ligand)	179
D.2.1	Acomplejamiento de metales con equilibrios ácido–base.	179
D.2.2	OIL-1: desplazamiento redox e inhibición de reacciones tipo Fenton.	179
D.2.3	OIL-2: neutralización inmediata de ·OH en el entorno del complejo.	180
D.3	AOX-III: Reparación química de lípidos, proteínas y ADN	181
D.3.1	Ejemplo de mecanismos de reparación	182
	Transferencia secuencial de átomos de hidrógeno seguida de deshidratación (TSAHD) en 8-OH-dG	182
E	GUI para CADMapy y Código Fuente	183
E.1	Documentación	183
E.2	Fragmentos representativos de CADMA.py	196
F	Scripts para tratamiento de estructuras	203
F.1	Scripts para búsqueda conformacional	203
F.2	Scripts para PyMOL	205

Índice de figuras

1.1	Esquema general del protocolo <i>CADMA-Chem</i> , primera parte.	25
1.2	Esquema general del protocolo <i>CADMA-Chem</i> , continuación.	26
1.3	Intervalos para las propiedades fisicoquímicas considerados adecuados durante el filtrado de candidatos. Las zonas en rojo corresponden a violaciones que activan criterios de advertencia.	34
1.4	Mapa de capacidad de donación de electrones e hidrógeno para antioxidantes (eH-DAMA).	38
1.5	Interfaz principal de CADMApy (izquierda) y sección para el cálculo de puntuaciones de selección (derecha). Disponible en agalano.com/research/apps/desktop-apps	41
1.6	Aplicación EasyRate 2.0, desarrollada para estimar constantes de velocidad según el protocolo QM-ORSA. Disponible en agalano.com/research/apps/desktop-apps	42
2.1	Multifuncionalidad de la melatonina. Se muestran algunos de los procesos biológicos en los que se ha demostrado que está relacionada, incluyendo funciones como antioxidante, antiinflamatorio y neuroprotector.	44
2.2	Esquema de protección antioxidante (AOC) colectiva ejercida por la melatonina y sus metabolitos. Se incluyen c3OHM (3-hidroximelatonina cíclica), 6OHM (6-hidroximelatonina), 4OHM (4-hidroximelatonina), AFMK (N ₁ -acetil-N ₂ -formil-5-metoxiquinuramina) y NAS (N-acetil serotonina).	45
2.3	Principales factores que contribuyen a la naturaleza multifactorial de los trastornos neurodegenerativos, derivando en disfunción y muerte neuronal.	46
2.4	Melatonina y compuestos naturales relacionados (precursores y metabolitos). AFMK, AMK, c3OHM, 6OHM y 4OHM participan en rutas enzimáticas o en reacciones de detoxificación de radicales.	46
2.5	Sitios de sustitución en la melatonina (R ₁ , R ₂ , R ₃ , R ₄) y sitios considerados para el cálculo de entalpía de disociación de enlace (BDE) (a, b, c, d).	47
2.6	Distribución del S^S para los 116 derivados de melatonina. La línea roja marca el promedio de los fármacos neuroprotectores en un valor de $S^S = 3.0$. La línea verde, indica el puntaje de selección de la melatonina $S^S = 3.75$	48
2.7	Estructura y puntaje de selección de los veinte derivados de melatonina mejor evaluados. En color azul se destacan los candidatos con el mejor perfil como antioxidantes químicos.	49
2.8	Mapa eH-DAMA para los derivados de melatonina, melatonina y Trolox frente al par oxidante $H_2O_2/O_2^{\bullet-}$	52
3.1	Estructura química de la edaravona.	63
3.2	Mecanismo propuesto de depuración radicalaria de la edaravona, incluyendo la formación del radical de edaravona, su oxidación por oxígeno molecular y la generación del producto OPB. Adaptado de Yamamoto <i>et al.</i> (1997).	65
3.3	Sitios de sustitución considerados en la molécula de edaravona y grupos funcionales explorados.	66
3.4	Distribución del S^S para los 164 derivados de edaravona (EDA). La línea roja marca el promedio de los fármacos neuroprotectores, $S^S = 3.0$. La línea verde indica el puntaje de selección de la edaravona, $S^S = 3.994$	67
3.5	Estructura y puntaje de selección de los doce derivados de edaravona mejor evaluados.	68

3.6	Puntajes de eliminación individuales para la edaravona (EDA) y el subconjunto de derivados seleccionados. Las barras apiladas indican la desviación estandarizada de cada propiedad fisicoquímica y toxicológica frente al grupo de control. Contribuciones: AS (accesibilidad sintética), M (mutagenicidad), LD ₅₀ (dosis letal media), M_R (refractividad molar), RB (enlaces rotables), HB ^D (donadores de enlace de hidrógeno), HB ^A (aceptadores de enlace de hidrógeno), X_A (número de átomos pesados), PSA (área de superficie polar), MW (masa molecular) y logP (coeficiente de partición octanol-agua).	69
3.7	Mapa eH-DAMA de potencia electrodonadora, ω^- , frente a BDE para la edaravona (EDA), sus derivados y sus especies ácido-base predominantes. Se indican estados de carga, umbrales de referencia para EDA y el par H ₂ O ₂ /•OOH, así como especies de Trolox usadas como controles.	69
3.8	Mapa eH-DAMA de electrofilicidad, ω , frente a BDE para la edaravona (EDA), sus derivados y sus especies ácido-base predominantes. Se indican estados de carga, umbrales de referencia para EDA y el par H ₂ O ₂ /•OOH, así como especies de Trolox usadas como controles.	70
3.9	Tautómeros predominantes del subconjunto final de candidatos aniónicos de edaravona.	70
4.1	Estructura del FA y sitios de modificación (R ₁ –R ₅). Los sitios <i>a</i> y <i>b</i> corresponden al grupo metoxi y al hidroxilo fenólico, respectivamente.	75
4.2	Distribución del S^S para los 185 derivados del ácido ferúlico. La línea roja marca el promedio del conjunto de referencia de fármacos neuroprotectores, $S^S = 3.0$; la línea verde indica el valor del ácido ferúlico, $S^S = 3.772$. El bloque verde resalta el subconjunto de 12 derivados seleccionados.	76
4.3	Estructura y puntaje de selección de los doce derivados de ácido ferúlico mejor evaluados.	77
4.4	Puntajes de eliminación individuales para ácido ferúlico (FA) y el subconjunto de derivados seleccionados. La altura de las barras apiladas corresponde a la desviación estandarizada de cada propiedad fisicoquímica y toxicológica frente al conjunto de referencia. Contribuciones: AS (accesibilidad sintética), M (mutagenicidad), LD ₅₀ (dosis letal media), M_R (refractividad molar), RB (enlaces rotables), HB ^D (donadores de enlace de hidrógeno), HB ^A (aceptadores de enlace de hidrógeno), X_A (número de átomos pesados), PSA (área de superficie polar), MW (masa molecular) y logP (coeficiente de partición octanol-agua).	78
4.5	Diagrama eH-DAMA para las especies ácido-base predominantes a pH = 7.4 de los derivados de FA seleccionados, el FA, Trolox y α -tocoferol. El par H ₂ O ₂ /O ₂ • ⁻ se muestra como referencia oxidante.	81
4.6	Principales interacciones en los complejos FA-26:ACHe (izquierda), FA-26:MAO-B (centro) y FA-118:COMT (derecha). Las líneas punteadas representan enlaces de hidrógeno convencionales (verde), enlaces C–H no convencionales (cian), interacciones π -stacking (rojo), contactos π -alquilo (magenta) y, cuando aplica, coordinación metal–donador con Mg ²⁺ (gris).	83
5.1	Estructura química del ácido <i>p</i> -cumárico (pCA) y sitios de sustitución R ₁ –R ₆ considerados en este trabajo.	85
5.2	Distribución del S^S para los 156 derivados de pCA. La línea roja marca el promedio del RefSet ($S^S = 3.0$); la línea verde indica el puntaje de selección del pCA ($S^S = 3.77$). El bloque verde resalta el subconjunto de diez derivados seleccionados.	86
5.3	Estructuras y puntajes de selección de los diez derivados de ácido <i>p</i> -cumárico mejor evaluados.	87
5.4	Puntajes de eliminación individuales para ácido <i>p</i> -cumárico (pCA) y el subconjunto de derivados seleccionados. La altura de las barras apiladas cuantifica la desviación estandarizada de cada propiedad fisicoquímica y toxicológica frente al grupo de control. Contribuciones: AS (accesibilidad sintética), M (mutagenicidad), LD ₅₀ (dosis letal media), M_R (refractividad molar), RB (enlaces rotables), HB ^D (donadores de enlace de hidrógeno), HB ^A (aceptadores de enlace de hidrógeno), X_A (número de átomos pesados), PSA (área de superficie polar), MW (masa molecular) y logP (coeficiente de partición octanol-agua).	88
5.5	Mapa eH-DAMA para las especies predominantes a pH = 7.4 de los derivados de pCA, el pCA, Trolox y el par H ₂ O ₂ /•OOH. La región inferior izquierda corresponde a especies con mayor capacidad relativa de donación de electrones y de hidrógeno.	91

5.6	Pose de acoplamiento del derivado pCA-7 en el sitio activo de COMT. El derivado pCA-7 se muestra como varillas con carbonos en magenta. La proteína se representa como cinta translúcida en azul claro. El cofactor S-adenosilmetionina (SAM) y los residuos seleccionados del sitio activo se muestran como varillas con carbonos en cian. El ion Mg^{2+} se representa como esfera verde. Los heteroátomos siguen la convención de color: oxígeno en rojo, nitrógeno en azul, azufre en amarillo e hidrógeno en blanco.	93
6.1	Estructura de la chalcona (CHA) y sitios de sustitución R_1 – R_{12} considerados en este trabajo.	97
6.2	Distribución del S^S para los 568 derivados de chalcona. La línea roja marca el promedio de los fármacos neuroprotectores en un valor de $S^S = 3.0$. La línea verde indica el puntaje de selección de la chalcona, $S^S = 4.371$. El bloque verde resalta el subconjunto de los 23 derivados seleccionados.	99
6.3	Estructura y puntaje de selección de los veintitrés derivados de chalcona mejor evaluados.	100
6.4	Puntajes de eliminación individuales para chalcona (CHA) y el subconjunto de derivados seleccionados. La altura de las barras apiladas cuantifica la desviación estandarizada de cada propiedad fisicoquímica y toxicológica frente al grupo de control. Contribuciones: AS (accesibilidad sintética), M (mutagenicidad), LD_{50} (dosis letal media), M_R (refractividad molar), RB (enlaces rotables), HB^D (donadores de enlace de hidrógeno), HB^A (aceptadores de enlace de hidrógeno), X_A (número de átomos pesados), PSA (área de superficie polar), MW (masa molecular) y logP (coeficiente de partición octanol-agua).	101
6.5	Mapa eH-DAMA de IE frente a BDE para las especies ácido-base relevantes de los derivados de chalcona a pH = 7.4. Se incluyen Trolox, ácido ascórbico y α -tocoferol como antioxidantes de referencia, y el par $H_2O_2/\bullet OOH$ como oxidante.	104
6.6	Complejo dCHA-553:COMT. Las líneas punteadas indican coordinación con Mg^{2+} (gris), enlaces de hidrógeno (verde), interacciones $S-\pi$ y π -alquilo (violeta), y apilamiento $\pi-\pi$ (púrpura).	106
7.1	Estructuras de la rasagilina (R) y sus análogos RI y RII, indicando los sitios de sustitución R_1 – R_4 y los sitios de cálculo de BDE (a–e).	111
7.2	Distribución de S^S para los 361 derivados de rasagilina. La línea roja marca $S^S = 3.0$, promedio del RefSet de fármacos neuroprotectores. La línea verde indica el valor de la rasagilina ($S^S = 2.66$); el bloque verde señala el subconjunto seleccionado para la evaluación de reactividad.	113
7.3	Estructuras de la rasagilina (R), los análogos RI y RII, y los 15 derivados seleccionados, con sus respectivos puntajes de selección S^S	114
7.4	Puntajes de eliminación individuales para rasagilina (RAS) y el subconjunto de derivados seleccionados. La altura de las barras apiladas cuantifica la desviación estandarizada de cada propiedad fisicoquímica y toxicológica frente al RefSet. Contribuciones: AS (accesibilidad sintética), M (mutagenicidad), LD_{50} (dosis letal media), M_R (refractividad molar), RB (enlaces rotables), HB^D (donadores de enlace de hidrógeno), HB^A (aceptadores de enlace de hidrógeno), X_A (número de átomos pesados), PSA (área de superficie polar), MW (masa molecular) y logP (coeficiente de partición octanol-agua).	115
7.5	Mapa eH-DAMA para rasagilina, sus análogos y derivados seleccionados. El eje horizontal corresponde a la BDE y el eje vertical a la electrofilicidad ω . Se muestran las especies protonadas, neutras y aniónicas, junto con antioxidantes de referencia (Trolox, ácido ascórbico y α -tocoferol) y el par oxidante $H_2O_2/\bullet OOH$	117
8.1	Ejemplos de derivados de quinolina con actividad farmacológica diversa.	124
8.2	Estructura de la quinolina (dQ1) y sitios de sustitución R_1 – R_7 considerados en este trabajo.	124
8.3	Estructura y puntaje de selección de los veinticinco derivados de quinolina mejor evaluados.	125
8.4	Puntajes de eliminación individuales para el compuesto de referencia (Q) y el subconjunto de derivados de quinolina seleccionados. Contribuciones: AS (accesibilidad sintética), M (mutagenicidad), LD_{50} (dosis letal media), M_R (refractividad molar), RB (enlaces rotables), HB^D (donadores de enlace de hidrógeno), HB^A (aceptores de enlace de hidrógeno), X_A (número de átomos pesados), PSA (área de superficie polar), MW (masa molecular) y logP (coeficiente de partición octanol-agua).	126
8.5	Mapa eH-DAMA para los derivados de quinolina y sus especies ácido-base relevantes a pH = 7.4. El eje horizontal corresponde al potencial de ionización (IP, mecanismo SET) y el eje vertical a la BDE del enlace O–H o N–H más débil (mecanismo HAT). La zona azul delimita la región de baja BDE y bajo IP simultáneos. Trolox, ácido ascórbico y α -tocoferol se incluyen como referencias.	128

8.6	Mapa de interacciones en dos dimensiones para los complejos del análogo dQ829 con MAO-B (izquierda), AChE (centro) y COMT (derecha). Las enlaces de hidrógeno se representan en color verde, las C-H no convencionales en verde claro, las interacciones metal–donador en gris, las π – π en rosa y púrpura y los efectos estéricos en rojo.	130
8.7	Análisis global de AChE durante las simulaciones de dinámica molecular. (a) Evolución del RMSD de los átomos del esqueleto de AChE en presencia de los ligandos evaluados. (b) Subdominios estructurales considerados para el análisis del sitio de unión: Ω -loop, S1, S2, S3 y S4.	131
8.8	Análisis de contactos y energías para los complejos AChE:ligando. (a) Contactos observados entre los ligandos y los subdominios Ω -loop, S1, S2, S3 y S4; se incluyen interacciones presentes durante más del 30% de la trayectoria. (b) Relación entre las energías de unión obtenidas por acoplamiento molecular y las energías MM/GBSA calculadas a partir de las trayectorias.	134
8.9	Superposición de la pose inicial de <i>docking</i> con la estructura más poblada obtenida por dinámica molecular para los complejos AChE:dQ1356 y AChE:dQ1368. La pose inicial se muestra con carbonos en amarillo. Las estructuras más pobladas se muestran con carbonos en cian para dQ1356 y en plata para dQ1368. (a) AChE:dQ1356. (b) AChE:dQ1368. (c) Superposición de las estructuras más pobladas de AChE:donepezilo, AChE:dQ1356 y AChE:dQ1368; donepezilo se muestra con carbonos en verde.	135
B.1	Mapa de capacidad de donación de electrones e hidrógeno para antioxidantes (eH-DAMA).	165
C.1	Clasificación de software para <i>docking</i> basada en motores de búsqueda y funciones de puntuación. La ubicación es orientativa porque varios programas combinan heurísticas de búsqueda y funciones híbridas. El tamaño de los nodos representa robustez operativa. La zona de <i>docking</i> proteína–proteína se incluye como referencia metodológica, aunque no forma parte del protocolo aplicado en esta tesis.	171
D.1	Aplicación EasyRate 2.0, desarrollada para realizar la estimación de las constantes de velocidad de acuerdo al protocolo QM-ORSA. Liga de descarga:	177
D.2	Modelos representativos empleados en AOX-III: fragmento alílico de ácido linoleico (lípidos), modelos realistas de residuos Cys, His, Leu, Met, Trp y Tyr (proteínas), y 2'-desoxiguanosina (ADN).	181
E.1	Interfaz principal de CADMApy (izquierda) y sección para el cálculo de puntuaciones de selección (derecha). Liga de descarga:	183

Índice de tablas

2	Dianas terapéuticas y ligandos de referencia empleados para el análisis de acoplamiento molecular. . .	18
1.1	Preguntas de decisión, herramientas de cribado y criterios de selección aplicados en las etapas del protocolo <i>CADMA-Chem</i>	23
1.2	Propiedades farmacocinéticas, valores de toxicidad y estimación de la accesibilidad sintética de los fármacos de administración oral aprobados para enfermedades neurodegenerativas.	28
1.3	Intervalos de propiedades fisicoquímicas según criterios de biodisponibilidad y el rango adoptado en <i>CADMA-Chem</i>	30
2.1	Especiación ácido-base de los derivados de melatonina a pH fisiológico, se muestran las constantes sucesivas de deprotonación ácida y sus abundancias relativas.	50
2.2	Índices globales de reactividad y entalpías de disociación de enlace (BDE) para la especiación de melatonina y de los derivados estudiados.	50
2.3	Energías libres de reacción (ΔG), energías libres de activación ($\Delta G^\ddagger$) y constantes de velocidad (k) para la reducción de Cu(II) libre y complejada (CDCM-cSO) por agentes reductores a 298.15 K. . . .	54
2.4	Energías libres de Gibbs (ΔG , kcal mol ⁻¹) para las reacciones de dM38 con biomoléculas dañadas. .	57
2.5	Parámetros cinéticos para reacciones f-HAT entre dM-38 y biomoléculas: energía libre de activación ($\Delta G^\ddagger$), frecuencia imaginaria (if), corrección de túnel (κ) y constante de velocidad (k) a 298.15 K. .	57
2.6	Parámetros termodinámicos y cinéticos para reacciones SET entre dM38 y biomoléculas dañadas a 298.15 K en medio acuoso. ΔG , energía libre de reacción; $\Delta G^\ddagger$, energía libre de activación; k , constante de velocidad; $k^f M$, constante de velocidad corregida por concentración y $k_{\text{tot, SET}}$, constante de velocidad total considerando todas las especies de dM-38.	58
4.1	Ejemplos documentados de funcionalización del núcleo ferúlico y bioactividad reportada.	74
4.2	Valores de pK_a y fracciones molares, $M_f^{(q)}$, a pH = 7.4 para el FA y sus 12 derivados preseleccionados. La carga neta q de cada especie se indica como superíndice.	78
4.3	Energía de ionización (IE, eV), afinidad electrónica (EA, eV) y energía de disociación de enlace mínima (BDE, kcal mol ⁻¹) para el FA y los derivados seleccionados, desglosadas por estado de protonación a pH 7.4. El sitio de mínima BDE se indica conforme a la numeración de la Figura 4.1. Valores calculados al nivel M05-2X/6-311+G(d,p)/SMD(agua).	80
4.4	Puntaje multidiana (S_P) y energías de unión ponderadas (ΔG_B^W , kcal mol ⁻¹) para el FA y sus derivados seleccionados frente a COMT, MAO-B y AChE. Los valores de referencia de los sustratos naturales son: dopamina (COMT, -5.44 kcal mol ⁻¹), feniletilamina (MAO-B, -6.01 kcal mol ⁻¹) y acetilcolina (AChE, -4.56 kcal mol ⁻¹). Un valor de $S_P = 3.00$ corresponde a afinidad equivalente a la de los sustratos; $S_P > 3.00$ indica mayor afinidad.	82
5.1	Valores de pK_a y fracciones molares, M_f , a pH = 7.4 para el pCA y sus derivados seleccionados. Las fracciones menores a 10 ⁻³ se indican con notación exponencial.	88
5.2	Energía de ionización (IE, eV), afinidad electrónica (EA, eV), electrofilia (ω), potencia electrodonadora (ω^-), electroaceptora (ω^+), potencial químico (μ , eV), dureza química (η , eV) y energía mínima de disociación de enlace (BDE, kcal/mol) para el pCA y los derivados evaluados, por especie de protonación. .	90

5.3	Energía libre de unión (E_b , kcal/mol) y constante de inhibición (k_i) para los complejos con COMT. Para la dopamina, k_i en μM ; para el resto, en nM.	92
6.1	Algunos derivados de chalcona sintetizados con bioactividad reportada.	98
6.2	Valores de pK_a estimados y fracciones molares (M_f) de las especies protonada (M_f^{prot}), neutra (M_f^{neu}), monoaniónica (M_f^{an}), dianiónica (M_f^{dian}) y trianiónica (M_f^{trian}) a pH = 7.4. Fracciones $< 10^{-3}$ se indican con notación exponencial.	102
6.3	Energía libre de unión (ΔG_U , kcal/mol) y constante de inhibición (K_i) para los complejos chalcona:COMT. Se incluyen tolcapona, dopamina y levodopa como referencias.	105
6.4	Energía libre de unión (ΔG_U , kcal/mol) y constante de inhibición (K_i) para los complejos chalcona:MAO-B. Se incluyen safinamida y los sustratos naturales como referencias.	107
6.5	Energía libre de unión (ΔG_U , kcal/mol) y constante de inhibición (K_i) para los complejos chalcona:AChE. Se incluyen donepezilo y acetilcolina como referencias.	108
7.1	Valores de pK_a estimados y fracciones molares (M_f) de las especies diprotonada (M_f^{diprot}), protonada (M_f^{prot}), neutra (M_f^{neu}), monoaniónica (M_f^{an}) y dianiónica (M_f^{dian}) de la rasagilina y sus derivados seleccionados a pH = 7.4. Fracciones $< 10^{-3}$ se indican con notación exponencial.	116
8.1	Fracciones molares porcentuales ($X\%$) de las especies ácido-base de los derivados de quinolina a pH = 7.4. Las especies con $X\% < 1$ se marcan como cero; HdQ ⁺ = catión protonado; dQ = neutro; H ⁻¹ dQ ⁻ = monoanión; H ⁻² dQ ²⁻ = dianión.	127
8.2	Energías libres de unión ponderadas (ΔG_B^W , kcal/mol) y puntaje poligénico (S^P) para los derivados de quinolina más prometedores. Se incluyen la quinolina y los sustratos naturales como referencias. . . .	129
8.3	Resultados principales de dinámica molecular para los complejos AChE:ligando. Las energías se reportan en kcal mol ⁻¹ y los desplazamientos corresponden a la comparación entre la pose inicial de <i>docking</i> y la estructura más poblada de la trayectoria.	133
A.1	Función química de los sustituyentes considerados en la generación de derivados.	151
A.2	Criterios bioisostéricos aplicables a los derivados estudiados.	152
A.3	Reglas de conteo de puntos farmacofóricos.	152
B.1	Descriptores químicos de reactividad basados en IE y EA verticales	164
B.2	Parámetros empíricos m y C_0 para la combinación M05-2X/6-311G(d,p).	167
D.1	Viscosidad dinámica (η) de los medios empleados.	176

Abreviaturas

Sigla	Significado
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterasa
ADME	Absorción, distribución, metabolismo y excreción
ADMET	Absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad
ADMETSA	Absorción, distribución, metabolismo, excreción, toxicidad y accesibilidad sintética
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AFMK	N ₁ -acetil-N ₂ -formil-5-metoxiquinuramina
AM1-BCC	<i>Austin Model 1 with Bond Charge Corrections</i>
AMBER	<i>Assisted Model Building with Energy Refinement</i>
AMBIT-SA	Accesibilidad sintética estimada con AMBIT
AMK	N ₁ -acetil-5-metoxiquinuramina
AOC	Actividad antioxidante colectiva
AOX	Actividad antioxidante
AOX-I/II/III	Captura de radicales / quelación e inhibición de ·OH (OIL) / reparación de blancos biológicos
AOX-score	Puntaje compuesto de desempeño antioxidante (esta tesis)
AR	<i>Antioxidant Repair</i> (variante eH-DAMA para reparación, AOX-III)
AS	Accesibilidad sintética
BDE	<i>Bond Dissociation Enthalpy</i> (entalpía de disociación de enlace)
BFE	<i>Bond Formation Enthalpy</i> (entalpía de formación de enlace)

Continúa en la siguiente página

Sigla	Significado
CADMA-Chem	<i>Computer-Assisted Design of Multifunctional Antioxidants based on CHEMical properties</i>
CASSCF	<i>Complete Active Space Self-Consistent Field</i>
CASPT2	<i>Complete Active Space Second-Order Perturbation Theory</i>
CCSD(T)	<i>Coupled Cluster with Single, Double and perturbative Triple excitations</i>
CI	<i>Configuration Interaction</i> (interacción de configuraciones)
COMT	Catecol- <i>O</i> -metiltransferasa
ConPhar	<i>Consensus Pharmacophore</i>
CoMFA	<i>Comparative Molecular Field Analysis</i>
CoMSIA	<i>Comparative Molecular Similarity Indices Analysis</i>
CREST	<i>Conformer–Rotamer Ensemble Sampling Tool</i>
DFT	<i>Density Functional Theory</i> (Teoría de funcionales de la densidad)
DM / MD	Dinámica molecular / <i>Molecular Dynamics</i>
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EA	<i>Electron Affinity</i> (afinidad electrónica)
eH-DAMA	<i>Electron and Hydrogen Donating Ability Map for Antioxidants</i>
ECFP4	<i>Extended-Connectivity Fingerprint</i> , diámetro 4
ELA	Esclerosis lateral amiotrófica
EO	Estrés oxidante
EPT	<i>Electron Propagator Theory</i>
ETKDG	<i>Experimental-Torsion Knowledge Distance Geometry</i>
FAD	Flavina adenín dinucleótido
f-HAT / FHAT	<i>Formal Hydrogen Atom Transfer</i> (transferencia formal de átomo de H)
FP	<i>Fitted Parameters</i> (parámetros ajustados)
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
FRS	<i>Free Radical Scavenging</i> (variante eH-DAMA para AOX-I)
GAFF2	<i>General Amber Force Field 2</i>
GFN-FF	<i>Geometry, Frequency, Noncovalent Force Field</i>
GFN2-xTB	<i>Geometry, Frequency, Noncovalent extended Tight Binding</i> , versión 2

Continúa en la siguiente página

Sigla	Significado
GGA	<i>Generalized Gradient Approximation</i>
HBA / HBD	<i>Hydrogen Bond Acceptor/Donor</i> (aceptor/donador de puente de hidrógeno)
HF	Hartree–Fock
HF-3c	Método compuesto Hartree–Fock de bajo costo (HF + correcciones D3/gCP/SRB)
IE	<i>Ionization Energy</i> (energía de ionización)
IRC	<i>Intrinsic Reaction Coordinate</i> (coordenada de reacción intrínseca)
ISI	<i>Interaction Similarity Index</i>
KS	Kohn–Sham
LD ₅₀	Dosis letal media (50 %)
LDA	<i>Local Density Approximation</i>
LINCS	<i>LINEar Constraint Solver</i> (restricciones en DM)
logP	Logaritmo del coeficiente de partición octanol–agua
MAO-B	Monoamino oxidasa tipo B
Marvin	Herramienta de ChemAxon para predicción de pK_a y especiación
MM/GBSA	<i>Molecular Mechanics/Generalized Born Surface Area</i>
MM/PBSA	<i>Molecular Mechanics/Poisson–Boltzmann Surface Area</i>
MP2	Teoría de perturbaciones de Møller–Plesset de segundo orden
MR	Refractividad molar
MW	<i>Molecular Weight</i> (masa molar)
NAS	N-acetil serotonina
NMDAr	Receptor de N-metil-D-aspartato
NPT / NVT	Ensamblajes isobárico–isotérmico / canónico (DM)
OIL	<i>·OH–Inhibitor Ligand</i> (ligando inhibidor del radical hidroxilo)
ONIOM	<i>Our own N-layered Integrated molecular Orbital and molecular Mechanics</i>
ORAC	<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>
OS	<i>Oxidative Stress</i> (variante eH-DAMA con oxidantes y blancos)
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
PCM	<i>Polarizable Continuum Model</i>

Continúa en la siguiente página

Sigla	Significado
PCET	<i>Proton-Coupled Electron Transfer</i>
PES	<i>Potential Energy Surface</i> (superficie de energía potencial)
PME	<i>Particle Mesh Ewald</i> (electrostática en DM)
PPAR γ	Receptor activado por proliferadores de peroxisomas gamma
PROPKA	Asignación de pK_a y protonación de proteínas
PSA / TPSA	Área polar superficial / área polar superficial topológica
QSAR	<i>Quantitative Structure–Activity Relationship</i>
QSPR	<i>Quantitative Structure–Property Relationship</i>
QM-ORSA	<i>Quantum Mechanics–based Overall Radical-Scavenging Assessment</i>
RAF	<i>Radical Adduct Formation</i> (formación de aducto radicalario)
RB	<i>Rotatable Bonds</i> (enlaces rotables)
RCSB	<i>Research Collaboratory for Structural Bioinformatics</i>
REOS	<i>Rapid Elimination Of Swill</i>
RefSet	Conjunto de referencia de neuroprotectores usado en CADMA-Chem
RESP	<i>Restrained Electrostatic Potential</i> (cargas)
RNS	<i>Reactive Nitrogen Species</i> (especies reactivas de nitrógeno)
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i> (especies reactivas de oxígeno)
RSS	<i>Reactive Sulfur Species</i> (especies reactivas de azufre)
SA	<i>Synthetic Accessibility</i> (accesibilidad sintética)
SAH / SAM	S-adenosilhomocisteína / S-adenosilmetionina
SCF	<i>Self-Consistent Field</i> (campo autoconsistente)
SET	<i>Single Electron Transfer</i> (transferencia electrónica simple)
SET-PT	<i>Sequential Electron Transfer–Proton Transfer</i>
SMD	<i>Solvation Model based on Density</i>
SMILES	<i>Simplified Molecular Input Line Entry System</i>
Smile-it	Herramienta desarrollada para generación de derivados a partir de SMILES
SNC	Sistema nervioso central
t-SNE	<i>t-distributed Stochastic Neighbor Embedding</i>
TEST	<i>Toxicity Estimation Software Tool</i>

Continúa en la siguiente página

Sigla	Significado
TIP3P	Modelo de agua <i>TIP3P</i>
Topomer-CoMFA	Variante de CoMFA basada en topómeros
TRAP	<i>Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter</i>
TSAHD	<i>Three Sequential Hydrogen Atom Donations followed by Dehydration</i>
TS	Estado de transición / <i>Transition State</i>
TST	<i>Transition State Theory</i> (teoría del estado de transición)
UMAP	<i>Uniform Manifold Approximation and Projection</i>
ZPE	<i>Zero-Point Energy</i> (energía de punto cero)
Δ	Apagador o criterio binario de eliminación en CADMA-Chem
S^S	Índice de selección ADME–toxicidad–accesibilidad sintética (esta tesis)
S^P	Puntaje de interacción farmacológica por diana (esta tesis)
ω	Electrofilicidad global (DFT conceptual)
$\bar{\omega}^-$	Potencia electrodonadora (DFT conceptual)
$\Pi_D, \Pi^{\text{global}}, \Pi^{\text{AOX-enz}}$	Índices compuestos por diana, global y combinado AOX–enzimas (esta tesis)

Introducción

El progreso médico del último siglo ha reducido la incidencia de enfermedades infecciosas¹ y junto a las mejoras en estilos de vida (alimentación equilibrada, actividad física, menor consumo de tabaco) se ha contribuido al aumento de la esperanza de vida. De acuerdo con la ONU (*Organización de las Naciones Unidas*), la población mundial se triplicó entre 1950 y 2020, y la esperanza de vida al nacer pasó de 64.2 años en 1990 a 73.7 años en 2023. Se proyecta que alcance 77.2 años a nivel mundial y 80.1 años en México para 2050.²

Este proceso demográfico tiene implicaciones directas en la prevalencia de enfermedades neurodegenerativas. A nivel global se estima que el número de personas que viven con demencia podría alcanzar aproximadamente 152 millones para 2050.³ De manera similar, la enfermedad de Parkinson ha mostrado un crecimiento sostenido durante las últimas décadas.^{4,5} En México, se estima que alrededor de 1.3 millones de personas viven con demencia y que esta cifra podría alcanzar cerca de 3.5 millones hacia 2050, siendo la enfermedad de Alzheimer la causa predominante.⁶

Sin embargo, la esperanza de vida saludable no ha crecido al mismo ritmo, por lo que la salud en la vejez se ha convertido en un tema prioritario.^{7,8} En este sentido, se ha enfatizado la necesidad de “mejorar la esperanza de vida, no solo prolongarla”.¹

Entre los principales retos que afectan la calidad de vida en poblaciones envejecidas destacan las enfermedades crónico-degenerativas, que afectan a más de 50% de las personas mayores de 70 años.⁷ Muchas de estas patologías son multifactoriales y/o poligénicas, entre ellas enfermedades cardiovasculares,^{9,10} cáncer,¹¹⁻¹⁶ enfermedades metabólicas,^{10,17-19} trastornos músculo-esqueléticos,^{9,20} hígado graso no alcohólico¹⁷ y enfermedades neurodegenerativas.^{19,21-34} Estas últimas figuran entre las principales causas de mortalidad en adultos mayores.^{35,36} A nivel global, la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson afectan a más de 6.5 millones y 10 millones de personas respectivamente.³⁵⁻³⁸ En México se estima que la enfermedad de Alzheimer alcanza alrededor de 1.3 millones de casos y representa entre 60% y 70% de los diagnósticos de demencia.³⁹

La complejidad etiológica de estas enfermedades ha impulsado un enfoque farmacológico orientado hacia fármacos multifuncionales, capaces de incidir en distintos procesos patológicos.^{40,41} En este marco se desarrolla el protocolo CADMA-Chem (*Computer-Assisted Design of Multifunctional Antioxidants based on CHEMical properties*), una

estrategia para el diseño racional de antioxidantes multifuncionales con énfasis en enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer.⁴²⁻⁵¹ Aunque se centra en neuroprotección, el alcance del protocolo puede extenderse a otras condiciones, como diabetes, cáncer o enfermedades raras (por ejemplo, el síndrome de Rett).

El estrés oxidante (EO) es uno de los mecanismos estudiados en los procesos de neurodegeneración. Se asocia con un exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS), de nitrógeno (RNS) y de azufre (RSS) que dañan lípidos, ADN y proteínas, y que pueden inducir muerte celular.^{35,52} El cerebro, por su alto consumo de oxígeno y su riqueza en lípidos, es especialmente vulnerable.^{53,54} De hecho, se ha evidenciado la relación entre el EO con la esclerosis lateral amiotrófica, la enfermedad de Huntington, la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson.³⁵

La oxidación del ADN se ha relacionado con la fisiopatología de la enfermedad de Parkinson,⁵⁵ donde la guanina es particularmente susceptible al daño asociado con el EO. Los lípidos neuronales también son blancos del ataque radicalario, promoviendo la peroxidación lipídica y alterando la integridad y función de membranas.^{56,57} La presencia de iones metálicos redox-activos (por ejemplo, cobre y hierro), potencia los procesos oxidantes por lo que mantener la homeostasis metálica es clave.⁵⁸

El balance redox se modula mediante sistemas enzimáticos endógenos. La superóxido dismutasa (SOD) disminuye la concentración de radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), mientras que la xantina oxidasa (XO) puede aumentarla. Estas enzimas constituyen blancos complementarios para intervenir sobre el EO.

Actualmente no existen estrategias preventivas concluyentes para la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer.⁵⁹ Los abordajes disponibles son fundamentalmente sintomáticos. Los inhibidores de acetilcolinesterasa (AChE) se emplean para tratar la enfermedad de Alzheimer,^{34,60,61} mientras que para la enfermedad de Parkinson los inhibidores de catecol-*O*-metiltransferasa (COMT)⁶²⁻⁶⁵ y de monoamino-oxidasa B (MAO-B)^{26,66-69} son los principales blancos de estudio. En paralelo, se han explorado terapias con compuestos de actividad antioxidante, entre ellos polifenoles, con evidencia preclínica de efectos neuroprotectores.^{24,33,70-72}

En este contexto, la multifuncionalidad constituye un principio de diseño para abordar simultáneamente distintos procesos patológicos que coexisten en las enfermedades neurodegenerativas.⁷³⁻⁸⁷

1 Evolución histórica de CADMA-Chem

La versión vigente de CADMA-Chem, sus ecuaciones, criterios de decisión, apagadores, índices y flujo de trabajo se presentan en el Capítulo 1; los detalles computacionales se describen en la metodología.

Diseño inicial

La primera aproximación partió de andamios con actividad antioxidante o neuroprotectora conocida. Los derivados se generaban por sustitución puntual con un conjunto reducido de grupos funcionales, principalmente donadores de hidrógeno, moduladores ácido–base y posibles sitios de coordinación metálica. Esta etapa permitió establecer dos condiciones que permanecen en la versión final: el andamio de partida debe conservar los rasgos farmacofóricos responsables de su actividad, y las modificaciones deben responder a una función química definida.

La limitación de esta fase fue su baja escalabilidad. Cada molécula requería una caracterización por métodos de estructura electrónica extensa antes de evaluar las propiedades farmacocinéticas, toxicológicas o de accesibilidad sintética. La evaluación detallada se aplicaba demasiado pronto dentro del flujo de trabajo.

Incorporación de filtros quimioinformáticos

La segunda etapa introdujo filtros previos de propiedades fisicoquímicas, toxicidad y accesibilidad sintética. Esto cambió la lógica del protocolo: antes de invertir recursos en cálculos de estructura electrónica, los candidatos debían compararse contra un espacio de referencia de fármacos neuroprotectores.

En esta fase se ensayaron puntajes globales de selección y métricas de eliminación. La versión consolidada descartó la idea de un único puntaje compensatorio de eliminación y la sustituyó por tres elementos separados: el índice de selección S^S , los criterios de advertencia y los apagadores de selección Δ . Esta separación evita que una propiedad crítica quede enmascarada por valores favorables en otros descriptores.

Consolidación de la evaluación antioxidante multifuncional

La tercera etapa incorporó la evaluación antioxidante en tres dimensiones. AOX-I se mantuvo como la evaluación de captura directa de radicales libres; AOX-II se incorporó para distinguir candidatos capaces de limitar la producción de $\cdot\text{OH}$ mediada por metales redox; y AOX-III se añadió para evaluar reparación química de biomoléculas oxidadas.

Durante esta etapa también se consolidó eH-DAMA como filtro termodinámico rápido para priorizar candidatos antes de QM-ORSA. Las versiones iniciales dependían de descriptores verticales y de cálculos más costosos para estimar tendencias de transferencia electrónica. La versión vigente usa descriptores consistentes con la formulación final descrita en el Capítulo 1, incluyendo la adaptación del eje electrónico cuando el proceso entra en el régimen invertido de Marcus.

Incorporación de evaluación multidiana

La cuarta etapa agregó la dimensión farmacológica. El acoplamiento molecular se usó como filtro rápido para comparar candidatos contra dianas neuroprotectoras, y la dinámica molecular quedó reservada para el refinamiento de complejos seleccionados. En esta fase se adoptó la comparación con sustratos naturales e inhibidores de referencia para separar dos preguntas distintas: si el protocolo de acoplamiento reproduce un modo de unión conocido y si el candidato compete de manera razonable con ligandos biológicamente relevantes.

Esta etapa dio origen a la necesidad de índices multidiana. El puntaje S^P se usó como métrica práctica para integrar afinidades de acoplamiento en AChE, COMT y MAO-B, mientras que los índices basados en dinámica molecular quedaron como extensiones de refinamiento para evaluar estabilidad de pose, persistencia de interacciones y afinidad dinámica.

Versión consolidada e implementación

La versión final de CADMA-Chem abandonó el uso de un conjunto fijo de sustituyentes para todos los sistemas. En su lugar, la selección de grupos funcionales depende del andamio, del farmacóforo, del mecanismo antioxidante que se quiere reforzar y de las restricciones farmacocinéticas del dominio terapéutico.

También se separaron las operaciones computacionales de las decisiones del protocolo. Los programas calculan propiedades; CADMA-Chem define cómo compararlas, cuándo descartar candidatos y qué información justifica avanzar a etapas más costosas. Esta separación permitió implementar partes del flujo de trabajo en herramientas como *Smile-it*, CADMApy y EasyRate 2.0.

La evolución descrita en esta sección justifica la organización final del protocolo: generación racional del espacio químico, comparación frente al *RefSet*, filtrado por S^S /advertencias/apagadores, priorización antioxidante mediante eH-DAMA/QM-ORSA, evaluación AOX-I/II/III y refinamiento multidiana mediante docking y dinámica molecular.

Hipótesis

Asumimos que es posible desarrollar una metodología computacional confiable que permita modificar moléculas bioactivas para incorporar propiedades antioxidantes, preservando su actividad farmacológica original y generando candidatos con potencial terapéutico multifuncional.

Objetivo General

Desarrollar una metodología *in silico* para el diseño de fármacos multifuncionales mediante la modificación sistemática de estructuras farmacológicamente activas, incorporando propiedades antioxidantes sin comprometer su actividad biológica original.

Objetivos específicos

- 1) Establecer criterios cuantitativos de filtrado farmacocinético, toxicológico y de accesibilidad sintética que permitan seleccionar, entre una serie de candidatos propuestos, fármacos para enfermedades neurodegenerativas de administración por vía oral.
- 2) Identificar las combinaciones de grupos funcionales o de motivos estructurales que, al incorporarse en un compuesto líder, producen el balance óptimo entre propiedades farmacocinéticas, seguridad toxicológica y reactividad antioxidante, en comparación con fármacos de referencia, el fármaco original y antioxidantes de uso estándar.
- 3) Determinar el modo de unión y la afinidad de los candidatos seleccionados hacia múltiples dianas terapéuticas implicadas en las enfermedades de interés, priorizando las interacciones ligando-proteína con mayor potencial terapéutico.
- 4) Identificar los candidatos líderes entre las familias estructurales estudiadas y proponerlos para validación experimental y refinamiento computacional.

Metodología

1 Generación de la biblioteca de derivados

Las estructuras de partida se representan en formato SMILES. La biblioteca de derivados se genera mediante una herramienta de enumeración molecular desarrollada en este trabajo, descrita en el capítulo de resultados metodológicos correspondiente, incorporando entre uno y tres sustituyentes en las posiciones estructuralmente accesibles de cada marco molecular.

Los grupos funcionales considerados son: $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$, $-\text{CHO}$, $-\text{COOH}$, $-\text{CF}_3$, F , Cl , $-\text{N}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_3)$, $-\text{COOCH}_3$ y $-\text{OCH}_3$; la selección específica para cada sistema depende de la compatibilidad química del sitio de sustitución y de los objetivos de diseño.

Cuando se aplican sustituciones bioisostéricas, se conserva el marco estructural principal y se modifican únicamente las posiciones funcionales compatibles con la interacción farmacológica esperada, el estado ácido-base fisiológicamente relevante, el perfil de propiedades de Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción (propiedades ADME) y valores de toxicidad (Tox). Los tipos de reemplazo y los criterios empleados para cada familia química se documentan en el Apéndice [A](#).

Para evitar estructuras subfuncionalizadas, se verifica el número de puntos farmacofóricos siguiendo el criterio de Muegge *et al.*⁸⁸ Las reglas de conteo, exclusión y fusión se describen en el Apéndice [A.3](#).

2 Filtrado del espacio químico

Las propiedades fisicoquímicas de cada derivado —masa molar (MW), coeficiente de partición octanol-agua (logP), área polar superficial topológica (TPSA), refractividad molar (^MR), número de átomos pesados (^xAt), donadores y aceptores de puente de hidrógeno (HBD/HBA) y enlaces rotables (RB)— se calculan con la librería RDKit. La accesibilidad sintética se estima con AMBIT-SA,⁸⁹ donde valores próximos a 100 corresponden a menor complejidad de síntesis. El perfil toxicológico se obtiene con T.E.S.T.,⁹⁰ que predice la dosis letal media en ratas (LD_{50}), la mutagenicidad (test de Ames) y la toxicidad al desarrollo (DT).

3 Análisis de diversidad molecular

Cuando se analiza la distribución del espacio químico, las moléculas se convierten a objetos RDKit a partir de sus SMILES. Se generan huellas moleculares ECFP4 (radio = 2, 2048 bits, con quiralidad) y se calculan coeficientes de similitud de Tanimoto sobre pares moleculares.^{91,92}

Para la visualización de bibliotecas, las huellas moleculares se transforman en arreglos numéricos y se reducen inicialmente por PCA. Sobre la representación reducida se aplican t-SNE y UMAP para inspeccionar vecindades locales y estructura global del conjunto.⁹³⁻⁹⁵ Cuando se usa agrupamiento, el número de grupos se explora con K -medias y se evalúa con el coeficiente de Silhouette y el índice de Davies–Bouldin.

4 Farmacóforo de consenso

Para los sistemas en los que el objetivo incluye la inhibición de una diana enzimática específica, se construye un modelo farmacofórico de consenso antes de definir los sitios de sustitución.

Las estructuras cristalográficas disponibles en el PDB para cada diana se filtran por resolución (≤ 2.5 Å) y se alinean con `extra_fit` en PyMOL, tomando como referencia la estructura de mayor resolución. Los ligandos del sitio activo se extraen dentro de un radio de 1.0 Å del ligando de referencia, excluyendo solventes y aditivos de cristalización (HOH, SO4, PO4, GOL, EDO, PEG). Los ligandos con más de cuatro instancias en el PDB se consolidan a una sola para evitar sesgo en el farmacóforo. El conjunto depurado se exporta en formato SDF.

El farmacóforo se calcula con ConPhar.⁹⁶ Las características con peso ≥ 0.5 y baja varianza posicional informan la selección de sustituyentes. El procedimiento detallado, incluyendo los scripts de PyMOL empleados, se presenta en el Apéndice C.1.

5 Búsqueda conformacional y equilibrio tautomérico

Las estructuras SMILES de los candidatos seleccionados se convierten a coordenadas 3D mediante el algoritmo ETKDG de RDKit.⁹⁷ Las geometrías iniciales se refinan manualmente en GaussView 6⁹⁸ cuando la topología lo requiere.

El muestreo conformacional exhaustivo se realiza en CREST⁹⁹ con el algoritmo iMTD-GC (metadinámica iterativa con cruce genético).¹⁰⁰ Las geometrías del ensamble se generan con el campo de fuerza GFN-FF¹⁰¹ y se evalúan con el método semiempírico GFN2-xTB en solvente implícito (agua). Se retienen hasta 100 conformaciones de mínima energía por derivado y especie ácido-base mediante `script_crest.sh` (Apéndice F.1).

Cuando un sistema presenta equilibrio tautomérico con poblaciones no despreciables, los tautómeros relevantes se incorporan al mismo flujo. Las abundancias relativas de confórmeros y tautómeros se calculan mediante la distribución de Boltzmann a 298.15 K (Apéndice B.5.1).

6 Cálculos de estructura electrónica

Los ensambles conformacionales se preoptimizan en ORCA con el método compuesto HF-3c,¹⁰² que combina Hartree–Fock con base mínima, corrección de dispersión D3, corrección de superposición de bases (gCP) y efectos de corto alcance.

Las estructuras de mínima energía se optimizan en Gaussian 09¹⁰³ con el funcional M05-2X¹⁰⁴ y base 6-311+G(d,p). En sistemas que contienen metales de transición se emplea el funcional M05. La solvatación se modela con SMD:¹⁰⁵ agua para el entorno fisiológico y pentil etanoato como sustituto de la fase lipídica.

Los sistemas de capa abierta se tratan con formalismo de espín no restringido; se verifica la ausencia de contaminación de espín significativa antes de aceptar el resultado. La naturaleza de todos los puntos estacionarios se confirma mediante análisis de frecuencias vibracionales: los mínimos no presentan frecuencias imaginarias y los estados de transición presentan exactamente una, cuyo vector de desplazamiento corresponde a la coordenada de reacción esperada. La conectividad entre reactivos y productos se verifica con cálculos IRC cuando la topología de la superficie de energía potencial lo requiere.

Los fundamentos teóricos del modelo SMD, los métodos de teoría de funcionales de la densidad (DFT) y la teoría del propagador del electrón empleada en algunos sistemas se presentan en el Apéndice B.

7 Especiación ácido-base a pH fisiológico

Las rutas de desprotonación se identifican con el módulo Marvin (ChemAxon). Los valores de pK_a se calculan con el esquema de parámetros ajustados (FP),^{106,107} que corrige las energías libres de solvatación teóricas mediante una relación lineal calibrada con datos experimentales:

$$pK_a = m \Delta G_{s(AB)} + C_0,$$

donde los parámetros m y C_0 son específicos del grupo funcional ionizable y del nivel de teoría. Los valores empleados se recogen en la Tabla B.2 del Apéndice B.9.

Las fracciones molares de cada especie a pH 7.4 se determinan a partir de los pK_a calculados. Se descartan las especies con fracción molar inferior al 0.1 %, cuya participación en los mecanismos de acción es despreciable incluso en regímenes controlados por difusión.⁴³

8 Descriptores de reactividad

El potencial de ionización (IE) y la afinidad electrónica (EA) se calculan mediante la aproximación Δ SCF adiabática: IE como la diferencia de energía libre entre la especie neutra optimizada y el catión radical optimizado; EA como la diferencia entre la especie neutra y el anión optimizado. Las entalpías de disociación de enlace (BDE) se obtienen como entalpías de ruptura homolítica a 298.15 K en SMD-agua para todos los enlaces X–H (X = O, N, S, C_{sp3}) accesibles en cada candidato.

Cuando existen equilibrios conformacionales o tautoméricos no despreciables, IE, EA y BDE se promedian ponderadamente con factores de Boltzmann a 298.15 K. Las definiciones formales y los descriptores derivados (ω , ω^- , ω^+ , μ , η) se presentan en el Apéndice B.7.

9 Evaluación de la capacidad antioxidante

La actividad antioxidante se evalúa en tres niveles: depuración de radicales libres (AOX-I), inhibición de la producción de $\cdot$ OH mediada por metales (AOX-II) y reparación de biomoléculas oxidadas (AOX-III). En todos los casos se trabaja a 298.15 K, pH 7.4 y estado estándar 1 M, empleando las fracciones molares, confórmeros y tautómeros determinados en las secciones anteriores.

9.1 Depuración de radicales libres (AOX-I)

Se evalúan los mecanismos de transferencia formal de átomo de hidrógeno (f-HAT, incluyendo HAT y PCET), transferencia electrónica simple (SET) y formación de aducto radicalario (RAF) en todos los sitios accesibles de cada especie ácido-base frente al radical hidroperoxilo.

La espontaneidad de cada canal se verifica calculando ΔG° en solución. Las constantes de velocidad de los canales termodinámicamente favorables se estiman con el protocolo QM-ORSA:¹⁰⁸

- f-HAT y RAF: constante activada por teoría del estado de transición con corrección de túnel de Eckart y factor de degeneración por sitios equivalentes; corregida por el límite difusional de Smoluchowski–Collins–Kimball.
- SET: barrera calculada por teoría de Marcus en solución; constante activada corregida por el mismo límite difusional.

La constante global a pH 7.4 integra todas las contribuciones:

$$k_{\text{overall}}(\text{pH}) = \sum_i^{\text{especies}} \sum_m^{\text{mecanismos}} \sum_s^{\text{sitios}} \chi_i(\text{pH}) g_s k_{\text{app}}(i, s, m). \quad (1)$$

Los cálculos se realizan en agua (medio acuoso) y en pentil etanoato (medio lipídico). Los resultados se comparan frente a Trolox en medio acuoso y frente a α -tocoferol en medio lipídico. Los parámetros de difusión y viscosidades empleados se documentan en el Apéndice D.1.

9.2 Inhibición de la producción de $\cdot\text{OH}$ mediada por metales (AOX-II)

Se modela la capacidad de los candidatos para inhibir la producción de $\cdot\text{OH}$ en ciclos tipo Fenton, bajo el esquema OIL ($\cdot\text{OH}$ -inactivating ligand), usando cobre como metal redox de referencia.

OIL-1: se calcula la energía libre de quelación ($\Delta G_{\text{chel}}^\circ$) para las rutas de quelación directa (DCM) y quelación acoplada a desprotonación (CDCM). Para cada complejo viable se estima la facilidad de reducción del centro metálico frente a ascorbato (AscH^-) y superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) mediante barreras de Marcus en solución con corrección por difusión. El grado de inhibición se cuantifica como la razón Φ entre la constante aparente del complejo y la del acuocomplejo libre bajo las mismas condiciones.

OIL-2: se evalúa la neutralización de $\cdot\text{OH}$ en el entorno inmediato del complejo mediante SET desde el ligando y f-HAT desde grupos funcionales del ligando o aguas de coordinación.

El formalismo completo, las estequiometrías de reacción y la notación de complejos se presentan en el Apéndice D.2.

9.3 Reparación de biomoléculas oxidadas (AOX-III)

Se cuantifica la capacidad de revertir el daño oxidante en lípidos, proteínas y ácidos nucleicos empleando modelos moleculares representativos: un fragmento alílico de ácido linoleico para lípidos; residuos individuales (Cys, His, Leu, Met, Trp, Tyr) para proteínas; y 2'-desoxiguanosina (2dG), incluyendo 8-OH-dG y 8-oxo-dG como biomarcadores de daño oxidante en ADN.

Los mecanismos evaluados son f-HAT hacia centros radicalarios C/N/S, SET hacia cationes radicalarios y PCET. Para 8-OH-dG se analiza adicionalmente la ruta de transferencia secuencial de átomos de hidrógeno seguida de deshidratación (TSAHD). Las constantes de velocidad y barreras energéticas se calculan con el mismo formalismo que en AOX-I. Los modelos moleculares, estequiometrías y supuestos se detallan en el Apéndice D.3.

10 Evaluación de la interacción con dianas terapéuticas

Se evaluó la interacción de los candidatos con dianas terapéuticas asociadas con neuroprotección mediante acoplamiento molecular. En los casos más prometedores, las poses obtenidas por docking se refinaron y evaluaron mediante dinámica molecular.

El acoplamiento molecular se utilizó como una herramienta de priorización estructural, no como evidencia directa de actividad biológica. Por esta razón, las energías de docking se interpretaron como descriptores relativos dentro de cada diana y no como energías libres experimentales de unión. La comparación entre dianas distintas se realizó únicamente después de normalizar las energías frente a referencias internas, como se describe en el capítulo 1.

Todos los cálculos se estandarizaron a 298.15 K y pH 7.4 bajo estado estándar 1 M.

10.1 Selección de dianas y ligandos de referencia

Para cada diana se seleccionaron estructuras cristalográficas del *Protein Data Bank* con resolución $\leq 2.5 \text{ \AA}$, cofactores completos y, cuando fue posible, ligando cocrystalizado en el sitio de interés. La selección de las estructuras priorizó complejos que permitieran definir con claridad el sitio de unión, validar el protocolo mediante redocking y comparar las poses de los candidatos con ligandos de referencia.

Para cada sistema se consideraron dos tipos de referencia. Primero, el ligando endógeno o sustrato natural, usado para contextualizar la ocupación del sitio funcional. Segundo, un fármaco o inhibidor de referencia, usado para comparar la pose del candidato con un ligando de actividad farmacológica conocida. Esta doble referencia evita interpretar el docking únicamente a partir de la energía de unión y permite evaluar si el candidato conserva interacciones relevantes del sitio.

Tabla 2: Dianas terapéuticas y ligandos de referencia empleados para el análisis de acoplamiento molecular.

Diana	PDB ID	Ligando endógeno o sustrato natural	Fármaco o inhibidor de referencia
AChE	4EY7	Acetilcolina	Donepezilo
COMT	3S68	Dopamina	Tolcapona
MAO-B	2V5Z	Feniletilamina	Safinamida

La comparación con el sustrato natural permitió identificar si el candidato ocupa regiones funcionales del sitio de unión. La comparación con el fármaco o inhibidor de referencia permitió evaluar si la pose propuesta reproduce interacciones características de ligandos con actividad conocida. En ambos casos, la comparación se usó como criterio estructural de priorización y no como prueba directa de inhibición.

10.2 Preparación de las proteínas

Las estructuras cristalográficas se obtuvieron del PDB y se prepararon antes del acoplamiento. Se eliminaron heteroátomos no relevantes, sales, moléculas de solvente alejadas del sitio de unión y ligandos no necesarios para el análisis. Se conservaron las aguas del bolsillo situadas a una distancia ≤ 5 Å del ligando de referencia, así como los cofactores necesarios para la integridad del sitio catalítico o de unión: Mg^{2+} y SAM/SAH en COMT, FAD en MAO-B y aguas estructurales en AChE.

Los estados de protonación a pH 7.4 se asignaron con PROPKA/pdb2pqr y los hidrógenos se añadieron con reduce. Cuando fue necesario, las estructuras se revisaron manualmente para corregir residuos incompletos, orientación de hidrógenos y contactos inconsistentes en el sitio de unión.

10.3 Preparación de los ligandos

Para cada candidato se consideraron las especies ácido-base relevantes a pH 7.4. Se incluyeron en el acoplamiento todas las especies con fracción molar ≥ 0.1 %. Esta selección evita que especies con poblaciones despreciables dominen artificialmente la interpretación del docking.

Los archivos .pdbqt para docking se generaron con OpenBabel, asignando cargas de Gasteiger. Para las simulaciones de dinámica molecular, los ligandos se parametrizaron con GAFF2 y cargas AM1-BCC mediante Antechamber/Amber-Tools. En los casos donde la distribución de carga era crítica para la pose de unión, se emplearon cargas RESP al nivel HF/6-31G*.

10.4 Validación del protocolo de acoplamiento

La caja de búsqueda se centró en el centroide del ligando cocrystalizado o del ligando de referencia, con dimensiones de $22 \times 22 \times 22$ Å. El protocolo se validó mediante experimentos de *redocking*, reacomodando el ligando cocrystalizado o el fármaco de referencia en el sitio de unión correspondiente.

La calidad de la reproducción de la pose experimental se evaluó mediante el RMSD entre la pose reacomodada y la pose cristalográfica. Un $RMSD \leq 2.0$ Å se consideró indicativo de reproducción adecuada del modo de unión. Cuando el RMSD fue superior a este valor, el sistema no se descartó automáticamente, pero sus resultados se interpretaron con cautela y se priorizó su evaluación posterior mediante dinámica molecular, MM/GBSA o análisis detallado de interacciones.

10.5 Acoplamiento molecular

El acoplamiento se realizó con AutoDock Vina 1.2.5 usando los parámetros exhaustiveness=32, num_modes=20 y energy_range=4. Se generaron modos independientes para cada especie ácido-base del ligando y, cuando se aplicó *ensemble docking*, para cada conformación del receptor.

Para cada candidato y cada diana, la energía de unión final se obtuvo ponderando las energías de docking de las especies ácido-base por sus fracciones molares a pH 7.4:

$$\Delta G_B^W(P, L) = \sum_{i=1}^n \Delta G_B^{P,L(q_i)} M_f(q_i), \quad (2)$$

donde $\Delta G_B^{P,L(q_i)}$ es la energía de unión calculada para la especie ácido-base q_i del ligando L en la proteína P , $M_f(q_i)$ es su fracción molar a pH 7.4 y n es el número de especies consideradas. Esta ponderación permite que la evaluación de docking refleje la especiación dominante bajo condiciones fisiológicas.

Las poses resultantes se sometieron a *rescoring* mediante estimación MM/GBSA con MMPBSA.py, incluido en AmberTools, sobre 200 marcos minimizados en solvente implícito. Solo avanzaron a dinámica molecular los candidatos que cumplieron los criterios de priorización definidos para el análisis multidiana: energía de Vina favorable respecto al ligando de referencia, red de contactos coherente con el farmacóforo del sitio y $\Delta G_{\text{MM/GBSA}} \leq -20 \text{ kcal mol}^{-1}$.

10.6 Análisis de interacciones

Las mejores poses se inspeccionaron para identificar los residuos involucrados en la estabilización del complejo. Se registraron enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, contactos π - π , π -alquilo, π -catión, π -azufre, contactos con cofactores y otras interacciones relevantes para cada sitio.

El patrón de interacción de cada candidato se comparó con el observado para el sustrato natural y para el fármaco o inhibidor de referencia. Esta comparación se usó como criterio cualitativo para evaluar la coherencia estructural de la pose. El formalismo cuantitativo empleado para integrar esta comparación en CADMA-Chem, incluyendo el *Similarity Interaction Score*, se presenta en el capítulo 1.

10.7 Dinámica molecular

Las simulaciones se realizaron en GROMACS 2022.5. La proteína se describió con el campo de fuerza AMBER ff14SB y los ligandos con GAFF2. El sistema se solató en una caja dodecaédrica con agua TIP3P y NaCl 0.15 M con parámetros de Joung–Cheatham.

El protocolo de equilibración comprendió minimización por descenso más pronunciado durante 50 000 pasos, equilibración NVT de 100 ps a 298.15 K con restricciones sobre los átomos pesados del ligando ($1\,000\text{ kJ mol}^{-1}\text{ nm}^{-2}$) y equilibración NPT de 1 ns a 1 bar con termostato V-rescale y barostato Parrinello–Rahman. La fase de producción consistió en tres réplicas independientes de 100 ns cada una.

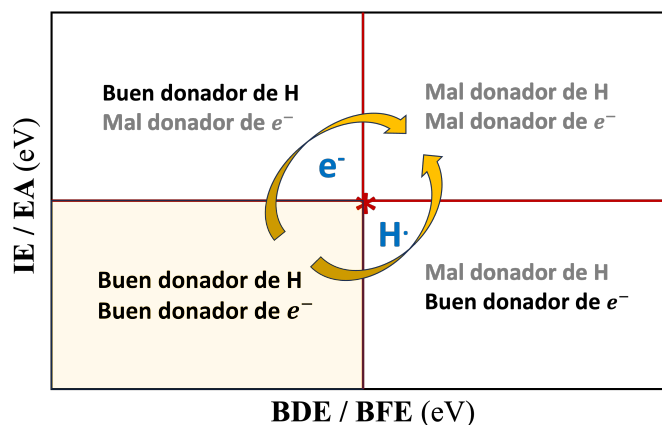
Las ecuaciones de movimiento se integraron con un paso de 2 fs y los enlaces a hidrógeno se restringieron con LINCS. La electrostática de largo alcance se trató con PME, usando un radio de corte de 1.0 nm. La estabilidad del complejo se analizó mediante RMSD de la proteína y del ligando, RMSF, distancia ligando–sitio de unión, número de enlaces de hidrógeno, número de contactos y ocupación de residuos del sitio de unión.

La energía libre de unión se estimó por MM/GBSA sobre los últimos 20 ns de cada réplica, tomando un marco cada 100 ps, con descomposición por residuo. Estos análisis permitieron evaluar si la pose obtenida por docking se mantenía estable en un entorno dinámico y si los residuos clave del sitio de unión conservaban interacciones persistentes con el candidato.

Los archivos .mdp de referencia se incluyen en el Apéndice [C.3](#).

Capítulo 1

CADMA-Chem



CADMA-Chem (*Computer-Assisted Design of Multifunctional Antioxidants based on CHEMical properties*) es una metodología computacional desarrollada para el diseño sistemático de antioxidantes multifuncionales con potencial neuroprotector. En este capítulo se describe el protocolo, qué se decidió, por qué, y qué criterios e índices se construyeron durante el desarrollo.

Primero se define el espacio químico, se eliminan los candidatos inadecuados, se prioriza la reactividad antioxidante y se evalúa las dianas biológicas. Solo los candidatos que cumplan con todos los criterios avanzan en el proceso. Esta jerarquía surge de una restricción práctica fundamental: las etapas computacionalmente más costosas —evaluación de reactividad antioxidante con teoría de funcionales de la densidad (DFT) y evaluación multidiana con dinámica molecular— resultan inviables para bibliotecas de miles de estructuras.

Etapa	Pregunta de decisión	Herramienta / criterio	Salida
I	¿Qué posiciones son modificables sin comprometer el reconocimiento biológico? ¿Qué sustituyentes introducen las funciones químicas deseadas?	Farmacóforo de consenso; reglas de sustitución	Biblioteca de derivados
II	¿Qué candidatos tienen perfil farmacocinético, toxicológico y sintético comparable al de neuroprotectores aprobados?	S^S (orden), criterios de advertencia y apagadores Δ (eliminación) vs. <i>RefSet</i>	Subconjunto priorizado y elegible
III-A	¿La molécula puede capturar radicales, inhibir producción de $\cdot\text{OH}$ y reparar biomoléculas oxidadas?	eH-DAMA (filtro termodinámico rápido); QM-ORSA si supera el filtro	Candidatos con actividad antioxidante caracterizada
III-B	¿Conserva o mejora la afinidad frente a dianas neuroprotectoras?	S^P y docking (descarte rápido); DM/ONIOM si se requiere refinamiento	Candidatos con actividad multidiana caracterizada
IV	¿Los candidatos seleccionados son robustos bajo condiciones más exigentes de simulación?	DM explícita, MM/GBSA, ONIOM	Refinamiento y jerarquización final

Tabla 1.1: Preguntas de decisión, herramientas de cribado y criterios de selección aplicados en las etapas del protocolo CADMA-Chem.

Los resultados de cada bloque retroalimentan el diseño: candidatos con S^S alto pero con criterios de advertencia o apagadores activados pueden reoptimizarse antes de avanzar; candidatos con buena capacidad antioxidante pero reconocimiento molecular débil puede rediseñarse sin sacrificar la multifuncionalidad. CADMA-Chem no desplaza a la química cuántica, QM-ORSA, el acoplamiento molecular ni la dinámica molecular; los articula en un sistema de decisión reproducible.

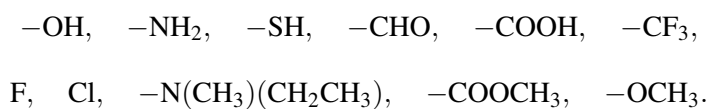
El diagrama de flujo completo se muestra en las Figuras 1.1 y 1.2, y está disponible en formato interactivo en [este enlace](#).

1.1 Espacio de candidatos

Para iniciar el diseño es necesario partir de un andamio con actividad farmacológica, antioxidante o neuroprotectora documentada. La selección del andamio condiciona todas las etapas posteriores: debe reunir dos condiciones simultáneas. La primera, tener un mecanismo de acción conocido. La segunda, poseer sitios estructurales modificables que no comprometan los elementos farmacofóricos responsables de dicha actividad.

Los sitios de sustitución se determinan en función de la compatibilidad química, la conservación de los motivos farmacofóricos, la modulación de la reactividad antioxidante y, si es necesario, la mejora de las interacciones entre el ligando y el receptor. En cada posición designada, se incorporan sustituyentes con funciones químicas específicas: ajustar las propiedades ácido-base, facilitar la transferencia de electrones o hidrógeno, coordinarse con los metales redox y modular la permeabilidad.

Los grupos considerados incluyen:



1.2 Farmacóforo de consenso

El análisis farmacofórico se incorporó a CADMA-Chem para convertir los datos estructurales de complejos proteína–ligando en principios de diseño. Su propósito no se limita a caracterizar interacciones conocidas, sino que permite determinar qué rasgos deben conservarse, imitarse o reforzarse durante la construcción de candidatos.

Para cada diana, los ligandos cristalográficos disponibles permiten identificar sitios donadores y aceptores de puente de hidrógeno, regiones aromáticas, zonas hidrofóbicas y otros contactos que contribuyen a estabilizar el complejo. A partir de esta información, el farmacóforo de consenso establece pautas de diseño: las posiciones modificables del andamio se priorizan cuando permiten introducir sustituyentes capaces de interactuar con estas regiones sin comprometer los rasgos

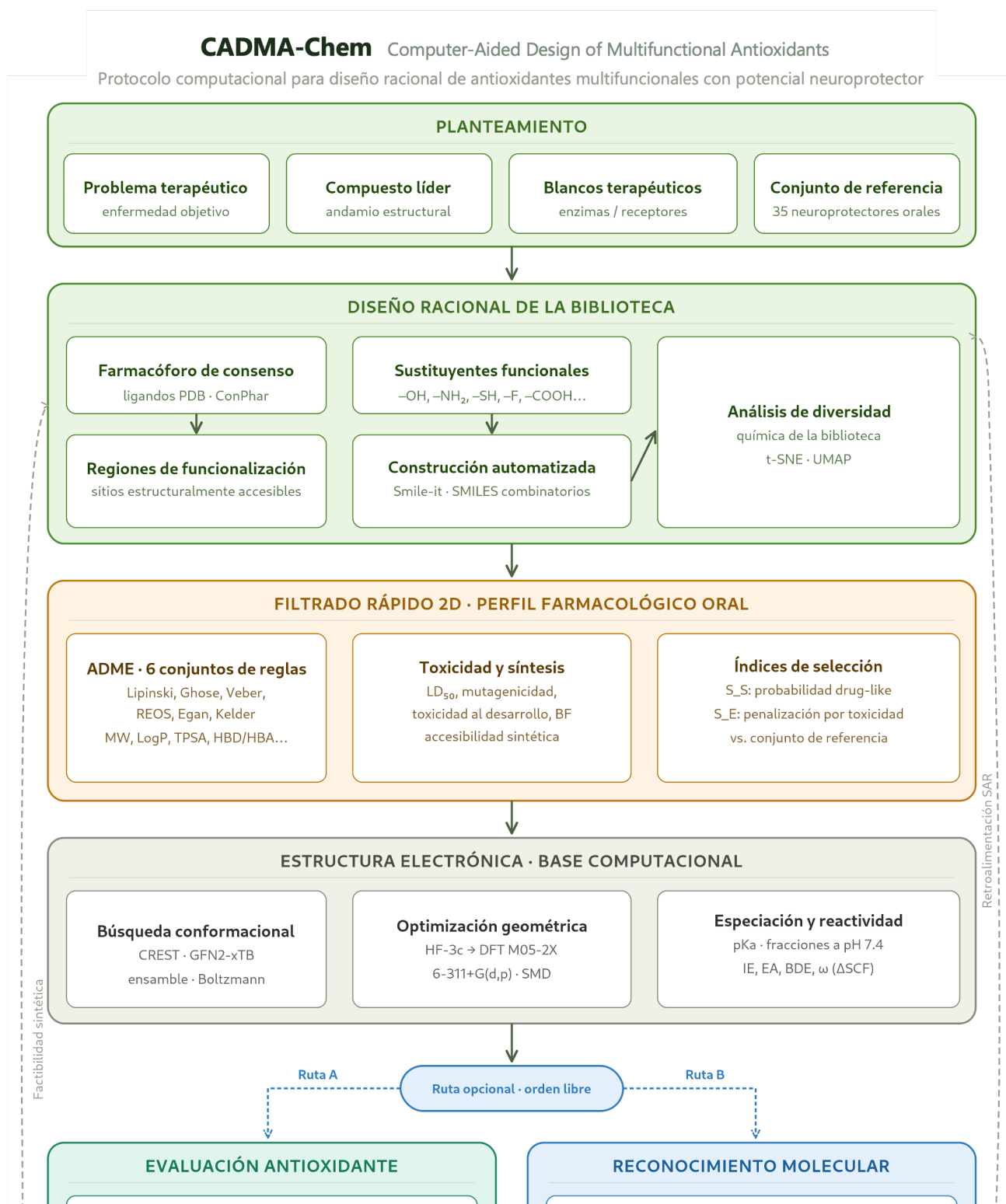


Figura 1.1: Esquema general del protocolo *CADMA-Chem*, primera parte.

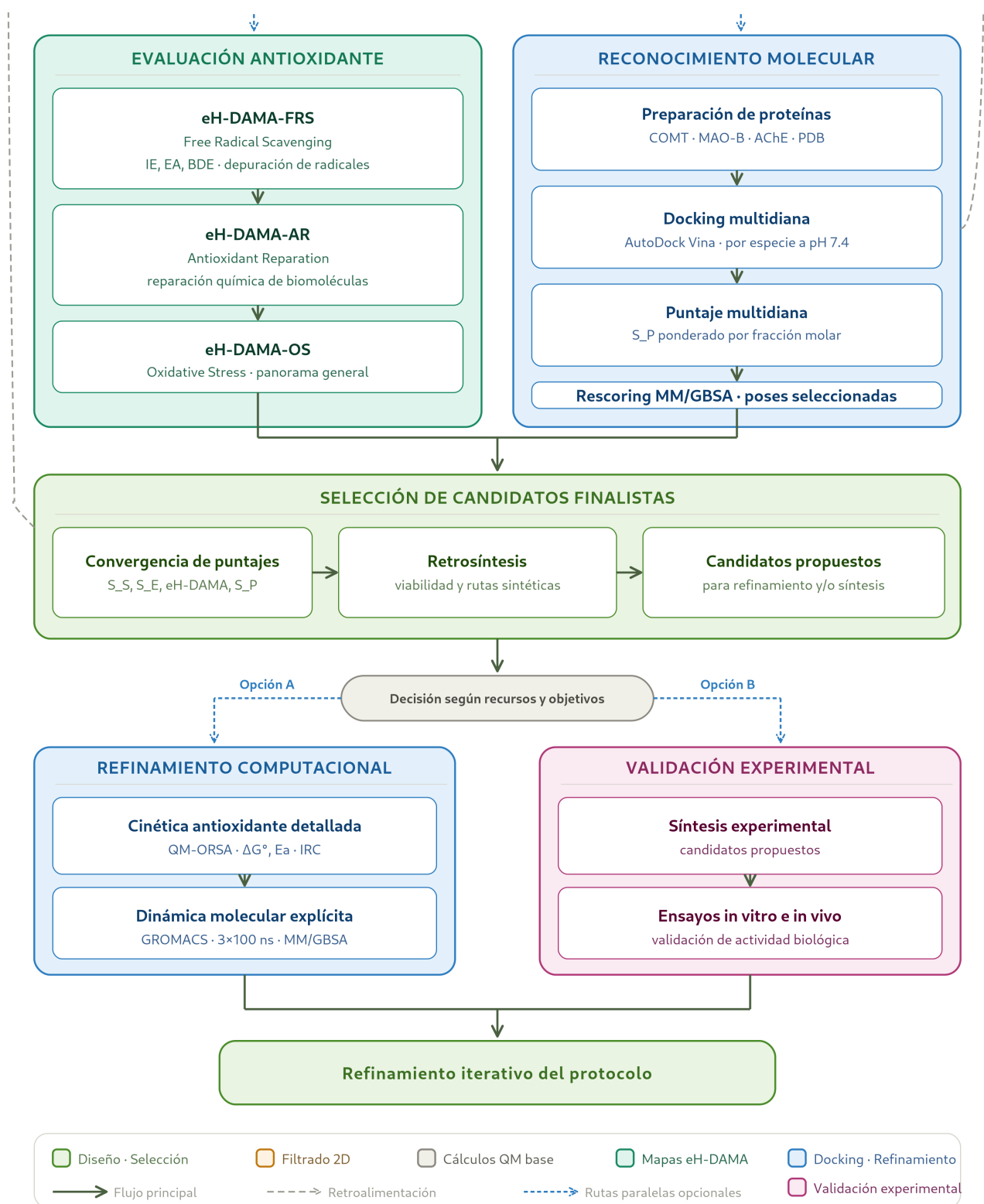


Figura 1.2: Esquema general del protocolo *CADMA-Chem*, continuación.

estructurales necesarios para la unión. En cambio, las posiciones que coinciden con características farmacofóricas de alta frecuencia y baja varianza posicional permanecen inalteradas.

Los sustituyentes no se seleccionan únicamente por mejorar descriptores antioxidantes o ADME, sino también por su compatibilidad con los patrones de reconocimiento molecular relevantes para neuroprotección. El procedimiento operativo de extracción y cálculo del farmacóforo se describe en este capítulo y en el Apéndice C.1.

1.3 Conjunto de referencia de neuroprotectores (*RefSet*)

Cualquier criterio cuantitativo de filtrado requiere definir una referencia frente a la cual comparar. Las reglas empíricas disponibles en la literatura —Lipinski, Ghose, Veber, REOS, Egan, Kelder— establecen intervalos de propiedades asociados a biodisponibilidad oral, pero fueron calibradas sobre conjuntos heterogéneos de fármacos y no consideran la distribución en el sistema nervioso central ni los perfiles toxicológicos específicos de los neuroprotectores. Aplicarlas directamente podría implicar usar como referencia una población farmacológica que no corresponde al espacio de diseño de este trabajo.

Para resolver esto se construyó el *RefSet*: un conjunto de 45 fármacos de administración oral aprobados específicamente para indicaciones neurológicas (Tabla 1.2). El criterio de inclusión fue la aprobación regulatoria para uso oral en neurología al momento de la búsqueda, sin restricción de mecanismo de acción ni de clase química. La heterogeneidad estructural del *RefSet* es deliberada: un conjunto diverso refleja mejor la distribución real de propiedades en el espacio de fármacos neuroprotectores que uno sesgado hacia una familia química particular.

La decisión de calcular las propiedades del *RefSet* con los mismos programas que se aplican a los derivados —T.E.S.T.⁹⁰ para toxicidad y AMBIT-SA⁸⁹ para accesibilidad sintética— es un requisito mínimo para argumentar la validez de las comparaciones. Si alguno de los softwares es sustituido entonces es necesario repetir las estimaciones en los valores de este conjunto. Comparar valores experimentales del *RefSet* con valores predichos de los candidatos podría introducir un sesgo sistemático cuya dirección y magnitud serían difíciles de estimar por lo cual ese paso se descarta.

Los valores de la Tabla 1.2 indican que el *RefSet* consiste en una colección diversa de fármacos neuroactivos aprobados, y no en una familia química única. Esta diversidad es relevante porque el protocolo toma como referencia una distribución realista de propiedades observadas en moléculas de uso clínico, en lugar de ajustarse a una sola clase estructural.

La masa molar promedio, $288.62 \text{ g mol}^{-1}$, ubica al conjunto dentro del dominio de moléculas pequeñas. Sin embargo, la presencia de compuestos de mayor tamaño, como bromocriptina, muestra que el espacio de fármacos neuroactivos orales puede tolerar cierto grado de complejidad estructural. Por ello, el promedio y la dispersión del *RefSet* proporcionan una escala comparativa útil para evaluar los derivados diseñados.

Tabla 1.2: Propiedades farmacocinéticas, valores de toxicidad y estimación de la accesibilidad sintética de los fármacos de administración oral aprobados para enfermedades neurodegenerativas.

