



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa

DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
POSGRADO EN CIENCIAS (QUÍMICA)

TESIS

"DISEÑO RACIONAL DE NEUROPROTECTORES DERIVADOS DE LA 2-(2'-HIDROXIFENIL) BENZOXAZOL"

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS (QUÍMICA)

PRESENTA:

Q. BRENDA CAROLINA MORALES GARCÍA

2223803336

ORCID: 0009-0002-9847-5495

caritomg@outlook.com

ASESORA: DRA. ANNIA GALANO JIMÉNEZ

ASESORA: DRA. ADRIANA PÉREZ GONZÁLEZ

JURADO:

PRESIDENTE: DR. JUAN RAÚL ÁLVAREZ IDABOY

SECRETARIO: DR. HUMBERTO LAGUNA GALINDO

VOCAL: DR. JOEL IRETA MORENO

Ciudad de México, a 28 de marzo de 2025.

In memoriam

Con profundo cariño y gratitud, dedico estas palabras a la memoria de la Dra. Annik Vivier Jegoux, quien tuvo una influencia profunda en mi desarrollo académico y personal. Su apoyo incondicional, sus consejos y su esfuerzo constante fueron fundamentales en el inicio de esta hermosa investigación y en mi ingreso a la Maestría. Sus valiosos consejos me dieron la fortaleza para seguir adelante en este camino, y siempre la llevaré en mi corazón, así como en mi memoria, su radiante sonrisa y sus palabras de ánimo, que continúan inspirándome cada día.

Dedicatoria

Para las personas más importantes de mi vida, dedico esta tesis a mis bellos padres Beatriz García y Roberto Morales, a mis queridos hermanos Adia Adela Morales García y Cristian Morales García, a mi amado novio, mi mejor amigo José Francisco Hernández Ramírez, por sus grandes consejos, palabras, esfuerzos, lucha y dedicación necesarios para obtener una estrella más en mi vida. Y sobre todo su gran cariño y amor.

Agradecimientos

A mi amado novio, mi mejor amigo, mi compañero, mi químico José Francisco Hernández Ramírez, por todo tu amor, cariño, amistad, consejos y sobre todo tu apoyo incondicional, por toda la trayectoria recorrida juntos en este camino académico me has dado mucha felicidad, muchos ánimos y sobre todo mucha paciencia. TE AMO INFINITAMENTE.

A mi bello pollito, mi mamita, Beatriz García, por darme la vida, eres mi motor, eres mi pilar que ilumina mis días, por todo el amor que me das y todo tu cariño y consejos que siempre tienes para animarme e impulsarme siempre. TE AMO POLLITO.

A mi papá Roberto Morales, por darme la vida y por estar al pendiente mío. TE AMO PAPÁ.

A mis hermanitos Adia y Cristian por todo su cariño y amor, por su compañía y apoyo en los buenos momentos y sus ánimos. LOS AMO.

A mi chiquitín precioso, que llegó a mi vida transformando mis días y llenarlos de luz y alegría... ¡y también de pelos!

A mis asesoras, Dra. Adri y Dra. Annia, por el apoyo incondicional, por sus excelentes asesorías, su gran apoyo, motivación y estar siempre al pendiente de mí, por sus enseñanzas y por impulsarme en mi formación académica.

A mis compañeros y conocidos, por sus palabras de motivación y consejos.

A mis profesores, por cada una de sus enseñanzas, observaciones, consejos y sobre todo compartirme sus experiencias.

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por su apoyo económico para la realización de esta tesis de maestría.

Resumen

Se llevó a cabo un diseño computacional sistemático para desarrollar derivados del compuesto 2-(2'-hidroxifenil) benzoxazol, HBX), identificado como un prometedor candidato para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas. Se empleó el protocolo CADMA-Chem (A Computational Protocol Based on Chemical Properties Aimed to Design Multifunctional Antioxidants), que permitió generar 30,172 derivados a través de la incorporación de grupos funcionales al esqueleto químico de HBX. Para la selección de los mejores candidatos, se calculó un Puntaje de Selección (P^S), basado en un análisis simultáneo de las propiedades ADMETSA (absorción, distribución, metabolismo, excreción, toxicidad y accesibilidad de síntesis), con lo que se identificaron tres derivados con propiedades óptimas para actuar como antioxidantes multifuncionales.

El potencial neuroprotector de HBX y sus derivados se evaluó mediante docking molecular, analizando las energías de unión con una serie de receptores biológicos clave implicados en desórdenes neurodegenerativos como Parkinson, Alzheimer y Esclerosis Lateral Amiotrófica, entre ellos: AChE, NMDAr, COMT, MAO-B, $\sigma 1R$, 5HT2A, A2Ar, SOD, XO y PPAR γ . Asimismo, se utilizó la metodología QM-ORSA (Quantum Mechanics-Based Test for Overall Free Radical Scavenging Activity) para cuantificar la capacidad antioxidante primaria del derivado más prometedor. Los resultados indicaron que este compuesto exhibe una constante de velocidad global en medio acuoso 30,688 veces superior a la antioxidante de referencia que es Trolox, posicionándolo como un candidato altamente eficiente en la neutralización de radicales libres.

Abstract

A systematic computational design was conducted to develop derivatives of the compound 2-(2'-hydroxyphenyl) benzoxazole, HBX), identified as a promising candidate for the treatment of neurodegenerative disorders. The CADMA-Chem protocol (A Computational Protocol Based on Chemical Properties Aimed to Design Multifunctional Antioxidants) was employed, generating 30,172 derivatives through the incorporation of functional groups into the chemical scaffold of HBX. To select the best candidates, a Selection Score (P^S) was calculated based on a simultaneous analysis of ADMETSA properties (absorption, distribution, metabolism, excretion, toxicity, and synthetic accessibility), finding three derivatives with best properties to function as multifunctional antioxidants.

The neuroprotective potential of HBX and its derivatives was evaluated through molecular docking, analyzing the binding energies with a series of key biological receptors involved in neurodegenerative disorders such as Parkinson's, Alzheimer's, and Amyotrophic Lateral Sclerosis, including AChE, NMDAr, COMT, MAO-B, $\sigma 1R$, 5HT2A, A2Ar, SOD, XO, and PPAR γ . Additionally, the QM-ORSA methodology (Quantum Mechanics-Based Test for Overall Free Radical Scavenging Activity) was used to quantify the primary antioxidant capacity of the most promising derivative. The results showed that this compound shows a global rate constant in an aqueous medium 30,688 times higher than the reference antioxidant, Trolox, positioning it as a highly efficient candidate for neutralizing free radicals.

ÍNDICE

1. Introducción	14
2. Antecedentes.....	17
2.1 CADMA-Chem (Diseño Asistido por Computadora de Antioxidantes Multifuncionales, basado en propiedades químicas).....	17
2.2 Enfermedades multifactoriales.....	18
2.3 Fármacos multifuncionales.....	19
2.4 Docking Molecular	21
3. Objetivos	23
3.1 Objetivos General	23
3.2 Objetivos Particulares.....	23
4. Hipótesis.....	24
5. Metodología.....	24
5.1 Diseño de antioxidantes multifuncionales. Herramientas QSAR.	24
5.1.1 Generación de derivados.....	24
5.1.2 Propiedades de Toxicológicas T.E.S.T.	26
5.1.3 Accesibilidad Sintética	27
5.1.4 Propiedades fisicoquímicas (ADME)	27
5.1.5 Puntaje de selección.....	29
5.1.6 Puntaje de eliminación	32
5.2 Cálculos de estructura electrónica. Gaussian 09.....	33
5.2.1 Métodos de cálculos.....	33
5.2.2 Estimación de pka.....	34
5.2.3 Descriptores de reactividad	35
5.3 Acoplamiento molecular	36
5.4 QM-ORSA: Capacidad antioxidante primaria	38
6. Resultados y discusión	41
6.1 Diseño de antioxidantes multifuncionales.....	41

6.2 Cálculos de estructura electrónica.....	48
6.2.1 Estudio conformacional.....	48
6.2.2 Orden de deprotonación y valores de pK_a	52
6.2.3 Descriptores de reactividad	55
6.3 Acoplamiento Molecular.....	57
6.4 QM-ORSA: Capacidad antioxidante primaria	63
7. Conclusiones	72
8. Perspectivas.....	74
9. Apéndice.....	75
10. Referencias	82

Abreviaturas

$\overline{AS}^{RefSet}$: Promedio de la accesibilidad sintética del conjunto de fármacos de referencia

$\overline{M}^{RefSet}$: Promedio de la mutagenicidad del conjunto de fármacos de referencia

$\overline{TD}^{RefSet}$: Promedio de toxicidad en el desarrollo del conjunto de fármacos de referencia

ΔG_B : Puntaje de acoplamiento ponderado del derivado

ΔG_B^W : Puntaje de acoplamiento ponderado del sustrato

5HT2A: Receptor de serotonina 5HT2A

A2Ar: Receptor de adenosina 2^a

AChE: Acetilcolinesterasa

ADME: Adsorción, Distribución, Metabolismo y Excreción

ADMETSA: Adsorción, Distribución Metabolismo, Excreción, Toxicidad y Accesibilidad Sintética.

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

APH: Aceptores de puentes de hidrógeno

AS: Accesibilidad sintética

AS^{dHBX} : Valor de la accesibilidad sintética de derivados de HBX

ASP: Área superficial polar

BDP: Banco de Datos de Proteínas

CADMA-Chem: Diseño Asistido por Computadora de Antioxidantes Multifuncionales, basado en propiedades químicas (Computer-Aided Design of Multifunctional Antioxidants based on chemical properties)

COMT: Catecol-o-metil transferasa

CTCZ: Correcciones de Tunelaje con Curvatura Zero

D_A: Coeficiente de difusión del reactivo A (radical)

D_{AB}: Coeficiente de difusión mutua de los reactivos A (radical) y B (antioxidante)

D_B: Coeficiente de difusión del reactivo B (antioxidante)

DE_{propiedad}: Desviación estándar de propiedades

dHBX: Derivados de HBX

DL₅₀: Dosis Letal media

DPH: Donadores de puentes de hidrógeno

EDE: Energía de disociación de enlace

EI: Energía de Ionización

ELA: Esclerosis Lateral Amiotrófica

EO: Estrés oxidativo

ERO: Especies oxigenadas reactivas.

ET: Estado de transición

FAR: Formación De Aducto Radicálico

f^M: Fracción Molar

Gs(A): Energía libre de Gibbs en solución acuosa de la base conjugada (A)

Gs(B): Energía libre de Gibbs en solución acuosa de la base conjugada (B)

h: Constante de Planck

HBX: 2-(2'-hidroxifenil) benzoxazol

k: Constante de velocidad

k_{app}: Constante de velocidad aparente

k_B: Constante de Boltzmann

K_c: Constante de equilibrio en unidades de concentración

k_D: Constante de difusión

k_{global}: Constante de velocidad global

K_r: Constante de equilibrio en unidades de presión

k_{total}: Constante de velocidad total

Log P: Logaritmo de la constante de reparto octanol-agua

log S_r: Puntaje poligénico

M: Mutagenicidad

MAO-B: Monoaminooxidasa tipo B

M^{dHBX}: Valor de la mutagenicidad para derivados de HBX

MM: Masa molar

MSC: Modelo solvente continuo

N/A: No Aplica

n: Número de moles

N_A: Numero de Avogadro

NAP: Número de Átomos Pesados o Número de átomos diferentes de H

NER: Número de enlaces rotables

NMDA_r: Receptor de N-metil-D-aspartato

OMS: Organización Mundial de la Salud

ONE: Orbitales Naturales de Enlace

P^{ADME}: Puntaje de propiedades ADME

P^{ADMETSA}: Puntaje de propiedades ADMETSA

P^{AS}: Puntaje de accesibilidad sintética

P^{DL50}: Puntaje de dosis letal media

PE: Pentiletanoato

P^E: Puntajes de Eliminación

P^M: Puntaje de mutagenicidad

PPAR γ : Receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma

P^s: Puntaje de Selección

P^T: Puntaje de toxicidad

P^{TD}: Puntaje de toxicidad en el desarrollo

QM-ORSA: Análisis Mecánico Cuántico de actividad global depuradora de radicales libres (Quantum mechanics-based test for overall free radical scavenging activity)

QSAR: Relación Cuantitativa Estructura-Actividad (Quantitative Structure-Activity Relationship)

R: Constante de los gases

RefSet: Conjunto de fármacos de referencia

RM: Refractividad molar

SOD: Súperoxido dismutasa de Cu/Zn

T.E.S.T: Herramienta de Estimación de Toxicidad (Toxicity Estimation Software Tool)

T: Temperatura

TCET: Teoría Convencional del Estado de Transición

TD: Toxicidad en el desarrollo

TD^{dHBX}: Valor de toxicidad en el desarrollo para derivados de HBX

TFAH: Transferencia formal de Átomos de Hidrógeno

TFD: Teoría de Funcionales de la Densidad

TSE: Transferencia Simple de Electrón

V_M: Volumen molar

XO: Xantina oxidasa

$\Delta G^\ddagger$: Barrera de reacción

$\Delta G_s(\text{BA})$: Cambio en la energía libre de Gibbs en solución acuosa, entre base conjugada correspondiente (B) y el ácido (A)

η : Viscosidad del disolvente

σ : Degeneración de caminos

$\sigma 1R$: Receptor Sigma-1

Δn : Cambio de molaridad

κ : Corrección de tunelaje

1. Introducción

Las enfermedades neurodegenerativas son trastornos que, en general, empeoran con la edad, con patofisiologías muy diferentes e incompleta comprensión de sus causas y mecanismos, lo que lleva a que los tratamientos usados hasta el momento sean efectivos solo parcialmente. De hecho, no existen curas actualmente para estas enfermedades. A medida que la población mundial envejece, aumenta su prevalencia. Sus efectos incluyen deterioro de la memoria, la cognición y el movimiento.¹⁻² La necesidad de encontrar tratamientos eficientes para las enfermedades neurodegenerativas es urgente. La Organización Mundial de la Salud (OMS) predice que, en 20 años, estas enfermedades superarán al cáncer para convertirse en la segunda causa de muerte, después de las enfermedades cardiovasculares, a nivel mundial.³⁻⁴

El estrés oxidativo (EO) se ha relacionado con el desarrollo de numerosas enfermedades y desórdenes degenerativos tales como: Alzheimer,^{5,6} Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), algunos tipos de cáncer,⁷ arterosclerosis,⁸ enfermedades cardiovasculares,⁹ neuropatías, inmunodeficiencias y envejecimiento prematuro. El EO aparece como consecuencia de un desequilibrio entre la producción y el consumo de oxidantes en los organismos vivos. Entre estos oxidantes los identificados como más dañinos son las llamadas especies reactivas derivadas del oxígeno (ERO).¹⁰ Las ERO son producidas continuamente en el cuerpo durante procesos tales como la respiración y algunas funciones inmunes mediadas por células. Sin embargo, cuando sus niveles sobrepasan las concentraciones saludables se vuelven dañinos. Promueven reacciones en cadena de radicales libres, afectando biomoléculas cruciales para la vida como los ácidos nucleicos, los lípidos, las proteínas, los ácidos grasos poliinsaturados y los hidratos de carbono.¹¹ Además,

el daño al ADN puede provocar mutaciones que han sido asociadas a más de 100 enfermedades.¹² Por ello, el estudio de compuestos químicos capaces de combatir el EO constituye una importante área de investigación actualmente. A ellos nos referimos como antioxidantes químicos, ya que su actividad no involucra interacción con receptores biológicos, sino rutas químicas específicas para depurar oxidantes.

Los antioxidantes desempeñan un papel clave a nivel químico mediante tres mecanismos principales: la captura de radicales libres (capacidad antioxidante primaria), la quelación de iones metálicos de transición prooxidantes (capacidad antioxidante secundaria) y la reparación de moléculas biológicas (capacidad antioxidante terciaria). Dependiendo de su versatilidad para actuar a través de uno o varios de estos mecanismos, los antioxidantes pueden clasificarse como específicos o multifuncionales.

El organismo humano ha desarrollado defensas antioxidantes naturales como enzimas específicas (superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa) y otros compuestos no enzimáticos que limitan el impacto de las ERO. Estos antioxidantes biológicos actúan tanto en medios acuosos como lipídicos, inhibiendo la peroxidación lipídica y las reacciones de radicales catalizadas por metales. Sin embargo, cuando los niveles de oxidantes superan la capacidad antioxidante del organismo, se incrementa el riesgo de daño oxidativo, un factor implicado en enfermedades crónicas y degenerativas.

Dentro de este contexto, las enfermedades neurodegenerativas, como el Parkinson, el Alzheimer y la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA), entre otras, representan un reto considerable para el desarrollo de tratamientos eficaces. Estas patologías multifactoriales suelen involucrar múltiples vías de señalización y mecanismos que, al interactuar, contribuyen a la progresión de la enfermedad. Por lo tanto, el diseño

de fármacos multifuncionales, que combinen varios mecanismos terapéuticos en una sola molécula, podría ofrecer ventajas en términos de eficacia y seguridad. Un enfoque terapéutico basado en la multi-funcionalidad podría reducir los efectos secundarios y evitar el uso de múltiples medicamentos, cada uno de ellos con un objetivo específico.^{13,14,15}

Un ejemplo prometedor de esta clase de compuestos es el 2-(2'-hidroxifenil) benzoxazol (HBX), cuya acción antioxidante y de quelación metálica se ha estudiado en modelos de ratones de ELA. Los estudios han demostrado que el HBX logra retrasar la aparición de la enfermedad, prolongar la vida y reducir la falta de actividad neuromuscular, además de disminuir marcadores de daño oxidativo y la agregación de proteínas asociadas a esta patología.¹⁶ Estos efectos sugieren que HBX podría mitigar la progresión de la ELA, lo que hace atractiva la idea de desarrollar derivados que no solo conserven estas propiedades beneficiosas, sino que también presenten un perfil multifuncional para ampliar su aplicación en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y otros desórdenes neuronales. De ahí que nuestro objetivo principal en esta investigación es realizar el diseño racional de neuroprotectores de 2-(2'-hidroxifenil) benzoxazol considerando las propiedades que un fármaco oral debe cumplir, además de que no sean tóxicos y que sean fácilmente sintetizables.

2. Antecedentes

2.1 CADMA-Chem (Diseño Asistido por Computadora de Antioxidantes Multifuncionales, basado en propiedades químicas)

Es un protocolo desarrollado para identificar posibles candidatos para el tratamiento de enfermedades multifactoriales. Aunque inicialmente se ha utilizado para la búsqueda de neuroprotección, también puede ser útil para otros beneficios en salud. CADMA-Chem¹⁷ se caracteriza por tomar en cuenta una amplia variedad de criterios al seleccionar los candidatos más prometedores. Estos criterios incluyen: perfil fisicoquímico similar al de fármacos, toxicidad, viabilidad de síntesis química, actividad de captura de radicales libres, quelación de metales, capacidad para reparar moléculas biológicas dañadas por oxidación y comportamiento de ligando multiobjetivo, especialmente en su interacción con acetilcolinesterasa (AChE), catecol-o-metil transferasa (COMT) y monoaminoxidasa tipo B (MAO-B) que están vinculadas con las enfermedades de Parkinson y Alzheimer.¹⁷

El protocolo CADMA-Chem ha demostrado su eficacia en diversos estudios, siendo aplicado para el diseño de antioxidantes en contextos específicos. Por ejemplo, se empleó para determinar las propiedades antioxidantes de la catequina y uno de sus derivados de glucosidos (glucósidos (catequina-3' O- α glucopiranosido)).¹⁸ En otros dos artículos se realizó una investigación exhaustiva sobre la actividad antirradical de la galangina.¹⁹⁻²⁰ Otros autores investigaron las propiedades antirradicales de derivados del 2,4-diacetilfloroglucinol, un compuesto polipeptídico con actividad antimicrobiana,²¹ utilizando el mapa eH-DAMA del protocolo CADMA-Chem. También se evaluó el potencial antioxidante de urolitinas, metabolitos derivados de polifenoles, y se encontró que, excepto urolitina B, superan en actividad a antioxidantes naturales como trolox, ácido elágico y melatonina.²² Además se

identificaron derivados de isatina bajo la estrategia de “un fármaco-múltiples objetivos”, destacando un derivado por su actividad antioxidante, antidiabética, anti-Alzheimer y antiartrítica.²³ Así mismo, en nuestro grupo de investigación se diseñaron derivados de melatonina,²⁴ sesamol,²⁵ chalcona,²⁶ ácido *p*-cumárico,²⁷ rasagilina,²⁸ ácido ferúlico,²⁹ quinolina,³⁰ y ácido cafeico³¹ utilizando el protocolo CADMA-Chem, los cuales demostraron un destacado potencial antioxidante y neuroprotector. Estos trabajos resaltan versatilidad y de este protocolo en la predicción de propiedades químicas y funcionales para el diseño de fármacos multifuncionales con propiedades neuroprotectoras.