	Compuesto	LD ₅₀	M	Log P	TPSA	^x At	MW	HB(a)	HB(d)	Rot	R ^M	AS
1	Acetylcarnitine	3082.83	NA	-5.33	66.43	14	203.24	5	0	6	46.41	3.31
2	Amantadine	287.44	0.42	1.91	26.02	11	151.25	1	1	0	45.09	67.79
3	Apomorphine	227.35	0.75	3.16	51.37	25	338.45	5	2	3	103.47	5.98
4	Atuzaginstat	282.47	0.69	2.86	81.42	27	386.41	4	2	10	93.61	79.15
5	Baclofen	414.85	0.09	1.86	63.32	14	213.66	2	2	4	55.50	84.65
6	Benserazide	2109.22	0.74	-1.76	148.07	18	257.25	7	7	5	61.48	76.37
7	Benzatropine	474.55	0.11	4.42	12.47	23	307.44	2	0	4	93.41	71.75
8	Biperiden	347.75	0.02	3.96	23.47	23	311.47	2	1	5	94.09	62.69
9	Blarcamesine	137.40	-0.10	3.53	12.47	21	281.40	2	0	4	86.28	79.26
10	Brexipirazole	588.07	0.64	4.72	48.57	31	433.58	5	1	7	129.78	84.60
11	Bromocriptine	100.75	0.05	3.19	118.21	43	654.61	6	3	5	164.16	55.27
12	Cabergoline	278.39	0.60	3.19	71.68	33	451.62	4	2	8	132.37	66.48
13	Caffeine	222.13	0.19	-1.03	61.82	14	194.19	3	0	0	51.20	85.58
14	Carbidopa	1917.02	0.59	-2.81	115.81	16	226.23	6	6	4	61.54	3.68
15	Curcumin	894.92	0.07	3.37	93.06	27	368.39	6	2	8	102.02	84.16
16	Dantrolene	872.70	0.77	1.74	118.05	23	314.26	6	1	4	78.64	82.34
17	Donepezil	595.33	0.23	4.36	38.77	28	379.50	4	0	6	110.13	81.36
18	Eicosapentaenoic Acid	8549.55	0.60	5.99	37.30	22	302.46	1	1	13	95.95	77.37
19	Entacapone	1162.80	0.97	1.78	127.70	22	305.29	6	2	5	77.94	81.13
20	Escitalopram	384.98	0.48	3.81	36.26	24	324.40	3	0	5	90.91	76.72
21	Fingolimod	5986.27	0.14	3.20	66.48	22	307.48	3	3	12	92.93	86.66
22	Galantamine	490.38	0.46	1.85	41.93	21	287.36	4	1	1	79.80	64.15
23	Hydralazine	315.46	0.89	0.92	63.83	12	160.18	4	2	1	47.35	86.17
24	L-DOPA	2624.71	0.26	0.05	103.78	14	197.19	4	4	3	49.09	84.14
25	Ladostigil	215.22	0.27	2.35	41.57	20	272.35	3	1	4	78.67	76.21
26	Lisuride	2358.41	0.45	1.22	60.16	19	273.36	3	2	5	84.04	3.41
27	Masitinib	986.59	0.43	5.26	73.39	36	498.66	7	2	7	146.98	85.48
28	Melatonin	1913.49	0.08	1.86	54.12	17	232.28	2	2	4	67.24	89.91
29	Memantine	277.49	0.19	2.69	26.02	13	179.31	1	1	0	54.32	54.04
30	Modafinil	564.23	0.11	2.77	26.02	13	179.31	1	2	0	54.06	5.30
31	Opicapone	3848.00	0.46	3.28	149.46	27	413.17	8	2	3	93.61	74.32
32	Piribedil	486.40	0.10	1.53	50.72	22	298.35	6	0	3	82.09	88.32
33	Pramipexole	1909.73	0.41	1.58	50.94	14	211.33	4	2	3	60.63	76.97
34	Procyclidine	437.09	-0.01	3.94	23.47	21	287.45	2	1	5	87.20	82.05
35	Rasagiline	279.24	0.27	1.90	12.03	13	171.24	1	1	2	54.34	80.37
36	Remacemide	870.47	0.15	2.22	55.12	20	268.36	2	2	5	81.14	83.39
37	Riluzole	154.43	0.72	2.78	48.14	15	234.20	4	1	1	50.72	86.28
38	Rivastigmine	389.57	0.66	2.76	32.78	18	250.34	3	0	4	72.87	81.43
39	Ropinirole	578.62	0.50	2.85	32.34	19	260.38	2	1	7	79.50	84.17
40	Rotigotine	823.33	0.29	4.27	23.47	22	315.48	3	1	6	93.81	78.63
41	Selegiline	311.03	0.67	2.18	3.24	14	187.29	1	0	4	61.07	81.99
42	Simufilam	529.46	0.19	1.04	35.58	19	259.35	3	1	2	74.46	77.96
43	Tacrine	1265.26	0.96	2.70	38.91	15	198.27	2	1	0	62.80	88.73
44	Tetrabenazine	373.60	0.32	3.24	38.77	23	317.43	4	0	4	90.13	75.10
45	Tizanidine	400.35	0.33	1.72	62.20	16	253.72	6	2	1	66.35	78.25
	PROMEDIO	1177.29	0.41	2.45	59.98	20.93	288.62	3.78	1.62	4.67	80.59	69.43
	MÁXIMO	8549.55	0.97	5.99	149.46	43.00	654.61	8.00	7.00	13.00	164.16	89.91
	MÍNIMO	100.75	-0.10	-5.33	3.24	11.00	151.25	1.00	0.00	0.00	45.09	3.41
	DESV. ESTÁNDAR	1716.37	0.28	2.16	37.03	7.27	103.54	1.83	1.45	3.11	27.56	24.89

LD₅₀ Concentración letal en ratas, Log P logaritmo de la constante de reparto octanol-agua, TPSA área superficial polar, ^xAt número de átomos diferentes de H, MW masa molar, HB(a) aceptores de hidrógeno, HB(d) donadores de hidrógeno, Rot número de enlaces rotables, R^M refractividad molar, AS accesibilidad sintética.

La lipofilia y el área superficial polar muestran una variación considerable: $\log P$ abarca desde compuestos hidrofílicos hasta compuestos lipofílicos, y $TPSA$ incluye tanto estructuras poco polares como moléculas ricas en heteroátomos. Esta dispersión refuerza la necesidad de no interpretar cada descriptor de manera aislada, ya que los fármacos aprobados pueden ocupar regiones distintas del espacio fisicoquímico.

En contraste, los descriptores asociados a enlaces de hidrógeno y flexibilidad son más acotados. En general, los compuestos presentan pocos donadores de hidrógeno, un número moderado de aceptores y una flexibilidad limitada. Este punto es importante para el diseño de derivados, porque la funcionalización debe mejorar la actividad antioxidante o multidiana sin incrementar de forma excesiva la polaridad, la solvatación o la libertad conformacional.

Las estimaciones de toxicidad y accesibilidad sintética se interpretan de forma comparativa, no como valores absolutos. Su función no es sustituir evaluaciones experimentales o análisis retrosintéticos detallados, sino establecer una escala interna consistente, calculada con los mismos programas que se aplican a los candidatos.

En conjunto, el *RefSet* establece la referencia cuantitativa inicial de CADMA-Chem. Sus promedios y desviaciones estándar sirven como base para normalizar propiedades y formular, en las secciones siguientes, los criterios de selección, advertencia y eliminación. Si el protocolo se adapta a otra familia terapéutica, el conjunto de referencia debe actualizarse y sus propiedades deben recalcularse con los mismos programas usados para evaluar a los candidatos.

El *RefSet* define los valores de referencia que aparecen en las ecuaciones de S^S , de los criterios de advertencia y de los apagadores de la Sección 1.5. Su construcción es el primer resultado metodológico del protocolo: sin él, los índices no tienen significado.

1.4 Intervalos fisicoquímicos CADMA-Chem

Una vez establecido el *RefSet*, el desafío posterior consistió en delinear las propiedades fisicoquímicas que diferencian a los candidatos con probable biodisponibilidad oral de los que no la tienen. La bibliografía existente ofrece una solución fragmentada: cada regla se refiere a un aspecto específico de la biodisponibilidad y a un subconjunto de fármacos definido. Sin embargo, ninguna es adecuada de forma independiente, ya que cada una aborda solo un segmento del panorama farmacológico pertinente.

En CADMA-Chem se adoptó la intersección de seis reglas —Lipinski,¹⁰⁹ Ghose,¹¹⁰ Veber,¹¹¹ REOS,¹¹² Egan¹¹³ y Kelder¹¹⁴— como estrategia de filtrado. La intersección es más restrictiva que cualquiera de las reglas individuales; esta postura conservadora privilegia rechazar candidatos con propiedades ADME dudosas antes de invertir esfuerzo computacional en etapas costosas. Los intervalos resultantes se recogen en la Tabla 1.3.

Tabla 1.3: Intervalos de propiedades fisicoquímicas según criterios de biodisponibilidad y el rango adoptado en *CADMA-Chem*.

Propiedad	Lipinski	Ghose	Veber	REOS	Egan	Kelder	<i>CADMA-Chem</i>
MW (Da)	≤ 500	160–480	–	200–500	–	–	200–480
LogP	≤ 5	-0.4–5.6	–	-2.0–5.0	-0.4–5.88	–	-0.4–5.0
HBD	≤ 5	–	–	≤ 5	–	–	≤ 5
HBA	≤ 10	–	–	≤ 10	–	–	≤ 10
TPSA ($\text{\AA}^2$)	–	–	≤ 140	–	≤ 131.6	$(\leq 70)^a$	≤ 70
RB	–	–	≤ 10	≤ 8	–	–	≤ 8
^MR	–	40–130	–	40–130	–	–	40–130
^xAt	–	20–70	–	20–50	–	–	20–50

MW: masa molar; LogP: coeficiente de partición octanol-agua; HBD/HBA: donadores/aceptores de hidrógeno; TPSA: área polar superficial topológica; RB: enlaces rotantes; ^MR : refractividad molar; ^xAt : átomos pesados. ^a El límite de 70 $\text{\AA}^2$ para TPSA se adopta para favorecer la penetración en el sistema nervioso central.¹¹⁴

El criterio de TPSA merece atención especial. Kelder et al. establecieron $\leq 70 \text{\AA}^2$ como umbral para la penetración en el SNC, un requerimiento que no es compartido por todas las reglas de biodisponibilidad general. Dado que todos los casos de estudio de esta tesis son neuroprotectores potenciales, adoptar este límite —en lugar del $\leq 140 \text{\AA}^2$ de Veber o el $\leq 131.6 \text{\AA}^2$ de Egan— es coherente con el objetivo terapéutico y con la distribución de TPSA observada en el *RefSet*. Este es el primer caso en que el *RefSet* valida una decisión del protocolo: la distribución de TPSA de los 45 neuroprotectores de referencia es compatible con ese límite, lo que confirma que el criterio no es arbitrario sino consistente con la práctica clínica en neurología.

1.5 Puntajes de selección y criterios de eliminación

Los intervalos de la Tabla 1.3 permiten calificar cada propiedad individualmente, pero no resuelven el problema de integrar toda esa información en una decisión de priorización. Una biblioteca de mil candidatos puede tener cientos que satisfacen siete de las ocho propiedades; distinguir entre ellos requiere un índice continuo que capture la posición relativa de cada candidato dentro del espacio de propiedades, no solo si cumple o no un umbral binario.

Este problema motivó el desarrollo del puntaje de selección S^S y, como complemento, de un sistema de criterios de advertencia y apagadores de eliminación. La función de S^S es ordenar candidatos aceptables frente al *RefSet*; la función de los criterios de advertencia es identificar propiedades individuales que podrían quedar enmascaradas por el promedio; y la función de los apagadores Δ es impedir que una desviación crítica sea compensada por valores favorables en otras propiedades.

En versiones preliminares se evaluó un puntaje de eliminación independiente, S^E . Esa formulación se descartó porque podía interpretarse como otro índice compensatorio. La versión final separa explícitamente ordenamiento y eliminación: S^S jerarquiza candidatos elegibles, las advertencias documentan desviaciones locales y los apagadores Δ aplican reglas no compensatorias.

1.5.1 Índice de selección S^S

S^S cuantifica la posición de cada candidato frente al *RefSet* en tres dimensiones: farmacocinética (ADME), toxicidad (T) y accesibilidad sintética (SA):

$$S^S = 0.4 S_{ADME} + 0.4 S_T + 0.2 S_{SA}. \quad (1.1)$$

Los pesos reflejan una jerarquía de importancia: la farmacocinética y la seguridad son condiciones necesarias para cualquier candidato a fármaco y reciben igual peso (40 % cada una); la accesibilidad sintética es relevante pero puede optimizarse en etapas posteriores de diseño, por lo que recibe menor peso (20 %). Un valor $S^S > 1$ indica que el candidato supera, en promedio ponderado, al fármaco representativo del *RefSet*.

Componente ADME (S_{ADME})

Para cada propiedad fisicoquímica se evalúa si el candidato cae dentro del intervalo CADMA-Chem:

$$S_{PropFQ} = \begin{cases} 1, & \text{si Propiedad} \in [\text{Intervalo CADMA-Chem}], \\ 0, & \text{en caso contrario.} \end{cases} \quad (1.2)$$

La suma se normaliza por el número promedio de propiedades que cumplen los fármacos del *RefSet* ($\overline{\#P}^{\text{RefSet}} = 8$ para enfermedades neurodegenerativas):

$$S_{ADME} = \frac{S^{\log P} + S^{HBD} + S^{HBA} + S^{MW} + S^{MR} + S^{xAt} + S^{RB} + S^{PSA}}{\overline{\#P}^{\text{RefSet}}}. \quad (1.3)$$

La normalización por el promedio del *RefSet*, en lugar del máximo posible, evita penalizar candidatos que satisfacen tantas propiedades como el fármaco promedio aprobado.

Componente de toxicidad (S_T)

Se evalúan tres descriptores predichos por T.E.S.T.: dosis letal media en ratas (LD_{50}), mutagenicidad (M) y toxicidad al desarrollo (DT). El uso de escala logarítmica comprime diferencias extremas y hace el índice robusto frente a valores atípicos en el *RefSet*. Para LD_{50} , valores mayores indican menor toxicidad:

$$S_{LD_{50}} = 1 + \log_{10} \left[\frac{1 + LD_{50, \text{candidato}}}{1 + LD_{50, \text{RefSet}}} \right]. \quad (1.4)$$

Para M y DT , valores menores son más favorables:

$$S_M = 1 - \begin{cases} \log_{10} \left[\frac{1 + M}{1 + M_{\text{RefSet}}} \right], & M \in [0, 1], \\ \log_{10} \left[\frac{1}{1 + M_{\text{RefSet}}} \right], & M < 0, \\ \log_{10} \left[\frac{2}{1 + M_{\text{RefSet}}} \right], & M > 1, \end{cases} \quad (1.5)$$

$$S_{DT} = 1 - \begin{cases} \log_{10} \left[\frac{1 + DT}{1 + DT_{\text{RefSet}}} \right], & DT \in [0, 1], \\ \log_{10} \left[\frac{1}{1 + DT_{\text{RefSet}}} \right], & DT < 0, \\ \log_{10} \left[\frac{2}{1 + DT_{\text{RefSet}}} \right], & DT > 1. \end{cases} \quad (1.6)$$

$$S_T = \frac{S_{LD50} + S_M + S_{DT}}{3}. \quad (1.7)$$

Componente de accesibilidad sintética (S_{SA})

$$S_{SA} = \frac{SA_{\text{candidato}}}{SA_{\text{RefSet}}}. \quad (1.8)$$

En todas las componentes, $S > 1$ indica desempeño superior al fármaco promedio del *RefSet* y $S < 1$ indica desempeño inferior. La escala continua permite ordenar candidatos que superan todos los umbrales binarios, problema que el filtrado por intervalos no puede resolver.

1.5.2 Criterios de advertencia

El promedio ponderado que define S^S introduce un problema: puede enmascarar desviaciones críticas en propiedades individuales. Un candidato con excelente accesibilidad sintética y buenas propiedades ADME puede obtener $S^S > 1$ aunque tenga una señal toxicológica desfavorable, porque la contribución positiva de las otras componentes compensa la penalización. Este comportamiento es inadecuado para un protocolo de diseño de candidatos a fármaco.

Por ello, CADMA-Chem incorpora criterios de advertencia ortogonales a S^S . Estos criterios no sustituyen al índice de selección; señalan cuándo una propiedad individual se aparta del dominio aceptable y requiere consideración independiente del promedio global.

Advertencias fisicoquímicas

Para cada propiedad fisicoquímica X , se define una advertencia cuando el candidato cae fuera de la intersección entre el intervalo CADMA-Chem y el intervalo del 95 % del *RefSet*:

$$I_X = [X_{\min}^{\text{CADMA}}, X_{\max}^{\text{CADMA}}] \cap [\bar{X}_{\text{RefSet}} - 2\sigma_X, \bar{X}_{\text{RefSet}} + 2\sigma_X]. \quad (1.9)$$

Equivalentemente, la violación fisicoquímica se expresa como una función binaria:

$$\text{Violation}_X = \begin{cases} 1, & \text{si } X < \max\{X_{\min}^{\text{CADMA}}, \bar{X}_{\text{RefSet}} - 2\sigma_X\} \\ & \text{o } X > \min\{X_{\max}^{\text{CADMA}}, \bar{X}_{\text{RefSet}} + 2\sigma_X\}, \\ 0, & \text{en otro caso.} \end{cases} \quad (1.10)$$

La Figura 1.3 ilustra los casos posibles de violación según la dispersión del *RefSet*. Si la dispersión es baja, el intervalo del *RefSet* resulta más estrecho que el intervalo CADMA-Chem; la advertencia entonces identifica candidatos que se alejan del comportamiento observado en fármacos aprobados aunque todavía estén dentro de las reglas generales de biodisponibilidad. Si la dispersión es alta, el intervalo CADMA-Chem opera como límite externo y evita aceptar valores extremos solo por la heterogeneidad del *RefSet*.

Advertencias toxicológicas

Para los parámetros de toxicidad, la advertencia se aplica únicamente cuando el desempeño es peor que el promedio del *RefSet*. Para LD_{50} , donde un valor menor indica mayor toxicidad, se asigna una advertencia de grado 1 si el valor cae por debajo del promedio del *RefSet*, y una advertencia de grado 2 si cae por debajo de una desviación estándar:

$$\text{Violation}_{\text{LD}_{50}} = \begin{cases} 2, & \text{si } \text{LD}_{50} < \text{LD}_{50,\text{ref}} - \sigma_{\text{LD}_{50}}, \\ 1, & \text{si } \text{LD}_{50,\text{ref}} - \sigma_{\text{LD}_{50}} \leq \text{LD}_{50} < \text{LD}_{50,\text{ref}}, \\ 0, & \text{si } \text{LD}_{50} \geq \text{LD}_{50,\text{ref}}. \end{cases} \quad (1.11)$$

Para mutagenicidad (M) y toxicidad al desarrollo (DT), donde valores mayores indican peor perfil toxicológico, se define:

Intersección entre el intervalo CADMA-Chem y el intervalo 95% del RefSet

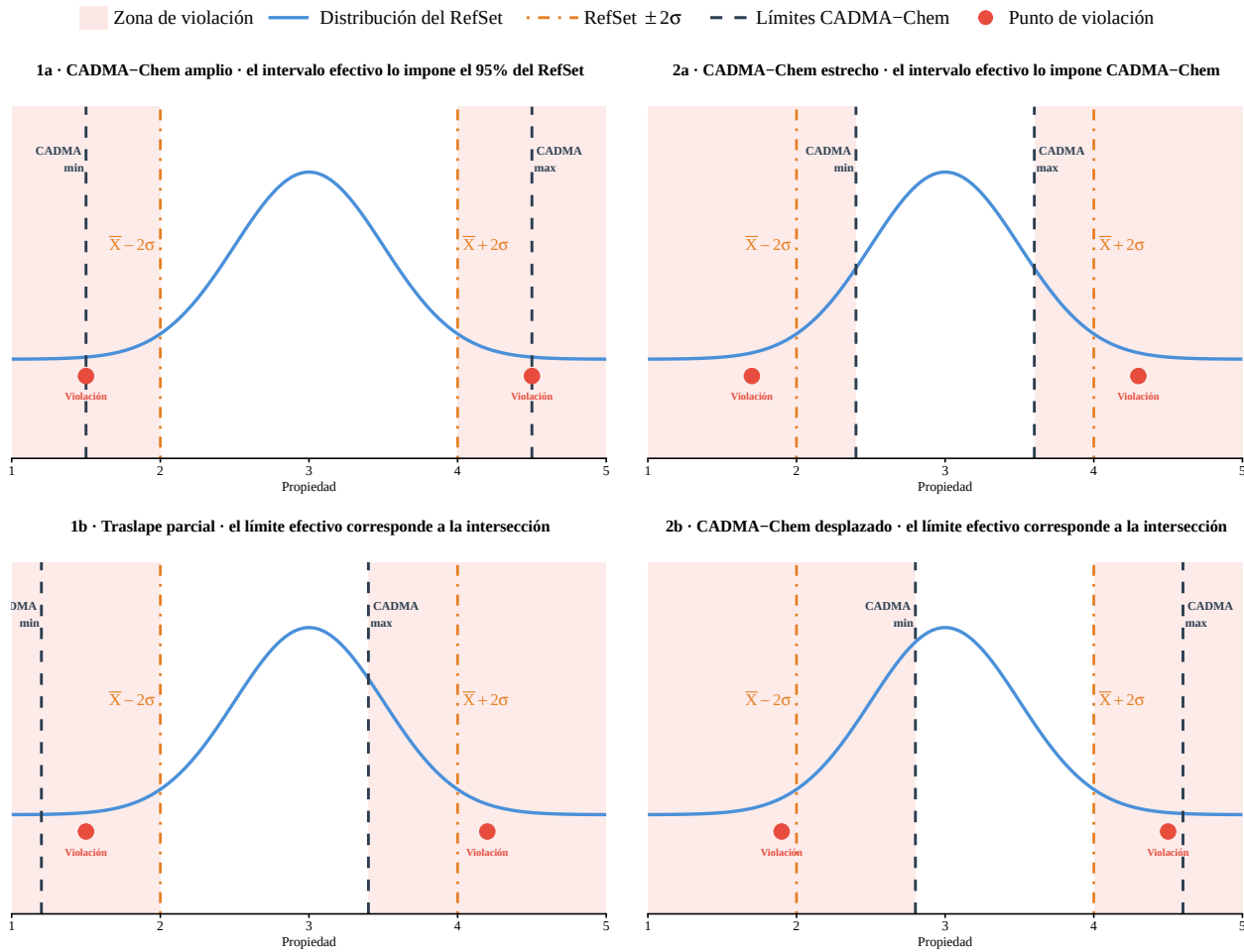


Figura 1.3: Intervalos para las propiedades fisicoquímicas considerados adecuados durante el filtrado de candidatos. Las zonas en rojo corresponden a violaciones que activan criterios de advertencia.

$$\text{Violation}_X = \begin{cases} 2, & \text{si } X > X_{\text{ref}} + \sigma_X, \\ 1, & \text{si } X_{\text{ref}} < X \leq X_{\text{ref}} + \sigma_X, \\ 0, & \text{si } X \leq X_{\text{ref}}, \end{cases} \quad X \in \{M, DT\}. \quad (1.12)$$

Las advertencias de grado 1 señalan desviaciones moderadas; las de grado 2 señalan desviaciones críticas. Esta distinción mantiene compatibilidad con la formulación original del conteo de violaciones y prepara la transición a una regla final de eliminación no compensatoria.

1.5.3 Apagadores de eliminación

La formulación inicial de los criterios de advertencia operaba como una señal pasiva: un compuesto podía acumular violaciones individuales y aun así conservar un valor alto de S^S si sus demás componentes eran favorables. Para evitar

que el promedio global enmascarara desviaciones críticas, se reemplaza el uso del conteo de violaciones como criterio final por un sistema de apagadores binarios.

Cada apagador $\delta_k \in \{0, 1\}$ indica si el candidato conserva su elegibilidad respecto a una propiedad crítica k . El valor $\delta_k = 1$ indica que la propiedad se mantiene dentro del dominio aceptable, mientras que $\delta_k = 0$ indica que la propiedad activa un criterio de eliminación:

$$\delta_k = \begin{cases} 1, & \text{si la propiedad } k \text{ no activa eliminación,} \\ 0, & \text{si la propiedad } k \text{ activa eliminación.} \end{cases} \quad (1.13)$$

Apagador farmacocinético

Para cada propiedad fisicoquímica $X \in \{\log P, HBD, HBA, MW, MR, {}^xAt, RB, PSA\}$, el dominio aceptable se define mediante el intervalo combinado I_X de la Ecuación 1.9. El apagador asociado a cada propiedad es:

$$\delta_X = \begin{cases} 1, & \text{si } X \in I_X, \\ 0, & \text{si } X \notin I_X. \end{cases} \quad (1.14)$$

El apagador farmacocinético global se define como el producto de los apagadores individuales:

$$\Delta_{ADME} = \prod_X \delta_X. \quad (1.15)$$

Por tanto, $\Delta_{ADME} = 1$ únicamente si todas las propiedades fisicoquímicas se encuentran dentro de sus intervalos aceptables, y $\Delta_{ADME} = 0$ si al menos una de ellas queda fuera del intervalo correspondiente.

Apagador de toxicidad

Para los descriptores toxicológicos se mantiene la lógica asimétrica definida en los criterios de advertencia: solo se activa eliminación cuando el candidato presenta una desviación desfavorable superior a una desviación estándar respecto al *RefSet*. Para LD_{50} , donde valores menores indican mayor toxicidad, se define:

$$\delta_{LD_{50}} = \begin{cases} 1, & \text{si } LD_{50} \geq LD_{50,ref} - \sigma_{LD_{50}}, \\ 0, & \text{si } LD_{50} < LD_{50,ref} - \sigma_{LD_{50}}. \end{cases} \quad (1.16)$$

Para mutagenicidad (M) y toxicidad en el desarrollo (DT), donde valores mayores indican peor perfil toxicológico, se define:

$$\delta_X = \begin{cases} 1, & \text{si } X \leq X_{\text{ref}} + \sigma_X, \\ 0, & \text{si } X > X_{\text{ref}} + \sigma_X, \end{cases} \quad X \in \{M, DT\}. \quad (1.17)$$

El apagador toxicológico global es:

$$\Delta_T = \delta_{\text{LD}_{50}} \cdot \delta_M \cdot \delta_{DT}. \quad (1.18)$$

Con este esquema, las desviaciones moderadas se mantienen como advertencias, mientras que las desviaciones toxicológicas críticas activan la eliminación automática.

Apagador de accesibilidad sintética

Para accesibilidad sintética, el candidato sigue siendo elegible únicamente si su puntaje normalizado es igual o superior al promedio del *RefSet*. El apagador correspondiente es:

$$\Delta_{SA} = \begin{cases} 1, & \text{si } S_{SA} \geq 1, \\ 0, & \text{si } S_{SA} < 1. \end{cases} \quad (1.19)$$

Puntaje global corregido por apagadores

El apagador total se obtiene como el producto de los apagadores de cada subsistema:

$$\Delta = \Delta_{\text{ADME}} \cdot \Delta_T \cdot \Delta_{SA}. \quad (1.20)$$

El puntaje de selección corregido por apagadores se define entonces como:

$$S_{\Delta}^S = \Delta \cdot S^S = \Delta_{\text{ADME}} \cdot \Delta_T \cdot \Delta_{SA} \cdot (0.4 S_{\text{ADME}} + 0.4 S_T + 0.2 S_{SA}). \quad (1.21)$$

Así, S^S conserva su función como índice de priorización entre candidatos aceptables, mientras que Δ introduce una regla no compensatoria: si se activa cualquier apagador de eliminación, entonces $\Delta = 0$ y $S_{\Delta}^S = 0$, independientemente del desempeño favorable en las demás propiedades.

1.6 Diagramas eH-DAMA

El filtrado de la etapa II identifica candidatos con propiedades ADME y toxicológicas adecuadas, pero no aporta información sobre su capacidad antioxidante. La evaluación cinética completa con QM-ORSA —que proporciona constantes de velocidad absolutas comparables con experimentos— requiere optimización de estados de transición a nivel DFT para cada sitio y mecanismo. Aplicarla sobre todos los candidatos que superan el filtro S^S sería computacionalmente prohibitivo.

Se necesitaba una herramienta que permitiera priorizar candidatos para la evaluación cinética completa a partir de descriptores de cálculo rápido: potencial de ionización (IE), afinidad electrónica (EA) y energía de disociación de enlace (BDE). Estos tres descriptores son indicadores termodinámicos de la facilidad de SET, de f-HAT y de la estabilidad del radical resultante, respectivamente. El problema era que no existía ninguna representación que los integrara simultáneamente y los hiciera comparables entre sí y frente a antioxidantes de referencia.

Esta necesidad motivó el desarrollo de los diagramas eH-DAMA (*Electron and Hydrogen Donating Ability Map for Antioxidants*): mapas bidimensionales donde el eje vertical representa la capacidad de donación de electrones (IE o ω^- según el régimen de reacción) y el eje horizontal representa la capacidad de donación de hidrógeno (BDE mínima del ensamble). La conexión con la termodinámica de reacción es exacta por la ley de Hess:

$$\begin{aligned}\Delta E_{\text{SET}} &= \text{IE}(\text{Molec}) + \text{EA}(\text{R}^\bullet), \\ \Delta H_{\text{f-HAT}} &= \text{BDE}(\text{Molec-H}) - \text{BDE}(\text{HR}).\end{aligned}$$

La diferencia en posición vertical entre dos especies en el diagrama equivale exactamente a ΔE_{SET} frente al radical de referencia; la diferencia horizontal equivale a $\Delta H_{\text{f-HAT}}$. Un candidato ubicado hacia la zona inferior-izquierda respecto a Trolox o α -tocoferol es termodinámicamente más favorable tanto para SET como para f-HAT, y por tanto se prioriza para la evaluación cinética completa.

Cuando la exergonicidad del SET supera $\approx 25 \text{ kcal mol}^{-1}$, el sistema entra en el régimen invertido de la parábola de Marcus y la IE deja de predecir correctamente la constante de velocidad. En ese caso el eje vertical se sustituye por la potencia electrodonadora ω^- , que mantiene su validez predictiva en ese régimen. Esta adaptación surgió de la experiencia con los primeros casos de estudio, donde algunos candidatos con IE muy baja presentaban constantes de velocidad SET inferiores a las esperadas.

Según la especie de referencia elegida, se definieron tres variantes del diagrama, cada una diseñada para responder una pregunta específica:

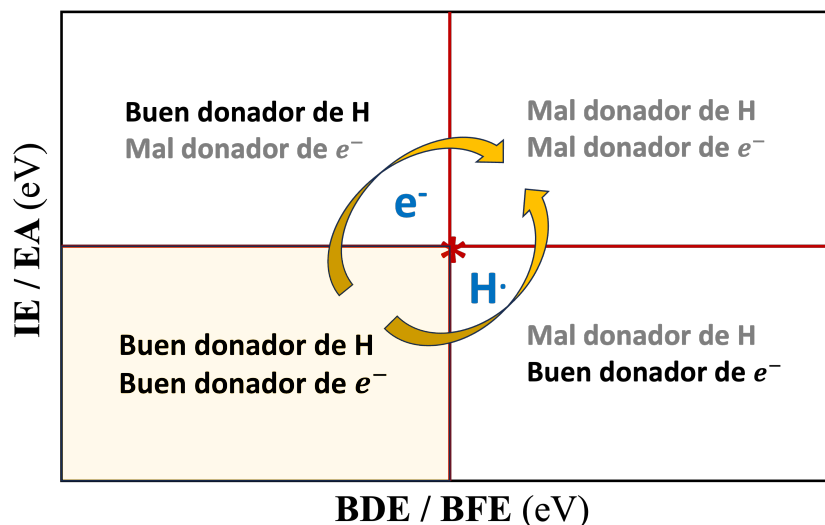


Figura 1.4: Mapa de capacidad de donación de electrones e hidrógeno para antioxidantes (eH-DAMA).

Variante	Comparación	Pregunta
eH-DAMA-FRS	Antioxidante vs. radicales libres biológicamente relevantes ($\text{HOO}^\bullet$, $\cdot\text{OH}$)	¿Captura radicales más rápido que Trolox / α -tocoferol?
eH-DAMA-AR	Antioxidante vs. radicales de biomoléculas oxidadas (lípidos, proteínas, ADN)	¿La termodinámica de reparación es favorable?
eH-DAMA-OS	Oxidante vs. blanco biológico	¿El candidato actuará como antioxidante o como blanco del daño?

Los fundamentos matemáticos de cada variante, los criterios de interpretación cuantitativa y la validación frente a constantes de velocidad experimentales se presentan en el Apéndice B.8.

1.7 Multifuncionalidad antioxidante

La decisión de evaluar la capacidad antioxidante en tres niveles distintos —AOX-I, AOX-II y AOX-III— no surgió de la revisión bibliográfica inicial sino de la observación de los primeros resultados. Varios derivados con excelente captación de radicales libres (AOX-I) presentaban $\Delta G_{\text{chel}}^\circ$ desfavorable para la quelación de cobre, lo que indicaba que su capacidad antioxidante era incompleta: eficaces frente a radicales libres pero incapaces de interrumpir la producción de $\cdot\text{OH}$ mediada por metales redox. Otros candidatos mostraban el patrón inverso.

Esta heterogeneidad puso de manifiesto que los tres mecanismos son complementarios y que ninguno es suficiente por sí solo para caracterizar la multifuncionalidad antioxidante. Por ello, CADMA-Chem consolida tres dimensiones complementarias:

Bloque	Función evaluada	Evidencia requerida
AOX-I	Captación directa de radicales libres	ΔG , barreras y constantes globales
AOX-II	Inhibición de producción de $\cdot\text{OH}$ mediada por metales	quelación y comportamiento OIL
AOX-III	Reparación química de biomoléculas oxidadas	rutas viables y constantes de reparación

La contribución metodológica no consiste en que todos los candidatos sean excelentes en las tres dimensiones, sino en que la discusión de multifuncionalidad sea explícita y documentada. Un derivado puede justificarse como captador radicalario, inhibidor de daño mediado por metales, reparador químico o combinación de estas funciones; pero no se etiqueta como antioxidante multifuncional sin especificar en cuáles dimensiones opera y con qué nivel de eficiencia respecto a las referencias.

La incorporación de AOX-III respondió a una consideración adicional: en enfermedades neurodegenerativas, el daño oxidante acumulado en lípidos, proteínas y ADN es una consecuencia del estrés oxidante crónico, no exclusivamente de la presencia aguda de radicales libres. Un candidato que además de captar radicales puede reparar biomoléculas ya dañadas ofrece una ventana terapéutica más amplia, y esa capacidad no puede inferirse de AOX-I ni de AOX-II.

1.8 Índices de evaluación multidiana

La evaluación farmacológica multidiana introduce un problema análogo al del filtrado ADME: cómo integrar información de varias dianas en una única métrica de priorización. Los resultados de acoplamiento molecular producen energías de Vina independientes por diana y por especie ácido-base; comparar candidatos directamente a partir de esas energías es válido diana por diana, pero no permite establecer un orden global cuando se busca actividad multidiana.

La incorporación de la dimensión farmacológica en CADMA-Chem respondió a una limitación observada durante el análisis de los primeros casos de estudio: candidatos con excelente perfil antioxidante presentaban afinidad baja por todas las dianas, mientras que otros con S^S moderado mostraban afinidades superiores a sus respectivos sustratos naturales en dos o tres dianas simultáneamente. Sin un índice que integrara las dos dimensiones, no era posible establecer una jerarquía que reflejara la multifuncionalidad buscada.

1.8.1 Puntaje poligénico S^P

El puntaje poligénico S^P es el índice multidiana empleado en los casos de estudio de esta tesis. Para cada diana D , la energía de Vina se pondera por la fracción molar ácido-base de cada especie a pH 7.4:

$$S^P = \frac{\Delta G_{B,\text{COMT}}^W}{\Delta G_{B,\text{dopa}}} + \frac{\Delta G_{B,\text{MAO-B}}^W}{\Delta G_{B,\text{pea}}} + \frac{\Delta G_{B,\text{AChE}}^W}{\Delta G_{B,\text{ACh}}} \quad (1.22)$$

Un valor $S^P = 3.00$ indica afinidad global equivalente a la de los sustratos naturales; $S^P > 3.00$ indica mayor afinidad global. La normalización por la energía de acoplamiento del sustrato natural hace el índice comparable entre dianas con rangos de afinidad muy distintos.⁴⁴

La limitación principal de S^P es que trata todas las dianas con igual peso y se basa exclusivamente en la energía de docking, que no captura la estabilidad dinámica del complejo ni la persistencia de contactos farmacofóricos bajo condiciones de simulación.

1.8.2 Índices basados en dinámica molecular

Para superar las limitaciones de S^P , se propusieron tres índices adicionales derivados de las trayectorias de dinámica molecular, que integran estabilidad de pose, persistencia de interacciones y afinidad termodinámica en una sola métrica por diana.

El **índice de estabilidad de pose** $I_{\text{pose}}(L, D)$ mide la fracción del tiempo de producción en que el RMSD del ligando (átomos pesados, alineado a C_α) se mantiene ≤ 2.5 Å. Un candidato con alta afinidad de docking pero I_{pose} bajo abandona el sitio activo durante la simulación, lo que indica que la pose de docking no es representativa del modo de unión real.

El **índice de persistencia de interacciones** $I_{\text{int}}(L, D)$ mide la fracción temporal de contactos clave —puentes de hidrógeno, interacciones catión- π , aguas puente— identificados en el farmacóforo de consenso. Penaliza candidatos que, aunque permanezcan en el sitio activo, pierden los contactos que definen el reconocimiento biológico.

El **índice de afinidad dinámica** $\tilde{I}_{\Delta G}(L, D)$ normaliza la energía libre MM/GBSA promediada sobre los últimos 20 ns al rango $[0, 1]$ dentro del conjunto de candidatos evaluados en la misma diana.

Los tres índices se combinan linealmente en el puntaje por diana:

$$\Pi_D(L) = \alpha I_{\text{pose}}(L, D) + \beta I_{\text{int}}(L, D) + \gamma \tilde{I}_{\Delta G}(L, D), \quad \alpha + \beta + \gamma = 1, \quad (1.23)$$

que puede sumarse para múltiples blancos con pesos biomédicos ω_D :

$$\Pi^{\text{global}}(L) = \sum_{D \in \mathcal{T}} \omega_D \Pi_D(L), \quad \sum_D \omega_D = 1. \quad (1.24)$$

Cuando se integran simultáneamente la dimensión antioxidante y la farmacológica:

$$\Pi^{\text{AOX-enz}}(L) = \lambda \Pi^{\text{global}}(L) + (1 - \lambda) \text{AOX-score}(L), \quad \lambda \in [0, 1]. \quad (1.25)$$

El parámetro λ permite ajustar el peso relativo de cada dimensión según el objetivo terapéutico. Los parámetros α , β , γ , ω_D y λ deben fijarse antes del análisis ciego del conjunto de candidatos; su calibración sobre conjuntos con actividad experimental medida es lo que convierte estos índices en herramientas predictivas cuantitativas.

El formalismo complementario basado en huellas de interacción, ponderación ácido-base del acoplamiento molecular e índice de similitud de interacciones (ISI) se conserva en el Apéndice C.4.

1.9 Herramientas de implementación

Como parte del desarrollo del protocolo se construyeron tres herramientas de software que implementan las etapas computacionalmente más intensivas.

Smile-it genera bibliotecas de derivados en formato SMILES a partir de reglas de sustitución explícitas, cubriendo el espacio combinatorio definido por los sitios y grupos funcionales seleccionados para cada andamio.

CADMApy automatiza el cálculo de descriptores fisicoquímicos, el índice S^S , los criterios de advertencia, los apagadores Δ y la generación de conformadores iniciales desde SMILES. El código fuente y los fragmentos representativos se documentan en el Apéndice E.

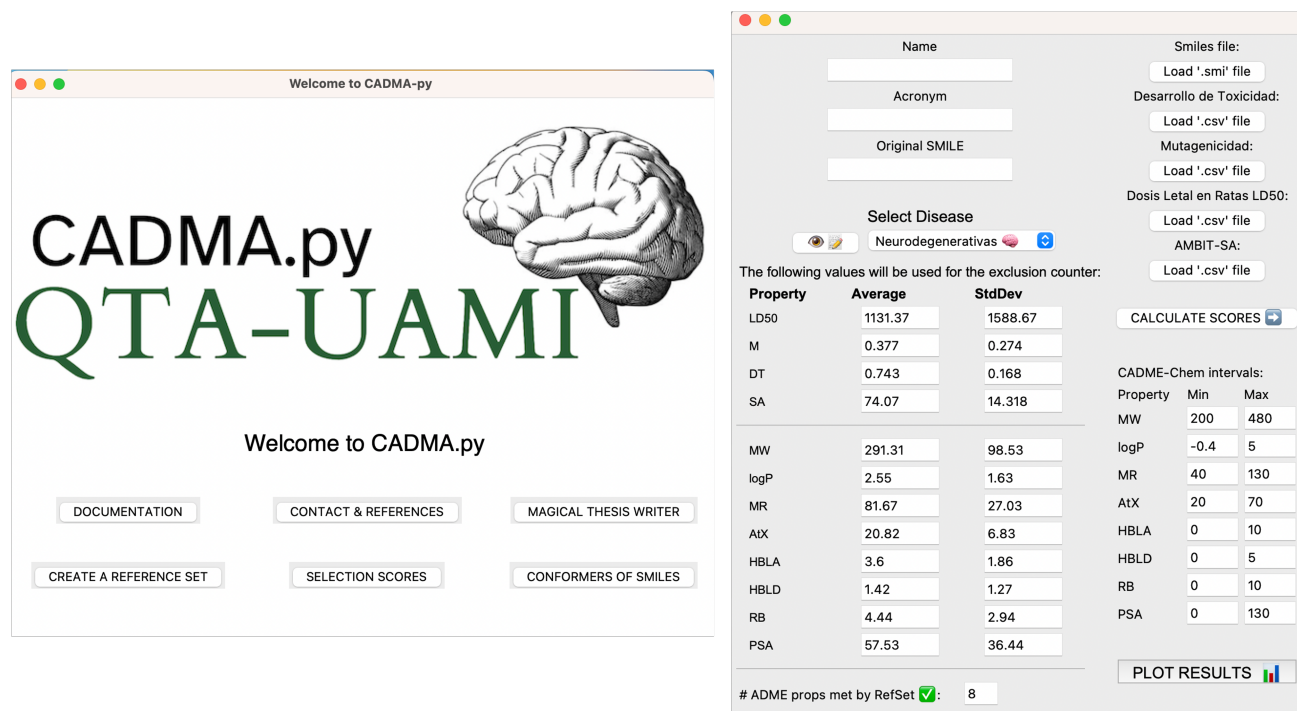


Figura 1.5: Interfaz principal de CADMApy (izquierda) y sección para el cálculo de puntuaciones de selección (derecha). Disponible en agalano.com/research/apps/desktop-apps.

EasyRate 2.0 automatiza el cálculo de constantes de velocidad con correcciones por efecto túnel según el protocolo QM-ORSA,¹⁰⁸ lo que vuelve reproducible y auditable un paso numéricamente sensible de la evaluación antioxidante. Los detalles de la aproximación de Eckart se conservan en el Apéndice D.1.1.

La implementación actual también fija una decisión de reproducibilidad: los programas usados para calcular el *RefSet* deben ser los mismos que se usen para los candidatos. Por ello, las herramientas empleadas en etapas tempranas como Molinspiration o SILVIA no se conservan como referencia operativa de la versión final; el protocolo se documenta con el conjunto de herramientas descrito en el Capítulo 1.

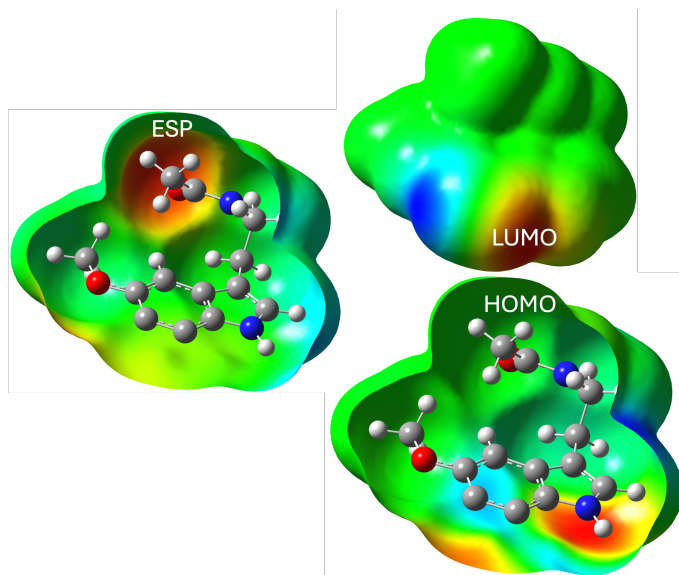
The screenshot shows the 'Easy Rate 2.0' application window. The 'Data entry' section on the left contains input fields for Reactant 1 (-1417.564825), Reactant 2 (-273.772113), Transition state (-1691.287654), Product 1 (-1418.186227), and Product 2 (-273.163039). Each field has a 'Browse' button and a 'clear' button. Below these are fields for Tunneling (YES), Temperature (K) (298.15), and Reaction path degeneracy (1). A 'Diffusion (optional)' section is also present. The 'Results (summary)' section in the center displays calculated values: Gibbs Free Energy of reaction (kcal/mol): -7.74, Gibbs Free Energy of activation (kcal/mol): 29.03, Rate Constant: 8.05e-05, ALPH1: 15.21, ALPH2: 22.02, u: 12.15, and Kappa: 24908.73. The 'Details' section on the right provides more specific energy values: Imag. Freq. (cm-1): -2518.15, Reaction enthalpies (dH): dH reaction (kcal/mol): -7.77, dH activation (kcal/mol): 17.48, Reaction ZPE (dZPE): dZPE reaction (kcal/mol): -7.8, dZPE activation (kcal/mol): 17.4, and Temperature (K): 298.15. The 'Notes' section at the bottom contains information about rate constant units and a disclaimer about pH effects.

Figura 1.6: Aplicación EasyRate 2.0, desarrollada para estimar constantes de velocidad según el protocolo QM-ORSA. Disponible en agalano.com/research/apps/desktop-apps.

Las tres herramientas están disponibles en agalano.com/research/apps/desktop-apps. Su desarrollo tiene tres consecuencias metodológicas directas: los intervalos CADMA-Chem quedan codificados y no se redefinen manualmente para cada sistema; el *RefSet* puede recalcularse cuando cambia el dominio de aplicación; y las bibliotecas de derivados pueden cribarse con los mismos pesos, advertencias y apagadores antes de pasar a química cuántica, acoplamiento molecular o dinámica molecular.

Capítulo 2

Melatonina



2.1 Melatonina: la molécula reguladora como andamio de diseño

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es una indolamina endógena sintetizada principalmente en la glándula pineal de los mamíferos, conocida sobre todo por su función en la regulación de los ritmos circadianos.⁴² Fue identificada por primera vez en la década de 1950 y se ha observado que está presente en diversos tejidos y órganos, tanto en humanos como en otros vertebrados; además, se ha detectado en plantas y microorganismos, lo que refleja su ubicuidad en la naturaleza.

Esta indolamina ha despertado un gran interés terapéutico y constituye un andamio estructural óptimo para la aplicación del protocolo CADMA-Chem debido a su perfil fisicoquímico del que podemos enfatizar: carácter anfifílico, baja masa molar (alrededor de $232.28 \text{ g mol}^{-1}$), traspasa con relativa facilidad las barreras biológicas incluyendo la barrera hematoencefálica,⁴² muy baja toxicidad y con capacidad de interactuar con diversas dianas moleculares. En el *DrugBank* (DB01065), se describe a la melatonina como un agente nutracéutico y promotor del sueño, con estudios que resaltan su potencial para atenuar el estrés oxidante y la neuroinflamación.¹¹⁵

Desde la perspectiva del diseño asistido por computadora, la melatonina no es solo un agente terapéutico, sino un andamio estructural versátil. Su capacidad para interactuar con diversas dianas moleculares permite la exploración de su espacio químico con el fin de optimizar su eficiencia frente a especies reactivas y su afinidad enzimática mediante funcionalización dirigida.

2.1.1 Multifuncionalidad antioxidante y neuroprotectora

La melatonina se considera un antioxidante multifuncional, pues combina varios mecanismos de acción: inactivación de radicales libres, regulación de procesos inflamatorios y reparación de biomoléculas dañadas. Su habilidad para quelar

iones metálicos, junto a la baja toxicidad de sus metabolitos, la convierte en una molécula atractiva para el diseño de fármacos dirigidos a enfermedades multifactoriales como las neurodegenerativas.⁴² La Figura 2.1 ilustra esta versatilidad de la melatonina, destacando su papel antioxidante, antiinflamatorio y neuroprotector.

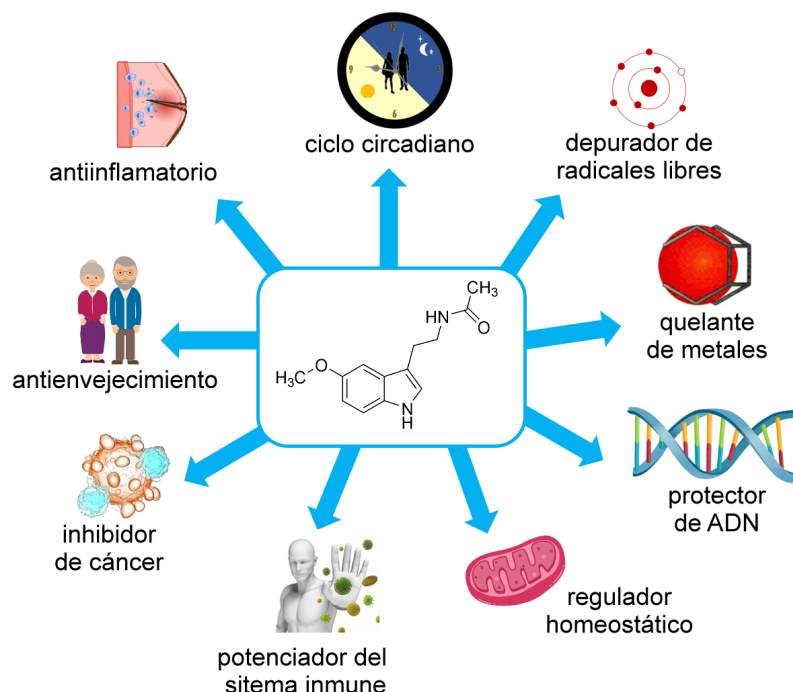


Figura 2.1: Multifuncionalidad de la melatonina. Se muestran algunos de los procesos biológicos en los que se ha demostrado que está relacionada, incluyendo funciones como antioxidante, antiinflamatorio y neuroprotector.

Inicialmente, la investigación en melatonina se enfocaba en su síntesis pineal y en la sincronización de los ritmos biológicos. Con el tiempo, se descubrió que también se produce en la retina, la piel y el tracto gastrointestinal, ampliando la comprensión de sus funciones.⁴² Numerosos estudios señalan que la melatonina puede sintetizarse localmente en la mitocondria —un sitio de alto consumo de oxígeno— para modular de forma directa la generación excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (RNS), así como su interacción con vías inflamatorias, perfilándola como agente neuroprotector.

Un aspecto crítico es que la protección ejercida por la melatonina no termina con su reacción inicial, sino que se extiende a través de una cascada de metabolitos activos (Figura 2.2), tales como la 3-hidroximelatonina cíclica (c3OHM), la N₁-acetil-N₂-formil-5-metoxiquinuramina (AFMK), la 6-hidroximelatonina (6OHM), la 4-hidroximelatonina (4OHM) y la N-acetil serotonina (NAS). Esta "protección colectiva" permite clasificar la actividad antioxidante (AOC), como se detalla en el Apéndice D, en cuatro modos operativos:

I. **Tipo I:** Depuración directa de radicales por transferencia de electrones o hidrógeno.

II. **Tipo II:** Prevención mediante quelación de metales redox (Cu, Fe) para inhibir reacciones tipo Haber-Weiss.

III. **Tipo III:** Reparación química de daños en lípidos, proteínas y ADN.

IV. **Tipo IV:** Actividad multifuncional que integra dos o más de los anteriores.

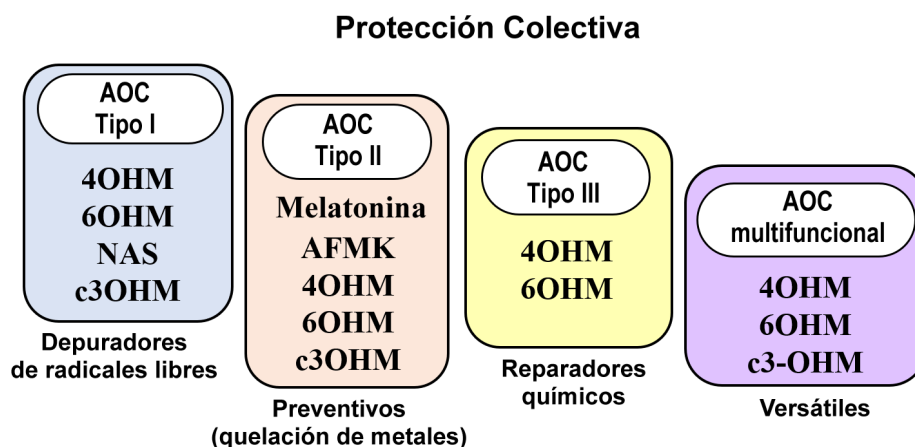


Figura 2.2: Esquema de protección antioxidante (AOC) colectiva ejercida por la melatonina y sus metabolitos. Se incluyen c3OHM (3-hidroximelatonina cíclica), 6OHM (6-hidroximelatonina), 4OHM (4-hidroximelatonina), AFMK (N₁-acetil-N₂-formil-5-metoxiquinuramina) y NAS (N-acetil serotonina).

Esta “división de tareas” prolonga la capacidad de defensa contra especies reactivas de oxígeno (ROS), nitrógeno (RNS) y azufre (RSS). Cada metabolito puede asumir un rol distinto a lo largo de las sucesivas etapas de desactivación de radicales, reforzando así el efecto global de la melatonina en sistemas biológicos.

2.1.2 Relevancia en trastornos neurodegenerativos

La complejidad de patologías como la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer está caracterizada por desequilibrios oxidantes, neuroinflamación, alteraciones en la homeostasis de metales y la acumulación de proteínas mal plegadas (Figura 2.3). Esta complejidad dificulta el desarrollo de terapias eficaces capaces de desacelerar o revertir su progresión.⁴²

La capacidad de la melatonina para cruzar la barrera hematoencefálica y ejercer acciones antioxidantes, antiinflamatorias y de quelación metálica la ha convertido en tema de investigación para enfrentar estos desórdenes. La Figura 2.4 muestra a la melatonina y sus compuestos relacionados, desde precursores como la serotonina hasta metabolitos como AMK, AFMK, c3OHM y 6OHM, formados en rutas enzimáticas o por reacciones de detoxificación de radicales. Estas especies han demostrado propiedades antioxidantes y neuroprotectoras, lo que refuerza la idea de *funcionalizar químicamente* la melatonina para potenciar aún más sus efectos.⁴²

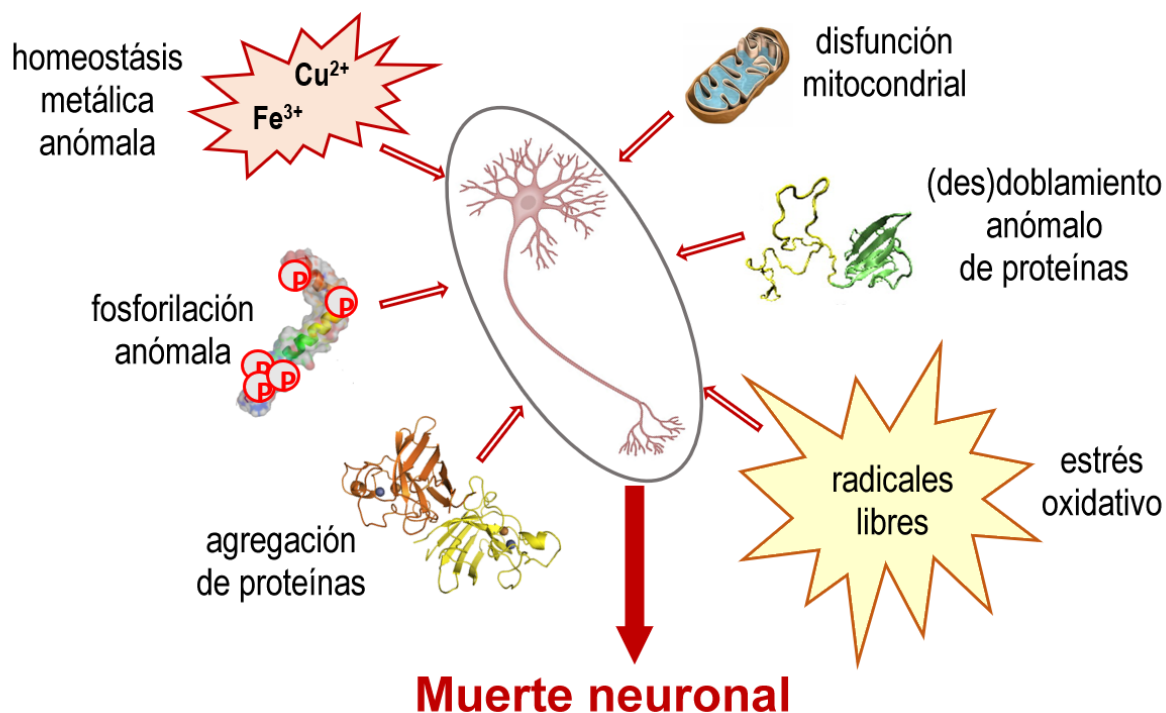


Figura 2.3: Principales factores que contribuyen a la naturaleza multifactorial de los trastornos neurodegenerativos, derivando en disfunción y muerte neuronal.

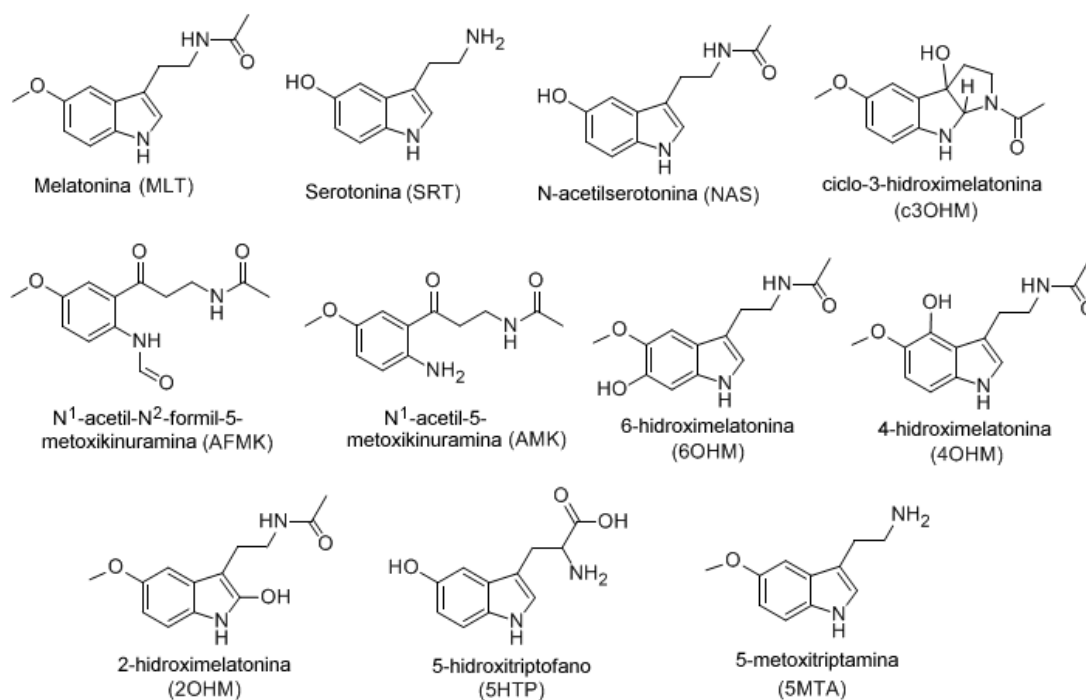


Figura 2.4: Melatonina y compuestos naturales relacionados (precusores y metabolitos). AFMK, AMK, c3OHM, 6OHM y 4OHM participan en rutas enzimáticas o en reacciones de detoxificación de radicales.

2.2 Derivados de Melatonina

Establecido el marco biológico, la investigación se centró en la modificación dirigida sobre el núcleo indólico de melatonina (Figura 2.5) para generar una quimioteca de 116 derivados mediante la incorporación de grupos $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$ y $-\text{COOH}$ en el núcleo indólico.

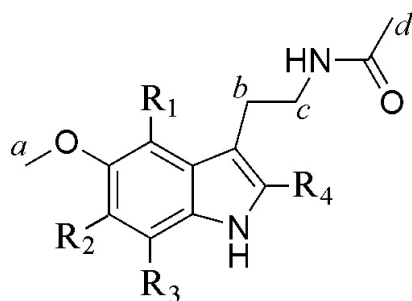


Figura 2.5: Sitios de sustitución en la melatonina (R_1 , R_2 , R_3 , R_4) y sitios considerados para el cálculo de entalpía de disociación de enlace (BDE) (a, b, c, d).

La elección de estos grupos se detalla en el Apéndice A.

- Grupos OH y SH pueden proveer donación de hidrógeno (relevante para reacciones de f -HAT).
- Grupos NH_2 y COOH inciden en el comportamiento ácido-base, pudiendo favorecer la presencia de especies ionizadas a pH fisiológico y, por ende, posibles mejoras en la reactividad por transferencia electrónica (SET).
- La introducción de grupos polares para influir en el log P y sobre el área polar superficial, mejorando —o modulando— la permeabilidad y la biodisponibilidad.
- Incorporación de grupos que permitan formar marcos de quelación de metales.

En la Figura 2.6 se aprecia la distribución del S^S para los 116 derivados de melatonina. Exceptuando nueve de ellos, la mayoría supera el promedio de los fármacos neuroprotectores ($S^S = 3.0$) y cuatro incluso rebasan el valor de la melatonina ($S^S = 3.75$). En principio, esto sugiere que dichos compuestos podrían exhibir un mejor perfil farmacocinético que los fármacos de referencia, y en esos cuatro casos, incluso superior al de la melatonina.

Posteriormente, al aplicar el puntaje de eliminación (Ver apéndice ??) para descartar desviaciones perjudiciales, se seleccionaron 20 derivados con las mejores calificaciones. Cabe señalar que las propiedades farmacocinéticas, si bien son imprescindibles, no brindan información sobre la capacidad antioxidante de los compuestos. Por ello, los 20 derivados fueron elegidos para una evaluación posterior de sus propiedades de reactividad. Las estructuras seleccionadas y sus puntajes de selección se muestran en la Figura 2.7.

2.3 Especiación ácido-base

Para cada uno de los veinte derivados seleccionados, se aplicó el flujo de trabajo computacional descrito en el Capítulo 1. Dado que la actividad antioxidante en medios biológicos depende del estado de ionización, la determinación de las especies predominantes a pH fisiológico es el primer paso crítico para modelar la reactividad.

En la Tabla 2.1 se presentan los valores de pK_a y las fracciones molares (χ) calculadas a pH 7.4. Se observa que la mayoría de los derivados conservan un predominio de la especie neutra; no obstante, compuestos como el dM-115 exhiben un equilibrio ácido-base más complejo con presencia de especies neutras, aniónicas y dianiónicas. Esta

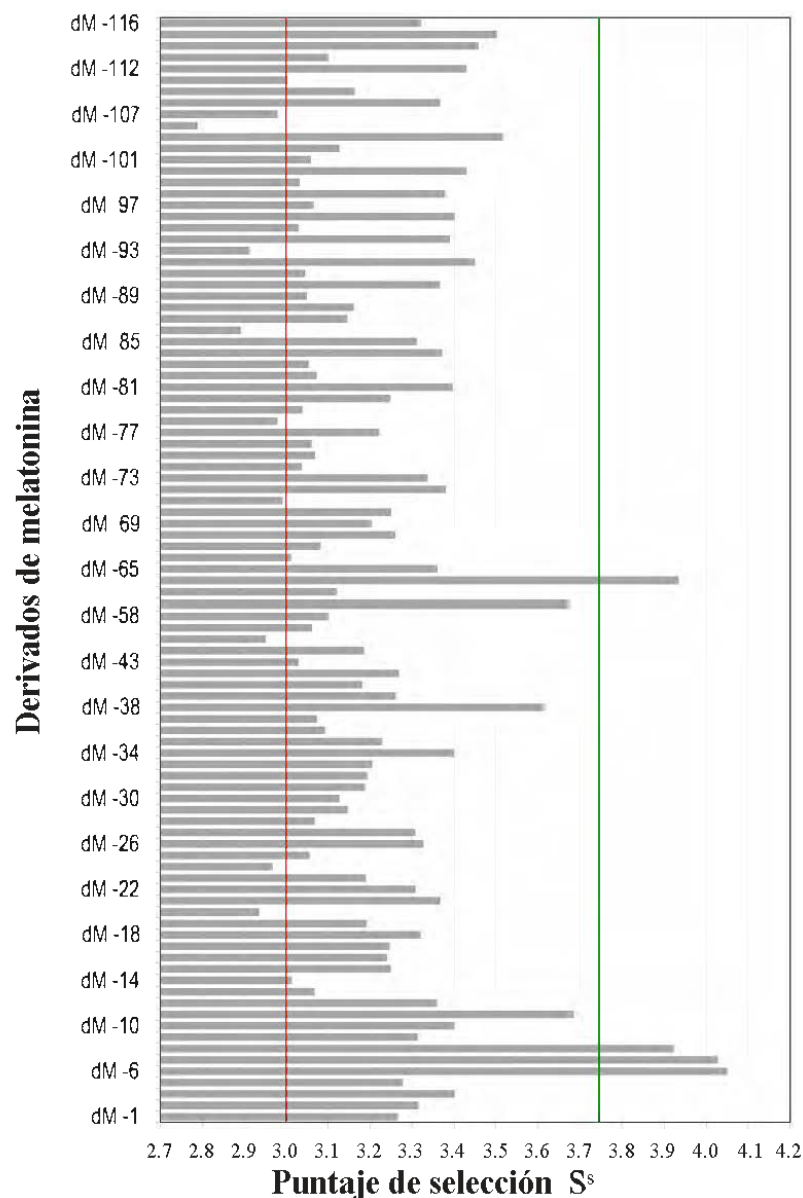


Figura 2.6: Distribución del S^S para los 116 derivados de melatonina. La línea roja marca el promedio de los fármacos neuroprotectores en un valor de $S^S = 3.0$. La línea verde, indica el puntaje de selección de la melatonina $S^S = 3.75$.

multiplicidad de especies sugiere una versatilidad de mecanismos de acción (HAT y SET) que dependen directamente del microentorno celular y su pH local.

2.4 Análisis de reactividad química y mapas eH-DAMA

Una vez definida la especiación, se evaluó la capacidad intrínseca de cada sistema para transferir electrones y átomos de hidrógeno mediante el diagrama eH-DAMA (Figura 2.8). Los fundamentos de los descriptores de reactividad global empleados (IE, EA, ω^- , ω^+ , μ , η) se detallan en el Capítulo 1 y sus derivaciones matemáticas específicas en el Apéndice B.

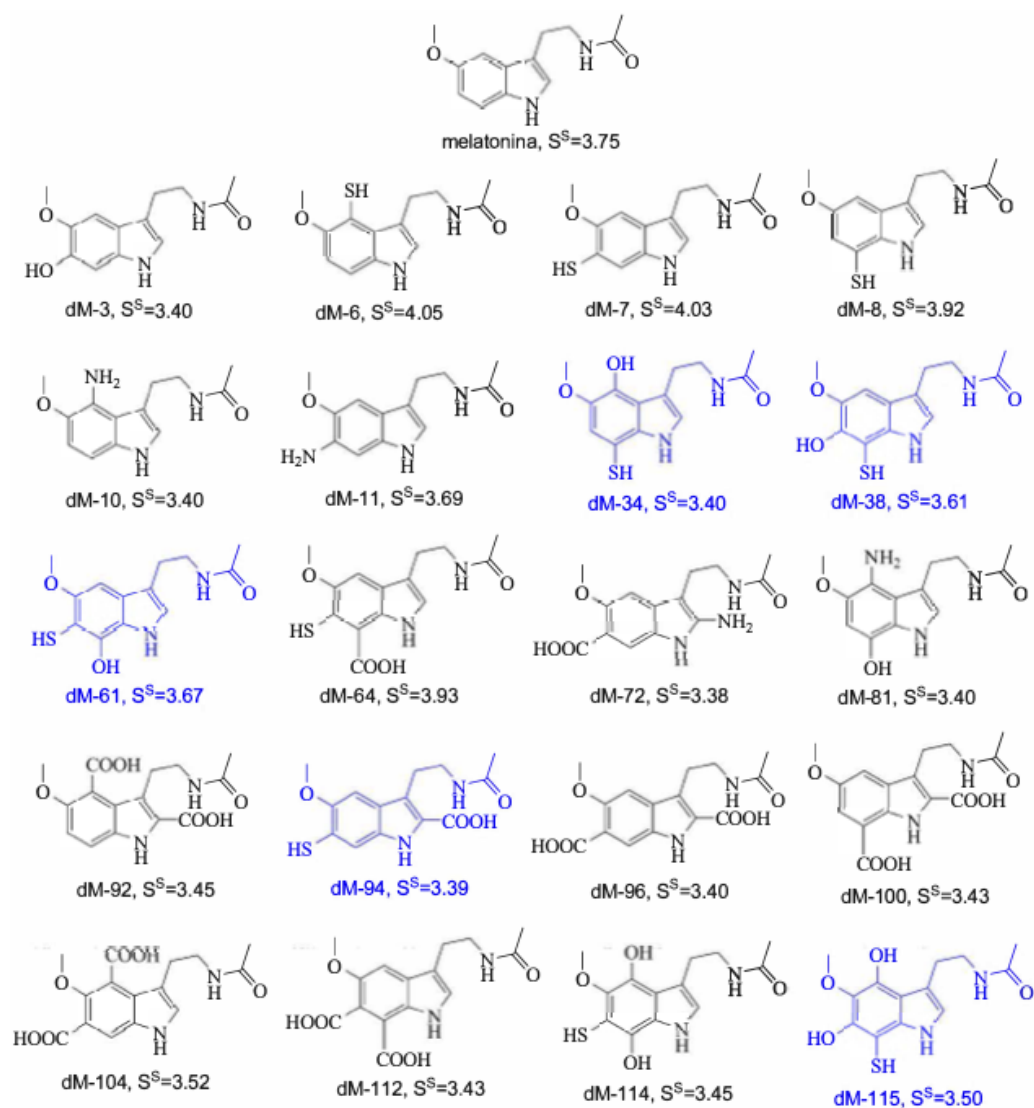


Figura 2.7: Estructura y puntaje de selección de los veinte derivados de melatonina mejor evaluados. En color azul se destacan los candidatos con el mejor perfil como antioxidantes químicos.

La Tabla 2.2 resume estos descriptores para la melatonina y sus derivados, ordenados por estado de protonación. Es conveniente notar que la melatonina presenta una BDE de 89.33 kcal/mol en su forma neutra, mientras que derivados como dM-34 (66.68 kcal/mol) y dM-115 (67.54 kcal/mol) reducen significativamente este requerimiento energético, facilitando la donación de hidrógeno.

Tabla 2.1: Especiación ácido–base de los derivados de melatonina a pH fisiológico, se muestran las constantes sucesivas de deprotonación ácida y sus abundancias relativas.

Derivado	pK_a			Fracción molar (M_f) a pH 7.4				
	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	prot	neutral	anion	dian	trian
dM-3	10.25				0.999	0.001		
dM-6	7.28				0.431	0.569		
dM-7	7.98				0.792	0.208		
dM-8	5.46				0.011	0.989		
dM-10	6.16			0.054	0.946			
dM-11	5.20			0.006	0.994			
dM-34	5.87	11.47		0.029	0.971	$< 10^{-4}$		
dM-38	5.90	12.12		0.031	0.969	$< 10^{-4}$		
dM-61	5.65	13.41		0.017	0.983	$< 10^{-6}$		
dM-64	3.27	8.46		$< 10^{-4}$	0.920	0.080		
dM-72	0.92	5.03		$< 10^{-8}$	0.004	0.996		
dM-81	6.59	10.05		0.134	0.864	0.002		
dM-92	3.43	4.34		$< 10^{-7}$	0.001	0.999		
dM-94	4.03	7.60		$< 10^{-3}$	0.613	0.387		
dM-96	3.35	4.31		$< 10^{-7}$	$< 10^{-3}$	0.999		
dM-100	3.27	4.01		$< 10^{-7}$	$< 10^{-3}$	≈ 1.000		
dM-104	3.95	4.65		$< 10^{-6}$	0.002	0.998		
dM-112	3.02	4.39		$< 10^{-7}$	$< 10^{-3}$	0.999		
dM-114	4.89	11.16		0.003	0.997	$< 10^{-3}$		
dM-115	6.14	10.46	13.41		0.052	0.947	0.001	$< 10^{-9}$

Fracciones molares por debajo del 0.1% se representan como $< 10^{-x}$ para mayor claridad.

Tabla 2.2: Índices globales de reactividad y entalpías de disociación de enlace (BDE) para la especiación de melatonina y de los derivados estudiados.

Derivado	IE ^a (eV)	EA ^a (eV)	ω^-	ω^+	μ (eV)	η (eV)	BDE ^b (kcal/mol)
Especies protonadas							
dM-10	11.17	2.09	8.72	2.09	−6.63	9.08	90.48
dM-11	10.89	2.91	9.91	3.01	−6.90	7.98	89.45
dM-81	10.84	2.05	8.49	2.05	−6.44	8.79	80.62
Especies neutras							
Melatonina	7.49	−0.97	3.41	0.15	−3.26	8.46	89.33
dM-3	7.19	−0.97	3.25	0.14	−3.11	8.16	77.76
dM-6	7.09	−0.81	3.31	0.17	−3.14	7.90	74.33

Continúa en la siguiente página

Tabla 2.2 – Continuación

Derivado	IE ^a (eV)	EA ^a (eV)	ω^-	ω^+	μ (eV)	η (eV)	BDE ^b (kcal/mol)
dM-7	7.11	-0.91	3.25	0.15	-3.10	8.02	73.24
dM-8	7.23	-0.92	3.31	0.15	-3.16	8.15	73.46
dM-34	6.92	-0.94	3.13	0.13	-2.99	7.85	66.68
dM-38	7.17	-0.93	3.26	0.15	-3.12	8.10	71.51
dM-61	7.26	-0.93	3.32	0.15	-3.16	8.18	69.14
dM-114	6.91	-0.77	3.24	0.17	-3.07	7.68	68.32
dM-115	7.06	-0.75	3.34	0.19	-3.16	7.81	67.54
Especies aniónicas							
dM-34	1.98	-2.90	0.12	0.58	0.46	4.88	61.88
dM-38	1.95	-2.70	0.13	0.51	0.38	4.65	68.31
dM-115	1.72	-2.53	0.10	0.50	0.40	4.25	63.09

^a Se determinaron como energías verticales en solución. ^b Se calcula como la diferencia de energías electrónicas adiabáticas en solución. * En la versión actual del protocolo IE y EA se estiman adiabáticamente y la BDE se calcula como entalpía de disociación; además, dado que los cálculos actuales se hacen adiabáticos los descriptores globales de reactividad carecen de interpretación directa.

Como se aprecia en la Figura 2.8, los derivados dM-34, dM-115, dM-38, dM-114, dM-61 y dM-94 se ubican en la región inferior-izquierda del diagrama. Esta posición es indicativa de valores de BDE y potencias electrodonadoras (ω^-) significativamente inferiores a los de la melatonina, e incluso compiten con el antioxidante de referencia Trolox.

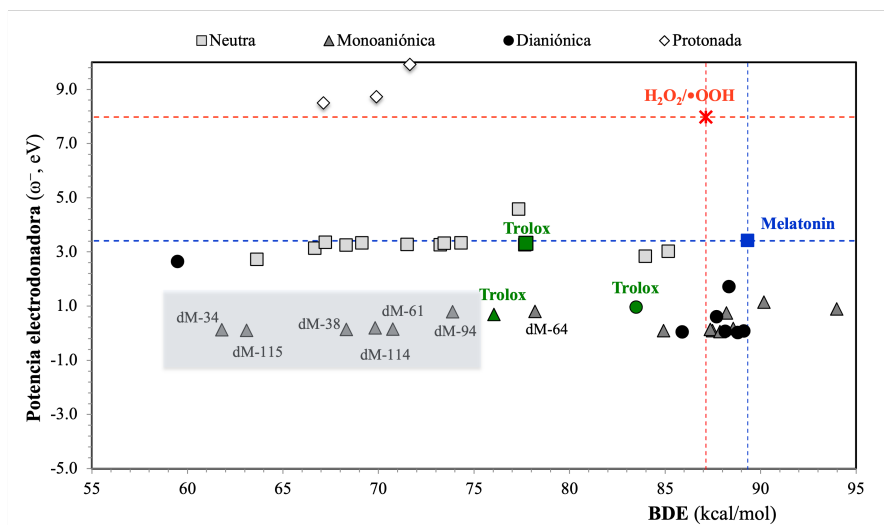


Figura 2.8: Mapa eH-DAMA para los derivados de melatonina, melatonina y Trolox frente al par oxidante $H_2O_2/O_2^{\bullet-}$.

La ubicación de estos compuestos en el mapa sugiere una alta probabilidad de participación en procesos de transferencia de hidrógeno (HAT) o mecanismos secuenciales de transferencia de electrón-protón (SET-PT) frente a especies reactivas de oxígeno. Esta optimización de la reactividad química respecto al andamio original valida la estrategia de funcionalización empleada en este trabajo.

2.5 El caso del derivado dM-38

Para ilustrar la profundidad del análisis de reactividad del protocolo CADMA-Chem, se selecciona el derivado dM-38. Este compuesto es un ejemplo de cómo la funcionalización, mediante la introducción de grupos tiol (-SH) y fenol (-OH), altera drásticamente el perfil antioxidante respecto a la estructura base.

El compuesto dM-38 presenta dos constantes de acidez: $pK_{a1} = 5.90$ y $pK_{a2} = 12.12$. A pH fisiológico la especie mono-aniónica es la forma predominante con una fracción molar de 0.969. Debido a su baja energía de ionización y alta densidad electrónica, se espera que esta especie actúe como un agente reductor.

Por otro lado, la especie neutra conserva una fracción de 0.031. Aunque representa solo el 3.1% de la población total en agua, esta fracción es crítica para la farmacocinética del sistema, ya que garantiza la capacidad del compuesto para atravesar barreras lipídicas y membranas biológicas por difusión pasiva. Esta coexistencia de especies asegura que el fármaco sea activo tanto en el interior celular como en su tránsito a través de las membranas.

2.5.1 Cinética de depuración de radicales libres (AOX-I)

La actividad de depuración del radical peroxilo (OOH) para el dM-38 muestra una dependencia del entorno químico. Mientras que la melatonina es considerada un depurador pobre de radicales peroxilo en términos cinéticos, el dM-38 supera a los antioxidantes de referencia en varios órdenes de magnitud.

En medios lipídicos, donde la especie neutra es la predominante, el mecanismo gobernante es la transferencia formal de átomo de hidrógeno (f-HAT) desde el grupo tiol, que representa el 99.5% de la reactividad total. La constante de velocidad calculada es de $5.17 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. En este entorno, el dM-38 es aproximadamente 1520 veces más rápido que el Trolox, 905 veces más rápido que el ácido ascórbico y 2 veces más rápido que el alfa-tocoferol.

En solución acuosa a pH 7.4, la desprotonación del grupo tiol da lugar a la viabilidad del mecanismo de transferencia electrónica (SET), el cual domina la reactividad con un 74.6%, complementado por un 25.4% de f-HAT desde el grupo fenólico. La constante de velocidad global en este medio se estima en $9.96 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, un valor cercano al límite de difusión. Al considerar la fracción molar efectiva del radical peroxilo a este pH, la eficiencia del dM-38 como depurador supera a la del Trolox por un factor de 278 y a la del ácido ascórbico por un factor de 81.

Esta viabilidad termodinámica y cinética es coherente con el mapa eH-DAMA. La especie mono-aniónica del dM-38 se encuentra en la región inferior izquierda, una zona característica de compuestos con alta capacidad antioxidante confirmando la congruencia entre los dos enfoques, visual y cuantitativo.