2.2 Enfermedades multifactoriales

Las enfermedades multifactoriales son el resultado de múltiples factores de riesgo que son determinados tanto genéticamente como ambientalmente.³² En el ámbito clínico, se han desarrollado enfoques de tratamiento basados en objetivos múltiples, destacando el uso de estrategias polifarmacéuticas. El creciente reconocimiento de estas enfermedades se debe, en parte, a los avances de la medicina en el control de las enfermedades infecciosas y otras condiciones agudas de salud. Como consecuencia, la mayor esperanza de vida ha incrementado la prevalencia de estas patologías, que afectan predominantemente a las personas mayores.³³

Entre las enfermedades multifactoriales más destacadas se encuentran los trastornos neurodegenerativos, como el Alzheimer, el Parkinson y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), que afectan a millones de personas a nivel global. Estas patologías se caracterizan por su naturaleza compleja y multifactorial, lo que dificulta su tratamiento y manejo.³⁴

Actualmente, los tratamientos disponibles se centran en la combinación de diferentes fármacos que actúan de forma independiente sobre diversos factores etiológicos o sobre los organismos causantes de la enfermedad. Este enfoque busca abordar la complejidad inherente de estas patologías desde una perspectiva integral.

2.3 Fármacos multifuncionales

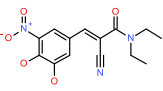
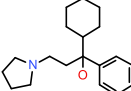
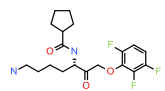
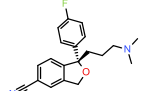
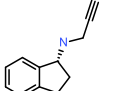
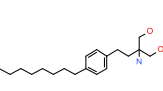
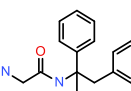
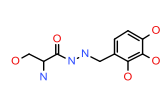
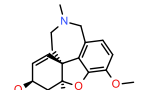
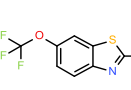
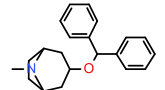
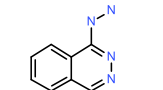
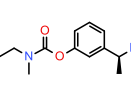
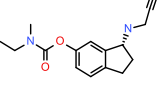
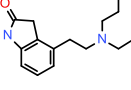
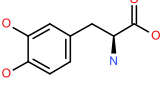
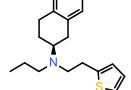
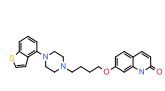
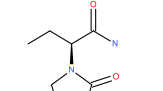
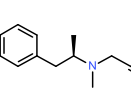
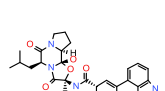
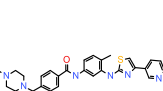
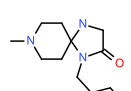
Un paradigma emergente en el desarrollo farmacológico sugiere el uso de moléculas capaces de actuar sobre múltiples componentes, conocidas como fármacos "multifuncionales", "multipotenciales" o "pluripotenciales". Aunque las grandes compañías farmacéuticas aún priorizan el enfoque de un solo objetivo, estudios recientes han evidenciado que los objetivos proteicos presentan una redundancia significativa, lo que refuerza la utilidad de los fármacos multifuncionales para abordar trastornos complejos de manera más eficaz.³⁵

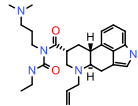
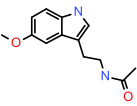
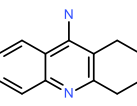
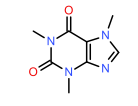
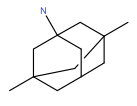
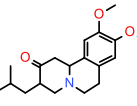
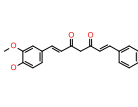
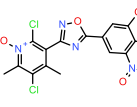
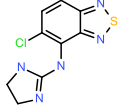
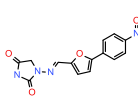
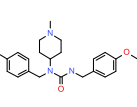
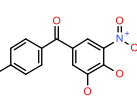
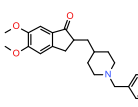
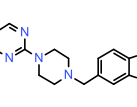
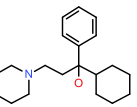
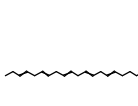
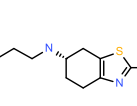
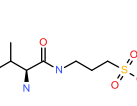
El potencial de los fármacos multifuncionales dirigidos a receptores para tratar trastornos del sistema nervioso central es prometedor. Estos fármacos pueden diseñarse con capacidades como acciones paliativas y modificadoras de la enfermedad, generación de respuestas terapéuticas sinérgicas, prevención de efectos no deseados, mejora de características específicas (como la penetración de la barrera hematoencefálica) y prolongación de la eficacia terapéutica. Este enfoque promete aumentar la eficacia de los tratamientos, optimizar las dosis y reducir los efectos secundarios, marcando un avance significativo en el desarrollo de medicamentos para enfermedades complejas.³⁶

Las estructuras moleculares de algunos de los fármacos más utilizados para tratar enfermedades neurodegenerativas.³⁷⁻⁴⁰ se presentan en la Tabla 1. La amplia

utilización de estos fármacos ha llevado a que se establezcan como el conjunto de fármacos de referencia, o como base, para el desarrollo de nuevos fármacos.

Tabla 1. Conjunto de fármacos de referencia con propiedades neuroprotectoras.

Compuesto (# CAS)	Estructura	Compuesto (# CAS)	Estructura	Compuesto (# CAS)	Estructura
Amantadina (768-94-5)		Entacapona (130929-57-6)		Prociclidina (77-37-2)	
Atuzaginstat (2211981-76-7)		Escitalopram (128196-01-0)		Rasagilina (136236-51-6)	
Baclofeno (1134-47-0)		Fingolimod (162359-55-9)		Remacemida (128298-28-2)	
Benserazida (14919-77-8)		Galantamina (357-70-0)		Riluzol (1744-22-5)	
Benzatropina (86-13-5)		Hidralazina (86-54-4)		Rivastigmina (123441-03-2)	
Biperideno (514-65-8)		Ladostigil (209349-27-4)		Ropinirol (91374-21-9)	
Blarcamesina (195615-83-9)		L-DOPA (59-92-7)		Rotigotina (99755-59-6)	
Brexpiprazol (913611-97-9)		Levitiracetam (102767-28-2)		Selegilina (14611-51-9)	
Bromocriptina (25614-03-3)		Masitinib (790299-79-5)		Simufilam (1224591-33-6)	

Cabergolina (81409-90-7)		Melatonina (73-31-4)		Tacrina (321-64-2)	
Cafeína (58-08-2)		Memantina (19982-08-2)		Tetrabenazina (58-46-8)	
Curcumina (458-37-7)		Opicapona (923287-50-7)		Tizanidina (51322-75-9)	
Dantroleno (7261-97-4)		Pimavanseri na (706779-91-1)		Tolcapona (134308-13-7)	
Donepezilo (120014-06-4)		Piribedil (3605-01-4)		Trihexifenidilo (144-11-6)	
Ácido Eicosapentaenoico (86227-47-6)		Pramipexol (104632-26-0)		Valiltramiprosato (1034190-08-3)	

2.4 Docking Molecular

El acoplamiento molecular se ha consolidado como una técnica fundamental entre las herramientas computacionales para el descubrimiento de fármacos basado en estructuras de la macromolécula conocida como receptor y la molécula pequeña conocida como ligando. Es un método que analiza la conformación y la orientación (conocidas juntas como la "pose") de las moléculas en el sitio de unión de un objetivo macromolecular.⁴¹ Los algoritmos de búsqueda generan posibles poses, las cuales se clasifican mediante funciones de puntuación.

Las estructuras de estas macromoléculas se pueden obtener del Base de Datos de Proteínas (PDB, por sus siglas en inglés),⁴² que proporciona acceso a las coordenadas atómicas 3D obtenidas mediante métodos experimentales.

Esta técnica, que pertenece a los métodos de "diseño de fármacos basado en estructuras", se desarrolló por primera vez entre mediados de la década de 1980 y principios de la de 1990. Su propósito inicial fue predecir cómo se unen compuestos activos a sus objetivos biológicos y realizar evaluaciones virtuales de extensas bibliotecas digitales de compuestos, lo que permite reducir costos y agilizar el proceso de descubrimiento de nuevos fármacos.⁴³

La búsqueda de tratamientos efectivos o preventivos para las enfermedades neurodegenerativas se ha vuelto una necesidad urgente debido al aumento en la prevalencia de estos trastornos. A pesar de los múltiples estudios realizados sobre estas patologías, las causas exactas de su aparición siguen siendo inciertas, y aún no se han encontrado curas definitivas. No obstante, existen varios hallazgos clave que contribuyen a comprender su desarrollo. Factores como la deficiencia de neurotransmisores, el estrés oxidativo, la disfunción mitocondrial, así como la agregación, el mal plegamiento y la fosforilación de proteínas son procesos que juegan un papel fundamental en la neurodegeneración y la muerte neuronal. Se ha demostrado que los inhibidores de la monoamino oxidasa (MAO),⁴⁴ la acetilcolinesterasa (AChE),⁴⁵ la catecol-O-metiltransferasa (COMT),⁴⁶ el receptor de N-metil-D-aspartato (NMDAr),⁴⁷ el receptor Sigma-1 (σ 1R),⁴⁸ el receptor de serotonina (5HT2A)⁴⁹ y el receptor de adenosina 2A (A2Ar)⁵⁰ tienen efectos terapéuticos en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, el Parkinson y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA).

Por otra parte, el superóxido dismutasa (SOD)^{51,52} y la xantina oxidasa (XO)^{53,54} son enzimas clave en el metabolismo celular, particularmente en la regulación de

especies reactivas de oxígeno (ERO), las cuales juegan un papel fundamental en diversas enfermedades neurodegenerativas. Estas enzimas participan activamente en el control del estrés oxidativo, un factor crítico implicado en el daño celular y la progresión de enfermedades como el Parkinson y el Alzheimer. Además, el receptor gamma activador por proliferador de peroxisoma (PPAR γ) tiene un potencial terapéutico en enfermedades neurodegenerativas debido a sus efectos en la inflamación y el metabolismo celular.⁵⁵

3. Objetivos

3.1 Objetivos General

Diseñar computacionalmente derivados de 2-(2'-hidroxifenil) benzoxazol (HBX) para su posible aplicación en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.

3.2 Objetivos Particulares

- 1) Diseñar derivados de HBX por sustitución de grupos funcionales, buscando potenciar su actividad antioxidante y neuroprotectora.
- 2) Determinar los parámetros fisicoquímicos de HBX y de sus derivados diseñados para determinar sus propiedades de adsorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME).
- 3) Determinar la toxicidad y la accesibilidad sintética HBX y de sus derivados diseñados, utilizando códigos computacionales QSAR.
- 4) Calcular puntajes de selección y de eliminación de HBX y de sus derivados diseñados considerando sus propiedades ADME, toxicidad y accesibilidad sintética para analizar su viabilidad como fármacos.

- 5) Evaluar su capacidad antioxidante primaria utilizando descriptores de reactividad.
- 6) Realizar acoplamiento molecular de los derivados diseñados más prometedores para comportarse como neuroprotectores, considerando receptores específicos asociados a las enfermedades de Parkinson, Alzheimer y Esclerosis Lateral Amiotrófica.
- 7) Identificar los candidatos más prometedores.
- 8) Evaluar la capacidad antioxidante primaria frente al radical hidropéroxilo mediante la metodología QM-ORSA.

4. Hipótesis

Se asume que la modificación estructural de 2-(2'-hidroxifenil) benzoxazol (HBX), mediante la adición de grupos funcionales específicos, podría potenciar sus propiedades antioxidantes y neuroprotectoras, y así mejorar su eficacia en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.

5. Metodología

5.1 Diseño de antioxidantes multifuncionales. Herramientas QSAR.

5.1.1 Generación de derivados

Se seleccionan grupos funcionales que puedan potenciar la multifuncionalidad de un esqueleto químico conocido. Estos grupos funcionales cumplen funciones específicas que pueden contribuir a la actividad antioxidante mediante diversos mecanismos: participación en reacciones con radicales libres, mejora de la capacidad

para atravesar la membrana lipídica, participación en la quelación de metales (inhibidores de reacciones tipo Fenton en formación de radicales libres OH), entre otras ventajas químicas y biológicas. Los grupos funcionales seleccionados incluyen -OH, -SH, -NH₂, -OCH₃, -COOCH₃, -F, -Cl y -CF₃.

El siguiente paso en el proceso es seleccionar los sitios de sustitución en el esqueleto químico elegido, denominado HBX, en el que se consideraron ocho sitios posibles ver Figura 1. Esto permite cubrir todas las posibles estructuras químicas, de modo que se realice un barrido exhaustivo de las combinaciones de sustitución.

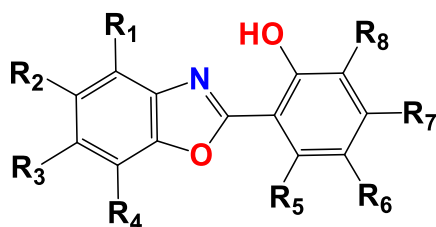


Figura 1. Estructura HBX donde -R indican los sitios de sustituciones posibles para la obtención de los derivados.

Se consideraron tanto sustituciones individuales como múltiples en el esqueleto HBX, y se definió un máximo de hasta tres sustituciones simultáneas ($n=3$). Así, se generaron derivados con sustituciones mono-, di- y tri-sustituidas.

Para obtener estos derivados se utilizó la aplicación Smile-it.⁵⁶ Esta herramienta requiere como datos de entrada el SMILE¹ del esqueleto químico, los sustituyentes a emplear, los sitios de sustitución, y la cantidad de sustituciones simultáneas a considerar. Con esta información, el programa genera un archivo de salida que contiene la lista de SMILE de cada uno de los derivados obtenidos. Estos SMILE se utilizan luego como entrada en distintos programas para calcular diferentes

¹ Identificador de estructuras moleculares basado en cadenas de caracteres ASCII.

propiedades de interés en este trabajo. Los parámetros y programas empleados se describen en las siguientes secciones.

5.1.2 Propiedades de Toxicológicas T.E.S.T.

La Herramienta de Estimación de Toxicidad (*Toxicity Estimation Software Tool*, por sus siglas en inglés T.E.S.T.)⁵⁷ permite estimar fácilmente la toxicidad utilizando métodos QSAR². Se obtuvieron tres parámetros de interés que se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros obtenidos con en el software T.E.S.T.

Parámetros	Característica
Dosis letal media (DL₅₀)	Describe la cantidad del compuesto químico investigado, por peso corporal en (mg/Kg), que ocasiona la muerte del 50% de ratas después de la ingesta oral.
Mutagenicidad de Ames (M)	Una sustancia es positiva a mutagenicidad si aumenta el número de colonias relevantes en una o más cadenas de <i>Salmonella</i> .
Toxicidad en el desarrollo (TD)	Prueba de toxicidad que evalúa si una sustancia puede afectar a un feto o cría en desarrollo. La prueba analiza el potencial de una sustancia para causar efectos adversos, como defectos de nacimiento, retraso en el desarrollo o mortalidad.

Cabe destacar, que en los casos en los que el programa no identifica estructuras similares dentro de su base de datos, no puede estimar los valores de las

² Son modelos matemáticos que establecen una relación entre la estructura química de un compuesto y su actividad biológica o propiedades fisicoquímicas.

propiedades de toxicidad. Esto se debe a que los modelos QSAR dependen de la comparación con compuestos previamente caracterizados para generar predicciones confiables.

5.1.3 Accesibilidad Sintética

La viabilidad de síntesis se estima empleando el software Ambit-SA (SyntheticAccessibilityCli),⁵⁸ que es una herramienta para la predicción teórica de la accesibilidad sintética de moléculas orgánicas. El modelo de accesibilidad sintética (AS) de Ambit-SA utiliza cuatro descriptores moleculares ponderados, que representan diferentes características estructurales y topológicas, combinados en un esquema aditivo. El cálculo de la AS para una sola molécula puede realizarse introduciendo directamente el SMILE de la molécula en el software. El resultado se expresa como una puntuación de 0 a 100, donde el valor 100 representa la accesibilidad sintética máxima, es decir, la molécula es más fácil de sintetizar.⁵⁹

5.1.4 Propiedades fisicoquímicas (ADME)

Las denominadas propiedades de Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción (ADME), se estimaron utilizando RDKit, que es una colección de programas informáticos y algoritmos de aprendizaje automático aplicados a la química, escritos en C++ y Python.⁶⁰

Al calcular los parámetros ADME de los derivados diseñados de HBX, se tomaron en cuenta las reglas de Lipinski,⁶¹ Ghose,⁶² Veber,⁶³ Muggen⁶⁴ y Egan,⁶⁵ estas se basan en propiedades fisicoquímicas que son las siguientes: coeficiente de partición octanol-agua (Log P), área de superficie polar (ASP), número total de átomos pesados (NAP), masa molar (MM), aceptores de puentes de hidrógeno (APH),

donadores de puentes de hidrógeno (DPH), número de enlaces rotables (NER), y refractividad molar (RM). Como no todas estas reglas recomiendan los mismos valores, los usados en el protocolo CADMA-Chem para estas propiedades ADME se escogen de manera que se tenga el rango más estricto. Es decir, se utilizaron los valores más bajos para los límites superiores y los valores más altos para los límites inferiores, asegurando así que los compuestos cumplan simultáneamente con todas las reglas mencionadas anteriormente establecidos.

En la Tabla 3 se presentan los criterios mencionados, junto con las condiciones correspondientes al protocolo CADMA-Chem, que son las utilizadas en este trabajo. La tabla incluye los rangos establecidos para las ocho propiedades fisicoquímicas, los cuales aseguran que los compuestos diseñados cumplan con los requisitos necesarios para su adecuado comportamiento como fármacos orales.

Tabla 3. Rangos de las propiedades fisicoquímicas según los criterios CADMA-Chem, Egan, Ghose, Lipinski, Muegge y Veber.

Reglas	Log P	ASP	NAP	MM	APH	DPH	NER	RM
CADMA-Chem	-0.4 a 5	0 a 130	10 a 70	160 a 480	0 a 10	0 a 5	0 a 10	0 a 130
Egan	-1.0 a 5.8	≤ 130	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Ghose	-0.4 a 5.6	N/A	20 a 70	160 a 480	N/A	N/A	N/A	40 a 130
Lipinski	<5	N/A	N/A	< 500	≤ 10	≤ 5	N/A	N/A
Muegge	-2.0 a 50	≤ 150	N/A	200 a 500	≤ 10	≤ 5	≤ 15	N/A
Veber	N/A	140	N/A	N/A	12	12	10	N/A

Coeficiente de partición octanol-agua **Log P**, Área de superficie polar **ASP**, Número total de átomos pesados **NAP**, Masa Molar **MM**, aceptores de puentes de hidrógeno **APH**, donadores de puentes de hidrógeno **DPH**, Número de enlaces rotativos **NER**, Refractividad molar **RM** y No Aplica **N/A**.

5.1.5 Puntaje de selección

Una vez obtenidas las propiedades ADMETSA (ADME, Toxicidad y Accesibilidad Sintética) se calculan los puntajes de selección para los derivados de HBX. A continuación, se presentan las ecuaciones empleadas para dicho fin. Como se observa en la Ecuación (1) el puntaje de selección (P^S) depende a su vez de otros puntajes que son los que se estiman empleando las propiedades ADME (P^{ADME} , Ec.2), las propiedades toxicológicas (P^T , Ec.3) y la accesibilidad sintética (P^{AS} , Ec.4). Tanto las propiedades ADME como la Toxicidad tienen un peso de 0.4 cada una, ya que son determinantes en la evaluación de viabilidad de compuestos como fármacos. Por otro lado, la Accesibilidad Sintética, con un peso de 0.2 tiene un impacto menor, dado que sus valores presentan una variabilidad menos significativa en comparación con las otras dos propiedades.

$$P^S = 0.4 * P^{ADME} + 0.4 * P^T + 0.2 * P^{AS} \quad (1)$$

La Ec.2 muestra la expresión utilizada para el cálculo del puntaje asignado a las propiedades ADME, donde se consideran los valores obtenidos para cada propiedad evaluada. Para determinar este puntaje, se realiza la suma de cada una de estas propiedades y posteriormente se divide entre el número total de propiedades con un valor asignado. En este caso, se han obtenido ocho propiedades, por lo que el resultado final se divide entre ocho.

$$P^{ADME} = \frac{P^{Log P} + P^{ASP} + P^{NAP} + P^{MM} + P^{APH} + P^{DPH} + P^{NER} + P^{RM}}{8} \quad (2)$$

La Ec.3 permite el cálculo del puntaje de toxicidad (P^T), el cual se obtiene a partir del promedio de los puntajes asignados a tres propiedades específicas: la dosis letal 50 ($P^{DL_{50}}$), la mutagenicidad (P^M) y la toxicidad en el desarrollo (P^{TD}).

La Ec. 4 se utilizó para el cálculo del puntaje de la accesibilidad sintética (P^{AS}), que se obtiene a partir de la relación entre dos parámetros específicos. En esta ecuación, (AS^{dHBX}) representa el puntaje de la accesibilidad sintética obtenido para cada uno de los derivados, mientras que ($\overline{AS^{RefSet}}$) corresponde al promedio de la accesibilidad sintética del conjunto de fármacos de referencia.

$$P^T = \frac{P^{DL_{50}} + P^M + P^{TD}}{3} \quad (3)$$

$$P^{AS} = \frac{AS^{dHBX}}{\overline{AS^{RefSet}}} \quad (4)$$

Para la obtención de la ecuación (3), es necesario estimar los puntajes que corresponde a las propiedades de toxicidad $P^{DL_{50}}$, P^M y P^{TD} . Para esto se utilizan funciones logarítmicas que permiten normalizar los valores en relación con el conjunto de fármacos de referencia. El puntaje de la dosis letal media ($P^{DL_{50}}$) se calcula de la siguiente manera:

$$P^{DL_{50}} = 1 + \log \left(\frac{1 + DL_{50}^{dHBX}}{1 + \overline{DL_{50}^{RefSet}}} \right) \quad (5)$$

Donde DL_{50}^{dHBX} representa el valor de la dosis letal media para un derivado específico y $\overline{DL_{50}^{RefSet}}$ es el valor promedio de la dosis letal media del conjunto de fármacos de referencia.

El puntaje asociado a la mutagenicidad (P^M) se calcula como:

$$P^M = 1 - \log \left(\frac{1 + M^{dHBX}}{1 + \overline{M^{RefSet}}} \right) \quad (6)$$

Donde M^{dHBX} es el valor de la mutagenicidad para un derivado específico y $\overline{M^{RefSet}}$ es el valor promedio de mutagenicidad del conjunto de fármacos de referencia.

El puntaje de toxicidad en el desarrollo (P^{TD}) se calcula de la siguiente manera:

$$P^{TD} = 1 - \log \left(\frac{1 + TD^{dHBX}}{1 + \overline{TD^{RefSet}}} \right) \quad (7)$$

Donde TD^{dHBX} representa el valor de la toxicidad en el desarrollo para un derivado específico y $\overline{TD^{RefSet}}$ es el valor promedio de la toxicidad en el desarrollo del conjunto de fármacos de referencia.

En todos los casos los superíndices RefSet y dHBX permiten distinguir entre dos tipos de datos, aquellos correspondientes al conjunto de fármacos de referencia (RefSet) y a los derivados de HBX (dHBX).

Finalmente cabe mencionar que los diferentes términos en la ecuación (2) pueden tomar valores de 0 o 1 según cumplan o no los rangos propuestos por el protocolo CADMA-Chem (Tabla 4). Si la propiedad se encuentra dentro del rango estipulado, el puntaje para la propiedad correspondiente toma el valor de 1; de lo contrario, el puntaje será 0.

Tabla 4. Condiciones y rangos establecidos por el protocolo CADMA-Chem.

Propiedad	Rango	Condición
Log P	-0.4 a 5	$P^{Log P} = 1$ si se cumple, 0 si no
ASP	0 a 130	$P^{ASP} = 1$ si se cumple, 0 si no
NAP	10 a 70	$P^{NAP} = 1$ si se cumple, 0 si no
MM	160 a 480	$P^{MM} = 1$ si se cumple, 0 si no
APH	0 a 10	$P^{APH} = 1$ si se cumple, 0 si no
DPH	0 a 5	$P^{DPH} = 1$ si se cumple, 0 si no

NER	0 a 10	$P^{NER} = 1$ si se cumple, 0 si no
RM	0 a 130	$P^{RM} = 1$ si se cumple, 0 si no

5.1.6 Puntaje de eliminación

Los puntajes de selección habitualmente promedian las propiedades evaluadas; sin embargo, este enfoque puede no ser suficiente para identificar situaciones en las que un alto puntaje de selección, derivado de una propiedad específica, enmascare el fallo de alguna propiedad que no debe ser ignorada. Además, es crucial considerar aquellos casos en los que se encuentran compuestos con excelentes puntajes de selección (P^S) pero a pesar de esto, presentan problemas estructurales o químicos. Se propone un puntaje de eliminación (P^E) que permiten identificar si para algún compuesto hay descriptores que se diferencian significativamente del promedio del conjunto de fármacos de referencia.

En este estudio, se consideró un puntaje de eliminación basado en el puntaje ($P^{E_{ADME2}}$) de la literatura,⁶⁶⁻⁶⁷ el cual considera solamente dos propiedades: Log P (coeficiente de partición octanol-agua) y MM (masa molecular). A partir de esa propuesta, el protocolo CADMA-Chem amplió el enfoque para incluir todas las propiedades ADMETSA, con el objetivo de evaluar de manera más integral las características de las moléculas. Cada componente del puntaje de eliminación mide la diferencia entre el valor calculado de una propiedad para una molécula y el valor promedio de esa propiedad en un conjunto de fármacos de referencia. Esta diferencia se normaliza dividiéndola entre la desviación estándar de la propiedad correspondiente ($DE_{Propiedad}$). A continuación, se presentan las ecuaciones utilizadas

para calcular este puntaje según la referencia mencionada anteriormente (Ec. 8) y la según el protocolo CADMA-Chem (Ec. 9).

$$p^{E,ADME2} = \left| \frac{\log P_{\text{RefSet}} - \log P_{\text{dHBX}}}{DE_{\log P}} \right| + \left| \frac{MM_{\text{RefSet}} - MM_{\text{dHBX}}}{DE_{MW}} \right| \quad (8)$$

$$p^{E,ADMETSA} = \left| \frac{\log P_{\text{RefSet}} - \log P_{\text{dHBX}}}{DE_{\log P}} \right| + \left| \frac{MM_{\text{RefSet}} - MM_{\text{dHBX}}}{DE_{MW}} \right| + \left| \frac{ASP_{\text{RefSet}} - ASP_{\text{dHBX}}}{DE_{ASP}} \right| + \left| \frac{NAP_{\text{RefSet}} - NAP_{\text{dHBX}}}{DE_{NAP}} \right| + \left| \frac{APH_{\text{RefSet}} - APH_{\text{dHBX}}}{DE_{APH}} \right| + \left| \frac{DPH_{\text{RefSet}} - DPH_{\text{dHBX}}}{DE_{DPH}} \right| + \left| \frac{NER_{\text{RefSet}} - NER_{\text{dHBX}}}{DE_{NER}} \right| + \left| \frac{RM_{\text{RefSet}} - RM_{\text{dHBX}}}{DE_{RM}} \right| + \left| \frac{DL_{50\text{RefSet}} - DL_{50\text{dHBX}}}{DE_{DL_{50}}} \right| + \left| \frac{M_{\text{RefSet}} - M_{\text{dHBX}}}{DE_M} \right| + \left| \frac{TD_{\text{RefSet}} - TD_{\text{dHBX}}}{E_{TD}} \right| + \left| \frac{AS_{\text{RefSet}} - AS_{\text{dHBX}}}{DE_{AS}} \right| \quad (9)$$

5.2 Cálculos de estructura electrónica. Gaussian 09

5.2.1 Métodos de cálculos

Todos los cálculos computacionales se llevaron a cabo con el programa de Gaussian 09.⁶⁸ Se utilizó la Teoría de Funcionales de la Densidad (TFD) para realizar los cálculos de optimizaciones de geometría y cálculos de frecuencia de los estados estacionarios de las moléculas estudiadas. Dentro de la TFD se usó el funcional M05-2X,⁶⁹ el cual es recomendado por sus desarrolladores y por otros investigadores para realizar cálculos termodinámicos y cinéticos. Se utilizó un conjunto de funciones de base de Pople 6-311+g(d,p) y el modelo de solvente continuo (MSC).⁷⁰ Se utilizaron como solventes agua y pentiletanoato para simular ambientes acuoso y lipídico, respectivamente. El modelo de solvente continuo (MSC) realiza estimaciones de energías libres de Gibbs de solvatación confiables para sistemas cargados y no cargados con errores relativamente bajos. Para cada uno de los estados estacionarios de las moléculas estudiadas se realizó un estudio conformacional para encontrar el arreglo geométrico más estable denotado por tener la energía electrónica más baja.

5.2.2 Estimación de pKa

Los equilibrios ácido-base afectan directamente la eficacia y la capacidad de las moléculas para atravesar las membranas celulares de forma pasiva, lo cual es un aspecto clave en la evaluación de su potencial como antioxidantes multifuncionales.

Para calcular los valores de pKa se utilizó el método conocido como de parámetros ajustados,^{71,72} propuesto en las referencias 71 y 72, en las cuales se realiza un ajuste de regresión lineal estándar para obtener los parámetros empíricos (m y C_0) mostrados en la Tabla 5, ajustados a la metodología M05-2X/6-311+G(d,p)/MSC para fenoles, tioles y aminas. Para obtener los valores de pKa se utiliza la siguiente ecuación:

$$\text{pKa} = m\Delta G_s(\text{BA}) + C_0 \quad (10)$$

Donde $\Delta G_s(\text{BA})$ representa la diferencia en la energía libre de Gibbs en solución acuosa, entre cada ácido (A) y su base conjugada correspondiente (B). Estos valores se calcularon a 298.15 K y la diferencia se expresó en kcal/mol:

$$\Delta G_s(\text{BA}) = G_s(\text{B}) - G_s(\text{A}) \quad (11)$$

Los valores de pKa son datos muy importantes para el análisis químico de los derivados diseñados, debido a que a partir de ellos se obtienen las fracciones molares (f^M) de las diferentes especies protonadas o desprotonadas en solución acuosa a pH de interés, en nuestro caso a un pH = 7.4. Y así poder definir la abundancia de las diferentes especies ácido-base en esas condiciones y por tanto predecir si será su posible que atraviesen las barreras celulares por transporte pasivo.

Tabla 5. Valores de los parámetros m y C_0 , a un nivel de teoría de M05-2X/6-311+G(d,p) para los diferentes grupos funcionales utilizados.

Grupo funcional	m	C_0	Ref.
tioles	0.357	-94.639	(71)
fenoles	0.316	-81.497	(72)
aminas	0.464	-121.000	(72)

5.2.3 Descriptores de reactividad

Los descriptores de reactividad que se calcularon en la presente investigación, para analizar el comportamiento químico de los derivados diseñados de HBX, fueron las energías de ionización (EI) y las energías de disociación de enlace (EDE). Se calcularon bajo el nivel de teoría M05-2X/6-311+G(d,p)/MSC/Agua, realizando cálculos adiabáticos de energía. Para el cálculo de las EDE se consideraron todos los sitios que pueden donar átomos de hidrógeno, por lo que son considerados también aquellos sitios provenientes de los grupos funcionales sustituidos en el diseño de los derivados de HBX, por ejemplo, OH, -SH, -NH₂, -OCH₃, y -COOCH₃. La interpretación de estos descriptores se presenta en la Tabla 6.

Tabla 6. Descriptores de reactividad.

Descriptor	Símbolo	Interpretación
Energía de Ionización	EI	Está vinculado a la capacidad de donar un electrón; una menor EI aumenta la probabilidad de protección antioxidante mediante transferencia electrónica.
Energía de disociación de enlace	EDE	Evalúa la energía requerida para romper los enlaces Donador (D)-H; una EDE más baja indica mayor actividad antioxidante por transferencia de hidrógeno.

5.3 Acoplamiento molecular

Las estructuras de las proteínas cristalizadas se obtuvieron del banco de datos de proteínas Banco de Datos de Proteínas (BDP).⁷³ Los datos de los códigos de las proteínas y los ligandos co-cristalizados se muestran en la Tabla 7. Los segmentos mal ubicados de la estructura proteica fueron corregidos utilizando Modeller.⁷⁴ Las moléculas de agua, iones y especies no relevantes de las proteínas se eliminaron utilizando Autodock Tools.⁷⁵ Se consideró el estado de protonación de las cadenas laterales a *pH* fisiológico = 7.4. Los ácidos aspártico y glutámico se consideraron como especies desprotonadas, mientras que la arginina, lisina e histidina se tomaron en cuenta con sus cadenas laterales protonadas. Se aplicó el campo de fuerza GROMOS96⁷⁶ en el software Deep View/Swiss BDP Viewer 4.1.0⁷⁷ para la minimización de energía de las estructuras de proteínas. Las cargas atómicas de todos los ligandos se estimaron, como puntos simples, utilizando el protocolo de Orbitales Naturales de Enlace (ONE) con la teoría TFD en el nivel M05-2X/6-

311+G(d,p). Las cargas de la proteína se añadieron como tipo Kollman,⁷⁸ con Autodock Tools. Todas las simulaciones de acoplamiento (docking) se realizaron con AutoDock Vina 1.2.0.⁷⁹ Se aplicó un algoritmo de optimización por gradiente en los sitios activos o alostéricos de las proteínas (ver Tabla A.1 en Apéndice, pág. 75). Para la CuZn superóxido dismutasa (CuZnSOD), se realizó un docking ciego, ya que no se encontró una estructura co-cristalizada con algún ligando en la base de datos utilizada. Posteriormente, se realizó una nueva simulación de docking en el sitio de mayor afinidad. Se reportaron los puntajes de acoplamiento (ΔG_B) para la mejor pose y se ponderaron (ΔG_B^W) según las fracciones molares de las especies más relevantes a pH = 7.4.

$$\Delta G_B^W = \sum_{i=1}^n X_{(i)} \Delta G_{B(i)} \quad (12)$$

Se desarrolló un puntaje poligénico ($\log S_P$), que mide la capacidad de los compuestos probados para unirse a las enzimas en comparación con los sustratos naturales.

$$\log S_P = \frac{\Delta G_{B(derivado)}^W}{\Delta G_{B(sustrato)}} \quad (13)$$

La validación del protocolo de docking se realizó mediante simulaciones de redocking. Los valores de RMSD están en el rango de 0.62 a 2.99 Å. Las conformaciones más estables de los complejos proteína-ligando más relevantes se dibujaron y analizaron con el software Discovery Studio.⁸⁰

Tabla 7. Datos experimentales de acoplamiento molecular (ΔG_u , kcal/mol).

Proteína	Sustrato	ΔG_u (kcal/mol)	Fármaco	ΔG_u (kcal/mol)
COMT	Dopamina	-5.4	Tolcapone	-7.6 (1.6 Å)
MAO-B	Feniletilamina	-6.0	Safinamida	-10.0 (1.8 Å)
AchE	Acetilcolina	-4.9	Donopezilo	-12.0 (2.8 Å)
Sigma1R	N/A	N/A	Blarcamesina	-7.9
NMDAr	Glutamato	-5.0	Mematina	-5.8 (0.6 Å)
5HT2A	Serotonina	-6.5	Risperidona	-11.9 (1.8 Å)
XO	Xantina	-6.4	5-mercaptopurina	-5.7 (2.6 Å)
SOD	N/A	N/A	β -Eudesmol	-6.9
A2Ar	Adenosina	-7.0	KW6536	-10.2 (2.9 Å)
PPAR γ	N/A	N/A	Rosiglitazona	-8.1 (1.6 Å)

No Aplica (N/A).

5.4 QM-ORSA: Capacidad antioxidante primaria

Para determinar la capacidad antioxidante primaria de los derivados diseñados de HBX se utilizó la metodología de QM-ORSA.⁸¹ Con ella se obtendrán datos termodinámicos y cinéticos de reacciones radical – dHBX. En los cálculos de estructura electrónica se incluyen optimizaciones geométrica y cálculo de frecuencias. En el estudio cinético los estados de transición se identificaron con una frecuencia imaginaria, y los mínimos locales con ninguna frecuencia imaginaria.

Las correcciones termodinámicas a 298.15 K fueron incluidas en el cálculo de energías relativas. Las constantes de velocidad se calcularon usando la Teoría convencional del estado de transición (TCET),⁸²⁻⁸³ incluyendo las correcciones de tunelaje con curvatura cero (CTCZ).⁸⁴ Se estudiaron diferentes mecanismos de reacción entre los cuales están la transferencia formal de átomos de hidrógeno (TFAH), formación de aducto radicalico (FAR) y transferencia simple de electrón (TSE).

Todos los cálculos obtenidos corresponden siempre al estado estándar 1 atm, aunque se realicen en solución, sin embargo, para el estudio de sistemas en solución el estado estándar relevante es de 1 Molar. Por lo que dicha conversión es necesaria en nuestro caso. Dado que las constantes de equilibrio en unidades de presión y concentración están relacionadas por medio de:

$$K_P = K_C (V_M)^{\Delta n} \quad (14)$$

Donde Δn representa el cambio de molaridad a través de la reacción, V_M representa el volumen molar y K_P y K_C son las constantes de equilibrio en unidades de presión y concentración respectivamente. En estudios cinéticos para reacciones biomoleculares de adición y para la formación de los estados de transición (ET) $\Delta n = -1$ por lo que:

$$K_C = K_P V_M \quad (15)$$

$$e^{-\Delta G^{1M}/RT} = e^{-\Delta G^{1atm}/RT} V_M \quad (16)$$

Donde R es la constante universal de los gases y T la temperatura en K. De la expresión anterior es evidente que:

$$\Delta G^{1M} = \Delta G^{1atm} - RT \ln(V_M) \quad (17)$$

Dicha conversión disminuye las ΔG s de activación en 1.89 kcal/mol para reacciones bimoleculares a 298.15 K.

Las constantes de velocidad (k) fueron calculadas usando la Teoría Convencional del Estado de Transición (TCET)^{85,86,87} como:

$$k = \sigma \kappa \frac{k_B T}{h} e^{-(\Delta G^\ddagger)/RT} \quad (18)$$

donde k_B y h son las constantes de Boltzman y Planck, σ es la degeneración de caminos de reacción de acuerdo con el número de trayectorias de reacción

equivalentes, κ es la corrección de tunelaje y $\Delta G^\ddagger$ es la barrera de reacción, expresada en términos de energía libre de Gibbs. En el caso particular de las transferencias electrónicas, $\Delta G^\ddagger$ se calculó utilizando la Teoría de Marcus^{88,89,90} como:

$$\Delta G_{ET}^\ddagger = \frac{\lambda}{4} \left(1 + \frac{\Delta G_{ET}^0}{\lambda} \right)^2 \quad (19)$$

Para las constantes de velocidad (k) que se encuentren cercanas al límite por difusión se obtiene la constante de velocidad aparente (k_{app}). Para calcular estas últimas en el presente trabajo se utiliza la teoría de Collins-Kimball:⁹¹

$$k_{app} = \frac{k_D k_{act}}{k_D + k_{act}} \quad (20)$$

donde k_{act} es la constante de velocidad obtenida a partir de cálculos TCET (ecuación 31), y k_D es la constante de difusión según la aproximación de Smoluchowski⁹² para una reacción biomolecular irreversible controlada por difusión:

$$k_D = 4\pi R D_{AB} N_A \quad (21)$$

donde R denota la distancia de reacción, N_A es el número de Avogadro, y D_{AB} es el coeficiente de difusión mutua de los reactivos A (radical) y B (antioxidante). D_{AB} se calculó a partir de $D_A + D_B$ de acuerdo con la referencia.⁹³ D_A y D_B se estimaron a partir de la aproximación de Stokes-Einstein.⁹⁴⁻⁹⁵

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta a} \quad (22)$$

donde k_B es la constante de Boltzmann, T es la temperatura, η denota la viscosidad del disolvente, en nuestro caso agua ($\eta = 8.91 \times 10^{-4}$ Pa s) y pentiletanoato ($\eta = 8.62 \times 10^{-4}$ Pa s) y a es el radio del soluto.