La funcionalización no solo mejora una propiedad aislada, sino que crea un sinergismo estructural: el grupo fenólico aporta estabilidad por resonancia al radical formado, mientras que el grupo tiol (o tiolato en agua) proporciona un sitio de reacción con una cinética viable. Este comportamiento multifuncional permite que el compuesto actúe eficazmente tanto en la fase lipídica de las membranas como en el citoplasma acuoso, una versatilidad que la melatonina nativa no posee en la misma escala.

2.5.2 Capacidad antioxidante de tipo II: Mecanismo de quelación y comportamiento OIL

La inhibición de la producción de radicales libres mediante la formación de complejos estables con metales redox (Fe^{2+} , Cu^{2+} , etc.) es un pilar de la multifuncionalidad en el protocolo CADMA-Chem. De acuerdo con la metodología del Capítulo 1 y los fundamentos fisicoquímicos detallados en el Apéndice D.2, se evaluaron las rutas de quelación directa (DCM) y de quelación acoplada a la desprotonación (CDCM).

Termodinámica de quelación y efecto del pH

A diferencia de la quelación directa, el mecanismo CDCM es altamente dependiente del pH del medio. Para el derivado dM-38, se identificaron complejos de Cu(II) (**ver esquemas de coordinación en la sección de Discusión**),

determinando que el aumento del pH favorece la viabilidad de las reacciones que involucran deprotonación previa o simultánea a la unión metálica.

A pH fisiológico, el análisis basado en la distribución de Boltzmann revela que el complejo CDCM-cSO es la especie predominante, representando el 99.993% de la población total de complejos. En este sistema, el cobre se encuentra coordinado de forma bidentada a través de los átomos de azufre y oxígeno (sitios activados por la deprotonación), lo que otorga una estabilidad termodinámica significativamente superior a la observada en el mecanismo DCM.

Comportamiento OIL-1: Inhibición del ciclo de Haber-Weiss

El verdadero potencial neuroprotector de estos quelantes radica en su comportamiento OIL-1 (*Oxidant-Inhibited Ligation*, tipo 1). Este fenómeno ocurre cuando la coordinación del ligando al centro metálico disminuye el potencial de reducción del metal, dificultando el primer paso de la reacción de Haber-Weiss y, por consiguiente, suprimiendo la producción catalítica del radical hidroxilo (OH).

Para validar este comportamiento en el complejo [dM38-Cu(II)], se evaluó la factibilidad de su reducción frente a dos reductores biológicos comunes:

1. Anión Ascorbato: Un reductor moderado utilizado frecuentemente en modelos experimentales para inducir condiciones oxidativas. Los resultados termodinámicos indican que la formación del complejo CDCM-cSO inhibe completamente la reducción del Cu(II) por ascorbato, apagando esta vía de generación de radicales.
2. Anión radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$): Es un reductor extremadamente fuerte en sistemas biológicos. Aunque la reducción del Cu(II) complejoado por superóxido no se elimina totalmente, la formación del complejo dM38 disminuye drásticamente la constante de velocidad del proceso, siendo más de 10^4 veces más lenta en comparación con el ion cobre libre o "hidratado".

Se compararon los parámetros termodinámicos y cinéticos de la reducción del ion metálico tanto en su forma libre como en el complejo CDCM-cSO. Los datos presentados en la Tabla 2.3 permiten cuantificar el grado de inhibición del ciclo redox del cobre.

Tabla 2.3: Energías libres de reacción (ΔG), energías libres de activación ($\Delta G^\ddagger$) y constantes de velocidad (k) para la reducción de Cu(II) libre y complejada (CDCM-cSO) por agentes reductores a 298.15 K.

Reductor	Estado de Cu(II)	ΔG (kcal mol ⁻¹)	$\Delta G^\ddagger$ (kcal mol ⁻¹)	k (M ⁻¹ s ⁻¹)
Ascorbato	Libre	-1.53	6.89	5.44×10^7
	CDCM-cSO	17.46	19.07	6.46×10^{-2}
$O_2^{\bullet-}$	Libre	-20.86	3.89	2.07×10^9
	CDCM-cSO	-1.88	11.46	2.46×10^4

El análisis de estos valores revela que la formación del complejo CDCM-cSO no solo desplaza la termodinámica de la reacción hacia valores menos favorables, sino que impone una barrera cinética significativa. En el caso del ascorbato, la reacción pasa de ser espontánea ($\Delta G = -1.53$ kcal/mol) a ser endergónica ($\Delta G = 17.46$ kcal/mol), lo que resulta en una inhibición termodinámica completa bajo condiciones fisiológicas.

Frente al radical superóxido, aunque la reacción sigue siendo ligeramente espontánea, la energía de activación se incrementa de 3.89 a 11.46 kcal/mol. Este incremento en la barrera energética se traduce en una disminución de cinco órdenes de magnitud en la constante de velocidad. Esta ralentización es fundamental desde el punto de vista biológico, ya que permite que otros sistemas de defensa endógenos compitan por el metal o el radical antes de que se produzca la transferencia electrónica que daría inicio a la reacción de tipo Fenton.

De este modo, el comportamiento OIL-1 del dM-38 actúa como un regulador de la actividad redox del metal. Al transformar un centro metálico altamente reactivo en una especie coordinada con cinética lenta, se minimiza la producción basal de radicales hidroxilo, reforzando la hipótesis de que la quelación estratégica es tan relevante como la capacidad de depuración directa de radicales.

2.5.3 Capacidad antioxidante de tipo III: Reparación de biomoléculas dañadas

Una de las propuestas más ambiciosas respecto a los compuestos diseñados es que no solo eviten el daño oxidante, sino que tengan la capacidad de revertirlo una vez que las biomoléculas esenciales han sido oxidadas. En esta sección se evalúa el comportamiento químico del derivado dM-38 en su capacidad de restaurar lípidos, proteínas y ADN a su estado original. Los fundamentos de estos procesos, incluyendo la selección de los modelos moleculares representados en la Figura D.2, se detallan en el Apéndice D.3.

Restauración de lípidos y proteínas

Bajo el esquema QM-ORSA detallado en el Apéndice D.3, se determinó que el dM-38 es termodinámicamente capaz de mitigar la propagación de la lipoperoxidación en entornos no polares. La reparación del sitio bis-alílico ocurre mediante una f-HAT desde el grupo tiol de la forma neutra, con una exergonicidad que garantiza la viabilidad del proceso ($\Delta G = -2.25$ kcal/mol), superando la barrera cinética impuesta por el entorno lipídico.

En cuanto a la integridad proteica, la cisteína y la tirosina destacan como los residuos con las cinéticas de restauración más favorables. Para la tirosina, el dM-38 posee dos mecanismos competitivos:

- La vía f-HAT para el radical fenoxilo ($k = 1.74 \times 10^7 M^{-1} s^{-1}$).
- La vía SET para el radical catión ($k = 2.44 \times 10^8 M^{-1} s^{-1}$).

Esta eficiencia se mantiene incluso considerando que ciertos procesos SET se sitúan en la zona invertida de Marcus (ver Apéndice D.1), donde la extrema exergonicidad de la especie mono-aniónica del dM-38 modula la velocidad de transferencia electrónica.

Reparación de lesiones en el ADN y el mecanismo TSAHD

La protección del material genético se evaluó sobre los biomarcadores de daño en la 2-desoxiguanosina (2dG), 8-OH-dG y 8-oxo-dG. Los resultados indican que el dM-38 es un agente de reparación a través de tres rutas:

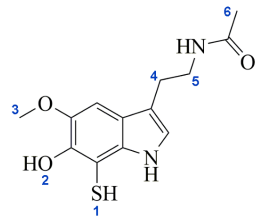
1. *Ruta I (SET)*: Restaura radicales cationes ($2dG^{\bullet+}$) con una cinética cercana al límite difusivo ($k = 2.45 \times 10^8 M^{-1}s^{-1}$), bloqueando la formación de lesiones permanentes.
2. *Ruta II (f-HAT)*: Repara radicales centrados en la desoxirribosa, protegiendo la integridad estructural de la cadena de azúcar. Utilizando el modelo de radical centrado en el carbono C4 descrito en el esquema de reparación del ADN (Sección D.3), se determinó que el dM-38 puede donar un átomo de hidrógeno para estabilizar la unidad de azúcar, aunque con una cinética más lenta en comparación con la vía electrónica. ($k = 1.85 \times 10^2 M^{-1}s^{-1}$).
3. *Ruta III (TSAHD)*: Representa la restauración más completa de la 8-OH-dG. Siguiendo la secuencia de tres pasos detallada en el Apéndice D.3, el dM-38 repara el aducto radicalario formado por el ataque de $\bullet OH$. La constante de velocidad para este proceso global es de $1.03 \times 10^6 M^{-1}s^{-1}$. Este mecanismo es vital porque permite no solo apagar el radical, sino reconstruir la guanina original mediante la eliminación de agua, evitando la acumulación de lesiones permanentes en el genoma.

Esta capacidad para revertir el daño en el ADN, y no solo prevenirlo, posiciona al dM-38 como un candidato con potencial para reducir la carga mutacional asociada al estrés oxidante crónico.

Compendio de datos de reparación de biomoléculas

A continuación se presentan las tablas detalladas que recogen todos los parámetros cinéticos calculados, incluyendo las frecuencias imaginarias (if) y las correcciones de túnel (κ) que validan los estados de transición encontrados.

Tabla 2.4: Energías libres de Gibbs (ΔG , kcal mol⁻¹) para las reacciones de dM38 con biomoléculas dañadas.

Lípido ^(a)		Numeración de sitios en dM38				
site 1	-0.37					
site 2	5.69					
site 3	26.25					
site 4	15.43					
site 5	23.02					
site 6	24.75					
Residuos ^(b)						
Sitio	Leu	Cys	Tyr	His	Met	
site 2	-23.56	-15.03	-18.83	-19.10	-22.99	
site 3	6.18	14.70	10.90	10.64	6.74	
site 4	-3.02	5.51	1.71	1.44	-2.45	
site 5	2.86	11.39	7.59	7.32	3.43	
site 6	12.92	21.45	17.65	17.38	13.49	
DNA ^(b)						
Sitio	C4●	8-OH-dG	Sitio	C4●	8-OH-dG	
site 2	-24.41	-6.32	site 5	2.01	20.10	
site 3	5.32	23.42	site 6	12.07	30.16	
site 4	-3.87	14.22				

(a) Modelado en pentil etanoato, con dM38 en estado neutro.
(b) Modelado en agua, con dM38 en estado monoaniónico.

Tabla 2.5: Parámetros cinéticos para reacciones f-HAT entre dM-38 y biomoléculas: energía libre de activación ($\Delta G^\ddagger$), frecuencia imaginaria (if), corrección de túnel (κ) y constante de velocidad (k) a 298.15 K.

Sustrato	$\Delta G^\ddagger$ (kcal mol ⁻¹)	if (cm ⁻¹)	κ	k (M ⁻¹ s ⁻¹)
Lípido	14.81	-1532	4.12	2.14×10^1
Cisteína	4.56	-1120	2.85	3.45×10^7
Tirosina	5.16	-1245	3.10	1.74×10^7
2dG (C4)	13.05	-1604	5.24	1.85×10^2

Tabla 2.6: Parámetros termodinámicos y cinéticos para reacciones SET entre dM38 y biomoléculas dañadas a 298.15 K en medio acuoso. ΔG , energía libre de reacción; $\Delta G^\ddagger$, energía libre de activación; k , constante de velocidad; $k^f M$, constante de velocidad corregida por concentración y $k_{\text{tot, SET}}$, constante de velocidad total considerando todas las especies de dM-38.

DBM	Especie dM38	ΔG (kcal mol ⁻¹)	$\Delta G^\ddagger$ (kcal mol ⁻¹)	k (M ⁻¹ s ⁻¹)	$k^f M_f$ (M ⁻¹ s ⁻¹)	$k_{\text{tot, SET}}^a$ (M ⁻¹ s ⁻¹)
Tyr	Neutral	-16.43	0.52	7.98×10^9	2.44×10^8	2.44e8
	Anion	-38.53	23.25	5.63×10^{-5}	5.45×10^{-5}	
Trp	Neutral	-3.41	1.10	7.93×10^9	2.43×10^8	2.43e8
	Anion	-25.52	10.13	2.35×10^5	2.28×10^5	
2dG ⁺ •	Neutral	-11.00	0.06	7.99×10^9	2.45×10^8	2.45e8
	Anion	-33.10	12.21	6.90×10^3	6.69×10^3	

^a La formulación completa y la definición de las especies consideradas se describen en la Sección 9 y en el Apéndice D.1.

Como se observa en los datos, el dM-38 exhibe constantes de velocidad extremadamente competitivas, especialmente en la reparación de proteínas y ADN mediante transferencia electrónica. La inclusión de la corrección de túnel (κ) en las reacciones de transferencia de hidrógeno permite una estimación más precisa de la cinética, confirmando que incluso en procesos con barreras moderadas, la capacidad de restauración es biológicamente significativa.

2.6 Interacción con dianas enzimáticas

La integración de los perfiles de reactividad química con el desempeño en el acoplamiento molecular permitió refinar la selección hacia un grupo selecto de derivados multifuncionales. El análisis de las poses de unión en AChE y MAO-B confirma que los nuevos sustituyentes no solo son tolerados por las cavidades enzimáticas, sino que establecen contactos adicionales que estabilizan los complejos proteína-ligando.

Los resultados presentados en este capítulo validan la eficacia del protocolo CADMA-Chem para transformar un andamio biológico conocido en una serie de agentes neuroprotectores de alto rendimiento, cuya discusión detallada en términos de constantes de velocidad y estabilidad dinámica se aborda en los manuscritos integrados a continuación.



Article

CADMA-Chem: A Computational Protocol Based on Chemical Properties Aimed to Design Multifunctional Antioxidants

Eduardo Gabriel Guzman-Lopez ¹, Miguel Reina ² , Adriana Perez-Gonzalez ³, Misaela Francisco-Marquez ⁴ , Luis Felipe Hernandez-Ayala ¹ , Romina Castañeda-Arriaga ¹ and Annia Galano ^{1,*}

¹ Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Col. Leyes de Reforma 1A Sección, Mexico City 09310, Mexico

² Departamento de Química Inorgánica y Nuclear, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, Mexico

³ CONACYT-Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Col. Leyes de Reforma 1A Sección, Mexico City 09310, Mexico

⁴ Instituto Politécnico Nacional-UPICSA, Té 950, Col. Granjas México, Mexico City 08400, Mexico

* Correspondence: agal@xanum.uam.mx

Abstract: A computational protocol aimed to design new antioxidants with versatile behavior is presented. It is called Computer-Assisted Design of Multifunctional Antioxidants and is based on chemical properties (CADMA-Chem). The desired multi-functionality consists of in different methods of antioxidant protection combined with neuroprotection, although the protocol can also be used to pursue other health benefits. The dM38 melatonin derivative is used as a study case to illustrate the protocol in detail. This was found to be a highly promising candidate for the treatment of neurodegeneration, in particular Parkinson's and Alzheimer's diseases. This also has the desired properties of an oral-drug, which is significantly better than Trolox for scavenging free radicals, and has chelates redox metals, prevents the $\cdot\text{OH}$ production, via Fenton-like reactions, repairs oxidative damage in biomolecules (lipids, proteins, and DNA), and acts as a polygenic neuroprotector by inhibiting catechol-O-methyl transferase (COMT), acetylcholinesterase (AChE) and monoamine oxidase B (MAOB). To the best of our best knowledge, CADMA-Chem is currently the only protocol that simultaneously involves the analyses of drug-like behavior, toxicity, manufacturability, versatile antioxidant protection, and receptor–ligand binding affinities. It is expected to provide a starting point that helps to accelerate the discovery of oral drugs with the potential to prevent, or slow down, multifactorial human health disorders.

Keywords: molecular design; ADME; toxicity; QSAR; selection score; reactivity indexes; kinetics; melatonin



Citation: Guzman-Lopez, E.G.; Reina, M.; Perez-Gonzalez, A.; Francisco-Marquez, M.; Hernandez-Ayala, L.F.; Castañeda-Arriaga, R.; Galano, A. CADMA-Chem: A Computational Protocol Based on Chemical Properties Aimed to Design Multifunctional Antioxidants. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 13246. <https://doi.org/10.3390/ijms232113246>

Academic Editor: Bruno Rizzuti

Received: 21 September 2022

Accepted: 22 October 2022

Published: 31 October 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The remarkable progress of medical sciences in the last century has led, for example, to a significant decline in infectious diseases worldwide [1]. This progress, together with an improvement in human habits (diet, exercise, non-smoking, etc.), has drastically increased people's lifespans. According to the United Nations, the world population tripled from 1950 to 2020, while life expectancy at birth went from 64.2 years in 1990 to 72.6 in 2019 (and it is projected to reach 77.1 years in 2050) [2]. This means that the global population is getting older at an accelerated pace. However, health span has expanded in a much slower way. Thus, health at older ages is not only a current concern, but an urgent issue to be addressed [3,4]. Unfortunately, disease-free longevity is not likely in the foreseeable future. It has been claimed that it is time to focus on prolonging health and not only preventing death, i.e., "improving healthspan, not just lifespan" [1].

One of the factors contributing most to the lagging of life-quality, compared to its extension, is the myriad of chronic degenerative diseases that affects more than half of



Review

Potentiating the Benefits of Melatonin through Chemical Functionalization: Possible Impact on Multifactorial Neurodegenerative Disorders

Annia Galano ^{1,*} , Eduardo G. Guzmán-López ¹ and Russel J. Reiter ^{2,*}

¹ Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, Iztapalapa C.P., Mexico City 09340, Mexico; egg@ciencias.unam.mx

² Department of Cellular and Structural Biology, UT Health Science Center, San Antonio, TX 78229, USA

* Correspondence: agal@xanum.uam.mx (A.G.); REITER@uthscsa.edu (R.J.R.)

Abstract: Although melatonin is an astonishing molecule, it is possible that chemistry will help in the discovery of new compounds derived from it that may exceed our expectations regarding antioxidant protection and perhaps even neuroprotection. This review briefly summarizes the significant amount of data gathered to date regarding the multiple health benefits of melatonin and related compounds. This review also highlights some of the most recent directions in the discovery of multifunctional pharmaceuticals intended to act as one-molecule multiple-target drugs with potential use in multifactorial diseases, including neurodegenerative disorders. Herein, we discuss the beneficial activities of melatonin derivatives reported to date, in addition to computational strategies to rationally design new derivatives by functionalization of the melatonin molecular framework. It is hoped that this review will promote more investigations on the subject from both experimental and theoretical perspectives.

Keywords: multifactorial diseases; multifunctional drugs; antioxidant; neuroprotection; free radical scavengers; metal chelators; oxidative stress; DNA repair



Citation: Galano, A.; Guzmán-López, E.G.; Reiter, R.J. Potentiating the Benefits of Melatonin through Chemical Functionalization: Possible Impact on Multifactorial Neurodegenerative Disorders. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 11584. <https://doi.org/10.3390/ijms222111584>

Academic Editor: Amnon Brzezinski

Received: 15 September 2021

Accepted: 11 October 2021

Published: 27 October 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Chemistry is a science for which every detail matters. Thus, every structural modification, regardless how small, will have consequences on the behavior of chemicals. The rational design of new molecules with potential pharmacological benefits is based on this idea. In this context, a highly challenging task is to find single chemical entities with multiple biological activities, because they are expected to have better success when used in the treatment of complex (multifactorial) diseases. Such chemicals are known as multifunctional drugs (MFD), and are also referred to as magic bullets or master keys due to their improved therapeutic effects and fewer side effects. They are also referred to as dual-mechanism, dual-ligand, bifunctional, multimechanistic, multimodal, pan-agonist, multipotential, pluripotential, and multiple-ligands [1].

Melatonin (*N*-acetyl-5-methoxytryptamine, Scheme 1) is an amazing molecule with multiple proven benefits. It not only regulates circadian and seasonal rhythms [2–4], but also possesses many other functions in living organisms [5], as summarized in Section 6. Therefore, it is logical to think that the molecular framework of melatonin is an excellent candidate for slight modification to obtain new molecules with even wider benefits. Such research is usually conducted with the premise that, because the structural changes are small, the new derivatives will retain most of the activity of the parent molecule. Although this assumption may seem naïve, nature itself has proven that there are molecules that can be considered as relatives of melatonin that exhibit similar benefits and even improved properties for specific purposes. These are reviewed in Section 7.1.

Research Article

A computer-assisted systematic search for melatonin derivatives with high potential as antioxidants

Miguel Reina,¹ Romina Castañeda-Arriaga,¹ Adriana Pérez-González,² Eduardo Gabriel Guzmán-López,¹ Dun Xian Tan,³ Russel J. Reiter,³ Annia Galano,^{1*}

¹ Departamento de Química. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina. Iztapalapa. C. P. 09340. México D. F. México

² CONACYT - Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina. Iztapalapa. C. P. 09340. México D. F. México

³ Department of Cell Systems and Anatomy, UT Health, San Antonio, Texas, TX 78229, USA

*correspondence: agalano@prodigy.net.mx, agal@xanum.uam.mx; Tel: +52 55 58044600

Running Title: New melatonin-derivatives with antioxidant potential

Received: September 16, 2018; Accepted: October 28, 2018

ABSTRACT

A systematic rational search for newly designed melatonin derivatives, was performed using a computer-assisted protocol. A total of 116 derivatives were generated by adding functional groups (i.e., -OH, -NH₂, -SH and -COOH) to the melatonin structure. A selection score (S^S) was built to sample the search space, simultaneously considering ADME (absorption, distribution, metabolism, excretion) properties, toxicity and manufacturability (i.e., synthetic accessibility). The search characterized the whole set of designed melatonin derivatives and allowed the selection of a reduced subset of 20 melatonin derivatives that are expected to be the most promising, regarding drug-like behavior. For this subset, several reactivity indices were estimated, as well as their pKa values. According to the gathered data, 5 melatonin derivatives have been identified as the most likely candidates to act as chemical antioxidant (directly scavenging free radicals, by electron transfer and/or H transfer). All of them are predicted to be better for that purpose than melatonin itself or trolox (a water-soluble vitamin E analog). The findings from this work are expected to motivate further investigations on these molecules, using both theoretical and experimental approaches.

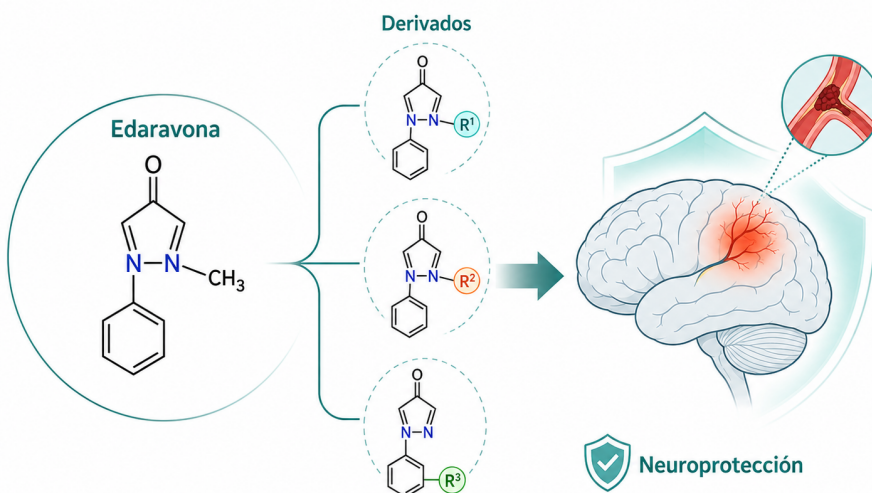
Keywords: free radical scavenger; computer-aided design; electron transfer; hydrogen transfer; reaction mechanisms; reactivity; ADMET.

1. INTRODUCTION

Oxidative stress (OS) and chemical agents against it are currently the focus of numerous investigations. The interest in both, oxidative damage to biomolecules and its prevention by chemical species (usually referred to as antioxidants) is well justified. There is ample evidence that OS compromises human health leading to various diseases such as different kinds of cancers,

Capítulo 3

Edaravona



3.1 Edaravona: la molécula

La edaravona (3-metil-1-fenil-2-pirazolin-5-ona) es un compuesto de baja masa molar ($174.20 \text{ g mol}^{-1}$) que forma parte de la familia de las pirazolonas, caracterizadas por la presencia de un anillo de pirazol unido a un grupo cetona. Comercializada bajo los nombres de *Radicava*[®] y *Radicut*[®], esta molécula se sintetizó inicialmente a finales de la década de 1980 con el objetivo de actuar como agente antioxidante.¹¹⁶ Además, se ha consolidado como un agente neuroprotector con capacidad destacada de depuración de radicales libres.¹¹⁷

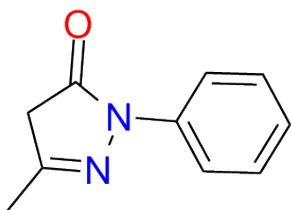


Figura 3.1: Estructura química de la edaravona.

Desde el punto de vista farmacocinético, la edaravona presenta una biodisponibilidad oral aproximada del 57% (debido al metabolismo de primer paso) y una vida media que oscila entre 4.5 y 9 horas cuando se administra por vía intravenosa, permitiendo alcanzar concentraciones máximas al final de la infusión. Su capacidad para cruzar la barrera hematoencefálica es fundamental para su efecto neuroprotector.¹¹⁸

En términos farmacodinámicos, la edaravona actúa eliminando especies reactivas de oxígeno (ROS), como el radical hidroxilo y el anión peroxinitrito, lo que a su vez previene la peroxidación lipídica y protege la integridad de las membranas celulares y de las neuronas.¹¹⁶ Se ha demostrado también que inhibe la activación de neutrófilos y suprime la expresión de enzimas productoras de óxido nítrico, tales como la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y la óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS), cuya sobreexpresión puede contribuir a procesos inflamatorios y neurotóxicos.¹¹⁷

3.2 Aspectos químicos y estrategia de síntesis

La síntesis de edaravona se realiza mediante la condensación de una hidrazina con un éster de 3-oxopropiónico en etanol bajo reflujo.¹¹⁶ Este procedimiento permite explotar el *scaffold* de 2-pirazolin-5-ona, el cual es especialmente versátil para efectuar modificaciones en diversas posiciones:

- Posición 1: Es posible modificar el grupo fenilo, introduciendo diversos sustituyentes —electrodonadores o electroattractores— o incluso reemplazarlo por otros anillos aromáticos. La incorporación de grupos lipofílicos en esta posición puede potenciar la inhibición de la peroxidación lipídica.
- Posición 3: La modificación del grupo metilo en esta posición permite ajustar propiedades como la solubilidad y la distribución tisular.
- Posición 4: La introducción de sustituyentes en el grupo metilénico ofrece oportunidades para mejorar la actividad antioxidante.

Se ha propuesto que el diseño de compuestos con características “tipo fenol” —es decir, capaces de generar un grupo hidroxilo aromático mediante tautomerización ceto-enólica— confiere propiedades antioxidantes similares a las de los fenoles, pero sin la toxicidad inherente a estos últimos. En este contexto, la capacidad de la edaravona para existir en tres formas tautoméricas (amina, ceto y enol), con un pK_a aproximado de 7.0, implica que cerca del 50% de la molécula se encuentra en forma aniónica a pH fisiológico, lo que favorece la transferencia de electrones a peróxidos y facilita la neutralización de ROS. Al mismo tiempo, el otro 50% permanece como especie neutra, lo que facilita su transporte pasivo a través de membranas lipídicas. Se ha demostrado que el mecanismo ilustrado en la Figura 3.2 produce, como producto final, el 2-oxo-3-(fenilhidrazono)-butanoico (OPB), detectado posteriormente en cerebros isquémicos de ratas tratadas con edaravona.^{119,120} La ausencia de actividad antioxidante en compuestos incapaces de sufrir tautomerización confirma la relevancia de este proceso.¹¹⁶

3.3 Aspectos clínicos

La edaravona fue aprobada en Japón para el tratamiento de pacientes en la fase aguda de accidentes isquémicos cerebrales en 2001, y posteriormente para el tratamiento de la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) en Japón y Corea del Sur en 2015. En Estados Unidos, la FDA la aprobó en mayo de 2017 y en Health Canada en octubre de 2018. Más recientemente, se aprobó una formulación oral en mayo de 2022.^{117,118} Cabe destacar que la edaravona ha recibido la designación de medicamento huérfano por parte de la **OOPD** (Office of Orphan Products Development) de la FDA, lo que subraya su relevancia en patologías poco frecuentes, como la ELA.

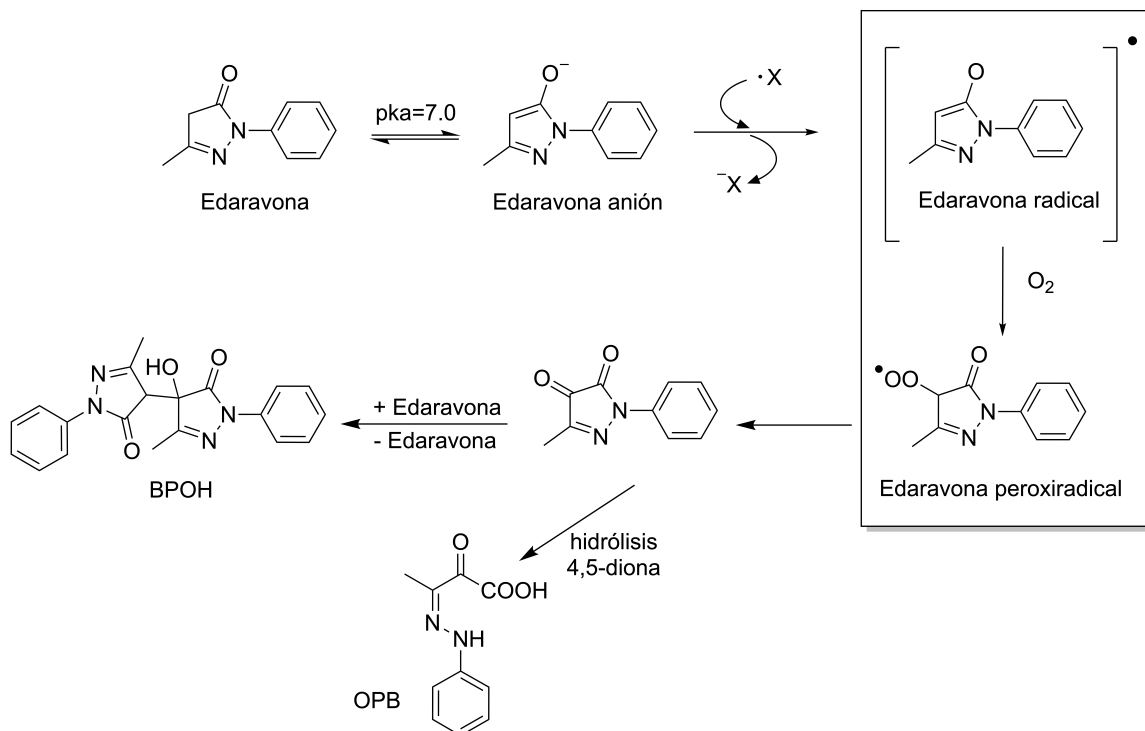


Figura 3.2: Mecanismo propuesto de depuración radicalaria de la edaravona, incluyendo la formación del radical de edaravona, su oxidación por oxígeno molecular y la generación del producto OPB. Adaptado de Yamamoto *et al.* (1997).

3.4 Relación estructura–actividad y estrategias de modificación de edaravona

El estudio de Watanabe *et al.* (2003) ofrece un análisis detallado de la relación estructura–actividad de la edaravona, mostrando cómo la adición de distintos grupos funcionales en posiciones específicas influye en su actividad antioxidante, especialmente en la inhibición de la peroxidación lipídica:

1. Sustitución en la posición 1 (Grupo fenilo): Los compuestos cuyo sustituyente en la posición 1 era pequeño (p. ej., hidrógeno o metilo) exhibieron menor actividad. En cambio, la incorporación de grupos lipofílicos con estructuras carbocíclicas (ciclopentil, ciclohexil, naftil o benzil) mantuvo o incluso incrementó la actividad inhibitoria. Asimismo, la posición y el tipo de sustituyente en el anillo fenílico son determinantes: la introducción de grupos halógenos o cadenas alquil más largas en posiciones 3 o 4 mejora notablemente la inhibición de la peroxidación lipídica, mientras que sustituir en la posición 2 tiende a disminuirla —excepto cuando se agrega un grupo hidroxilo fenólico que facilita la tautomerización.

2. Sustitución en las posiciones 3 y 4 del núcleo de pirazolina: Las modificaciones en estas posiciones también afectan la capacidad de la molécula para inhibir la peroxidación lipídica. La adición de sustituyentes lipofílicos, como cadenas alquil o grupos halógenos, incrementa la actividad. Por ejemplo, la extensión de la cadena en la posición 4 (p. ej., 4- $CH_3(CH_2)_3-$) refuerza de forma significativa la acción antioxidante. En ciertos casos, compuestos disustituidos (p.

ej., con átomos de cloro) demostraron una eficacia superior a los monosustituídos; aunque ocasionalmente, análogos disustituídos con cadenas alquil o alcoxi resultaron equipotentes.

A partir de estos hallazgos¹²¹ pueden sugerirse las siguientes estrategias para diseñar derivados de edaravona:

- Optimización en la posición 1: Introducir sustituyentes carbocíclicos o aromáticos que mantengan la tautomerización y refuercen la actividad antioxidante.
- Modificaciones en el anillo fenílico: Favorecer la inclusión de grupos lipofílicos (p. ej., cadenas alquil o halógenos) en posiciones 3 y 4, limitando sustituyentes excesivamente hidrofílicos que reducen la actividad.
- Preservar la tautomerización: Asegurar que las alteraciones estructurales no bloqueen la tautomerización ceto-enólica, esencial en el mecanismo *radical scavenging* de la molécula.

3.5 Estrategias de modificación y resultados obtenidos

Se diseñaron 164 derivados de edaravona (denotados dEDA-1 a dEDA-164) modificando seis sitios de la molécula con cuatro grupos funcionales (OH, SH, NH₂ y COOH) en sustituciones simples y dobles, tal como se muestra en la Figura 3.3.

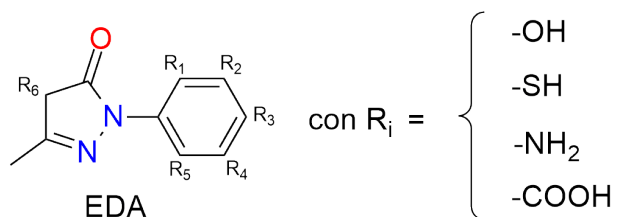


Figura 3.3: Sitios de sustitución considerados en la molécula de edaravona y grupos funcionales explorados.

Para cada derivado, así como para la molécula original, se calculó el puntaje de selección (S^S). En la Figura 3.4 se aprecia la distribución de S^S para los 164 compuestos, donde la línea roja vertical representa el puntaje de referencia de los neuroprotectores ($S^S = 3$) y la línea verde señala el valor de edaravona ($S^S = 3.994$). Este resultado confirma que, en promedio, edaravona cuenta con un perfil farmacocinético superior al de los fármacos orales usados en enfermedades neurodegenerativas. Dos de los derivados superan este puntaje y la mayoría presenta valores mayores que el promedio de los neuroprotectores, lo cual indica que incluso aquellos con puntajes ligeramente menores al de edaravona podrían ser candidatos prometedores en términos farmacocinéticos.

Con base en estos puntajes, se seleccionó un primer subconjunto de 12 derivados (Figura 3.5) para un estudio más detallado.

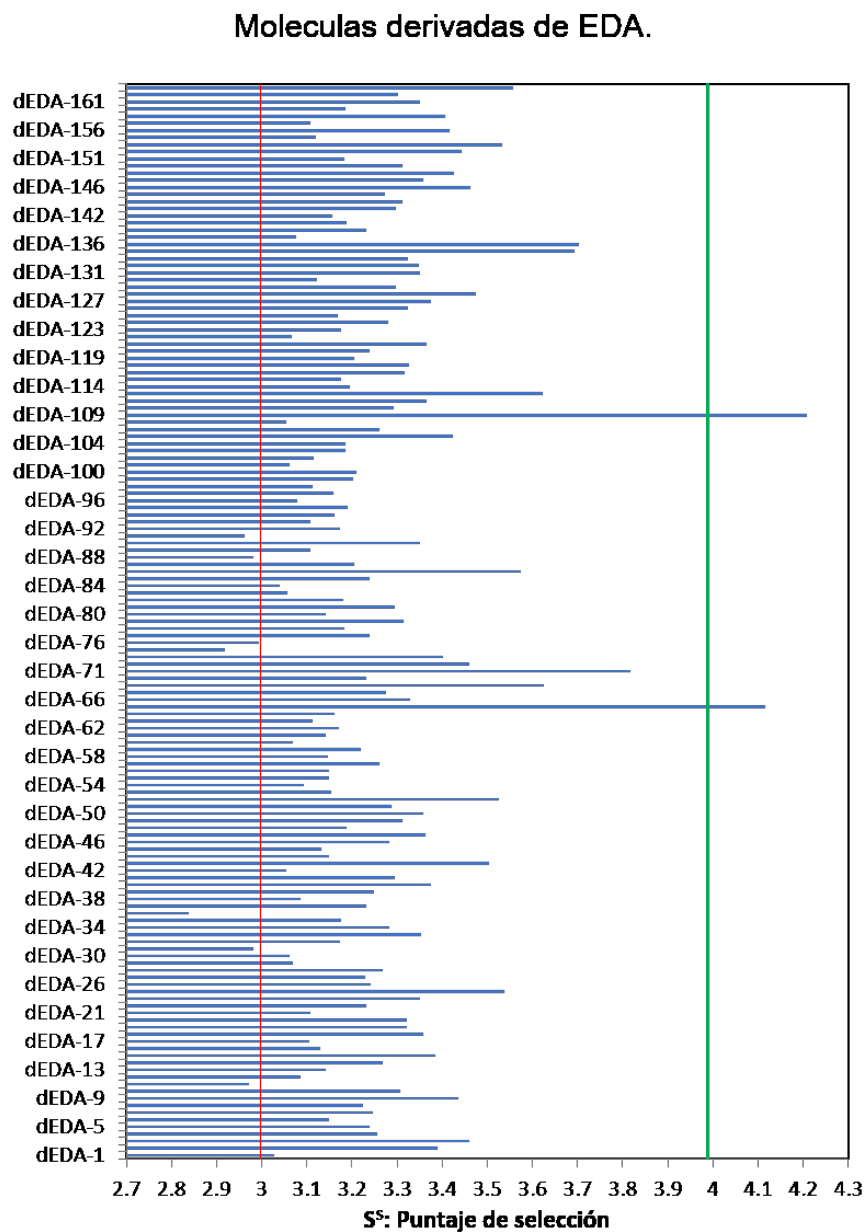


Figura 3.4: Distribución del S^S para los 164 derivados de edaravona (EDA). La línea roja marca el promedio de los fármacos neuroprotectores, $S^S = 3.0$. La línea verde indica el puntaje de selección de la edaravona, $S^S = 3.994$.

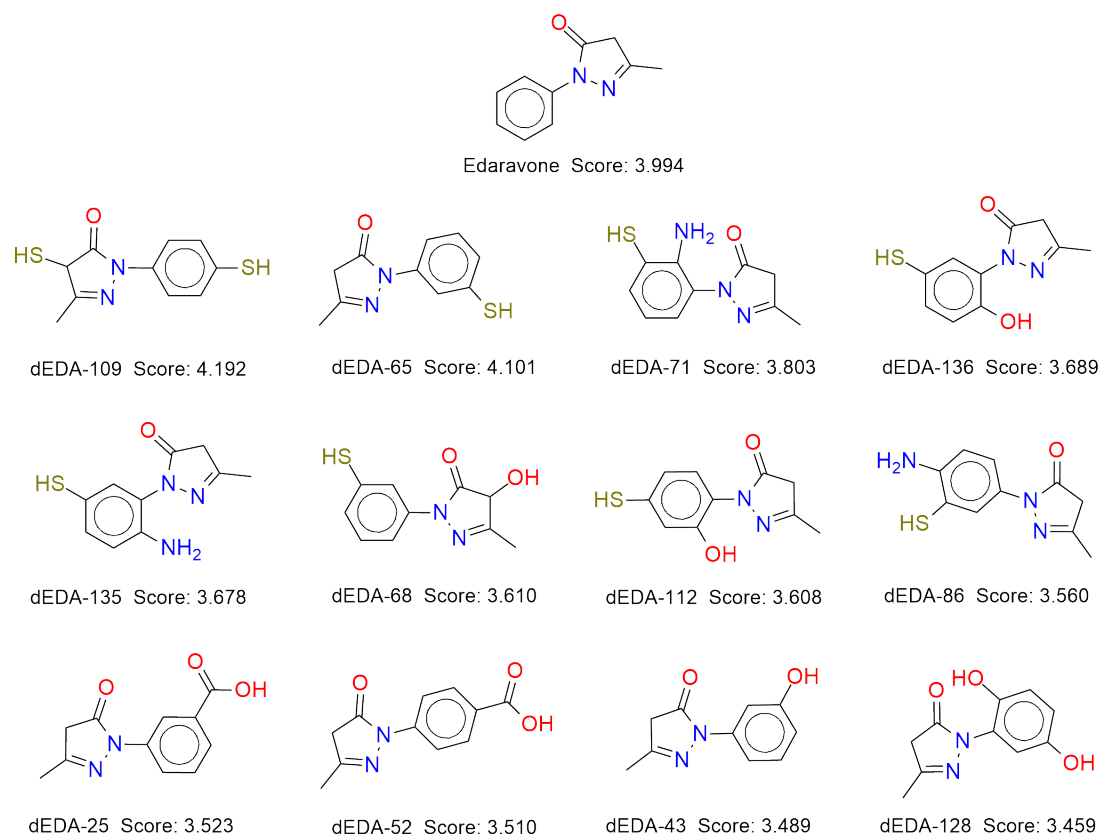


Figura 3.5: Estructura y puntaje de selección de los doce derivados de edaravona mejor evaluados.

Se aplicaron criterios de eliminación (Figura 3.6) para comparar a los 12 candidatos con el conjunto de fármacos de referencia. Se identificaron diferencias en:

1. Átomos donadores de H: Mientras edaravona carece de ellos, varios derivados los incorporan.
2. Área polar superficial: Aumenta con la adición de grupos polares.
3. Toxicidad: Generalmente, los nuevos compuestos mostraron menor toxicidad respecto al promedio.

No se observaron efectos negativos relevantes en estas estructuras, lo que motivó estudiar los equilibrios conformacionales, tautoméricos, determinación de constantes de acidez (*fitted parameters*), energías de ionización, afinidades electrónicas (por la teoría del propagador del electrón) y energías de ruptura de enlace (BDE).

A partir de las energías de ionización y afinidades electrónicas se obtuvieron los descriptores de reactividad global, correlacionándolos con las BDE en los diagramas eH-DAMA, ver Apéndice B.7. El diagrama de potencia electrodonadora (ω^-) frente a BDE se ilustra en la Figura 3.7, mientras que la electrofilicidad (ω) frente a BDE se observa en la Figura 3.8. El recuadro inferior izquierdo delimita el subconjunto de especies con menor demanda energética para SET y menor BDE, condiciones asociadas con procesos de transferencia electrónica y f-HAT, respectivamente.

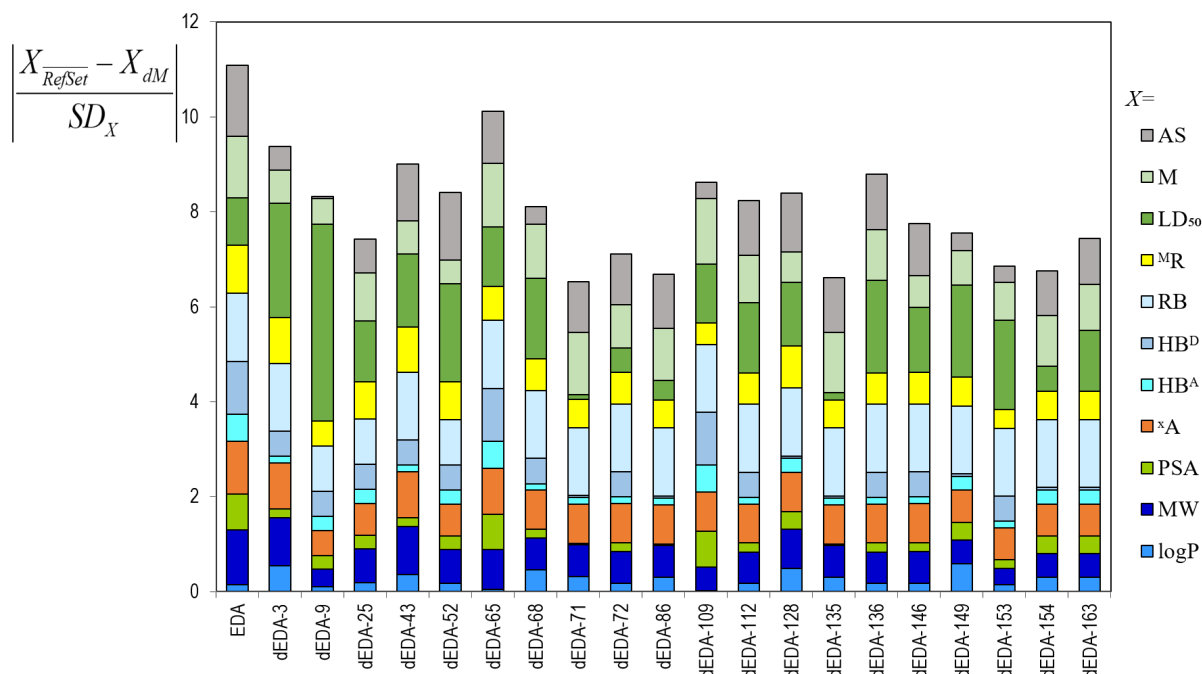


Figura 3.6: Puntajes de eliminación individuales para la edaravona (EDA) y el subconjunto de derivados seleccionados. Las barras apiladas indican la desviación estandarizada de cada propiedad fisicoquímica y toxicológica frente al grupo de control. Contribuciones: AS (accesibilidad sintética), M (mutagenicidad), LD₅₀ (dosis letal media), M_R (refractividad molar), RB (enlaces rotables), HB^D (donadores de enlace de hidrógeno), HB^A (aceptadores de enlace de hidrógeno), X_A (número de átomos pesados), PSA (área de superficie polar), MW (masa molecular) y logP (coeficiente de partición octanol-agua).

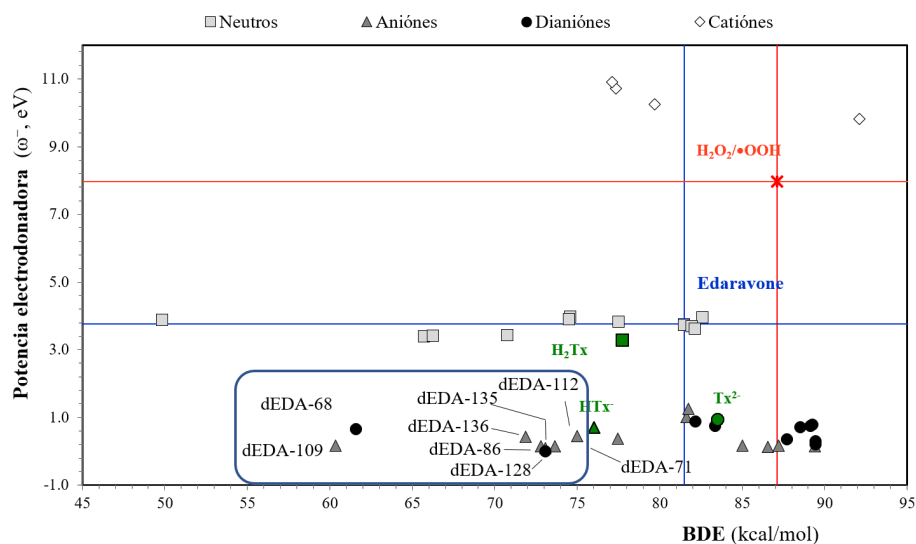


Figura 3.7: Mapa eH-DAMA de potencia electrodonadora, ω^- , frente a BDE para la edaravona (EDA), sus derivados y sus especies ácido-base predominantes. Se indican estados de carga, umbrales de referencia para EDA y el par $H_2O_2 / \bullet OOH$, así como especies de Trolox usadas como controles.

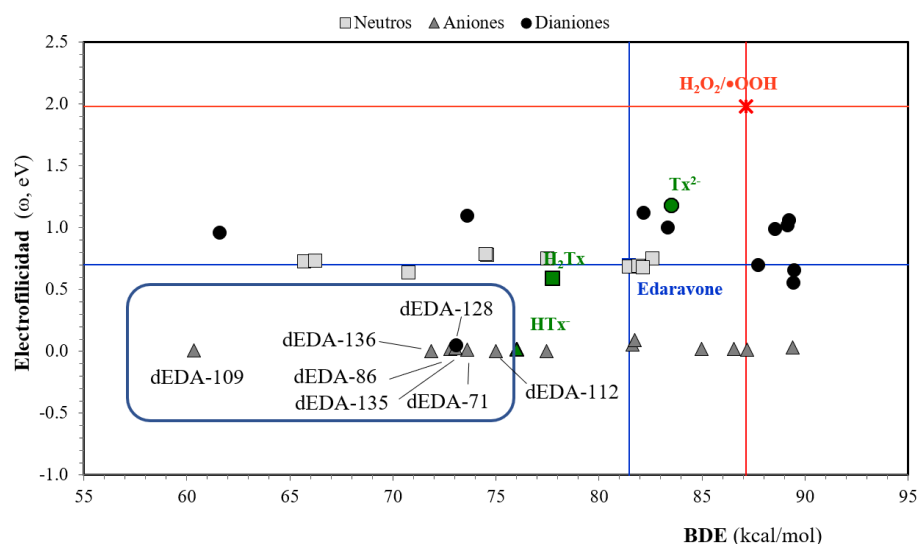


Figura 3.8: Mapa eH-DAMA de electrofilicidad, ω , frente a BDE para la edaravona (EDA), sus derivados y sus especies ácido-base predominantes. Se indican estados de carga, umbrales de referencia para EDA y el par $\text{H}_2\text{O}_2/\bullet\text{OOH}$, así como especies de Trolox usadas como controles.

De estos diagramas se eligieron 7 compuestos (6 aniónicos y 1 dianiónico): dEDA-71, dEDA-86, dEDA-109, dEDA-112, dEDA-135, dEDA-136 y dEDA-128. Sin embargo, con base en las fracciones molares estimadas a pH 7.4, se descartaron dEDA-136 y dEDA-128 por presentar proporciones inferiores a 10^{-3} . Ninguno de los cinco compuestos restantes se ubicó en la región invertida del diagrama de electrofilicidad (Figura 3.8), quedando un subconjunto final de 5 candidatos aniónicos: dEDA-109, dEDA-86, dEDA-135, dEDA-71 y dEDA-112. En la Figura 3.9 se muestra el tautómero más abundante de cada una de estas especies.

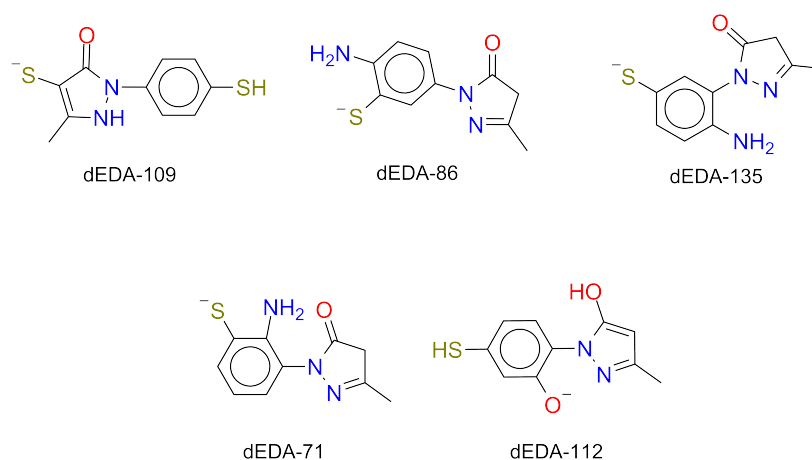


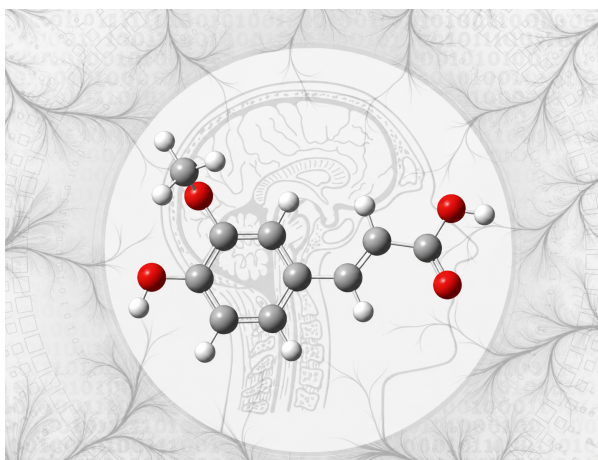
Figura 3.9: Tautómeros predominantes del subconjunto final de candidatos aniónicos de edaravona.

3.6 Conclusiones

Los puntajes de selección y los criterios de eliminación permitieron reducir, de 164 derivados iniciales, a un subconjunto de 12 compuestos y, tras un análisis conformacional y de reactividad detallado, derivar un grupo final de 5 candidatos (dEDA-109, dEDA-86, dEDA-135, dEDA-71 y dEDA-112). Se espera que estos cinco candidatos presenten mayor capacidad para donar electrones y átomos de hidrógeno que la molécula original, favoreciendo reacciones de tipo SET y f-HAT. Con ello, se establece un fundamento sólido para diseñar fármacos multifuncionales con un potencial perfil neuroprotector.

Capítulo 4

Ácido Ferúlico



4.1 El marco estructural del ácido ferúlico

El ácido ferúlico (ácido 4-hidroxi-3-metoxicinámico, FA) es un compuesto fenólico ampliamente distribuido en matrices vegetales como granos de cereales integrales, uvas, perejil, ruibarbo, espinaca, alcachofa y café, entre muchas otras fuentes naturales. Su estructura integra un anillo aromático sustituido con un grupo hidroxilo fenólico en posición *para* (sitio b) y un grupo metoxi en posición *meta* (sitio a), ambos conjugados con una cadena propenoica insaturada que termina en un ácido carboxílico. Esta conjugación estabiliza el radical fenoxilo generado durante procesos de transferencia de hidrógeno, aunque su desempeño como depurador de radicales se reporta como moderado frente a otros ácidos hidroxicinámicos.

La versatilidad biológica del FA es notable: se le han atribuido efectos antioxidante,¹²² antiinflamatorio, antibacteriano, antiviral, antitrombótico, antienvjecimiento y antitumoral. Además, actúa como cardioprotector, neuroprotector, antihipertensivo, antidepresivo, hepatoprotector y tiene efectos beneficiosos en diabetes y nefrotoxicidad inducida por gentamicina.⁴⁴ En particular, se han reportado efectos neuroprotectores en modelos de enfermedad de Alzheimer y de Parkinson.⁴⁴ La funcionalización del núcleo ferúlico se justifica por su actividad basal y por su capacidad para admitir cambios estereoelectrónicos que amplíen su multifuncionalidad terapéutica.

Numerosos grupos han dedicado esfuerzos al desarrollo de derivados del FA.⁴⁴ Sus modificaciones estructurales y bioactividades son diversas, tal como se resume en la Tabla 4.1. La diversidad de bioactividades reportadas —antioxidante, anticancerígena, antiinflamatoria y neuroprotectora— evidencia que el marco molecular del ácido ferúlico es una elección plausible para el desarrollo de nuevas moléculas con beneficios para la salud.

Tabla 4.1: Ejemplos documentados de funcionalización del núcleo ferúlico y bioactividad reportada.

Funcionalización	Bioactividad reportada	Referencia
3- <i>n</i> -butilftálido + glucosa	Antiisquémica.	123
Ésteres alquílicos	Inhibición de agregación de β -amiloide.	124
Amida	Antiviral.	125
Amida	Antioxidante, antiinflamatoria, promotora de mitofagia.	126
Amida	Inhibición de oligomerización y fibrilización de β -amiloide.	127
Amida	Antioxidante, anticancerígena.	128
Amida + pirazol	Antioxidante; protección frente a hipoxia y reoxigenación miocárdica.	122
Aminoácido	Antiinflamatoria, antioxidante.	129
Anilina	Antimicrobiana.	130
Azetidin-2-ona	Antiinflamatoria, antioxidante.	131,132
Bencilamino y carbamil	Inhibición de β -amiloide, antioxidante, inhibición de AChE.	133
Anillos alternativos	Mejora del déficit de memoria inducido por escopolamina en ratón.	134
Dímero	Neuroprotección.	135
Dimetiltiazol y difeniltetrazolio	Anticancerígena.	136
Éster	Antibacteriana.	137,138
Éster	Antifúngica.	139
Éster	Antitrombótica.	140
Éster	Anticancerígena.	141
Éster	Inhibición de xantina oxidasa.	142
Éster y amida	Anticancerígena.	143
Heterocíclico	Anticancerígena.	144
Isopentilo	Anticonvulsiva.	145

Continúa en la siguiente página...

Tabla 4.1 – Continuación de la página anterior

Funcionalización	Bioactividad reportada	Referencia
<i>O</i> -alquilaminas	Antioxidante, inhibición de butirilcolinesterasa.	146
OH + OMe + amida	Inhibición de neuraminidasa.	147
Ftalato y maleato	Hepatoprotección.	148
Piperazina	Antiviral.	149

4.2 Construcción y filtrado de la biblioteca

La investigación se centró en la modificación del núcleo ferúlico mediante la incorporación de grupos $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$ y $-\text{COOH}$ en los cinco sitios de sustitución identificados (R_1 – R_5), tal como se ilustra en la Figura 4.1. La elección de estos grupos funcionales sigue la misma estrategia que la empleada en los Capítulos 2 y 3; los detalles se pueden consultar en el Apéndice A. La generación de la biblioteca molecular resultó en 185 derivados, codificados como FA-*N*:

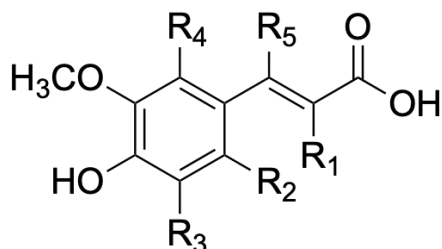


Figura 4.1: Estructura del FA y sitios de modificación (R_1 – R_5). Los sitios *a* y *b* corresponden al grupo metoxi y al hidroxilo fenólico, respectivamente.

- 20 derivados con un grupo funcional (cada uno de los cuatro grupos funcionales en cada uno de los cinco sitios R_i).
- 160 derivados con todas las combinaciones posibles de dos grupos funcionales en los cinco sitios $\left(\binom{5}{2} \times 4^2\right)$.
- 5 derivados con tres grupos funcionales, construidos a partir de las especies bifuncionalizadas con marcos adecuados para AOX-II.

En la Figura 4.2 se aprecia la distribución del S^S para los 185 derivados, el bloque verde corresponde a los derivados seleccionados.

La línea roja marca el valor medio del conjunto de referencia de fármacos neuroprotectores y la línea verde indica el valor del FA nativo ($S^S = 3.772$). Con base en estos puntajes se seleccionó un subconjunto de 12 derivados para estudio posterior, cuyas estructuras y valores de S^S (entre 3.695 y 4.071) se muestran en la Figura 4.3.

Se aplicaron los criterios de eliminación (S_{ADME2}^E , S_{ADME8}^E , S_{ADMET}^E y $S_{\text{ADMETSATSA}}^E$) (véase Apéndice A) para comparar los 12 candidatos con el conjunto de referencia (Figura 4.4). Las diferencias más relevantes provienen de LD_{50} , seguidas de mutagenicidad de Ames (M), PSA y HBD. En todos los casos, dichas desviaciones corresponden a un comportamiento *más favorable* que el promedio del RefSet: los compuestos con mayor desviación en LD_{50} son los menos tóxicos (p. ej., el FA presenta $\text{LD}_{50} = 4\,742.7$ mg/kg frente al promedio del RefSet de 960.8 mg/kg), y los que más se desvían en M son los de menor mutagenicidad predicha (FA-88, FA-106, FA-115 y FA-142, con $M = 0.01$ frente al promedio del RefSet de $M = 0.41$). En consecuencia, ninguno de los 12 candidatos fue excluido de la selección.

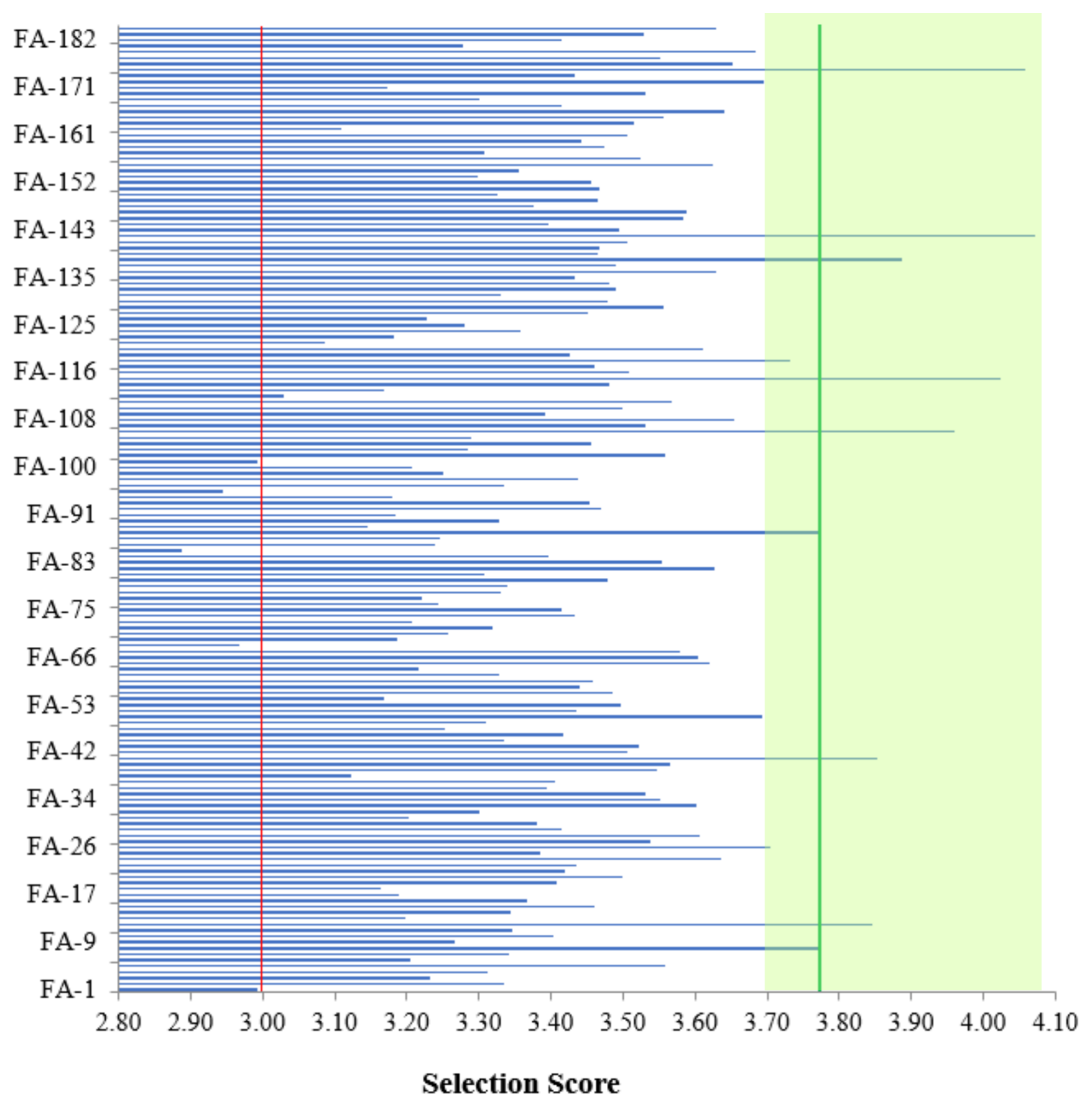


Figura 4.2: Distribución del S^S para los 185 derivados del ácido ferúlico. La línea roja marca el promedio del conjunto de referencia de fármacos neuroprotectores, $S^S = 3.0$; la línea verde indica el valor del ácido ferúlico, $S^S = 3.772$. El bloque verde resalta el subconjunto de 12 derivados seleccionados.

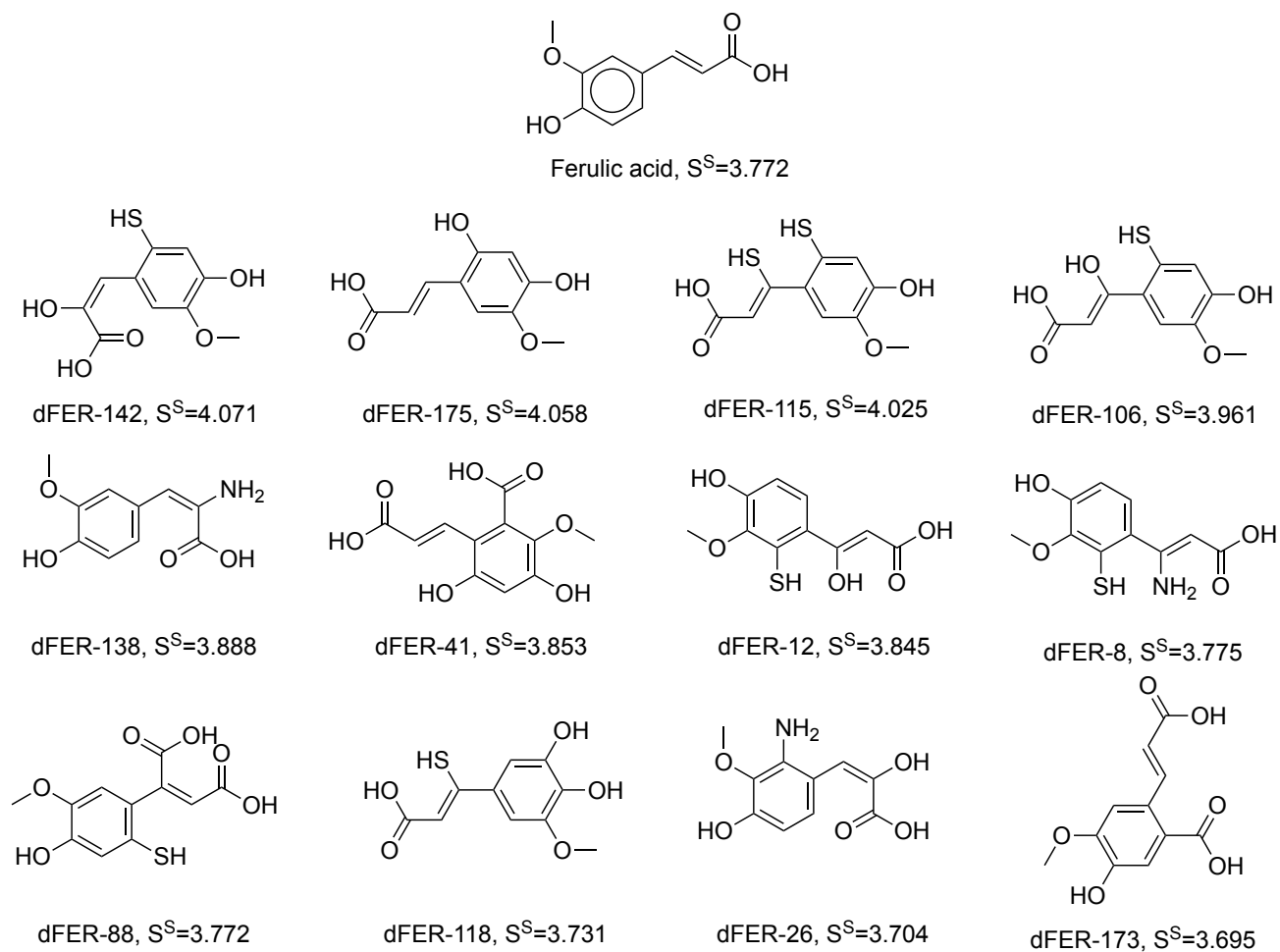


Figura 4.3: Estructura y puntaje de selección de los doce derivados de ácido ferúlico mejor evaluados.

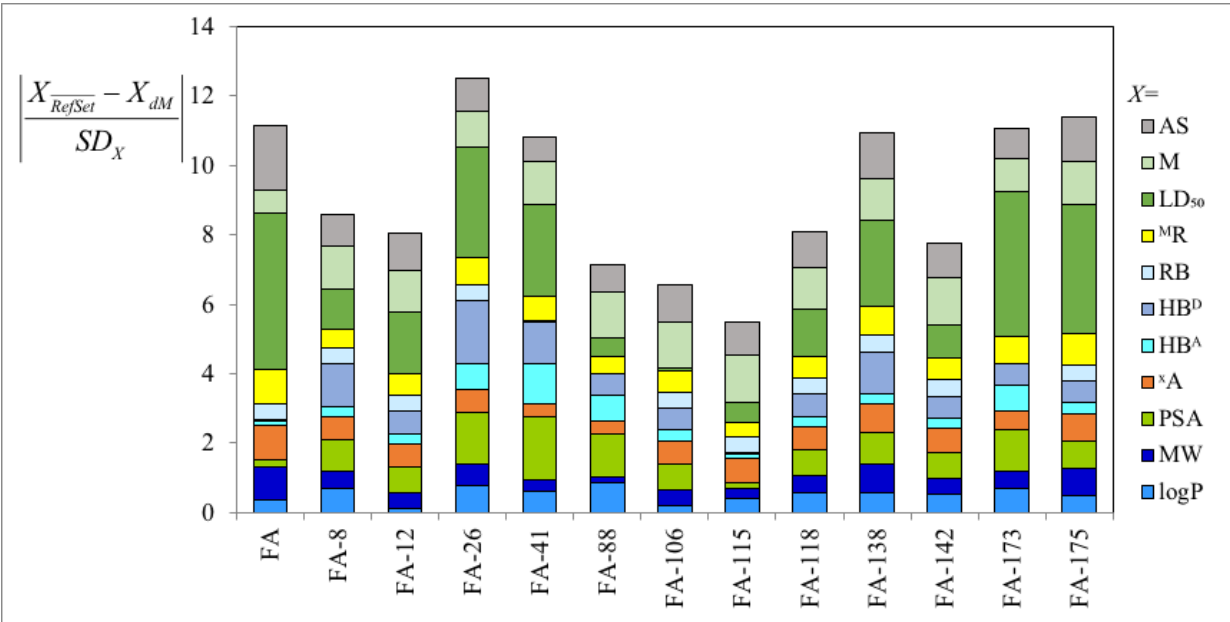


Figura 4.4: Puntajes de eliminación individuales para ácido ferúlico (FA) y el subconjunto de derivados seleccionados. La altura de las barras apiladas corresponde a la desviación estandarizada de cada propiedad fisicoquímica y toxicológica frente al conjunto de referencia. Contribuciones: AS (accesibilidad sintética), M (mutagenicidad), LD₅₀ (dosis letal media), M_R (refractividad molar), RB (enlaces rotables), HB^D (donadores de enlace de hidrógeno), HB^A (aceptadores de enlace de hidrógeno), X_A (número de átomos pesados), PSA (área de superficie polar), MW (masa molecular) y logP (coeficiente de partición octanol-agua).

4.3 Especiación ácido-base

Para cada uno de los 12 derivados preseleccionados se determinaron las constantes de acidez y las fracciones molares (M_f) a pH = 7.4 con el software Marvin, siguiendo el mismo flujo de trabajo descrito para melatonina y edaravona. Los resultados se presentan en la Tabla 4.2.

Tabla 4.2: Valores de pK_a y fracciones molares, $M_f^{(q)}$, a pH = 7.4 para el FA y sus 12 derivados preseleccionados. La carga neta q de cada especie se indica como superíndice.

Comp.	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	pK_{a4}	$M_f^{(+1)}$	$M_f^{(0)}$	$M_f^{(-1)}$	$M_f^{(-2)}$	$M_f^{(-3)}$
FA	4.0	10.0	–	–	–	4×10^{-4}	0.997	0.003	–
FA-8	3.1	4.4	5.8	10.8	$< 10^{-4}$	0.023	0.976	4×10^{-4}	–
FA-12	3.7	5.6	10.3	11.3	–	$< 10^{-4}$	0.015	0.984	0.001
FA-26	2.5	3.9	10.1	11.8	$< 10^{-4}$	3×10^{-4}	0.998	0.002	$< 10^{-4}$
FA-41	2.7	4.4	9.7	11.1	–	$< 10^{-4}$	0.001	0.994	0.005
FA-88	1.9	5.2	5.9	10.5	–	$< 10^{-4}$	2×10^{-4}	0.033	0.966
FA-106	3.7	5.7	10.3	11.2	–	$< 10^{-4}$	0.019	0.980	0.001
FA-115	3.8	5.8	8.6	10.9	–	$< 10^{-4}$	0.023	0.918	0.059
FA-118	3.6	8.5	9.5	13.0	–	1×10^{-4}	0.921	0.078	0.001
FA-138	4.0	7.6	9.9	–	2×10^{-4}	0.596	0.403	0.001	–
FA-142	3.1	5.8	10.4	12.2	–	$< 10^{-4}$	0.022	0.977	0.001
FA-173	3.6	4.2	10.0	–	–	$< 10^{-4}$	0.001	0.997	0.003
FA-175	3.8	9.6	11.0	–	–	3×10^{-4}	0.994	0.006	$< 10^{-4}$

El análisis de las fracciones molares reveló que 7 de los 12 derivados presentan una población neutra despreciable ($M_f^{(0)} < 10^{-4}$) a pH fisiológico, lo que los descarta como candidatos viables para cruzar barreras biológicas por difusión pasiva. De los cinco restantes, FA-26, FA-118 y FA-175 presentan fracciones neutras comparables a las del FA nativo ($M_f^{(0)} \approx 4 \times 10^{-4}$); dado que el FA muestra abundante actividad biológica documentada, estas fracciones se consideran suficientes. Por su parte, FA-138 es el único derivado con fracciones importantes de especie neutra ($M_f^{(0)} = 0.596$) y aniónica ($M_f^{(-1)} = 0.403$) de forma simultánea, lo que sugiere versatilidad para participar tanto en mecanismos que requieren difusión pasiva (especie neutra) como en transferencia electrónica (especie aniónica). En consecuencia, cinco derivados (FA-8, FA-26, FA-118, FA-138 y FA-175) fueron seleccionados para el análisis detallado de reactividad.

4.4 Reactividad química y capacidad antioxidante

Para cada uno de los cinco derivados seleccionados se evaluó la capacidad antioxidante mediante los mecanismos de transferencia electrónica (SET) y de transferencia formal de hidrógeno (*f*-HAT), empleando como descriptores la energía de ionización vertical (IE) y la energía de disociación de enlace (BDE), respectivamente. Se consideraron todas las especies ácido-base con fracción molar no despreciable ($M_f^{(q)} \geq 10^{-4}$) a pH = 7.4, calculadas al nivel de teoría M05-2X/6-311+G(d,p)/SMD(agua). Los fundamentos de estos descriptores se detallan en el Apéndice B.

La Tabla 4.3 resume los valores de IE, EA y BDE mínima para cada especie. Los sitios de mínima BDE se indican conforme a la numeración de la Figura 4.1.

Estos descriptores se emplearon para construir el mapa de capacidad donadora de electrones e hidrógeno para antioxidantes (eH-DAMA, Figura 4.5), incluyendo las especies predominantes a pH fisiológico de los derivados, el FA nativo, Trolox y α -tocoferol como referencias, y el par oxidante $\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$. Los mejores depuradores de radicales se ubican en la esquina inferior izquierda del diagrama (menor IE y menor BDE).

Del mapa eH-DAMA se concluye que los cinco derivados deberían ser depuradores eficientes de especies radicalarias de referencia tanto por SET como por *f*-HAT, superando en desempeño al α -tocoferol y al FA original. En particular, la forma aniónica de FA-138 es el único caso predicho como más eficiente que Trolox en ambos mecanismos. FA-8 muestra mayor facilidad de donación de electrones que Trolox, aunque con menor capacidad donadora de hidrógeno. Estos resultados confirman que las modificaciones estructurales introducidas conservan —y en varios casos mejoran— el perfil de reactividad antioxidante del FA original.

Tabla 4.3: Energía de ionización (IE, eV), afinidad electrónica (EA, eV) y energía de disociación de enlace mínima (BDE, kcal mol⁻¹) para el FA y los derivados seleccionados, desglosadas por estado de protonación a pH 7.4. El sitio de mínima BDE se indica conforme a la numeración de la Figura 4.1. Valores calculados al nivel M05-2X/6-311+G(d,p)/SMD(agua).

Compuesto	IE (eV)	EA (eV)	BDE (kcal mol ⁻¹)	Sitio
<i>Carga q = +1</i>				
FA-138	11.64	3.54	89.30	b (OH)
<i>Carga q = 0 (especie neutra)</i>				
FA	8.36	-0.28	85.15	b (OH)
FA-8	8.75	-0.13	80.24	R ₅ (SH)
FA-26	8.35	0.34	83.06	R ₁ (OH)
FA-118	8.31	-0.95	80.18	b (OH)
FA-138	8.58	0.29	83.97	b (OH)
FA-175	8.12	-0.23	80.09	R ₂ (OH)
<i>Carga q = -1 (anión monovalente)</i>				
FA	4.85	-2.95	82.48	b (OH)
FA-8	3.75	-2.95	77.44	R ₅ (SH)
FA-26	4.33	-3.12	77.29	R ₁ (OH)
FA-118	4.43	-2.98	78.79	b (OH)
FA-138	3.89	-3.11	74.88	b (OH)
FA-175	4.66	-3.05	78.54	b (OH)
<i>Carga q = -2 (anión divalente)</i>				
FA	-0.06	-6.00	96.96	a (OCH ₃)
FA-8	0.20	-5.58	82.04	b (OH)
FA-26	-0.34	-6.04	71.30	b (OH)
FA-118	-1.09	-4.97	74.87	b (OH)
FA-138	-0.55	-5.77	97.02	a (OCH ₃)
FA-175	-0.31	-5.32	75.90	b (OH)
<i>Carga q = -3 (anión trivalente)</i>				
FA-118	-3.78	-7.59	71.01	b (OH)

4.5 Actividad neuroprotectora

Para evaluar la potencial neuroprotección, se realizaron simulaciones de acoplamiento molecular entre los cinco derivados seleccionados y tres enzimas relacionadas con las etiologías de las enfermedades de Alzheimer y Parkinson: acetilcolinesterasa (AChE), monoaminoxidasa B (MAO-B) y catecol-*O*-metiltransferasa (COMT). La inhibición de AChE es una estrategia terapéutica establecida para el Alzheimer,⁴⁴ mientras que la inhibición de MAO-B y COMT es beneficiosa en el Parkinson.⁴⁴

Las estructuras cristalográficas empleadas fueron: COMT (PDB: 3S68, co-cristalizada con tolcapona), MAO-B (PDB: 2V5Z, con safinamida) y AChE (PDB: 4EY7, con donepezilo). El protocolo de re-acoplamiento (*redocking*) produjo RMSD de 1.8, 1.6 y 2.8 Å y energías de -7.65, -10.10 y -10.86 kcal mol⁻¹ para tolcapona, safinamida y

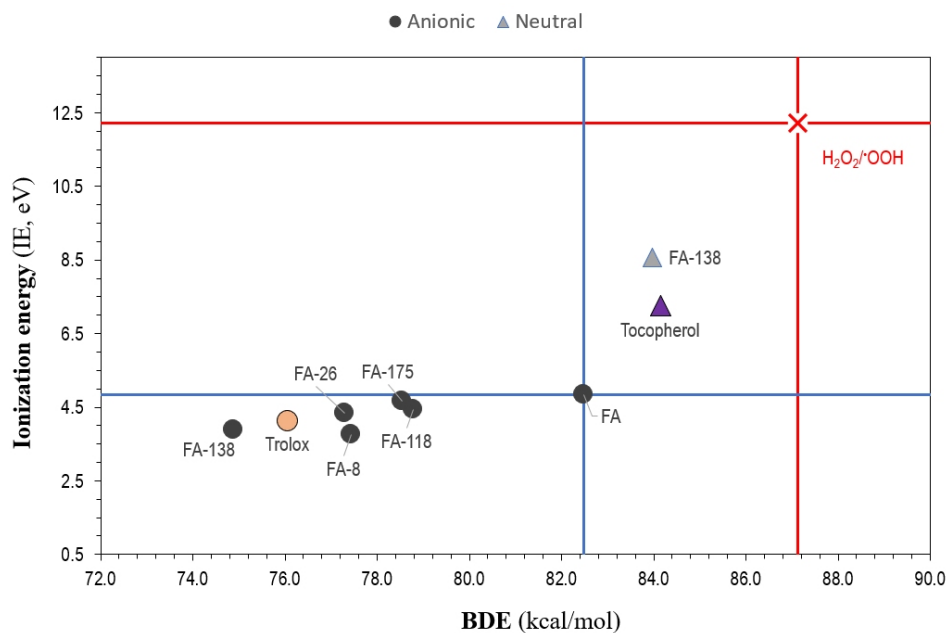


Figura 4.5: Diagrama eH-DAMA para las especies ácido-base predominantes a pH = 7.4 de los derivados de FA seleccionados, el FA, Trolox y α -tocoferol. El par $\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$ se muestra como referencia oxidante.

donepezilo, respectivamente, confirmando la fiabilidad del protocolo. Detalles adicionales del protocolo se describen en el Apéndice C.

Para cuantificar la actividad multidiana se define el puntaje S_P (Ecuación 4.1), que mide la afinidad de cada candidato hacia las tres enzimas en comparación con sus sustratos naturales. Valores de $S_P > 3.00$ indican mayor afinidad global que los sustratos:

$$S_P = \frac{\Delta G_{B,\text{COMT}}^W}{\Delta G_{B,\text{dopa}}} + \frac{\Delta G_{B,\text{MAO-B}}^W}{\Delta G_{B,\text{pea}}} + \frac{\Delta G_{B,\text{AChE}}^W}{\Delta G_{B,\text{ACh}}} \quad (4.1)$$

donde ΔG_B^W es la energía libre de unión ponderada por la fracción molar de cada especie ácido-base a pH = 7.4, y los valores de referencia de los sustratos naturales son: $\Delta G_{B,\text{dopa}} = -5.44 \text{ kcal mol}^{-1}$ (COMT), $\Delta G_{B,\text{pea}} = -6.01 \text{ kcal mol}^{-1}$ (MAO-B) y $\Delta G_{B,\text{ACh}} = -4.56 \text{ kcal mol}^{-1}$ (AChE).

Tabla 4.4: Puntaje multidiana (S_P) y energías de unión ponderadas (ΔG_B^W , kcal mol⁻¹) para el FA y sus derivados seleccionados frente a COMT, MAO-B y AChE. Los valores de referencia de los sustratos naturales son: dopamina (COMT, -5.44 kcal mol⁻¹), feniletilamina (MAO-B, -6.01 kcal mol⁻¹) y acetilcolina (AChE, -4.56 kcal mol⁻¹). Un valor de $S_P = 3.00$ corresponde a afinidad equivalente a la de los sustratos; $S_P > 3.00$ indica mayor afinidad.

Compuesto	COMT	MAO-B	AChE	S_P
Ácido ferúlico	-5.28	-7.19	-7.37	3.78
FA-8	-5.14	-6.91	-6.43	3.50
FA-26	-5.09	-7.63	-7.88	3.93
FA-118	-5.90	-7.09	-6.95	3.79
FA-138	-5.12	-7.17	-7.40	3.76
FA-175	-5.42	-7.02	-7.01	3.70

Para los sustratos naturales $S_P = 3.00$.

Todos los compuestos presentan $S_P > 3.00$, prediciendo mayor afinidad global hacia las tres enzimas que sus propios sustratos naturales. **FA-26** obtuvo el mayor puntaje ($S_P = 3.93$), siendo el mejor candidato en términos de actividad neuroprotectora multidiana. El examen de los valores individuales de ΔG_B^W revela que el potencial inhibitorio es mayor para AChE y MAO-B que para COMT. Los valores negativos para COMT indican que esta enzima forma complejos más estables con la dopamina que con los derivados del FA, con la excepción de FA-118, cuyo fragmento catecol es un motivo estructural para la inhibición de COMT.⁴⁴

Las principales interacciones en los complejos de mayor S_P se presentan en la Figura 4.6. FA-26 en su forma aniónica (especie mayoritaria, $M_f^{(-1)} \approx 0.97$) se une al sitio de entrada de AChE mediante cuatro enlaces de hidrógeno (D71, Y121, F292 y Y338), una interacción π -stacking (Y334) y una interacción π -alquilo (W83). En MAO-B, FA-26 forma cuatro enlaces de hidrógeno (Q206, L171 y FAD), una interacción π -stacking (F343) y enlaces C-H no convencionales; destaca la formación de un enlace con el N5 del cofactor FAD, requerido para la actividad redox de la enzima, lo que sugiere un mecanismo de inhibición reversible análogo al de safinamida. En el complejo FA-118:COMT, el fragmento catecol coordina el Mg²⁺ del sitio activo mediante dos interacciones metal-donador, complementadas con enlaces de hidrógeno hacia K144 y N170, e interacciones hidrofóbicas con M40 y P174.

4.6 Conclusiones

Los puntajes de selección y los criterios de eliminación permitieron reducir, de 185 derivados iniciales a un subconjunto de 12 candidatos con mejor perfil que el FA. Tras el filtrado por especiación ácido-base a pH fisiológico, se propuso un grupo de 5 candidatos (FA-8, FA-26, FA-118, FA-138 y FA-175). El análisis eH-DAMA predice que todos ellos superan en actividad antioxidante al α -tocoferol y al FA, proponiendo a FA-138 como el mejor depurador de radicales libres. Las simulaciones de *docking* confirman que FA-26 es el mejor candidato neuroprotector multidiana

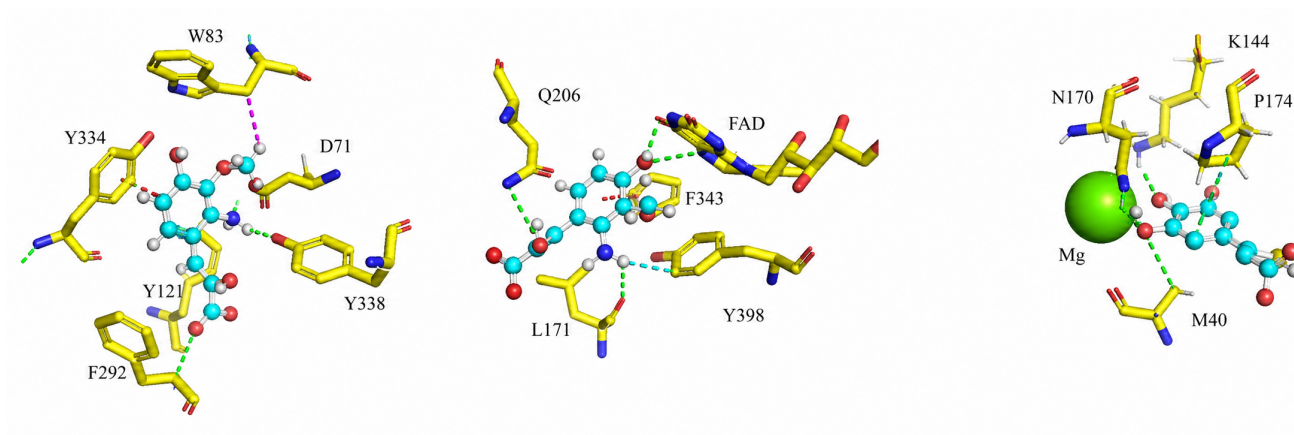


Figura 4.6: Principales interacciones en los complejos FA-26:AChE (izquierda), FA-26:MAO-B (centro) y FA-118:COMT (derecha). Las líneas punteadas representan enlaces de hidrógeno convencionales (verde), enlaces C–H no convencionales (cian), interacciones π -stacking (rojo), contactos π -alquilo (magenta) y, cuando aplica, coordinación metal–donador con Mg^{2+} (gris).

(AChE y MAO-B) y FA-118 el único con potencial eficiente como inhibidor de COMT. Con base en estos resultados, se propone a FA-26, FA-118 y FA-138 como los candidatos más prometedores para síntesis y posterior evaluación experimental.



Article

Rational Design of Multifunctional Ferulic Acid Derivatives Aimed for Alzheimer's and Parkinson's Diseases

Eduardo Gabriel Guzmán-López ¹, Miguel Reina ², Luis Felipe Hernández-Ayala ¹ and Annia Galano ^{1,*}

¹ Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Col. Leyes de Reforma 1A Sección, Alcaldía Iztapalapa, Mexico City 09310, Mexico; hdz.ayala@quimica.unam.mx (L.F.H.-A.)

² Departamento de Química Inorgánica y Nuclear, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, Mexico

* Correspondence: agal@xanum.uam.mx

Abstract: Ferulic acid has numerous beneficial effects on human health, which are frequently attributed to its antioxidant behavior. In this report, many of them are reviewed, and 185 new ferulic acid derivatives are computationally designed using the CADMA-Chem protocol. Consequently, their chemical space was sampled and evaluated. To that purpose, selection and elimination scores were used, which are built from a set of descriptors accounting for ADME properties, toxicity, and synthetic accessibility. After the first screening, 12 derivatives were selected and further investigated. Their potential role as antioxidants was predicted from reactivity indexes directly related to the formal hydrogen atom transfer and the single electron transfer mechanisms. The best performing molecules were identified by comparisons with the parent molecule and two references: Trolox and α -tocopherol. Their potential as polygenic neuroprotectors was investigated through the interactions with enzymes directly related to the etiologies of Parkinson's and Alzheimer's diseases. These enzymes are acetylcholinesterase, catechol-O-methyltransferase, and monoamine oxidase B. Based on the obtained results, the most promising candidates (FA-26, FA-118, and FA-138) are proposed as multifunctional antioxidants with potential neuroprotective effects. The findings derived from this investigation are encouraging and might promote further investigations on these molecules.



Citation: Guzmán-López, E.G.; Reina, M.; Hernández-Ayala, L.F.; Galano, A. Rational Design of Multifunctional Ferulic Acid Derivatives Aimed for Alzheimer's and Parkinson's Diseases. *Antioxidants* **2023**, *12*, 1256. <https://doi.org/10.3390/antiox12061256>

Academic Editors: Gabriele Carullo and Roberta Ibba

Received: 29 April 2023

Revised: 31 May 2023

Accepted: 6 June 2023

Published: 11 June 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Keywords: rational design; antioxidants; electron transfer; hydrogen transfer; neuroprotection; AChE; COMT; MAOB

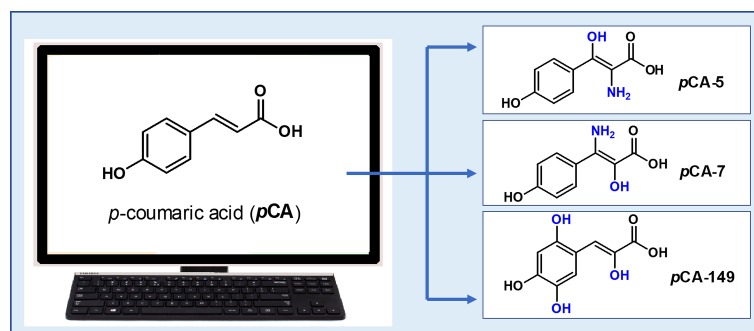
1. Introduction

Oxidative stress (OS) is a harmful multifaceted phenomenon, often referred to as the “chemical silent killer” since no evident symptoms are associated with it. To this day, there is no available test to detect it. Thus, its damaging effects can evolve without any advice to the affected person. Currently, OS represents a major concern linked to the onset and development of hundreds of illnesses. Among the available strategies to lessen OS risks to human health, chemical protection by antioxidant molecules is one of the most effective and studied approaches. Antioxidants can be seen as sacrificial compounds that prevent oxidants from reaching biomolecules. Antioxidants are produced endogenously by the human body and can be acquired through the intake of food and dietary supplements.

Ferulic acid (4-hydroxy-3-methoxy cinnamic acid, FA, Scheme 1) is one of these valuable molecules. It is found in whole grains, grapes, parsley, rhubarb, spinach, cereal seeds, artichoke, and coffee, among many other natural sources [1]. It is a versatile molecule. There are numerous reports on its antioxidant activity [2–14] as well as on its anti-inflammatory [15,16], antibacterial [17–20], antiviral [21], anti-thrombotic [22,23], anti-ageing [24–26], and antitumoral effects [27–41]. It also acts as a cardio protector [42–48], neuroprotector [49–59], anti-hypertensive [60–63], antidepressant [51,64–69], hepatoprotector [70–81], and has beneficial effects on diabetes [82–88] and gentamicin-induced nephrotoxicity [89].

Capítulo 5

Ácido *p*-Cumárico



5.1 El marco estructural del ácido *p*-cumárico

El ácido *p*-cumárico (pCA, ácido 4-hidroxicinámico) es un metabolito fenólico ubicuo en el reino vegetal. Se encuentra unido por enlace éter o éster a los componentes de la lignina y por enlace éster a los polisacáridos de la pared celular.⁴⁹ Su presencia en uvas, tomates, café, té, cerveza, vino, ajo, zanahorias y chocolate facilita su ingesta habitual en la dieta humana.

El pCA es una molécula bifuncional: posee un grupo hidroxilo fenólico y un grupo carboxílico, ambos conjugados a través de una cadena propenónica insaturada (Figura 5.1). Esta bifuncionalidad condiciona su comportamiento biológico. Los grupos —OH y —COOH modulan el equilibrio ácido-base y, por tanto, la proporción de especies neutras y cargadas a pH fisiológico, lo cual determina la capacidad de cruzar barreras lipídicas por difusión pasiva. Ambos grupos participan también en la actividad antioxidante mediante donación de electrones o de hidrógeno y mediante quelación de metales.⁴⁹

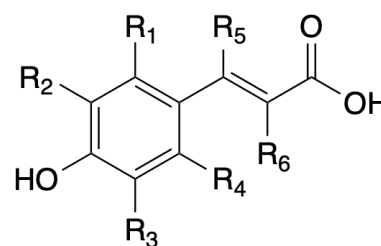


Figura 5.1: Estructura química del ácido *p*-cumárico (pCA) y sitios de sustitución R_1 – R_6 considerados en este trabajo.

Las actividades biológicas documentadas para el pCA son amplias: antioxidante, antiagregante plaquetario, antiinflamatorio, anticancerígeno, cardiovascular y neuroprotector. Su eficacia reportada frente a la enfermedad de Parkinson motiva su uso como punto de partida en este trabajo.⁴⁹

5.2 Construcción y filtrado de la biblioteca

Se modificó el núcleo del pCA incorporando los grupos funcionales —OH , —NH_2 , —SH y —COOH en seis sitios de sustitución (R_1 – R_6 , Figura 5.1). Estos grupos se eligieron por su capacidad esperada para modular la actividad

antioxidante de los tipos I, II y III y desplazar el equilibrio ácido-base hacia fracciones neutras más altas a pH fisiológico. La biblioteca comprende 156 derivados: 16 monosustituídos, 132 disustituídos y 8 trisustituídos, construidos a partir de las especies bifuncionalizadas más prometedoras.⁴⁹

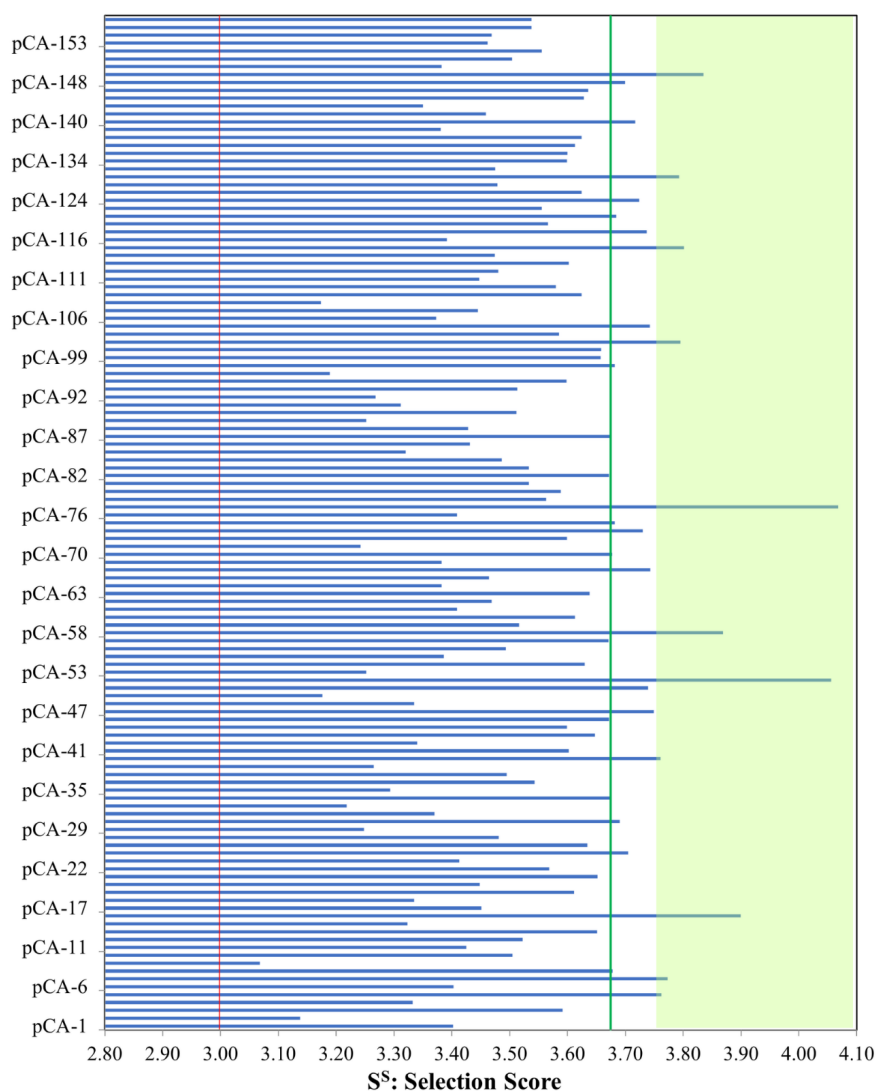


Figura 5.2: Distribución del S^S para los 156 derivados de pCA. La línea roja marca el promedio del RefSet ($S^S = 3.0$); la línea verde indica el puntaje de selección del pCA ($S^S = 3.77$). El bloque verde resalta el subconjunto de diez derivados seleccionados.

La distribución del S^S (Figura 5.2) muestra que el pCA tiene $S^S = 3.77$, por encima del promedio del conjunto de referencia. Con base en este criterio, se seleccionaron 10 derivados (Figura 5.3) para el estudio de reactividad; sus S^S oscilan entre 3.76 y 4.07.

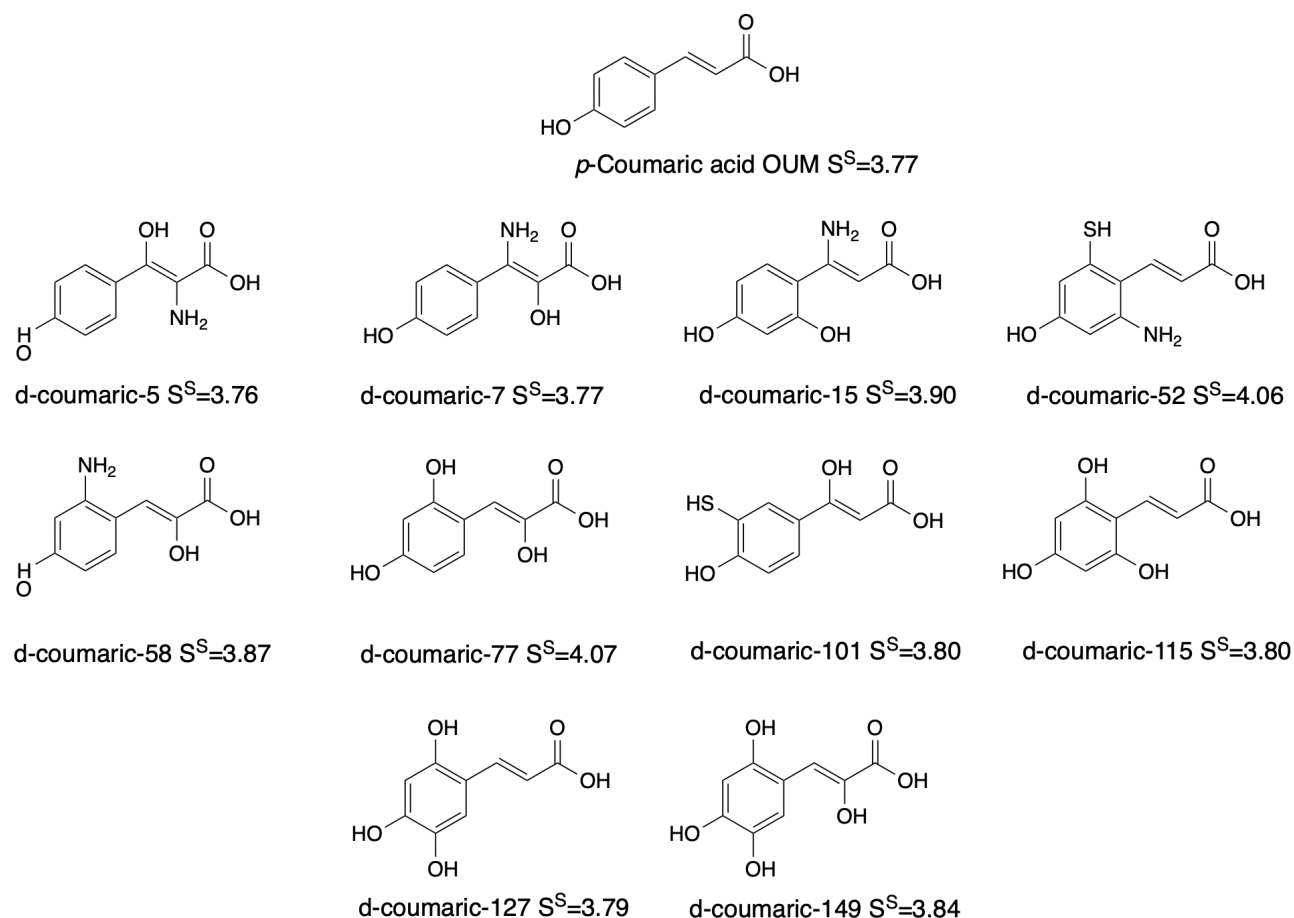


Figura 5.3: Estructuras y puntajes de selección de los diez derivados de ácido *p*-cumárico mejor evaluados.

El análisis de S^E (Figura 5.4) muestra que las contribuciones de accesibilidad sintética y los descriptores de S^E_{ADME2} son pequeñas y similares entre candidatos. Las desviaciones más pronunciadas provienen de LD_{50} y mutagenicidad de Ames. Ambas son favorables: los derivados que más se desvían del RefSet son los menos tóxicos. pCA-127, pCA-115, pCA-149, pCA-77 y pCA-15 tienen LD_{50} entre 3 895 y 4 431 mg/kg frente al promedio del RefSet de 961 mg/kg. pCA-52, pCA-77, pCA-58 y pCA-15 tienen mutagenicidad $M \leq 0.05$ frente al promedio de $M = 0.41$.⁴⁹ Las desviaciones en PSA y HBD se acercan al límite superior de los rangos recomendados sin violar las reglas de Lipinski, Ghose o Veber. Ninguno de los 10 candidatos fue excluido.

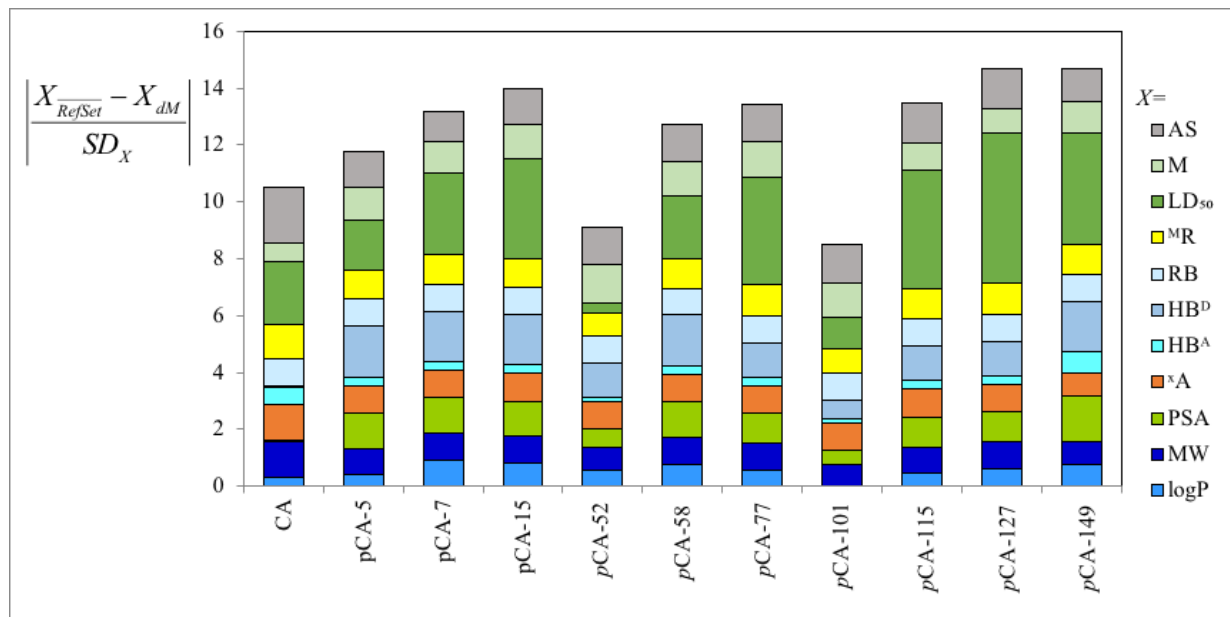


Figura 5.4: Puntajes de eliminación individuales para ácido *p*-cumárico (pCA) y el subconjunto de derivados seleccionados. La altura de las barras apiladas cuantifica la desviación estandarizada de cada propiedad fisicoquímica y toxicológica frente al grupo de control. Contribuciones: AS (accesibilidad sintética), M (mutagenicidad), LD₅₀ (dosis letal media), M_R (refractividad molar), RB (enlaces rotables), HB^D (donadores de enlace de hidrógeno), HB^A (aceptadores de enlace de hidrógeno), X_A (número de átomos pesados), PSA (área de superficie polar), MW (masa molecular) y logP (coeficiente de partición octanol-agua).

5.3 Especiación ácido-base

Tabla 5.1: Valores de pK_a y fracciones molares, M_f , a pH = 7.4 para el pCA y sus derivados seleccionados. Las fracciones menores a 10^{-3} se indican con notación exponencial.

Comp.	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	pK_{a4}	$M_f^{(+1)}$	$M_f^{(0)}$	$M_f^{(-1)}$	$M_f^{(-2)}$	$M_f^{(-3)}$
pCA	4.43	9.35	—	—	—	0.001	0.988	0.011	—
pCA-5	0.91	7.67	9.55	13.66	$< 10^{-6}$	0.649	0.349	0.002	$< 10^{-5}$
pCA-7	0.36	4.22	9.63	—	$< 10^{-10}$	0.001	0.993	0.006	—
pCA-15	1.53	4.46	9.12	10.96	$< 10^{-8}$	0.001	0.980	0.019	$< 10^{-5}$
pCA-52	2.10	4.41	6.57	10.84	$< 10^{-9}$	$< 10^{-3}$	0.129	0.871	$< 10^{-3}$
pCA-58	1.69	3.96	9.76	12.16	$< 10^{-9}$	$< 10^{-3}$	0.995	0.004	$< 10^{-7}$
pCA-77	2.33	9.22	10.85	12.92	—	$< 10^{-5}$	0.985	0.015	$< 10^{-5}$
pCA-101	3.64	4.45	12.01	13.91	—	$< 10^{-6}$	0.001	0.999	$< 10^{-4}$
pCA-115	4.84	8.72	10.42	11.67	—	0.003	0.952	0.046	$< 10^{-4}$
pCA-127	4.70	8.10	10.72	13.29	—	0.002	0.832	0.166	$< 10^{-4}$
pCA-149	2.58	8.11	11.12	13.52	—	$< 10^{-4}$	0.837	0.163	$< 10^{-4}$

El pCA es predominantemente monoaniónico a pH = 7.4 ($M_f^{(-1)} = 0.988$), con fracción neutra casi nula ($M_f^{(0)} = 0.001$). Esa fracción neutra minoritaria es coherente con la permeabilidad pasiva observada experimentalmente.

pCA-5 es el único derivado con fracción neutra apreciable ($M_f^{(0)} = 0.649$), coexistiendo con monoanión relevante ($M_f^{(-1)} = 0.349$). Esta coexistencia es favorable porque combina una especie neutra compatible con difusión pasiva y

una especie aniónica más activa por SET. En contraste, pCA-52 y pCA-101 presentan fracciones dianiónicas dominantes; el caso más desfavorable es pCA-101, con $M_f^{(-2)} = 0.999$, $M_f^{(0)} < 10^{-6}$ y $M_f^{(-1)} = 0.001$. Por ello, pCA-101 se conserva en las tablas comparativas, pero no se considera candidato terapéutico final por su especiación desfavorable a pH fisiológico.

5.4 Reactividad química y mapas eH-DAMA

Los resultados (Tabla 5.2) muestran que las especies neutras tienen valores de IE superiores a 7.8 eV, similares o ligeramente menores al pCA nativo (8.41 eV), indicando una mejora moderada en la capacidad donadora de electrones. Las especies aniónicas exhiben IE en el rango 3.5–4.9 eV, característico de buenos donadores de electrones. Las especies dianiónicas presentan IE negativas, lo que las ubica en la región invertida de la parábola de Marcus: en estos casos, el descriptor relevante para SET es la electrofilia ω o el poder electrodonador ω^- en lugar de la IE.⁴⁹

Tabla 5.2: Energía de ionización (IE, eV), afinidad electrónica (EA, eV), electrofilia (ω), potencia electrodonadora (ω^-), electroaceptora (ω^+), potencial químico (μ , eV), dureza química (η , eV) y energía mínima de disociación de enlace (BDE, kcal/mol) para el pCA y los derivados evaluados, por especie de protonación.

Comp.	IE	EA	ω	ω^-	ω^+	μ	η	BDE
<i>Especies neutras</i>								
pCA	8.41	-0.96	0.74	3.93	0.20	-3.72	9.37	87.02
pCA-5	8.97	0.13	1.17	5.17	0.62	-4.55	8.84	90.42
pCA-7	7.88	-1.03	0.66	3.59	0.16	-3.43	8.91	70.88
pCA-15	8.80	-0.23	1.02	4.74	0.46	-4.28	9.03	87.55
pCA-115	8.12	-0.68	0.79	3.98	0.26	-3.72	8.80	88.31
pCA-127	8.06	-0.79	0.75	3.86	0.23	-3.64	8.85	79.39
<i>Especies aniónicas</i>								
pCA	4.83	-3.00	0.05	1.06	0.14	-0.92	7.84	84.42
pCA-5	3.75	-3.08	0.01	0.61	0.27	-0.34	6.83	70.88
pCA-7	3.50	-3.16	0.00	0.51	0.33	-0.17	6.65	68.68
pCA-15	3.59	-2.78	0.01	0.63	0.22	-0.41	6.37	86.83
pCA-52	4.86	-2.86	0.06	1.11	0.11	-1.00	7.73	78.66
pCA-58	4.13	-3.07	0.02	0.75	0.22	-0.53	7.21	77.49
pCA-77	4.10	-3.14	0.02	0.73	0.24	-0.48	7.24	78.89
pCA-101	4.41	-2.78	0.05	0.95	0.13	-0.82	7.19	74.47
pCA-115	4.46	-2.73	0.05	0.99	0.12	-0.87	7.19	85.00
pCA-127	4.65	-3.09	0.04	0.95	0.17	-0.78	7.74	77.69
pCA-149	4.15	-3.29	0.01	0.70	0.28	-0.43	7.44	74.44
<i>Especies dianiónicas</i>								
pCA	-0.15	-6.55	0.88	0.48	3.83	-3.35	6.41	–
pCA-5	-0.27	-6.59	0.93	0.54	3.97	-3.43	6.32	69.65
pCA-7	-0.37	-6.63	0.98	0.60	4.10	-3.50	6.26	67.01
pCA-15	-0.07	-6.35	0.82	0.43	3.64	-3.21	6.29	81.12
pCA-52	-0.22	-5.77	0.81	0.46	3.45	-2.99	5.55	81.12
pCA-58	-0.53	-6.41	1.02	0.68	4.15	-3.47	5.88	70.51
pCA-77	-0.47	-5.82	0.93	0.61	3.76	-3.15	5.34	72.46
pCA-101	-0.33	-6.16	0.65	0.26	3.17	-2.91	6.48	76.94
pCA-115	-0.21	-5.83	0.81	0.46	3.48	-3.02	5.62	80.74
pCA-127	-0.01	-6.14	0.77	0.39	3.46	-3.07	6.13	73.02
pCA-149	-0.35	-6.26	0.92	0.57	3.87	-3.30	5.90	69.89

En el mapa eH-DAMA (Figura 5.5) se identifica a los mejores depuradores de radicales con menor ω y menor BDE. El par oxidante $\text{H}_2\text{O}_2/\bullet\text{OOH}$ se incluye como referencia termodinámica.

Las especies dianiónicas no se priorizan como donadores eficientes por SET. Su IE negativa las sitúa en la región invertida de la parábola de Marcus, donde la reacción SET se vuelve desfavorable.⁴⁹ En estos casos, el descriptor relevante es ω , y sus valores elevados (> 0.8) confirman la menor conveniencia termodinámica de estas especies.

Las especies aniónicas son los mejores donadores de electrones del conjunto. Todas tienen $\omega \approx 0.00$ – 0.06 , comparables al monoanión de Trolox. El criterio discriminante entre ellas es la BDE. Por BDE, pCA-7, pCA-5,

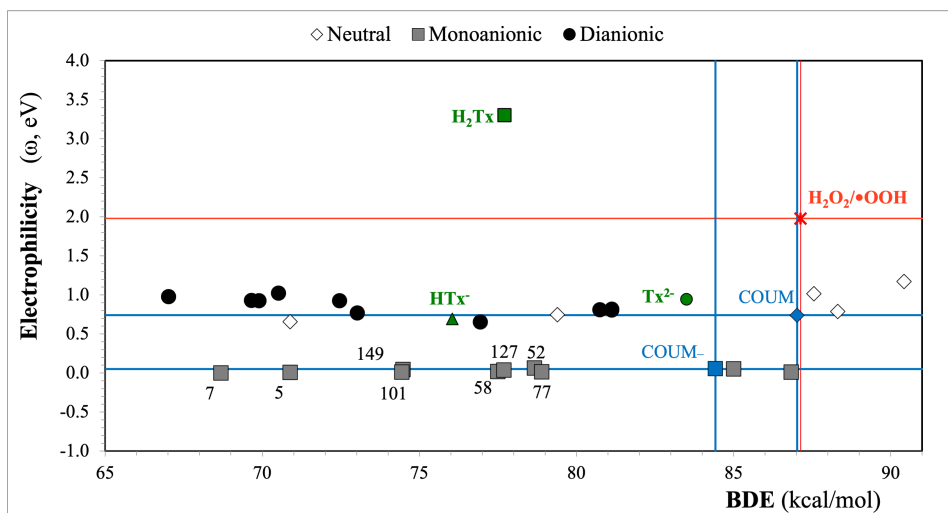


Figura 5.5: Mapa eH-DAMA para las especies predominantes a pH = 7.4 de los derivados de pCA, el pCA, Trolox y el par $\text{H}_2\text{O}_2/\bullet\text{OOH}$. La región inferior izquierda corresponde a especies con mayor capacidad relativa de donación de electrones y de hidrógeno.

pCA-101 y pCA-149 superan a Trolox y al pCA como depuradores de $\bullet\text{OOH}$. pCA-58, pCA-127, pCA-52 y pCA-77 superan al pCA, pero no alcanzan el nivel de Trolox.

La especiación y los índices de reactividad despriorizan a pCA-101 a pesar de su posición favorable en el mapa eH-DAMA: su fracción neutra ($M_f^{(0)} < 10^{-6}$) y su fracción monoaniónica ($M_f^{(-1)} = 0.001$) son prácticamente nulas, por lo que su contribución ponderada a la actividad en medio biológico sería limitada. Con base en este análisis, los candidatos retenidos son pCA-7, pCA-5 y pCA-149, en ese orden de preferencia.

5.5 Actividad neuroprotectora: inhibición de COMT

La catecol-*O*-metiltransferasa (COMT) es una de las dianas terapéuticas centrales en la enfermedad de Parkinson. Su inhibición prolonga la vida media de la dopamina en la sinapsis. Los inhibidores conocidos, tolcapona y entacapona, contienen un grupo nitrocatecol asociado a hepatotoxicidad idiosincrática, lo que hace del desarrollo de inhibidores no nitrocatecólicos una prioridad.⁴⁹

Se empleó la estructura cristalográfica de la COMT humana en complejo con 3,5-dinitrocatecol (PDB: 6I3C, resolución 1.34 Å). El *redocking* del ligando co-cristalizado (DNC) produjo RMSD = 0.81 Å, validando el protocolo. Para la comparación se usaron dopamina ($E_b = -4.71$ kcal/mol) como sustrato natural y tolcapona ($E_b = -13.46$ kcal/mol) como inhibidor de referencia. Los detalles del protocolo están en el Apéndice C.

Tabla 5.3: Energía libre de unión (E_b , kcal/mol) y constante de inhibición (k_i) para los complejos con COMT. Para la dopamina, k_i en μM ; para el resto, en nM.

Ligando	E_b (kcal/mol)	k_i
Tolcapona	−13.46	0.136 nM
DNC	−11.96	1.71 nM
pCA-101	−11.51	3.63 nM
pCA-52	−10.92	9.91 nM
pCA-127	−10.73	13.62 nM
pCA-115	−10.80	12.03 nM
pCA-77	−10.62	16.35 nM
pCA-15	−10.59	17.41 nM
pCA-58	−10.44	22.18 nM
pCA-5	−10.50	20.11 nM
pCA-7	−10.30	27.99 nM
pCA-149	−10.09	40.13 nM
Dopamina	−4.71	352.91 μM

Todos los derivados tienen afinidad predicha por COMT superior a la dopamina, el sustrato natural, con E_b entre −10.09 y −11.51 kcal/mol frente a −4.71 kcal/mol. Ninguno supera a tolcapona, pero los valores son comparables al ligando co-cristalizado DNC. Estos valores predichos son compatibles con inhibición nanomolar para los derivados de pCA.

El mecanismo de unión difiere del de los inhibidores nitrocatecol. Las poses de acoplamiento (Figura 5.6) muestran que todos los derivados coordinan el Mg^{2+} del sitio activo a través del grupo carboxilato, no del fragmento catecol. Esto tiene una explicación en términos de la teoría de ácidos y bases duros y blandos (HSAB): el carboxilato es una base dura con afinidad preferencial por Mg^{2+} , un ácido duro. El anillo bencénico se proyecta hacia el exterior del sitio e interactúa hidrofóbicamente con Met40, Val42, Trp143, Cys173, Pro174 y Leu198.⁴⁹ Todos los compuestos forman H-bonds con Lys144 y Glu199; pCA-15, pCA-101, pCA-58, pCA-77, pCA-115 y pCA-127 forman H-bond adicional con Asn170. La interacción π – π con Trp38 aparece en pCA-5, pCA-15, pCA-58, pCA-115, pCA-127 y pCA-101.

pCA-101 tiene la mayor afinidad del conjunto ($E_b = -11.51$ kcal/mol, $k_i = 3.63$ nM), pero fue descartado porque presentaba fracciones molares desfavorables a pH fisiológico. Este resultado ejemplifica la tensión que existe en el diseño de fármacos entre la potencia sobre la diana molecular y la biodisponibilidad sistémica: un compuesto puede mostrar afinidad elevada en el modelo de acoplamiento, pero tener eficacia limitada *in vivo* si no alcanza la diana. Su candidatura queda abierta condicionada a estrategias de profármaco o modificación adicional que restauren la permeabilidad.

Los candidatos finales son pCA-7, pCA-5 y pCA-149. Los tres combinan fracción molar viable a pH = 7.4 con actividad antioxidante superior a Trolox y afinidad predicha nanomolar por COMT. Su mecanismo de coordinación por

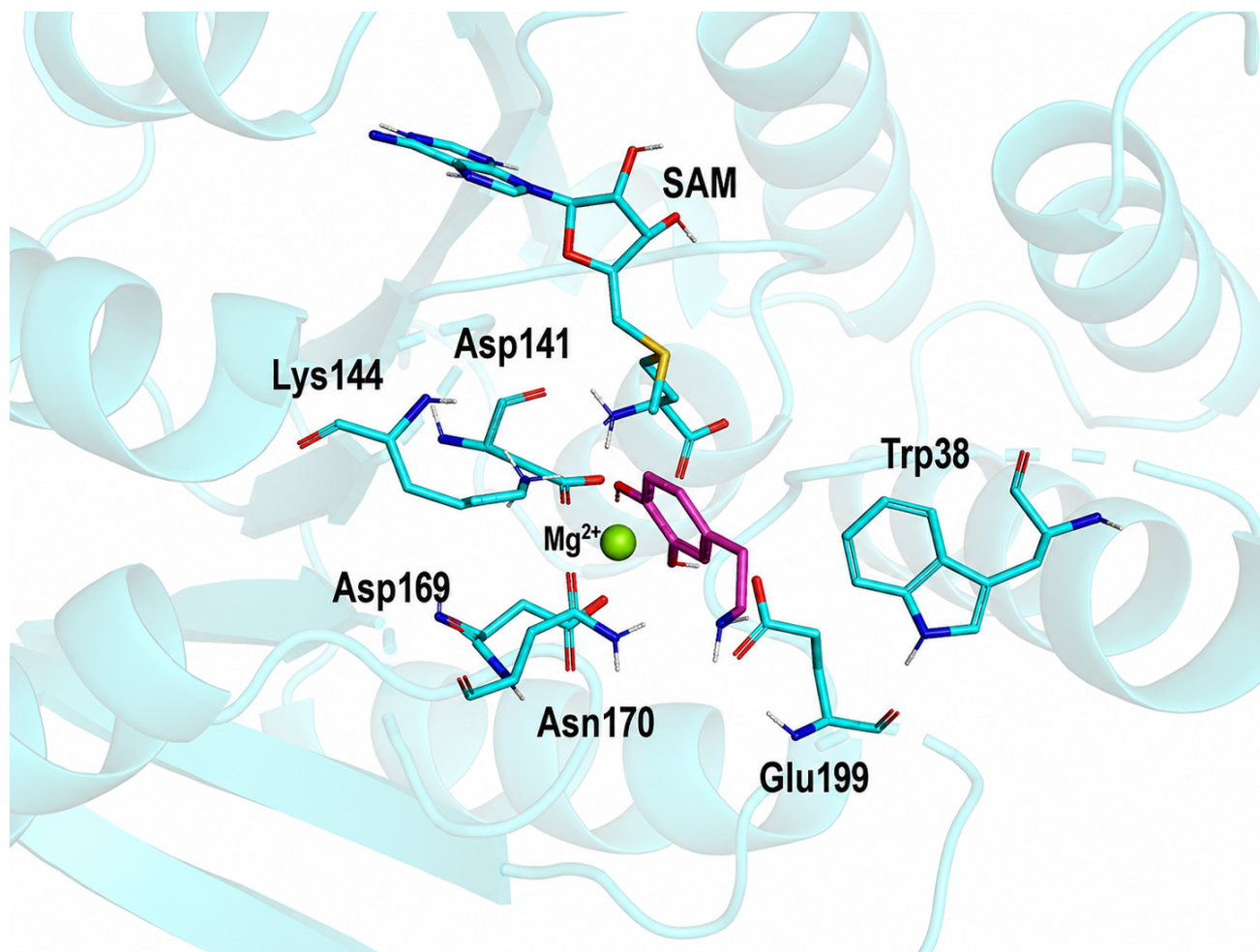


Figura 5.6: Pose de acoplamiento del derivado pCA-7 en el sitio activo de COMT. El derivado pCA-7 se muestra como varillas con carbonos en magenta. La proteína se representa como cinta translúcida en azul claro. El cofactor S-adenosilmetionina (SAM) y los residuos seleccionados del sitio activo se muestran como varillas con carbonos en cian. El ion Mg^{2+} se representa como esfera verde. Los heteroátomos siguen la convención de color: oxígeno en rojo, nitrógeno en azul, azufre en amarillo e hidrógeno en blanco.

carboxilato, sin incorporar el motivo nitrocatecol, los posiciona como candidatos no nitrocatecólicos para inhibición de COMT; la seguridad de este perfil tendría que validarse experimentalmente.⁴⁹

Tomando en conjunto los criterios de reactividad antioxidante (eH-DAMA), especiación ácido-base y afinidad enzimática, los tres candidatos más prometedores son:

- pCA-7: mejor depurador de radicales del conjunto con fracciones molares viables ($M_f^{(-1)} = 0.993$) y segunda mejor E_b para COMT entre los que tienen un perfil de especiación aceptable.
- pCA-5: única molécula del conjunto con fracción neutra mayoritaria ($M_f^{(0)} = 0.649$), lo que le confiere la mayor versatilidad farmacocinética, combinada con alta actividad antioxidante predicha y buena afinidad por COMT.
- pCA-149: actividad antioxidante equivalente a pCA-7 en el mapa eH-DAMA, con fracción monoaniónica alta ($M_f^{(-1)} = 0.837$), por lo que su eficacia en sistemas biológicos podría ser comparable.

Estos compuestos podrían actuar como inhibidores no nitrocatecólicos de COMT, abriendo una vía de diseño para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson sin incorporar el motivo nitrocatecol presente en tolcapona. La validación experimental de estas predicciones computacionales, que incluye síntesis, ensayos cinéticos y estudios de permeabilidad, representa el siguiente paso natural de esta investigación.⁴⁹

5.5.1 Conclusiones sobre ácido *p*-cumárico

El protocolo CADMA-Chem redujo 156 derivados a 10 candidatos con perfil farmacocinético favorable. El análisis de S^E indicó que ninguno debía excluirse: todas las desviaciones respecto al RefSet son favorables. La especiación a pH = 7.4 discriminó entre candidatos por viabilidad de transporte pasivo y excluyó a pCA-101 por dianión dominante. El mapa eH-DAMA identificó a los monoaniones de pCA-7, pCA-5 y pCA-149 como mejores depuradores del conjunto. El *docking* frente a COMT predijo afinidades nanomolares para todos los derivados y sugirió un mecanismo de coordinación por carboxilato distinto al de los inhibidores nitrocatecólicos. Se proponen pCA-7, pCA-5 y pCA-149 como candidatos para síntesis y evaluación experimental.


 Cite this: *New J. Chem.*, 2021, 45, 14369

Computationally designed *p*-coumaric acid analogs: searching for neuroprotective antioxidants†

 Miguel Reina,^a Eduardo Gabriel Guzmán-López,^a Isabella Romeo,^b Tiziana Marino,^b Nino Russo^b and Annia Galano^b *^a

p-Coumaric acid is a ubiquitous molecule, widely distributed in the vegetal kingdom and often found in the human diet. A systematic, rational search for new *p*-coumaric acid derivatives was performed using a computer-assisted protocol based on chemical properties. A total of 156 derivatives were generated by adding functional groups to the initial structure and employing a selection score (S^5) developed for that purpose. A reduced subset of 10 *p*-coumaric acid derivatives was selected, which have the best drug-like behavior and lower toxicity. Reactivity indexes, pK_a values, and bond dissociation energies were computed to estimate the antioxidant capability. According to the obtained results, three *p*-coumaric acid derivatives have been classified as the most promising candidates to act as chemical antioxidants. These derivatives are predicted to be better for that purpose than *p*-coumaric acid itself, through the electron transfer and/or H transfer mechanisms. In addition, they may act as new scaffolds of non-nitrocatechol inhibitors against COMT for the treatment of Parkinson's disease without the side effects of the known inhibitors. The presented results are expected to encourage additional inquiries on these molecules, using both theoretical and experimental approaches.

 Received 13th March 2021,
Accepted 30th June 2021

DOI: 10.1039/d1nj01235e

rsc.li/njc

Introduction

Free radicals (FR) are highly reactive species characterized by unpaired electrons that can be classified as reactive oxygen species (ROS), reactive nitrogen species (RNS), and reactive sulfur species (RSS).^{1–3} In general, FR are generated through regular metabolic routes, although some external factors can contribute to their formation, such as environmental pollutants, radiation, and drugs, among others.^{4–6} In healthy organisms, there is a subtle balance between FR production and consumption that assures that they remain in adequate concentrations. Nevertheless, when an imbalance occurs, leading to an excess of FR, oxidative stress (OS) arises. It involves reactions between FR and essential biomolecular targets such as proteins, lipids, DNA, RNA, and sugars.^{4,5} OS represents a major health problem currently related to the onset and development of numerous illnesses. Some examples are ocular, renal, and pulmonary diseases;^{7–15} fetal growth restriction and pre-eclampsia;^{16–18} diabetes;^{19,20} cancer

development^{21,22} and neurodegenerative disorders including Alzheimer's and Parkinson's diseases, memory loss, depression, and multiple sclerosis.^{23–29} In this regard, numerous studies have been dedicated to the study of chemical molecules, called antioxidants, able to alleviate the harmful effects of OS.^{30–41}

Antioxidants can be seen as sacrificial compounds that prevent oxidants from reaching biomolecules. They can be produced endogenously by the human body or acquired by the intake of food and diet supplements. To be efficient for the intended purpose, they have to satisfy some crucial physiological requirements.^{42,43} In the context of this work, the most important one refers to the definition of an antioxidant proposed by Halliwell *et al.*:^{44,45} “any substance that when present at low concentrations compared to that of an oxidizable substrate would significantly delay or prevent oxidation of that substrate.” The oxidizable substrate would be any biologically relevant molecule.

Depending on their mechanism of action, antioxidants can be classified as type I, II, and III antioxidants.³⁴ Type I antioxidants directly react with FR resulting in less reactive species, thus unable to damage biological targets.^{46–51} Type II antioxidants show their protection by mechanisms that do not directly react with FR. Metal chelation, repairing type I antioxidants, decomposition of hydroperoxide into non-radical species, deactivation of singlet oxygen, and absorption of UV

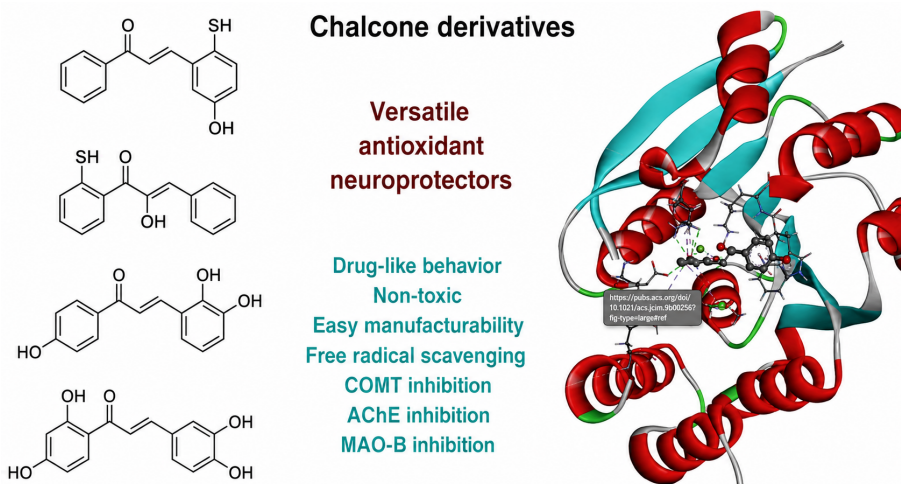
^a Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, Iztapalapa, C. P. 09340, Mexico City, Mexico. E-mail: agalano@prodigy.net.mx, agal@xanum.uam.mx

^b Dipartimento de Chimica e Tecnologie Chimiche, Università della Calabria, Arcavacata di Rende, Consenza, 87036, Italy

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/d1nj01235e

Capítulo 6

Chalcona



6.1 El marco estructural de la chalcona

La chalcona ((E)-1,3-difenil-2-propen-1-ona, CHA) es el precursor biosintético de los flavonoides y puede considerarse, por sí misma, una molécula con potencial multifuncional. A diferencia de los andamios empleados en capítulos anteriores —donde la presencia del grupo hidroxilo fenólico determinaba la vía antioxidante principal—, la chalcona sin modificar carece de grupos donadores de hidrógeno: toda la reactividad antioxidante predicha en sus derivados es consecuencia directa de los grupos funcionales que se incorporan durante el diseño. Este punto de partida neutral convierte a la chalcona en un caso cualitativamente distinto dentro del protocolo CADMA-Chem y permite evaluar, con mayor claridad, la contribución individual de cada tipo de funcionalización a las propiedades biológicas resultantes.

La chalcona y sus derivados exhiben una extraordinaria diversidad de bioactividades reportadas: anticancerígena, antiinflamatoria, anti-VIH, anti-diabética, antiproliferativa, antimicrobiana, antipalúdica y antioxidante.¹⁵⁰ Esta versatilidad biológica ha motivado el estudio de chalconas sintéticas y naturales como moléculas farmacéuticamente relevantes (Tabla 6.1). En particular, la buteína (3,4,2',4'-tetrahidroxichalcona, dCHA-568), compuesto polihidroilado ampliamente distribuido en géneros como *Dahlia*, *Butea*, *Searsia* y *Coreopsis*,¹⁵⁰ fue incluido explícitamente en el diseño por sus múltiples beneficios para la salud ya documentados y porque establece un vínculo entre el diseño racional computacional y el mundo de los productos naturales bioactivos.

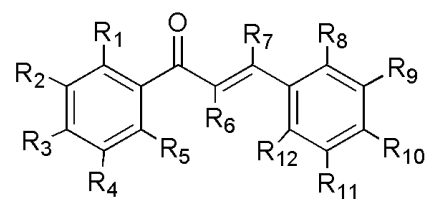


Figura 6.1: Estructura de la chalcona (CHA) y sitios de sustitución R₁–R₁₂ considerados en este trabajo.

Tabla 6.1: Algunos derivados de chalcona sintetizados con bioactividad reportada.

Nombre	Actividad	Referencia
3-((4-metoxifenil)amino)-1,3-difenilpropan-1-ona	Antioxidante, inhibidor de α -amilasa	151
β -(4-hidroxifenil)-1-(2,4,6-trihidroxifenona)	Antioxidante, inhibidor de lípidos	152
Análogo heterocíclico con <i>p</i> -metoxi	Antioxidante, DPPH y ABTS	153
3,4,5-Trimetoxichalconas	Antioxidante, radicales DPPH	154
Chalconas alílicas	Antimicrobiano y antioxidante	155
Buteína (dCHA-568)	Antioxidante, anticancerígeno, antidiabético, anti-inflamatorio	150

Desde el punto de vista del diseño racional, la chalcona posee dos anillos aromáticos (A y B) conectados por un puente propenona, con doce sitios de sustitución accesibles (R_1 – R_{12} , Figura 6.1). Este espacio estructural es considerablemente mayor al de los sistemas analizados previamente (seis sitios en pCA y en FA), lo que permite explorar combinaciones más diversas y que emerjan patrones de relación estructura-actividad más refinados. La aplicación del protocolo CADMA-Chem a este andamio representa, por tanto, la extensión más ambiciosa del protocolo tanto en número de derivados como en número de dianas biológicas evaluadas.

6.2 Construcción y filtrado de la biblioteca

Siguiendo la estrategia descrita en el Apéndice A, se construyó una biblioteca de 568 derivados mediante la incorporación de hasta tres grupos funcionales ($-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$ y $-\text{COOH}$) en los sitios R_1 a R_{12} . La biblioteca comprende 32 monosustituídos, 520 disustituídos, 15 trisustituídos y la buteína (dCHA-568), derivado tetrasustituído incluido por sus propiedades conocidas.¹⁵⁰

La distribución del puntaje de selección S^S (Figura 6.2) revela que el 83% de los derivados diseñados supera el promedio del conjunto de referencia de neuroprotectores, indicando comportamiento similar a fármacos sin problemas de biodisponibilidad, absorción o permeación. Esta proporción es significativamente mayor a la observada en los sistemas anteriores y refleja que un andamio con más sitios de sustitución ofrece mayor probabilidad de que alguna combinación optimice simultáneamente múltiples descriptores ADME. De los 568 derivados, 65 presentaron S^S negativos y para 21 no fue posible calcular el puntaje por incapacidad del software para predecir la mutagenicidad; estos 86 candidatos fueron excluidos. Con base en el S^S , se seleccionaron 23 derivados (Figura 6.3) para el estudio detallado de reactividad.

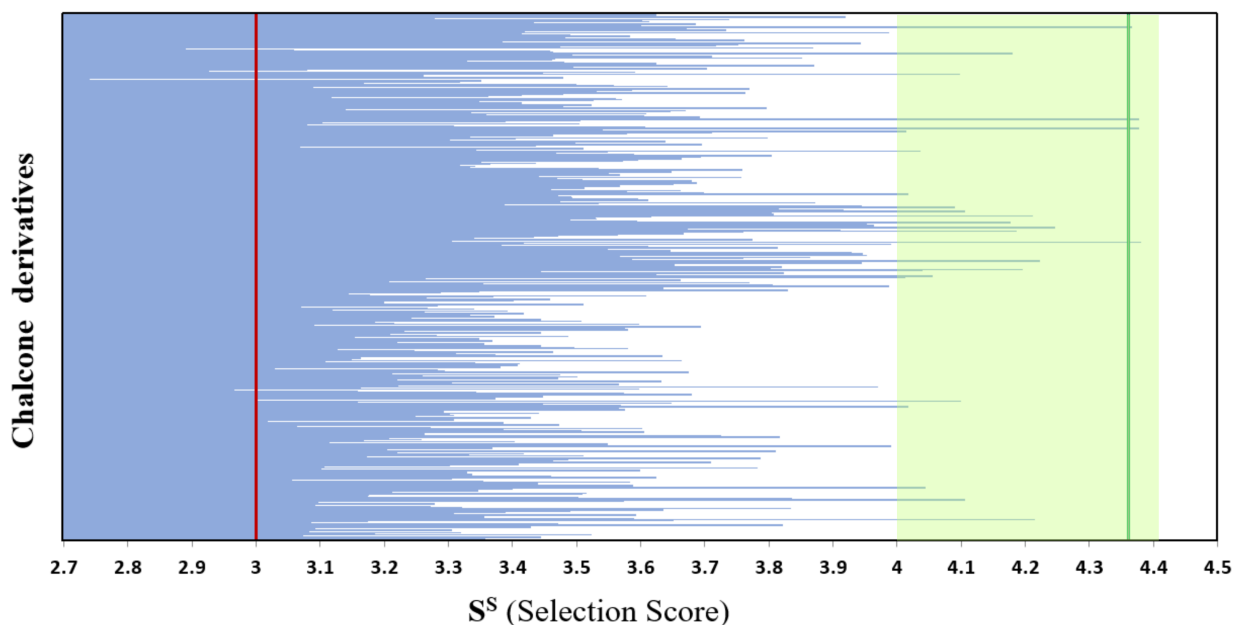


Figura 6.2: Distribución del S^S para los 568 derivados de chalcona. La línea roja marca el promedio de los fármacos neuroprotectores en un valor de $S^S = 3.0$. La línea verde indica el puntaje de selección de la chalcona, $S^S = 4.371$. El bloque verde resalta el subconjunto de los 23 derivados seleccionados.

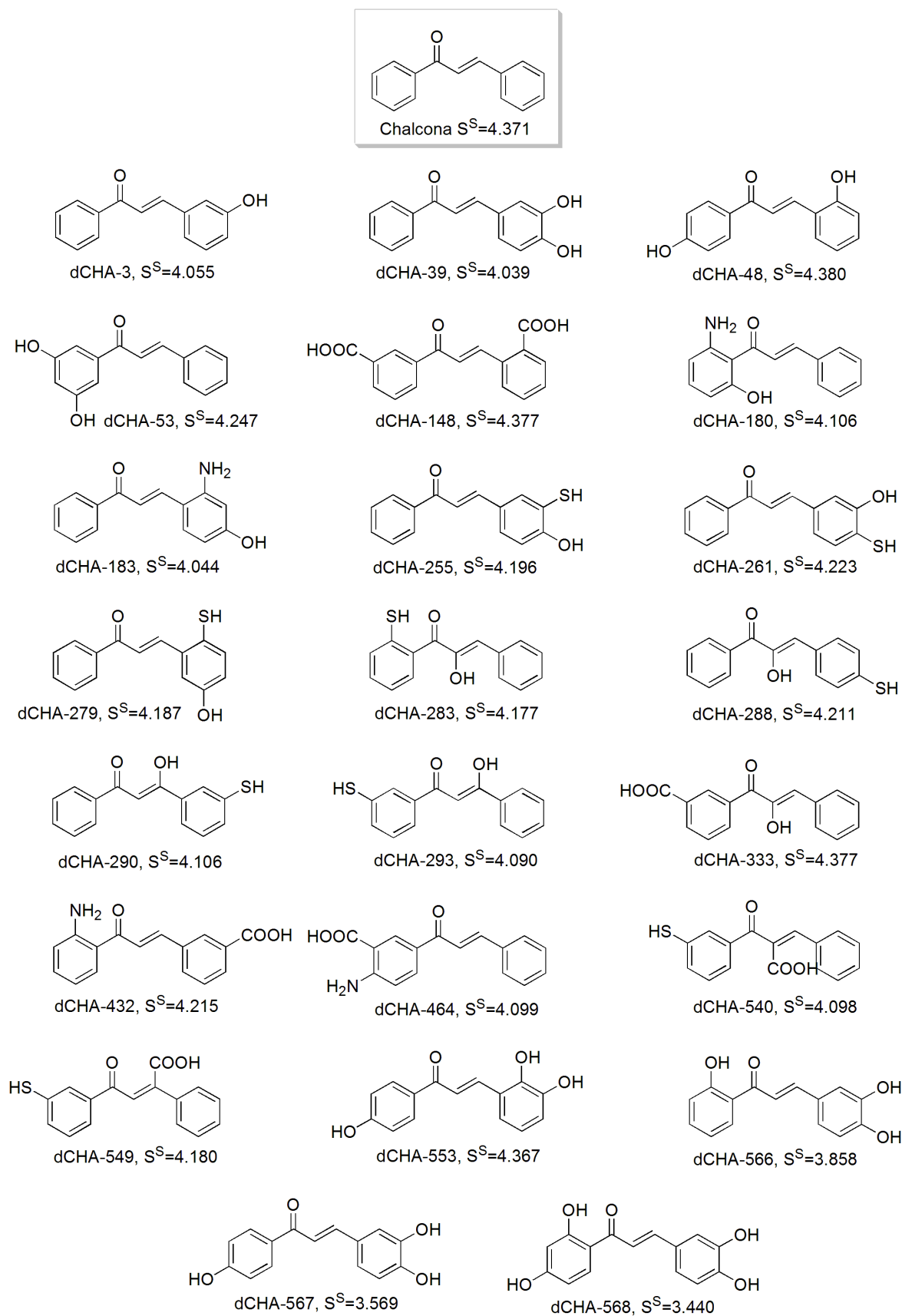


Figura 6.3: Estructura y puntaje de selección de los veintitrés derivados de chalcona mejor evaluados.

El análisis de los puntajes de eliminación (Figura 6.4) confirma el patrón ya observado en los sistemas anteriores: la contribución más grande proviene de la toxicidad, y las desviaciones más pronunciadas en LD₅₀ corresponden a derivados que son *menos* tóxicos que el promedio del RefSet. En concreto, dCHA-39, dCHA-148 y dCHA-566 son los que más se desvían en LD₅₀, pero en sentido favorable. Las únicas excepciones son dCHA-290, dCHA-293 y dCHA-540, que presentan toxicidad ligeramente por encima del promedio, pero sin exceder los límites de exclusión.¹⁵⁰ Ninguno de los 23 derivados fue excluido por el análisis de S^E .

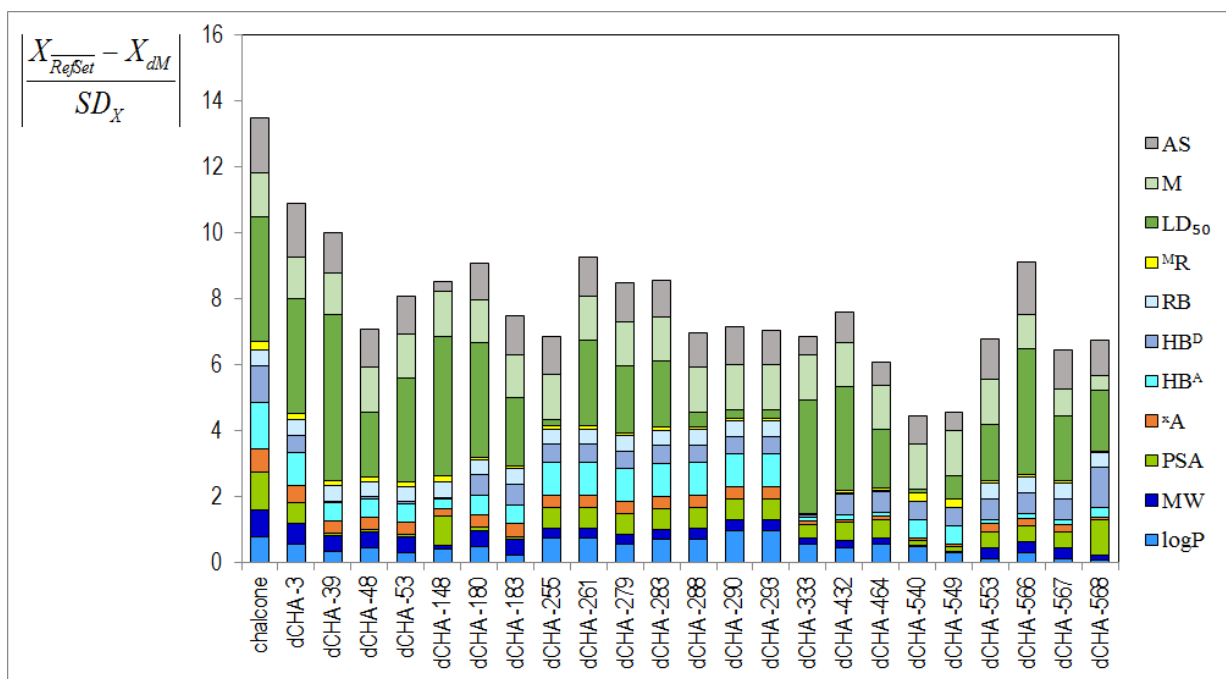


Figura 6.4: Puntajes de eliminación individuales para chalcona (CHA) y el subconjunto de derivados seleccionados. La altura de las barras apiladas cuantifica la desviación estandarizada de cada propiedad fisicoquímica y toxicológica frente al grupo de control. Contribuciones: AS (accesibilidad sintética), M (mutagenicidad), LD₅₀ (dosis letal media), M_R (refractividad molar), RB (enlaces rotables), HB^D (donadores de enlace de hidrógeno), HB^A (aceptadores de enlace de hidrógeno), X_A (número de átomos pesados), PSA (área de superficie polar), MW (masa molecular) y logP (coeficiente de partición octanol-agua).

Otro aspecto de interés SAR en esta etapa es que dCHA-48, dCHA-148 y dCHA-333 son los únicos tres derivados que superan el S^S de la chalcona no modificada —ya de por sí elevado por su baja complejidad sintética—, lo que indica que ciertas combinaciones de sustituyentes son compatibles con mantener la facilidad de síntesis al tiempo que mejoran el perfil ADME.

6.3 Especiación ácido-base

Los valores de pK_a y fracciones molares calculados para los 23 derivados (Tabla 6.2) revelan la mayor diversidad de perfiles de especiación encontrada en el protocolo, consecuencia del amplio rango de posiciones y combinaciones de grupos funcionales exploradas.

Tabla 6.2: Valores de pK_a estimados y fracciones molares (M_f) de las especies protonada (M_f^{prot}), neutra (M_f^{neu}), monoaniónica (M_f^{an}), dianiónica (M_f^{dian}) y trianiónica (M_f^{trian}) a pH = 7.4. Fracciones $< 10^{-3}$ se indican con notación exponencial.

Comp.	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	pK_{a4}	M_f^{prot}	M_f^{neu}	M_f^{an}	M_f^{dian}	M_f^{trian}
dCHA-3	8.44					0.916	0.084		
dCHA-39	7.15	11.74				0.360	0.640	$< 10^{-4}$	
dCHA-48	8.15	8.59				0.841	0.150	0.010	
dCHA-53	8.97	10.76				0.974	0.026	$< 10^{-4}$	
dCHA-148	3.58	3.77			$< 10^{-3}$	$< 10^{-3}$	$< 10^{-3}$	1.000	
dCHA-180	1.84	8.99				0.975	0.025		
dCHA-183	1.90	8.45				0.918	0.082		
dCHA-255	4.06	11.90				$< 10^{-3}$	1.000	$< 10^{-4}$	
dCHA-261	3.75	13.13				$< 10^{-3}$	1.000		
dCHA-279	5.83	11.07				0.026	0.974	$< 10^{-3}$	
dCHA-283	5.23	9.61				0.007	0.987	0.006	
dCHA-288	5.61	10.01				0.016	0.982	0.002	
dCHA-290	6.26	8.60				0.064	0.881	0.056	
dCHA-293	6.06	8.77				0.042	0.919	0.039	
dCHA-333	3.72	8.98			$< 10^{-3}$	$< 10^{-3}$	0.974	0.026	
dCHA-432	2.46	3.82			$< 10^{-3}$	$< 10^{-3}$	1.000		
dCHA-464	4.15					0.001	0.999		
dCHA-540	2.63	6.57					0.129	0.871	
dCHA-549	2.93	6.28					0.071	0.930	
dCHA-553	7.24	8.26	12.44			0.378	0.547	0.075	$< 10^{-6}$
dCHA-566	7.16	10.51	12.36			0.365	0.634	$< 10^{-3}$	$< 10^{-8}$
dCHA-567	7.27	8.54	12.12			0.409	0.551	0.040	$< 10^{-6}$
dCHA-568	7.34	8.69	11.59	12.81		0.453	0.520	0.027	

Pueden identificarse cuatro familias de perfiles. En la primera, con especie neutra dominante (dCHA-3, dCHA-48, dCHA-53, dCHA-180, dCHA-183; M_f^{neu} entre 0.84 y 0.97), la alta permeabilidad pasiva es la propiedad destacada, pero la baja fracción aniónica limita la actividad por SET. En la segunda, los monoaniones dominantes (dCHA-255, dCHA-261, dCHA-279, dCHA-283, dCHA-288, dCHA-290, dCHA-293, dCHA-333, dCHA-432, dCHA-464; M_f^{an} entre 0.88 y ≈ 1.00), la capacidad SET máxima coexiste con una fracción neutra que, cuando no es nula, conserva una contribución posible a la permeabilidad. En la tercera, los dianiones dominantes (dCHA-148, dCHA-540, dCHA-549; M_f^{dian} entre 0.87 y ≈ 1.00), la ausencia práctica de especie neutra impone restricciones serias para el transporte pasivo.

El cuarto perfil es el que guía directamente el diseño racional: coexistencia significativa de especie neutra y monoaniónica en dCHA-39, dCHA-553, dCHA-566, dCHA-567 y dCHA-568, con fracciones neutras entre 0.36 y 0.45 y fracciones aniónicas entre 0.52 y 0.64.¹⁵⁰ Este perfil, que en el estudio del ácido *p*-cumárico fue exclusivo del candidato pCA-5, emerge aquí en cinco compuestos simultáneamente, lo que muestra que el mayor espacio estructural del andamio chalcona favorece la aparición de este tipo de especiación. La coexistencia de ambas especies es mecanísticamente atractiva: la especie neutra puede cruzar membranas lipídicas por difusión pasiva, mientras que el fenolato aniónico es el responsable de la mayor parte de la actividad antioxidante de los fenoles vía SET. Un compuesto con ambas formas disponibles puede operar en compartimentos celulares con diferente accesibilidad y polaridad, maximizando la eficacia en sistemas biológicos complejos.

Adicionalmente, dCHA-283, dCHA-288, dCHA-290, dCHA-293 y dCHA-333 son compuestos enol y presentan equilibrios ceto-enol en sus formas neutras y monoaniónicas. Esta complejidad conformacional introduce una variable adicional en el análisis de reactividad y podría modular el sitio de donación de hidrógeno predominante según el medio de reacción.¹⁵⁰

6.4 Reactividad química y capacidad antioxidante

Se calcularon los descriptores globales de reactividad (IE, EA, ω , ω^- , ω^+ , μ , η) y las energías mínimas de disociación de enlace (BDE) para todas las especies ácido-base con $M_f > 10^{-2}$ a pH = 7.4. La chalcona no modificada fue excluida del mapa eH-DAMA por carecer de sitios donadores de hidrógeno. Los detalles metodológicos se describen en el Apéndice B.

El mapa eH-DAMA (Figura 6.5) integra la IE (capacidad SET) y la BDE (capacidad *f*-HAT) para todas las especies con fracción molar relevante, con el par $\text{H}_2\text{O}_2/\bullet\text{OOH}$ como referente del oxidante y Trolox, ácido ascórbico y α -tocoferol como antioxidantes de referencia. Las moléculas posicionadas en la esquina inferior-izquierda del mapa son las mejores antioxidantes por ambas vías simultáneamente.

El mapa identifica a dCHA-279, dCHA-568, dCHA-553 y dCHA-283 como los mejores antioxidantes predichos del conjunto, todos superiores a Trolox, ácido ascórbico y α -tocoferol.¹⁵⁰ Al analizar sus perfiles individuales: dCHA-279 es el mejor donador de hidrógeno (BDE particularmente baja), dCHA-553 es el mejor donador de electrones (IE especialmente reducida), y dCHA-568 destaca en ambos mecanismos de manera simultánea. dCHA-283, dCHA-553 y dCHA-568 presentan además grupos hidroxilo en posiciones adyacentes —susceptibles de formar estructuras tipo catecol— que predice también quelación eficiente de metales, mecanismo antioxidante complementario de tipo II que no está accesible para los derivados de pCA o FA sin grupos ortodiol.

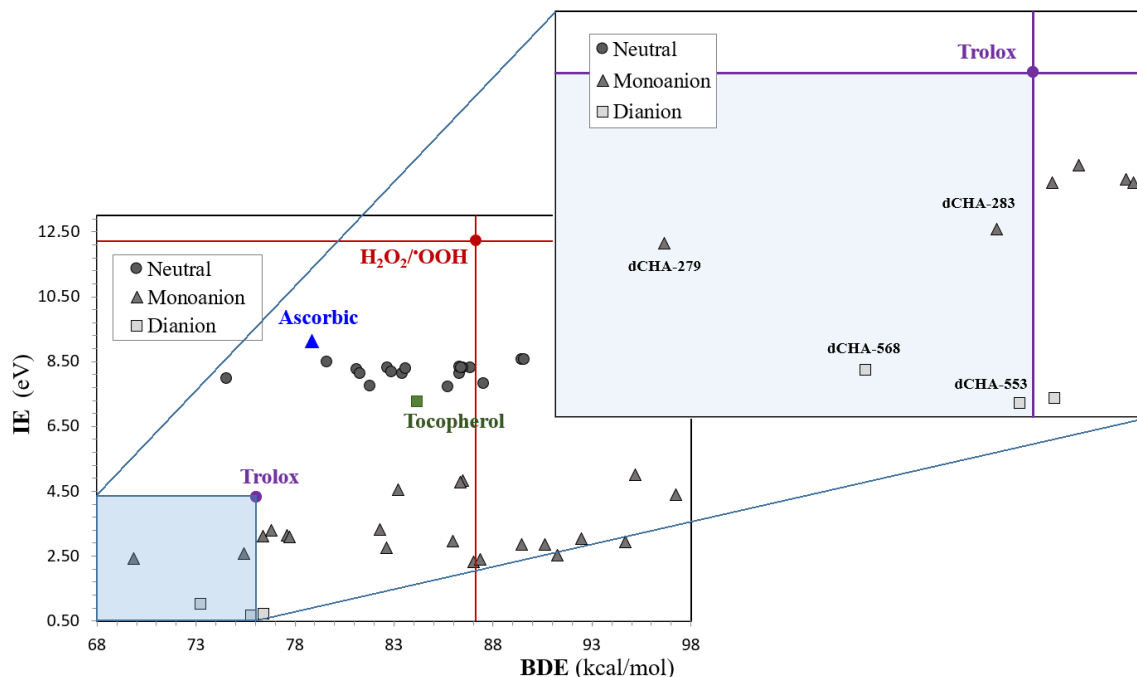


Figura 6.5: Mapa eH-DAMA de IE frente a BDE para las especies ácido-base relevantes de los derivados de chalcona a pH = 7.4. Se incluyen Trolox, ácido ascórbico y α -tocoferol como antioxidantes de referencia, y el par $\text{H}_2\text{O}_2/\bullet\text{OOH}$ como oxidante.

Desde la perspectiva de las relaciones estructura-actividad, la capacidad donadora de hidrógeno de dCHA-279 y dCHA-283 está amplificada por la presencia del grupo $-\text{SH}$, que contribuye con BDEs del enlace $\text{S}-\text{H}$ especialmente bajas en comparación con los grupos $-\text{OH}$ fenólicos equivalentes. Sin embargo, la misma reactividad del grupo tiol introduce el riesgo de que estos compuestos formen puentes disulfuro con residuos de cisteína en proteínas, lo que podría resultar en inhibición no selectiva o en efectos secundarios no deseados.¹⁵⁰ Esta consideración no existía en los sistemas pCA y FA, y constituye una advertencia de diseño específica del andamio chalcona con grupos $-\text{SH}$: la incorporación de este fragmento amplía el espacio de reactividad antioxidante, pero introduce una variable de selectividad que requiere evaluación experimental independiente.

6.5 Actividad neuroprotectora

El aspecto más distintivo del estudio de la chalcona es la evaluación simultánea frente a tres enzimas implicadas en la neuropatología de las enfermedades de Alzheimer y Parkinson: catecol-*O*-metiltransferasa (COMT), monoaminoxidasa tipo B (MAO-B) y acetilcolinesterasa (AChE). La inhibición de COMT y MAO-B es beneficiosa en Parkinson,¹⁵⁰ mientras que los inhibidores de AChE representan la principal estrategia terapéutica disponible en el Alzheimer. Un compuesto que actúe sobre las tres enzimas simultáneamente constituye, en sentido estricto, un agente neuroprotector poligénico de espectro amplio, con potencial aplicación en ambas enfermedades a la vez.

Las estructuras cristalográficas empleadas fueron: COMT (PDB: 4PYL, co-cristalizada con tolcapona), MAO-B (PDB: 2V5Z, co-cristalizada con safinamida) y AChE (PDB: 4EY7, co-cristalizada con donepezilo). Los RMSD del re-acoplamiento con los ligandos co-cristalizados fueron 1.2, 1.9 y 0.4 Å, respectivamente, validando la metodología para las tres enzimas.¹⁵⁰ Detalles del protocolo se describen en el Apéndice C.