Las fracciones molares (f^M) se estimaron a $pH = 7.4$ (pH fisiológico). Con ellas se obtuvieron las constantes de velocidad global (k_{Global}) para las reacciones con el

radical hidroperoxilo, considerando las poblaciones de las especies ácido – base de los dHBX, como se muestra a continuación:

$$k_{Global} = k_{Total} [H_n dHBX] * f^M[H_n dHBX] + k_{Total} [H_{n-1} dHBX^-] * f^M[H_{n-1} dHBX^-] + k_{Total} [H_{n-2} dHBX^{2-}] * f^M[H_{n-2} dHBX^{2-}] \quad (23)$$

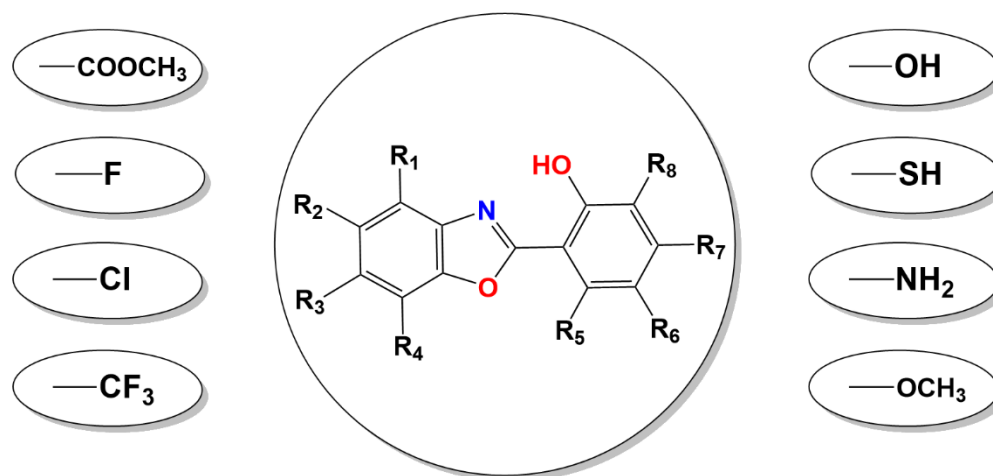
Donde, k_{Total} son las constantes de velocidad total, dHBX, dHBX⁻ y dHBX²⁻ representan las especies neutras, mono-aniones y di-aniones de los dHBX, respectivamente.

Estos detalles computacionales están basados en la metodología QM-ORSA (quantum mechanics based test for overall free radical scavenging activity).⁸¹

6. Resultados y discusión

6.1 Diseño de antioxidantes multifuncionales

En el Esquema 1 se muestra la molécula HBX con los sitios de sustitución y los grupos funcionales de interés para diseñar los derivados. A partir de estos, se construyeron 30,172 derivados, nombrados como dHBX-i, donde $i \in \{1, 2, \dots, 30,172\}$. Entre ellos, 64 derivados se generaron mediante mono-sustituciones, 1,784 mediante bi-sustituciones, y 28,324 mediante trisustituciones.



Esquema 1. Sitios considerados para la sustitución de grupos funcionales R_1 - R_8 .

Se espera que estos grupos funcionales ayuden a potenciar la capacidad antioxidante, la permeabilidad, la quelación de metales, y la actividad neuroprotectora de la molécula de HBX. Las mono-, di- y tri-sustituciones se realizaron en los sitios R_1 a R_8 (Esquema 1). Se calculó el puntaje de selección (P^s) para explorar el espacio de búsqueda, considerando de manera simultánea: las propiedades ADME (Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción), la Toxicidad y la Accesibilidad Sintética. Esta búsqueda caracterizó todo el conjunto de derivados diseñados de HBX y permitió seleccionar un subconjunto reducido de derivados de HBX con las mejores puntuaciones, con ello se espera que sean los más prometedores como agentes antioxidantes y neuroprotectores. En la Figura 2 se muestra con una línea de color azul el valor de referencia de los neuroprotectores $P^s = 1$ y en color rojo el valor P^s que corresponde a la estructura original; en este caso corresponde a HBX con un valor $P^s = 0.988$.

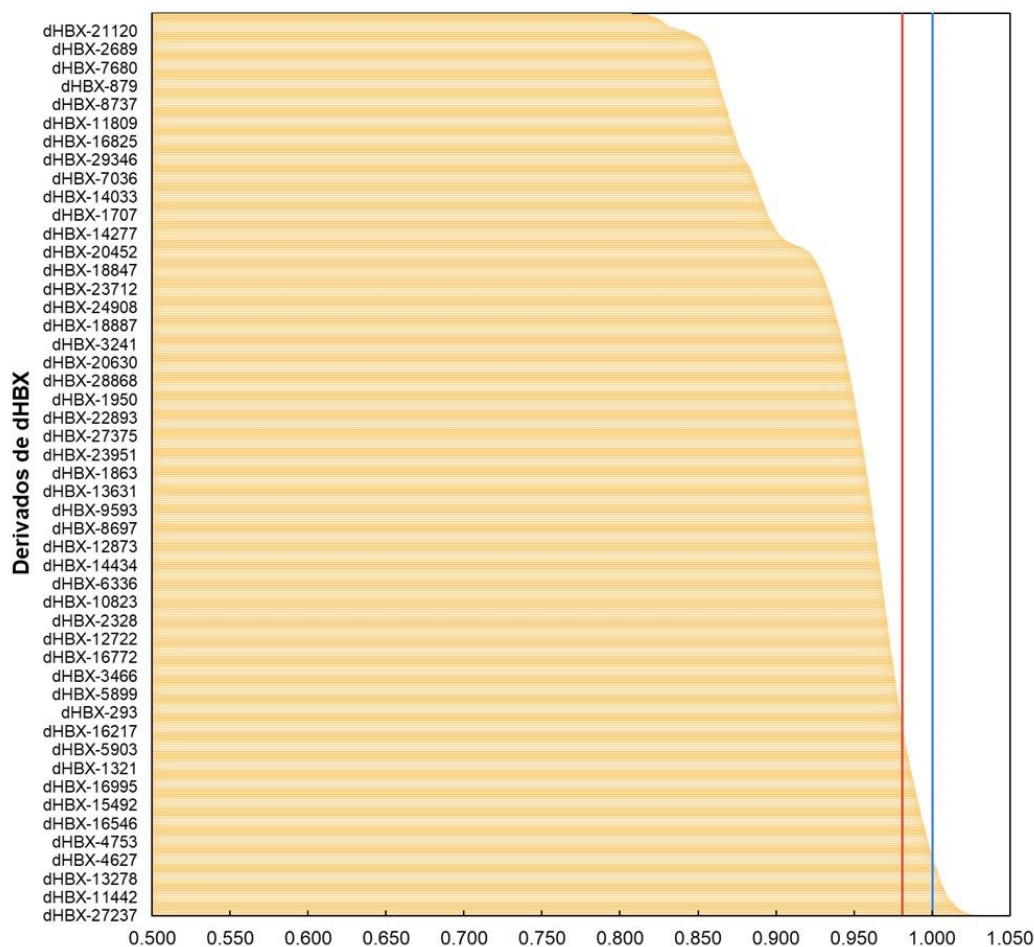


Figura 2. Puntaje de selección (P^S) de derivados de HBX. P^S -HBX (0.988, línea roja). P^S -Fármacos de referencia (1.000, línea azul).

En la figura anterior se muestran los 17,048 de 30,172 derivados que obtuvieron valores de puntaje de selección. El resto de los compuestos no cuenta con un puntaje de selección determinado, ya que los descriptores DL_{50} y mutagenicidad no presentan un valor asignado. Esto se debe por el programa requieren la comparación con estructuras similares dentro de su base de datos para generar predicciones. En ausencia de compuestos análogos, no es posible estimar estos parámetros.

De ellos 1,154 derivados tienen un puntaje de selección mayor a los fármacos del conjunto de referencia, y 2,250 derivados corresponden al intervalo desde el puntaje de selección del esqueleto molecular (HBX) hasta la mejor puntuación de selección.

A continuación, en la Figura 3 se muestra el puntaje de selección de un subconjunto de diez derivados de HBX que tienen un puntaje de selección mayor al conjunto de fármacos de referencia.

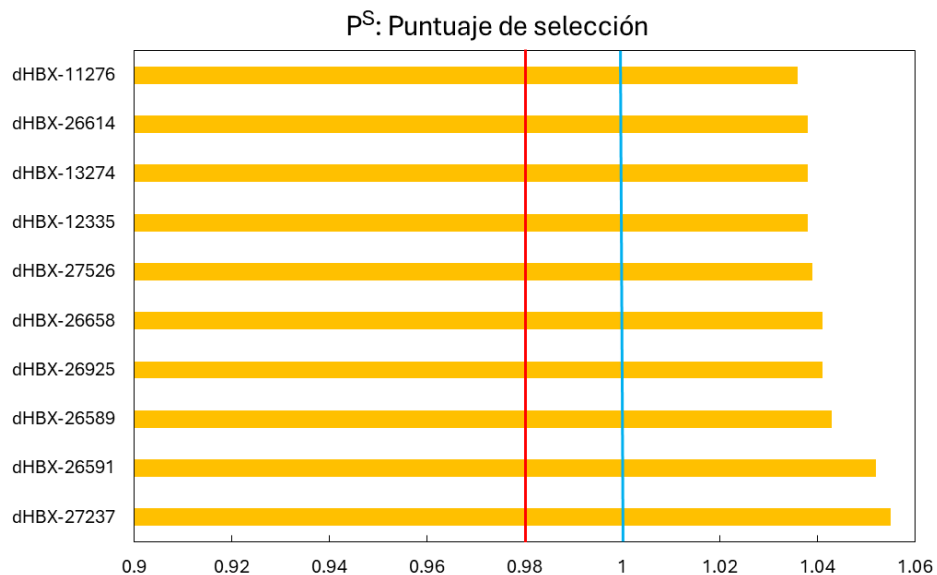
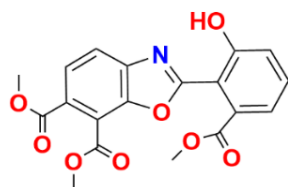
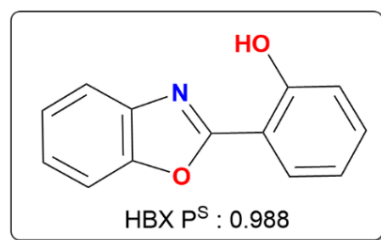
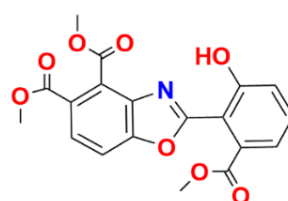


Figura 3. Puntaje de selección (P^S) de un subconjunto de diez derivados de HBX con el mejor puntaje.

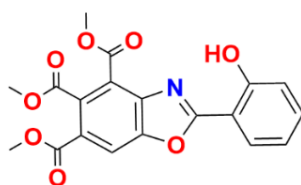
A continuación, en el Esquema 2 se muestran diez derivados con su respectivo puntaje de selección. Sus propiedades de toxicidad, fisicoquímicas y de síntesis se muestran en la Tabla A.2 del Apéndice, pág. 76. Y también se muestran sus nombres, sus smiles y estructuras químicas en el Apéndice A.3, pág. 77-78.



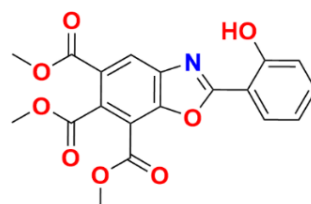
dHBX-27237 P^S : 1.055



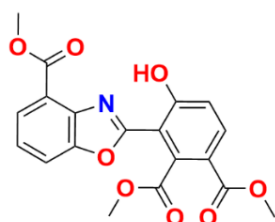
dHBX-26591 P^S : 1.052



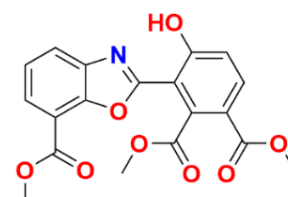
dHBX-26589 P^S : 1.043



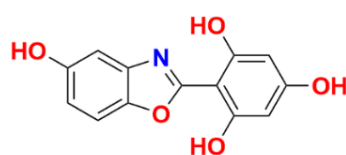
dHBX-26925 P^S : 1.041



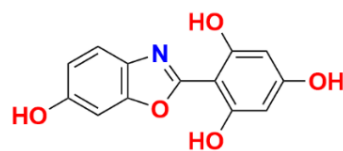
dHBX-26658 P^S : 1.041



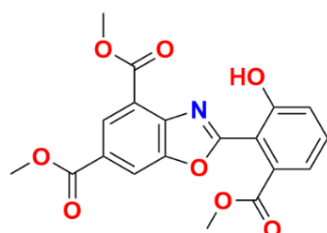
dHBX-27526 P^S : 1.039



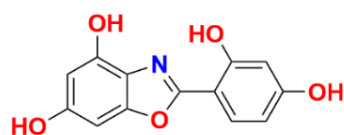
dHBX-12335 P^S : 1.038



dHBX-13274 P^S : 1.038



dHBX-26614 P^S : 1.038



dHBX-11276 P^S : 1.036

Esquema 2. HBX y el subconjunto de diez derivados con los Mejores Puntajes de Selección (P^S).

Una vez elegido este subconjunto, que tienen un mejor puntaje de selección, se verificaron a través de un puntaje de eliminación sus desviaciones a los valores promedio del conjunto de fármacos de referencia de las diferentes propiedades, para asegurar no incluir ningún caso erróneo de alguna propiedad.

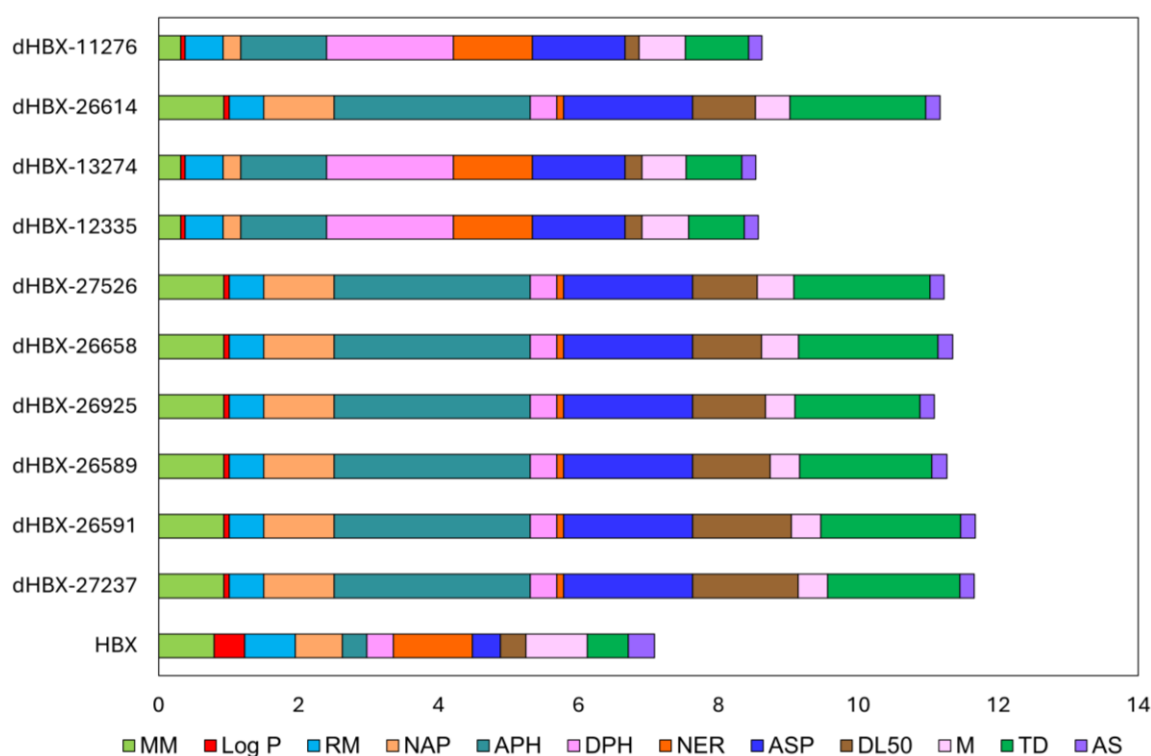


Figura 4. Puntaje de eliminación, para cada propiedad de un subconjunto de diez derivados de HBX.

En la Figura 4 muestra barras que representan las desviaciones de una propiedad específica para cada derivado de HBX en comparación con un valor promedio correspondiente al conjunto de fármacos de referencia. Esto permite evaluar qué tan adecuados son los derivados en relación con los descriptores de las propiedades ADME (Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción), toxicidad y accesibilidad sintética. Algunos de los derivados diseñados a partir de HBX muestran desviaciones mínimas respecto a cada descriptor, lo que sugiere que su

comportamiento será más adecuado como posibles fármacos. Sin embargo, ciertos derivados muestran barras más grandes en algunas propiedades, lo que indica desviaciones mayores. Al analizar estas variaciones, se confirma que, aunque son notables, se mantienen dentro del rango propuesto por las reglas previamente establecidas para fármacos que cumplen con las propiedades ADMETSA (Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción, Toxicidad y Accesibilidad Sintética).

En la figura también revela que el esqueleto molecular HBX no presenta grandes desviaciones en comparación con algunos de sus derivados, lo que indica su estabilidad dentro de los parámetros evaluados. Entre los derivados, los compuestos 11276, 13274 y 12335 presentan las menores desviaciones en propiedades clave como el peso molecular (MM), el coeficiente de partición (Log P) y el número de átomos pesados (NAP), DL_{50} y AS lo que sugiere que estos compuestos se comportan de manera similar al conjunto de fármacos de referencia.

Por otro lado, las propiedades que exhiben mayores desviaciones incluyen el APH, ASP, NAP, DL_{50} y TD. Estas desviaciones sugieren que los compuestos presentan características químicas diversas, con algunos mostrando variaciones significativas en ciertas propiedades. Sin embargo, ninguno de sus valores se sale del rango establecido por el protocolo.

Finalmente, los derivados, 13274, 12335 y 11276, al tener los mejores puntajes de selección (P^5) y mostrar desviaciones mínimas respecto a los fármacos de referencia.

Dado que sus nombres son largos y complejos, para facilitar su identificación, se les nombro como dHBX-I, dHBX-II y dHBX-III, respectivamente. El siguiente paso del presente trabajo incluirá el estudio conformacional y la evaluación de la reactividad

química de los compuestos seleccionados, cuyas propiedades indican un alto potencial para convertirse en fármacos multifuncionales.

Las estructuras químicas de los derivados diseñados seleccionados se modelaron con el programa de visualización Gaussview05 para que a partir de ellas se realicen los cálculos de estructura electrónica necesarios para cuantificar sus actividades como antioxidantes multifuncionales, desde su determinación de descriptores de reactividad, modelamiento para realizar acoplamiento molecular y determinar su actividad antioxidante primaria mediante la metodología conocida como QM-ORSA. Todos estos cálculos de estructura electrónica se realizaron utilizando el software Gaussian 09. Para más información, consulte la sección de metodología.