6.5.1 Inhibición de COMT

El sitio activo de COMT contiene el cofactor Mg^{2+} coordinado por los residuos Asp141, Lys144, Asp169, Asn170, Glu199 y el fragmento SAM.¹⁵⁰ Los resultados del acoplamiento (Tabla 6.3) muestran que dCHA-553 y dCHA-568 superan a tolcapona en afinidad predicha ($\Delta G_U = -8.64$ y -8.23 kcal/mol frente a -8.07 kcal/mol del fármaco de referencia), lo que es notable dado que tolcapona es un inhibidor clínico conocido.

Tabla 6.3: Energía libre de unión (ΔG_U , kcal/mol) y constante de inhibición (K_i) para los complejos chalcona:COMT. Se incluyen tolcapona, dopamina y levodopa como referencias.

Ligando	ΔG_U (kcal/mol)	K_i	Residuos principales
Tolcapona	-8.07	1.35 μ M	Mg^{2+} (B), Met40, Trp143, Lys144, Asn170, Pro174, Leu198
dCHA-553	-8.64	0.46 μ M	Mg^{2+} (B), Met40, Trp143, Lys144, Asn170, Pro174, Glu199
dCHA-568	-8.23	0.91 μ M	Mg^{2+} (B), Trp38, Met40, Asp141, Lys144, Pro174, Glu199
dCHA-279	-7.12	5.96 μ M	Mg^{2+} (A), Trp38, Met40, Asn170, Pro174, Glu199, Met201
dCHA-283	-6.25	25.92 μ M	Trp138, Trp143, Lys144, Pro174, Leu198
Dopamina	-6.11	32.84 μ M	Mg^{2+} (A), Met40, Asp141, Lys144, Asp169, Asn170, Pro174
Levodopa	-7.09	6.27 μ M	Mg^{2+} (A), Met40, Asp141, Trp143, Lys144, Asn170, Pro174, Glu199

Mg^{2+} (A): un enlace de coordinación; Mg^{2+} (B): dos enlaces de coordinación.

El análisis de las poses de acoplamiento revela que los derivados pueden coordinar el Mg^{2+} mediante una (modalidad A) o dos (modalidad B) interacciones metal-donador. La modalidad B genera complejos consistentemente más estables: dCHA-553 y dCHA-568, ambos en modalidad B, son los más afines por COMT. Este patrón ya fue observado en el capítulo anterior con los derivados de pCA y se confirma aquí de forma más pronunciada, estableciendo una regla SAR general: la doble coordinación del Mg^{2+} es un determinante clave para la potencia inhibitoria en COMT, y los andamios que permiten esta geometría deben ser priorizados en el diseño de inhibidores no nitrocatecólicos. dCHA-553, dCHA-568

y dCHA-279 presentan afinidades predichas comparables o superiores a las de dopamina y levodopa. dCHA-283 supera a dopamina, aunque no a levodopa, por lo que se mantiene como candidato secundario para esta diana.¹⁵⁰

La figura 6.6 muestra el complejo dCHA-553:COMT. El derivado establece dos interacciones Mg–O y contactos no covalentes con residuos del bolsillo, incluyendo Lys144, Asn170 y Glu199. La combinación de coordinación metálica, enlaces de hidrógeno e interacciones aromáticas es consistente con la afinidad submicromolar predicha.

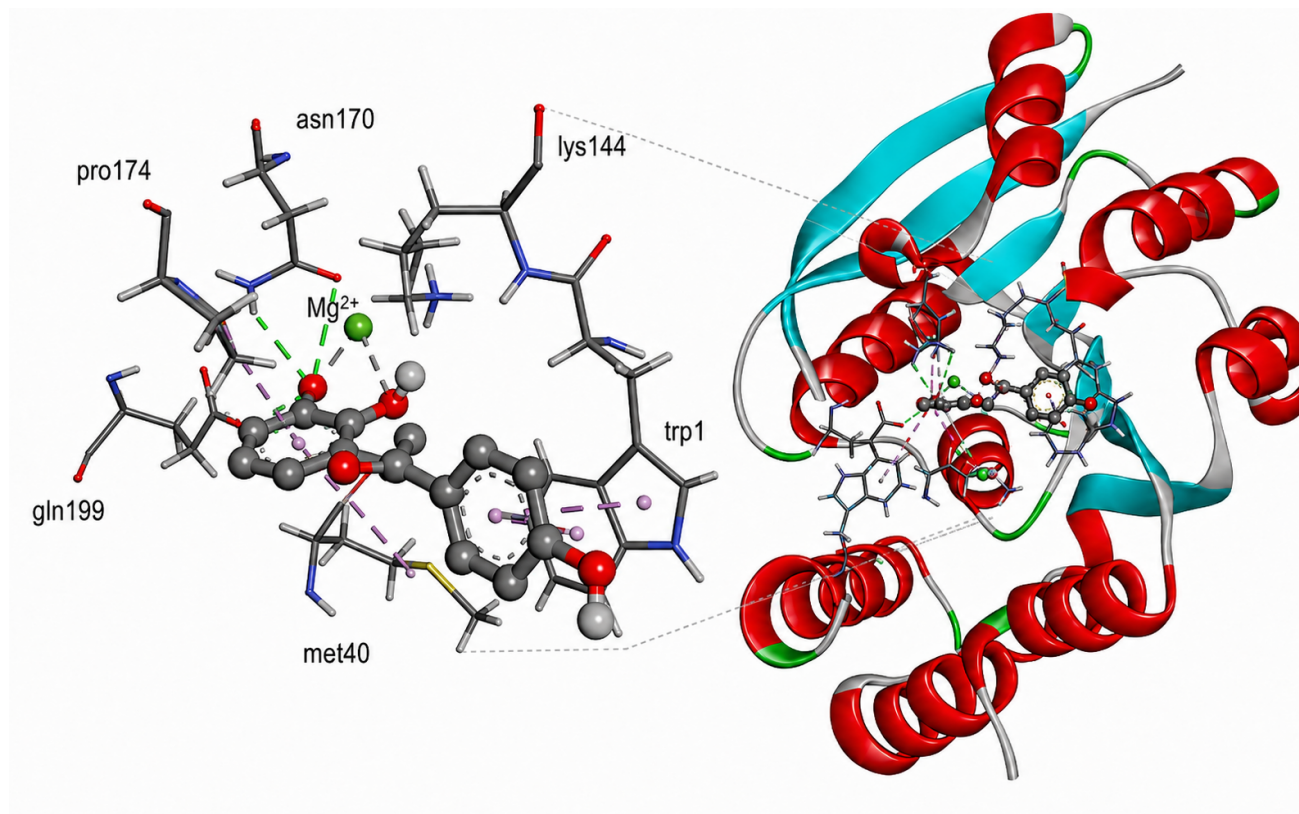


Figura 6.6: Complejo dCHA-553:COMT. Las líneas punteadas indican coordinación con Mg^{2+} (gris), enlaces de hidrógeno (verde), interacciones S– π y π -alquilo (violeta), y apilamiento π - π (púrpura).

6.5.2 Inhibición de MAO-B

El sitio activo de MAO-B contiene el cofactor FAD (covalentemente unido) y los residuos Lys296, Trp388, Tyr398 y Tyr435.¹⁵⁰ Los resultados (Tabla 6.4) muestran que dCHA-553 es el derivado con mayor afinidad por MAO-B ($\Delta G_U = -9.12$ kcal/mol, $K_i = 0.20$ μM), seguido por dCHA-283 y dCHA-568, aunque ninguno supera a safinamida ($\Delta G_U = -9.75$ kcal/mol). Los cuatro candidatos presentan K_i de entre 0.20 y 1.28 μM , muy superior a los sustratos naturales (dopamina y feniletilamina, en rango de decenas a centenas de μM).

Tabla 6.4: Energía libre de unión (ΔG_U , kcal/mol) y constante de inhibición (K_i) para los complejos chalcona:MAO-B. Se incluyen safinamida y los sustratos naturales como referencias.

Ligando	ΔG_U (kcal/mol)	K_i	Residuos principales
Safinamida	-9.75	0.07 μ M	Leu171, Cys172, Ile199, Gln206, Ile316, Tyr326, Tyr398, FAD
dCHA-553	-9.12	0.20 μ M	Leu171, Cys172, Ile199, Tyr336, Phe343, Tyr398, Tyr435, FAD
dCHA-283	-8.94	0.28 μ M	Leu171, Cys172, Ile198, Ile199, Gln206, Tyr398, Tyr435, FAD
dCHA-568	-8.82	0.34 μ M	Leu171, Cys172, Ile199, Tyr326, Tyr435, FAD
dCHA-279	-8.03	1.28 μ M	Pro102, Leu171, Cys172, Gln206, Ile316, Tyr326
Dopamina	-5.54	86.02 μ M	Leu171, Cys172, Leu199, Gln206, FAD
Feniletilamina	-5.81	54.51 μ M	Leu171, Phe343, Tyr398, FAD

Un patrón SAR relevante emerge al comparar las interacciones con MAO-B: dCHA-553, dCHA-283 y dCHA-568, los tres derivados con mayor afinidad, establecen interacciones hidrofóbicas (π -stacking y π -alquilo) directamente con el cofactor FAD, que es indispensable para la actividad redox de MAO-B. Por el contrario, dCHA-279, el de menor afinidad dentro de los cuatro candidatos, es el único cuya pose óptima no incluye contacto directo con el FAD.¹⁵⁰ Este patrón establece que la interacción con el FAD es un determinante estructural para la potencia inhibitoria en MAO-B, lo que constituye un criterio de diseño racional útil para optimizaciones futuras: los andamios capaces de posicionar un sistema π extendido cerca del FAD en la cavidad activa tienden a ser inhibidores de MAO-B más potentes.

6.5.3 Inhibición de AChE

La acetilcolinesterasa posee dos regiones funcionales: el sitio periférico aniónico (PAS), con Asp74 y Trp386, y el sitio catalítico (CAS), con Trp86, Ser203, Glu334 e His447.¹⁵⁰ Los resultados (Tabla 6.5) muestran que todos los candidatos presentan K_i en rango nanomolar, con dCHA-568 como el mejor inhibidor de AChE ($\Delta G_U = -10.22$ kcal/mol, $K_i = 0.03$ μ M), valor muy próximo al del inhibidor clínico donepezilo ($\Delta G_U = -11.72$ kcal/mol, $K_i = 2.5$ nM).

Tabla 6.5: Energía libre de unión (ΔG_U , kcal/mol) y constante de inhibición (K_i) para los complejos chalcona:AChE. Se incluyen donepezilo y acetilcolina como referencias.

Ligando	ΔG_U (kcal/mol)	K_i	Residuos principales
Donepezilo	−11.72	2.5 nM	Tyr72, Trp86, Tyr124, Trp286, Leu289, Phe338, Tyr337, Tyr341
dCHA-568	−10.22	30 nM	Asp74, Trp86, Tyr124, Ser125, Tyr133, Glu202, Ser203, Tyr337, Tyr341
dCHA-553	−9.64	80 nM	Trp86, Tyr124, Trp286, Phe295, Tyr337, Tyr341
dCHA-283	−9.56	100 nM	Asp74, Trp86, Tyr124, Tyr337, Tyr341
dCHA-279	−9.20	180 nM	Trp86, Ser125, Glu202, Tyr337, Tyr341
Acetilcolina	−4.99	217.89 μ M	Trp86, Gly121, Tyr124, Tyr133, Ser203

En el complejo dCHA-568:AChE, los oxígenos de la buteína forman enlaces de hidrógeno con Asp74, Tyr124, Tyr133, Tyr337 y Tyr341; los carbonos aromáticos establecen enlaces de hidrógeno no convencionales con Trp86, Ser125, Ser203 y Glu202; y los anillos aromáticos se apilan con Trp86 y Tyr341 mediante π – π *stacking*. Este patrón de unión involucra simultáneamente el PAS y el CAS, de manera análoga al modo de unión de donepezilo co-cristalizado con AChE, por lo que respalda el potencial inhibitorio predicho.¹⁵⁰

Al comparar los perfiles de inhibición en las tres enzimas, dCHA-568 es el candidato más equilibrado: ocupa el primer lugar en AChE, el segundo en COMT y el tercero en MAO-B. dCHA-553 presenta la mejor afinidad predicha por COMT —por encima de tolcapona en el modelo de docking— y ocupa el primer lugar en MAO-B, mientras que en AChE ocupa el segundo lugar. En conjunto, los cuatro candidatos muestran perfiles de unión compatibles con actividad neuroprotectora poligénica predicha; dCHA-568 y dCHA-553 son los perfiles más equilibrados, mientras que dCHA-279 y dCHA-283 conservan interés como candidatos secundarios.¹⁵⁰

6.6 Candidatos finales y relaciones estructura-actividad

La convergencia de los criterios de especiación ácido-base, reactividad antioxidante (eH-DAMA) e inhibición enzimática poligénica conduce a cuatro candidatos finales: dCHA-279, dCHA-568, dCHA-553 y dCHA-283.

Vistos en el contexto del conjunto de estudios CADMA-Chem, estos resultados ilustran varios principios de relación estructura-actividad que se han ido consolidando. En primer lugar, la doble coordinación del Mg^{2+} en COMT (modalidad B) es el mayor determinante individual de potencia inhibitoria en esa enzima, y los andamios que la permiten —como ocurre con dCHA-553 y dCHA-568 en chalcona, y también con los mejores candidatos de pCA— tienden a generar los inhibidores más potentes. En segundo lugar, la interacción directa con el cofactor FAD en MAO-B es el factor discriminante entre inhibidores potentes y moderados, lo que añade una segunda regla SAR con capacidad predictiva.

En tercer lugar, la presencia simultánea de especies neutra y monoaniónica en proporciones significativas a $\text{pH} = 7.4$ —propiedad que en pCA fue exclusiva de un candidato y en chalcona aparece en cinco— es un atributo farmacocinético que debe buscarse activamente en el diseño, pues combina permeabilidad pasiva con reactividad SET.

La buteína (dCHA-568) merece una mención especial: es el único candidato del protocolo que reúne simultáneamente alta fracción de coexistencia neutra/monoaniónica (0.45/0.52), capacidad antioxidante superior a Trolox por ambos mecanismos y afinidad predicha favorable frente a las tres enzimas. Además, es una molécula de origen natural con síntesis bien documentada. Su inclusión en el diseño computacional representa un caso en el que el protocolo CADMA-Chem llega a redescubrir y fundamentar mecanísticamente el potencial multifuncional de una molécula que la naturaleza ya había optimizado por vías evolutivas.

La presencia del grupo $-\text{SH}$ en dCHA-279 y dCHA-283 mejora la capacidad donadora de hidrógeno y contribuye a los bajos valores de BDE, pero introduce el riesgo de formación de puentes disulfuro con residuos de cisteína proteicos. Por esta razón, dCHA-568 y dCHA-553 —ambos sin grupo tiol— presentan el perfil de riesgo más favorable para avanzar hacia síntesis y evaluación biológica, mientras que dCHA-279 y dCHA-283 deben considerarse candidatos secundarios sujetos a evaluación específica de selectividad.

6.7 Conclusiones

El protocolo CADMA-Chem aplicado a chalcona exploró un espacio de 568 derivados construidos sobre doce sitios de sustitución. El 83% de la biblioteca superó el promedio del conjunto de referencia de neuroprotectores favoreciendo su perfil farmacocinético. El análisis de eliminación confirmó que las mayores desviaciones en LD_{50} corresponden a derivados menos tóxicos que el RefSet, lo que valida la necesidad de interpretar cualitativamente cada desviación antes de tomar decisiones de exclusión. La especiación ácido-base reveló cinco compuestos con coexistencia significativa de especies neutra y monoaniónica, un perfil que en el sistema pCA fue exclusivo de un solo candidato y que el mayor espacio chalcona hace accesible con mayor frecuencia.

El mapa eH-DAMA identificó a dCHA-279, dCHA-568, dCHA-553 y dCHA-283 como antioxidantes predichos superiores a Trolox, ácido ascórbico y α -tocoferol, con dCHA-568 como el más equilibrado en ambos mecanismos. Los cálculos de acoplamiento molecular frente a COMT, MAO-B y AChE predicen perfiles de unión compatibles con inhibición poligénica, con afinidades dependientes de la diana en rangos nanomolar o micromolar. Integrando todos los criterios, se propone a dCHA-568 y dCHA-553 como los candidatos prioritarios para síntesis y evaluación experimental, y a dCHA-279 y dCHA-283 como candidatos secundarios, cuya selectividad frente a puentes disulfuro debe verificarse experimentalmente.

Chalcone Derivatives with a High Potential as Multifunctional Antioxidant Neuroprotectors

Adriana Pérez-González, Romina Castañeda-Arriaga, Eduardo Gabriel Guzmán-López, Luis Felipe Hernández-Ayala, and Annia Galano*



Cite This: *ACS Omega* 2022, 7, 38254–38268



Read Online

ACCESS |



Metrics & More

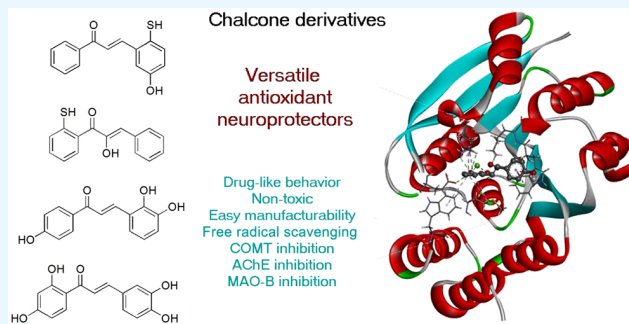


Article Recommendations



Supporting Information

ABSTRACT: A systematic, rational search for chalcone derivatives with multifunctional behavior has been carried out, with the support of a computer-assisted protocol (CADMA-Chem). A total of 568 derivatives were constructed by incorporating functional groups into the chalcone structure. Selection scores were calculated from ADME properties, toxicity, and manufacturability descriptors. They were used to select a subset of molecules (23) with the best drug-like behavior. Reactivity indices were calculated for this subset. They were chosen to account for electron and hydrogen atom donating capabilities, which are key processes for antioxidant activity. The indexes showed that four chalcone derivatives (dCHA-279, dCHA-568, dCHA-553, and dCHA-283) are better electron and H donors than the parent molecule and some reference antioxidants (Trolox, ascorbic acid, and α -tocopherol). In addition, based on molecular docking, they are predicted to act as catechol-O-methyltransferase (COMT), acetylcholinesterase (AChE), and monoamine oxidase B (MAO-B) inhibitors. Therefore, these four molecules are proposed as promising candidates to act as multifunctional antioxidants with neuroprotective effects.



1. INTRODUCTION

Oxidative damage to DNA, lipids, and proteins, i.e., molecules of high biological relevance, is an important cause of many chronic diseases including cancer,^{1–4} arthritis, and cardiovascular^{5–9} and neurodegenerative diseases.^{10–17} However, these diseases are of multifactorial nature,^{18–39} which means that, albeit beneficial in this context, antioxidant capacity alone is not enough for fighting them. Moreover, such a nature imposes difficult challenges for developing efficient treatments. Thus, a new paradigm in the drug design has emerged: Finding single chemical entities with multiple biological activities.^{40–44}

In recent years, the computational design of new molecules, in particular, those with potential use as medical drugs, has significantly increased. Although antioxidants are straightforward protectors against oxidative stress (OS), they may also exhibit other properties. Thus, the rational design of multifunctional antioxidants aimed at treating multifactorial diseases seems to be a logical pursuit. Since neuronal tissue is particularly sensitive to OS,⁴⁵ the present work focuses in antioxidants with potential neuroprotective effects.

Neurodegeneration-related diseases are among the most severe pathologies currently afflicting humankind, and the trend is not encouraging. As the global population age increases, so does the number of individuals developing neurodegenerative conditions. Thus, the search for effective cures or preventive treatments is becoming progressively more

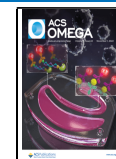
urgent. Despite numerous studies devoted to these kinds of health disorders, their etiologies still remain ambiguous, and no effective cures have been found yet. However, important facts are known. Neurotransmitter deficiency, oxidative stress, metal dyshomeostasis, mitochondrial dysfunction, as well as protein aggregation, misfolding, and phosphorylation play key roles in neurodegeneration and lead to neuronal death.⁴⁵ On the other hand, monoamine oxidase (MAO), acetylcholinesterase (AChE), and catechol-O-methyltransferase (COMT) inhibitors have beneficial effects on neurodegenerative disorders including Parkinson's and Alzheimer's diseases.^{44,46–52}

Molecular docking tools are generally applied as a first approach in computational drug discovery. This strategy can be used to afford atomistic insights into the molecular recognition between a therapeutic target and promising molecules. However, a simplified computational approach can lead to questionable results and finding inactive drugs.⁵³ To overcome these disadvantages, molecular docking must be accomplished by computational protocols that can take in

Received: September 2, 2022

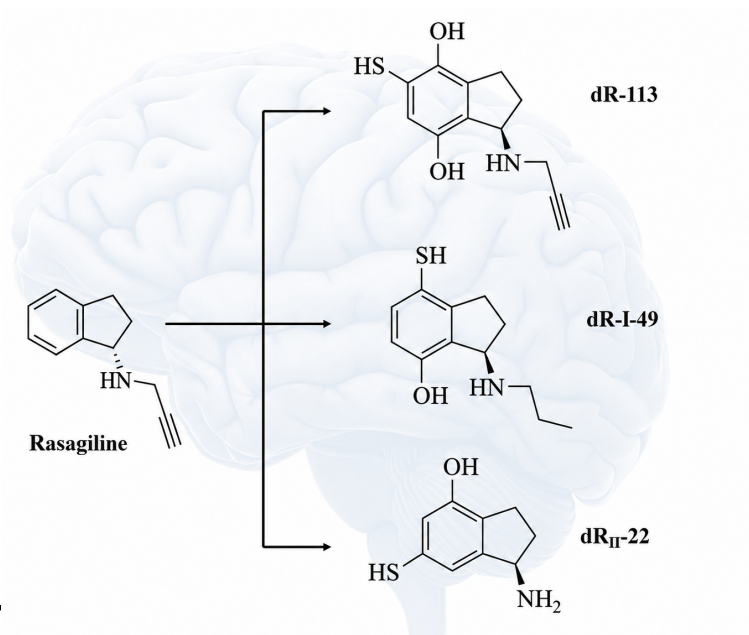
Accepted: September 30, 2022

Published: October 18, 2022



Capítulo 7

Rasagilina



7.1 El marco estructural de la r

La rasagilina (*N*-propargilamino-1-(*R*)-indano; Azilect®) es un fármaco antiparkinsoniano de segunda generación cuya aprobación por la FDA representa un hito en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson: es el primer inhibidor irreversible selectivo de MAO-B diseñado *de novo* y aprobado para uso clínico tanto en monoterapia como en terapia coadyuvante con levodopa.⁵⁰ A diferencia de los sistemas moleculares estudiados en los capítulos anteriores, ácido ferúlico, ácido *p*-cumárico y chalcona, todos derivados de moléculas con actividad antioxidante bien documentada, la rasagilina es ante todo un fármaco neuroprotector con actividad antioxidante modesta. Esta diferencia de punto de partida hace de su derivatización un caso cualitativamente distinto dentro del protocolo CADMA-Chem: no se busca mejorar una capacidad antioxidante ya establecida, sino *añadir* un componente antioxidante robusto a un marco estructural cuya actividad neuroprotectora primaria ya está validada clínicamente.

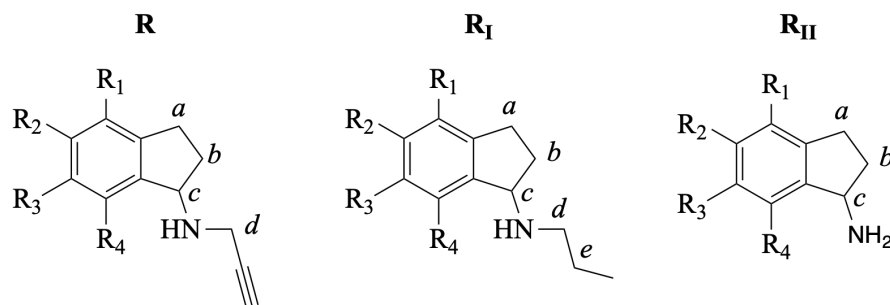


Figura 7.1: Estructuras de la rasagilina (R) y sus análogos RI y RII, indicando los sitios de sustitución R₁–R₄ y los sitios de cálculo de BDE (a–e).

La rasagilina es una amina cíclica secundaria derivada del 1-(*R*)-aminoindano, en la que el grupo *N*-propargilo proporciona hidrofobicidad y volumen estérico, y es el responsable de la inhibición irreversible de MAO-B mediante la formación de un enlace covalente con el cofactor FAD. Su principal metabolito, el 1-(*R*)-aminoindano (RII), es por sí

mismo un inhibidor débil y reversible de MAO-B con propiedades antioxidantes y neuroprotectoras independientes del grupo propargilo.⁵⁰ Un segundo análogo, el *N*-(propil)-2,3-dihidroinden-1-amina (RI), en el que el triple enlace se reemplaza por un grupo metilo terminal, fue incluido para diseccionar la contribución específica de la insaturación al perfil ADME y a la actividad antioxidante. La comparación sistemática de R, RI y RII junto con sus derivados constituye uno de los aportes metodológicos distintivos de este estudio respecto a los capítulos anteriores.

El marco estructural de la rasagilina ofrece cuatro sitios de sustitución en el anillo aromático del indano (R_1 – R_4), un número menor al de la chalcona (12 sitios) y al del ácido *p*-cumárico (6 sitios). Esta restricción estructural hace que el espacio de búsqueda sea más acotado, pero también más interpretable: cada modificación tiene un impacto inmediato y trazable sobre las propiedades predichas. Adicionalmente, la presencia del átomo de nitrógeno secundario, ausente en los marcos estructurales fenilpropanoides anteriores, introduce una posibilidad adicional de especiación ácido-base (protonación del nitrógeno a pH fisiológico) que requiere un tratamiento explícito.

7.2 Construcción y filtrado de la biblioteca

Siguiendo la estrategia descrita en el Apéndice A, se construyó una biblioteca de 361 derivados mediante la incorporación de hasta tres grupos funcionales ($-OH$, $-NH_2$, $-SH$ y $-COOH$) en los sitios R_1 a R_4 de los marcos R, RI y RII. La biblioteca comprende los dos análogos de partida (RI y RII), 48 monosustituídos (todas las combinaciones de sitio/grupo posibles), 288 bisustituídos y 23 trisustituídos, estos últimos contruidos a partir de las especies bifuncionalizadas más prometedoras.⁵⁰

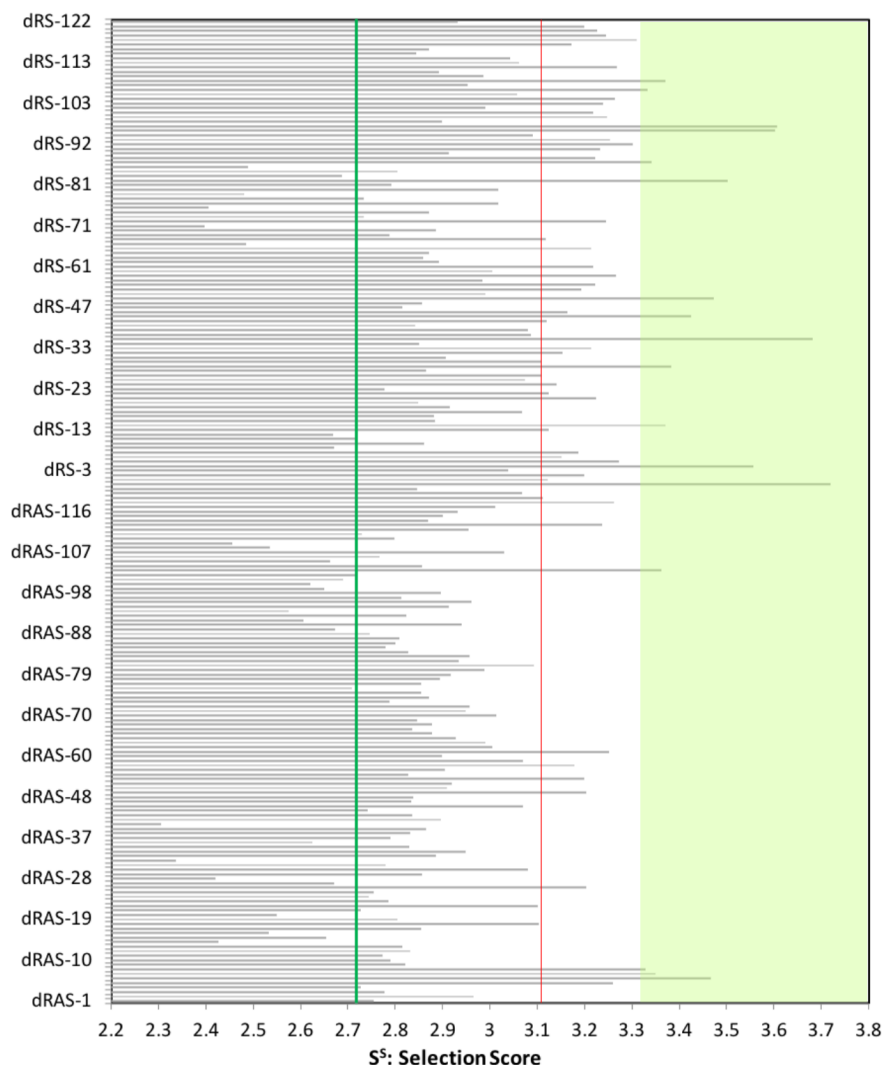


Figura 7.2: Distribución de S^S para los 361 derivados de rasagilina. La línea roja marca $S^S = 3.0$, promedio del RefSet de fármacos neuroprotectores. La línea verde indica el valor de la rasagilina ($S^S = 2.66$); el bloque verde señala el subconjunto seleccionado para la evaluación de reactividad.

La distribución del puntaje de selección S^S (Figura 7.2) muestra un patrón que contrasta con los sistemas anteriores: el S^S de la rasagilina (2.66) es considerablemente más bajo que el de la chalcona (4.37) o el ácido *p*-cumárico (3.28), lo que refleja la mayor complejidad estructural de su marco estructural y, en particular, la presencia del triple enlace *N*-propargílico que eleva la accesibilidad sintética estimada. Sin embargo, varios derivados, especialmente de las subfamilias RI y RII, alcanzan S^S superiores a 3.6, equiparables a los mejores candidatos en los sistemas anteriores. Con base en el S^S , se seleccionó el subconjunto mostrado en la Figura 7.3 para el estudio detallado de reactividad; R, RI y RII se conservaron como referencias estructurales dentro de sus respectivas subfamilias.⁵⁰

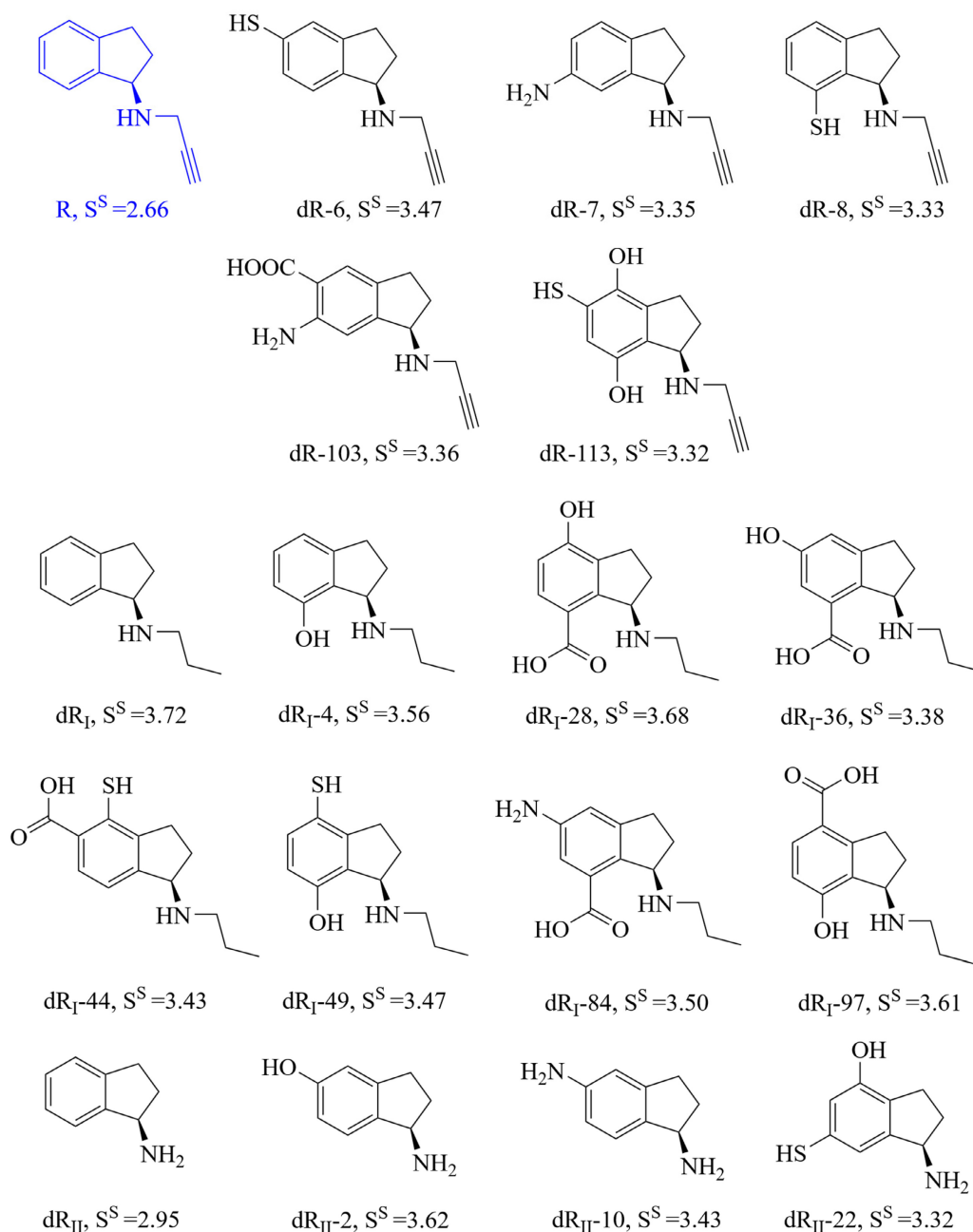


Figura 7.3: Estructuras de la rasagilina (R), los análogos RI y RII, y los 15 derivados seleccionados, con sus respectivos puntajes de selección S^S .

El análisis de los puntajes de eliminación (Figura 7.4) mantiene el patrón observado en los sistemas anteriores: las mayores desviaciones provienen de LD_{50} y mutagenicidad de Ames, y en ambos casos corresponden a compuestos *más deseables* que el promedio del RefSet, no a compuestos problemáticos. Los derivados dR-8, dR-36 y dR-II-2 son los que más se alejan del promedio en LD_{50} , con valores estimados entre 1 614 y 2 644 mg/kg, frente a la media del RefSet de 960.8 mg/kg, lo que indica menor toxicidad aguda oral. De forma análoga, RI, dR_I-4, dR_I-36, dR_I-49, dR_I-97, dR_{II}-2 y dR_{II}-10 presentan mutagenicidades estimadas ($M \leq 0.03$) por debajo del promedio del RefSet ($M = 0.41$). Ninguno de los compuestos seleccionados fue excluido por el análisis de S^E .⁵⁰

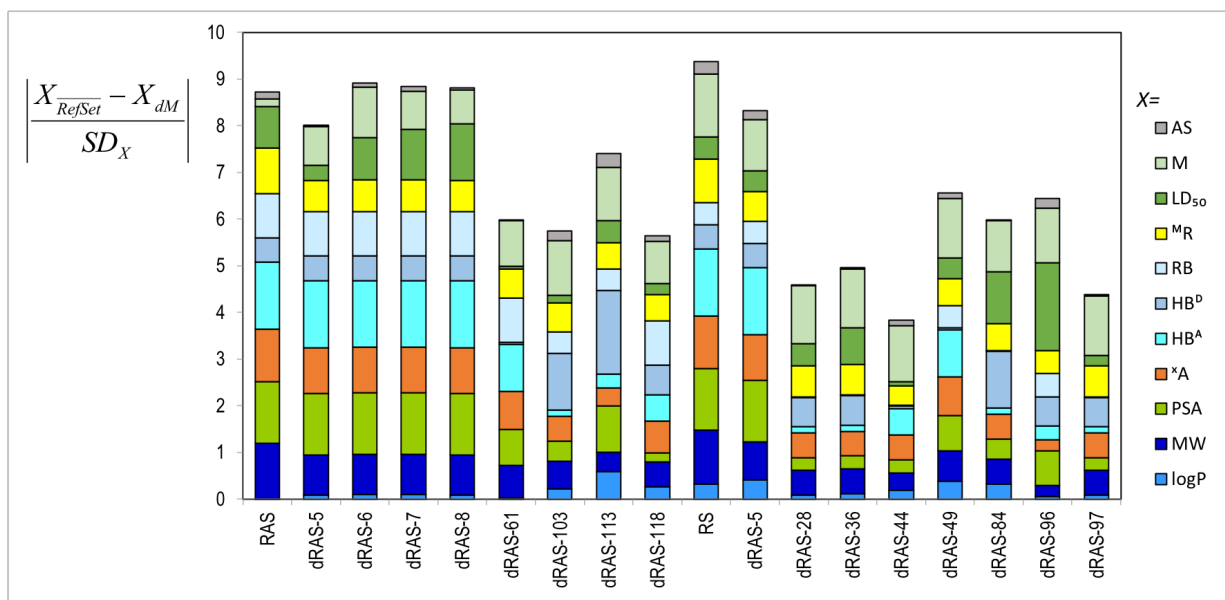


Figura 7.4: Puntajes de eliminación individuales para rasagilina (RAS) y el subconjunto de derivados seleccionados. La altura de las barras apiladas cuantifica la desviación estandarizada de cada propiedad fisicoquímica y toxicológica frente al RefSet. Contribuciones: AS (accesibilidad sintética), M (mutagenicidad), LD₅₀ (dosis letal media), M_R (refractividad molar), RB (enlaces rotables), HB^D (donadores de enlace de hidrógeno), HB^A (aceptadores de enlace de hidrógeno), X_A (número de átomos pesados), PSA (área de superficie polar), MW (masa molecular) y logP (coeficiente de partición octanol-agua).

Un resultado de interés metodológico es que las mayores contribuciones a S^E provienen sistemáticamente de los índices de toxicidad (LD₅₀ y mutagenicidad), y no de las propiedades ADME. Esto indica que el análisis de eliminación retiene los candidatos cuyas desviaciones del RefSet son favorables y excluiría aquellos cuyas desviaciones fueran deletéreas. En los sistemas anteriores, PSA, HBA y HBD también contribuían de forma importante; en rasagilina, estos parámetros muestran desviaciones menores, lo que es coherente con el menor número de grupos funcionales polares en este marco estructural.

7.3 Especiación ácido-base

El marco estructural de la rasagilina posee un carácter ácido-base singular dentro del protocolo: la amina secundaria del nitrógeno indánico tiene un pK_a básico (≈ 7.5 en rasagilina), por lo que a pH = 7.4 coexisten de forma significativa las formas protonada y neutra. Esta protonación afecta directamente tanto a las propiedades farmacocinéticas (la especie protonada, catiónica, tiene permeabilidad lipídica reducida) como a la capacidad antioxidante (la especie neutra y las aniónicas son las activas redox). El tratamiento explícito de esta especiación nitrogenada es una diferencia importante respecto a los capítulos de pCA y FA, donde el nitrógeno estaba ausente.

Tabla 7.1: Valores de pK_a estimados y fracciones molares (M_f) de las especies diprotonada (M_f^{diprot}), protonada (M_f^{prot}), neutra (M_f^{neu}), monoaniónica (M_f^{an}) y dianiónica (M_f^{dian}) de la rasagilina y sus derivados seleccionados a pH = 7.4. Fracciones $< 10^{-3}$ se indican con notación exponencial.

Comp.	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	M_f^{diprot}	M_f^{prot}	M_f^{neu}	M_f^{an}	M_f^{dian}
R	7.49				0.552	0.448		
dR-6	6.25	11.15			0.066	0.934	$< 10^{-3}$	
dR-7	6.12	11.01			0.050	0.950	$< 10^{-3}$	
dR-8	2.79	11.06			$< 10^{-4}$	≈ 1.000	$< 10^{-3}$	
dR-103	0.98	5.80	7.92	$< 10^{-8}$	0.019	0.754	0.228	
dR-113	3.94	8.95	10.74		$< 10^{-3}$	0.972	0.027	$< 10^{-4}$
dR _I	10.10				0.998	0.002		
dRI-4	8.05	13.04			0.817	0.183	$< 10^{-6}$	
dRI-28	2.39	8.99	13.54		$< 10^{-5}$	0.975	0.025	$< 10^{-7}$
dRI-36	2.01	9.49	14.03		$< 10^{-5}$	0.992	0.008	$< 10^{-8}$
dRI-44	3.48	6.57	10.99		$< 10^{-4}$	0.129	0.871	$< 10^{-3}$
dRI-49	6.52	9.50	13.68		0.116	0.877	0.007	$< 10^{-8}$
dRI-84	1.36	3.65	12.86	$< 10^{-9}$	$< 10^{-3}$	≈ 1.000	$< 10^{-5}$	
dRI-97	4.25	7.45	13.19	$< 10^{-3}$	0.529	0.471	$< 10^{-6}$	
dR _{II}	9.10				0.980	0.020		
dRII-2	9.33	10.26			0.988	0.012	$< 10^{-4}$	
dRII-10	3.55	9.91		$< 10^{-3}$	0.997	0.003		
dRII-22	5.86	7.97	10.78		0.022	0.770	0.207	$< 10^{-4}$

Los datos de la Tabla 7.1 permiten identificar varias familias de perfiles de especiación. La primera corresponde a la rasagilina (R), cuya amina con $pK_{a1} = 7.49$ genera una coexistencia casi equimolar de las formas protonada (0.552) y neutra (0.448) a pH = 7.4. Este caso difiere de las especies con coexistencia neutra/aniónica discutidas en pCA y chalcona: aquí es la forma protonada, y no la aniónica, la que coexiste con la neutra. Por ello, el perfil redox esperado cambia sustancialmente: el catión protonado presenta menor permeabilidad pasiva, mayor susceptibilidad a atrapamiento iónico y no se considera activo como antioxidante por mecanismo SET.

En los derivados de R que incorporan grupos dadores de hidrógeno (dR-6, dR-7, dR-8), el pK_{a1} se desplaza hacia valores ácidos (2.79–6.25), con lo que la amina queda prácticamente en su forma neutra a pH = 7.4 (M_f^{prot} entre 0.050 y 0.066 para dR-6 y dR-7, y prácticamente nula para dR-8). En consecuencia, la fracción de la especie neutra, activa para permeación y para HAT, es mayor respecto a la rasagilina. dR-103 y dR-113 presentan un tercer pK_a asociado al grupo fenólico adicional, con fracciones monoaniónicas no despreciables (0.228 y 0.027, respectivamente).

Los análogos de la subfamilia RI muestran un patrón distinto: sin el triple enlace, la amina tiene un $pK_{a1} = 10.10$, lo que significa que RI está prácticamente en su forma protonada a pH = 7.4 ($M_f^{\text{prot}} = 0.998$). Los derivados de RI con grupos ácidos (dRI-28, dRI-36, dRI-84) desplazan el pK_{a1} a valores ácidos muy bajos, neutralizando la amina y dejando predominar la especie neutra. En la subfamilia RII, el pK_{a1} de la amina primaria (9.10) es intermedio, con $M_f^{\text{prot}} = 0.980$; sólo dRII-22, con dos pK_a ácidos adicionales (5.86 y 7.97), logra una fracción aniónica significativa (0.207).⁵⁰

Este análisis revela que la incorporación de grupos ácidos ($-\text{COOH}$, $-\text{SH}$) en posiciones con pK_a bajo es la estrategia más efectiva para desplazar la especiación hacia la fracción neutra activa para permeación y HAT. Este principio es aplicable tanto a rasagilina y sus análogos como, de forma general, a cualquier marco estructural que contenga aminas con pK_a próximo o superior a 7.4.

7.4 Reactividad química y capacidad antioxidante

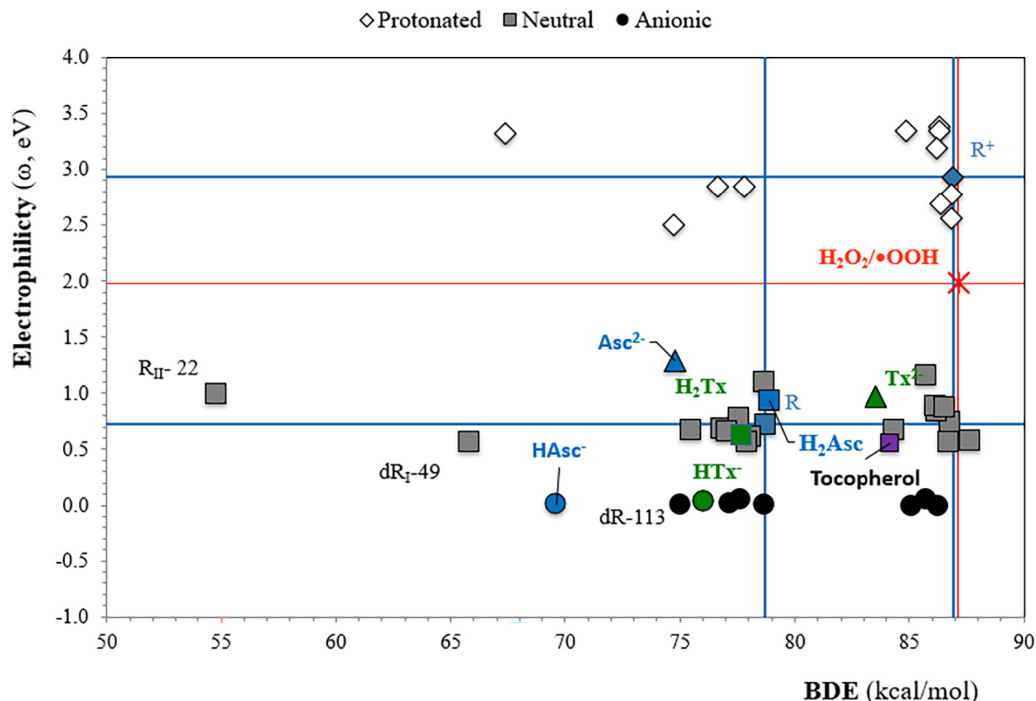


Figura 7.5: Mapa eH-DAMA para rasagilina, sus análogos y derivados seleccionados. El eje horizontal corresponde a la BDE y el eje vertical a la electrofilicidad ω . Se muestran las especies protonadas, neutras y aniónicas, junto con antioxidantes de referencia (Trolox, ácido ascórbico y α -tocoferol) y el par oxidante $\text{H}_2\text{O}_2/\bullet\text{OOH}$.

El mapa eH-DAMA (Figura 7.5) muestra de forma inmediata que la rasagilina (R) es un antioxidante moderado: su especie neutra tiene BDE = 78.72 kcal/mol y $\omega = 0.72$ eV, dentro del rango de Trolox, pero sin superarlo. Esta capacidad antioxidante limitada es coherente con la ausencia de grupos funcionales dadores de hidrógeno en el marco estructural nativo y con el papel secundario de la actividad antioxidante en el mecanismo de acción primario del fármaco.⁵⁰

La incorporación de grupos funcionales transforma radicalmente el perfil antioxidante. Los derivados con grupo $-\text{SH}$ presentan los menores valores de BDE del conjunto: dRII-22 (BDE = 54.81 kcal/mol en su especie neutra) y dRI-49 (BDE = 65.82 kcal/mol) son los mejores captadores de radicales por mecanismo HAT, con valores de BDE por debajo de Trolox (BDE ≈ 77 kcal/mol). Los derivados con especies aniónicas significativas, dR-113, dRI-44 y dRII-22,

presentan los menores valores de ω y, por tanto, la mayor capacidad SET: dR-113 con $\omega = 0.01$ eV y dRI-44 con $\omega = 0.001$ eV se ubican en la región inferior izquierda del mapa eH-DAMA, junto a las referencias ascorbato y α -tocoferol.⁵⁰

La comparación entre las tres subfamilias revela que los derivados de RI son los que, en conjunto, presentan los perfiles antioxidantes más equilibrados. RI tiene BDE = 76.82 kcal/mol (comparable a R), sus derivados bisustituídos con grupos $-\text{OH}$ o $-\text{SH}$ logran BDE entre 65 y 78 kcal/mol combinados con fracciones aniónicas suficientes para actividad SET. La ausencia del grupo propargilo en RI, en comparación con R, no deteriora la capacidad antioxidante, lo que indica que el triple enlace *N*-propargílico no contribuye a la actividad redox y su sustitución no supone pérdida desde la perspectiva antioxidante.⁵⁰

Los tres candidatos más prometedores según el eH-DAMA son, en orden de prioridad: dR-113 (mejor SET, especie neutra dominante), dRI-49 (mejor HAT entre los derivados de RI), y dRII-22 (mejor HAT de todo el conjunto, con BDE notablemente bajo). Los tres superan a la rasagilina tanto en donación de electrones como en donación de hidrógeno, lo que muestra que las modificaciones propuestas mejoran cuantitativamente la capacidad antioxidante del marco estructural de partida bajo los criterios calculados.⁵⁰

El riesgo asociado al grupo $-\text{SH}$, ya discutido en el capítulo de chalcona, es plenamente aplicable aquí: los grupos tiol presentan BDE bajos (ventaja antioxidante), pero pueden oxidarse a disulfuros en entornos proteicos. dRI-49 y dRII-22, ambos con $-\text{SH}$, deben por tanto considerarse candidatos sujetos a evaluación experimental de selectividad, tal como se propuso para dCHA-279 y dCHA-283.

7.5 Candidatos finales y relaciones estructura-actividad

La convergencia de los criterios de puntaje de selección, especiación ácido-base y reactividad antioxidante (eH-DAMA) conduce a tres candidatos finales: dR-113, dRI-49 y dRII-22.

dR-113 es el candidato más balanceado del conjunto: su $\text{p}K_{a1} = 3.94$ desplaza la amina indánica a forma neutra ($M_f^{\text{neu}} = 0.972$ a pH = 7.4), su especie neutra presenta capacidad HAT favorable (BDE = 75.49 kcal/mol) y la especie monoaniónica tiene capacidad SET excepcional ($\omega = 0.01$ eV). La presencia del grupo catecólico ($-\text{OH}$ en posiciones adyacentes) le confiere además capacidad potencial de quelación de metales,⁵⁰ una propiedad adicional de relevancia en el contexto neurodegenerativo ya discutida en el marco general del protocolo CADMA-Chem.

dRI-49 representa el aporte más importante de la subfamilia RI: al prescindir del triple enlace, reduce la complejidad sintética, mejora la accesibilidad sintética estimada del marco estructural y mantiene un perfil antioxidante favorable. La amina de RI tiene $\text{p}K_{a1} = 10.10$, por lo que sin sustituyentes adicionales estaría prácticamente protonada a pH 7.4; pero dRI-49, con $\text{p}K_{a1} = 6.52$, alcanza $M_f^{\text{neu}} = 0.877$ y $M_f^{\text{prot}} = 0.116$, un perfil de coexistencia análogo al de los mejores

candidatos de la chalcona. Su BDE = 65.82 kcal/mol (especie neutra) lo convierte en el mejor candidato HAT de la subfamilia RI, superando a la rasagilina tanto en donación de hidrógeno como en perfil de especiación a pH fisiológico.

dRII-22 es el único candidato de la subfamilia RII con BDE < 55 kcal/mol: el metabolito activo aminoindano sin cadena alquílica. Su BDE = 54.81 kcal/mol es el valor más bajo del conjunto, indicando la mayor facilidad para transferir H en condiciones de HAT, y su fracción aniónica (0.207) es la más alta entre los derivados de RII, con $\omega = 0.99$ eV para la especie neutra. El hecho de que dRII-22 sea un derivado del metabolito activo, y no de la molécula parental, sugiere que parte de la neuroprotección in vivo de la rasagilina podría estar mediada por la actividad antioxidante mejorada de sus metabolitos funcionalizados, una hipótesis relevante para el diseño de profármacos.⁵⁰

Estos tres candidatos cumplen simultáneamente los criterios de comportamiento similar a fármacos (ADME, toxicidad, accesibilidad sintética), perfil ácido-base favorable (fracción neutra dominante o significativa a pH = 7.4), y capacidad antioxidante superior a la rasagilina y a las referencias (Trolox, ácido ascórbico, α -tocoferol). Dado que las modificaciones estructurales introducidas son moderadas y el marco indánico se conserva, se espera que los tres candidatos retengan la actividad neuroprotectora del fármaco parental, lo que deberá verificarse experimentalmente.

Vistos en el contexto del conjunto de estudios CADMA-Chem, los resultados de rasagilina permiten consolidar dos lecciones SAR transversales. Primero, la modulación de la amina básica mediante grupos ácidos adyacentes (pK_{a1} bajo) es el mecanismo por el que los derivados de rasagilina logran fracciones neutras elevadas a pH fisiológico, lo que apunta a una estrategia de optimización directamente aplicable a otros marcos estructurales aminados. Segundo, el grupo catecólico (–OH orto-adyacentes) aporta simultáneamente capacidad antioxidante (HAT y quelación metálica) y perfil de especiación favorable, lo que lo consolida como el grupo funcional que combina actividad antioxidante, quelación metálica y especiación favorable dentro del protocolo CADMA-Chem para marcos estructurales que contienen nitrógeno básico.

7.6 Conclusiones

La aplicación del protocolo CADMA-Chem al marco estructural de la rasagilina exploró 361 derivados distribuidos en tres subfamilias (R, RI, RII). Aunque el espacio de diseño es el más restringido en número de sitios de sustitución dentro del presente trabajo (cuatro posiciones en el anillo aromático), la diversidad introducida por las tres subfamilias permite analizar sistemáticamente el efecto del triple enlace propargílico en la relación estructura-función. El análisis de S^S identificó un subconjunto de candidatos con comportamiento similar a fármacos, y ninguno fue excluido por los puntajes de eliminación; en ambos casos, las desviaciones más pronunciadas del RefSet corresponden sistemáticamente a propiedades deseables (menor toxicidad, menor mutagenicidad).

La especiación ácido-base reveló que la incorporación de grupos ácidos de bajo pK_a es el mecanismo más eficaz para neutralizar la amina indánica y maximizar la fracción neutra activa a $\text{pH} = 7.4$. El mapa eH-DAMA identificó a dR-113, dRI-49 y dRII-22 como los antioxidantes predichos más potentes del conjunto, los tres superiores a la rasagilina y a Trolox, ácido ascórbico y α -tocoferol como referencias. Dado que las modificaciones estructurales son moderadas y el marco indánico se conserva en los tres casos, se espera que retengan la actividad neuroprotectora del fármaco parental, premisa que deberá evaluarse experimentalmente.

Un hallazgo con implicaciones directas para el diseño racional es que dRI-49, un derivado de la subfamilia RI donde el triple enlace propargílico ha sido sustituido por un grupo metilo terminal, mejora frente a la rasagilina en los criterios de selección, especiación y reactividad antioxidante evaluados en este capítulo. Esto indica que el triple enlace no es un requisito estructural para mejorar la actividad antioxidante calculada, lo que abre la posibilidad de diseñar análogos con mayor accesibilidad sintética y perfil de especiación más favorable a partir del mismo marco estructural indánico. Este hallazgo constituye una hipótesis de diseño con potencial para guiar investigación experimental futura.

RESEARCH ARTICLE

Computational design of rasagiline derivatives: Searching for enhanced antioxidant capability

Miguel Reina^{1,2}  | Eduardo Gabriel Guzmán-López¹ | Annia Galano¹ 

¹Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Mexico, Mexico

²Departamento de Química Inorgánica y Nuclear, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, México, Mexico

Correspondence

Annia Galano, Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, Iztapalapa. C. P. 09340. México, D. F., México.
 Email: agalano@prodigy.net.mx, agal@xanum.uam.mx

Funding information

Universidad Autónoma Metropolitana

Abstract

A set of new rasagiline derivatives is presented. They were designed to be antioxidant compounds with the potential to be used for treating neurodegenerative disorders. They are expected to be multifunctional molecules that can help reduce oxidative stress, which is thought to contribute to neurodegenerative disorders. The CADMA-Chem computational protocol was used to produce rasagiline derivatives and to evaluate their likeliness as oral drugs and antioxidants. Three of them were identified as the most promising ones. They are proposed to be better free radical scavengers than rasagiline. In addition, they are expected to keep the parent's molecule neuroprotective capability. Hopefully, the results presented here would promote further experimental and theoretical investigations on these compounds.

KEYWORDS

1-(R)-aminoindan, ADME, computer-aided design, DFT, free radical scavenger, oxidative stress, rasagiline, synthetic accessibility, toxicity

1 | INTRODUCTION

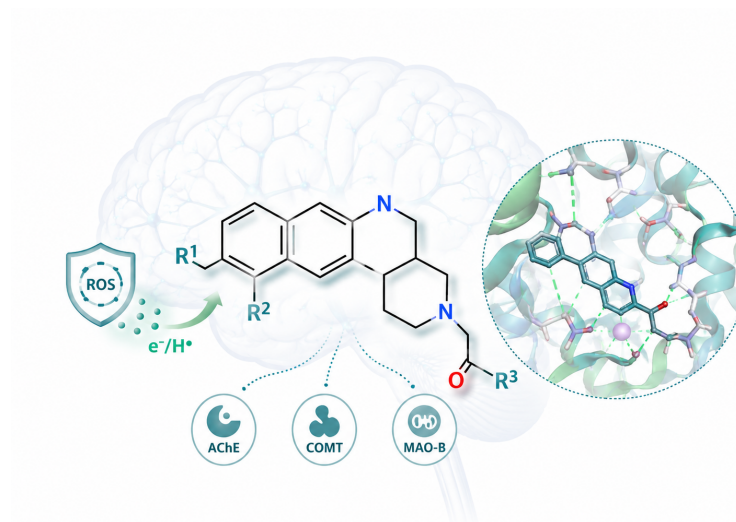
Neurodegenerative disorders (ND); including Parkinson's [1, 2], Alzheimer's [3, 4], and other neural diseases [5]; have been described to involve the gradual loss of particular neuronal cell population. Although numerous investigations have been devoted to the elucidation of the ND pathologies, their primary causes continue elusive. Some interrelated crucial aspects on the progression of these disorders are proteopathy [6–8], metal ion dyshomeostasis [9–32], environmental pollutants [33–47], and neurotransmitter deficiencies. A chemical phenomenon shared by all these diseases is oxidative stress (OS). It could be accountable for the dysfunction or death of neuronal cells that conduces to disease pathogenesis [48–65].

OS arises due to unregulated production and consumption of free radicals, primarily reactive oxygen species (ROS) [66–78]. ROS are produced from molecular oxygen in the mitochondrial respiratory chain. Some partially reduced O₂ intermediates are formed in low amounts, including the highly reactive hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) and the superoxide anion (O₂ $\cdot^{-}$), among others [66, 74, 75, 78–84]. Neurons are particularly vulnerable to ROS-induced damage because of their high-oxygen consumption, relatively low-antioxidant defense, low-regenerative capacity, and high polyunsaturated fatty acid content [78, 85–87]. Thus, ROS overproduction in brain tissue imposes a very harmful threat. One possible therapeutic strategy is to prevent and/or diminish OS using free radical scavengers. In fact, a variety of neuroprotective drug agents are used because of their antioxidant capability [88–97].

Rasagiline (N-propargyl-1-(R)-aminoindan; Azilect[®]) is an anti-Parkinson, selective irreversible monoamine oxidase (MAO-B) inhibitor drug. It is currently accepted by the US Food and Drug Administration, and has demonstrated to show neuroprotective and neurorestorative activities in vitro and in vivo models [98–114]. Rasagiline benefits patients with both early and late Parkinson's disease as monotherapy or as an assistant to levodopa [115–117]. From a chemical point of view, rasagiline is a secondary cyclic benzylamine and indane derivative, in which the acetylenic group provides hydrophobicity and steric volume.

Capítulo 8

Quinolina



8.1 El marco estructural de la quinolina

La quinolina es un heterociclo aromático bicíclico formado por la fusión de un anillo bencénico y uno piridínico. Por sí misma tiene aplicaciones farmacológicas escasas, pero es una estructura privilegiada en química medicinal.¹⁵⁶ a partir de ella se construyen derivados con actividad antibacteriana, antifúngica, antimalárica, anticancerígena, anticonvulsivante, antiinflamatoria, antioxidante y neuroprotectora. Más de 200 alcaloides quinolínicos biológicamente activos han sido identificados en la naturaleza. El motivo quinolínicos está presente en fármacos de campos tan distintos como el ciprofloxacino, la cloroquina, la quinidina, el nedocromil y el imoquimod.⁴⁵

Para el diseño de neuroprotectores, la quinolina tiene dos propiedades que la separan de los sistemas fenilpropanoides de los capítulos anteriores. El nitrógeno del anillo piridínico actúa como aceptor de enlaces de hidrógeno con basicidad deslocalizada en el sistema π , sin fracción protonada apreciable a pH fisiológico. Su carácter hidrofóbico facilita el cruce de la barrera hematoencefálica, propiedad que los fenilpropanoides polihidroxilados no siempre garantizan. La semejanza estructural con la tacrina, el primer inhibidor de AChE aprobado por la FDA, fue señalada en el segundo estudio de este capítulo como factor de reconocimiento molecular.⁴⁸

El número de sitios de sustitución es siete (R_1 – R_7 , Figura 8.2). La gama de grupos funcionales es más amplia que en los capítulos anteriores: además de $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$ y $-\text{COOH}$, se incorporaron $-\text{CHO}$, $-\text{COCH}_3$ y $-\text{COOCH}_3$ principalmente por su contribución estereoelectrónica.⁴⁵

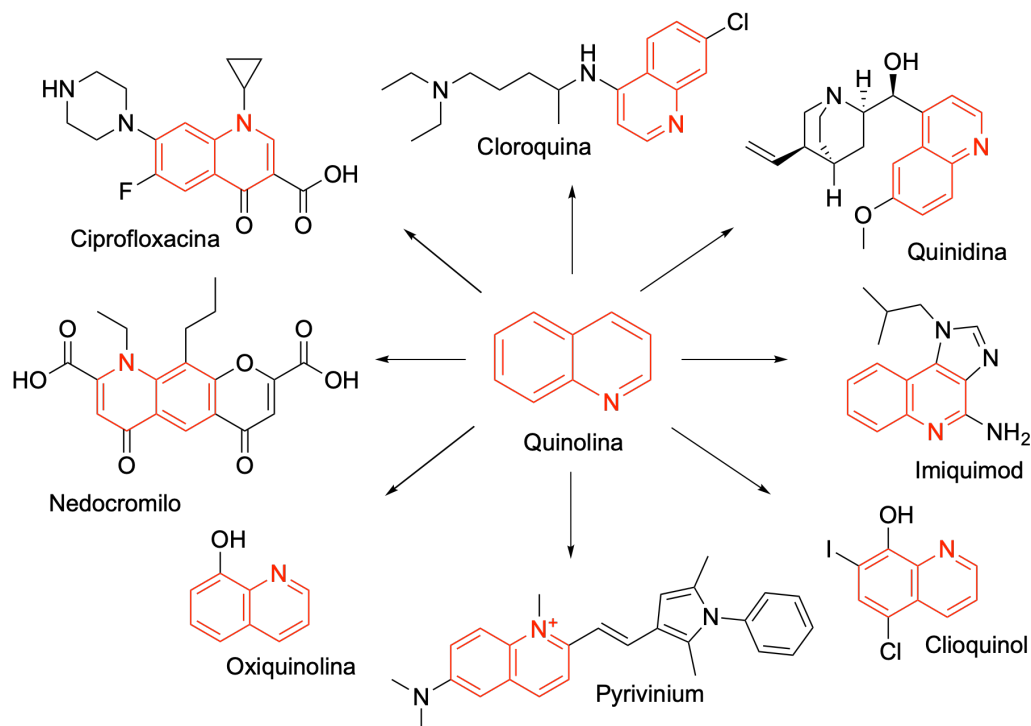


Figura 8.1: Ejemplos de derivados de quinolina con actividad farmacológica diversa.

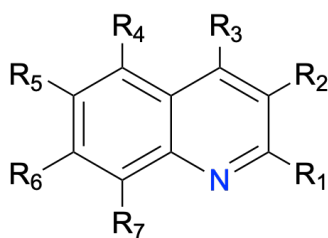


Figura 8.2: Estructura de la quinolina (dQ1) y sitios de sustitución R₁–R₇ considerados en este trabajo.

Este capítulo integra los principales resultados de dos publicaciones. La primera⁴⁵ aplica el protocolo CADMA-Chem completo: generación de la biblioteca, filtrado por S^S/S^E , especiación ácido-base, caracterización antioxidante por eH-DAMA y *docking* frente a COMT, MAO-B y AChE. La segunda⁴⁸ somete los cinco candidatos más prometedores en AChE a simulaciones de dinámica molecular (MD) de 200 ns y propone rutas retrosintéticas. La pregunta que vincula ambos estudios es metodológica: ¿el *docking* es suficiente para identificar inhibidores reales a escala de miles de compuestos?

8.2 Construcción y filtrado de la biblioteca

La combinación de siete sitios, seis grupos funcionales y tres niveles de sustitución produjo 8 536 derivados, la biblioteca más grande del protocolo. La chalcona, segundo en tamaño, tiene 568. De los 8 536 derivados, 42 son

monosustituídos, 756 disustituídos y 7 560 trisustituídos. Para 2 033 no fue posible estimar alguno de los parámetros de toxicidad y fueron excluidos, dejando 6 503 candidatos para el análisis de S^S .⁴⁵

Los S^S oscilan entre 2.36 y 3.54. Un total de 530 derivados superan simultáneamente el S^S de la quinolina (2.83) y el promedio del conjunto de referencia (3.00). La distribución es más dispersa que en los sistemas anteriores: en chalcona el 83% de los derivados superaba el promedio; aquí la proporción cae porque $-\text{CHO}$ y $-\text{COOCH}_3$ introducen variabilidad en los descriptores ADME que produce candidatos tanto muy prometedores como subóptimos.

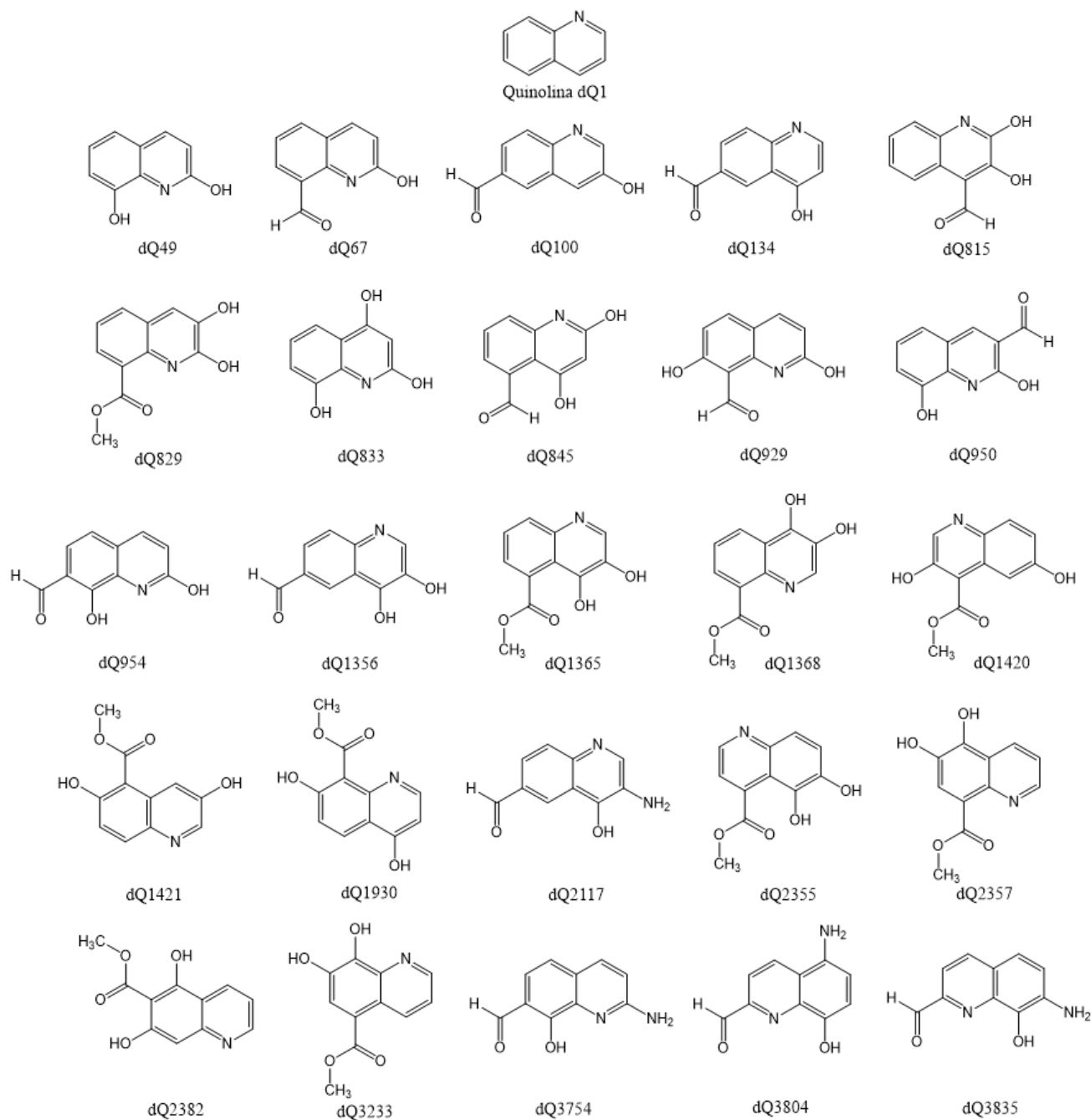


Figura 8.3: Estructura y puntaje de selección de los veinticinco derivados de quinolina mejor evaluados.

Tras el análisis de S^E , los 25 derivados finalistas (Figura 8.3) muestran un patrón distinto al de los sistemas anteriores. En chalcona, pCA y FA las mayores desviaciones provenían de toxicidad. En quinolina provienen de propiedades ADME, específicamente PSA y MW, y de accesibilidad sintética: los derivados son más pequeños que el RefSet de neuroprotectores y más fáciles de sintetizar. Esta diferencia es cualitativamente importante: el protocolo CADMA-Chem identifica aquí candidatos que destacan no por su baja toxicidad —que ya es intrínsecamente buena en el andamio quinolínic— sino por su excelente perfil de biodisponibilidad y accesibilidad sintética.⁴⁵

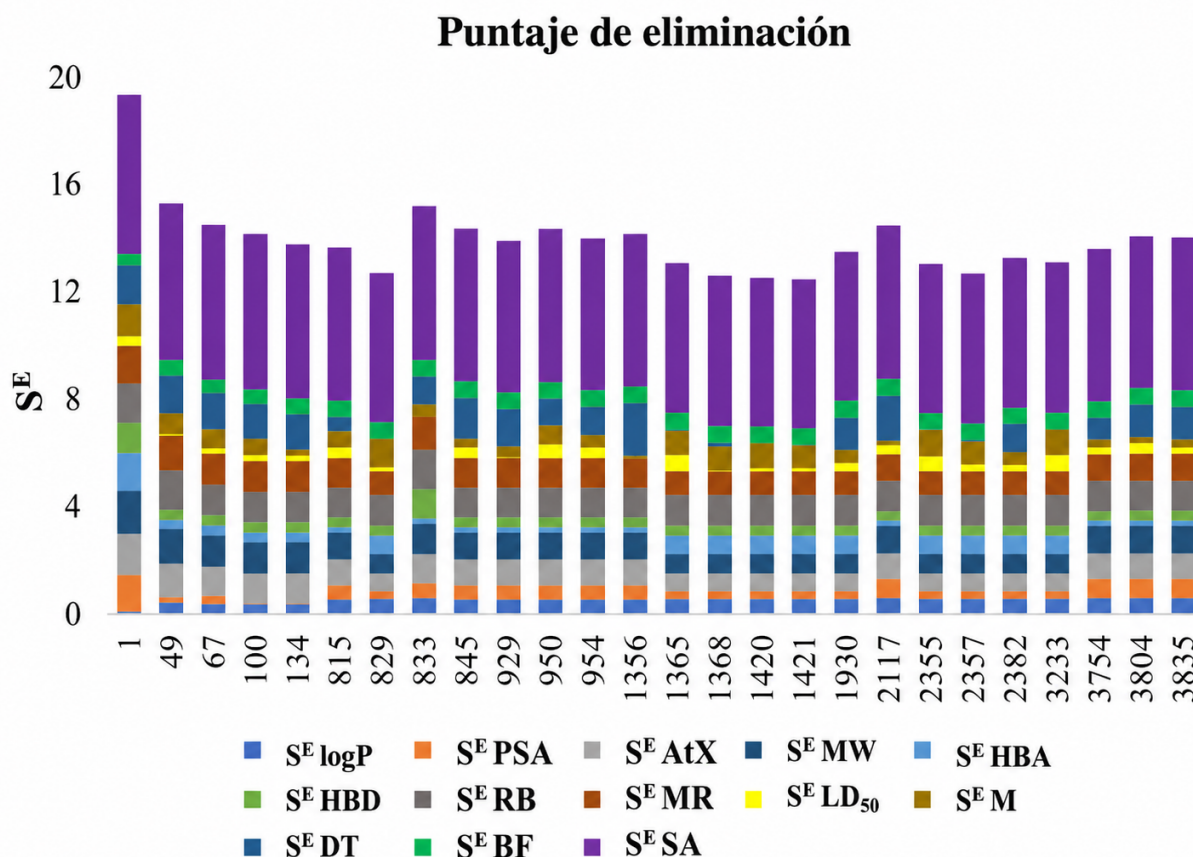


Figura 8.4: Puntajes de eliminación individuales para el compuesto de referencia (Q) y el subconjunto de derivados de quinolina seleccionados. Contribuciones: AS (accesibilidad sintética), M (mutagenicidad), LD_{50} (dosis letal media), M_R (refractividad molar), RB (enlaces rotables), HB^D (donadores de enlace de hidrógeno), HB^A (aceptores de enlace de hidrógeno), X_A (número de átomos pesados), PSA (área de superficie polar), MW (masa molecular) y logP (coeficiente de partición octanol-agua).

La toxicidad al desarrollo, barra turquesa en Figura 8.4, presenta las desviaciones más grandes, y en todos los casos los derivados son menos tóxicos que el promedio del RefSet, en algunos de forma notable (dQ845, dQ1356, dQ2117). Ninguno de los 25 derivados fue excluido por el análisis de S^E .⁴⁵

8.3 Especiación ácido-base

Los datos de la Tabla 8.1 muestran que la quinolina (dQ1) existe exclusivamente como especie neutra a pH = 7.4: no tiene grupos ácidos ni básicos con pK_a dentro del rango biológicamente relevante. La funcionalización cambia este comportamiento: la incorporación de grupos $-\text{OH}$ y $-\text{COOCH}_3$ genera fracciones aniónicas sustanciales en 8 de los 25 derivados, con dQ829, dQ1368 y dQ1420 como los de mayor fracción monoaniónica (68.6–71.3%).

Tabla 8.1: Fracciones molares porcentuales ($X\%$) de las especies ácido-base de los derivados de quinolina a pH = 7.4. Las especies con $X\% < 1$ se marcan como cero; HdQ^+ = catión protonado; dQ = neutro; H^{-1}dQ^- = monoanión; $\text{H}^{-2}\text{dQ}^{2-}$ = dianión.

dQ	HdQ ⁺ (%)	dQ (%)	H ⁻¹ dQ ⁻ (%)	H ⁻² dQ ²⁻ (%)
dQ1	0.0	100.0	0.0	0.0
dQ49	0.0	79.6	20.4	0.0
dQ67	0.0	98.7	1.3	0.0
dQ100	0.0	84.9	15.1	0.0
dQ134	0.0	100.0	0.0	0.0
dQ815	0.0	92.4	7.6	0.0
dQ829	0.0	30.9	69.1	0.0
dQ833	1.1	63.3	35.6	0.0
dQ845	0.0	98.7	1.3	0.0
dQ929	0.0	88.6	11.4	0.0
dQ950	0.0	98.8	1.2	0.0
dQ954	0.0	59.7	40.3	0.0
dQ1356	0.0	97.7	2.3	0.0
dQ1365	0.0	68.1	31.2	0.0
dQ1368	0.0	31.4	68.6	0.0
dQ1420	0.3	28.4	71.3	0.0
dQ1421	0.1	80.1	18.8	1.0
dQ1930	0.0	56.8	43.2	0.0
dQ2117	0.1	99.9	0.0	0.0
dQ2355	0.0	56.3	43.7	0.0
dQ2357	0.0	68.6	31.4	0.0
dQ2382	4.3	92.8	2.9	0.0
dQ3233	0.1	54.0	46.0	0.0
dQ3754	0.0	98.0	2.0	0.0
dQ3804	0.0	98.0	2.0	0.0
dQ3835	0.0	98.8	1.2	0.0

Tres perfiles tienen interés específico. dQ829, dQ1368 y dQ1420 tienen fracción neutra entre 28 y 31%, coexistiendo con monoanión dominante: el mismo perfil que los mejores candidatos de pCA y chalcona, donde la especie neutra garantiza permeabilidad pasiva y el fenolato contribuye a actividad SET. En el extremo opuesto, dQ833 y dQ2382 presentan fracciones catiónicas de 1.1 y 4.3%, respectivamente: el nitrógeno quinolínico se protona a pH fisiológico cuando la funcionalización modifica la basicidad del heteroátomo y estabiliza la forma protonada. Este comportamiento

no aparece en ningún sistema anterior del protocolo. dQ1421 añade un dianión al 1.0%, con dos sitios ácidos de pK_a suficientemente bajo para estar desprotonados a $\text{pH} = 7.4$. La diversidad de perfiles de este conjunto, neutro dominante, monoanión dominante, catión presente, dianión presente, es la mayor observada en la tesis.⁴⁵

8.4 Reactividad química y capacidad antioxidante

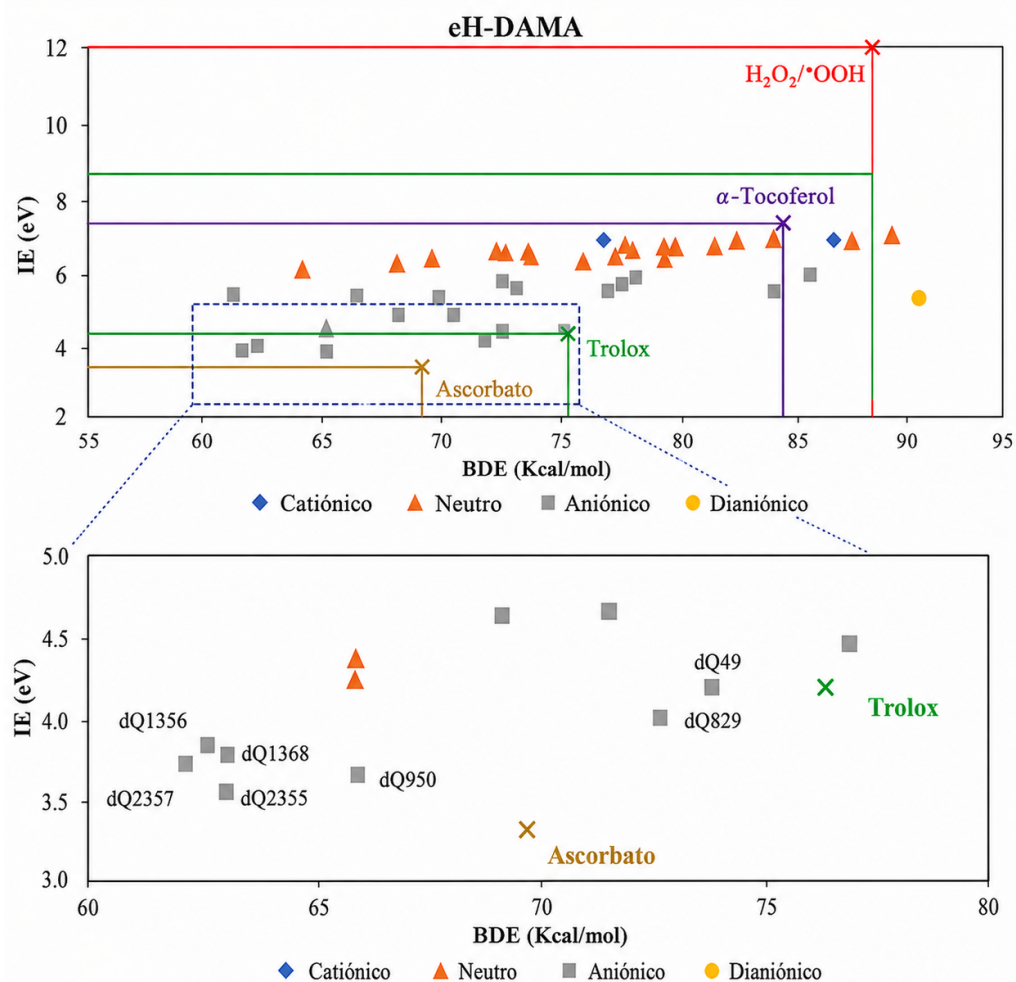


Figura 8.5: Mapa eH-DAMA para los derivados de quinolina y sus especies ácido-base relevantes a $\text{pH} = 7.4$. El eje horizontal corresponde al potencial de ionización (IP, mecanismo SET) y el eje vertical a la BDE del enlace O–H o N–H más débil (mecanismo HAT). La zona azul delimita la región de baja BDE y bajo IP simultáneos. Trolox, ácido ascórbico y α -tocoferol se incluyen como referencias.