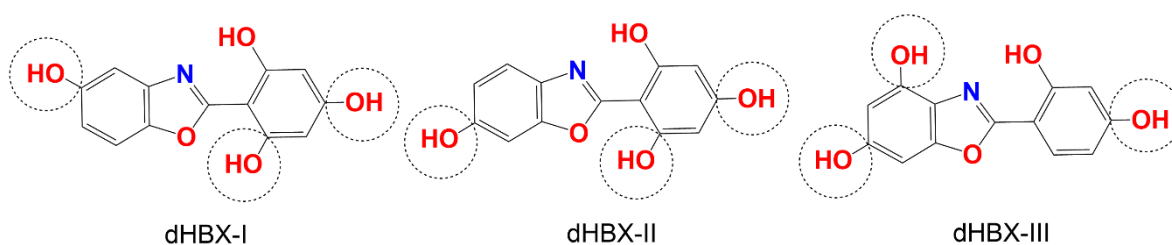
6.2 Cálculos de estructura electrónica

6.2.1 Estudio conformacional

De los derivados diseñados, se han seleccionado únicamente tres del subconjunto de diez, ya que se consideran los más prometedores debido a su alto puntaje de selección, poca desviación de valores de referencia con respecto a las propiedades ADMETSA y principalmente por la alta relevancia que tiene el grupo funcional hidroxilo (-OH) presente en diferentes posiciones del anillo bencénico del esqueleto químico de HBX, pues como es bien conocido los fenoles son reconocidos por su alta actividad antioxidante. Además, la ubicación del grupo hidroxilo en el anillo bencénico (fenoles) afecta significativamente las propiedades químicas del compuesto.

La ubicación de los grupos funcionales en las diferentes posiciones de los anillos aromáticos tiene una influencia significativa en las propiedades reactivas de los compuestos. Esta influencia está determinada por la interacción de los grupos funcionales entre sí y con el anillo bencénico. Los sustituyentes ubicados en las posiciones *orto* y *para* suelen ejercer un efecto activador, lo que facilita su interacción con otros reactivos. Esto se debe a que estas posiciones presentan una mayor densidad electrónica, lo que incrementa la reactividad del compuesto. Por otro lado, los sustituyentes en la posición *meta* tienden a tener un efecto desactivador, lo que disminuye la reactividad del compuesto en comparación con las posiciones *orto* y *para*.

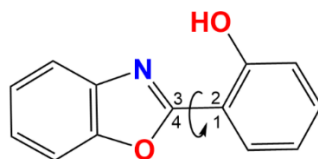
A continuación, se presentan estos tres derivados en el Esquema 3.



Esquema 3. Derivados diseñados seleccionados.

Para cada una de las estructuras mostradas en el esquema anterior, se llevó a cabo una búsqueda conformacional comenzando con el esqueleto molecular (HBX).

Se procedió a obtener el conformero estructural más estable de HBX partiendo de un cálculo de scan del ángulo diedro rotacional que contiene la molécula (Esquema 4). En la Figura 5 se muestra la energía total en kcal/mol con respecto a la coordenada del scan.



Esquema 4. Confórmero rotacional de HBX.

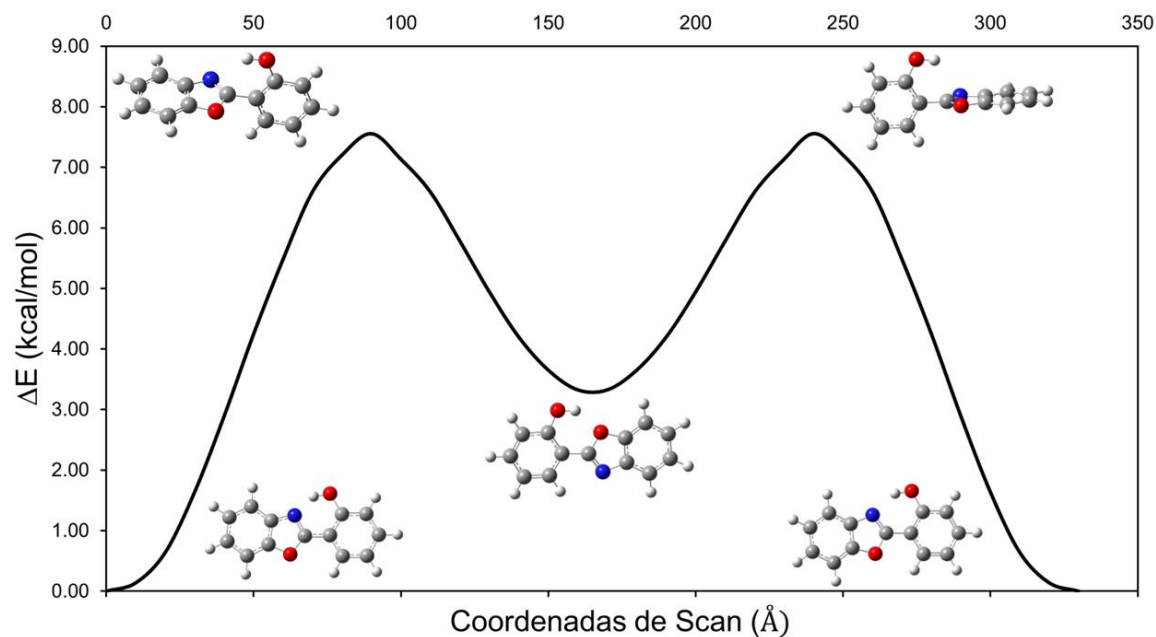


Figura 5. Scan del ángulo diedro rotatable (1,2,3,4) de la molécula de HBX.

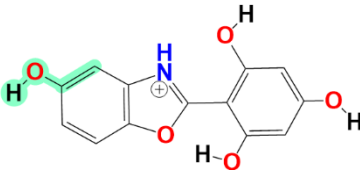
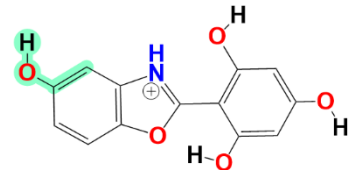
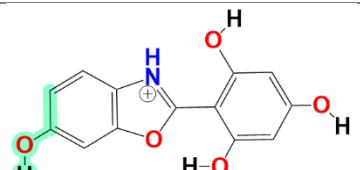
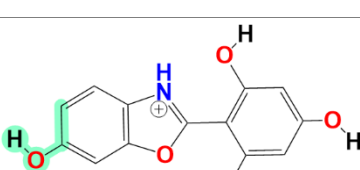
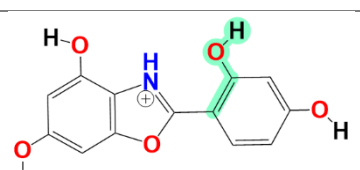
Una vez seleccionado el confórmero más estable, se utiliza esta estructura para modelar los equilibrios tautoméricos de HBX, que se pueden observar Apéndice A.4, pág. 79.

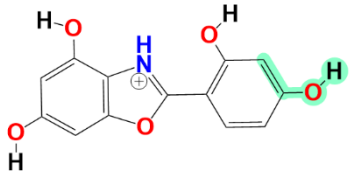
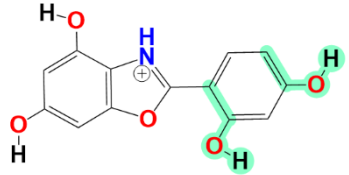
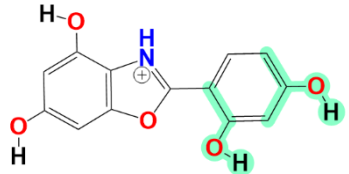
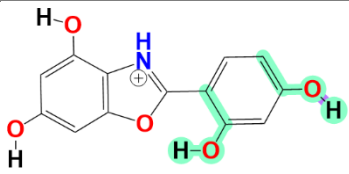
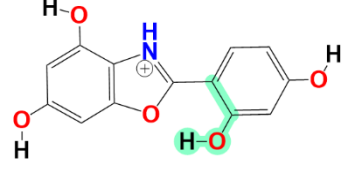
A partir de la estructura más estable de HBX, se construyeron los tres derivados seleccionados y se obtuvieron sus confórmeros correspondientes. Los confórmeros de los derivados obtenidos se muestran en la Tabla 8, junto con sus ΔE (kcal/mol) relativas con respecto al confórmero más estable, así como su abundancia relativa

(expresada como porcentaje) obtenida según la distribución de Maxwell-Boltzmann

$$P_i = \frac{e^{\frac{-\Delta U_{relativa}}{RT}}}{\sum_{i=1}^N e^{\frac{-\Delta U_{relativa}}{RT}}_i}$$

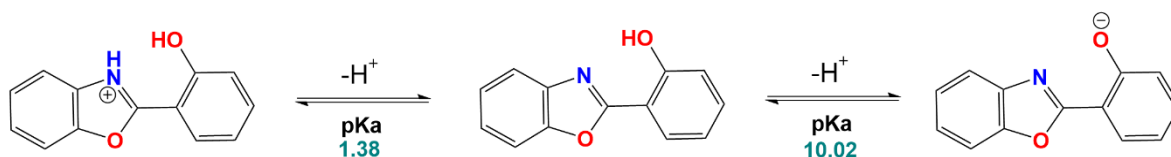
Tabla 8. Estudio conformacional de los derivados de HBX.

Número de Conformero	dHBX-I	ΔE(kcal/mol)	%
1		0.00	56.52
2		0.16	43.48
Número de Conformero	dHBX-II	ΔE (kcal/mol)	%
1		0.00	55.91
2		0.14	44.09
Número de Conformero	dHBX-III	ΔE (kcal/mol)	%
1		0.00	51.05

2		0.03	48.50
3		0.13	0.13
4		3.85	0.13
5		3.55	0.08
6		3.91	0.07

6.2.2 Orden de deprotonación y valores de pKa

Con las estructuras más estables tanto para el esqueleto molecular como sus derivados se determinaron las rutas de deprotonación y los valores de pKa utilizando la metodología de parámetros ajustados.^{71,72} A continuación en el Esquema 5, se muestra la ruta de deprotonación y los valores de pKa de HBX.



Esquema 5. Orden de deprotonación y su valor de pKa de HBX.

Se construyó el diagrama de distribución de especies de HBX, que se muestra en la Figura 6. Mientras que en la Tabla 9 se presentan los valores de pKa de HBX y de sus derivados, junto con sus respectivas fracciones molares a pH=7.4. Se determinaron las fracciones molares (f^M) de HBX en sus formas protonada, neutra y monoaniónica a partir de sus valores de pKa. A pH fisiológico (7.4), se observó que la especie protonada es ~ 0.00 , la neutra tiene una $f^M = 0.998$, mientras que la especie monoaniónica presenta una $f^M = 0.002$ en medio acuoso. En la Tabla 9 se muestran los valores de pKa de las especies ácido-base de HBX y de sus tres derivados, donde también se muestran sus fracciones molares a pH 7.4. Se construyeron los diagramas de distribución de especies para cada uno de sus derivados (Apéndice A.5, pág. 79), así como sus rutas de deprotonación (Apéndice A.6 a Apéndice A.8, pág. 80-81).

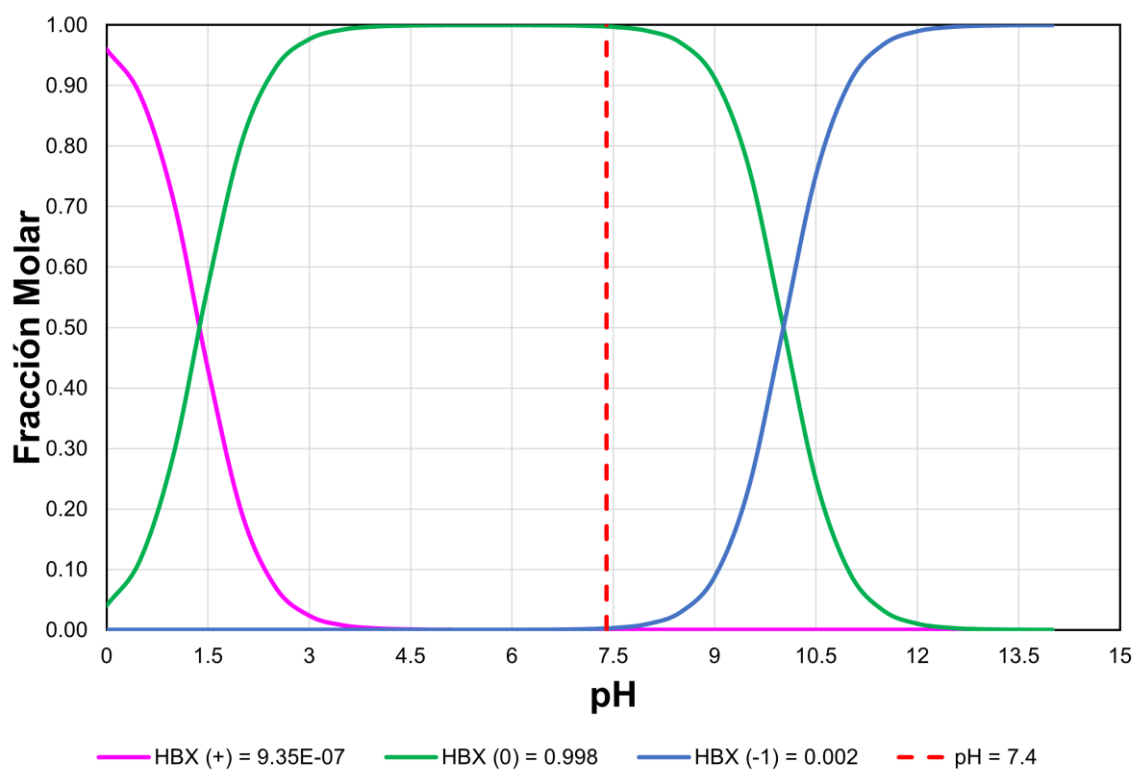


Figura 6. Diagrama de distribución de especies y fracciones molares de HBX en función del pH.

Tabla 9. Valores de pKa de las especies ácido-base en medio acuoso, junto con sus fracciones molares correspondientes a pH 7.4.

	pKa ₁	pKa ₂	pKa ₃	pKa ₄	pKa ₅	f ^M -Neutro	f ^M -Mono-anión	f ^M -Di-anión
HBX	1.38	10.02	N/A	N/A	N/A	0.998	0.002	N/A
dHBX-I	1.76	7.80	10.19	11.47	11.80	0.713	0.287	4.69x10 ⁻⁰⁴
dHBX-II	2.35	8.01	9.55	11.38	11.85	0.801	0.198	1.40x10 ⁻⁰³
dHBX-III	3.33	8.26	9.00	10.84	10.90	0.877	0.120	2.98x10 ⁻⁰³

No Aplica (N/A).

6.2.3 Descriptores de reactividad

Se calcularon las energías de ionización (EI), y las energías de disociación de enlace (EDE) para las diferentes especies presentes en cantidades significativas a pH fisiológico de los derivados diseñados de HBX seleccionados. Estos descriptores nos permiten prever las características para predecir la reactividad química y los mecanismos de reacción. En la Tabla 10 se muestran los valores de la EI y el valor más bajo de energías de disociación de enlace (EDE) del esqueleto molecular y de los derivados seleccionados en sus diferentes formas ácido-base (neutra, mono-anión y di-anión) que tienen fracciones molares mayores a 10^{-3} .

Tabla 10. Energías de ionización (EI) y Energía de disociación de enlace (EDE) de HBX y sus derivados.

Especie ácido-base		EI [eV]	EDE [kcal/mol]
Neutro	HBX	6.31	93.21
	dHBX-I	6.06	87.75
	dHBX-II	5.84	84.68
	dHBX-III	5.71	84.04
Mono-anión	dHBX-I ⁻	5.15	85.74
	dHBX-II ⁻	5.13	80.86
	dHBX-III ⁻	4.92	78.69
Di-anión	dHBX-II ²⁻	4.53	77.65
	dHBX-III ²⁻	4.65	75.07

A medida que la carga de la especie se vuelve más negativa, la energía de ionización disminuye, lo que aumenta la probabilidad de que estas especies se conviertan en buenos donadores de electrones, mientras que a mayor valor de EDE los enlaces serán más fuertes y estables, será más difícil romper ese enlace, por lo que los valores de EDE pequeños favorecerán la actividad antioxidante de los compuestos debido que será más fácil inhibir los radicales libres por transferencia de átomo de hidrógeno. Con estos valores se puede predecir la capacidad antioxidante a través del diagrama eH-DAMA, que considera los mecanismos de reacción más comunes de los antioxidantes: transferencia formal de átomos de hidrógeno (TFAH) y transferencia de un solo electrón (TSE). En la Figura 7 se utilizó como antioxidante de referencia a Trolox y el par oxidante $\text{H}_2\text{O}_2/\bullet\text{OOH}$.

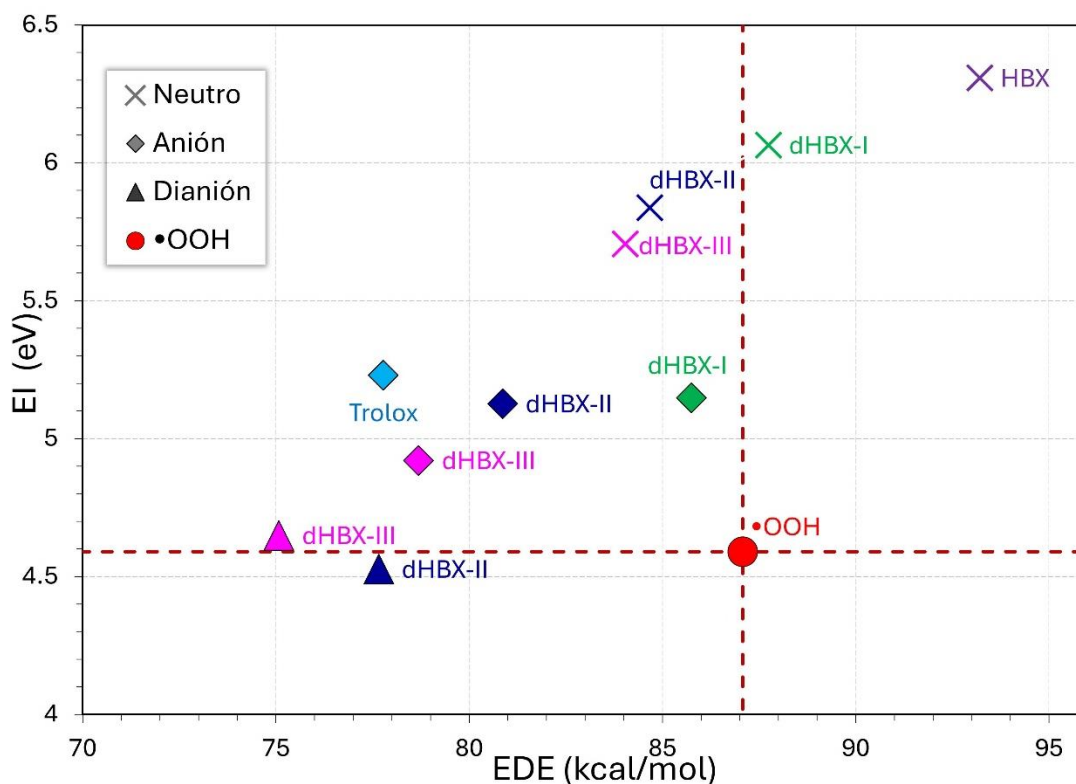


Figura 7. Descriptores de reactividad en el mapa eH-DAMA para HBX y sus derivados.

El derivado dHBX-II, en su especie di-anión, se encuentra a la izquierda y por debajo de HBX, Trolox y del $\text{HOOH}/\bullet\text{OOH}$, es decir EDE y EI menores que las referencias de interés, lo que significa que es un mejor donador de H y de electrones que la molécula progenitora (esqueleto molecular, HBX) y que el antioxidante de referencia (Trolox); además de que será capaz de inhibir los radicales hidroperoxilo de manera eficiente por transferencia formal de átomos de hidrógeno (TFAH) y transferencia de un solo electrón (TSE). Por otro lado, la especie neutra del derivado dHBX-I y HBX tienen mayor EDE y EI por tanto será difícil que sean buenos donadores de H y de electrones. Sin embargo, se predice que los otros dos derivados son eficaces para desactivar el radical $\bullet\text{OOH}$ mediante TFAH. Por el contrario, todas las especies en el eH-DAMA se encuentran por encima del par $\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_2\bullet^-$ (es decir, tienen una EI más alta que OOH^-), incluyendo al Trolox. Se espera que no desactiven al radical $\bullet\text{OOH}$ a través del mecanismo TSE. Esto se definirá y cuantificará de mejor manera cuando se realice el estudio de capacidad antioxidante primaria mediante la metodología QM-ORSA.⁸¹

6.3 Acoplamiento Molecular

Para evaluar la actividad neuroprotectora y antioxidante enzimática, se desarrolló un puntaje poligénico ($\log S_p$), éste mide la capacidad de los compuestos probados para unirse a las enzimas. Este puntaje compara la afinidad de los compuestos diseñados con la de los sustratos naturales: dopamina (COMT), feniletilamina (MAO-B), acetilcolina (AChE), glutamato (NMDAr), serotonina (5HT2A), xantina (XO) y adenosina (A2Ar) y con fármacos de referencia: Blarcamesina (Sigma1R), β -Eudesmol (SOD) y Rosiglitazona (PPAR γ). Los puntajes de acoplamiento ponderados se presentan en las Tabla 11.