El mapa eH-DAMA (Figura 8.5) muestra que casi todos los derivados pueden capturar radicales hidropoxilo y que la mayoría presenta mejor perfil que α -tocoferol por HAT y SET. El contraste con rasagilina es directo: la quinolina nativa (dQ1) ya tiene un perfil redox más favorable que la amina indánica, por la deslocalización π del sistema bicíclico. Los siete candidatos dentro de la zona óptima son dQ49, dQ829, dQ950, dQ1356, dQ1368, dQ2355 y dQ2357; todos

presentan menor BDE que Trolox y valores de IP comparables o inferiores. Los grupos responsables son los $-\text{OH}$ en posición catecólica o en posiciones que permiten deslocalización del radical sobre el anillo quinolínico.⁴⁵

En el capítulo de quinolina se usó el potencial de ionización (IP) calculado por el método ΔSCF en lugar de la electrofilia ω empleada en los sistemas anteriores. El cambio refleja que el marco quinolínico no genera situaciones de región invertida de Marcus de forma generalizada, donde ω sería más apropiada. La coherencia de los resultados con los capítulos anteriores valida ambas aproximaciones como equivalentes en este contexto.⁴⁵

8.5 Actividad neuroprotectora

Los 25 derivados se evaluaron frente a COMT (PDB: 4PYL, tolcapona), MAO-B (PDB: 2V5Z, safinamida) y AChE (PDB: 4EY7, donepezilo), con el mismo protocolo de *AutoDock Vina* que en chalcona y rasagilina. Los RMSD de *redocking* son 1.8, 1.6 y 2.8 Å para los tres complejos de referencia.⁴⁵

Tabla 8.2: Energías libres de unión ponderadas (ΔG_B^W , kcal/mol) y puntaje poligénico (S^P) para los derivados de quinolina más prometedores. Se incluyen la quinolina y los sustratos naturales como referencias.

Ligando	COMT	MAO-B	AChE	S^P
Quinolina (dQ1)	-5.00	-6.90	-3.80	2.85
dQ49	-6.00	-8.34	-8.20	4.18
dQ815	-6.26	-7.91	-9.02	4.11
dQ829	-6.80	-8.41	-8.74	4.44
dQ954	-5.78	-8.16	-8.24	4.11
dQ1368	-5.96	-8.07	-8.24	4.13
dQ2357	-6.29	-8.06	-7.93	4.13
Dopamina (COMT)	-5.40	—	—	—
Feniletilamina (MAO-B)	—	-6.00	—	—
Acetilcolina (AChE)	—	—	-4.90	—

Los derivados listados superan el S^P de los sustratos naturales (3.00), con dQ829 como el mejor global ($S^P = 4.44$). La actividad frente a AChE y MAO-B es alta y consistente en todos; la actividad frente a COMT es heterogénea. dQ829 y dQ2357 muestran las mejores afinidades relativas; otros tienen valores comparables a la dopamina. En los derivados con grupos $-\text{NH}_2$, la contribución frente a COMT es menos favorable.⁴⁵

La explicación SAR para COMT es directa. Los grupos $-\text{NH}_2$ unidos directamente al anillo no tienen la flexibilidad conformacional que le permite al grupo amino de la dopamina, unido a cadena alifática, alcanzar la geometría óptima de coordinación con el Mg^{2+} . Los grupos catecólicos de dQ829 y dQ2357 logran la doble coordinación en modalidad

B, la misma regla SAR identificada en chalcona y pCA, lo que extiende esta relación estructura–actividad a un marco heterocíclico.

Para AChE, los grupos aldehído y éster favorecen el reconocimiento porque pueden participar en contactos polares directos o mediados por agua dentro del sitio activo, mientras que el anillo quinolínico conserva capacidad de apilamiento aromático con Trp86. Esta combinación de carbonilo y sistema aromático explica que varios derivados de quinolina aparezcan entre los candidatos con mejor ΔG_B^W frente a AChE.

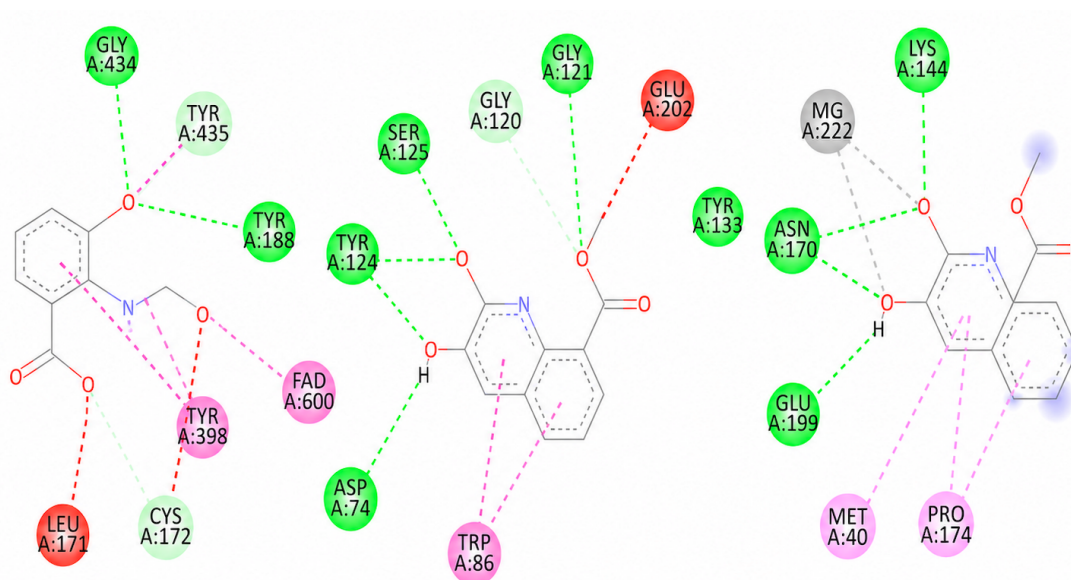


Figura 8.6: Mapa de interacciones en dos dimensiones para los complejos del análogo dQ829 con MAO-B (izquierda), AChE (centro) y COMT (derecha). Las enlaces de hidrógeno se representan en color verde, las C-H no convencionales en verde claro, las interacciones metal–donador en gris, las π – π en rosa y púrpura y los efectos estéricos en rojo.

8.6 Validación por dinámica molecular

8.6.1 Diseño del estudio

El acoplamiento molecular permitió priorizar derivados de quinolina frente a AChE, pero su interpretación está limitada por el tratamiento estático del receptor y por la ausencia de solvente explícito. Por ello, los complejos más relevantes se refinaron mediante simulaciones de dinámica molecular (MD) de 200 ns por sistema. Las simulaciones se realizaron con Desmond, usando el campo de fuerza OPLS_2005, agua explícita TIP4P en una caja ortorrómbica, concentración salina de 0.15 M, 300 K y 1 bar.⁴⁸

Se analizaron 12 trayectorias, equivalentes a 2.4 μ s de simulación acumulada: cinco derivados neutros (dQ815, dQ829, dQ1356, dQ1368 y dQ2357), cuatro especies monodesprotonadas, la quinolina no funcionalizada (dQ1), el sustrato natural acetilcolina (ACh) y el inhibidor de referencia donepezilo. Esta comparación permite evaluar si los

derivados diseñados se comportan más cerca de un sustrato móvil, de un andamio quinolínico no optimizado o de un inhibidor conocido de AChE.

8.6.2 Estabilidad global de AChE y flexibilidad del sitio de unión

El primer criterio de validación fue la estabilidad global de la proteína durante las trayectorias. El RMSD de los átomos del esqueleto de AChE alcanzó una región de equilibrio después de aproximadamente 100 ns en todos los complejos. Los valores promedio reportados para la proteína se ubicaron entre 2.28 ± 0.35 Å para AChE:donepezilo y 2.54 ± 0.38 Å para AChE:dQ1356.⁴⁸ Esto indica que las simulaciones no produjeron pérdida de la organización global de AChE, por lo que las diferencias entre ligandos deben discutirse a partir de su movilidad relativa, sus contactos persistentes y sus energías MM/GBSA.

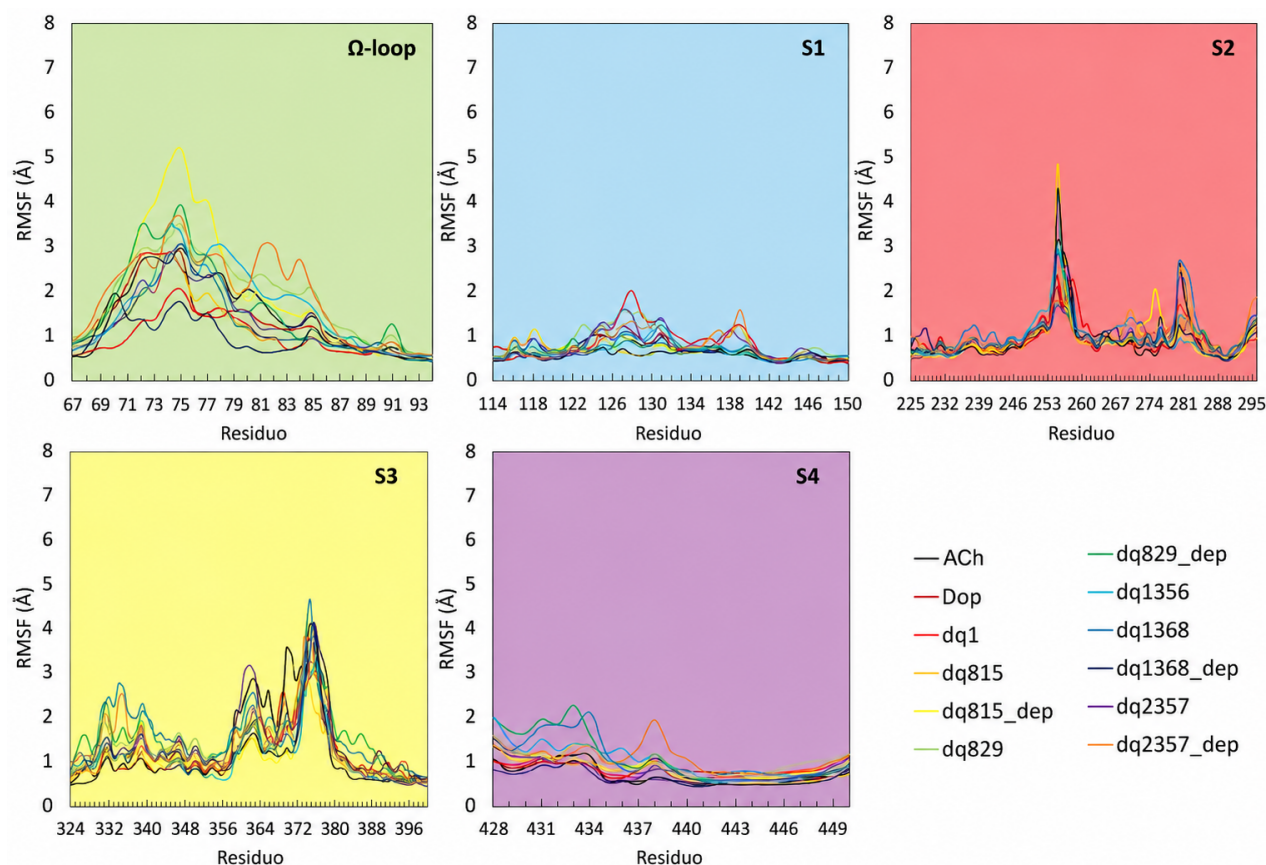


Figura 8.7: Análisis global de AChE durante las simulaciones de dinámica molecular. (a) Evolución del RMSD de los átomos del esqueleto de AChE en presencia de los ligandos evaluados. (b) Subdominios estructurales considerados para el análisis del sitio de unión: Ω -loop, S1, S2, S3 y S4.

El análisis de RMSF mostró que las fluctuaciones más altas se concentraron en regiones asociadas con la entrada y la respiración del sitio activo: la Ω -loop (Ser67–Glu94), el subdominio S2 (Ala225–Arg296) y el subdominio S3 (Leu324–Asp400). En particular, se reportaron fluctuaciones cercanas a 5 Å para Thr75, Val255 y Ala375, mientras

que los subdominios S1 y S4 fueron menos flexibles.⁴⁸ Este resultado es consistente con el comportamiento esperado de AChE, cuyo sitio activo se encuentra enterrado en una cavidad tipo *gorge* y depende de movimientos de apertura y cierre de sus subdominios periféricos.

8.6.3 Referencias internas: ACh, dQ1 y donepezilo

ACh, dQ1 y donepezilo se usaron como referencias internas para interpretar la escala de movilidad y afinidad de los derivados. ACh y dQ1 presentaron energías MM/GBSA muy similares: -29.8 ± 5.0 y -29.5 ± 5.0 kcal mol⁻¹, respectivamente. En contraste, donepezilo presentó una energía considerablemente más favorable, -68.7 ± 8.1 kcal mol⁻¹.⁴⁸ Por tanto, ACh y dQ1 definen una referencia de unión débil o moderada, mientras que donepezilo representa el límite superior de estabilización para los complejos evaluados.

La dinámica también separó a estas referencias por movilidad. Donepezilo se desplazó aproximadamente 4 Å respecto a la pose inicial, mientras que ACh se desplazó aproximadamente 9 Å. A pesar de esa mayor movilidad, ACh conservó distancias productivas respecto a la Ser203 catalítica, con máximos de RDF en el intervalo 4.55–5.30 Å. Para donepezilo, los máximos de RDF frente a Ser203 se ubicaron en 4.65–5.25 Å.⁴⁸ Así, la comparación de referencias muestra que la evaluación de AChE no debe basarse únicamente en la cercanía geométrica al sitio catalítico, sino en la combinación de proximidad, contactos y energía de unión.

8.6.4 Derivados neutros de quinolina

Los derivados neutros mostraron energías MM/GBSA más favorables que ACh y dQ1, aunque ninguno alcanzó la estabilización energética de donepezilo. La Tabla 8.3 resume los valores más relevantes para comparar el comportamiento de los complejos.

Los derivados 2,3-dihidroxis dQ815 y dQ829 fueron favorecidos por el *docking*, con ΔG_{dock} de -9.02 ± 0.4 y -8.74 ± 0.4 kcal mol⁻¹, respectivamente. Sin embargo, durante las trayectorias se acomodaron aproximadamente 15 y 22 Å respecto a sus poses iniciales. En particular, dQ829 conservó una energía MM/GBSA favorable (-41.0 ± 6.8 kcal mol⁻¹), pero su modo de unión no puede describirse como una conservación directa de la pose de *docking*. Este resultado muestra por qué la MD es necesaria como refinamiento: permite distinguir entre una puntuación estática favorable y una pose que permanece estructuralmente coherente durante la trayectoria.

dQ2357, derivado 5,6-dihidroxis, presentó una energía MM/GBSA de -40.6 ± 4.3 kcal mol⁻¹ y un desplazamiento aproximado de 5 Å. A diferencia de dQ829, la estructura más poblada conservó mayor cercanía con la pose inicial. En este complejo se describieron enlaces de hidrógeno mediados por agua con Trp86 y Ala127, además de contactos mediados por solvente con His447 a través del grupo éster y del nitrógeno quinolínico.⁴⁸

Tabla 8.3: Resultados principales de dinámica molecular para los complejos AChE:ligando. Las energías se reportan en kcal mol^{-1} y los desplazamientos corresponden a la comparación entre la pose inicial de *docking* y la estructura más poblada de la trayectoria.

Sistema	ΔG_{dock}	$\Delta E_{\text{MM/GBSA}}$	Desplazamiento aprox.	Lectura estructural y energética
ACh	-4.9 ± 0.4	-29.8 ± 5.0	$\sim 9 \text{ \AA}$	Sustrato natural; conserva proximidad a Ser203, pero presenta mayor movilidad que donepezilo.
dQ1	-3.9 ± 0.4	-29.5 ± 5.0	n.r.	Quinolina no funcionalizada; comportamiento energético comparable al de ACh.
Donepezilo	-12.6 ± 0.4	-68.7 ± 8.1	$\sim 4 \text{ \AA}$	Inhibidor de referencia; define la mayor estabilización del conjunto comparativo.
dQ815	-9.02 ± 0.4	-32.8 ± 8.0	$\sim 15 \text{ \AA}$	Alta puntuación de <i>docking</i> , pero con reacomodo amplio durante la trayectoria.
dQ829	-8.74 ± 0.4	-41.0 ± 6.8	$\sim 22 \text{ \AA}$	Energía MM/GBSA favorable, acompañada de reacomodo amplio respecto a la pose inicial.
dQ2357	n.r.	-40.6 ± 4.3	$\sim 5 \text{ \AA}$	Afinidad favorable y menor reacomodo que los derivados 2,3-dihidroxiados.
dQ1356	n.r.	-43.1 ± 5.9	$\sim 6 \text{ \AA}$	Afinidad favorable; el complejo se asocia principalmente con la Ω -loop.
dQ1368	n.r.	-46.6 ± 4.7	$\sim 4 \text{ \AA}$	Energía MM/GBSA más favorable entre los derivados neutros evaluados.

Los derivados 3,4-dihidroxiados fueron los más favorables dentro de la serie neutra. dQ1356 presentó $\Delta E_{\text{MM/GBSA}} = -43.1 \pm 5.9 \text{ kcal mol}^{-1}$ y un desplazamiento aproximado de $6 \text{ \AA}$. Su patrón de unión se asoció principalmente con la Ω -loop, mediante contactos con Trp86 y Asp74. dQ1368 presentó el resultado más favorable de la serie, con $\Delta E_{\text{MM/GBSA}} = -46.6 \pm 4.7 \text{ kcal mol}^{-1}$ y un desplazamiento aproximado de $4 \text{ \AA}$.⁴⁸

En dQ1368, el análisis de contactos mostró apilamiento π - π con Trp86, un enlace de hidrógeno mediado por agua entre el grupo hidroxilo en C4 y Gly122, contactos del grupo éster con Tyr337 y enlaces de hidrógeno mediados por agua entre los grupos hidroxilo C3/C4 y Glu202. Además, el análisis RDF indicó proximidad a la Ser203 catalítica.⁴⁸ Por tanto, dQ1368 se prioriza para AChE no por una calificación visual de su superposición estructural, sino por la combinación de energía MM/GBSA, desplazamiento respecto a la pose inicial y red de contactos durante la trayectoria.

8.6.5 Especies aniónicas y efecto de la protonación

Las especies monodesprotonadas mostraron energías MM/GBSA menos favorables que sus formas neutras. Los valores reportados fueron $-10.1 \pm 7.3 \text{ kcal mol}^{-1}$ para dQ815_dep, $-15.0 \pm 6.5 \text{ kcal mol}^{-1}$ para dQ829_dep, $-31.5 \pm 6.5 \text{ kcal mol}^{-1}$ para dQ1368_dep y $-12.7 \pm 7.7 \text{ kcal mol}^{-1}$ para dQ2357_dep.⁴⁸ Estos valores indican que la desprotonación, aunque puede favorecer propiedades antioxidantes por transferencia electrónica, no favorece necesariamente la unión a AChE. La presencia de carga negativa puede penalizar la contribución electrostática en una cavidad con residuos ácidos y con un reconocimiento dominado por contactos aromáticos, enlaces de hidrógeno mediados por agua y acomodación dentro del *gorge*.

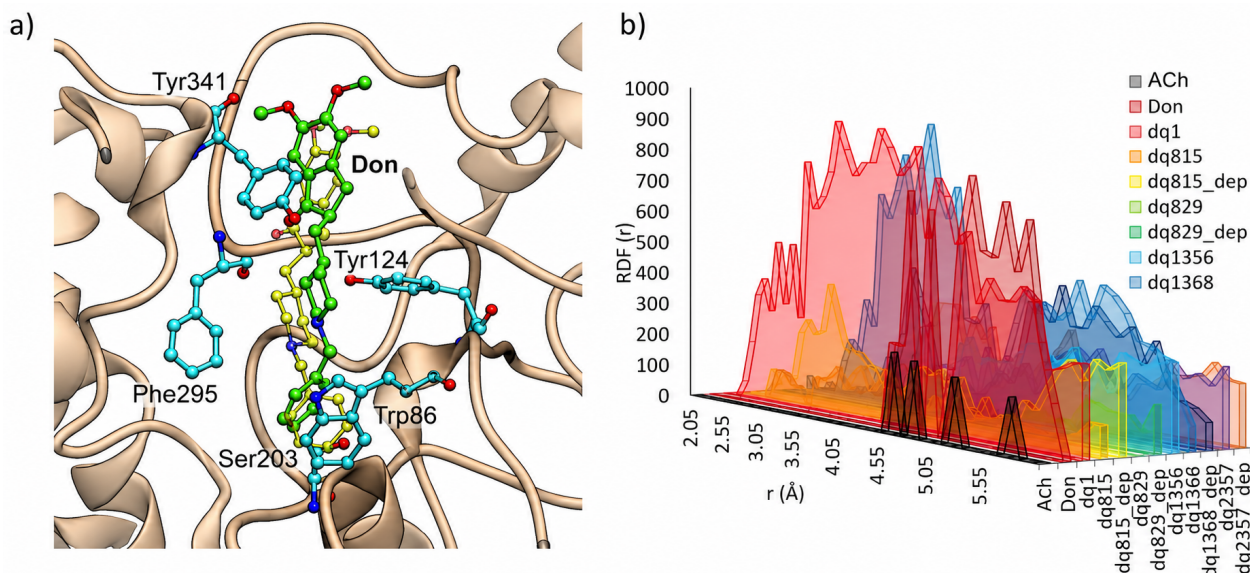


Figura 8.8: Análisis de contactos y energías para los complejos AChE:ligando. (a) Contactos observados entre los ligandos y los subdominios Ω -loop, S1, S2, S3 y S4; se incluyen interacciones presentes durante más del 30% de la trayectoria. (b) Relación entre las energías de unión obtenidas por acoplamiento molecular y las energías MM/GBSA calculadas a partir de las trayectorias.

8.6.6 Relación entre acoplamiento molecular y MM/GBSA

La relación entre las energías de acoplamiento molecular y las energías MM/GBSA mostró una correlación lineal alta, con $R^2 = 0.9761$ para el conjunto analizado.⁴⁸ Este resultado respalda el uso de CADMA-Chem como filtro de priorización para AChE, pero no implica que todas las poses de *docking* se conserven durante la dinámica. Los casos de dQ815 y dQ829 muestran que una puntuación inicial favorable puede acompañarse de reacomodos amplios en solvente explícito. Por ello, el acoplamiento molecular debe interpretarse como una etapa de cribado, mientras que la MD permite refinar los candidatos mediante movilidad, contactos persistentes y energías MM/GBSA.

8.6.7 Rutas retrosintéticas

Las rutas retrosintéticas de los cinco derivados neutros se estimaron con IBM RXN for Chemistry. Las rutas propuestas contienen entre dos y cinco etapas, parten de materiales disponibles comercialmente y emplean transformaciones comunes en síntesis orgánica, incluyendo oxidación de Riley, formilación, esterificación de Fischer, reducción de alcoholes, síntesis de éteres de Williamson, acilación de Friedel–Crafts y metátesis de olefinas.⁴⁸

Los puntajes de confianza sintética (SC) y accesibilidad sintética (SA) fueron: dQ815 (SC = 0.78, SA = 81.38), dQ829 (SC = 0.53, SA = 79.60), dQ1356 (SC = 0.56, SA = 81.18), dQ1368 (SC = 0.48, SA = 80.04) y dQ2357 (SC = 0.58, SA = 81.01). En este contexto, dQ1368 no debe describirse como la ruta de mayor confianza, sino como una ruta plausible de confianza media, con accesibilidad sintética comparable a la de los otros derivados evaluados.

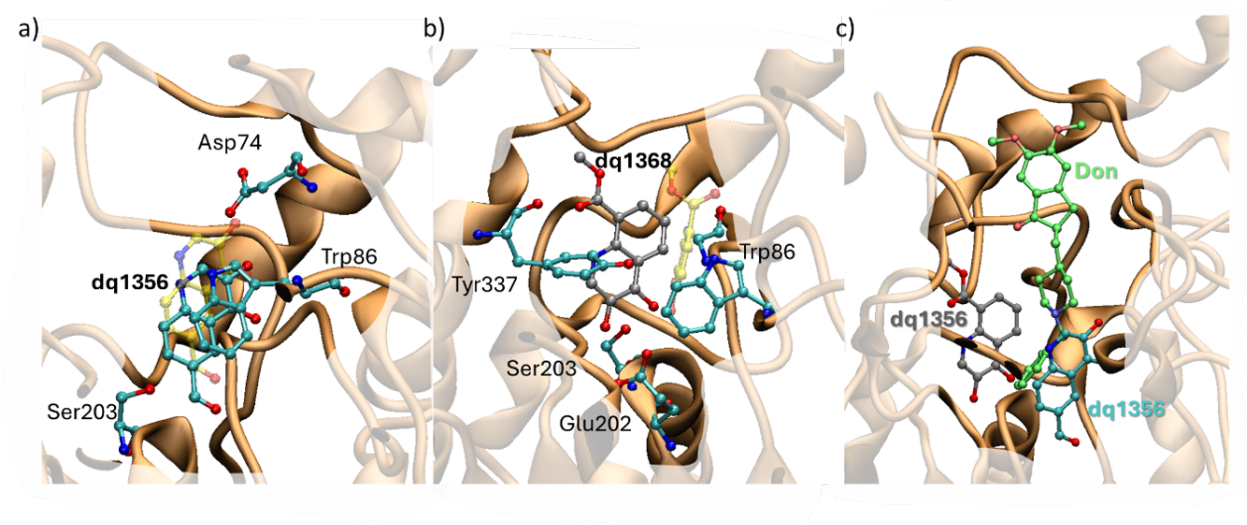


Figura 8.9: Superposición de la pose inicial de *docking* con la estructura más poblada obtenida por dinámica molecular para los complejos AChE:dQ1356 y AChE:dQ1368. La pose inicial se muestra con carbonos en amarillo. Las estructuras más pobladas se muestran con carbonos en cian para dQ1356 y en plata para dQ1368. (a) AChE:dQ1356. (b) AChE:dQ1368. (c) Superposición de las estructuras más pobladas de AChE:donepezilo, AChE:dQ1356 y AChE:dQ1368; donepezilo se muestra con carbonos en verde.

8.7 Candidatos finales y relaciones estructura-actividad

Los cuatro candidatos finales son dQ829, dQ1368, dQ49 y dQ2357. Todos presentan propiedades favorables dentro de alguna dimensión central del protocolo: perfil multidiana, actividad antioxidante, viabilidad fisicoquímica o refinamiento dinámico en AChE.

dQ829 (2,3-dihidroxil-quinolina-8-carboxilato de metilo) conserva el mejor S^P global (4.44). El catecol en posiciones 2,3 favorece la coordinación con Mg^{2+} en COMT, el sistema aromático sostiene contactos con FAD en MAO-B y el éster en C8 contribuye al reconocimiento en AChE. Sin embargo, la MD muestra que su pose en AChE se reacomoda ampliamente respecto al *docking* (~ 22 Å). Por ello, dQ829 debe presentarse como candidato prioritario multidiana, no como el mejor candidato específico para AChE.

dQ1368 (3,4-dihidroxil-quinolina-8-carboxilato de metilo) es el candidato prioritario para AChE después del refinamiento por MD. Entre los derivados neutros evaluados, tuvo la energía MM/GBSA más favorable (-46.6 ± 4.7 kcal mol $^{-1}$) y un desplazamiento aproximado de 4 Å respecto a la pose inicial. Su patrón de unión incluye contactos con Trp86, Gly122, Tyr337 y Glu202, varios de ellos mediados por agua, además de proximidad a la Ser203 catalítica. Así, dQ1368 ilustra el valor del refinamiento por MD: no reemplaza al *docking*, pero permite distinguir candidatos cuya pose permanece más coherente dentro del sitio activo.

dQ49 tiene la BDE más baja del conjunto, por lo que representa el candidato más relevante desde el punto de vista HAT. dQ2357 muestra un perfil equilibrado entre reactividad antioxidante y afinidad enzimática, y en AChE presenta una energía MM/GBSA favorable (-40.6 ± 4.3 kcal mol $^{-1}$) con menor reacomodo que los derivados 2,3-dihidroxilados.

Los resultados de quinolina añaden dos reglas SAR al conjunto de la tesis. Primero, los grupos carbonílicos $-\text{CHO}$ y $-\text{COOCH}_3$ pueden favorecer el reconocimiento en AChE cuando se combinan con un sistema aromático capaz de establecer contactos $\pi-\pi$ con Trp86. Segundo, la posición del catecol modifica de forma marcada el comportamiento dinámico: el motivo 2,3 favorece el perfil multidiana de dQ829, mientras que el motivo 3,4 en dQ1368 mejora la persistencia estructural y la energía MM/GBSA en AChE. La correlación entre *docking* y MM/GBSA ($R^2 = 0.9761$) respalda el uso de CADMA-Chem como filtro inicial, pero la MD sigue siendo necesaria para refinar los candidatos más prometedores.

8.8 Conclusiones

El protocolo CADMA-Chem exploró 8 536 derivados de quinolina con siete sitios de sustitución y seis tipos de grupos funcionales. El filtrado S^S/S^E redujo ese espacio a 25 candidatos. A diferencia de sistemas más pequeños, la quinolina permitió integrar variaciones amplias de especiación ácido-base, reactividad antioxidante y reconocimiento multidiana.

La especiación ácido-base produjo la mayor heterogeneidad de perfiles del protocolo, incluyendo fracciones neutras, aniónicas y catiónicas. El mapa eH-DAMA identificó siete derivados con baja IE y baja BDE simultáneas, con desempeño favorable frente a las referencias antioxidantes consideradas. El *docking* frente a tres dianas señaló al catecol como determinante SAR para COMT en un sistema heterocíclico, y a los grupos carbonílicos como elementos favorables para el reconocimiento en AChE.

Las simulaciones de MD no deben interpretarse como una simple confirmación visual de las poses de *docking*. Su contribución principal fue cuantitativa: la proteína alcanzó equilibrio estructural después de aproximadamente 100 ns, los derivados neutros mostraron energías MM/GBSA más favorables que ACh y dQ1, y dQ1368 fue el candidato más favorable para AChE entre las quinolinas evaluadas ($\Delta E_{\text{MM/GBSA}} = -46.6 \pm 4.7 \text{ kcal mol}^{-1}$). La correlación entre *docking* y MM/GBSA ($R^2 = 0.9761$) respalda el uso de CADMA-Chem como filtro de priorización, pero no elimina la necesidad de MD para analizar movilidad, contactos persistentes y efectos de solvente.

Con base en el análisis integrado, dQ829 queda como candidato prioritario *multitarget*; dQ1368, como candidato prioritario para inhibición de AChE; dQ49, como candidato con mejor perfil HAT; y dQ2357, como candidato equilibrado entre reactividad antioxidante y reconocimiento enzimático.



Article

Quinoline Derivatives: Promising Antioxidants with Neuroprotective Potential

Luis Felipe Hernández-Ayala, Eduardo Gabriel Guzmán-López and Annia Galano *

Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Col. Leyes de Reforma 1A Sección, Alcaldía Iztapalapa, México City 09310, Mexico; hdz.ayala@quimica.unam.mx (L.F.H.-A.); egg1@ciencias.unam.mx (E.G.G.-L.)

* Correspondence: agal@xanum.uam.mx

Abstract: Quinoline has been proposed as a privileged molecular framework in medicinal chemistry. Although by itself it has very few applications, its derivatives have diverse biological activities. In this work, 8536 quinoline derivatives, strategically designed using the CADMA-Chem protocol, are presented. This large chemical space was sampled, analyzed and reduced using selection and elimination scores that combine their properties of bioavailability, toxicity and manufacturability. After applying several filters, 25 derivatives were selected to investigate their acid–base, antioxidant and neuroprotective properties. The antioxidant activity was predicted based on the ionization potential and bond dissociation energies, parameters directly related to the transfer of hydrogen atoms and of a single electron, respectively. These two mechanisms are typically involved in the radical scavenging processes. The antioxidant efficiency was compared with reference compounds, and the most promising antioxidants were found to be more efficient than Trolox but less efficient than ascorbate. In addition, based on molecular docking simulations, some derivatives are expected to act as inhibitors of catechol-O methyltransferase (COMT), acetylcholinesterase (AChE) and monoamine oxidase type B (MAO-B) enzymes. Some structural insights about the compounds were found to enhance or decrease the neuroprotection activity. Based on the results, four quinoline derivatives are proposed as candidates to act as multifunctional antioxidants against Alzheimer’s (AD) and Parkinson’s (PD) diseases.



Citation: Hernández-Ayala, L.F.; Guzmán-López, E.G.; Galano, A. Quinoline Derivatives: Promising Antioxidants with Neuroprotective Potential. *Antioxidants* **2023**, *12*, 1853. <https://doi.org/10.3390/antiox12101853>

Academic Editor: Miguel Ángel Prieto Lage

Received: 22 September 2023

Revised: 9 October 2023

Accepted: 10 October 2023

Published: 12 October 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Keywords: rational design; quinoline derivatives; antioxidants; neuroprotection; Alzheimer and Parkinson diseases

1. Introduction

Under oxidative stress (OS) conditions, there is an excess of pro-oxidants that cannot be counteracted by the antioxidant systems [1]. This triggers a state of chronic OS where cellular metabolism increases the production of free radicals in general and reactive oxygen species (ROS) in particular [2–5]. The brain consumes large amounts of oxygen to carry out its physiological functions, which promotes the production of free radicals. Some factors make the brain susceptible to ROS attack. For example, the lack of antioxidant mechanisms, its particularly rich fatty acid composition [6], and the low permeability of the blood–brain barrier [7–9], which reduces the passage of many antioxidants such as vitamin E. Consequently, OS has been associated with neurodegenerative diseases such as Alzheimer’s (AD) and Parkinson’s (PD) diseases, among others [10,11]. OS has been observed in these diseases, even at early stages, indicating that ROS and other free radicals could be related to their etiology [12,13].

Several lines of research have implicated OS and free radical damage in the origin and pathogenesis of AD [12,14–17]. This damage includes energy metabolism and over-compensation of antioxidant enzymes [17]. Despite the extensive literature regarding OS in AD, the causes of the increased free radical amounts that initiate such damage remain unclear. However, some candidates could be: activated microglia [18], β -amyloid

Evaluating Quinolines: Molecular Dynamics Approach to Assess Their Potential as Acetylcholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease.

Mario Prejanò^{+, [a]} Isabella Romeo^{+, [b]} Luis Felipe Hernández-Ayala,^[c, d]
 Eduardo Gabriel Guzmán-López^{+, [c]} Stefano Alcaro,^[b] Annia Galano,^{*, [c]} and Tiziana Marino^{*, [a]}

Quinoline represents a promising scaffold for developing potential drugs because of the wide range of biological and pharmacological activities that it exhibits. In the present study, quinoline derivatives obtained from CADMA-Chem docking protocol were investigated in the mean of molecular dynamics simulations as potential inhibitors of acetylcholinesterase enzyme. The examined species can be partitioned between neutral, **dq815** (2,3 dihydroxyl-quinoline-4-carbaldehyde), **dq829** (2,3 dihydroxyl-quinoline-8-carboxylic acid methane ester), **dq1356** (3,4 dihydroxyl-quinoline-6-carbaldehyde), **dq1368** (3,4 dihydroxyl-quinoline-8-carboxylic acid methane ester) and **dq2357** (5,6 dihydroxyl-quinoline-8-carboxylic acid

methane ester), and deprotonated, **dq815_dep**, **dq829_dep**, **dq1356_dep** and **dq2357_dep**. Twelve molecular dynamics simulations were performed including those of natural acetylcholine, of the well-known donepezil inhibitor and of the founder quinoline chosen as reference. Key intermolecular interactions were detected and discussed to describe the different dynamic behavior of all the considered species. Binding energies calculation from MMPBSA well accounts for the dynamic behavior observed in the simulation time proposing **dq1368** as promising candidate for the inhibition of acetylcholinesterase. Retrosynthetic route for the production of the investigated compounds is also proposed.

Introduction

Alzheimer disease (AD) is the most common form of dementia among the senior population causing cognition detriment and conduct disorders.^[1] It is estimated that every three seconds someone in the world develops some type of dementia, currently, about 40 million people suffer from this disorder, with 7 million new cases reported each year. It is the seventh leading cause of death worldwide and one of the primary contributors of disability and dependency in older adults.^[2–4]

Women are more affected by this disease, both directly and indirectly. They have a higher life expectancy, allowing them to live longer with dementia, and they also provide the majority of patient care, accounting for just over 70%.^[5] In 2019, AD cost to the global economy \$1.3 trillion, about half of these are attributable to patient care, which requires an average of 5 hours of care and supervision per day.^[6]

AD is manifested by the loss of memory and other mental abilities. Two pathological hallmarks of Alzheimer's disease are the deposits of extracellular beta-amyloid and intracellular neurofibrillary tangles. β -amyloid plaques and neurofibrillary tangles lead to synapse loss and neuronal death, causing macroscopic atrophy of the affected areas of the brain, usually from the mesial temporal lobe.^[7] The mechanism by which β -amyloid peptide and neurofibrillary tangles cause such damage is not yet fully understood. Another typical indicator in patients with AD is the decrease in various neurotransmitters, with acetylcholine (ACh) being the most important. ACh deficiency has also been observed in patients with Parkinson's and other dementias. The symptoms of any dementia are due to this cholinergic deficit, which results in neurotransmission failure and degeneration of neuronal circuits.^[8–10] Finally, another feature of the disease is the increased oxidative stress in the neurons, caused by high levels of oxidizing species and by the accumulation of metals such as copper and iron.^[11–14] In short, AD is considered a multifactorial disease.

Among the therapeutic options available to patients with AD, the drugs that can act as N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) antagonists, such as Memantine,^[15–17] and novel immunotherapeutic ones such as Aducanumab and Lecanemab^[18–20] represent two novel options to restore (in some degree at least)

[a] M. Prejanò, * T. Marino

Dipartimento di Chimica e Tecnologie Chimiche, Università della Calabria, 87036 Arcavacata di Rende, Italy
 E-mail: tiziana.marino65@unical.it

[b] I. Romeo, * S. Alcaro

Dipartimento di Scienze della Salute and Net4Science Academic Spin-Off, Università degli Studi "Magna Græcia" di Catanzaro, 88100 Catanzaro, Italy

[c] L. Felipe Hernández-Ayala, E. Gabriel Guzmán-López, * A. Galano

Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Col. Leyes de Reforma 1 A Sección, Alcaldía Iztapalapa, Mexico City 09310, Mexico
 E-mail: agal@xanum.uam.mx

[d] L. Felipe Hernández-Ayala

Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías, Ciudad de México 03940, México

[†] These authors equally contributed.

 Supporting information for this article is available on the WWW under <https://doi.org/10.1002/cphc.202400653>

 © 2024 The Authors. ChemPhysChem published by Wiley-VCH GmbH. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial NoDerivs License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

Conclusiones

El objetivo central de esta tesis fue desarrollar y aplicar una metodología computacional para el diseño racional de antioxidantes multifuncionales a partir de estructuras farmacológicamente activas. El resultado principal de este trabajo es el protocolo CADMA-Chem, entendido no solo como una secuencia de cálculos, sino como una estrategia de decisión multiobjetivo que integra criterios de propiedades farmacocinéticas, toxicidad, accesibilidad sintética, reactividad antioxidante y reconocimiento molecular.

La aplicación del protocolo a siete andamios estructurales —melatonina, edaravona, ácido ferúlico, ácido *p*-cumárico, chalcona, rasagilina y quinolina— permitió explorar un espacio químico amplio y químicamente diverso. A partir de más de 20 000 derivados generados, el flujo de trabajo permitió reducir progresivamente la biblioteca hasta un subconjunto de candidatos priorizados, de los cuales 15 fueron propuestos para síntesis y tres han sido sintetizados a la fecha de presentación de esta tesis. Este proceso demuestra que CADMA-Chem funciona como una herramienta de concentración del esfuerzo experimental: no sustituye la validación en laboratorio, pero sí ordena el espacio químico y permite seleccionar candidatos con un fundamento fisicoquímico y farmacológico explícito.

Confirmación de la hipótesis

La hipótesis de trabajo planteó que era posible desarrollar una metodología computacional confiable para modificar moléculas bioactivas, incorporarles propiedades antioxidantes, preservar los rasgos asociados a su actividad farmacológica original y generar candidatos con potencial terapéutico multifuncional. Con base en los resultados obtenidos, esta hipótesis se considera sustentada dentro del alcance *in silico* de la tesis.

La confirmación no debe interpretarse como validación clínica ni como demostración experimental de eficacia terapéutica. Su significado es más preciso: los casos de estudio muestran que una estrategia de modificación estructural conservadora, guiada por criterios computacionales, puede producir derivados que mantienen el andamio farmacológico de partida y, simultáneamente, incorporan funciones químicas asociadas con actividad antioxidante, coordinación metálica, reparación de biomoléculas oxidadas o reconocimiento de dianas terapéuticas. Este comportamiento se observó de manera consistente en familias químicas distintas, lo que respalda la generalidad operativa del protocolo.

La hipótesis también queda apoyada por la integración de criterios que en principio podrían competir entre sí. La lipofilicidad necesaria para favorecer el acceso al sistema nervioso central, la polaridad requerida para algunas interacciones enzimáticas o procesos de quelación, la estabilidad ácido–base, la baja toxicidad estimada y la accesibilidad sintética no se optimizan de forma independiente. CADMA-Chem permitió identificar candidatos ubicados en la intersección de estos criterios, evitando que la selección dependiera de una sola propiedad favorable a costa de deteriorar las demás.

Por tanto, la contribución central de la tesis no es afirmar que un candidato específico sea ya un fármaco, sino demostrar que el diseño de candidatos antioxidantes multifuncionales puede formalizarse como un problema de optimización química multiobjetivo. En ese sentido, la hipótesis se confirma como una hipótesis metodológica: el protocolo desarrollado permite generar, filtrar y jerarquizar estructuras con un perfil multifuncional coherente y defendible.

Cumplimiento de los objetivos

El objetivo general se cumplió mediante el desarrollo de una metodología *in silico* para el diseño de fármacos multifuncionales basada en la modificación sistemática de moléculas bioactivas. La metodología conserva el marco estructural principal de los compuestos de partida, incorpora sustituyentes con función química definida y evalúa de manera secuencial propiedades fisicoquímicas, toxicológicas, sintéticas, antioxidantes y de interacción con dianas terapéuticas.

Respecto al primer objetivo específico, se establecieron criterios cuantitativos de filtrado mediante la construcción de un conjunto de referencia de fármacos orales empleados en enfermedades neurodegenerativas. A partir de este conjunto se definieron intervalos de aceptabilidad, criterios de advertencia, apagadores de eliminación y puntajes de selección que permiten comparar candidatos diseñados contra moléculas farmacológicamente relevantes.

El segundo objetivo se cumplió al identificar combinaciones de grupos funcionales y motivos estructurales capaces de mejorar el balance entre propiedades farmacocinéticas, seguridad toxicológica estimada, accesibilidad sintética y reactividad antioxidante. En los distintos sistemas estudiados, los resultados muestran que grupos como hidroxilos fenólicos, catecoles, tioles, carboxilatos, aminas y sistemas aromáticos extendidos pueden modificar de forma significativa los descriptores de reactividad y reconocimiento molecular. Su utilidad, sin embargo, depende del andamio, de la posición de sustitución y de la especiación ácido–base a pH fisiológico; por ello, el protocolo no propone reglas universales de sustitución, sino criterios de evaluación dependientes del contexto químico.

El tercer objetivo se cumplió mediante la evaluación de candidatos frente a dianas terapéuticas relevantes, principalmente COMT, MAO-B y AChE, usando acoplamiento molecular y, en casos seleccionados, refinamiento mediante

dinámica molecular. Estos cálculos permitieron priorizar complejos con interacciones ligando–proteína consistentes con los sitios activos de cada enzima, identificar candidatos con comportamiento multidiana y distinguir casos en los que la afinidad aparente del *docking* requería análisis dinámico adicional.

El cuarto objetivo se cumplió con la identificación de candidatos líderes en las familias estructurales estudiadas. La selección final no se basó en un único criterio, sino en la convergencia de propiedades: perfil farmacocinético y toxicológico aceptable, accesibilidad sintética razonable, reactividad antioxidante favorable, especiación compatible con pH fisiológico e interacción con dianas terapéuticas. Esta convergencia permitió proponer candidatos para validación experimental y, en algunos casos, avanzar hacia su síntesis.

Alcance de la contribución metodológica

Una parte esencial de este trabajo fue convertir criterios que inicialmente se aplicaban de forma dispersa en una metodología integrada. La construcción del conjunto de referencia, la definición de los puntajes S^S , S^E y S_P , la separación entre criterios de selección y criterios de eliminación, la implementación de diagramas eH-DAMA y la incorporación de las dimensiones AOX-I, AOX-II, AOX-III y multidiana constituyen el núcleo metodológico de CADMA-Chem.

El protocolo demostró que la evaluación antioxidante no puede reducirse a una sola dimensión. La depuración directa de radicales libres, la inhibición de la producción de radical hidroxilo mediada por metales y la reparación de blancos biológicos oxidados describen aspectos diferentes de la actividad antioxidante. Integrarlas dentro de un mismo flujo de trabajo permite distinguir candidatos que solo son prometedores por un mecanismo de aquellos que presentan un perfil antioxidante más amplio.

También se mostró que la evaluación multidiana debe tratarse como una capa adicional y no como sustituto de las demás. Una buena energía de acoplamiento no compensa por sí sola un perfil toxicológico desfavorable, una especiación inadecuada o una reactividad antioxidante pobre. De la misma forma, un buen mapa eH-DAMA no garantiza interacción efectiva con una diana terapéutica. La fuerza de CADMA-Chem reside precisamente en evitar estas decisiones unidimensionales.

Limitaciones

Las conclusiones anteriores deben leerse dentro de las limitaciones propias del enfoque computacional. La primera limitación es la dependencia de modelos de predicción, en particular para pK_a , toxicidad, accesibilidad sintética y

afinidad de unión. Estos modelos son útiles para jerarquizar candidatos, pero su incertidumbre aumenta cuando las estructuras se alejan del dominio químico para el que fueron parametrizados o entrenados.

La especiación ácido–base es especialmente crítica porque afecta fracciones molares, estados de carga, descriptores de reactividad y energías de acoplamiento ponderadas. En derivados con múltiples grupos ionizables, la predicción de pK_a puede modificar de manera sustancial la interpretación del perfil farmacológico. Por ello, la mejora de este módulo representa una de las vías más importantes para fortalecer el protocolo.

La segunda limitación es la ausencia de un módulo explícito de metabolismo. Los candidatos se evaluaron como estructuras químicas definidas, pero en condiciones biológicas pueden sufrir oxidación, reducción, hidrólisis, conjugación o bioactivación. La incorporación de predicciones metabólicas, en particular procesos de fase I y fase II, podría modificar la jerarquización final de candidatos y debe considerarse en versiones posteriores del protocolo.

La tercera limitación corresponde a la validación experimental. Aunque algunos candidatos ya han sido sintetizados, la actividad antioxidante, la selectividad enzimática, la toxicidad celular y la estabilidad metabólica requieren evaluación experimental sistemática. En consecuencia, CADMA-Chem debe entenderse como un protocolo de priorización racional, no como una prueba definitiva de eficacia biológica.

Cierre

En conjunto, esta tesis muestra que el diseño racional de antioxidantes multifuncionales puede abordarse mediante una estrategia computacional estructurada, reproducible y químicamente interpretable. La principal aportación no es únicamente la identificación de moléculas candidatas, sino la formalización de un protocolo capaz de generar, filtrar, comparar y priorizar derivados bajo criterios homogéneos.

CADMA-Chem queda así establecido como una plataforma metodológica para explorar el espacio químico de moléculas bioactivas modificadas. Su valor reside en que hace explícitos los supuestos de diseño, ordena la toma de decisiones, permite comparar familias químicas distintas y señala con claridad qué candidatos merecen pasar a etapas experimentales. Bajo este marco, la hipótesis de la tesis queda sustentada y los objetivos planteados se consideran cumplidos dentro del alcance computacional definido para este trabajo.

Perspectivas

Considero que existen varias líneas de investigación derivadas de este trabajo y se orientan a la consolidación del protocolo CADMA-Chem como una herramienta predictiva. Cada uno de los siguientes puntos representa una fase de expansión metodológica o experimental con potencial de publicación independiente:

- i) *Evaluación de la competencia cinética frente al oxígeno molecular (O_2):* Respecto a la AOX-III se debe modelar la rivalidad entre el antioxidante y el O_2 por sustratos radicalarios. Dado que la oxigenación de radicales centrados en carbono ocurre a velocidades cercanas al límite de difusión, se planea determinar si las constantes de reparación (k_{repair}) de los candidatos son competitivas en entornos normóxicos (concentraciones fisiológicas normales de O_2) para prevenir la formación de radicales peroxilo.
- ii) *Efectos de entorno mediante cálculos híbridos y dinámica molecular:* Se propone transitar hacia metodologías ONIOM y/o estudios de dinámica molecular para validar las interacciones predichas en el *docking*. Este enfoque permitirá refinar las energías de unión bajo condiciones de solvatación explícita y flexibilidad conformacional del receptor, superando las limitaciones del modelo estático.
- iii) *Protocolo QM-ORSA aplicado a familias de antioxidantes reportados:* Se proyecta la aplicación sistemática para determinar la cinética de las familias de compuestos ya estudiadas (edaravona, rasagilina, quinolinas y derivados de ácidos cinámicos). El objetivo es generar una base de datos comparativa sobre su eficacia en los mecanismos AOX-I, II y III bajo un mismo nivel de teoría.
- iv) *Modelado farmacofórico para la optimización de la selectividad enzimática:* Se plantea construir modelos farmacofóricos detallados para AChE, MAO-B, COMT, XO, SOD y PPAR γ . Esta línea busca identificar las regiones estructurales críticas que gobiernan la especificidad, permitiendo el diseño de derivados con afinidad multiobjetivo optimizada.
- v) *Predictores informacionales y topológicos de reactividad:* Se explorará el desarrollo de un índice antioxidante basado en la teoría de la información y potenciales escalares. Esta herramienta busca predecir tendencias en las

constantes de velocidad de forma ágil, facilitando el escrutinio de grandes bibliotecas de compuestos sin el costo computacional de la cinética de transición.

- vi) *Inclusión de inteligencia artificial*: Se propone el uso de herramientas de *machine learning* para hacer mejores estimaciones de las constantes de disociación ácidas (pK_a) y para ajustar los pesos relativos del puntaje global S^S y multidiana S^P . Este enfoque podría permitir establecer correlaciones complejas entre descriptores fisicoquímicos, estructurales y/o de toxicidad.
- vii) *Diseño de fármacos para el síndrome de Rett*: Se finalizará la publicación sobre el diseño de agentes terapéuticos específicos para el síndrome de Rett. Este caso de estudio servirá para demostrar la capacidad de CADMA-Chem en el abordaje de enfermedades con mecanismos experimentales limitados, consolidando la versatilidad de la metodología.
- viii) *Síntesis y caracterización de complejos de coordinación*: Con la colaboración del grupo del Dr. Eduardo Zamora (UAM-Iztapalapa) y la Dra. Lena Ruiz (Facultad de Química, UNAM), se planea sintetizar y caracterizar los derivados propuestos para la enfermedad de Rett. Además, se busca generar complejos de coordinación con algunos de estos compuestos, explorando su estabilidad y actividad antioxidante potenciadas por la presencia de iones metálicos.
- ix) *Validación experimental de la capacidad antioxidante*: Se usarán ensayos estándar como *DPPH*, *ABTS*, *FRAP* y, potencialmente, *ORAC* y *TRAP*, en colaboración con la Dra. María del Carmen Mejía Vázquez (Universidad Autónoma de Querétaro). Estas pruebas experimentales podrían facilitar el establecer correlaciones directas entre predicciones teóricas y actividad antioxidante en compuestos polisustituidos.

En síntesis, se busca transformar el protocolo CADMA-Chem en un flujo de trabajo que integre el rigor de la química teórica con la agilidad de la quimioinformática. Al evitar la sobresimplificación pero facilitar la implementación de la metodología, se pretende allanar el camino hacia el desarrollo de fármacos multifuncionales con un impacto relevante y medible en la terapéutica de enfermedades complejas; una ambición que, si bien idealista, refleja el propósito de la investigación científica de avanzar hacia soluciones terapéuticas más efectivas y universalmente accesibles.

Bibliografía

- (1) Crimmins, E. M. *The Gerontologist* **2015**, 55, 901-911.
- (2) *World Population Prospects 2022: Summary of Results*; Technical Report UN DESA/POP/2022/TR/NO3, Accessed: 2024-06-23; United Nations, New York, 10017, USA: United Nations Department of Economic y Social Affairs, Population Division, 2022.
- (3) GBD 2019 Dementia Forecasting Collaborators *The Lancet Public Health* **2022**, 7, e105-e125.
- (4) GBD 2016 Parkinson's Disease Collaborators *The Lancet Neurology* **2018**, 17, 939-953.
- (5) GBD 2021 Parkinson's Disease Collaborators *The Lancet Neurology* **2023**, 22, 1022-1043.
- (6) *Plan Nacional de Demencias en México*; Alzheimer's Disease International, 2024.
- (7) Garmany, A.; Yamada, S. y Terzic, A. *NPJ Regen Med* **2021**, 6, 57.
- (8) Villavicencio, F.; Bergeron-Boucher, M.-P. y Vaupel, J. W. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2021**, 118, DOI: [10.1073/pnas.2115544118](https://doi.org/10.1073/pnas.2115544118).
- (9) Demer, L. L. y Tintut, Y. *Trends in Endocrinology & Metabolism* **2019**, 30, 646-657.
- (10) Guerra, J. V. S.; Dias, M. M. G.; Brilhante, A. J. V. C.; Terra, M. F.; García-Arévalo, M. y Figueira, A. C. M. *Nutrients* **2021**, 13, DOI: [10.3390/nu13082830](https://doi.org/10.3390/nu13082830).
- (11) Allen, C.; Waters, E.; Hamilton, J.; Vu, M.; Gabriel, J. y Roberts, M. *Journal of Health Psychology* **2022**, 27, Publisher Copyright: © The Author(s) 2021., 2463-2477.
- (12) Malik, S. S.; Batool, R.; Masood, N. y Yasmin, A. *Current Problems in Cancer* **2018**, 42, 337-343.
- (13) Nazarian, A.; Arbeev, K. G.; Yashkin, A. P. y Kulminski, A. M. *Journal of Applied Genetics* **2022**, 63, 315-325.
- (14) Rajpert-De Meyts, E. y Skotheim, R. I. *European urology* **2018**, 73, 832-833.
- (15) Wan, M.-l.; Wang, Y.; Zeng, Z.; Deng, B.; Zhu, B.-s.; Cao, T.; Li, Y.-k.; Xiao, J.; Han, Q. y Wu, Q. *Bioscience Reports* **2020**, 40, BSR20200265.
- (16) Zabaleta, J. en *Cancer Epigenetics: Methods and Protocols*, Dumitrescu, R. G. y Verma, M., eds.; Humana Press: Totowa, NJ, 2012, págs. 411-435.
- (17) Bashir, A.; Duseja, A.; De, A.; Mehta, M. y Tiwari, P. *Liver Research* **2022**, 6, 72-83.
- (18) Kong, W.-J.; Vernieri, C.; Foiani, M. y Jiang, J.-D. *Pharmacology & Therapeutics* **2020**, 209, 107496.
- (19) Pant, D. C.; Aguilera-Albesa, S. y Pujol, A. *Neurobiology of Disease* **2020**, 143, 105014.
- (20) Arrigoni, C.; Lopa, S.; Candrian, C. y Moretti, M. *Current Opinion in Biotechnology* **2020**, 63, Nanobiotechnology ensuremath bullet Systems Biology, 79-88.
- (21) Albers, J. A.; Chand, P. y Anch, A. M. *Sleep Medicine* **2017**, 35, 41-48.
- (22) Armstrong, M. J. y Okun, M. S. *JAMA* **2020**, 323, 548-560.
- (23) Brocardo, P. S. y Gil-Mohapel, J. *Brain Research Journal* **2013**, 6, Cited by: 0, 1-30.
- (24) Dhakal, S.; Kushairi, N.; Phan, C. W.; Adhikari, B.; Sabaratnam, V. y Macreadie, I. *International Journal of Molecular Sciences* **2019**, 20, DOI: [10.3390/ijms20205090](https://doi.org/10.3390/ijms20205090).
- (25) Galea, E.; Launay, N.; Portero-Otin, M.; Ruiz, M.; Pamplona, R.; Aubourg, P.; Ferrer, I. y Pujol, A. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* **2012**, 1822, Metabolic Functions and Biogenesis of Peroxisomes in Health and Disease, 1475-1488.
- (26) Jost, W. H. en *NeuroPsychopharmacotherapy*, Riederer, P., Laux, G., Nagatsu, T., Le, W. y Riederer, C., eds.; Springer International Publishing: Cham, 2022, págs. 2871-2889.
- (27) Kaur, R.; Mehan, S. y Singh, S. *Neurological Sciences* **2019**, 40, 13-23.

- (28) Kawabata, K. y Katsuno, M. en *NeuroPsychopharmacotherapy*, Riederer, P., Laux, G., Nagatsu, T., Le, W. y Riederer, C., eds.; Springer International Publishing: Cham, 2022, págs. 3333-3340.
- (29) Kidd, P. M. *Altern Med Rev* **2000**, *5*, 502-529.
- (30) Obeso, J. et al. *Movement Disorders* **2017**, *32*, 1264-1310.
- (31) Shamsuzzama; Kumar, L.; Haque, R. y Nazir, A. *Molecular Neurobiology* **2016**, *53*, 2787-2793.
- (32) Toprak, I.; Fenkci, S. M.; Fidan Yaylali, G.; Martin, C. y Yaylali, V. *Eye* **2020**, *34*, 1100-1107.
- (33) Uddin, M. S.; Al Mamun, A.; Rahman, M. A.; Behl, T.; Perveen, A.; Hafeez, A.; Bin-Jumah, M. N.; Abdel-Daim, M. M. y Ashraf, G. M. *Curr Top Med Chem* **2020**, *20*, 2380-2390.
- (34) Uddin, M. S.; Al Mamun, A.; Kabir, M. T.; Ashraf, G. M.; Bin-Jumah, M. N. y Abdel-Daim, M. M. *Molecular Neurobiology* **2021**, *58*, 281-303.
- (35) Behl, T.; Makkar, R.; Sehgal, A.; Singh, S.; Sharma, N.; Zengin, G.; Bungau, S.; Andronie-Cioara, F. L.; Munteanu, M. A.; Brisc, M. C.; Uivarosan, D. y Brisc, C. *International Journal of Molecular Sciences* **2021**, *22*, DOI: [10.3390/ijms22147432](https://doi.org/10.3390/ijms22147432).
- (36) Deuschl, G.; Beghi, E.; Fazekas, F.; Varga, T.; Christoforidi, K. A.; Sipido, E.; Bassetti, C. L.; Vos, T. y Feigin, V. L. *The Lancet Public Health* **2020**, *5*, e551-e567.
- (37) Ehrenberg, A. J. et al. *Alzheimer's Research & Therapy* **2020**, *12*, 56.
- (38) *Alzheimer's & Dementia* **2022**, *18*, 700-789.
- (39) Secretaría-de-Salud Enfermedad de Alzheimer, demencia más común que afecta a personas adultas mayores <https://www.gob.mx/salud/prensa/397-enfermedad-de-alzheimer-demencia-mas-comun-que-afecta-a-personas-adultas-mayores>.
- (40) Savelieff, M. G.; Nam, G.; Kang, J.; Lee, H. J.; Lee, M. y Lim, M. H. *Chemical Reviews* **2019**, *119*, 1221-1322.
- (41) Zięba, A.; Stępnicki, P.; Matosiuk, D. y Kaczor, A. A. *Expert Opin. Drug Discov.* **2022**, *17*, 673-683.
- (42) Galano, A.; Guzmán-López, E. G. y Reiter, R. J. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 11584.
- (43) Guzman-Lopez, E. G.; Reina, M.; Perez-Gonzalez, A.; Francisco-Marquez, M.; Hernandez-Ayala, L. F.; Castañeda-Arriaga, R. y Galano, A. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 13246.
- (44) Guzmán-López, E. G.; Reina, M.; Hernández-Ayala, L. F. y Galano, A. Rational design of multifunctional ferulic acid derivatives aimed for Alzheimer's and Parkinson's diseases, Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Col. Leyes de Reforma 1A Sección, Alcaldía Iztapalapa, Mexico City 09310, Mexico.; Departamento de Química Inorgánica y Nuclear, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, Mexico., 2023.
- (45) Hernández-Ayala, L. F.; Guzmán-López, E. G. y Galano, A. *Antioxidants (Basel)* **2023**, *12*, 1853.
- (46) Hernández-Ayala, L. F.; Guzmán-López, E. G.; Pérez-González, A.; Reina, M. y Galano, A. *J. Mex. Chem. Soc.* **2024**, *68*, 888-969.
- (47) Pérez-González, A.; Castañeda-Arriaga, R.; Guzmán-López, E. G.; Hernández-Ayala, L. F. y Galano, A. *ACS Omega* **2022**, *7*, 38254-38268.
- (48) Prejanò, M.; Romeo, I.; Felipe Hernández-Ayala, L.; Gabriel Guzmán-López, E.; Alcaro, S.; Galano, A. y Marino, T. *ChemPhysChem* **2025**, *26*, e202400653.
- (49) Reina, M.; Guzmán-López, E. G.; Romeo, I.; Marino, T.; Russo, N. y Galano, A. *New Journal of Chemistry* **2021**, *45*, 14369-14380.
- (50) Reina, M.; Guzmán-López, E. G. y Galano, A. *International Journal of Quantum Chemistry* **2023**, *123*, e27011.
- (51) Reina, M. et al. *J. Chem. Educ.* **2024**, *101*, 1024-1035.
- (52) Halliwell, B. *Journal of Neurochemistry* **2006**, *97*, 1634-1658.
- (53) Dröge, W. *Physiological Reviews* **2002**, *82*, 47-95.
- (54) Evidence of oxidative stress in Alzheimer's disease brain and antioxidant therapy: Lights and shadows, vol. 1147, 2008, págs. 70-78.
- (55) Schapira, A. H. *The Lancet Neurology* **2008**, *7*, 97-109.
- (56) Lev, N.; Ickowicz, D.; Melamed, E. y Offen, D. *NeuroToxicology* **2008**, *29*, 397-405.
- (57) Gandhi, S.; Wood-Kaczmar, A.; Yao, Z.; Plun-Favreau, H.; Deas, E.; Klupsch, K.; Downward, J.; Latchman, D. S.; Tabrizi, S. J.; Wood, N. W.; Duchon, M. R. y Abramov, A. Y. *Molecular Cell* **2009**, *33*, 627-638.
- (58) Cavalli, A.; Bolognesi, M. L.; Minarini, A.; Rosini, M.; Tumiatti, V.; Recanatini, M. y Melchiorre, C. *Journal of Medicinal Chemistry* **2008**, *51*, 347-372.

- (59) Chopade, P.; Chopade, N.; Zhao, Z.; Mitragotri, S.; Liao, R. y Chandran Suja, V. *Bioengineering and Translational Medicine* **2023**, 8, DOI: [10.1002/btm2.10367](https://doi.org/10.1002/btm2.10367).
- (60) Marucci, G.; Buccioni, M.; Ben, D. D.; Lambertucci, C.; Volpini, R. y Amenta, F. *Neuropharmacology* **2021**, 190, 108352.
- (61) Moreta, M. P. .-; Burgos-Alonso, N.; Torrecilla, M.; Marco-Contelles, J. y Bruzos-Cidón, C. *Biomedicines* **2021**, 9, DOI: [10.3390/biomedicines9111689](https://doi.org/10.3390/biomedicines9111689).
- (62) Muller, T. *Drugs* **2015**, 75, 157-174.
- (63) Nakamagoe, K.; Tsuji, H.; Ishii, K. y Tamaoka, A. *Neurol. Sci.* **2021**, 42, 4813-4814.
- (64) Fabbri, M.; Ferreira, J. J. y Rascol, O. *CNS Drugs* **2022**, 36, 261-282.
- (65) St. Onge, E.; Vanderhoof, M. y Miller, S. *Annals of Pharmacotherapy* **2020**, 55, 1159-1166.
- (66) Finberg, J. P. M. *J. Neural Transm. (Vienna)* **2019**, 126, 433-448.
- (67) Jost, W. H. *Journal of Neural Transmission* **2022**, 129, 723-736.
- (68) Özdemir, Z.; Alagöz, M. A.; Bahçecioğlu, Ö. F. y Gök, S. *Curr. Med. Chem.* **2021**, 28, 6045-6065.
- (69) Parambi, D. G. T. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **2020**, 23, 847-861.
- (70) Rivas, F.; Poblete-Aro, C.; Pando, M. E.; Allel, M. J.; Fernandez, V.; Soto, A.; Nova, P. y Garcia-Diaz, D. *Current Medicinal Chemistry* **2022**, 29, 1045-1060.
- (71) Maan, G.; Sikdar, B.; Kumar, A.; Shukla, R. y Mishra, A. *Curr. Top. Med. Chem.* **2020**, 20, 1169-1194.
- (72) Rana, K. y Gautam, P. *International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance* **2022**, 13, 77-82.
- (73) Caruso, L.; Nadur, N. F.; da Fonseca, M. B.; Peixoto Ferreira, L. d. A.; Lacerda, R. B.; Graebin, C. S. y Kümmerle, A. E. *Curr. Top. Med. Chem.* **2022**, 22, 366-394.
- (74) Catto, M.; Trisciuzzi, D.; Alberga, D.; Mangiatordi, G. F. y Nicolotti, O. en *Methods in Pharmacology and Toxicology*; Methods in pharmacology and toxicology; Springer New York: New York, NY, 2018, págs. 93-105.
- (75) De Freitas Silva, M.; Dias, K. S. T.; Gontijo, V. S.; Ortiz, C. J. C. y Viegas Claudio, J. *Curr. Med. Chem.* **2018**, 25, 3491-3525.
- (76) Dias, K. S. T. et al. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 130, 440-457.
- (77) Dias, K. S. T. y Viegas Claudio, J. *Curr. Neuropharmacol.* **2014**, 12, 239-255.
- (78) Fu, Y.; Mu, Y.; Lei, H.; Wang, P.; Li, X.; Leng, Q.; Han, L.; Qu, X.; Wang, Z. y Huang, X. *Molecules* **2016**, 21, 1338.
- (79) Gontijo, V. S.; Viegas, F. P. D.; Ortiz, C. J. C.; de Freitas Silva, M.; Damasio, C. M.; Rosa, M. C.; Campos, T. G.; Couto, D. S.; Tranches Dias, K. S. y Viegas, C. *Curr. Neuropharmacol.* **2020**, 18, 348-407.
- (80) Halder, A. K.; Moura, A. S. y Cordeiro, M. N. D. S. en *Methods in Pharmacology and Toxicology*; Methods in pharmacology and toxicology; Springer New York: New York, NY, 2018, págs. 155-186.
- (81) Ivasiv, V.; Albertini, C.; Gonçalves, A. E.; Rossi, M. y Bolognesi, M. L. *Curr. Top. Med. Chem.* **2019**, 19, 1694-1711.
- (82) Katselou, M. G.; Matralis, A. N. y Kourounakis, A. P. *Multi-Target Drug Design Approaches for Multifactorial Diseases: From Neurodegenerative to Cardiovascular Applications*, 2014.
- (83) Kumar, A.; Tiwari, A. y Sharma, A. *Curr. Neuropharmacol.* **2018**, 16, 726-739.
- (84) Li, Y.; Qiang, X.; Luo, L.; Yang, X.; Xiao, G.; Zheng, Y.; Cao, Z.; Sang, Z.; Su, F. y Deng, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, 25, 714-726.
- (85) Ortiz, C. J. C.; de Freitas Silva, M.; Gontijo, V. S.; Viegas, F. P. D.; Dias, K. S. T. y Viegas Claudio, J. en *Methods in Pharmacology and Toxicology*; Methods in pharmacology and toxicology; Springer New York: New York, NY, 2018, págs. 255-351.
- (86) Simoni, E.; Bartolini, M.; Abu, I. F.; Blockley, A.; Gotti, C.; Bottegoni, G.; Caporaso, R.; Bergamini, C.; Andrisano, V.; Cavalli, A.; Mellor, I. R.; Minarini, A. y Rosini, M. *Future Med. Chem.* **2017**, 9, 953-963.
- (87) Tian, S.; Huang, Z.; Meng, Q. y Liu, Z. *Mini Rev. Med. Chem.* **2021**, 21, 2039-2064.
- (88) Muegge, I.; Heald, S. L. y Brittelli, D. *Journal of Medicinal Chemistry* **2001**, 44, 1841-1846.
- (89) Kochev, N.; Avramova, S.; Angelov, P. y Jeliazkova, N. *Org. Chem. Ind. J.* **2018**, 14, 123.
- (90) Martin, T. *Toxicity Estimation Software Tool (TEST)*, Washington, DC, USA, 2016.
- (91) Rogers, D. y Hahn, M. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2010**, 50, 742-754.
- (92) Bajusz, D.; Rácz, A. y Héberger, K. *Journal of Cheminformatics* **2015**, 7, 20.

- (93) Bellman, R. E., *Dynamic Programming*; Princeton University Press: Princeton, NJ, 1957.
- (94) Van der Maaten, L. J. P. e Hinton, G. E. *Journal of Machine Learning Research* **2008**, 9, 2579-2605.
- (95) McInnes, L.; Healy, J. y Melville, J. *arXiv preprint* **2018**.
- (96) Ruiz-Moreno, A. J.; Cedillo-González, R.; Cordova-Bahena, L.; An, Z.; Medina-Franco, J. y Velasco-Velázquez, M. A. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2024**, 64, 1984-1995.
- (97) Riniker, S. y Landrum, G. A. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2015**, 55, 2562-2574.
- (98) Millam, R. D. T. A. K. J. M. GaussView Version 6, 2019.
- (99) Pracht, P.; Grimme, S.; Bannwarth, C.; Bohle, F.; Ehlert, S.; Feldmann, G.; Gorges, J.; Müller, M.; Neudecker, T.; Plett, C.; Spicher, S.; Steinbach, P.; Wesolowski, P. A. y Zeller, F. *The Journal of Chemical Physics* **2024**, 160, 114110.
- (100) Pracht, P.; Bohle, F. y Grimme, S. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2020**, 22, 7169-7192.
- (101) Bannwarth, C.; Ehlert, S. y Grimme, S. *J. Chem. Theory Comput.* **2019**, 15, 1652-1671.
- (102) The ORCA program system, <https://doi.org/10.1002/wcms.81>, 2012.
- (103) Frisch, M. J. et al. Gaussian 16 Rev. C.01, Wallingford, CT Gaussian 16, 2016.
- (104) Zhao, Y.; Schultz, N. E. y Truhlar, D. G. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2006**, 2, 364-382.
- (105) Marenich, A. V.; Cramer, C. J. y Truhlar, D. G. *Journal of Physical Chemistry B* **2009**, 113, 6378-6396.
- (106) Pérez-González, A.; Castañeda-Arriaga, R.; Verastegui, B.; Carreón-González, M.; Alvarez-Idaboy, J. R. y Galano, A. *Theor. Chem. Acc.* **2018**, 137, DOI: [10.1007/s00214-017-2179-7](https://doi.org/10.1007/s00214-017-2179-7).
- (107) Galano, A.; Pérez-González, A.; Castañeda-Arriaga, R.; Muñoz-Rugeles, L.; Mendoza-Sarmiento, G.; Romero-Silva, A.; Ibarra-Escutia, A.; Rebollar-Zepeda, A. M.; León-Carmona, J. R.; Hernández-Olivares, M. A. y Alvarez-Idaboy, J. R. *J. Chem. Inf. Model.* **2016**, 56, 1714-1724.
- (108) Galano, A. y Alvarez-Idaboy, J. R. *J. Comput. Chem.* **2013**, 34, 2430-2445.
- (109) Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W. y Feeney, P. J. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2012**, 64, 4-17.
- (110) Ghose, A. K.; Viswanadhan, V. N. y Wendoloski, J. J. *Journal of Combinatorial Chemistry* **1999**, 1, 55-68.
- (111) Veber, D. F.; Johnson, S. R.; Cheng, H. -.; Smith, B. R.; Ward, K. W. y Kopple, K. D. *Journal of Medicinal Chemistry* **2002**, 45, 2615-2623.
- (112) Walters, W. P. y Namchuk, M. *Nature Reviews Drug Discovery* **2003**, 2, 259-266.
- (113) Egan, W. J.; Merz Jr., K. M. y Baldwin, J. J. *Journal of Medicinal Chemistry* **2000**, 43, 3867-3877.
- (114) Kelder, J.; Grootenhuys, P. D. J.; Bayada, D. M.; Delbressine, L. P. C. y Ploemen, J.-P. *Pharmaceutical Research* **1999**, 16, 1514-1519.
- (115) DrugBank Melatonin <https://go.drugbank.com/drugs/DB01065>.
- (116) Watanabe, T.; Tahara, M. y Todo, S. *Cardiovascular Therapeutics* **2008**, 26, 101-114.
- (117) DrugBank Edaravone <https://go.drugbank.com/drugs/DB12243>.
- (118) Li, H.; Xu, K.; Wang, Y.; Zhang, H.; Li, T.; Meng, L.; Gong, X.; Zhang, H.; Ou, N. y Ruan, J. *Drugs in R and D* **2012**, 12, 65-70.
- (119) Kawai, H.; Nakai, H.; Suga, M.; Yuki, S.; Watanabe, T. y Saito, K.-I. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **1997**, 281, 921-927.
- (120) Ono, S.; Okazaki, K.; Sakurai, M. e Inoue, Y. *Journal of Physical Chemistry A* **1997**, 101, 3769-3775.
- (121) Watanabe, K.; Morinaka, Y.; Iseki, K.; Watanabe, T.; Yuki, S. y Nishi, H. *Redox Report* **2003**, 8, 151-155.
- (122) Itagaki, S.; Kurokawa, T.; Nakata, C.; Saito, Y.; Oikawa, S.; Kobayashi, M.; Hirano, T. e Iseki, K. *Food Chemistry* **2009**, 114, 466-471.
- (123) Sahu, R.; Dua, T. K.; Das, S.; De Feo, V. y Dewanjee, S. *Food and Chemical Toxicology* **2019**, 125, 503-519.
- (124) Sánchez-Medina, A.; Redondo-Puente, M.; Dupak, R.; Bravo-Clemente, L.; Goya, L. y Sarriá, B. *International Journal of Molecular Sciences* **2023**, 24, 1440.
- (125) Kumar, N. y Pruthi, V. *Biotechnology Reports* **2014**, 4, 86-93.
- (126) Yener, I.; Kocakaya, S. O.; Ertas, A.; Erhan, B.; Kaplaner, E.; Oral, E. V.; Yilmaz-Ozden, T.; Yilmaz, M. A.; Ozturk, M. y Kolak, U. *Food Chemistry* **2020**, 327, 127045.
- (127) Subedi, L.; Lee, S. E.; Madiha, S.; Gaire, B. P.; Jin, M.; Yumnam, S. y Kim, S. Y. *International Journal of Molecular Sciences* **2020**, 21, 764.
- (128) Pyatha, S.; Kim, H.; Lee, D. y Kim, K. *Antioxidants* **2022**, 11, 2467.