Tabla 11. Valores puntajes de acoplamiento ponderados para HBX y sus derivados.

Proteína	ΔG_b^w (kcal/mol)				Sustrato	Fármaco
	HBX	dHBX-I	dHBX-II	dHBX-III		
COMT	-5.47	-5.90	-6.01	-6.20	-5.40	-7.60
MAO-B	-8.87	-8.80	-9.00	-8.62	-6.00	-10.00
AChE	-9.38	-9.21	-9.17	-9.21	-4.90	-12.00
Sigma1R	-8.51	-8.55	-8.42	-8.77	N/A	-7.90
NMDAr	-7.57	-7.40	-7.75	-7.38	-5.00	-5.80
5HT2A	-8.39	-7.64	-7.67	-8.06	-6.50	-11.90
XO	-8.68	-8.97	-8.93	-8.80	-6.40	-5.70
SOD	-6.92	-7.21	-7.29	-7.66	N/A	-6.90
A2Ar	1.43	4.85	5.04	2.87	-7.00	-10.20
PPAR γ	-6.91	-7.77	-7.69	-7.43	N/A	-8.10

No Aplica (N/A).

Al analizar los valores de ΔG_b^w , se observa que los compuestos presentan una afinidad mayor que la de los sustratos naturales debido a que presentan valores más negativos de este parámetro. Esto indica que HBX y sus derivados tienen una potencial actividad neuroprotectora.

En el caso de los receptores NMDAr, Sigma1R, SOD y XO, se observa que HBX y sus derivados tienen también una afinidad mayor en comparación con los fármacos de referencia, lo que los vuelve serios candidatos para ejercer un efecto farmacológico en estos receptores. Un caso contrario ocurre para el receptor A2Ar, donde se obtuvieron valores positivos, lo que indica una posible repulsión en lugar de afinidad. En consecuencia, se descarta que HBX y sus derivados se unan de manera eficaz a este receptor.

Estos hallazgos sugieren que los derivados de HBX tienen una notable capacidad para interactuar con diversos receptores, lo que respalda su potencial actividad

poligénica. Entre ellos, dHBX-III mostró la afinidad más alta, lo que sugiere que podría ser el compuesto más prometedor en términos de actividad neuroprotectora.

Se realizó una comparación entre HBX y sus derivados con los sustratos naturales y los fármacos de referencia utilizando el parámetro conocido como puntaje poligénico ($\log S_P$), el cual se define mediante la (Ec. 13). Este puntaje fue desarrollado con el objetivo de tener una herramienta gráfica para facilitar esta comparación.

A continuación, los gráficos de $\log S_P$ para los sustratos naturales se muestran en la Figura 8. Valores positivos en las barras significa una mayor afinidad de HBX y sus derivados en comparación con los sustratos naturales, lo contrario sucede si se obtienen valores negativos, si la barra presenta un valor de cero tanto el derivado como el sustrato natural tienen la misma afinidad hacia el receptor. La magnitud de la barra indica cuanto más afines son los ligandos hacia ese receptor.

Se puede observar que tanto HBX como sus derivados presentan una mayor afinidad hacia los receptores AChE y MAO-B, lo que significa que son excelentes para la neuroprotección y posibles candidatos para el tratamiento de Alzheimer y Parkinson. Además, las diferencias entre los derivados podrían indicar que ciertas modificaciones estructurales optimizan la interacción con estas dianas.

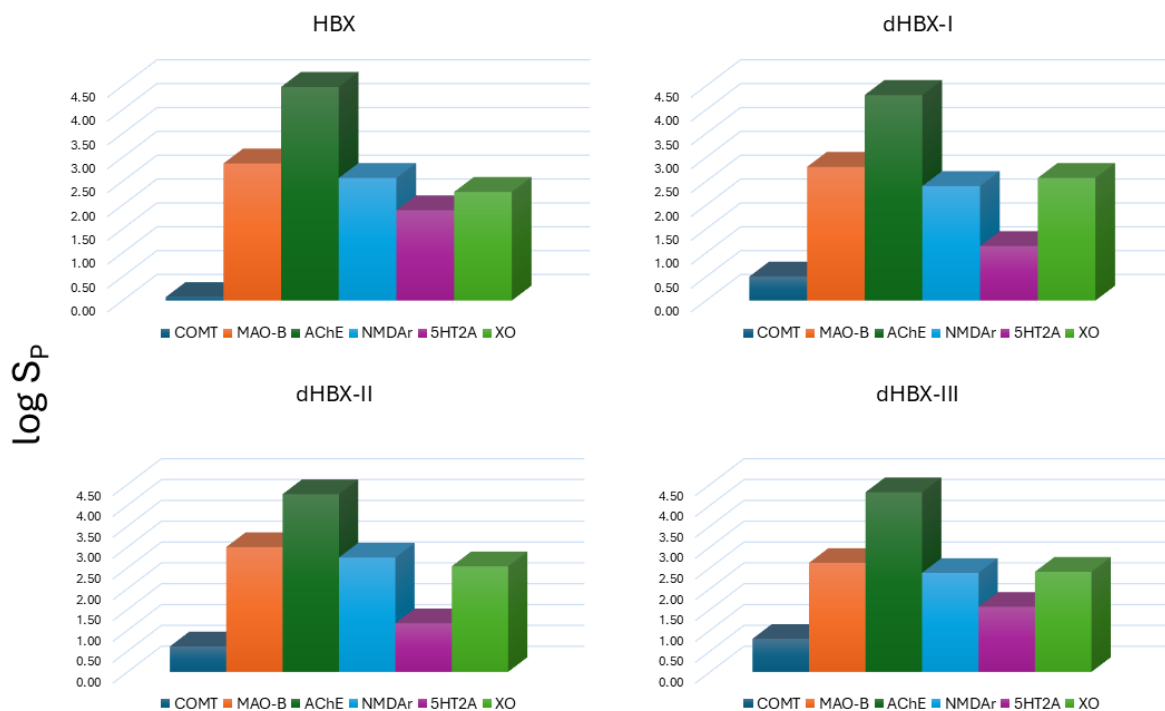


Figura 8. $\log S_P$ de HBX y sus derivados en comparación al sustrato natural.

En la Figura 9 se presentan los gráficos de $\log S_P$ tomando como referencia el fármaco. Se observa que, para los receptores Sigma1R, NMDAr, XO y SOD, los valores de $\log S_P$ son positivos, lo que indica que HBX y sus derivados presentan una mayor interacción con estos receptores que el fármaco de referencia, a pesar de que este sea específico y los compuestos diseñados sean poligénicos. Esto sugiere a HBX y sus derivados como candidatos prometedores para el tratamiento de ELA y Alzheimer, así como para actuar como antioxidantes enzimáticos. Por otro lado, para los receptores COMT, MAO-B, AChE, 5HT2A y PPAR γ se observaron valores negativos de $\log S_P$, lo que indica que la energía de interacción de HBX y de sus derivados son menores que la de los fármacos.

De los resultados anteriores podemos afirmar que el derivado más prometedor para ejercer la mejor actividad neuroprotectora y antioxidante enzimático es el dHBX-III,

de acuerdo con los resultados del acoplamiento molecular, la primera se llevaría a cabo con los receptores NMDAr y Sigma1R, y la segunda con la XO y SOD.

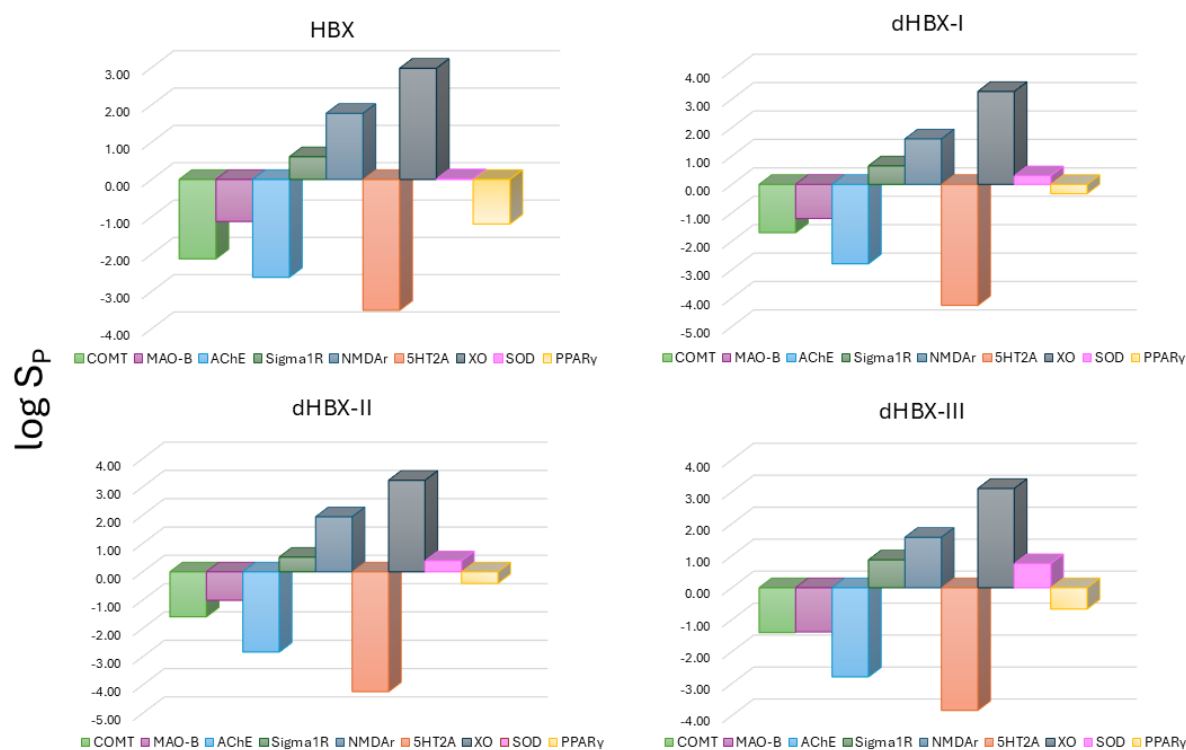


Figura 9. $\log S_p$ de HBX y sus derivados en comparación al fármaco.

A continuación, se presenta los diagramas de las interacciones que estabilizan a los complejos del compuesto dHBX-III con los receptores NMDAr (dHBX-III:NMDAr) y XO (dHBX-III:XO). Las estructuras mostradas son entre el receptor y la conformación del ligando más estable obtenida. Este análisis permite identificar las características estructurales del complejo receptor-ligando, fundamentales para comprender su comportamiento molecular y su potencial aplicación terapéutica.

En la Figura 10 se aprecian las interacciones entre el derivado dHBX-III con el receptor NMDAr en donde es posible visualizar las diferentes interacciones no covalentes que estabilizan el complejo proteína-ligando. Dos interacciones de puente de hidrogeno entre los átomos de oxígeno del derivado con los aminoácidos

ASN 615 y THR 648 son observadas. Adicionalmente varias interacciones en pi-alquilo con los aminoácidos ALA 644 y LEU 643 también estabilizan al complejo. Por ultimo los residuos VAL 640 y ASN 615 estabilizan al aducto con dos interacciones pi-sigma. Con esta conformación este derivado puede bloquear el canal de NMDAr y potencialmente actuar como un inhibidor de este receptor modulando los efectos del aumento del glutamato que es peligroso para la función neuronal.⁹⁶

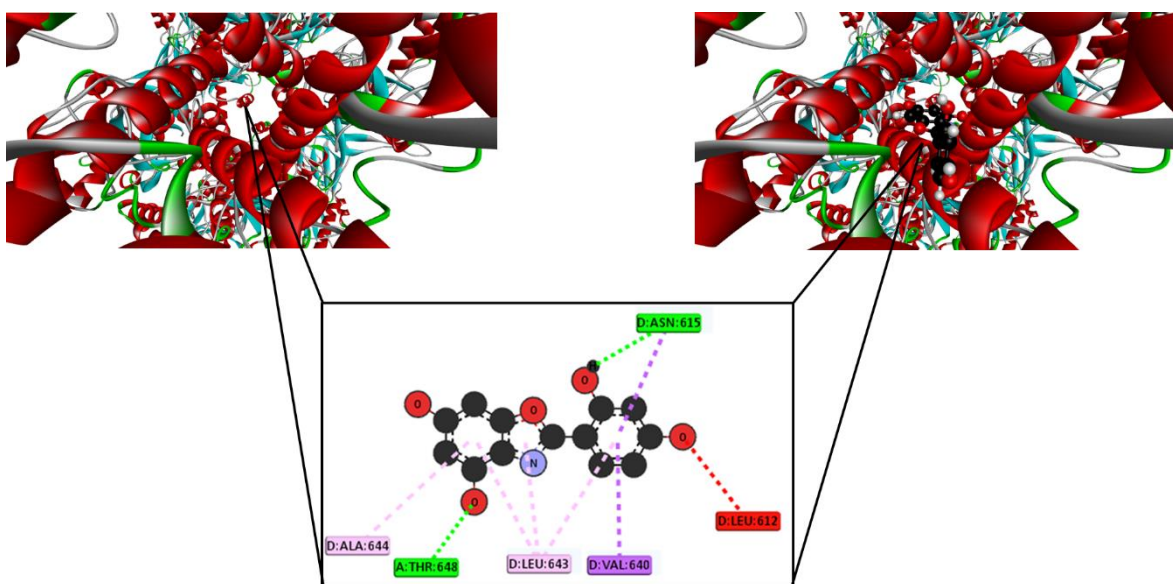


Figura 10. Complejo dHBX-III:NMDAr.

En la Figura 11 el complejo dHBX-III:XO es estabilizado por una gran cantidad de interacciones. Cuatro puentes de hidrógenos se forman entre los átomos de oxígeno del derivado con los aminoácidos SER 876, THR 1010 y ARG 880. Los aminoácidos LEU 648, VAL 1011, LEU 873 y ALA 1079 forman interacción de tipo pi-alquilo con los fragmentos aromáticos de dHBX-III y también es posible observar dos interacciones pi-pi de apilamiento con PHE 1009 y PHE 914. Una última interacción pi-pi en forma T con la LEU 1014 completa la estabilización del complejo.

Se sabe que los residuos ARG 880 y GLU 802 son clave para la hidroxilación catalítica de las xantinas y están bloqueados por dHBX-III, así como lo están por el conocido

inhibidor de la XO, la 6-mercaptopurina.⁹⁷ La conformación adoptada indica que el compuesto podría inhibir la función de la XO, una fuente natural del anión radical superóxido y así disminuir de manera importante el estrés oxidativo en el organismo. Adicionalmente, las alteraciones en el funcionamiento de la XO pueden ser asociadas con diversos desordenes psiquiátricos^{98,99,100} y los inhibidores de esta enzima pueden disminuir los síntomas de estas enfermedades.

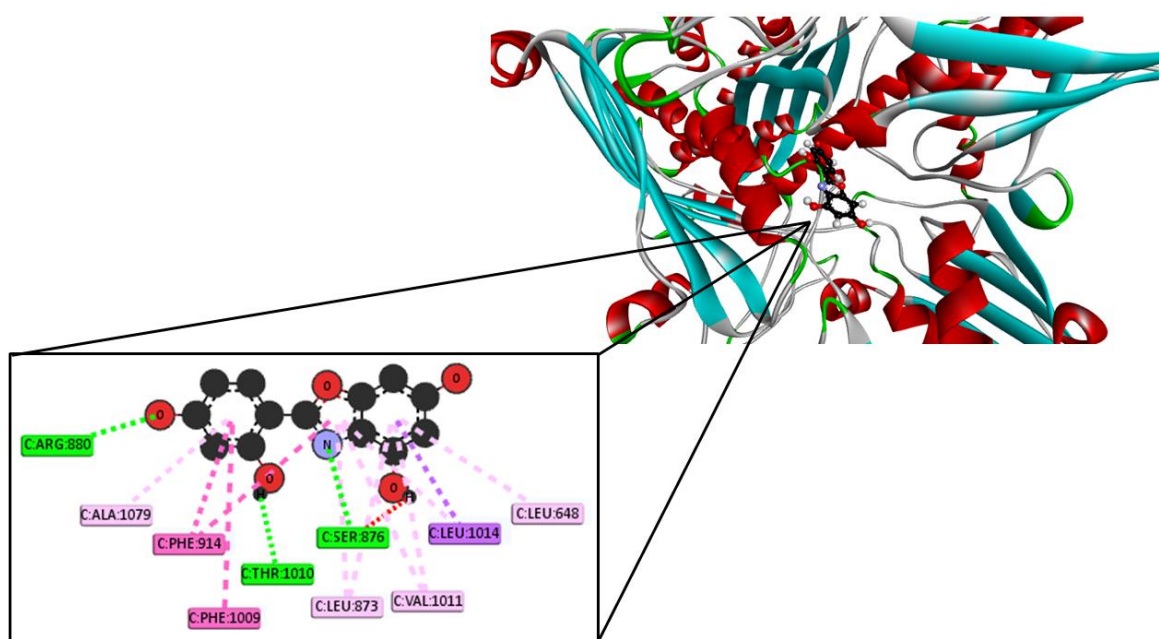


Figura 11. Complejo dHBX-III- XO.

Los resultados del acoplamiento molecular demuestran que los derivados diseñados presentan una excelente actividad neuroprotectoras así como una buena actividad antioxidante enzimática siendo el derivado dHBX-III el candidato más prometedor.

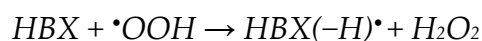
6.4 QM-ORSA: Capacidad antioxidante primaria

Los mecanismos de reacción estudiados para determinar la actividad de captura de radicales libres de HBX y el dHBX-III se realizaron frente al radical $\bullet\text{OOH}$, éste no es el más reactivo de las ERO (Especies reactivas de oxígeno), pero daña las

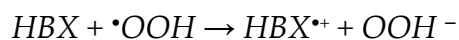
membranas lipídicas de las células provocando la peroxidación lipídica, de ahí la importancia de analizar si estos compuestos son capaces de inhibir este radical. Se sugiere el uso de un radical libre con reactividad moderada, como el radical hidroperoxilo ($\bullet\text{OOH}$). Esto se debe a que el $\bullet\text{OOH}$ es el radical peroxilo más simple ($\text{ROO}\bullet$) y, dentro de los radicales libres relevantes desde un punto de vista biológico, es uno de los que puede ser eliminado de manera más eficaz para retrasar el estrés oxidativo (EO).¹⁰¹ Además es un producto de la respiración aeróbica, y tiene un tiempo de vida medio relativamente grande.