- (129) Callcott, E. T.; Blanchard, C. L.; Oli, P. y Santhakumar, A. B. *Molecular Nutrition & Food Research* **2018**, *62*, 1800840.
- (130) Sharma, S. y Naura, A. S. *Biochemical Pharmacology* **2020**, *173*, 113790.
- (131) Laurindo, L. F.; de Maio, M. C.; Minniti, G.; de Góes Corrêa, N.; Barbalho, S. M.; Quesada, K.; Guiguer, E. L.; Sloan, K. P.; Detregiachi, C. R. P.; Araújo, A. C. y de Alvares Goulart, R. *Metabolites* **2023**, *13*, 243.
- (132) Liu, Y.; Chen, Z.; Li, A.; Liu, R.; Yang, H. y Xia, X. *Frontiers in Oncology* **2022**, *12*, 936054.
- (133) Xu, T. y Lu, B. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **2019**, *59*, 882-892.
- (134) Katsinas, N.; Rodríguez-Rojo, S. y Enríquez-De-salamanca, A. *Antioxidants* **2021**, *10*, 1150.
- (135) Rahman, M. A.; Rahman, M. H.; Biswas, P.; Hossain, M. S.; Islam, R.; Hannan, M. A.; Uddin, M. J. y Rhim, H. *Antioxidants* **2021**, *10*, 23.
- (136) Chen, X.; Wang, Y.; Chen, D.; Yu, B. y Huang, Z. *Animal Biotechnology* **2022**, *33*, 356-361.
- (137) Gabbia, D.; Carpi, S.; Sarcognato, S.; Zanotto, I.; Sayaf, K.; Colognesi, M.; Polini, B.; Digiacomio, M.; Macchia, M.; Nieri, P.; Carrara, M.; Cazzagon, N.; Russo, F. P.; Guido, M. y De Martin, S. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2023**, *157*, 114014.
- (138) Hanafy, D. M.; Burrows, G. E.; Prenzler, P. D. e Hill, R. A. *Antioxidants* **2020**, *9*, 631.
- (139) Horbury, M. D.; Baker, L. A.; Quan, W. D.; Greenough, S. E. y Stavros, V. G. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2016**, *18*, 17691-17697.
- (140) Han, H.; Dye, L. y Mackie, A. *Food Research International* **2023**, *164*, 112371.
- (141) Zahedipour, F.; Hosseini, S.; Henney, N.; Barreto, G. y Sahebkar, A. *Neural Regeneration Research* **2022**, *17*, 1675-1684.
- (142) Ramli, I.; Posadino, A. M.; Zerizer, S.; Spissu, Y.; Barberis, A.; Djeghim, H.; Azara, E.; Bensouici, C.; Kabouche, Z.; Rebbas, K.; D'Hallewin, G.; Sechi, L. A. y Pintus, G. *Journal of Ethnopharmacology* **2023**, *300*, 115722.
- (143) Lion, Q.; Pichette, A.; Mihoub, M.; Mshvildadze, V. y Legault, J. *Molecules* **2021**, *26*, 4458.
- (144) Barakat, A. Z.; Bassuiny, R. I.; Abdel-Aty, A. M. y Mohamed, S. A. *Journal of Food Biochemistry* **2020**, *44*, e13416.
- (145) Rampelotto, C. R.; Pereira, V. G.; da Silva Silveira, L.; Rossato, A.; Machado, A. K.; Sagrillo, M. R.; Gündel, A.; Burger, M. E.; Schaffazick, S. R. y de Bona da Silva, C. *Toxicology in Vitro* **2022**, *78*, 105259.
- (146) Hu, J.; Tong, C.; Zhou, J.; Gao, C. y Olatunji, O. J. *Chemistry & Biodiversity* **2022**, *19*, e202200053.
- (147) Islam, S. U.; Ahmed, M. B.; Ahsan, H. y Lee, Y. S. *Antioxidants* **2021**, *10*, 784.
- (148) Ganesan, K.; Quiles, J. L.; Daglia, M.; Xiao, J. y Xu, B. *Food Frontiers* **2021**, *2*, 357-382.
- (149) León-Carmona, J. R.; Alvarez-Idaboy, J. R. y Galano, A. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2012**, *14*, 12534-12543.
- (150) Pérez-González, A.; Castañeda-Arriaga, R.; Guzmán-López, E. G.; Hernández-Ayala, L. F. y Galano, A. *ACS Omega* **2022**, *7*, 38254-38268.
- (151) Bashary, R. y Khatik, G. L. *Bioorganic Chemistry* **2019**, *82*, 156-162.
- (152) Rezk, B. M.; Haenen, G. R. M. M.; van der Vijgh, W. J. F. y Bast, A. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2002**, *295*, 9-13.
- (153) Kumar, C. S. C.; Loh, W.-S.; Ooi, C. W.; Quah, C. K. y Fun, H.-K. *Molecules* **2013**, *18*, 11996-12011.
- (154) Bandgar, B. P.; Gawande, S. S.; Bodade, R. G.; Gawande, N. M. y Khobragade, C. N. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2009**, *17*, 8168-8173.
- (155) Doan, T. N. y Tran, D. T. *Pharmacology & Pharmacy* **2011**, *02*, 282-288.
- (156) Yadav, D. K.; Sharma, P.; Khan, F.; Dhingra, N.; Yadav, R. y Yadav, M. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **2021**, *21*, 2257-2271.
- (157) Meanwell, N. A. *Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *54*, 2529-2591.
- (158) Cuevas, G., *Introducción a la Química computacional*; Fondo de cultura económica: 2003, pág. 172.
- (159) Kołos, W. en *Perspectives in Quantum Chemistry: Plenary Lectures Presented at the Sixth International Congress on Quantum Chemistry Held in Jerusalem, Israel, August 22-25 1988*, Jortner, J. y Pullman, B., eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, 1989, págs. 145-159.
- (160) Schrödinger, E. *Annalen der Physik* **1926**, *384*, 489-527.
- (161) Schrödinger, E. *Annalen der Physik* **1926**, *384*, 361-376.

- (162) Heisenberg, W. *Zeitschrift für Physik* **1925**, 33, 879-893.
- (163) Szabo, A. y Ostlund, N., *Modern Quantum Chemistry: Introduction to Advanced Electronic Structure Theory*; Dover: 1996.
- (164) Bohm, D. *Phys. Rev.* **1952**, 85, 166-179.
- (165) Messiah, A., *Quantum Mechanics*; Dover Publications: 1961.
- (166) Bunker, P. R. y Jensen, P., *Fundamentals of Molecular Symmetry*; Institute of Physics Publishing: 2005.
- (167) Noether, E., *Collected Papers*; Springer-Verlag: 1983.
- (168) Garza Olguín, J., *Química Cuántica Aplicada a Sistemas Finitos: Uso de la función de onda*; Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalpa: CBI Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalpa, 2014, págs. 5114-5117.
- (169) Roux, B. y Simonson, T. *Biophysical Chemistry* **1999**, 78, 1-20.
- (170) Cramer, C. y Truhlar, D. *Chemical Reviews* **1999**, 99, 2161-2200.
- (171) Tomasi, J. y Persico, M. *Chemical Reviews* **1994**, 94, 2027-2094.
- (172) Castañeda-Arriaga, R.; Pérez-González, A.; Reina, M.; Alvarez-Idaboy, J. R. y Galano, A. *The Journal of Physical Chemistry B* **2018**, 122, PMID: 29771524, 6198-6214.
- (173) Castañeda-Arriaga, R. y Galano, A. *Chemical Research in Toxicology* **2017**, 30, PMID: 28475314, 1286-1301.

Apéndice A

Criterios adicionales de diseño

En este apéndice se detallan los criterios que sustentan la modificación estructural de los andamios estudiados. La integración de estos criterios en la generación de bibliotecas se describen en el Capítulo 1 y en el Capítulo ??.

A.1 Función química de los sustituyentes considerados

La Tabla A.1 resume la función química asignada a los grupos empleados en la generación de derivados.

Tabla A.1: Función química de los sustituyentes considerados en la generación de derivados.

Sustituyente	Función esperada	Uso dentro del diseño
–OH	Donador/aceptor de puente de hidrógeno; posible sitio de transferencia de H.	Favorecer rutas HAT/ <i>f</i> -HAT, modular polaridad y generar puntos de interacción.
–SH	Donador de H con enlace X–H más débil que O–H; sitio blando de coordinación.	Explorar aumento de reactividad radicalaria y coordinación con metales redox.
–NH ₂	Donador/aceptor de puente de hidrógeno; centro básico susceptible de protonación.	Ajustar el estado ácido–base, introducir interacciones polares y modificar la distribución de especies a pH fisiológico.
–COOH	Grupo ácido; sitio de coordinación; incrementa TPSA y capacidad de interacción polar.	Evaluar especies ionizadas, quelación y cambios en solubilidad/permeabilidad.
–CHO	Aceptor de puente de hidrógeno; grupo electrón-atractor.	Modular la densidad electrónica del andamio y explorar cambios en reactividad.
–OCH ₃	Aceptor de puente de hidrógeno; grupo lipofílico moderado y donador por resonancia.	Ajustar logP, reconocimiento molecular y disponibilidad de pares electrónicos.
–COOCH ₃	Éster neutro; aceptor de puente de hidrógeno; aumenta volumen y lipofilia.	Atenuar acidez, modificar permeabilidad y explorar bioisósteros neutros de ácidos.
–CF ₃	Grupo lipofílico y electrón-atractor.	Incrementar estabilidad metabólica, modular acidez/basicidad y modificar distribución electrónica.
F y Cl	Sustituyentes halogenados; modifican lipofilia, volumen y densidad electrónica.	Explorar efectos inductivos, ocupación de cavidades hidrofóbicas y resistencia metabólica.
–N(CH ₃)(CH ₂ CH ₃)	Amina terciaria; centro básico protonable.	Introducir carga positiva parcial o formal según pH, favorecer interacciones electrostáticas y ajustar permeabilidad.

A.2 Sustituciones bioisostéricas

El bioisosterismo se emplea como estrategia para modificar posiciones funcionales del andamio principal. El reemplazo se consideró aceptable solo si preservaba la conectividad del sistema y aportaba alguna ventaja evaluable en términos de reactividad, propiedades ADME/Tox, accesibilidad sintética o interacción con dianas terapéuticas.¹⁵⁷

Tabla A.2: Criterios bioisostéricos aplicables a los derivados estudiados.

Criterio	Reemplazo o modificación	Propiedad que se buscó modular
Halogenación	Sustitución por F, Cl o $-\text{CF}_3$.	Lipofilia, estabilidad metabólica, volumen estérico y efectos inductivos.
Intercambio de heteroátomos	Introducción de $-\text{OH}$, $-\text{SH}$ o $-\text{NH}_2$ en posiciones compatibles.	Capacidad donadora/aceptora, acidez/basicidad y rutas de transferencia de H o electrón.
Ácido/éster	Relación $-\text{COOH}/-\text{COOCH}_3$.	Ionización, polaridad, permeabilidad y coordinación metálica.
Centro básico	Incorporación de aminas protonables.	Interacciones electrostáticas, distribución de especies a pH 7.4 y reconocimiento molecular.
Modulación electrónica	Introducción de grupos atractores o donadores de densidad electrónica.	Potenciales redox, BDE, $\text{p}K_a$ y compatibilidad con mecanismos AOX-I/AOX-II.

A.3 Puntos farmacofóricos y criterio de conteo

El criterio de puntos farmacofóricos se usó para descartar estructuras demasiado pobres en sitios de interacción. Siguiendo el criterio de Muegge *et al.*, una molécula compatible con un perfil *drug-like* debe contener al menos dos puntos farmacofóricos efectivos.⁸⁸ En este trabajo se contabilizaron como puntos farmacofóricos los grupos capaces de actuar como donadores o aceptores de puente de hidrógeno, centros ionizables o grupos polares relevantes para el reconocimiento molecular.

Tabla A.3: Reglas de conteo de puntos farmacofóricos.

Regla	Aplicación
Conteo mínimo	Se requieren al menos dos puntos farmacofóricos efectivos por molécula.
Grupos considerados	Aminas, amidas, alcoholes, cetonas, sulfonas, sulfonamidas, ácidos carboxílicos, carbamatos, guanidinas, amidinas, ureas y ésteres.
Exclusión por entorno	Se omiten heteroátomos cuya participación esté anulada por el entorno electrónico, como nitrógenos tipo pirrol o indol cuando no funcionan como centros de interacción disponibles.
Fusión de puntos próximos	Heteroátomos separados por un solo átomo de carbono se contabilizan como una sola unidad farmacofórica para evitar sobreponderar motivos redundantes.
Penalización estructural	Se descartan estructuras sin ciclos y compuestos con más de un grupo ácido carboxílico cuando estos rasgos comprometen el perfil <i>drug-like</i> .

Este conteo se aplicó como control estructural previo a los filtros cuantitativos. No sustituyó los criterios ADME/Tox/SA ni los índices de selección descritos en CADMA-Chem.

Apéndice B

Química computacional

Actualmente, los equipos de cómputo son instrumentos indispensables para la investigación en Química, alcanzando un nivel de exactitud comparable, en muchos casos, a técnicas experimentales como la espectrofotometría, la difracción de rayos X, la fluorimetría o la resonancia magnética nuclear. Los métodos computacionales permiten obtener información valiosa sobre propiedades moleculares (por ejemplo, absorción de luz, estructuras cristalinas, transiciones electrónicas, etc.) y su auge se debe al incremento exponencial en las capacidades de cómputo, la disminución de costos, el trabajo en paralelo, el aumento en la capacidad de almacenamiento y el desarrollo de algoritmos y herramientas estadísticas, incluyendo técnicas de aprendizaje automático.

“En la actualidad la vinculación entre la Química computacional, la Química teórica y la Química experimental es un hecho, debido a que las moléculas estudiadas experimentalmente ya son calculables a niveles elevados y confiables de teoría. Esto es importante, pues puede preverse que en breve será necesario apoyar las racionalizaciones e hipótesis emanadas de los experimentos con resultados teóricos para evitar caer en especulaciones que poco ayudan al desarrollo de la Química, por lo que es indispensable formar grupos de investigación que trabajen de manera interdisciplinaria.”¹⁵⁸

Los primeros cálculos en Química teórica se remontan a 1927, apenas un año después de la publicación de la mecánica ondulatoria de Schrödinger y la mecánica matricial de Heisenberg.¹⁵⁹⁻¹⁶² No obstante, fue en los años setenta cuando la química computacional se consolidó gracias a los trabajos e implementaciones de John Pople.¹⁵⁸ Inicialmente concebida como una herramienta para el diseño molecular en la industria farmacéutica, su evolución ha permitido la integración masiva de programas y rutinas con un interés puramente químico, marcando la transición del paradigma experimental a uno en el que lo computacional complementa de manera crucial la experimentación.

La Química teórica ha desarrollado conceptos y ecuaciones que permiten calcular propiedades moleculares de forma precisa, tales como:

- I. Arreglos geométricos estables y estados de transición.
- II. Energías relativas de diferentes especies moleculares.
- III. Propiedades eléctricas (momentos de la densidad, polarizabilidad, etc.).
- IV. Propiedades espectroscópicas.
- V. Propiedades termoquímicas.
- VI. Propiedades cinéticas.

B.1 Mecánica cuántica

El problema fundamental de la Química cuántica consiste en resolver la ecuación de Schrödinger no relativista e independiente del tiempo:

$$\hat{H} |\Psi\rangle = E |\Psi\rangle, \quad (\text{B.1})$$

donde $|\Psi\rangle$ es la función de onda del sistema molecular y $\hat{H}$ es el operador hamiltoniano. Para un sistema con M núcleos y N electrones, el hamiltoniano se expresa como:

$$\hat{H} = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}, \quad (\text{B.2})$$

donde Z_A es el número atómico del núcleo A y r_{iA} , r_{ij} , R_{AB} son las distancias electrón-núcleo, electrón-electrón y núcleo-núcleo, respectivamente.¹⁶³

Dado que los núcleos son mucho más pesados que los electrones, se puede aplicar la aproximación de Born-Oppenheimer, en la que se supone que los electrones se mueven en un campo de núcleos fijos. Así, se desprecia la energía cinética de los núcleos y el término de repulsión núcleo-núcleo se considera una constante, permitiendo definir el hamiltoniano electrónico:

$$\hat{H}_{el} = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}}. \quad (\text{B.3})$$

B.2 Principios jerárquicos de la mecánica cuántica

B.2.1 Indistinguibilidad

Para analizar la naturaleza de la función de onda y sus características, resulta necesario acudir a la interpretación probabilística propuesta por Bohm,¹⁶⁴ en la que los sistemas cuánticos se describen mediante funciones de probabilidad que definen estados de energía y posición. Esta visión conduce de manera implícita al principio de incertidumbre de Heisenberg.

Conocido también como el primer principio jerárquico de la mecánica cuántica, el principio de incertidumbre establece que ciertas variables canónicas conjugadas no pueden determinarse simultáneamente de forma exacta. Dicho de otro modo, existe una incertidumbre intrínseca en los sistemas físicos que no depende de los instrumentos de medición. Ejemplos de variables conjugadas son la posición y el momento, así como la energía y el tiempo; ello implica, por ejemplo, que no puede conocerse a la vez y con precisión la posición de un sistema y su velocidad, ni el instante en el que dicho sistema posee determinada energía.

Dada la imposibilidad de conocer con exactitud la posición y el momento de cada partícula en un sistema de muchos cuerpos, se abandona la idea de describir trayectorias precisas en el espacio fase; en efecto, pierde sentido atribuir una etiqueta única a cada partícula. De esta manera, *en mecánica cuántica se asume que las partículas son indistinguibles como consecuencia del principio de incertidumbre*, o, dicho de otro modo, *se trabaja con partículas idénticas*.

Consideremos entonces un sistema de N partículas idénticas cuyas coordenadas son $\chi_1, \dots, \chi_N$.¹ Si las partículas son electrones, cada χ_i recibe el nombre de función espín-orbital. La función de onda de este sistema puede representarse como

$$|\chi_1, \dots, \chi_i, \chi_j, \dots, \chi_N\rangle,$$

mientras que $\hat{P}_{ij}$ es un operador de permutación que actúa sobre las partículas i y j :

$$\hat{P}_{ij} |\chi_1, \dots, \chi_i, \chi_j, \dots, \chi_N\rangle = |\chi_1, \dots, \chi_j, \chi_i, \dots, \chi_N\rangle.$$

¹En el caso de electrones, cada χ_i engloba tanto las coordenadas espaciales como las de espín, aspecto que permite reproducir fenómenos

Como las partículas son idénticas, la función de onda debe permanecer invariante bajo la acción de dicho operador, lo que se traduce en:

$$\hat{P}_{ij} |\chi_1, \dots, \chi_i, \chi_j, \dots, \chi_N\rangle = |\chi_1, \dots, \chi_j, \chi_i, \dots, \chi_N\rangle = |\chi_1, \dots, \chi_i, \chi_j, \dots, \chi_N\rangle.$$

En consecuencia, en un sistema de partículas indistinguibles, la función de onda no se ve afectada al intercambiar las coordenadas de dos partículas.

B.2.2 Simetría

Que la función de onda permanezca invariante ante la acción de cierto operador indica un tipo específico de simetría. En física y en química, dicha simetría desempeña un papel relevante, pues es posible aplicar los teoremas de conservación: cada simetría que se conserva en el tiempo en un sistema físico implica la conservación de una magnitud asociada. Este hecho fue generalizado por la matemática Emmy Noether,^{166,167} y dada la trascendencia de la simetría en la función de onda, se considera como el segundo principio jerárquico de la mecánica cuántica.

Al aplicar dos veces seguidas el Operador de Permutación $\hat{P}_{ij}$ a la función de onda, esta última no se altera; es decir, el valor propio del operador $\hat{P}_{ij}^2$ es igual a 1 (Ecuación B.5), lo que a su vez implica que $\hat{P}_{ij}$ presenta dos valores propios posibles: ± 1 (Ecuación B.6).

$$\hat{P}_{ij}^2 |\chi_1, \dots, \chi_i, \chi_j, \dots, \chi_N\rangle = |\chi_1, \dots, \chi_i, \chi_j, \dots, \chi_N\rangle, \quad (\text{B.4})$$

$$\hat{P}_{ij}^2 = 1, \quad (\text{B.5})$$

$$\hat{P}_{ij} = \pm 1. \quad (\text{B.6})$$

La existencia de dos valores propios ± 1 para este Operador de Permutación permite clasificar las funciones de onda en *simétricas* —cuando el valor propio es $+1$ — y *antisimétricas* —cuando es -1 .

B.2.3 Principio de Pauli

La posibilidad de describir la función de onda como antisimétrica surge como consecuencia de la simetría, la cual a su vez proviene de la indistinguibilidad de las partículas. Decidir si una función de onda es simétrica o antisimétrica se apoya en observaciones experimentales: partículas con espín entero (bosones) se describen mediante funciones de onda simétricas, mientras que partículas con espín semientero (fermiones) requieren funciones antisimétricas.

Los electrones, como ejemplo más representativo de fermiones, deben describirse con una función de onda de partículas indistinguibles y antisimétrica. Esta condición de antisimetría conduce a uno de los principios más profundos dentro de la química: el principio de exclusión de Pauli. Tal principio da origen a las propiedades recurrentes en los elementos o, mejor conocidas como, propiedades periódicas de los elementos. El principio de exclusión de Pauli puede considerarse el tercer principio jerárquico de la química cuántica.

B.3 Métodos de función de onda

B.3.1 Método de Hartree-Fock

Al inicio de esta sección se mencionó que el objetivo fundamental de la Química cuántica está centrado en resolver la ecuación de Schrödinger, Ec. B.1, y esto a su vez significa obtener $|\Psi\rangle$ y la energía asociada a esa función. En química teórica, las funciones de onda $|\Psi\rangle$ se construyen a partir de funciones monoeléctricas que satisfacen los

espectroscópicos tales como el efecto Zeeman.¹⁶⁵

principios jerárquicos: incertidumbre, indistinguibilidad y antisimetría (consúltese la Sección B.1). Funciones de onda con tales propiedades puede ser construidas en términos de orbitales moleculares mediante el uso del antisimetrizador $\hat{A}$, mostrado en la Ecuación B.7. La función de onda resultante se conoce como *función de tipo Slater*.¹⁶⁵

$$|\Psi\rangle = \hat{A} |\chi_1, \dots, \chi_N\rangle \equiv \frac{1}{N!} \sum_P (-)^P P |\chi_1, \dots, \chi_N\rangle. \quad (\text{B.7})$$

El Hamiltoniano electrónico de la Ecuación B.3 puede reescribirse empleando el operador monoeléctrico $\hat{h}$ (Ecuación B.8) y el operador bielectrónico $\nu(i, j)$ (Ecuación B.9), definidos como sigue:

$$h(i) = -\frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}}, \quad (\text{B.8})$$

$$\nu(i, j) = \frac{1}{r_{ij}}, \quad (\text{B.9})$$

donde ∇_i^2 es el Operador Laplaciano que actúa sobre la coordenada electrónica i , Z_A es la carga del núcleo A , r_{iA} la distancia entre el electrón i y el núcleo A , y r_{ij} la distancia entre los electrones i y j .

Con ello, el Hamiltoniano electrónico se expresa como

$$\hat{H}_{el} = - \sum_{i=1}^N h(i) + \sum_{j>i}^N \nu(i, j). \quad (\text{B.10})$$

Empleando esta forma del Hamiltoniano electrónico, la energía electrónica de un sistema se calcula a partir de la Ecuación B.11 y los orbitales moleculares χ_i —en los que se basa la función de onda $|\Psi\rangle$ — serán aquellos que minimicen dicha energía:

$$E_{el} = \langle \Psi | \hat{H}_{el} | \Psi \rangle. \quad (\text{B.11})$$

Para hallar el mínimo de E_{el} puede emplearse el método variacional, también conocido como variación de parámetros aplicado a la función de tipo Slater. Esta aproximación se conoce como Método de Hartree-Fock (HF). La teoría HF resulta esencial en varios sentidos, pues representa la primera aproximación que logra describir de forma razonable sistemas moleculares multieletrónicos.

La determinación de los orbitales moleculares puede realizarse mediante aproximaciones numéricas basadas en mallas de integración o bien representando cada orbital molecular como combinación lineal de orbitales atómicos (generalmente, funciones base gaussianas centradas en los átomos). La energía electrónica de Hartree-Fock, E_{HF} , se expresa en términos de operadores mono- y bielectrónicos:

$$E_{HF} = \sum_{i=1} \langle h \rangle_i + \frac{1}{2} \sum_{i,j} \langle ij | ij \rangle. \quad (\text{B.12})$$

En general, dicha energía depende de los orbitales moleculares y puede minimizarse con el método variacional, imponiendo ortonormalidad a los orbitales por medio de multiplicadores de Lagrange. Sea F el funcional de la energía de Hartree-Fock con la restricción de ortonormalidad (Ecuación B.13). Los multiplicadores λ_{ij} aparecen como incógnitas en el proceso variacional:

$$F[\{\chi_i\}] = E_{HF}[\{\chi_i\}] - \lambda_{ij} (\langle i | j \rangle - \delta_{ij}). \quad (\text{B.13})$$

$$\delta\{F[\{\chi_i\}]\} = \delta\{E_{HF}[\{\chi_i\}] - \lambda_{ij} (\langle i | j \rangle - \delta_{ij})\} = F[\{\chi_i + \delta\chi_i\}] - F[\{\chi_i\}] = 0 \quad (\text{B.14})$$

Al tomar la primera variación de este funcional y resolver las derivadas resultantes, surgen las ecuaciones de Hartree-Fock, cuyos autovalores λ_i representan la energía de cada orbital:

$$h(\mathbf{x}_1) \chi_i(\mathbf{x}_1) + \sum_{j \neq i} \left[\int d\mathbf{x}_2 |\chi_j(\mathbf{x}_2)|^2 r_{12}^{-1} \right] \chi_i(\mathbf{x}_1) - \sum_{j \neq i} \left[\int d\mathbf{x}_2 \chi_j^*(\mathbf{x}_2) \chi_i(\mathbf{x}_2) r_{12}^{-1} \right] \chi_j(\mathbf{x}_1) = \lambda_i \chi_i(\mathbf{x}_1). \quad (\text{B.15})$$

El segundo término de la Ecuación B.15 se conoce como *operador de Coulomb*, $\hat{J}_j(\mathbf{x}_1)$, y el tercero define el *operador de intercambio*, $\hat{K}_j(\mathbf{x}_1)$:

$$\text{Operador de Coulomb:} \quad \hat{J}_j(\mathbf{x}_1) \chi_i(\mathbf{x}_1) = \left[\int d\mathbf{x}_2 |\chi_j(\mathbf{x}_2)|^2 r_{12}^{-1} \right] \chi_i(\mathbf{x}_1), \quad (\text{B.16})$$

$$\text{Operador de intercambio:} \quad \hat{K}_j(\mathbf{x}_1) \chi_i(\mathbf{x}_1) = \left[\int d\mathbf{x}_2 \chi_j^*(\mathbf{x}_2) \chi_i(\mathbf{x}_2) r_{12}^{-1} \right] \chi_j(\mathbf{x}_1). \quad (\text{B.17})$$

Puede reescribirse la Ecuación B.15 como

$$\left[\hat{h}(\mathbf{x}_1) + \sum_{j \neq i} (\hat{J}_j(\mathbf{x}_1) - \hat{K}_j(\mathbf{x}_1)) \right] \chi_i(\mathbf{x}_1) = \lambda_i \chi_i(\mathbf{x}_1),$$

definiendo el *operador de Fock* $\hat{f}$, que combina los aportes monoelectrónicos y las contribuciones de Coulomb e intercambio:

$$\hat{f} = \hat{h}(\mathbf{x}_1) + \sum_j (\hat{J}_j(\mathbf{x}_1) - \hat{K}_j(\mathbf{x}_1)).$$

Las ecuaciones de Hartree-Fock adoptan así la forma:

$$\boxed{\hat{f} \chi_i = \lambda_i \chi_i, \quad i = 1, \dots, n.} \quad (\text{B.18})$$

Cada orbital χ_i es proyectado a un espacio vectorial finito de k funciones base,

$$\chi_i(\mathbf{x}_1) = \sum_{\mu=1}^k C_{\mu i} g_{\mu}(\mathbf{x}_1),$$

y al insertar esta representación en la Ecuación B.18, se obtiene

$$\hat{f} \left(\sum_{\mu=1}^k C_{\mu i} g_{\mu}(\mathbf{x}_1) \right) = \lambda_i \left(\sum_{\mu=1}^k C_{\mu i} g_{\mu}(\mathbf{x}_1) \right).$$

Multiplicando por el conjugado de la función base $g_{\nu}^*(\mathbf{x}_1)$ e integrando, se llega a la Ecuación B.19, que se simplifica introduciendo las matrices $\mathbb{S}$ y $\mathbb{F}$ a través de:

$$S_{\nu\mu} = \int d\mathbf{x}_1 g_{\nu}^*(\mathbf{x}_1) g_{\mu}(\mathbf{x}_1), \quad F_{\nu\mu} = \int d\mathbf{x}_1 g_{\nu}^*(\mathbf{x}_1) \hat{f} g_{\mu}(\mathbf{x}_1).$$

De este modo se llega a las *ecuaciones de Hartree-Fock-Roothan*, resumidas en la Ecuación B.20:

$$\sum_{\mu=1}^k C_{\mu i} \int d\mathbf{x}_1 g_{\nu}^*(\mathbf{x}_1) \hat{f} g_{\mu}(\mathbf{x}_1) = \lambda_i \sum_{\mu=1}^k C_{\mu i} \int d\mathbf{x}_1 g_{\nu}^*(\mathbf{x}_1) g_{\mu}(\mathbf{x}_1), \quad (\text{B.19})$$

$$\boxed{\mathbf{HC} = \mathbf{SC}\epsilon} \quad (\text{B.20})$$

donde ϵ corresponde a la matriz diagonal de autovalores λ_i y el proceso iterativo para resolverlo se denomina método de campo autoconsistente o *self-consistent field* (SCF). El método de Roothan está implementado en los principales paquetes computacionales de estructura electrónica.

B.3.2 Métodos post-HF

Para superar las limitaciones del método de Hartree–Fock, el cual emplea un solo determinante de Slater y no describe adecuadamente la correlación electrónica, se desarrollaron métodos *post*-HF. Dentro de este marco, se distingue entre la *correlación dinámica* y la *correlación estática* ².

Entre los enfoques monodeterminantales destacan la *teoría de perturbaciones* de Møller–Plesset en segundo orden (MP2), que corrige de modo perturbativo la energía de HF para incluir la correlación dinámica, y la *teoría de cúmulos acoplados* (CCSD y CCSD(T)), la cual introduce un operador exponencial de excitaciones electrónicas. Estas aproximaciones resultan eficaces si el determinante de HF describe razonablemente el estado fundamental, capturando bien la correlación dinámica.

Sin embargo, cuando la correlación estática es relevante, se requiere recurrir a métodos multireferenciales ³. Por ejemplo, en el método de interacción de configuraciones (CI) puede distinguirse entre cálculos de referencia única ⁴ (single-reference CI) y aquellos métodos que incluye múltiples referencias de partida ⁵. Un caso representativo es el CASSCF (Complete Active Space Self-Consistent Field), donde se selecciona un espacio activo de orbitales clave y se consideran todas las configuraciones posibles en ese espacio, optimizando simultáneamente la combinación lineal de configuraciones y los propios orbitales. Asimismo, CASPT2 (Complete Active Space Second-Order Perturbation Theory) añade una corrección perturbativa de segundo orden sobre CASSCF para refinar la correlación dinámica.^{163,165,168}

B.3.3 Teoría del propagador del electrón

Entre las metodologías adicionales para el cálculo de la I y la A [Ver sección B.7], es destacable la teoría del propagador del electrón (EPT por sus siglas en inglés). Esta teoría y algunas otras variantes se basan en la función de Green mono-electrónica la cual permite obtener los valores de las energías orbitales como los polos de la función de Green.

Formulación EPT

Los orbitales de Dyson se definen en términos de la integral de traslape entre la función de onda del estado de referencia y las funciones de onda finales con N-1 o N+1 electrones. La energía de un desprendimiento electrónico que involucra a un estado de referencia electrónico Ψ_N con N electrones y al i-ésimo estado final $\Psi_{i,N-1}$ con N-1 electrones viene dada en términos del orbital de Dyson de la Ec. B.21 mientras que si el electrón es ligado al i-ésimo estado final

²La correlación dinámica se vincula con fluctuaciones instantáneas electrón–electrón que la aproximación promedio de HF no captura bien, y se corrige con métodos perturbativos o de cúmulos acoplados (p. ej., MP2 o CCSD(T)). Por otro lado, la correlación estática aparece en sistemas con estados casi degenerados o niveles electrónicos muy próximos, requiriendo métodos multireferenciales (p. ej., CASSCF o CASPT2). Véase <https://chemistry.stackexchange.com/questions/59549/what-is-the-difference-between-dynamic-and-static-electronic-correlation> para mayores detalles.

³Para una discusión entre esquemas multi-configuracionales y multireferenciales, consultar <https://chemistry.stackexchange.com/questions/103387/what-exactly-is-meant-by-multi-configurational-and-multireference>.

⁴En este contexto, “referencia única” significa que los orbitales se optimizan asumiendo una única multiplicidad de espín (por ejemplo, singlete, doblete, triplete, etc.) y se realizan excitaciones sobre este determinante.

⁵En tales métodos, se eligen varios determinantes de referencia, cada uno optimizando orbitales bajo distintas multiplicidades de espín, para luego generar excitaciones desde cada determinante de forma individual

$\Psi_{i,N+1}$ con $N+1$ electrones el orbital de Dyson toma la forma de la Ec. B.22.

$$\phi_i^{Dyson}(x_1) = \sqrt{N} \int \Psi_N(x_1, x_2, \dots, x_N) \Psi_{i,N-1}^*(x_2, x_3, \dots, x_N) dx_2 \dots dx_N \quad (B.21)$$

$$\phi_i^{Dyson}(x_1) = \sqrt{N+1} \int \Psi_N^*(x_2, \dots, x_N, x_{N+1}) \Psi_{i,N+1}(x_1, \dots, x_{N+1}) dx_2 \dots dx_{N+1} \quad (B.22)$$

Los orbitales de Dyson no se encuentran necesariamente normalizados; de hecho, la norma de estos orbitales recibe el nombre de “*Pole Strenght (PS)*” y está relacionada con las probabilidades de transición de los espectros de emisión electrónica. El PS viene dado por la ecuación B.23 y los valores de PS deben tener un valor por arriba de 0.8-0.85 para confiar en las energías asociadas.

$$PS_i = \int \left| \phi_i^{Dyson}(\mathbf{x}) \right|^2 d\mathbf{x} \quad (B.23)$$

La ecuación inversa de Dyson que relaciona las energías orbitales para cada orbital de Dyson viene dada por la Ec. B.24 donde $\hat{f}$ es el operador de Fock de la Ec B.18, ϵ_i es la energía del i -ésimo orbital de Dyson y $\hat{\Sigma}(E)$ es el operador de auto-energía el cual es un operador no local que depende de la energía y contiene los efectos de relajación orbital así como efectos de la correlación electrónica.¹⁶³

$$\left[\hat{f} + \hat{\Sigma}(E) \right] \phi_i^{Dyson} = \epsilon_i \phi_i^{Dyson} \quad (B.24)$$

Aproximación P3

Para simplificar el problema impuesto por la Ec. B.24 se pueden despreciar los elementos no diagonales del operador en su forma matricial representado en la base de los orbitales canónicos HF (orbitales ortonormales HF); lo cual permite expresar a la energía como $E = \epsilon_k^{HF} + \Sigma_{kk}(E)$ en donde k es el orbital canónico con energía ϵ_k . En esta simplificación el PS se evalúa por la expresión $PS_k = \left(1 - \frac{d\Sigma_{kk}(E)}{dE} \right)^{-1}$ y los orbitales de Dyson vienen dados por la Ec. B.25, donde ϕ_k^{HF} es el k -ésimo orbital HF canónico.

$$\phi_k^{Dyson} = \sqrt{PS_k} \phi_k^{HF} \quad (B.25)$$

Los efectos de correlación electrónica y de relajación orbital son tomados en cuenta por los elementos diagonales $\Sigma_{kk}(E)$. Este operador puede ser expandido en una serie perturbativa y el método P3 consiste en tomar en cuenta todas las perturbaciones de segundo orden y algunas de las perturbaciones de tercer orden, en tanto que la llamada aproximación OGVF (Outer Valance Green Function) toma en cuenta todas las posibles perturbaciones de tercer orden. Para los aniones se llegan a tomar en cuenta algunas perturbaciones de orden superior para una mejor descripción en la aproximación P3+ y en la versión B de OGVF.

B.4 Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT)

La teoría de funcionales de la densidad (DFT) constituye una alternativa robusta a los métodos basados en funciones de onda para abordar problemas de estructura electrónica en sistemas moleculares. Aunque originalmente desarrollada en el contexto de la física del estado sólido, en los años 90's la DFT se popularizó en química cuántica por su compromiso entre precisión y costo computacional.

La DFT se fundamenta en los teoremas de Hohenberg y Kohn, los cuales establecen que para un sistema basal no degenerado:

1. La densidad electrónica $\rho(\mathbf{r})$ determina de manera única el potencial externo $V_{\text{ext}}(\mathbf{r})$ (y, por ende, el Hamiltoniano electrónico).
2. Toda la información del estado fundamental, incluida la energía y propiedades electrónicas, está contenida en $\rho(\mathbf{r})$.

En consecuencia, la energía electrónica se expresa como un funcional de la densidad:

$$E[\rho] = T_s[\rho] + \int \rho(\mathbf{r}) V_{\text{ext}}(\mathbf{r}) d\mathbf{r} + J[\rho] + E_{xc}[\rho], \quad (\text{B.26})$$

donde:

- $T_s[\rho]$ es la energía cinética del sistema de electrones no interactuantes que reproduce la misma densidad.
- $\int \rho(\mathbf{r}) V_{\text{ext}}(\mathbf{r}) d\mathbf{r}$ representa la interacción atractiva entre electrones y el potencial externo (generado, por ejemplo, por los núcleos).
- $J[\rho] = \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(\mathbf{r})\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|} d\mathbf{r} d\mathbf{r}'$ es la energía de repulsión electrostática (energía de Hartree).
- $E_{xc}[\rho]$ es el funcional de intercambio y correlación, que incluye todos los efectos cuánticos (tanto de intercambio como de correlación) no capturados en los términos anteriores.

El enfoque práctico propuesto por Kohn y Sham consiste en introducir un sistema auxiliar de electrones no interactuantes, cuyos orbitales $\{\varphi_i(\mathbf{r})\}$ generan la misma densidad $\rho(\mathbf{r})$ del sistema real. Así, se obtienen las **ecuaciones de Kohn-Sham**:

$$\left[-\frac{1}{2}\nabla^2 + V_{\text{ext}}(\mathbf{r}) + V_H(\mathbf{r}) + V_{xc}(\mathbf{r}) \right] \varphi_i(\mathbf{r}) = \varepsilon_i \varphi_i(\mathbf{r}), \quad i = 1, \dots, N, \quad (\text{B.27})$$

donde

$$V_H(\mathbf{r}) = \int \frac{\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|} d\mathbf{r}',$$

$$V_{xc}(\mathbf{r}) = \frac{\delta E_{xc}[\rho]}{\delta \rho(\mathbf{r})}.$$

La solución de (B.27) se realiza de forma autoconsistente, y la precisión del método depende fundamentalmente de la aproximación elegida para $E_{xc}[\rho]$. Las aproximaciones más utilizadas incluyen la LDA, GGA y los funcionales híbridos, cada una con sus ventajas y limitaciones para la descripción de sistemas moleculares.

B.5 Optimización de geometría, confórmeros y tautómeros

La determinación de la geometría óptima de una molécula es esencial, puesto que la energía y las propiedades químicas dependen directamente de la disposición espacial de los átomos. La búsqueda del mínimo en la superficie de energía potencial (PES) se basa en la resolución de la condición

$$\nabla_{\mathbf{x}_i} E = \frac{\partial E}{\partial X_i} + \frac{\partial E}{\partial Y_i} + \frac{\partial E}{\partial Z_i} = 0 \quad (i = 1, \dots, M), \quad (\text{B.28})$$

donde (X_i, Y_i, Z_i) son las coordenadas del i -ésimo núcleo.

Para alcanzar un mínimo de la PES, se emplean algoritmos numéricos de optimización, como el método de Newton-Raphson, el gradiente conjugado o algoritmos quasi-Newton (por ejemplo, BFGS). Estos van ajustando las coordenadas atómicas de manera iterativa, reduciendo el gradiente de la energía hasta cumplir criterios de convergencia preestablecidos.

Una vez obtenida una geometría que satisface la condición (B.28), es preciso verificar su naturaleza mediante el cálculo de las frecuencias vibracionales. Para ello se evalúa la matriz Hessiana, es decir, la matriz de segundas derivadas parciales de la energía respecto a las coordenadas atómicas. La inexistencia de frecuencias imaginarias (o bien, la presencia exclusiva de frecuencias reales) confirma que la estructura corresponde a un mínimo (local o global); la aparición de frecuencias imaginarias implicaría, en cambio, un punto silla (estado de transición).¹⁶⁸

Adicionalmente, es primordial llevar a cabo un análisis conformacional exhaustivo, especialmente en moléculas flexibles que puedan presentar múltiples conformaciones (múltiples mínimos locales en la PES). Identificar mínimos

energéticos de las configuraciones moleculares resulta clave para predecir sus propiedades reactivas y estabilidad termodinámica. Para tal fin, se recurren a estrategias de búsqueda (muestreo aleatorio, algoritmos genéticos o métodos sistemáticos) que permiten examinar el espacio conformacional, optimizando posteriormente cada estructura candidata.

La optimización geométrica puede realizarse tanto en fase gas como incluyendo efectos de solvatación. El solvente puede modificar la geometría óptima, especialmente en moléculas con sitios polares o capaces de formar puentes de hidrógeno. En estos casos se usan modelos de solvatación implícita (por ejemplo, PCM o SMD), que simulan el entorno del solvente como un medio polarizable con cierta constante dieléctrica, sin necesidad de tratar cada molécula de disolvente en forma explícita.¹⁶⁹

Tal aproximación es especialmente relevante para estudios en desarrollo de fármacos, donde las interacciones soluto-solvente inciden significativamente en la reactividad, la solubilidad y la conformación de las moléculas bioactivas. La correcta optimización geométrica y el estudio conformacional proveen la base estructural de cálculos posteriores (propiedades espectroscópicas, energías de reacción, índices de reactividad, etc.), esenciales para el modelado y diseño racional de fármacos.

Tras seleccionar el conformero más estable, conviene tomar en cuenta la existencia de equilibrios tautoméricos y, en caso de darse, calcular las abundancias relativas de las especies tautoméricas en el solvente de interés. Cuando poblaciones no despreciables de varios tautómeros coexisten, deben considerarse de forma simultánea.

B.5.1 El factor de boltzmann

Cuando se tienen varios conformeros (o tautómeros) es necesario cuantificar sus abundancias relativas mediante el factor de Boltzmann dado por la Ecuación (B.29), de esta manera se puede considerar si es necesario conservar más de una estructura para el estudio.

$$p_i = \frac{\exp(-\Delta U_{\text{rel}}/RT)}{\sum_{i=1}^N \exp(-\Delta U_{\text{rel}}/RT)}, \quad (\text{B.29})$$

donde N es la cantidad de estructuras examinadas, $\Delta U_{\text{rel}} = U_i - U_{\text{min}}$ siendo U_i la energía del conformero (o tautómero) i , y U_{min} la menor energía entre todas las conformaciones (o tautómeros). La constante R es la constante universal de los gases, y T la temperatura de trabajo que es usada para definir la distribución de Maxwell-Boltzmann.

B.6 Métodos de solvente

Un aspecto fundamental en la química computacional es evaluar los efectos del entorno sobre el sistema molecular. Dado que la inmensa mayoría de las reacciones químicas se llevan a cabo en solución –ya sea en el organismo o en el laboratorio– es imprescindible incluir el efecto del solvente en el modelado teórico. La omisión de estos efectos puede conducir a estimaciones erróneas de la estabilidad, geometría y propiedades termodinámicas de las moléculas.

Para representar los efectos del solvente, se han desarrollado numerosos modelos, los cuales pueden clasificarse en tres grandes grupos:¹⁷⁰

- *Modelos implícitos o continuos*: Se asume que las moléculas de solvente pueden ser reemplazadas por un medio homogéneamente polarizable. Estos métodos, generalmente los más eficientes en términos computacionales, ofrecen descripciones razonables del efecto solvente, aunque pueden no captar las fluctuaciones locales en la densidad del solvente, fenómeno relevante en sistemas con solventes fuertemente polarizantes, como el agua.
- *Modelos explícitos*: Incluyen directamente las moléculas de solvente, incorporando sus coordenadas y grados de libertad. Aunque este enfoque proporciona una descripción física más detallada (por ejemplo, permitiendo

capturar enlaces de hidrógeno y otros efectos específicos), su coste computacional es considerable y, en ocasiones, los ajustes y parametrizaciones pueden limitar la precisión.

- *Modelos mixtos*: Combinan ambos enfoques, tratando de incluir explícitamente la primera capa de solvatación mientras se modela el resto del entorno con un medio continuo. Esta estrategia busca equilibrar precisión y eficiencia.

Cada uno de estos enfoques se puede subdividir según la base teórica empleada (mecánica clásica o cuántica). En la mayoría de los estudios relacionados con sistemas biológicos y fármacos, el solvente de mayor interés es el agua, por lo que la mayoría de los modelos se han orientado a su descripción.

Los efectos de solvatación se pueden particionar en dos grupos principales:

1. Solvatación no específica (largo alcance):
 - (a) Polarización.
 - (b) Orientación dipolar.
2. Solvatación específica (corto alcance):
 - (a) Enlaces de hidrógeno.
 - (b) Interacciones de van der Waals.
 - (c) Estructura de las capas de solvatación.
 - (d) Dinámica de solvente-soluto.
 - (e) Efectos de transferencia de carga.
 - (f) Efectos hidrofóbicos (entrópicos).

B.6.1 Modelos de solvente continuo

Los modelos de solvente continuo consideran al disolvente como un medio polarizable, caracterizado por una constante dieléctrica ϵ , en el que el soluto se ubica dentro de una cavidad adecuadamente definida (por ejemplo, mediante la superposición de esferas centradas en cada átomo del soluto).^{169,171} La creación de la cavidad conlleva un costo energético (desestabilización), que se compensa en parte con las interacciones de dispersión entre el soluto y el solvente, a veces denominadas conjuntamente como dispersión/repulsión. La distribución de carga del soluto polariza el medio, induciendo momentos de carga que, a su vez, generan un campo de reacción estabilizador. En este marco, la energía libre de solvatación se expresa de la siguiente forma:

$$\Delta G_{\text{solvatación}} = \Delta G_{\text{cavidad}} + \Delta G_{\text{dispersión}} + \Delta G_{\text{electrónico}} \quad (\text{B.30})$$

Los modelos de campo de reacción difieren en la forma en que se define la cavidad, se parametriza la contribución de cavidad/dispersión, se representa la distribución de carga del soluto, se describe el soluto (con campos de fuerza o cálculos cuánticos) y se caracteriza el medio dieléctrico.

La forma más simple de definir la cavidad es mediante una esfera o elipsoide, lo que permite cálculos analíticos de la interacción electrostática. Sin embargo, modelos más realistas utilizan cavidades con la forma específica del soluto, generadas por la superposición de esferas centradas en cada núcleo.

B.6.2 El modelo SMD

El modelo SMD (Solvation Model based on solute electron Density)¹⁰⁵ es un enfoque implícito en el que la parte electrónica se trata a través de un campo de reacción autoconsistente. En este modelo, la cavidad se define como una superposición de esferas centradas en los núcleos del soluto, lo que permite calcular la contribución electrostática a la energía de solvatación, tal como se expresa en la Ec. (B.30). SMD optimiza los radios en especies iónicas y utiliza esos

parámetros como punto de partida para ajustar las especies neutras; dichos radios, denominados “radios de Coulomb”, se optimizan de forma sistemática en el proceso autoconsistente.

Para definir la cavidad, el modelo SMD tiene en cuenta la geometría y los números atómicos de los núcleos, junto con descriptores semiempíricos como la constante dieléctrica, el índice de refracción, la tensión superficial y los efectos de interacciones de corto alcance (cavitación, dispersión y estructura local del solvente). A diferencia de otros métodos que representan al soluto mediante cargas atómicas parciales, SMD utiliza la densidad electrónica obtenida de cálculos cuánticos, lo que elimina la ambigüedad en la elección del esquema de partición de cargas y amplía su aplicabilidad.

El modelo SMD está parametrizado con 2821 energías de solvatación experimentales de moléculas compuestas por H, C, N, O, F, Si, P, S, Cl y Br, abarcando 274 datos para solutos neutros en agua, 2072 para solutos en 90 solventes orgánicos y 332 para cationes y aniones en solventes como agua, acetonitrilo, dimetilsulfoxido y metanol. Además, SMD utiliza parámetros optimizados en seis métodos de estructura electrónica (por ejemplo, M05-2X/6-31G*, B3LYP/6-31G*, HF/6-31G*, entre otros), logrando errores de 0.6–1.0 kcal/mol para moléculas neutras y de aproximadamente 4 kcal/mol para iones.

Esta estrategia de modelado del solvente permite incorporar de manera eficiente el efecto del entorno sin incurrir en el elevado costo computacional de tratar explícitamente a todas las moléculas de disolvente.

B.7 Descriptores de reactividad: IE, EA y BDE

Definiciones y variantes geométricas

Los índices y descriptores de reactividad química constituyen herramientas para predecir la reactividad de átomos y moléculas. Dichos índices suelen clasificarse en dos categorías: globales, que evalúan la reactividad de la molécula en su totalidad, y locales, que permiten analizar regiones específicas de la misma. A su vez, estos índices pueden subdividirse en verticales o adiabáticos:

Energía vertical: Energía para generar el ion sin relajar la geometría, es decir, manteniendo la misma conformación que la de la especie neutra, g_N .

Energía adiabática: Energía necesaria para formar un ion en su estado vibracional fundamental, incluyendo la relajación geométrica de la especie que pierde un electrón (g_{N-1}) o de la especie que gana uno (g_{N+1}).

Los índices de reactividad más conocidos son la energía de ionización (IE), energía necesaria para remover un electrón de la especie neutra; y la afinidad electrónica (EA), energía liberada al adicionar un electrón (o, equivalentemente, la energía para removerlo del anión⁶). Las expresiones para sus valores verticales y adiabáticos son:

$$\begin{aligned} \text{Vertical: } IE &= E_{N-1}(g_N) - E_N(g_N), & EA &= E_N(g_N) - E_{N+1}(g_N), \\ \text{Adiabática: } IE &= E_{N-1}(g_{N-1}) - E_N(g_N), & EA &= E_N(g_N) - E_{N+1}(g_{N+1}). \end{aligned}$$

Aquí $E_M(g_X)$ denota la energía electrónica del sistema con M electrones evaluada en la geometría g_X .

Además de IE y EA , se han definido otros descriptores derivados para caracterizar la reactividad de un sistema. La Tabla B.1 presenta un resumen:

Una forma directa de aproximar los valores de IE y EA es bajo una suposición de “orbitales congelados” donde no se permite la relajación de orbitales al ionizar (o adicionar) el electrón, lo que conlleva errores particularmente grandes en la determinación de la afinidad electrónica. Esta aproximación es conocida como aproximación de Koopmans (en

⁶Si la afinidad electrónica es negativa, la especie tiene poca tendencia a aceptar electrones.

Tabla B.1: Descriptores químicos de reactividad basados en IE y EA verticales

Descriptor	Acrónimo	Cálculo	Interpretación
Electrofilicidad	ω	$\frac{(IE + EA)^2}{8(I - A)}$	Indica la tendencia a aceptar electrones; en una reacción bimolecular, la molécula con mayor ω se espera que actúe como electrófilo.
Potencia electrodonadora	$\bar{\omega}^-$	$\frac{(3IE + AE)^2}{16(IE - EA)}$	Mide la capacidad del sistema para donar carga fraccionaria; valores bajos implican una mayor tendencia a actuar como donador.
Potencia electroaceptora	$\bar{\omega}^+$	$\frac{(IE + 3AE)^2}{16(IE - EA)}$	Evalúa la capacidad del sistema para aceptar carga fraccionaria; valores altos indican mayor capacidad de aceptación.
Potencial Químico	μ	$-\frac{IE + EA}{2}$	Representa la tendencia de los electrones a fluir desde regiones de alto potencial hacia regiones de bajo potencial.
Dureza química	η	$\frac{IE - EA}{2}$	Mide la resistencia del sistema a la deformación de su densidad electrónica, es decir, a la transferencia de electrones.
Entalpía de disociación de enlace	BDE	$E(D) + E(H) - E(DH)$	Cuantifica la energía necesaria para romper el enlace entre un hidrógeno y el átomo donador en compuestos que actúan como donadores de hidrógeno.

métodos de función de onda) y de Perdew–Levy (en DFT), donde se asume que

$$IE = -E_{\text{HOMO}}(g_N),$$

$$AE = -E_{\text{LUMO}}(g_N),$$

Aproximación ΔSCF

En contraste, la aproximación ΔSCF se basa en la diferencia de energías electrónicas entre la especie neutra y las especies con $N \pm 1$ electrones, de forma *vertical* o *adiabática*:

$$\begin{array}{ll} \text{Vertical :} & \text{Adiabática:} \\ IE = E_{N-1}(g_N) - E_N(g_N), & IE = E_{N-1}(g_{N-1}) - E_N(g_N), \\ EA = E_N(g_N) - E_{N+1}(g_N), & EA = E_N(g_N) - E_{N+1}(g_{N+1}). \end{array}$$

En trabajos iniciales de esta tesis se empleó ΔSCF *vertical*, lo que permitió, además, estimar descriptores de DFT conceptual que requieren IE/EA verticales. En sistemas más recientes se adoptó ΔSCF *adiabática*; sin embargo en este esquema ya no es posible reportar descriptores de DFT conceptual dependientes de IE/EA verticales.

Ponderación por poblaciones

Cuando existen varios confórmeros o tautómeros relevantes, los descriptores se promedian con factores de Boltzmann a 298.15 K en el solvente del cálculo:

$$X = \sum_{i=1}^N P_i X_i, \quad P_i = \frac{e^{-\Delta G_i/RT}}{\sum_j e^{-\Delta G_j/RT}},$$

donde $X \in \{IE, EA\}$. La definición de P_i y detalles de su obtención se encuentran en la Sección B.5.1.

Entalpías de disociación de enlace (BDE)

La fortaleza de los enlaces de hidrógeno refleja la capacidad de un sistema para llevar a cabo reacciones formales de transferencia de hidrógeno (*f*-HAT Formal Hydrogen Atom Transfer). Para cuantificarlas se usan las entalpías de disociación de enlace a 298.15 K, definida como la energía necesaria para la ruptura homolítica de una especie molecular, que da lugar a dos fragmentos radicalarios:

$$\text{BDE} = H(\text{H}_{r-1}\text{M}^n \cdot) + H(\cdot \text{H}) - H(\text{H}_r\text{M}^n),$$

con $H = E_{\text{electrónica}} + \Delta H_{\text{térmica}}(298.15 \text{ K})$ evaluada en el mismo nivel y solvente. Si hay varios sitios X-H (X = O, N, S, C_{sp3}), se reporta el conjunto de BDE y, cuando procede, un promedio ponderado por P_i si intervienen diferentes conformeros/tautómeros:

$$\text{BDE} = \sum_{i=1}^N P_i \text{BDE}_i.$$

B.8 Diagramas eH-DAMA

El diagrama eH-DAMA (*Electron and Hydrogen Donating Ability Map for Antioxidants*, Fig. B.1) posiciona, al pH de trabajo, las especies ácido-base con fracción molar $> 0.1\%$ para verificar la viabilidad de los mecanismos SET y *f*-HAT. El eje vertical corresponde a un descriptor electrónico y el eje horizontal a la entalpía de disociación de enlace X-H (BDE, a 298.15 K; X = O, N, S o C_{sp3}). Para el eje electrónico se emplea la IE cuando se analizan radicales de reactividad baja-intermedia, como hidroperoxilo; si el oxidante es altamente reactivo, como el radical hidroxilo, se recomienda usar un descriptor alternativo sensible al régimen invertido de Marcus, por ejemplo la electrofilicidad ω o la potencia electrodonadora ω^- . En el esquema adiabático, la IE recupera adecuadamente tendencias SET siempre que la exergonicidad de la reacción no supere, en términos prácticos, unas 25 kcal/mol; por encima de ese rango la IE deja de ser un buen predictor.

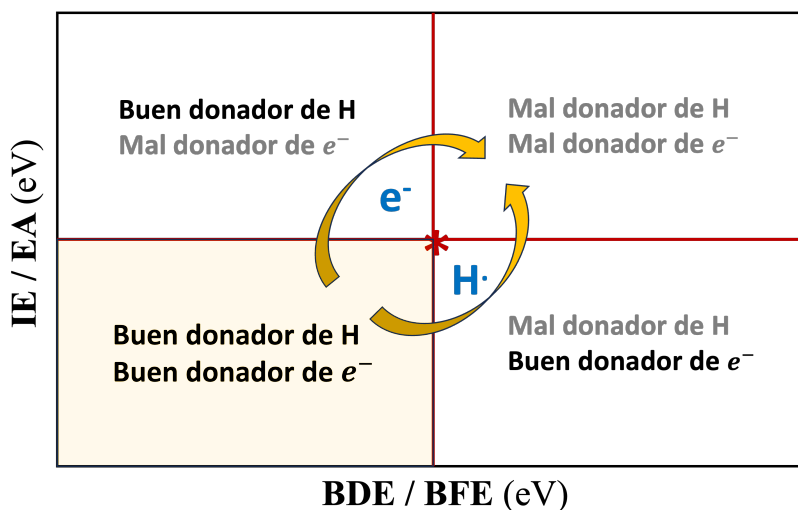


Figura B.1: Mapa de capacidad de donación de electrones e hidrógeno para antioxidantes (eH-DAMA).

En esta tesis se usaron tres variantes: (i) eH-DAMA-FRS (Free Radical Scavenging) para AOX-I: compara a los candidato(s) y antioxidantes de referencia contra radicales libres; zona inferior-izquierda indica mayor capacidad para eliminar radicales libres. (ii) eH-DAMA-AR (AOX-III): compara blancos oxidados (lípidos, proteínas, ADN) vs las especies ácido-base del antioxidante para verificar viabilidad de reparación. (iii) eH-DAMA-OS: compara radicales y oxidantes contra blancos biológicos para evaluar susceptibilidad al daño y, de ser el caso, el mecanismo dominante.

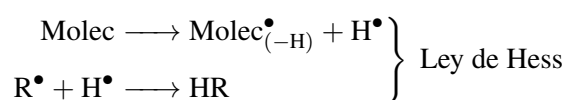
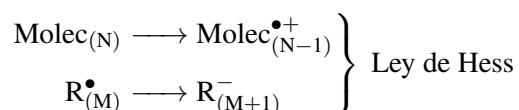
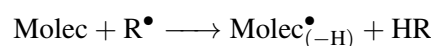
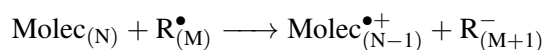
La posición relativa en eH-DAMA funciona como filtro racional y rápido. La confirmación requiere análisis termoquímico y cinético explícito en las condiciones del sistema, así como la integración con AOX-II (quelación y rutas OIL) y los protocolos de reparación de AOX-III. El diagrama no sustituye esos estudios; los ordena y prioriza con base en descriptores coherentes.

B.8.1 Conexión exacta entre eH-DAMA y la termodinámica de SET y *f*-HAT

Se adoptan las abreviaturas: Molec (molécula en estudio, $N e^-$, $R^\bullet$ (radical objetivo, $M e^-$, R^- (anión del radical tras ganar un e^-) y HR (radical tras ganar un H). En el mapa, para el radical no se usa $IE(R^\bullet)$ ni una “BDE” propia, sino $IE(R^-) \equiv EA(R^\bullet)$ (adiabática) y $BDE(HR)$ —equivalentemente, la entalpía de formación de enlace del radical, $BFE(R^\bullet)$ —, porque las semirreacciones relevantes de SET y *f*-HAT involucran al radical después de ganar el electrón o el átomo de hidrógeno.

SET (ΔSCF adiabático, identidad en ΔE)

f-HAT (identidad en ΔH)



$$\begin{aligned} \Delta E &= IE(\text{Molec}_{(N)}) - IE(R_{(M+1)}^-) \\ &= IE(\text{Molec}_{(N)}) + EA(R_{(M)}^\bullet) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \Delta H &= BDE(\text{Molec}-H) - BDE(HR) \\ &= BDE(\text{Molec}-H) + BFE(R^\bullet) \end{aligned}$$

$$IE_{\text{Molec}} < IE_{R^-} \iff \Delta E < 0$$

$\therefore$ SET viable

$$BDE_{\text{Molec}} < BDE_{HR} \iff \Delta H < 0$$

$\therefore$ *f*-HAT viable

Al usar IE (adiabáticas, nivel electrónico) para SET y BDE (entálpicas) para *f*-HAT, las diferencias en las posiciones verticales y horizontales en el eH-DAMA se corresponden exactamente con ΔE_{SET} y $\Delta H_{\text{f-HAT}}$ obtenidos por la ley de Hess. Los diagramas eH-DAMA se emplean como filtro inicial; la evaluación definitiva de espontaneidad y de velocidades se realiza con energías libres ΔG en el mismo nivel y solvente, aplicando correcciones vibracionales y entrópicas y, cuando corresponde, determinaciones cinéticas apropiadas (Marcus para SET; TST con correcciones de tunelaje para HAT). De este modo, el eH-DAMA guía la priorización y los estudios posteriores en ΔG confirman o descartan las hipótesis del mapa.

B.9 Estimación de constantes de acidez (pK_a)

La determinación teórica del pK_a presenta dos fuentes principales de error relacionadas con los protocolos de cálculo. La primera se asocia con los equilibrios ácido-base en los que suelen generarse especies cargadas. Cuando sólo uno de los lados de la reacción contiene iones, los errores relacionados con su tratamiento no tienden a cancelarse, a diferencia de lo que sucede en reacciones donde ambos lados presentan cargas similares.¹⁰⁷

El segundo inconveniente deriva de la forma de modelar el solvente.¹⁰⁷ Generalmente se emplean modelos continuos de tipo dieléctrico⁷; sin embargo, este enfoque puede no describir de manera satisfactoria las interacciones de corto

⁷Se presenta una descripción de métodos de solvatación en la página 162

alcance, cruciales para iones en solvente acuoso. Así, la calidad de los resultados depende en gran medida de la elección y los parámetros del modelo de solvatación utilizado.

Para mitigar dichos problemas, se ha propuesto el método de ajustes de parámetros de Galano y colaboradores,¹⁰⁷ el cual introduce dos parámetros empíricos (m y C_0). Estos se determinan a partir de un ajuste por mínimos cuadrados usando 74 niveles de teoría, con lo que se obtienen predicciones del pK_a requiriendo únicamente la diferencia de energía libre de Gibbs entre un ácido y su base conjugada en fase acuosa, $\Delta G_{s(AB)}$.

Los parámetros se obtienen ajustando $\Delta G_{s(AB)}$ contra valores experimentales de pK_a para ácidos carboxílicos, aminas, fenoles y tioles.¹⁰⁶ La relación que permite predecir el pK_a viene dada por:

$$pK_a = m \Delta G_{s(AB)} + C_0. \quad (B.31)$$

Los parámetros m y C_0 se seleccionan según el grupo funcional que se desprotona (fenoles, aminas, ácidos carboxílicos, tioles) y son específicos del nivel de teoría y del conjunto de bases empleados. La Tabla B.2 muestra los valores de la pendiente (m) y ordenada al origen (C_0) para la combinación M05-2X/6-311G(d,p). Con este esquema metodológico, se alcanza una precisión cercana a la incertidumbre experimental con un costo computacional razonable. No obstante, conviene señalar los límites de aplicabilidad. Dado que el ajuste de parámetros se basó en valores experimentales para un conjunto restringido de compuestos por grupo funcional, no todos los casos exhiben igual nivel de exactitud (aunque los errores estimados mediante este enfoque son, en general, menores a los de otras metodologías). Además, las estructuras consideradas en la parametrización rara vez presentan anillos con más de dos grupos funcionales, mientras que en el presente trabajo se examinan compuestos con tres o más grupos funcionales por anillo, lo cual merma en parte la confiabilidad de las predicciones.

Tabla B.2: Parámetros empíricos m y C_0 para la combinación M05-2X/6-311G(d,p).

Grupo funcional ionizable	m	C_0
Ácido carboxílico	0.356	-94.38
Amina	0.464	-121
Fenol	0.316	-81.497
Tiol	0.357	-94.639

Apéndice C

Reconocimiento molecular: detalles complementarios

Este apéndice conserva los elementos técnicos que no se desarrollan en el cuerpo principal de la tesis: la obtención operativa del farmacóforo de consenso, una síntesis de los alcances y límites del *docking*, los parámetros de referencia para dinámica molecular y el descriptor de similitud de interacciones usado como extensión estática del análisis multidiana. La preparación de proteínas y ligandos, la validación por *redocking*, el acoplamiento molecular, el *rescoring* y la dinámica molecular se describen en el Capítulo 1. Los índices multidiana empleados como parte de CADMA-Chem se presentan en el Capítulo ??.

C.1 Construcción del farmacóforo de consenso

El farmacóforo de consenso se construyó a partir de complejos proteína–ligando cristalográficos alineados sobre una misma diana. El objetivo fue obtener un mapa estadístico de características de reconocimiento: donadores y aceptores de puente de hidrógeno, regiones aromáticas, zonas hidrofóbicas, centros catiónicos, aniónicos o metálicos, según el sitio analizado. A diferencia de un farmacóforo derivado de un solo complejo, el modelo de consenso conserva la frecuencia y la varianza posicional de cada característica; por tanto, distingue contactos recurrentes del sitio activo de contactos particulares de un ligando específico.

Las estructuras se recuperaron del RCSB PDB mediante *Advanced Search*, filtrando por código UniProt, organismo fuente, método experimental y resolución ≤ 2.5 Å. Como ejemplo operativo, para COMT humana se empleó el código UniProt P30531 y se descargaron las entradas cristalográficas disponibles en formato PDBx/mmCIF. Las estructuras se alinearon en PyMOL contra una referencia de alta resolución mediante `extra_fit`, usando rechazo de *outliers*:

```
extra_fit *, reference, cycles=5, cutoff=2.0
```

La extracción de ligandos del sitio activo se realizó con `script_extraer_ligs.py`. El script selecciona moléculas orgánicas dentro de un radio definido respecto al ligando de referencia y genera un objeto `<pdb>_lig` por estructura:

```
extract_pocket_ligands(ligand_obj="ref_lig_obj", radius=1.0)
```

La selección excluye solventes y aditivos de cristalización comunes (H₂O, SO₄, PO₄, G₀L, ED₀, PEG). En dianas con más de una subregión de unión, como COMT, se verificó que los ligandos retenidos ocuparan la región funcional que se usaría para el acoplamiento de candidatos.

Para evitar que ligandos sobrerrepresentados en el PDB sesgaran el consenso, se contabilizó la frecuencia de cada residuo ligando con `script_numerar_repeticiones_ligs.py`:

```
resn_summary("ligands_pocket")
```

Los ligandos con frecuencia superior al umbral definido se consolidaron a una sola instancia mediante `script_eliminar_ligs_muy`.

```
collapse_frequent_resn("ligands_pocket", max_rep=4)
```

El conjunto depurado se exportó a SDF y se procesó con ConPhar.⁹⁶

```
conda env create -f ConPhar.yml
pip install conphar --no-deps
python ConPhar.py --files ligands_pocket.sdf
```

Los archivos relevantes para la tesis fueron `consensus_result.csv`, que contiene coordenadas, tipo de característica, peso y varianza posicional; `ConPhar_pymol.pse`, usado para inspección estructural; y `ConPhar_pharmit.json`, usado cuando se requirió evaluar coincidencia farmacofórica en Pharmit.

La visualización en PyMOL se realizó con `script_load_consensus_with_weight.py`:

```
load_consensus_with_weight("consensus_result.csv", prefix="consensus")
```

El color identifica el tipo de característica farmacofórica. La opacidad codifica el peso estadístico y el radio representa la varianza posicional. En el análisis de candidatos se priorizaron características con peso alto y varianza baja; las características de baja frecuencia o alta dispersión se usaron solo como información auxiliar.

C.2 Alcance del acoplamiento molecular

El *docking* aproxima el modo de unión de un ligando mediante una búsqueda de poses y una función de puntuación. En esta tesis se empleó como herramienta de cribado estructural, no como sustituto de una energía libre experimental de unión. Las energías de Vina se interpretaron dentro de cada diana y bajo las condiciones definidas en el Capítulo 1; cualquier comparación entre dianas se realizó mediante normalización frente a referencias internas, como se establece en el Capítulo ??.

Las funciones de puntuación usadas en *docking* pueden agruparse, de forma general, en funciones basadas en campos de fuerza, funciones empíricas, funciones derivadas de conocimiento estadístico y modelos de aprendizaje automático. Esta clasificación es operativa: varios programas combinan más de un enfoque y sus puntuaciones no son directamente intercambiables. La Figura C.1 resume esta taxonomía y ubica herramientas representativas según su motor de búsqueda y su función de puntuación.

La utilidad del *docking* depende de tres controles: reproducción de la pose cristalográfica por *redocking*, conservación de contactos del sitio funcional y estabilidad posterior de la pose cuando el complejo se refina por dinámica molecular. Por esta razón, una energía de acoplamiento favorable no se consideró suficiente para priorizar un candidato si la pose no conservaba interacciones compatibles con el sustrato natural o con el inhibidor de referencia.

C.3 Archivos .mdp de referencia

El protocolo de dinámica molecular se describe en el Capítulo 1. Aquí se conservan únicamente fragmentos de archivos .mdp usados como plantilla para reproducibilidad.

```
; minim.mdp
integrator = steep
emtol      = 1000.0
```

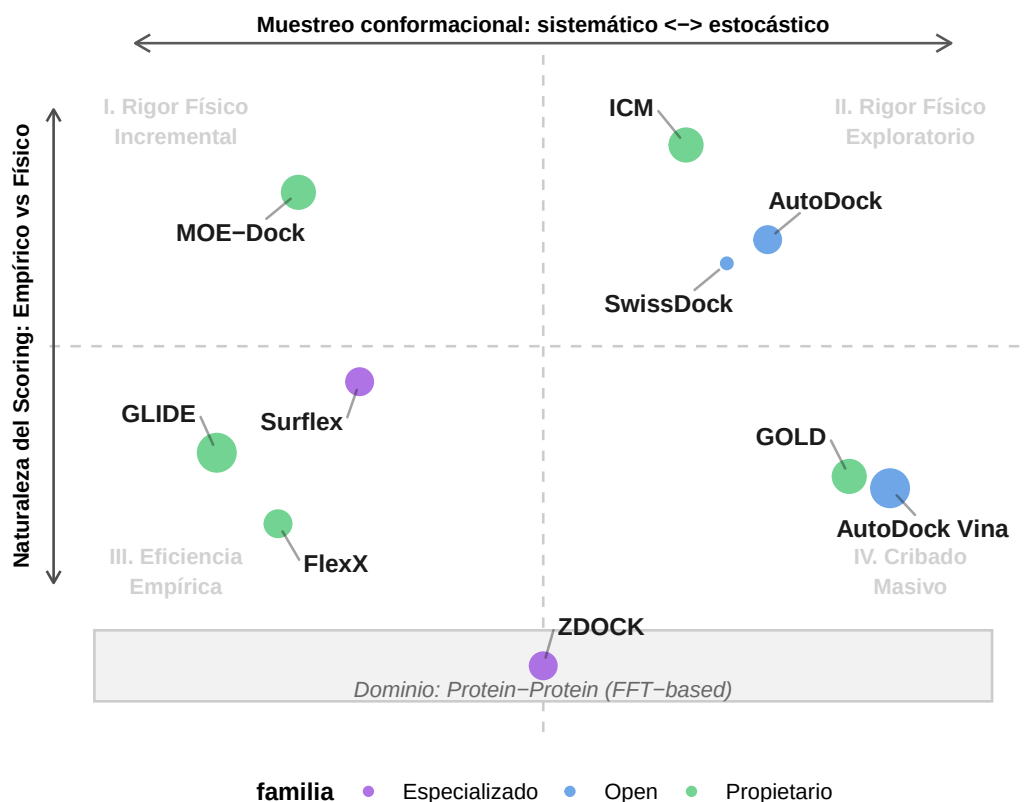


Figura C.1: Clasificación de software para *docking* basada en motores de búsqueda y funciones de puntuación. La ubicación es orientativa porque varios programas combinan heurísticas de búsqueda y funciones híbridas. El tamaño de los nodos representa robustez operativa. La zona de *docking* proteína-proteína se incluye como referencia metodológica, aunque no forma parte del protocolo aplicado en esta tesis.

```

emstep      = 0.01
nsteps      = 50000
cutoff-scheme = Verlet
coulombtype = PME
rcoulomb    = 1.0
rvdw        = 1.0

; nvt.mdp
integrator   = md
dt           = 0.002
nsteps      = 50000
tcoupl      = V-rescale
tc-grps     = Protein_LIG Water_and_ions
tau_t       = 0.1 0.1
ref_t       = 298.15 298.15
pcoupl      = no
constraints = h-bonds
constraint_algorithm = lincs

; npt.mdp
integrator   = md

```

```

dt          = 0.002
nsteps      = 500000
tcoupl      = V-rescale
ref_t       = 298.15 298.15
pcoupl      = Parrinello-Rahman
ref_p       = 1.0
tau_p       = 2.0
compressibility = 4.5e-5
constraints = h-bonds
constraint_algorithm = lincs

; md.mdp
integrator   = md
dt          = 0.002
nsteps      = 50000000
tcoupl      = V-rescale
ref_t       = 298.15 298.15
pcoupl      = Parrinello-Rahman
ref_p       = 1.0
coulombtype = PME
rcoulomb    = 1.0
rvdw        = 1.0
constraints = h-bonds
constraint_algorithm = lincs
nstxout-compressed = 500

```

C.4 Descriptor estático de similitud de interacciones

El Capítulo ?? define los índices multidiana usados en la versión consolidada de CADMA-Chem. Esta sección conserva un descriptor complementario para analizar poses estáticas de *docking*: la similitud entre la huella de interacciones de un candidato y la huella del ligando de referencia de la misma diana. El descriptor no reemplaza los índices basados en dinámica molecular; sirve para documentar de manera cuantitativa si una pose reproduce contactos estructuralmente relevantes.

Sea L un candidato, D una diana y $\text{ref}(D)$ el ligando de referencia de esa diana. Para cada pose se extrae una huella de interacciones con ProLIF.^{Bouysset_2021} La huella es un vector booleano indexado por pares (residuo, tipo de interacción), siguiendo el enfoque de los *interaction fingerprints* empleados en cribado virtual.^{Deng_2004, Brewerton_2008} Los tipos de interacción considerados son

$$\mathcal{F} = \{\text{HB}, \pi-\pi, \text{cat}-\pi, \text{puentes salinos}, \text{coordinación a metal}\}.$$

Para cada tipo de interacción $f \in \mathcal{F}$ se define $I_f(D)$ como el conjunto de instancias observables en el sitio activo de D . Cada instancia corresponde a un par específico, por ejemplo un puente de hidrógeno con un residuo determinado o una interacción aromática con un residuo del bolsillo. La función

$$M_f(i \mid L, D) \in \{0, 1\}$$

indica si la instancia $i \in I_f(D)$ está presente en la pose de L con la diana D .

La similitud por tipo de interacción se calculó mediante un coeficiente de Jaccard:

$$\text{Sim}_f(L, D) = \frac{\sum_{i \in I_f(D)} M_f(i \mid L, D) M_f(i \mid \text{ref}(D), D)}{\sum_{i \in I_f(D)} \max[M_f(i \mid L, D), M_f(i \mid \text{ref}(D), D)]} \in [0, 1]. \quad (\text{C.1})$$

El numerador cuenta las interacciones compartidas por el candidato y la referencia. El denominador cuenta las interacciones presentes en al menos uno de los dos ligandos. Una interacción presente solo en el candidato reduce la similitud porque indica desviación del patrón de referencia.

El índice de similitud de interacciones se obtiene agregando los tipos de contacto con pesos w_f :

$$\text{ISI}(L, D) = \sum_{f \in \mathcal{F}} w_f \text{Sim}_f(L, D), \quad \sum_{f \in \mathcal{F}} w_f = 1, \quad w_f \geq 0. \quad (\text{C.2})$$

Cuando no se dispone de evidencia para ponderar tipos de interacción específicos, se usa $w_f = 1/|\mathcal{F}|$. Un valor $\text{ISI} = 1$ indica que la pose del candidato reproduce la huella de interacciones de la referencia sin contactos adicionales dentro del conjunto considerado. Un valor $\text{ISI} = 0$ indica que no hay coincidencia entre ambas huellas.

Para incluir la especiación ácido–base sin redefinir el puntaje multidiana del Capítulo ??, la afinidad estática de *docking* puede ponderarse por fracción molar:

$$A_{\text{dock}}^W(L, D) = \sum_{s \in \mathcal{S}(L, \text{pH})} \chi_s(\text{pH}) A_{\text{dock}}(L_s, D), \quad A_{\text{dock}}(L_s, D) = -\Delta G_{\text{dock}}(L_s, D). \quad (\text{C.3})$$

Aquí $\mathcal{S}(L, \text{pH})$ es el conjunto de especies ácido–base de L consideradas a pH fisiológico y χ_s es la fracción molar de la especie s . Para evitar confusión con el índice dinámico de afinidad definido en CADMA-Chem, la normalización de esta afinidad estática se denota $\tilde{A}_{\text{dock}}$:

$$\tilde{A}_{\text{dock}}(L, D) = \frac{A_{\text{dock}}^W(L, D) - \min_{L' \in \mathcal{L}} A_{\text{dock}}^W(L', D)}{\max_{L' \in \mathcal{L}} A_{\text{dock}}^W(L', D) - \min_{L' \in \mathcal{L}} A_{\text{dock}}^W(L', D)}. \quad (\text{C.4})$$

La combinación de ISI y $\tilde{A}_{\text{dock}}$ permite reportar, por separado, dos propiedades de una pose: similitud estructural frente a la referencia y afinidad relativa dentro de la misma diana. En esta tesis el uso de estos descriptores se mantiene como análisis auxiliar; la priorización final se basa en los criterios definidos en el Capítulo ??.

Apéndice D

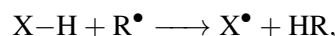
Capacidad antioxidante

D.1 AOX-I: Depuración de radicales libres usando QM-ORSA

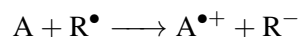
El protocolo QM-ORSA (Quantum Mechanics-based test for Overall Free Radical Scavenging Activity) permite estimar constantes de velocidad en solución, comparables con valores experimentales, para la reacción entre una molécula antioxidante y un radical, incorporando especiación ácido-base, termodinámica y cinética de todos los canales (rutas de reacción) plausibles.¹⁰⁸

La especiación ácido-base se calcula a partir de pK_a y rutas de deprotonación. A pH de trabajo, cada especie i contribuye con su fracción molar $\chi_i(\text{pH})$. Cuando hay tautómeros relevantes dentro de una misma especie, la contribución se pondera con el factor de Boltzmann a 298.15 K. Esta etapa es necesaria porque la reactividad de SET y HAT depende del estado de protonación; omitirla introduce sesgos en medios acuosos.

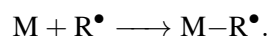
Para cada especie i y cada sitio reactivo s se consideran los mecanismos m que pueden operar frente al radical $R^\bullet$: transferencia formal de átomo de hidrógeno (HAT), transferencia electrónica simple (SET) y formación de aducto radicalario (RAF). Un canal cinético se define por la terna (i, s, m) . Antes de calcular barreras, se evalúa la espontaneidad con ΔG° a 298.15 K en el solvente del estudio y con un único nivel de teoría para todas las especies implicadas, con el fin de descartar canales endergónicos. En HAT se considera



en SET



y en RAF



La determinación de constantes de velocidad se obtiene con el marco teórico apropiado en cada mecanismo. En HAT y RAF, cuando se localiza el estado de transición, la constante activada se calcula con teoría del estado de transición,

$$k = \kappa \frac{k_B T}{h} \exp\left(-\frac{\Delta G^\ddagger}{RT}\right),$$

donde $\Delta G^\ddagger$ es la diferencia de energía libre entre el estado de transición y los reactivos en el mismo solvente del estudio. La corrección de tunelaje κ es necesaria cuando la barrera es baja y participan enlaces X-H ligeros (especialmente O-H, N-H); es común su estimación con la aproximación de Eckart. Para hacer la estimación de forma sencilla de la constante de tunelamiento se implementó en python: EasyRate2.0, Figura D.1, los detalles de la aproximación de Eckart pueden ser consultados más adelante en la sección D.1.1.

Si en un sitio s hay n hidrógenos equivalentes, se introduce el factor de degeneración $g_s = n$. La verificación de mínimos y estados de transición se hace por análisis de frecuencias (ausencia o presencia de una sola frecuencia imaginaria) y, cuando hay dudas de conectividad, con cálculos IRC. En SET, la energía de activación se obtiene con la teoría de Marcus en solución, dado que no hay movimientos nucleares,

$$\Delta G_{\text{SET}}^\ddagger = \frac{\lambda}{4} \left(1 + \frac{\Delta G_{\text{SET}}^\circ}{\lambda} \right)^2$$

La energía de reorganización λ puede estimarse de manera simple como

$$\lambda \approx \Delta E_{\text{SET}} - \Delta G_{\text{SET}}^\circ$$

o tomarse de valores validados para familias estructurales cercanas. La difusión en solución limita el valor observable de canales rápidos; ningún proceso puede ser más rápido que el tiempo que tarda en darse el encuentro por difusión. El límite difusional se determina con la expresión de Smoluchowski,

$$k_{\text{diff}} = 4\pi N_A D_{AB} R_{AB},$$

donde R_{AB} es un radio de encuentro efectivo, N_A es la constante de Avogadro y D_{AB} es el coeficiente de difusión mutuo estimado a partir de los valores de D_A y D_B , según la aproximación de Stokes-Einstein para la difusión traslacional de una esfera en un fluido newtoniano:

$$D_{A \circ B} = \frac{k_B T}{6\pi\eta a_{A \circ B}}$$

k_B es la constante de Boltzmann, η la viscosidad dinámica del solvente ($\text{Pa} \cdot \text{s}$) y a_X el radio hidrodinámico (Stokes) de la especie X (en m). Las viscosidades η usadas por defecto (a $T \approx 298 \text{ K}$) son:

Tabla D.1: Viscosidad dinámica (η) de los medios empleados.