Los mecanismos de reacción son los siguientes:

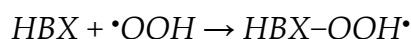
a) *Transferencia formal de átomo de Hidrógeno (TFAH):*



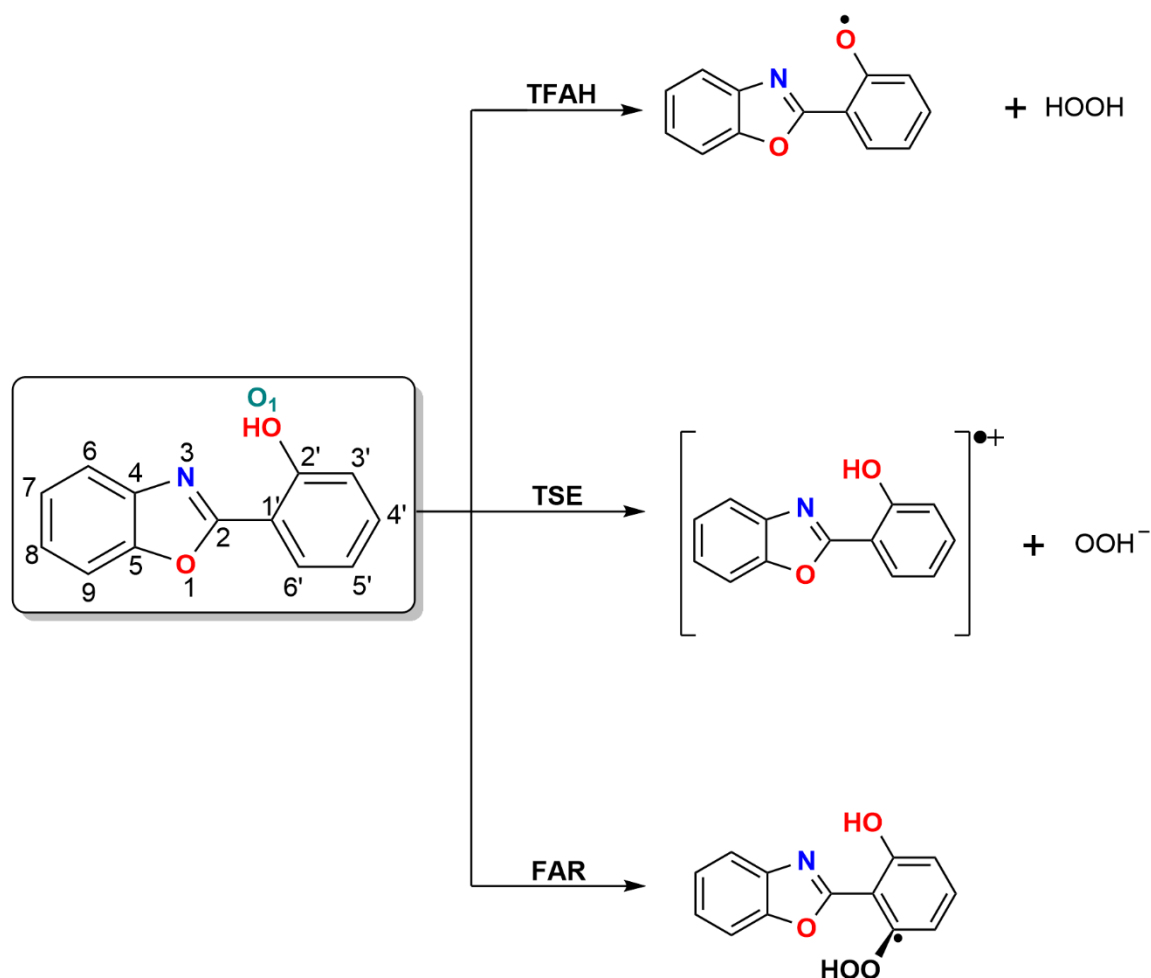
b) *Transferencia Simple de Electrón (TSE):*



c) *Formación de Aducto Radicálico (FAR):*



Los distintos mecanismos de reacción para HBX se muestra en la Esquema 6.



Esquema 6. Mecanismos y sitios de reacción considerados para la captura de radicales $\bullet\text{OOH}$.

Se inició con el estudio teórico computacional de la capacidad antioxidante para la especie neutra y desprotonada (mono-anión), presentes a $p\text{H}$ fisiológico en medio acuoso, para HBX, considerando sus valores de pK_a (reportados anteriormente). También, solo para las especies neutras se consideró el medio lipídico, usando como solvente pentiletanoato.

En la Tabla 12 se muestran sus Energías libres de Gibbs para la reacción de HBX con el radical $\bullet\text{OOH}$, ΔG° (kcal/mol), a 298.15 K, tanto en medio lipídico como acuoso.

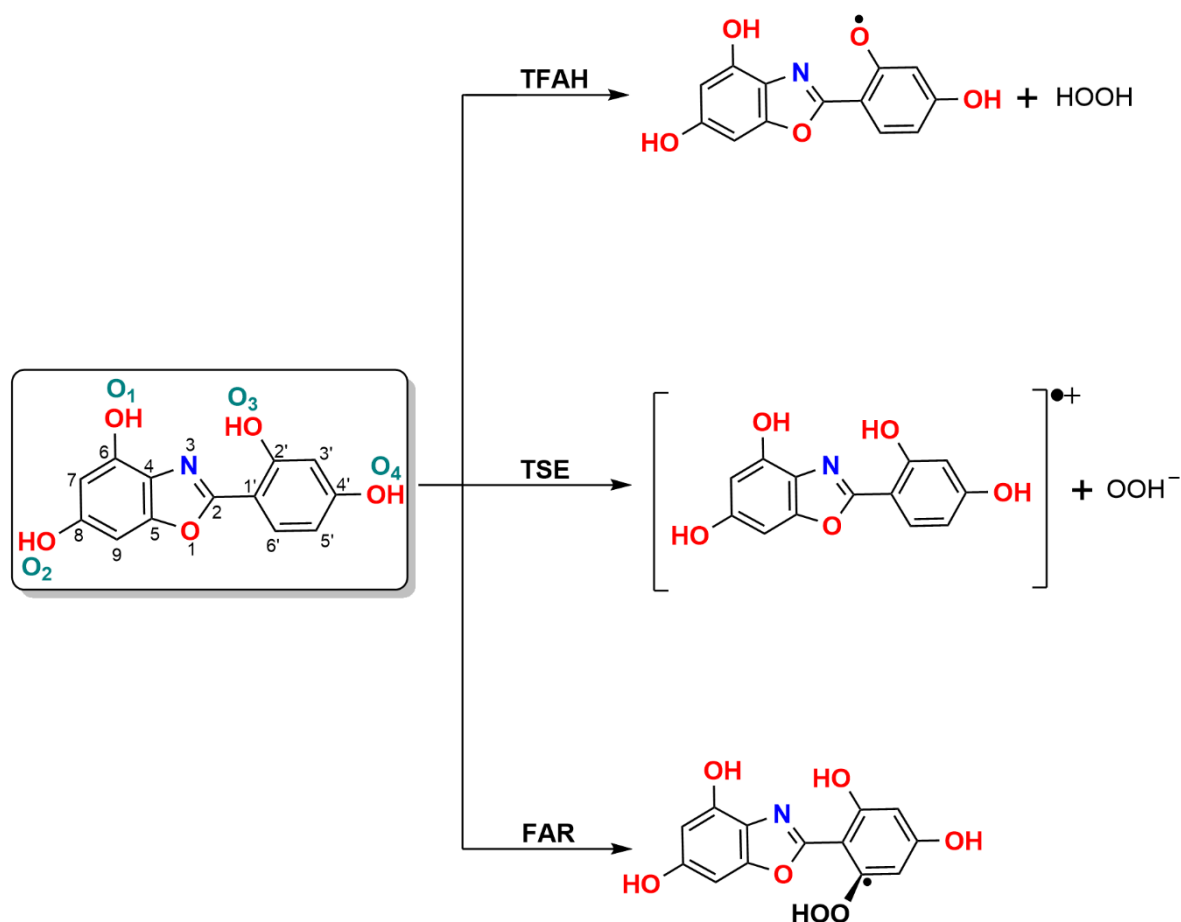
Tabla 12. Energías libres de Gibbs de reacción de HBX con el radical $\bullet\text{OOH}$, ΔG (kcal/mol) a 298.15 K, en solución acuosa y en pentiletanoato.

HBX			
	Neutra	Neutra	Mono-anión
	Agua	Pentiletanoato	Agua
TFAH			
O₁	6.18	9.48	----
TSE			
	38.03	N/A	9.66
FAR			
C₂	6.38	8.47	4.10
C₄	22.37	24.76	20.17
C₅	15.03	17.30	14.46
C₆	11.84	14.09	10.20
C₇	16.04	19.40	15.52
C₈	13.29	15.82	11.31
C₉	14.14	16.26	12.72
C_{1'}	22.62	25.02	12.92
C_{2'}	13.54	8.47	13.20
C_{3'}	13.73	15.86	4.44
C_{4'}	13.20	16.11	14.54
C_{5'}	15.49	17.97	10.30
C_{6'}	11.99	14.64	8.07

No Aplica (N/A).

Se puede mostrar en la tabla anterior que de los resultados termodinámicos para HBX no existe ningún sitio de reacción exergónico con el radical $\bullet\text{OOH}$ y por tanto no se realizó el estudio cinético.

Se continuó con el dHBX-III, se realizó el estudio teórico computacional de la capacidad antioxidante primaria para especies presentes a pH fisiológico en medio acuoso. A continuación, en el Esquema 7 se representa los distintos mecanismos de reacción para dHBX-III.



Esquema 7. Mecanismos y sitios de reacción considerados para la captura de radicales

•OOH en la actividad antioxidante de dHBX-III.

En la Tabla 13 se muestra el estudio termodinámico de dHBX-III donde se reportan las Energías libres de Gibbs de reacción con el radical $\bullet\text{OOH}$, ΔG° (kcal/mol) a 298.15 K, obtenidas para cada uno de los mecanismos de reacción del derivado dHBX-III, se puede observar que hay diferentes sitios de reacción exergónicos con el radical $\bullet\text{OOH}$, por lo que puede ser un antioxidante primario frente a radicales peroxilo. Los mecanismos de reacción con los sitios exergónicos corresponden a la transferencia formal de átomo de Hidrógeno (TFAH) en los diferentes grupos fenólicos del dHBX-III; y a la formación del aducto radicalico (FAR) solo en el sitio

C₂ para las especies neutra, mono-anión y di-anión en agua. La especie neutra del derivado en medio lipídico solo muestra dos sitios de reacción exergónica que corresponden al mecanismo de reacción TFAH en los sitios fenólicos O₁ y O₂.

Tabla 13. Energías libres de Gibbs de reacción ΔG (kcal/mol) para las especies neutras, mono-aniones y el di-aniones de dHBX-III con el radical $\bullet\text{OOH}$, en agua y pentiletanoato, a 298.15 K.

dHBX-III				
	Neutra	Mono-anión	Di-anión	Neutra
	<i>Agua</i>	<i>Agua</i>	<i>Agua</i>	Pentiletanoato
TFAH				
O ₁	-2.59	N/A	N/A	-3.03
O ₂	-3.30	-8.29	-11.94	-4.02
O ₃	2.07	-5.80	N/A	2.90
O ₄	1.41	-6.24	-8.51	0.77
TSE				
	24.91	5.48	0.57	N/A
FAR				
C ₂	-0.61	-5.96	-4.80	6.27
C ₄	19.24	14.49	13.64	22.88
C ₅	13.51	15.01	10.83	16.45
C ₆	10.37	12.73	12.23	14.22
C ₇	14.17	10.84	11.13	17.34
C ₈	11.19	10.44	9.79	14.02
C ₉	12.14	9.99	9.23	15.26
C _{1'}	18.77	18.62	12.93	21.00
C _{2'}	12.87	10.58	12.41	16.76
C _{3'}	12.67	12.29	7.06	17.07
C _{4'}	13.04	9.70	10.56	16.14
C _{5'}	14.66	13.49	10.04	16.67
C _{6'}	12.86	12.15	11.47	16.15

No Aplica (N/A).

Se continuó con el estudio cinético donde se calcularon los estados de transición para los sitios exergónicos de los mecanismos TFAH y FAR para las diferentes especies

de dHBX-III. Los diferentes estados de transición se muestran en las Figuras 12 – 14. En la Tabla 14 se muestran las energías libres de Gibbs de activación y en la Tabla 15 las constantes de velocidad totales y globales, para dHBX-III en solución acuosa y lipídica.

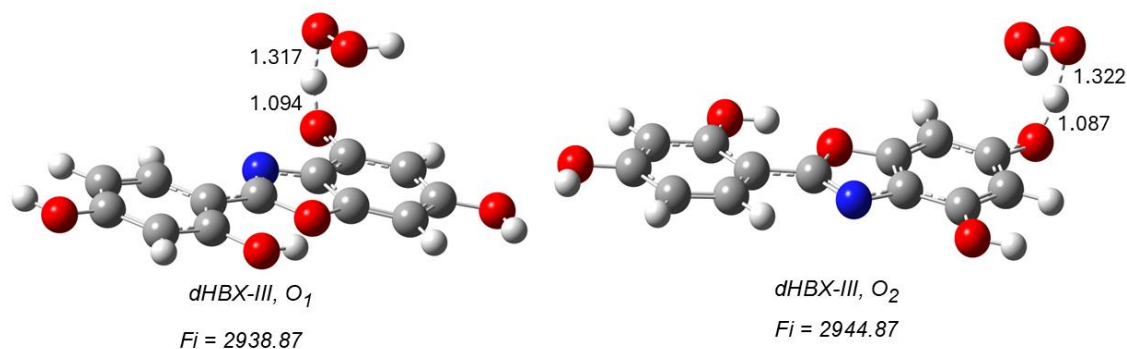


Figura 12. Estados de transición para las reacciones TFAH que involucran dHBX-III para la especie neutra y $\bullet OOH$, en solución acuosa. Fi = Frecuencia imaginaria, en cm^{-1} .

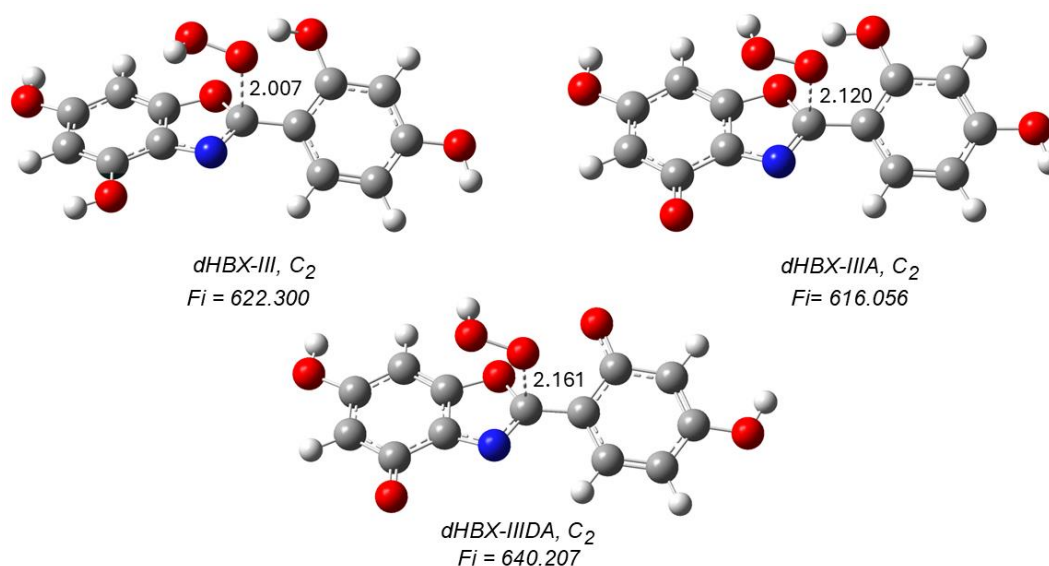


Figura 13. Estados de transición para las reacciones FAR que involucran dHBX-III para el sitio C_2 para las especies neutra, mono-anión y di-anión frente al $\bullet OOH$, en solución acuosa. Fi = Frecuencia imaginaria, en cm^{-1} .

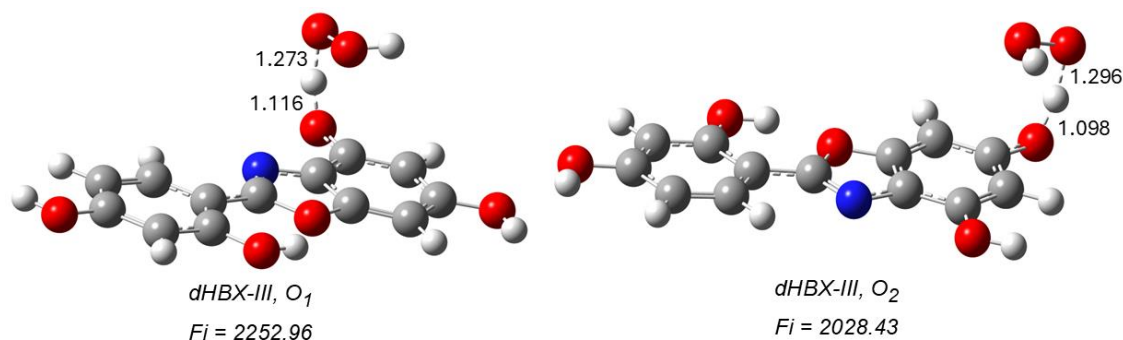


Figura 14. Estados de transición para las reacciones TFAH que involucran dHBX-III para la especie neutra y $\bullet\text{OOH}$, en solución Pentiletanoato (PE). Fi = Frecuencia imaginaria, en cm^{-1} .

Tabla 14. Barreras energéticas ($\Delta G^\ddagger$, kcal/mol) para las reacciones de dHBX-III con $\bullet\text{OOH}$ a 298.15 K, en agua y Pentiletanoato.

	dHBX-III			
	Neutra	Mono-anión	Di-anión	Neutra
TFAH	<i>Agua</i>	<i>Agua</i>	<i>Agua</i>	<i>Pentiletanoato</i>
O ₁	16.01	N/A	N/A	17.75
O ₂	15.64	S	S	16.03
O ₃	N/A	S	N/A	N/A
O ₄	N/A	S	S	N/A
FAR				
C ₂	16.05	11.14	10.43	N/A

Camino de reacción sin barrera energética (S) y No Aplica (N/A).

Tabla 15. Constantes de velocidad totales (k_{Total} , $M^{-1}s^{-1}$) y Global (k_{Global} , $M^{-1}s^{-1}$) para las reacciones de dHBX-III con $\bullet OOH$ a 298.15 K, en agua y Pentiletanoato.

dHBX-III				
	Neutra	Mono-anión	Di-anión	Neutra
TFAH	<i>Agua</i>	<i>Agua</i>	<i>Agua</i>	<i>Pentiletanoato</i>
O ₁	1.75x10 ⁴	N/A	N/A	2.19x10 ²
O ₂	2.85x10 ⁴	*7.52x10 ⁹	*7.53x10 ⁹	1.37x10 ³
O ₃	N/A	*7.52x10 ⁹	N/A	N/A
O ₄	N/A	*7.52x10 ⁹	*7.53x10 ⁹	N/A
FAR				
C ₂	1.07x10 ¹	4.21x10 ⁴	1.40x10 ⁵	N/A
k_{Total}	4.59x10 ⁴	2.26x10 ¹⁰	1.51x10 ¹⁰	1.59x10 ³
k_{Global}		2.75x10 ⁹		

*Constantes de velocidad limitadas por difusión (k_D) y No Aplica (N/A).

Para la especie neutra del derivado en el sitio O₂ en solución acuosa, se observa una mayor constante de velocidad en comparación con el mismo sitio en medio lipídico, donde se nota que la barrera de activación es más alta en el entorno lipídico que en el acuoso. Para el mecanismo FAR, la constante de velocidad más alta corresponde a la especie di-anión, seguida por el mono-anión, debido a que las barreras de activación son más altas para la especie neutra, lo que resulta en una constante de velocidad más baja para esta última. En el caso de la especie mono-anión en los sitios O₂, O₃ y O₄, y para la especie di-anión en los sitios O₂ y O₄, no se obtuvieron estados de transición, por lo que no fue posible calcular las barreras energéticas correspondientes, se asume que no se encuentra el ET porque la reacción está controlada por difusión (todos los choques son efectivos y conducen a productos). A pesar de ello, es posible calcular sus constantes de velocidad, ya que estos procesos estarán controlados por difusión, con un valor de $7.52 \times 10^9 M^{-1}s^{-1}$.

Se observa que la constante global en solución acuosa es mayor que en medio lipídico, alcanzando un valor de k_{Global} $2.75 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Al comparar esta constante de velocidad global en medio acuoso, se encuentra que es 30,688 veces más rápida que la constante de velocidad de Trolox ($8.96 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$).^{102,103}

Además, considerando que la peroxidación lipídica de las membranas celulares ocurre a una constante de velocidad de $1.18 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$,¹⁰² se observa que la constante de velocidad obtenida para el derivado en medio lipídico es 1.35 veces mayor que la de la peroxidación lipídica.