Solvente	η (Pa s)
Agua	0.000 891
Pentil etanoato	0.000 862
Benceno	0.000 604
Fase gas (aire)	0.000 018

La constante observada del canal se obtiene con el esquema de Collins–Kimball

$$k_{\text{app}}(i, s, m) = \frac{k_{\text{diff}}(i, s) k_{\text{act}}(i, s, m)}{k_{\text{diff}}(i, s) + k_{\text{act}}(i, s, m)}.$$

La constante de especie se calcula sumando todos los canales disponibles con su degeneración

$$k_i = \sum_s \sum_m g_s k_{\text{app}}(i, s, m),$$

y la constante global a pH se obtiene ponderando por las fracciones molares

$$k_{\text{overall}}(\text{pH}) = \sum_{i=1}^{\text{Especies Ácido-Base}} \chi_i(\text{pH}) k_i.$$

Esta suma integra el efecto combinado de los múltiples sitios, mecanismos y estados de protonación que coexisten en solución. Cuando es útil para el análisis, su descomposición por mecanismo, sitio y especie puede ser discutida. La coherencia con los diagramas eH-DAMA se mantiene al usar los mismos entornos y al entender que eH-DAMA provee un ordenamiento termodinámico, mientras que QM-ORSA confirma y cuantifica en términos de barreras y constantes de velocidad bajo las mismas condiciones.

Figura D.1: Aplicación EasyRate 2.0, desarrollada para realizar la estimación de las constantes de velocidad de acuerdo al protocolo QM-ORSA. Liga de descarga:

D.1.1 Detalles de la implementación de la barrera de Eckart.

Para reproducibilidad se fijan explícitamente unidades, constantes y nodos de cuadratura. Las entradas del canal son

$$\text{BARRZPE} [\text{kcal mol}^{-1}], \quad \text{DELZPE} [\text{kcal mol}^{-1}], \quad |\nu^\ddagger| = \text{FREQ} [\text{cm}^{-1}], \quad T = \text{TEMP} [\text{K}],$$

con $|\nu^\ddagger| > 0$. Las constantes usadas son:

Constante	Valor	Unidades
N_A	6.0221367×10^{23}	mol^{-1}
h	$6.6260755 \times 10^{-34}$	$\text{J}\cdot\text{s}$
c	2.9979246×10^{10}	$\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$
k_B	1.380658×10^{-23}	$\text{J}\cdot\text{K}^{-1}$
cal to J	4184.0	$\text{J}\cdot\text{cal}^{-1}$

BARRZPE y DELZPE son las diferencias de energías electrónicas con correcciones de punto cero (ZPE):

$$\text{BARRZPE} = \left[\text{ZPE}(\text{TS}) - \text{ZPE}(\text{R}_1) - \text{ZPE}(\text{R}_2) \right],$$

$$\text{DELZPE} = \left[\text{ZPE}(\text{P}_1) + \text{ZPE}(\text{P}_2) \right] - \left[\text{ZPE}(\text{R}_1) + \text{ZPE}(\text{R}_2) \right].$$

Ambas se convierten a $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$ internamente mediante el factor 4184. Nótese que la corrección de túnel κ se construye con estos términos de ZPE y la frecuencia imaginaria $|\nu^\ddagger|$; las contribuciones térmicas y entrópicas para $\Delta G^\ddagger$ se aplican aparte en la expresión de Eyring y no intervienen en κ .

Parámetros adimensionales de la barrera de Eckart. Con BARRZPE, DELZPE, $|\nu^\ddagger|$ y T , se definen:

$$\alpha_1 = \frac{2\pi \text{BARRZPE} (4184)}{N_A h c |\nu^\ddagger|}, \quad \alpha_2 = \frac{2\pi (\text{BARRZPE} - \text{DELZPE}) (4184)}{N_A h c |\nu^\ddagger|}, \quad U = \frac{h c |\nu^\ddagger|}{k_B T}.$$

$$V_1 = \frac{U}{2\pi} \alpha_1, \quad V_2 = \frac{U}{2\pi} \alpha_2, \quad C = \frac{1}{8} \pi U \left(\frac{1}{\sqrt{\alpha_1}} + \frac{1}{\sqrt{\alpha_2}} \right)^2.$$

$$D = 4 \alpha_1 \alpha_2 - \pi^2, \quad \text{DF} = \begin{cases} \cosh(\sqrt{D}), & D > 0, \\ \cos(\sqrt{-D}), & D \leq 0, \end{cases}$$

$$E_Z = -\min(V_1, V_2), \quad E_- = \frac{1}{2}(U - E_Z), \quad E_+ = \frac{1}{2}(U + E_Z).$$

Cuadratura de Gauss–Legendre y fórmula final de κ . Con $n = 40$ nodos (y_j, w_j) en $(-1, 1)$ (listados abajo) reescalados a $[E_-, E_+]$:

$$E_j = E_- y_j + E_+, \quad A_1 = \pi \sqrt{\frac{E_j + V_1}{C}}, \quad A_2 = \pi \sqrt{\frac{E_j + V_2}{C}}, \quad F_+ = \cosh(A_1 + A_2), \quad F_- = \cosh(A_1 - A_2),$$

$$\kappa = E_- \sum_{j=1}^{40} w_j e^{-E_j} \frac{F_+ - F_-}{F_+ + \text{DF}} + e^{-U}.$$

Los nodos y pesos usados son exactamente los siguientes (doble precisión recortada al séptimo decimal):

$$\{y_j\}_{j=1}^{40} = \begin{bmatrix} -0.9982377, & -0.9907262, & -0.9772599, & -0.9579168, & -0.9328128, \\ -0.9020988, & -0.8659595, & -0.8246122, & -0.7783057, & -0.7273183, \\ -0.6719567, & -0.6125539, & -0.5494671, & -0.4830758, & -0.4137792, \\ -0.3419941, & -0.2681522, & -0.1926976, & -0.1160841, & -0.0387724, \\ 0.0387724, & 0.1160841, & 0.1926976, & 0.2681522, & 0.3419941, \\ 0.4137792, & 0.4830758, & 0.5494671, & 0.6125539, & 0.6719567, \\ 0.7273183, & 0.7783057, & 0.8246122, & 0.8659595, & 0.9020988, \\ 0.9328128, & 0.9579168, & 0.9772599, & 0.9907262, & 0.9982377 \end{bmatrix}$$

$$\{w_j\}_{j=1}^{40} = \begin{bmatrix} 0.0045213, & 0.0104983, & 0.0164211, & 0.0222458, & 0.0279370, \\ 0.0334602, & 0.0387822, & 0.0438709, & 0.0486958, & 0.0532278, \\ 0.0574398, & 0.0613062, & 0.0648040, & 0.0679120, & 0.0706116, \\ 0.0728866, & 0.0747232, & 0.0761104, & 0.0770398, & 0.0775059, \\ 0.0775059, & 0.0770398, & 0.0761104, & 0.0747232, & 0.0728866, \\ 0.0706116, & 0.0679120, & 0.0648040, & 0.0613062, & 0.0574398, \\ 0.0532278, & 0.0486958, & 0.0438709, & 0.0387822, & 0.0334602, \\ 0.0279370, & 0.0222458, & 0.0164211, & 0.0104983, & 0.0045213 \end{bmatrix}$$

Esta fórmula reproduce la corrección de Eckart para barreras asimétricas usando como parámetros únicamente B_{ZPE} , $\Delta \text{ZPE}_{\text{rxn}}$, $|\nu^\ddagger|$ y T , evitando ajustes empíricos adicionales. En la práctica:

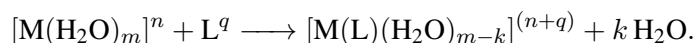
(i) si $\Delta G^\ddagger \leq 0$, TST no es aplicable y no se reporta una constante (se marca el canal); (ii) si $\Delta G^\ddagger > 0$ pero $B_{\text{ZPE}} \leq 0$ (barrera colapsada al incluir ZPE), se fija $\kappa = 1$ y no se integra Eckart; (iii) sólo cuando $\Delta G^\ddagger > 0$ y $B_{\text{ZPE}} > 0$ se calcula κ por la integral anterior. La frecuencia debe usarse en valor absoluto y en cm^{-1} .

D.2 AOX-II: Inhibición de la producción $\cdot\text{OH}$ mediada por metales (OIL: $\cdot\text{OH}$ -inactivating ligand)

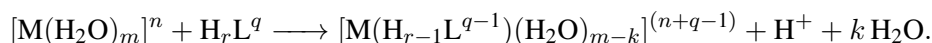
AOX-II evalúa la capacidad de un candidato para atenuar la producción de $\cdot\text{OH}$ asociada a ciclos tipo Fenton/Haber–Weiss. Se estudian dos escenarios complementarios. OIL-1: el ligando L coordina al metal redox-activo M (usualmente Cu o Fe) disminuyendo la reducción de los iones metálicos al desplazar el potencial de reducción del par $M^{n+}/M^{(n-1)+}$ hasta volver desfavorable su reducción por reductores celulares como ascorbato o $\text{O}_2^{\bullet-}$. OIL-2: una vez formado $\cdot\text{OH}$ en el entorno del complejo, el ligando lo neutraliza de manera inmediata, bien por captura radicalaria o por f -HAT intracomplejo, evitando daño a blancos biológicos próximos.¹⁷²

D.2.1 Acompañamiento de metales con equilibrios ácido-base.

Se consideran rutas de quelación directa (DCM: Direct Chelation Mechanism) y quelación acoplada con deprotonación (CDCM: coupled deprotonation-chelation Mechanism). A pH 7.4 se evalúan las especies ácido-base de L , para cada especie relevante se formulan las reacciones estequiométricas con los acuocomplejos del metal en el mismo solvente y estado estándar 1 M:



En rutas acopladas, la base conjugada se genera en el mismo medio **Hay que volver a modificar con cargas:**

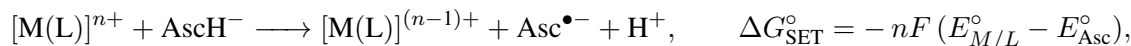


D.2.2 OIL-1: desplazamiento redox e inhibición de reacciones tipo Fenton.

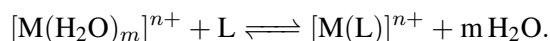
Para cada complejo viable se puede estimar, de forma comparativa, el potencial de reducción en solución del par $[\text{M}(\text{L})]^{n+}/[\text{M}(\text{L})]^{(n-1)+}$:

$$\Delta G_{\text{red}}^\circ = G([\text{M}(\text{L})]^{(n-1)+}) - G([\text{M}(\text{L})]^{n+}), \quad E^\circ = -\frac{\Delta G_{\text{red}}^\circ}{nF} + E_{\text{ref}}^\circ.$$

Se emplea la misma referencia para todo el conjunto, de modo que las comparaciones entre ligandos sean internas y consistentes. Con ese E° pueden obtenerse ΔG° de transferencia electrónica frente a reductores biológicos modelo, por ejemplo

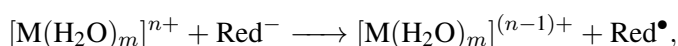


y análogamente para el par $\text{O}_2^{\bullet-}/\text{H}_2\text{O}_2$. Si $\Delta G_{\text{SET}}^\circ > 0$, el paso reductor resulta endergónico y la vía tipo Fenton se inhibe en condiciones estándar. La competencia con agua u otros ligandos se incluye comparando ΔG° de intercambio:

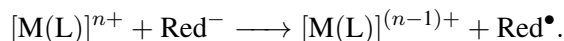


Si $[\text{M}(\text{L})]^{n+}$ es estable, pero su forma reducida $[\text{M}(\text{L})]^{(n-1)+}$ no lo es, el ciclo redox se interrumpe por inestabilidad estructural del estado reducido; en tal caso se reporta pérdida de coordinación o desactivación por cambio de geometría/espín.

Además del análisis termodinámico anterior, se aplica el procedimiento cinético que usamos para juzgar OIL-1 en nuestros estudios. Se comparan explícitamente las reducciones catalíticas del centro metálico, en ausencia y en presencia del ligando, frente a reductores fisiológicos relevantes. Para el acuocomplejo:



y para el complejo con el antioxidante:



Se calculan ΔG_{SET}° en el solvente del estudio a 298.15 K y las barreras de activación por la teoría de Marcus en solución,

$$\Delta G_{SET}^\ddagger = \frac{\lambda}{4} \left(1 + \frac{\Delta G_{SET}^\circ}{\lambda} \right)^2,$$

con λ estimada de forma consistente (o tomada de valores validados para familias próximas). La constante activada se obtiene con Eyring y se corrige por el límite difusional de Smoluchowski mediante el esquema de Collins–Kimball, como en AOX-I. La especiación ácido–base de L y de las formas reactivas de Red^- (por ejemplo, $AscH^-/Asc^{\bullet-}$, $O_2^{\bullet-}$) se incorpora con fracciones molares a pH 7.4. La disponibilidad de $[M(L)]^{n+}$ se pondera con su fracción de complejación frente a $[M(H_2O)_m]^{n+}$ y posibles competidores.

Como métrica operativa, se define la razón

$$\Phi(Red^-, pH) = \frac{k_{app}([M(L)]^{n+}, Red^-)}{k_{app}([M(H_2O)_m]^{n+}, Red^-)}.$$

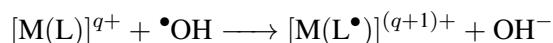
Un comportamiento OIL-1 eficaz se identifica cuando $\Phi \ll 1$ para reductores fisiológicos (por ejemplo, $O_2^{\bullet-}$ y $AscH^-$) bajo las mismas condiciones. En ese escenario, el ligando disminuye la velocidad aparente de reducción $M^{n+} \rightarrow M^{(n-1)+}$ respecto al acuocomplejo y, por tanto, atenúa la entrada al ciclo Fenton/Haber–Weiss. Cuando se dispone del análisis de E° , ambos enfoques son complementarios: la termodinámica por potenciales ordena la factibilidad y el análisis cinético confirma el efecto inhibitor en términos de k_{app} a pH y solvente definidos.

D.2.3 OIL-2: neutralización inmediata de $\cdot OH$ en el entorno del complejo.

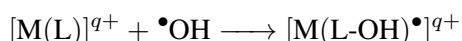
Este modo de acción evalúa la captura de $\cdot OH$ por el complejo $[M(L)]^{q+}$. Se consideran SET y f-HAT hacia $\cdot OH$. Dado el valor de IE en $\cdot OH$, el sentido viable del SET es desde el complejo al radical hidroxilo (donación electrónica del ligando) y no al revés; en fenoles–Cu(II) se ha mostrado que el HOMO está asociado principalmente al ligando y que los procesos SET resultan exergónicos y controlados por difusión, mientras que el cobre acuoso libre $[Cu(II) \cdot 4H_2O]$ no puede desactivar $\cdot OH$ por SET (proceso altamente endergónico).¹⁷² Estos hallazgos sustentan que la coordinación del ligando orgánico es clave para desactivar $\cdot OH$ por SET en OIL-2.¹⁷²

En el canal f-HAT, las fuentes de hidrógeno que alimentan la reacción son: (i) grupos fenol OH del ligando que no hayan quedado ocupados por la quelación; (ii) una molécula de agua coordinada a Cu(II) en el sitio contiguo al ligando; y (iii) una molécula de agua en el sitio trans al ligando, en complejos monodentados.¹⁷² En estos complejos fenol–Cu(II) las f-HAT son fuertemente exergónicas y, de hecho, sin barrera discernible, mientras que el cobre hidratado $[Cu(II) \cdot 4H_2O]$ no dona H de sus aguas (f-HAT endergónica).¹⁷²

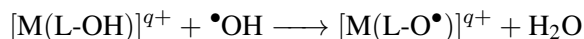
A continuación se muestran las reacciones representativas de cada canal, considerar que aunque no aparezcan aguas de forma explícita estas deben ser tomadas en cuenta dependiendo de la esfera de solvatación del ion metálico estudiado: SET (donación electrónica del complejo hacia $\cdot OH$):



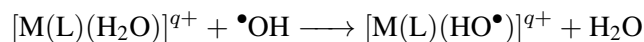
Adición de $\cdot OH$ al ligando (recombinación radicalaria):



f-HAT desde un fenol del ligando hacia $\cdot\text{OH}$:



f-HAT desde agua coordinada al ligando:



D.3 AOX-III: Reparación química de lípidos, proteínas y ADN

AOX-III cuantifica la capacidad de un candidato para revertir daños oxidativos en blancos modelo de lípidos, residuos de aminoácidos y nucleósidos, devolviéndolos (idealmente) a su forma previa al daño. Se sigue el mismo esquema general de QM-ORSA: (i) definir las especies de interés a pH y solvente de estudio, en este como el conjunto de blancos oxidados; (ii) evaluar espontaneidad con ΔG° ; y (iii) cuando procede, estimar barreras y constantes de velocidad con TST (HAT/RAF) o teoría de Marcus (SET), incorporando correcciones de túnel, estado estándar 1 M, límite por difusión y especiación ácido-base. El uso de modelos moleculares sencillos, pero validados, ver Figura D.2, captura tendencias de reparación: un fragmento alílico de ácido linoleico para lípidos; modelos realistas de residuos individuales (Cys, His, Leu, Met, Trp y Tyr) para proteínas; y 2'-desoxiguanosina (2dG) para ADN (incluyendo 8-OH-dG y 8-oxo-dG como biomarcadores de daño).^{43,173}

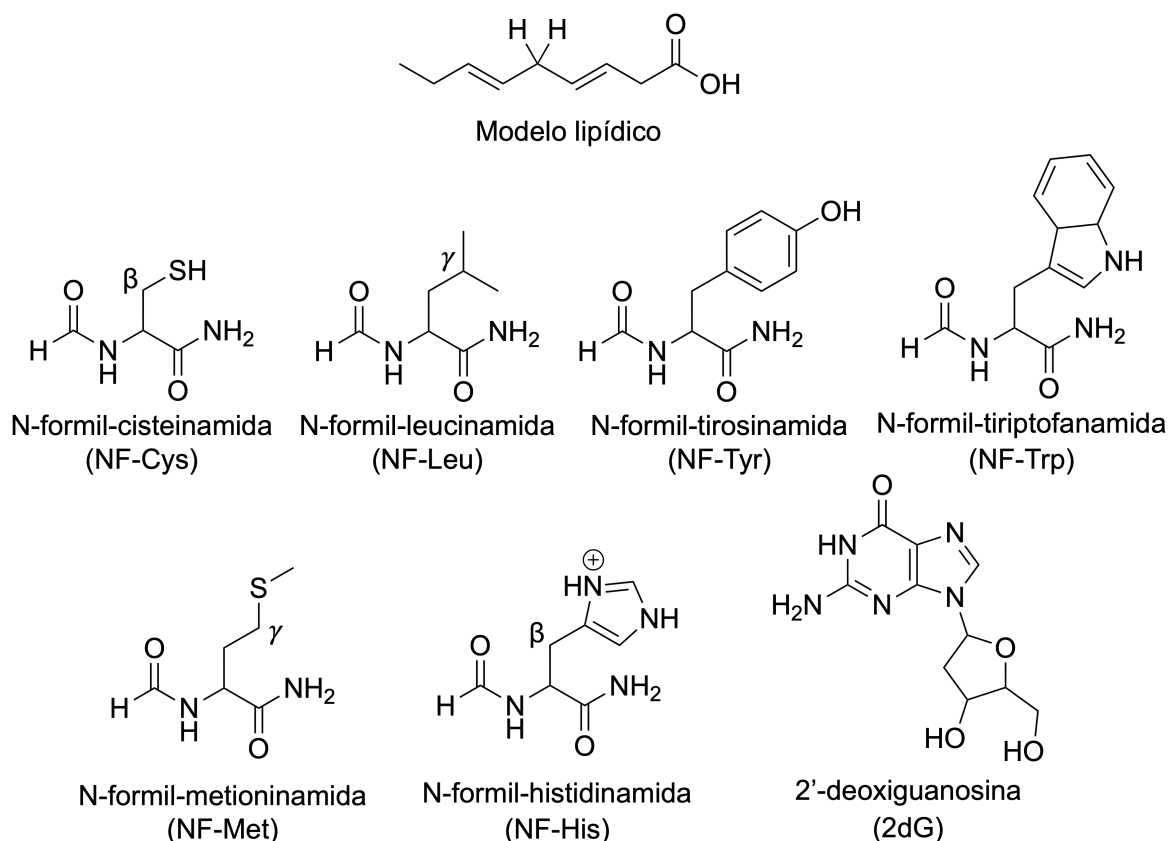


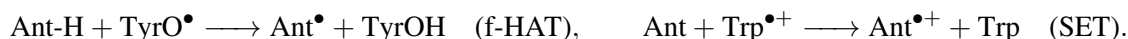
Figura D.2: Modelos representativos empleados en AOX-III: fragmento alílico de ácido linoleico (lípidos), modelos realistas de residuos Cys, His, Leu, Met, Trp y Tyr (proteínas), y 2'-desoxiguanosina (ADN).

D.3.1 Ejemplo de mecanismos de reparación

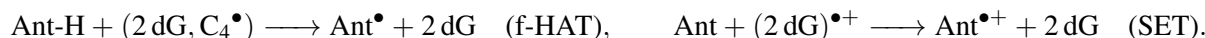
Lípidos. Los radicales alílicos y peroxilo ($\bullet\text{ROO}$) en cadenas insaturadas pueden ser reparados por donación formal de H (f-HAT) desde el antioxidante hacia el centro radicalario:



Proteínas. La reparación de radicales en residuos como $\text{Trp}^{\bullet+}$, $\text{Trp}(-\text{H})^\bullet$, $\text{TyrO}^\bullet$, $\text{CysS}^\bullet$ o $\text{MetS}^{\bullet+}$ no siempre sigue el razonamiento directo “el daño define el mecanismo”; aun cuando el blanco haya perdido un electrón o un H, la vía dominante puede implicar secuencias acopladas de ganancias y/o pérdidas de hidrógenos, protones y electrones. Esto indica la pertinencia de incluir las especies ácido-base relevantes de blanco y antioxidante para reproducir k experimentales:



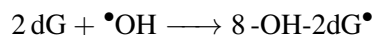
ADN. En 2dG, la oxidación iniciada por $\bullet\text{OH}$ puede comenzar por SET seguido de desprotonación (misma estequiometría final que una f-HAT) o por RAF que forma aductos en el anillo imidazólico; 8-OH-dG y 8-oxo-dG son productos clave y biomarcadores de estrés oxidante. La reparación por antioxidantes se describe por:



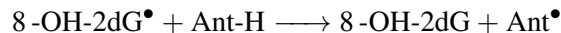
Transferencia secuencial de átomos de hidrógeno seguida de deshidratación (TSAHD) en 8-OH-dG

La reparación de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OH-dG) puede seguir una secuencia de transferencias de hidrógeno seguidas de deshidratación (TSAHD, por sus siglas en inglés). El objetivo es apagar el aducto radicalario y, posteriormente, eliminar agua para reconstituir la 2'-desoxiguanosina.

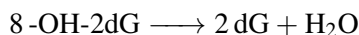
Primer paso: formación del aducto por $\bullet\text{OH}$



Segundo paso: reparación del aducto por donación de H



Tercer paso: deshidratación



En sistemas donde el intermedio neutro 8-OH-2dG no conduce directamente a la eliminación de agua, el segundo paso puede requerir transferencias adicionales de hidrógeno y/o reacomodos de protones antes de la deshidratación.

Apéndice E

GUI para CADMApy y Código Fuente

En este apéndice se presenta una descripción detallada de la interfaz gráfica de CADMApy, así como el código fuente del archivo `CADMA.py`. Se explican las funcionalidades principales y la sección dedicada al cálculo de las puntuaciones de selección. En la parte izquierda de la Figura E.1 se muestra la pantalla de inicio de CADMApy, donde se encuentran opciones como la creación de conjuntos de referencia y la generación de conformadores a partir de SMILES. En la parte derecha se aprecia la sección destinada al cálculo de los puntajes de selección.

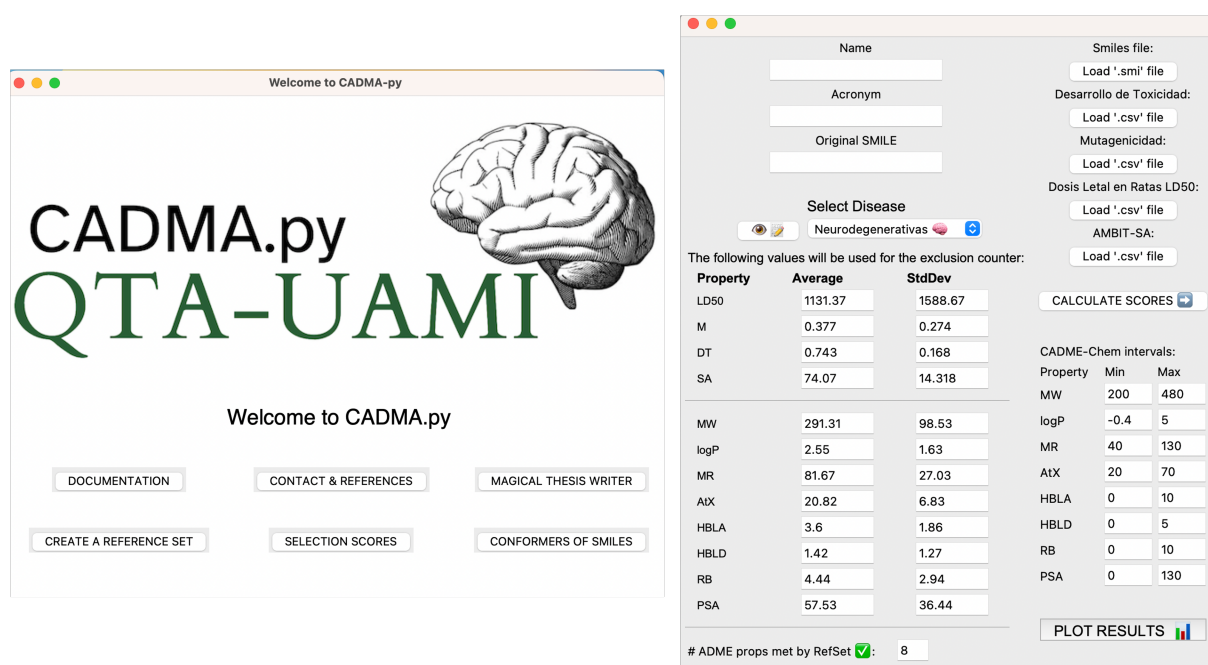


Figura E.1: Interfaz principal de CADMApy (izquierda) y sección para el cálculo de puntuaciones de selección (derecha).
Liga de descarga:

Se incluye la documentación escrita para el programa, que explica en detalle sus funcionalidades y forma de uso, y que se muestra a continuación en formato PDF. Posteriormente se presenta el código fuente de `CADMA.py` para ofrecer una visión completa del funcionamiento interno del software.

E.1 Documentación

La documentación contiene una descripción exhaustiva de las funcionalidades del software diseñado.

CADMApy

Manual de Usuario — Versión Extendida

Eduardo Gabriel Guzmán-López^{1,2,3} • Luis Felipe Hernández-Ayala^{1,3}

Adriana Pérez-González¹ • Miguel Reina³ • Annia Galano¹

¹Dep. de Química, UAM-Iztapalapa ²Dep. de Sistemas Biológicos, UAM-Xochimilco ³Facultad de
Química, UNAM

Descarga: agalano.com/research/apps/desktop-apps/

Contacto: eggl.quimica@gmail.com

Índice

1. ¿Qué hace el script CADMA.py?	3
1.1. Diagrama general del protocolo	3
2. Instalación	3
2.1. Diagrama de instalación	4
2.2. Comandos de instalación y ejecución	4
2.3. Dependencias	4
2.4. Errores comunes	4
3. Módulos de la aplicación	5
4. Módulo 1 — Create a Reference Set	5
4.1. Archivos de entrada	5
4.2. Cómo usarlo	5
4.3. Propiedades calculadas	6
4.4. Archivos de salida	6
5. Propiedades ADME e intervalos CADMA-Chem	6
5.1. ¿Qué mide cada descriptor?	6
5.2. Intervalos CADMA-Chem y su origen	7
6. Módulo 2 — Selection Scores	8
6.1. Cómo usarlo	8
6.2. Lógica de cálculo	8
6.3. Definición de las puntuaciones	9
6.3.1. Bloque ADME — S_{ADME}	9
6.3.2. Bloque de toxicidad — S_T	9
6.3.3. Bloque de síntesis — S_{SA}	10
6.3.4. Puntuación global — S_S	10
6.4. Archivos de salida	10
6.5. Gráfica de resultados (PLOT RESULTS)	10
7. Módulo 3 — SMILES to 3D	11
7.1. Dos vías de entrada	11
7.2. Algoritmo de generación de conformadores	11
7.3. Archivos de salida	11
8. Conjuntos de referencia incluidos	12
9. Cómo citar CADMA.py	12
10. Agradecimientos	12

1. ¿Qué hace el script CADMA.py?

CADMA.py es la herramienta de escritorio del protocolo **CADMA-Chem** (*Computer-Assisted Design of Multifunctional Antioxidants based on Chemical properties*). Su propósito es concreto: comparar una serie de derivados moleculares contra un conjunto de fármacos de referencia y producir una puntuación que resuma qué tan favorable es cada candidato en tres frentes simultáneos — propiedades ADME, toxicidad y accesibilidad sintética.

La herramienta **no reemplaza** el modelado farmacocinético detallado, el desarrollo de QSAR completo ni el juicio experto en química medicinal. En cambio, ofrece una capa de puntuación transparente que permite tamizar listas grandes de moléculas de forma consistente y rastreable, antes de invertir recursos en cálculos de mayor nivel.

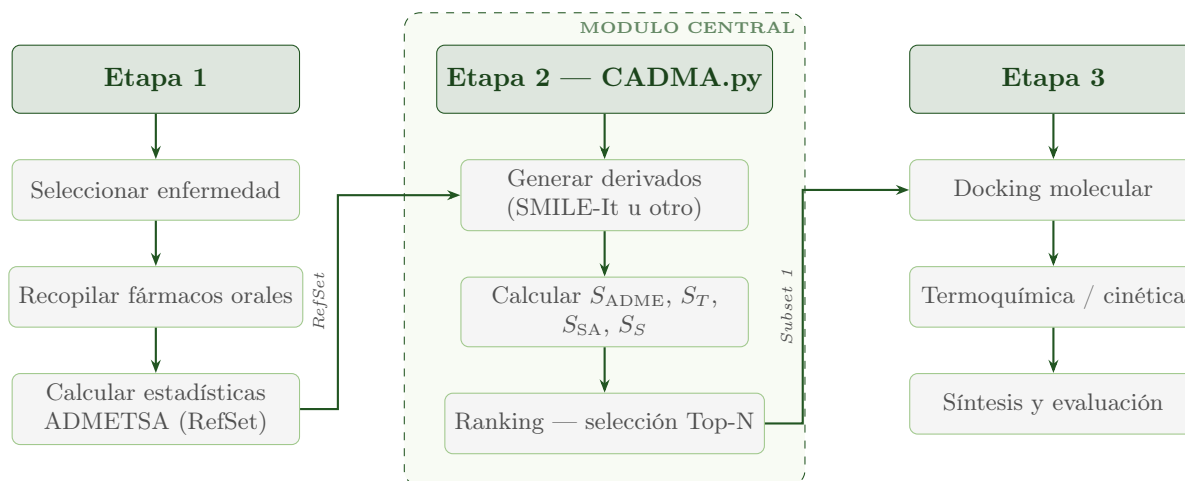
El protocolo CADMA-Chem en tres etapas

Etapla 1 — Conjunto de referencia. Se elige la enfermedad o contexto terapéutico, se recopilan los fármacos orales aprobados para ella y se calculan sus estadísticas ADMETSA. Este conjunto sirve como ancla de normalización.

Etapla 2 — Tamizaje rápido (*aquí actúa CADMA.py*). Los derivados propuestos se evalúan contra el conjunto de referencia. Se calculan scores de ADME, toxicidad y síntesis que se combinan en una puntuación global S_S .

Etapla 3 — Refinamiento computacional. Los mejores candidatos pasan a acoplamiento molecular, termoquímica cuántica, cinética química y, eventualmente, síntesis experimental.

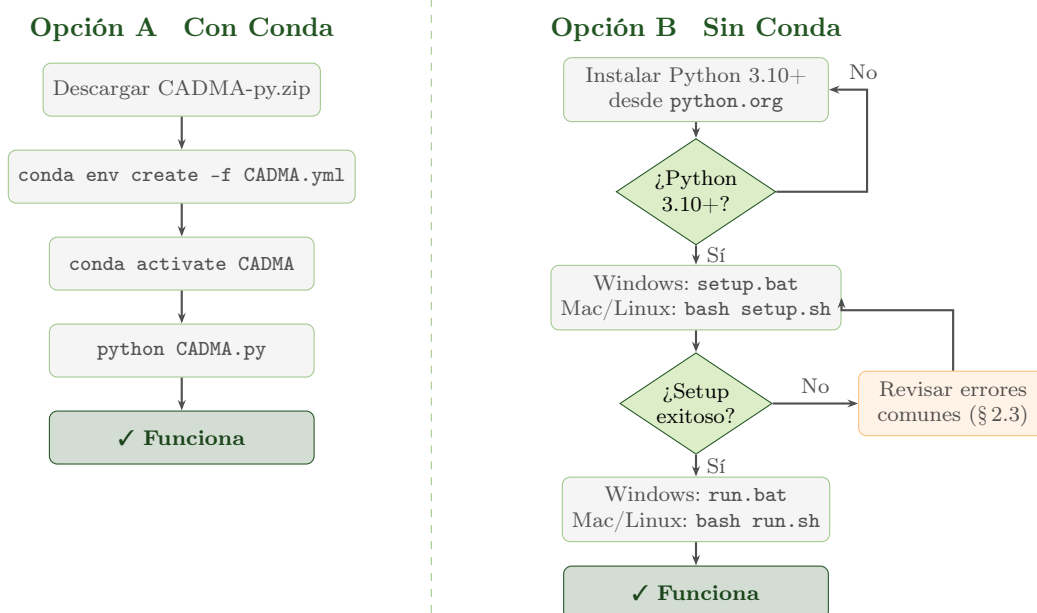
1.1. Diagrama general del protocolo



2. Instalación

CADMA.py requiere **Python 3.10, 3.11 o 3.12**. El paquete incluye scripts que automatizan toda la instalación y crean un entorno virtual aislado.

2.1. Diagrama de instalación



2.2. Comandos de instalación y ejecución

Sistema	Instalación	Ejecución	Conda
Windows	setup.bat	run.bat	conda activate CADMA
macOS	bash setup.sh	bash run.sh	conda activate CADMA
Linux	bash setup.sh	bash run.sh	conda activate CADMA

La instalación toma 5–10 minutos. En sesiones posteriores solo se necesita el comando de la columna *Ejecución*.

2.3. Dependencias

Python 3.10–3.12	numpy 1.26.4	pandas 2.1.4	rdkit 2023.09.4
matplotlib 3.8.4	py3Dmol 2.1.0	pillow ≥ 10.0	scipy

2.4. Errores comunes

Error	Solución
<i>Python no encontrado</i>	Reinstale desde python.org . En Windows marque Add Python to PATH y reinicie el equipo.
<i>Tkinter no disponible</i> (macOS)	<code>brew install python-tk@3.10</code>
<i>Tkinter no disponible</i> (Ubuntu/Debian)	<code>sudo apt install python3.10-tk</code>
<i>Tkinter no disponible</i> (Fedora/RHEL)	<code>sudo dnf install python3.10-tkinter</code>
Nada funciona	Use la Opción A (Conda) o escriba a eggl.quimica@gmail.com .

3. Módulos de la aplicación

La pantalla de inicio presenta cinco botones. Los tres módulos principales implementan las Etapas 1 y 2 del protocolo CADMA-Chem más la generación de conformadores.

	Módulo	Función
Principales	CREATE A REFERENCE SET	Construye el conjunto de referencia; registra la enfermedad para sesiones futuras.
	SELECTION SCORES	Evalúa derivados y calcula S_S , S_{ADME} , S_T , S_{SA} .
	SMILES TO 3D	Genera conformadores 3D en formato SDF.
Aux.	DOCUMENTATION	Abre este manual dentro de la aplicación.
	CONTACT & REFERENCES	Afiliaciones y referencias bibliográficas con hipervínculos.

Persistencia entre sesiones

Cada conjunto de referencia creado se guarda en `valores_enfermedades.json` y `disease_files.json` dentro de la carpeta de la aplicación. La enfermedad aparece automáticamente en el menú *Select Disease* de todas las sesiones futuras.

4. Módulo 1 — Create a Reference Set

Este módulo construye el conjunto de fármacos de referencia (*RefSet*) que sirve como ancla estadística para comparar derivados. CADMA.py calcula las propiedades fisicoquímicas directamente desde los SMILES usando RDKit, y lee los datos de toxicidad y síntesis desde archivos externos.

4.1. Archivos de entrada

Archivo	Formato	Columna requerida
SMILES del RefSet	.smi / .csv	name y smile. Sin columna de nombre, se generan etiquetas automáticas (Mo1_001, ...).
Toxicidad en el desarrollo	CSV (TEST)	Pred_Value (valores 0–1)
Mutagenicidad	CSV (TEST)	Pred_Value (valores 0–1)
LD50 oral en ratas	CSV (TEST)	Pred_Value:_mg/kg o Pred_Value:mg/kg
Accesibilidad sintética	CSV (AMBIT)	SA. Elimine manualmente las filas vacías al inicio y al final.

4.2. Cómo usarlo

Paso 1

Ingrese el nombre de la enfermedad en **Disease name**. Este campo es obligatorio y será el identificador de la enfermedad en el menú desplegable.

Paso 2

Cargue los cinco archivos con los botones de carga. Una marca ✓ confirma cada archivo cargado correctamente.

Paso 3

Haga clic en **Process data** →. CADMA.py calcula las propiedades con RDKit, filtra los compuestos con datos faltantes y muestra los resultados en el panel de texto.

Paso 4

Cuando se le solicite, elija la ruta y nombre para guardar. Al confirmar, la nueva enfermedad queda registrada de forma permanente.

4.3. Propiedades calculadas

Símbolo	Propiedad	Fuente
MW	Masa molar (g/mol)	RDKit Descriptors.MolWt
logP	Coef. de partición octanol/agua	RDKit Descriptors.MolLogP
MR	Refractividad molar	RDKit Descriptors.MolMR
AtX	Conteo de átomos pesados	RDKit Descriptors.HeavyAtomCount
HBLA	Aceptores de enlace H (Lipinski)	RDKit CalcNumLipinskiHBA
HBLD	Donadores de enlace H (Lipinski)	RDKit CalcNumLipinskiHBD
RB	Número de enlaces rotables	RDKit CalcNumRotatableBonds
PSA	Área polar superficial topológica (Å ²)	RDKit CalcTPSA
DT	Toxicidad en el desarrollo (0–1)	TEST
M	Mutagenicidad (0–1)	TEST
LD50	LD50 oral en ratas (mg/kg)	TEST
SA	Accesibilidad sintética (escala 1–100)	AMBIT

4.4. Archivos de salida

- `{nombre}_RefSet.csv` — datos limpios de los fármacos (compuestos con algún valor faltante son excluidos).
- `{nombre}_SummaryStatistics.csv` — media, desviación estándar, mínimo, máximo, mediana, varianza, asimetría y curtosis de cada propiedad.

El panel de resultados también muestra la lista de compuestos excluidos por datos faltantes, para que sea posible identificar la magnitud de los datos incompletos en el conjunto inicial.

5. Propiedades ADME e intervalos CADMA-Chem

Antes de detallar el módulo de puntuaciones, es útil entender qué mide cada propiedad y por qué los intervalos tienen los valores que tienen.

5.1. ¿Qué mide cada descriptor?

Los descriptores que calcula CADMA.py están directamente relacionados con la probabilidad de que un compuesto sea absorbido por vía oral, distribuido al sitio de acción y eliminado sin acumularse. El razonamiento detrás de cada uno es el siguiente.

MW — **Masa molar**. Las moléculas grandes tienen mayor dificultad para atravesar membranas biológicas por difusión pasiva. Por encima de ~500 Da la permeabilidad cae de forma significativa.

logP — **Lipofilidad**. Equilibra la solubilidad acuosa (necesaria para disolverse en fluidos

corporales) y la permeabilidad a través de membranas lipídicas. Valores muy negativos implican poca permeabilidad; valores muy positivos implican poca solubilidad y riesgo de toxicidad por acumulación en tejido graso.

HBLD y HBLA — Donadores y aceptores de enlace de hidrógeno. Cada par de enlace de hidrógeno que una molécula necesita “desvestir” de su capa de hidratación para cruzar una membrana tiene un costo energético. Muchos donadores o aceptores penalizan la permeabilidad pasiva.

PSA — Área polar superficial topológica. Es una medida integrada de la polaridad molecular: suma las contribuciones de todos los átomos polares. Correlaciona bien con la absorción intestinal y la penetración al SNC. Por encima de $\sim 140 \text{ \AA}^2$ la absorción oral cae por debajo del 10 %.

RB — Número de enlaces rotables. La flexibilidad conformacional tiene dos efectos opuestos: permite que una molécula se adapte a un sitio de unión, pero también aumenta la entropía conformacional y puede reducir la biodisponibilidad oral.

MR — Refractividad molar. Refleja el volumen y la polarizabilidad de la molécula. Es útil como control de tamaño molecular más fino que MW sola; el rango de Ghose (40–130) corresponde a moléculas de tamaño típico de fármacos orales.

AtX — Átomos pesados. Conteo directo de la complejidad estructural. Compuestos con menos de 20 átomos pesados tienden a ser demasiado simples para mostrar selectividad; más de 50–70 tienden a tener problemas de síntesis y PK.

5.2. Intervalos CADMA-Chem y su origen

Los intervalos que usa CADMA.py se construyeron como la intersección restrictiva de los criterios de *drug-likeness* más usados en la literatura, con énfasis en compuestos con potencial de penetración al SNC, dado el enfoque original en enfermedades neurodegenerativas.

Regla / autor	MW	logP	HBLD	HBLA	PSA ($\text{\AA}^2$)	RB	MR	AtX
Lipinski (Ro5)	≤ 500	≤ 5	≤ 5	≤ 10	—	—	—	—
Ghose	160–480	−0.4–5.6	—	—	—	—	40–130	20–70
Veber	—	—	—	—	≤ 140	≤ 10	—	—
Walters & Murcko	200–500	−2–5	≤ 5	≤ 10	—	≤ 8	—	20–50
Teague (lead-like)	100–350	1–3	—	—	—	—	—	—
CNS-oriented	≤ 400	2–4	≤ 3	≤ 6	≤ 70	—	—	—
CADMA-Chem	200–480	−0.4–5.0	0–5	0–10	0–70	0–8	40–130	20–50

Reglas adicionales de referencia

Los intervalos CADMA-Chem son coherentes con varias heurísticas de la industria farmacéutica:

- **Pfizer 3/75:** $\log P > 3$ y $\text{PSA} < 75 \text{ \AA}^2 \rightarrow$ mayor riesgo de toxicidad por permeabilidad excesiva.
- **Pfizer 2/100:** $\text{HBLD} \leq 2$ y $\text{PSA} < 100 \text{ \AA}^2 \rightarrow$ buena probabilidad de absorción oral.
- **GSK 4/400:** $\log P \leq 4$ y $\text{MW} \leq 400 \rightarrow$ menor probabilidad de fracaso clínico por toxicidad.

- **Ventana CNS:** $PSA \leq 60-70 \text{ \AA}^2$, $MW \leq 400$, $\log P \text{ } 2-4 \rightarrow$ favorece penetración al SNC.
- **Teague (lead opt.):** Los *leads* tempranos con $MW \text{ } 100-350$ y $\log P \text{ } 1-3$ dejan margen para crecer durante la optimización sin salirse del espacio drug-like.

Los intervalos son editables en la interfaz para adaptarse a quimiotipias especializadas o rutas de administración no orales.

6. Módulo 2 — Selection Scores

Este es el núcleo de CADMA.py: evalúa cada derivado en tres dimensiones (ADME, toxicidad, síntesis), normaliza cada puntuación respecto al conjunto de referencia y combina todo en un puntaje global S_S .

6.1. Cómo usarlo

Paso 1

Complete en el panel izquierdo:

Name — nombre del proyecto.

Acronym — sigla para etiquetar los derivados (ACR, ACR-1, ...); obligatorio.

SMILES to make comparisons — SMILES del compuesto líder (opcional; si se indica, ese compuesto recibe el acrónimo y se resalta en las gráficas).

Paso 2

Seleccione la enfermedad en **Select Disease**. Los promedios y desviaciones estándar del RefSet se cargan automáticamente y todos los campos son editables. El botón (**ver datos**) abre la tabla completa del conjunto de referencia.

Paso 3

Cargue los cinco archivos en el panel central (mismo formato que en §4.1).

Paso 4

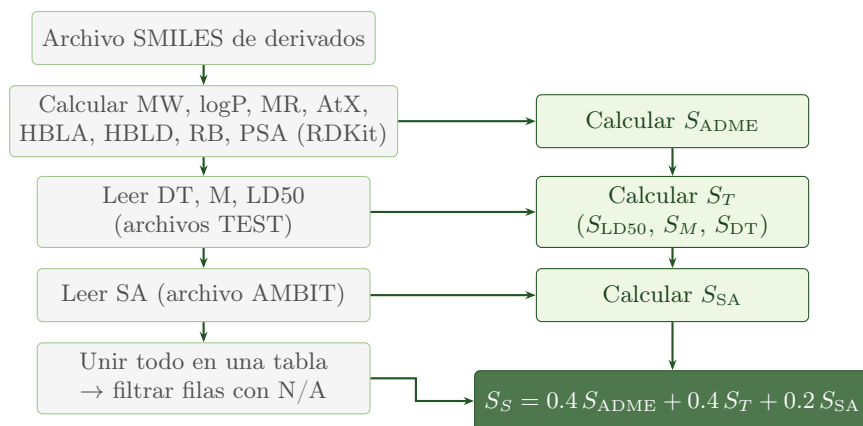
Revise los **intervalos CADMA-Chem** (editables) y haga clic en **CALCULATE SCORES** $\rightarrow$. Se pedirá la ruta para guardar.

Paso 5

Para visualizar, haga clic en **PLOT RESULTS (gráfica)**, elija la columna y confirme.

6.2. Lógica de cálculo

El flujo interno de CADMA.py es el siguiente:



6.3. Definición de las puntuaciones

En todas las fórmulas, los valores con subíndice “ref” son los promedios del conjunto de referencia de la enfermedad seleccionada.

6.3.1. Bloque ADME — S_{ADME}

Para cada propiedad P se evalúa si el valor del derivado cae dentro del intervalo CADMA-Chem $[P_{\min}, P_{\max}]$:

$$ADME_P(i) = \begin{cases} 1 & \text{si } P_{\min} \leq P(i) \leq P_{\max} \\ 0 & \text{en otro caso} \end{cases}$$

Se evalúan las ocho propiedades: MW, logP, MR, AtX, HBLA, HBLD, RB, PSA.

La puntuación ADME suma todos los indicadores y los normaliza por $\Sigma_{ADME,ref}$, que es el número de propiedades que el propio RefSet cumple dentro de los mismos intervalos:

$$S_{ADME}(i) = \frac{\sum_P ADME_P(i)}{\Sigma_{ADME,ref}}$$

Un derivado que cumple exactamente las mismas propiedades que el RefSet obtiene $S_{ADME} = 1$.

6.3.2. Bloque de toxicidad — S_T

Los tres subpuntuajes de toxicidad comparan al derivado contra el promedio del RefSet mediante logaritmos:

$$S_{LD50}(i) = 1 + \log_{10}\left(\frac{1 + LD50(i)}{1 + \overline{LD50}_{ref}}\right)$$

Un LD50 mayor que el del RefSet (menos tóxico agudo) produce $S_{LD50} > 1$.

$$S_M(i) = 1 - \log_{10}\left(\frac{1 + M(i)}{1 + \overline{M}_{ref}}\right) \quad S_{DT}(i) = 1 - \log_{10}\left(\frac{1 + DT(i)}{1 + \overline{DT}_{ref}}\right)$$

Para M y DT, valores *menores* que el RefSet producen puntajes > 1 . El “+1” evita el logaritmo de cero.

$$S_T(i) = \frac{S_{LD50}(i) + S_M(i) + S_{DT}(i)}{3}$$

Promedio aritmético de los tres subpuntuajes toxicológicos.

El score combinado ADMET también se reporta en los archivos de salida:

$$S_{\text{ADMET}}(i) = S_{\text{ADME}}(i) + S_T(i)$$

Útil para gráficas de dos dimensiones que separen el desempeño ADME del toxicológico.

6.3.3. Bloque de síntesis — S_{SA}

$$S_{\text{SA}}(i) = \frac{SA(i)}{SA_{\text{ref}}}$$

$S_{\text{SA}} > 1$ indica que el derivado es más fácil de sintetizar que los fármacos de referencia. En la escala AMBIT, valores más altos de SA significan mayor facilidad sintética.

6.3.4. Puntuación global — S_S

Los tres bloques se combinan con pesos fijos que reflejan su importancia relativa en el contexto del protocolo CADMA-Chem:

$$S_S(i) = \underbrace{0.4 S_{\text{ADME}}(i)}_{\text{peso ADME}} + \underbrace{0.4 S_T(i)}_{\text{peso toxicidad}} + \underbrace{0.2 S_{\text{SA}}(i)}_{\text{peso síntesis}}$$

Los derivados con $S_S \geq 1$ superan globalmente al conjunto de referencia. Los resultados se ordenan de mayor a menor S_S .

Interpretación práctica de S_S

$S_S = 1$ es el umbral de referencia: el derivado es, en promedio, tan “bueno” como los fármacos del RefSet. $S_S > 1$ indica mejora global — puede venir de mejor ADME, menor toxicidad, mayor facilidad de síntesis, o una combinación de las tres. Un puntaje alto en un bloque puede compensar deficiencias en otro, por eso siempre conviene revisar S_{ADME} , S_T y S_{SA} de forma individual además de S_S .

6.4. Archivos de salida

- `{nombre}_SS.csv` — tabla completa con todas las puntuaciones (S_{ADME} , S_T , S_{SA} , S_{ADMET} , S_S), las banderas ADME individuales y las propiedades originales, ordenada por S_S .
- `{nombre}_SS_SummaryStatistics.csv` — estadísticas de todas las propiedades.

6.5. Gráfica de resultados (PLOT RESULTS)

La gráfica de barras permite visualizar cualquier columna numérica del archivo de resultados. Características:

- El compuesto líder (acrónimo) se resalta con barra oscura y trama diagonal.
- Al graficar S_S , una línea punteada en $S_S = 1$ marca el umbral del RefSet.
- Las etiquetas del eje X se ajustan dinámicamente al nivel de zoom.
- La barra de herramientas de matplotlib permite hacer zoom, desplazarse y guardar a 300 dpi.
- Si no hay datos calculados en la sesión actual, se pide cargar un `_SS.csv` existente.

7. Módulo 3 — SMILES to 3D

Genera conformadores 3D en formato SDF para continuar el flujo de trabajo en programas de modelado molecular (Gaussian 16, ORCA, DataWarrior, AutoDock, etc.).

7.1. Dos vías de entrada

Panel izquierdo — desde `_SS.csv`

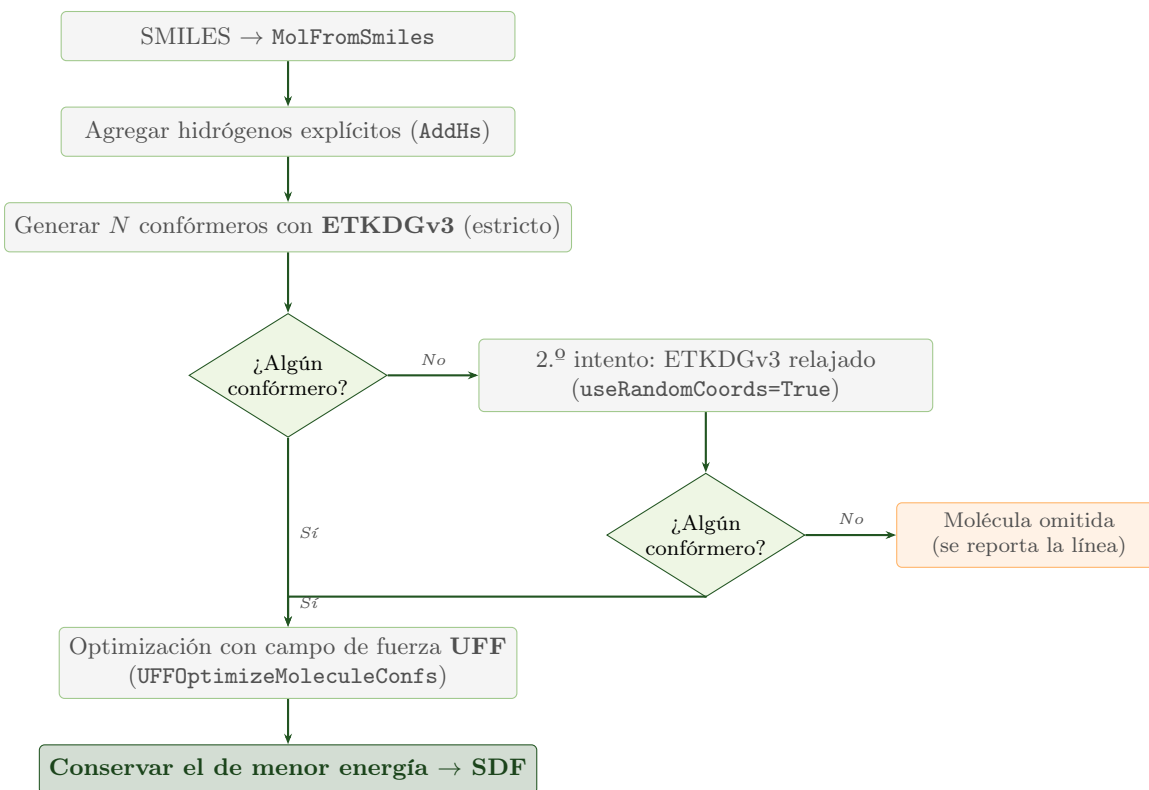
Cargue un archivo `_SS.csv` generado por SELECTION SCORES. Especifique cuántos de los mejores compuestos por S_S convertir a 3D. Opcionalmente fuerce la inclusión de un acrónimo específico sin importar su posición en el ranking.

Panel derecho — lista de SMILES

Pegue cadenas SMILES directamente en el área de texto, una por línea. Los SMILES inválidos se omiten automáticamente; se reporta el número de línea de los problemáticos para facilitar la corrección.

7.2. Algoritmo de generación de conformadores

El número de conformeros de prueba se ajusta automáticamente según la flexibilidad de cada molécula mediante el siguiente flujo:



7.3. Archivos de salida

- `smiles_3D.sdf` — un conformero por molécula. Cada entrada contiene las coordenadas 3D del conformero de menor energía UFF.
- `structures_grid.png` — representaciones 2D en cuadrícula (4 estructuras por fila, 500×500 px cada una).

Nota importante sobre las estructuras generadas

Los conformeros **no incluyen efectos de disolvente** y no han sido optimizados con métodos de nivel electrónico. Son **puntos de partida** para optimizaciones subsiguientes (DFT, ONIOM, dinámica molecular), no geometrías finales. Para cálculos de energía de enlace o acoplamiento molecular es indispensable re-optimizar con el método apropiado.

8. Conjuntos de referencia incluidos

CADMA.py incluye por defecto dos conjuntos de referencia, construidos a partir de fármacos orales actualmente aprobados o en evaluación clínica:

Conjunto	MW	logP	LD50 (mg/kg)	SA
Neurodegenerativas	291.31	2.55	1131.37	74.07
Síndrome de Rett	289.77	2.22	1751.04	76.98

Los usuarios pueden añadir nuevos conjuntos de referencia usando el módulo CREATE A REFERENCE SET. Cada nuevo conjunto queda disponible de forma permanente en el menú *Select Disease*.

9. Cómo citar CADMA.py

- Guzman-Lopez, E.G.; Reina, M.; Perez-Gonzalez, A.; Francisco-Marquez, M.; Hernandez-Ayala, L.F.; Castañeda-Arriaga, R.; Galano, A. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 13246. <https://doi.org/10.3390/ijms232113246>
- Guzmán-López, E.G.; Reina, M.; Hernández-Ayala, L.F.; Galano, A. *Antioxidants* **2023**, *12*, 1256. <https://doi.org/10.3390/antiox12061256>

10. Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) de México mediante el proyecto “*Fronteras de la Ciencia 2023–2024*” No. CBF2023-2024-1141: “*Diseño de fármacos multifuncionales para abordar enfermedades multifactoriales: Una aproximación computacional y experimental hacia la mejora de la terapia*”. Se agradece la beca doctoral 649128 otorgada a Eduardo Gabriel Guzmán-López, fundamental para el desarrollo de esta investigación.

E.2 Fragmentos representativos de CADMA.py

El código fuente completo está disponible en agalano.com/research/apps/desktop-apps/. Se presentan aquí los fragmentos que implementan la lógica central del protocolo.

Dependencias e inicialización

Código E.1: Importaciones y configuración global de CADMA.py

```
1 import tkinter as tk
2 from tkinter import filedialog, ttk, scrolledtext, messagebox
3 import pandas as pd
4 from rdkit import Chem, rdBase
5 from rdkit.Chem import PandasTools, Descriptors, rdMolDescriptors, AllChem
6 import os
7 import numpy as np
8 from matplotlib.figure import Figure
9 from matplotlib.backends.backend_tkagg import FigureCanvasTkAgg, NavigationToolbar2Tk
10 import matplotlib.pyplot as plt
11 import webbrowser
12 from rdkit.Chem.AllChem import GetConformerRMS
13 import subprocess
14 import json
15 from documentation import open_notebook
16
17 import matplotlib as mpl
18 mpl.rcParams.update({
19     "font.family": "serif",      # algo tipo LaTeX
20     "font.size": 10,
21     "axes.labelsize": 11,
22     "axes.titlesize": 12,
23     "xtick.labelsize": 8,
24     "ytick.labelsize": 8,
25     "figure.dpi": 150,
26     "savefig.dpi": 300,
27     "axes.spines.top": False,
28     "axes.spines.right": False,
29     "axes.grid": False,         # apagamos grid global, lo controlamos a mano
30     "text.usetex": False       # usamos mathtext, no LaTeX externo (más portable)
31 })
```

Intervalos CADMA-Chem

Código E.2: Definición del diccionario de intervalos de aceptabilidad ADME

```

1  →
2  # Definición de rangos QTA-Lipinski
3  rangos = {
4      'MW': (200, 400),
5      'logP': (2, 3),
6      'MR': (40, 130),
7      'AtX': (20, 50),
8      'HBLA': (0, 6),
9      'HBLD': (0, 3),
10     'RB': (0, 10),
11     'PSA': (0, 70),
12 }
```

Cálculo de $\Sigma_{ADME,ref}$

Código E.3: Función que determina cuántas propiedades del RefSet cumplen los intervalos CADMA-Chem

```

1  →#####
2  def calcular_suma_adme_enfermedad(enfermedad: str) -> int:
3      csv_path = disease_files.get(enfermedad, None)
4      if not csv_path or not os.path.exists(csv_path):
5          print(f"[Aviso] No se encontró archivo RefSet para '{enfermedad}'. Usando len(rangos) como fallback.")
6          return len(rangos)
7
8      try:
9          df_ref = pd.read_csv(csv_path)
10     except Exception as e:
11         print(f"[Aviso] Error leyendo RefSet '{csv_path}' para '{enfermedad}': {e}")
12         return len(rangos)
13
14     suma = 0
15     for prop, (min_val, max_val) in rangos.items():
16         if prop not in df_ref.columns:
17             continue
18
19         serie = pd.to_numeric(df_ref[prop], errors="coerce").dropna()
20         if serie.empty:
21             continue
22
23         avg = float(serie.mean())
24         #Debug para ver que intervalos se están leyendo.
25
```

```

26 #         print(f"[DEBUG] {enfermedad} - {prop}: avg={avg:.2f}, rango=({min_val}, {max_val}) "
27 #         f"-> ✓{' ' if min_val <= avg <= max_val else ✗'}")
28
29     if min_val <= avg <= max_val:
30         suma += 1
31
32     if suma == 0:
33         print(f"[Aviso] Ninguna propiedad ADME pudo evaluarse para '{enfermedad}'. Usando len(rangos) como fallback.")
34         return len(rangos)
35
36     return suma

```

Cálculo de descriptores ADME desde SMILES

Código E.4: Cálculo de MW, logP, MR, AtX, HBLA, HBLD, RB y PSA mediante RDKit

```

1  →□□□□□□✓✗✗→→→→□□—
2  def load_and_process_smiles_for_RefSet(smiles_file):
3      """
4      Lee el archivo de SMILES del Reference Set (puede ser .smi/.smiles/.txt/.csv),
5      normaliza a columnas ['name','smile'] y calcula las propiedades ADME:
6      MW, logP, MR, AtX, HBLA, HBLD, RB, PSA.
7
8      Devuelve un DataFrame con:
9      ['name', 'smile', 'ROMol', 'MW', 'logP', 'MR',
10      'AtX', 'HBLA', 'HBLD', 'RB', 'PSA']
11      """
12     if not smiles_file:
13         raise ValueError("No se proporcionó archivo de SMILES para el Reference Set.")
14
15     # 1) Leer SMILES con la función unificada
16     smiles_df = load_smiles_with_names(smiles_file, label="SMILES (reference set)")
17
18     # 2) Crear ROMol y filtrar inválidos
19     smiles_df["ROMol"] = smiles_df["smile"].apply(Chem.MolFromSmiles)
20
21     invalid_count = smiles_df["ROMol"].isna().sum()
22     if invalid_count > 0:
23         print(f"[Aviso] Se encontraron {invalid_count} SMILES inválidos en '{smiles_file}' y serán descartados.")
24
25     smiles_df = smiles_df[smiles_df["ROMol"].notna()].copy()
26
27     if smiles_df.empty:
28         raise ValueError("Después de filtrar SMILES inválidos, no quedó ningún compuesto válido en el Reference Set.")
29
30     # 3) Calcular descriptores ADME básicos
31     smiles_df["MW"] = smiles_df["ROMol"].apply(Descriptors.MolWt).round(2)

```

```

32 smiles_df["logP"] = smiles_df["ROMol"].apply(Descriptors.MolLogP).round(2)
33 smiles_df["MR"] = smiles_df["ROMol"].apply(Descriptors.MolMR).round(2)
34 smiles_df["AtX"] = smiles_df["ROMol"].apply(Descriptors.HeavyAtomCount)
35 smiles_df["HBLA"] = smiles_df["ROMol"].apply(rdMolDescriptors.CalcNumLipinskiHBA)
36 smiles_df["HBLD"] = smiles_df["ROMol"].apply(rdMolDescriptors.CalcNumLipinskiHBD)
37 smiles_df["RB"] = smiles_df["ROMol"].apply(rdMolDescriptors.CalcNumRotatableBonds)
38 smiles_df["PSA"] = smiles_df["ROMol"].apply(rdMolDescriptors.CalcTPSA).round(2)
39
40 return smiles_df

```

Evaluación binaria por intervalo y cálculo de puntuaciones

Código E.5: Función en_rango y cálculo de S_{LD50} , S_M , S_{DT} , S_T , S_{SA} , S_{ADME} y S_S

```

1 →□□□□□✓X/X→→→□□—//~□
2     def en_rango(valor, propiedad):
3         if propiedad in rangos:
4             return 1 if rangos[propiedad][0] <= valor <= rangos[propiedad][1] else 0
5         else:
6             raise ValueError(f'La propiedad {propiedad} no tiene un rango definido.')
7
8     # Carga y procesamiento de los archivos CSV
9     prop_ADME = load_and_process_smiles(prop_adme_file, results_text, name, acronimo, smile_original_var.get() if smile_original_var else None)
10    if prop_ADME is None or not all(col in prop_ADME.columns for col in rangos.keys()):
11        raise ValueError('El archivo ADME no contiene todas las columnas necesarias.')

```

```

1 →□□□□□✓X/X→→→□□—//~□
2     cleaned_data['S_LD50'] = 1 + np.log10((1 + cleaned_data['LD50']) / (1 + farmacos_ld50_avg))
3     cleaned_data['S_M'] = 1 - np.log10((1 + cleaned_data['M']) / (1 + farmacos_m_avg))
4     cleaned_data['S_DT'] = 1 - np.log10((1 + cleaned_data['DT']) / (1 + farmacos_dt_avg))
5
6     cleaned_data['S_T'] = (cleaned_data['S_LD50'] + cleaned_data['S_M'] + cleaned_data['S_DT']) / 3.0
7
8     cleaned_data['S_SA'] = (cleaned_data['SA'] / farmacos_sa_avg)
9
10    linea_acronimo = cleaned_data[cleaned_data['Compound'] == acronimo]
11
12    print(linea_acronimo)
13
14    cleaned_data['S_ADME'] = cleaned_data[columnas_adme].sum(axis=1) / float(suma_adme_calc)
15
16    cleaned_data['S_ADMET'] = cleaned_data['S_ADME'] + cleaned_data['S_T']

```

```

1 →□□□□□✓X/X→→→□□—//~□
2     cleaned_data['S_S'] = (cleaned_data['S_ADMEPesada'] + cleaned_data['S_TPesada'] + cleaned_data['S_SAPesada']).round(3)

```

Generación de conformadores 3D

Código E.6: Heurística de conformadores por enlaces rotables y generación ETKDGv3 + UFF

```

1  →□□□□□□✓X✓X→→→→□□—✓✓✓—□□□□□□✓—□□
2  def heuristic_num_confs(mol):
3      """
4      Decide cuántos conformeros generar en función del número de enlaces rotables (RB).
5      Pensado para moléculas tipo fármaco.
6      """
7      rb = rdMolDescriptors.CalcNumRotatableBonds(mol)
8
9      if rb <= 2:
10         return 10      # moléculas muy rígidas
11     elif rb <= 5:
12         return 20      # flexibilidad moderada
13     elif rb <= 8:
14         return 30
15     elif rb <= 12:
16         return 50
17     else:
18         return 75      # muy flexibles; podrías subir a 100 si quieres
19
20 def generate_3d_conformations(data_frame, num_confs=None, progress_bar=None):
21     """
22     Genera conformaciones 3D usando ETKDGv3 + UFF.
23     Si num_confs es None, decide cuántos conformeros generar por molécula
24     usando una heurística basada en el número de enlaces rotables (RB).
25
26     Estrategia:
27     1) Intento "estricto" con ETKDGv3 por defecto.
28     2) Si no se generan conformeros, intento "relajado"
29        (useBasicKnowledge=False, enforceChirality=False, useRandomCoords=True).
30     """
31     # Parámetros estrictos (por defecto)
32     ps_strict = AllChem.ETKDGv3()
33     ps_strict.clearConfs = False
34
35     total = len(data_frame)
36
37     mol_3d_list = []
38     best_etkdg_conf_list = []
39
40     for idx, (_, row) in enumerate(data_frame.iterrows(), start=1):
41         smi = row['smile']
42
43         try:
44             mol = Chem.MolFromSmiles(smi)
45             if mol is None:

```



```
46         mol_3d_list.append(None)
47         best_etkdg_conf_list.append(None)
48         if progress_bar:
49             update_progress(progress_bar, idx, total)
50         continue
51
52     # Heurística para número de conformeros si el usuario no especifica
53     n_confs = num_confs if num_confs is not None else heuristic_num_confs(mol)
54
55     mol_3D = AllChem.AddHs(mol)
56
57     # 1) Intento estricto
58     cid_list = AllChem.EmbedMultipleConfs(
59         mol_3D,
60         numConfs=n_confs,
61         params=ps_strict
62     )
63
64     # 2) Si falla, intento relajado
65     if not cid_list:
66         ps_relaxed = AllChem.ETKDGv3()
67         ps_relaxed.clearConfs = False
68         ps_relaxed.useBasicKnowledge = False
69         ps_relaxed.enforceChirality = False
70         ps_relaxed.useRandomCoords = True
71
72         cid_list = AllChem.EmbedMultipleConfs(
73             mol_3D,
74             numConfs=n_confs,
75             params=ps_relaxed
76         )
77
78     # Si aún así no hay conformadores, marcamos como None
```


Apéndice F

Scripts para tratamiento de estructuras

F.1 Scripts para búsqueda conformacional

A continuación se muestran los scripts desarrollados para manipular bloques de estructuras diseñadas a lo largo del flujo de trabajo del protocolo CADMA.

Para la búsqueda conformacional en CREST se emplea el Script [F.1](#), con una plantilla cuya estructura se muestra en

Código F.1: Script para realizar la búsqueda de conformeros en CREST

```

1  # --- Step 1: Run CREST to generate conformers ---
2  # Create file.toml for optimization
3  cat > file.toml <<EOF
4  #CREST optimization input file
5  input='$INPUT_XYZ'
6  runtype='ancopt'
7  optlev='tight'
8  threads=32
9
10 [[calculation.level]]
11 method="gfnff"
12 #solvent:
13 gbsa='water'
14 #open shell (1), closed shell(0):
15 uhf = 0
16 #charge:
17 chrg = 0
18 EOF
19
20 echo "Activating CREST environment and running optimization..."
21
22 #Path where the CREST bin directory is installed
23 export PATH="/home/servidorqta/.conda/envs/crest/bin:$PATH"
24
25 # Verify if CREST is activated correctly
26 if [[ "$(which crest)" != "/home/servidorqta/.conda/envs/crest/bin/crest" ]]; then
27     echo "Error: CREST environment couldn't been activated."
28     exit 1
29 fi
30
31 echo "Environment 'crest' activated."
32 echo "Running CREST optimization..."
33
34 crest --input file.toml
35 if [ ! -f crestopt.xyz ]; then
36     echo "Error: crestopt.xyz not found. Optimization failed."
37     exit 1
38 fi
39

```

```

40 # Create search.toml for conformer search
41 cat > search.toml <<EOF
42 #CREST conformer search input file
43 input='crestopt.xyz'
44 runtype='imtd-gc'
45 threads=32
46
47 [[calculation.level]]
48 method="gfn2"
49 #solvent:
50 gbsa='water'
51 #open shell (1), closed shell(0):
52 uhf = 0
53 #charge:
54 chrg = 0
55 EOF
56
57 echo "Running CREST conformer search..."
58 crest --input search.toml
59 if [ ! -f crest_conformers.xyz ]; then
60     echo "Error: crest_conformers.xyz not found. Conformer search failed."
61     exit 1
62 fi

```

Código F.2: Script para extraer coordenadas cartesianas de las entradas del software Gaussian

```

1  #!/usr/bin/env bash
2  # Extrae coordenadas cartesianas desde archivos .gjf de Gaussian a formato .xyz.
3  # Uso: ./script_to_extract_xyz_from_gjf.sh archivo.gjf > salida.xyz
4
5  set -euo pipefail
6
7  if [[ $# -lt 1 ]]; then
8      echo "Uso: $0 archivo.gjf" >&2
9      exit 1
10 fi
11
12 gjf_file="$1"
13
14 # Extrae líneas de coordenadas con 4 columnas: elemento x y z
15 awk '
16 BEGIN {in_coords=0}
17 /^[[:space:]]*$/ {
18     if (in_coords==0) {
19         in_coords=1
20         next
21     } else if (in_coords==1) {
22         exit
23     }
24 }
25 in_coords==1 && NF>=4 {
26     if ($1 ~ /^[A-Za-z][A-Za-z]?$/) {
27         print $1, $2, $3, $4
28         n++
29     }
30 }
31 END {
32     if (n==0) {
33         print "No se detectaron coordenadas en " FILENAME > "/dev/stderr"
34         exit 2
35     }
36 }
37 ' "$gjf_file" | awk 'BEGIN{c=0} {rows[c++]=0} END{print c; print "Extraído de " ARGV[1]; for(i=0;i<c;i++) print rows[i]}' "$gjf_file"

```

Código F.3: CREST: pipeline para conformeros

```

1 #!/usr/bin/env bash
2 set -euo pipefail
3 for mol in *.xyz; do
4     crest "$mol" -gfn2//...
5 done

```

F.2 Scripts para PyMOL

Código F.4: Scripts para el tratamiento de ligandos en el sitio activo de COMT

```

1 from pymol import cmd
2
3 def extract_pocket_ligands(ligand_obj="ref_lig_obj", radius=6.0):
4     """
5     Para cada objeto cargado:
6     - Selecciona orgánicos dentro de 'radius' Å del ligando_obj
7     - Crea un objeto nuevo llamado <obj>_lig si encuentra algo
8     """
9     objs = cmd.get_object_list()
10    for obj in objs:
11        # Saltar el objeto del ligando de referencia
12        if obj == ligand_obj:
13            continue
14
15        sel_name = f"{obj}_pocket_lig_sel"
16        cmd.select(sel_name,
17            f"({obj}) and organic and not resn H0H+S04+P04+G0L+ED0+PEG) within {radius} of {ligand_obj}"
18        )
19
20        if cmd.count_atoms(sel_name) > 0:
21            new_obj = f"{obj}_lig"
22            cmd.create(new_obj, sel_name)
23            print(f"[OK] {obj} -> {new_obj}")
24        else:
25            print(f"[SKIP] {obj}: no se encontró ligando en el pocket (d<{radius} Å)")
26
27    # Registrar comando en PyMOL
28    cmd.extend("extract_pocket_ligands", extract_pocket_ligands)

```

Código F.5: Script para numerar repeticiones de ligandos en el sitio activo de COMT

```

1 from pymol import cmd
2
3 def resn_summary(obj="ligands_pocket"):
4     """
5     Muestra cuántos residuos (chain, resi) hay de cada resn en 'obj'.
6     Útil para identificar SAM, SAH, DNC u otros muy repetidos.
7     """
8     model = cmd.get_model(obj)
9     resn_to_instances = {}
10
11    for at in model.atom:
12        resn = at.resn
13        key = (at.chain, at.resi)
14        resn_to_instances.setdefault(resn, set()).add(key)
15
16    print(f"\nResumen de resn en objeto '{obj}':")
17    print(f"{'RESN':<6} {'N_residuos':>10}")
18    print("-" * 20)
19
20    # Ordenar por número de residuos (de mayor a menor)
21    for resn, instances in sorted(resn_to_instances.items(),

```

```

22         key=lambda kv: len(kv[1]),
23         reverse=True):
24     print(f"{resn:<6} {len(instances):>10}")
25
26 cmd.extend("resn_summary", resn_summary)

```

Código F.6: Script para eliminar ligandos muy repetidos en el sitio activo de COMT

```

1  from pymol import cmd
2
3  def collapse_frequent_resn(obj="ligands_pocket", max_rep="4"):
4      """
5      Para cada resn con más de min_occ residuos (chain, resi), conserva
6      solo una instancia y elimina las demás.
7      """
8      # Convertir a entero porque PyMOL pasa strings
9      max_rep = int(max_rep)
10
11     model = cmd.get_model(obj)
12     resn_to_instances = {}
13
14     # Construir mapa resn -> lista de (chain, resi)
15     for at in model.atom:
16         resn = at.resn
17         key = (at.chain, at.resi)
18         resn_to_instances.setdefault(resn, set()).add(key)
19
20     # Procesar cada resn
21     for resn, instances in resn_to_instances.items():
22         instances = list(instances)
23         n = len(instances)
24
25         if n <= max_rep:
26             # No está suficientemente repetido, NO eliminar
27             continue
28
29         # Elegir UNA instancia a conservar
30         chain_keep, resi_keep = instances[0]
31
32         sel_remove = (
33             f"{obj} and resn {resn} "
34             f"and not (chain '{chain_keep}' and resi {resi_keep})"
35         )
36
37         cmd.remove(sel_remove)
38         print(f"[INFO] {obj}: resn {resn} tenía {n} ocurrencias -> "
39               f"conservo chain {chain_keep}, resi {resi_keep}")
40
41 cmd.extend("collapse_frequent_resn", collapse_frequent_resn)

```

Código F.7: Script para cargar el consenso farmacofórico con peso en PyMOL

```

1  from pymol import cmd
2  import csv
3  from collections import defaultdict
4
5  def load_consensus_with_weight(csv_file, prefix="consensus"):
6      """
7      Carga un farmacóforo de consenso desde un CSV y crea
8      UN OBJETO POR TIPO DE INTERACCIÓN:
9
10     consensus_HydrogenAcceptor
11     consensus_HydrogenDonor
12     consensus_Hydrophobic
13     etc.

```

```

14
15 Canales visuales:
16 - Color      -> tipo farmacofórico (fijo por tipo)
17 - Radio      -> columna 'radius' (tolerancia geométrica)
18 - Transparencia -> degradado por peso DENTRO de cada tipo
19             más opaco = mayor 'weight'
20
21
22 # Borrar previamente cualquier cosa que empiece con ese prefijo
23 cmd.delete(prefix + "*")
24
25 # Leer CSV y agrupar por tipo (columna 'name')
26 rows_by_type = defaultdict(list)
27 with open(csv_file) as f:
28     reader = csv.DictReader(f)
29     for r in reader:
30         if "name" not in r or "x" not in r or "y" not in r or "z" not in r or "radius" not in r:
31             continue
32         rows_by_type[r["name"]].append(r)
33
34 if not rows_by_type:
35     print("[ERROR] No se encontraron filas válidas en el CSV.")
36     return
37
38 # Colores por tipo de interacción (ajusta si quieres)
39 COLOR_MAP = {
40     "HydrogenDonor": "tv_blue",
41     "HydrogenAcceptor": "tv_red",
42     "Hydrophobic": "yellow",
43     "Aromatic": "orange",
44     "AromaticRing": "orange",
45     "PositiveIon": "purple",
46     "NegativeIon": "cyan",
47 }
48
49 created_objs = []
50
51 # Recorremos cada tipo de interacción por separado
52 for ftype, rows in rows_by_type.items():
53     obj_name = f"{prefix}_{ftype}"
54     created_objs.append(obj_name)
55
56     # Extraer pesos para este tipo
57     weights = []
58     for r in rows:
59         try:
60             w = float(r.get("weight", 1.0))
61         except ValueError:
62             w = 1.0
63         weights.append(w)
64
65     wmin, wmax = min(weights), max(weights)
66
67     # Rango de transparencias (0 = opaco, 1 = invisible)
68     alpha_max = 0.95 # peso mínimo -> casi invisible
69     alpha_min = 0.00 # peso máximo -> opaco
70
71     # Intensidad del efecto (>=1.0). 1.0 = lineal, -24 = más dramático.
72     # intensity = 3.0
73
74     # Crear pseudoátomos para este tipo
75     for i, r in enumerate(rows, start=1):
76         try:
77             w = float(r.get("weight", 1.0))
78         except ValueError:
79             w = 1.0

```

```
80
81     if wmax == wmin:
82         t = 0.5 # todos igual -> transparencia intermedia
83     else:
84         t = (w - wmin) / (wmax - wmin) # normalizado -01 dentro de ESTE tipo
85
86     # Curva exponencial para hacer más visible la diferencia
87     # t_exp = t ** intensity
88
89     # Interpolan transparencia dentro de este tipo
90     alpha = alpha_max - (alpha_max - alpha_min) * t
91
92     x = float(r["x"])
93     y = float(r["y"])
94     z = float(r["z"])
95     rad = float(r["radius"])
96
97     # Creamos el pseudoátomo
98     cmd.pseudoatom(obj_name, pos=[x, y, z], vdw=rad)
99
100    # OJO: índice local dentro del objeto, NO global
```