7. Conclusiones

Se diseñaron un total de 30,172 derivados del compuesto HBX utilizando el protocolo CADMA-Chem (Diseño Asistido por Computadora de Antioxidantes Multifuncionales, basado en propiedades químicas), considerando diferentes tipos de sustitución molecular. A través de la evaluación de sus propiedades ADMETSA, se identificaron los tres derivados más prometedores (I, II y III), los cuales no solo cumplen con las características necesarias para ser considerados fármacos orales, sino que además mostraron una mejora significativa en su capacidad antioxidante en comparación con HBX. Estos derivados fueron capaces de donar hidrógeno, potenciando su actividad antioxidante, y el derivado III, en su forma di-anión, resultó ser superior a Trolox, uno de los antioxidantes más conocidos, tanto en el mecanismo de transferencia simple de electrón (TSE) como en el de transferencia formal de hidrógeno (TFAH). Además, el derivado II, en su forma di-anión, mostró un excelente potencial para inhibir radicales hidropéroxilo mediante TSE y TFAH, lo que sugiere que puede ser útil como agente antioxidante en diversas aplicaciones terapéuticas.

Por otro lado, el análisis del mapa de eH-DAMA reveló que tanto el HBX como su derivado dHBX-I, en su especie neutra, no son capaces de depurar los radicales peroxilo, lo que limita su eficacia en algunas condiciones. Sin embargo, los derivados II y III en sus formas neutra y mono-aniónica, demostraron ser excelentes donantes de hidrógeno, lo que refuerza su potencial antioxidante. El estudio también incluyó la obtención de las constantes de acidez, el orden de desprotonación y fracciones molares (f^M) a $pH=7.4$ de HBX y sus tres derivados, confirmando su estabilidad y reactividad química.

Se validó que la funcionalización del esqueleto químico de HBX mejora significativamente sus propiedades antioxidantes y neuroprotectoras, lo que abre nuevas posibilidades para su aplicación en el desarrollo de fármacos. Los modelos de acoplamiento molecular también sugieren que HBX y sus derivados tienen un alto potencial para interactuar con enzimas clave involucradas en enfermedades neurodegenerativas como el receptor NMDAr y la xantina oxidasa (XO), lo que refuerza aún más su viabilidad como candidatos para terapias farmacológicas contra las enfermedades de Alzheimer y ELA.

Finalmente, se evaluó la capacidad antioxidante primaria de uno de los derivados, demostrando que su constante de velocidad global en medio acuoso es 30,688 veces más rápida que la de Trolox. Sin embargo, en un medio lipídico, su actividad antioxidante solo superó en 1.35 veces la peroxidación lipídica, lo que sugiere que, aunque el derivado tiene un gran potencial en soluciones acuosas, su eficacia en ambientes lipídicos es relativamente menor, aunque aún destacable.

8. Perspectivas

Se plantea continuar la investigación utilizando la metodología QM-ORSA para el derivado dHBX-II, ya que en el análisis del mapa eH-DAMA este compuesto muestra características prometedoras como antioxidante debido a su baja energía de ionización y su favorable valor de EDE.

Otro aspecto relevante para futuras investigaciones es explorar la capacidad antioxidante secundaria de algunos de estos derivados, por quelación de Cu (II), así como su potencial en la reparación de moléculas de interés biológico. Particularmente, se buscará evaluar el derivado cuya estructura química presente propiedades adecuadas para interactuar y acoplarse con metales, ampliando así sus posibles aplicaciones en el diseño de terapias para enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo y los desórdenes neurodegenerativos.

9. Apéndice

Apéndice A.1. Datos para los experimentos de acoplamiento molecular.

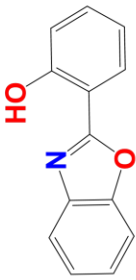
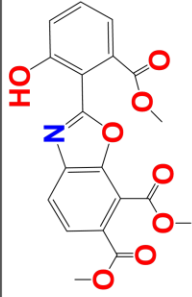
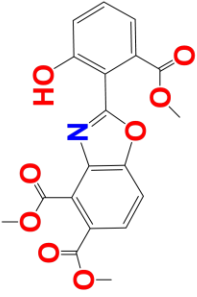
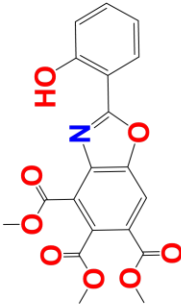
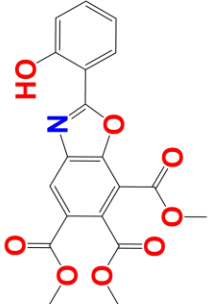
Proteína	Tamaño (Å)	Centro (x,y,z)	Sustrato	ΔG^u (kcal/mol)	Fármaco	ΔG^u (kcal/mol)
COMT	15 x 15 x 15	-22.29, 24.35, 6.97	Dopamina	-5.4	Tolcapone	-7.6 (1.6 Å)
MAO-B	15 x 15 x 15	51.81, 156.34, 28.15	Feniletilamina	-6.0	Safinamida	-10.0 (1.8 Å)
AChE	21 x 21 x 21	-16.30, -43.83, 30.17	Acetilcolina	-4.9	Donopezilo	-12.0 (2.8 Å)
Sigma1R	15 x 15 x 15	10.50, 38.70, - 34.80	---	---	Blarcamesina	-7.9
NMDAr	15 x 15 x 15	166.14, 174.34, 216.82	Glutamato	-5.0	Mematine	-5.8 (0.6 Å)
5HT2A	17 x 15 x 15	14.40, -0.80, 60.90	Serotonina	-6.5	Risperidona	-11.9 (1.8 Å)
XO	15 x 15 x 15	38.00, 20.00, 19.00	Xantina	-6.4	5- mercaptopurina	-5.7 (2.6 Å)
SOD	40 x 72 x 40	16.00, 71.00, 16.00	---	---	β-Eudesmol	-6.9
A2Ar	15 x 13 x 13	1.00, -7.50, 18.30	Adenosina	-7.0	KW6536	-10.2 (2.9 Å)
PPARγ	15 x 15 x 15	50.19, -38.23, 19.15	---	---	Rosiglitazona	-8.1 (1.6 Å)

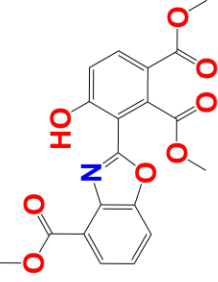
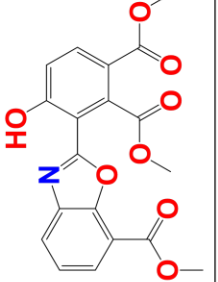
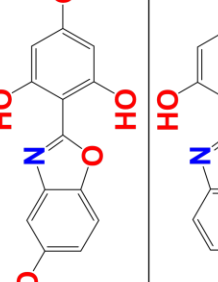
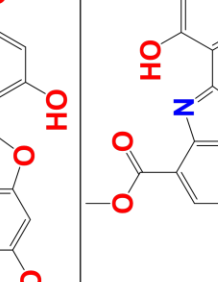
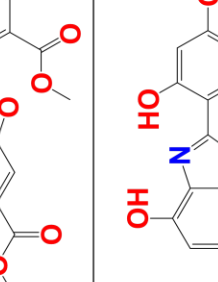
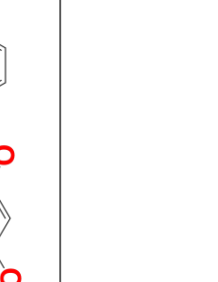
Apéndice A.2. Valores para las propiedades de toxicidad, fisicoquímicas y de síntesis para los mejores derivados de HBX.

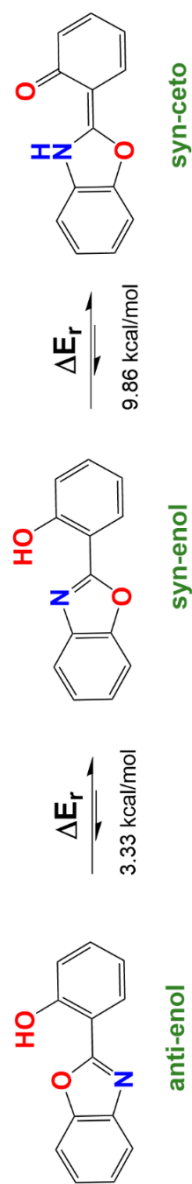
Derivado	MM	Log P	RM	NAP	APH	DPH	NER	ASP	TD	M	DL ₅₀	AS	P ^s
HBX	211.22	3.20	61.11	16.00	3.00	1.00	1.00	46.26	0.64	0.64	559.44	79.76	0.99
dHBX-27237	385.33	2.56	95.13	28.00	9.00	1.00	4.00	125.16	1.11	0.29	3558.72	71.47	1.06
dHBX-26591	385.33	2.56	95.13	28.00	9.00	1.00	4.00	125.16	1.13	0.29	3405.68	71.38	1.05
dHBX-26589	385.33	2.56	95.13	28.00	9.00	1.00	4.00	125.16	1.11	0.29	2920.94	71.35	1.04
dHBX-26925	385.33	2.56	95.13	28.00	9.00	1.00	4.00	125.16	1.09	0.29	2812.32	71.44	1.04
dHBX-26658	385.33	2.56	95.13	28.00	9.00	1.00	4.00	125.16	1.13	0.26	2724.95	71.40	1.04
dHBX-27526	385.33	2.56	95.13	28.00	9.00	1.00	4.00	125.16	1.12	0.26	2622.58	71.50	1.04
dHBX-12335	259.22	2.32	66.10	19.00	6.00	4.00	1.00	106.95	0.60	0.22	1535.66	77.26	1.04
dHBX-13274	259.22	2.32	66.10	19.00	6.00	4.00	1.00	106.95	0.60	0.23	1534.88	77.26	1.04
dHBX-26614	385.33	2.56	95.13	28.00	9.00	1.00	4.00	125.16	1.12	0.27	2585.32	71.46	1.04
dHBX-11276	259.22	2.32	66.10	19.00	6.00	4.00	1.00	106.95	0.58	0.22	1464.71	77.12	1.04

* MM masa molar, Log P logaritmo de la constante de reparto octanol-agua, RM refractividad molar, NAP número de átomos diferentes de H, APH aceptores de protón, DPH donadores de protón, NER número de enlaces rotables, ASP área superficial polar, TD toxicidad en el desarrollo, M mutagenicidad, DL₅₀ Dosis letal media, AS accesibilidad sintética, P^s puntaje de selección.

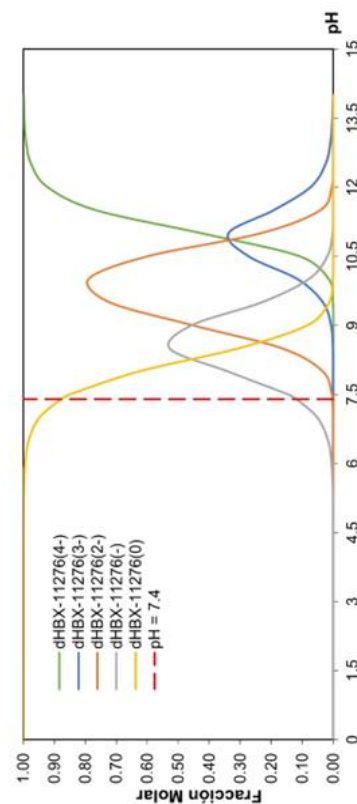
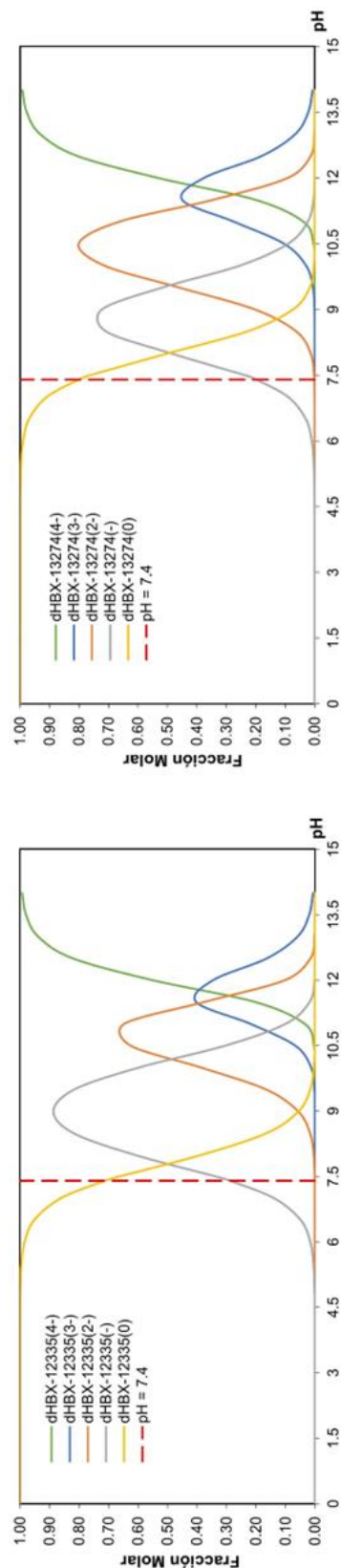
Apéndice A.3. HBX y derivados, smile y estructura.

Derivado	Smile	Estructura
HBX	<chem>C1=CC=C(C(=C1)C2=NC3=C(C=CC=C3)O2)O</chem>	
dHBX-27237	<chem>COC(=O)C1=CC=CC(=C1C2=NC3=C(C(=C(C3)C(=O)OC)C(=O)OC)O2)O</chem>	
dHBX-26591	<chem>COC(=O)C1=CC=CC(=C1C2=NC3=C(C(=CC=C3O2)C(=O)OC)C(=O)OC)O</chem>	
dHBX-26589	<chem>COC(=O)C1=CC2=C(C(=C1C(=O)OC)C(=O)OC)N=C(C3=CC=CC=C3O2)O2</chem>	
dHBX-26925	<chem>COC(=O)C1=CC2=C(C(=C1C(=O)OC)C(=O)OC)OC(=N2)C3=CC=CC=C3O</chem>	

Derivado	Smile	Estructura
dHBX-26658	<chem>COC(=O)C1=CC=C(C(=C1C(=O)OC)C2=NC3=C(C=CC=C3C(=O)OC)O2)O</chem>	
dHBX-27526	<chem>COC(=O)C1=CC=C(C(=C1C(=O)OC)C2=NC3=CC=CC(=C3O2)C(=O)OC)O</chem>	
dHBX-12335	<chem>C1=C(C=C2C(=C1)OC(=N2)C3=C(C=C(C=C3O)O)O)O</chem>	
dHBX-13274	<chem>C1=CC2=C(C=C1O)OC(=N2)C3=C(C=C(C=C3O)O)O</chem>	
dHBX-26614	<chem>COC(=O)C1=CC2=C(C(=C1)C(=O)OC)N=C(C3=C(C=CC=C3C(=O)OC)O2)O2</chem>	
dHBX-11276	<chem>C1=CC(=C(C=C1O)O)C2=NC3=C(C=C(C=C3O2)O)O</chem>	

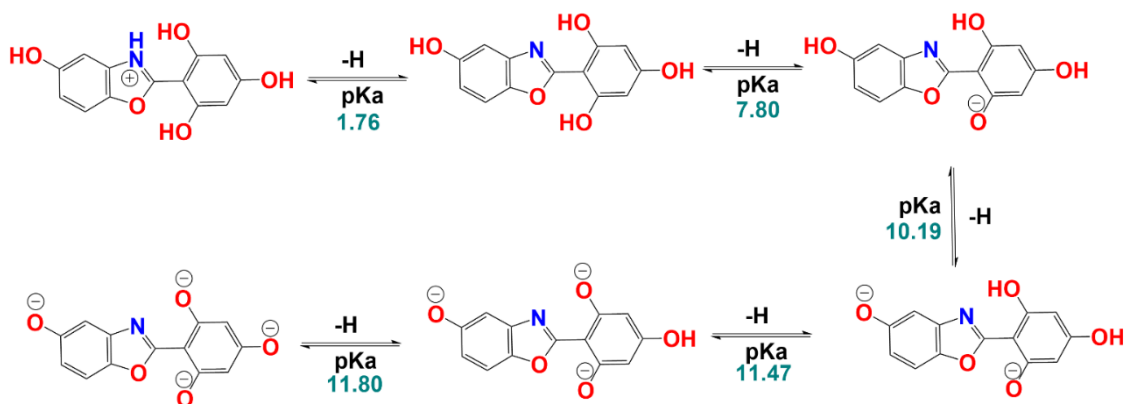


Apéndice A.4. Tautómeros de HBX.



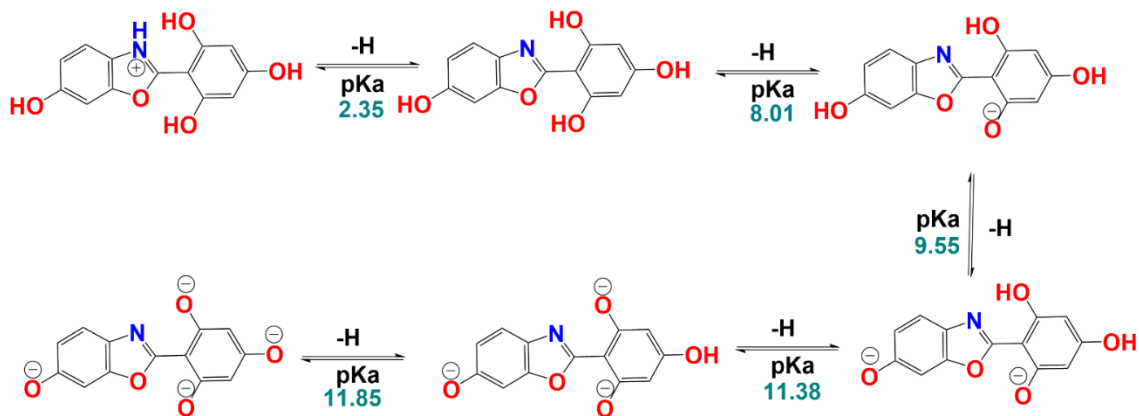
Apéndice A.5. Diagrama de Distribución de especies de dHBX-12335, dHBX-13274, dHBX-11276.

dhbx-12335



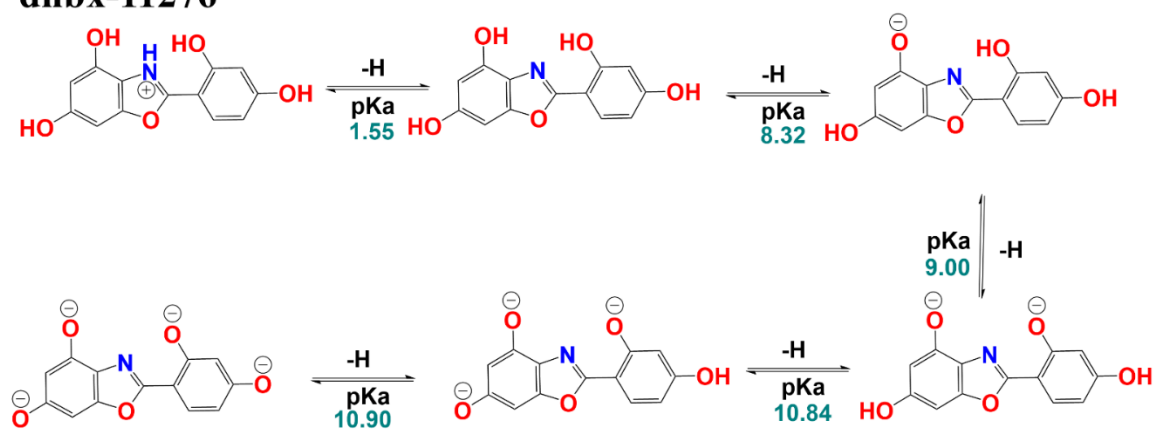
Apéndice A.6. Orden de deprotonación de dHBX-12335.

dhbx-13274



Apéndice A.7. Orden de deprotonación de dHBX-13274.

dhbx-11276



Apéndice A.8. Orden de deprotonación de dHBX-11276.

10. Referencias

-
- ¹Agnati, L. F., Zoli, M., Biagini, G., & Fuxe, K. (1992). Neuronal plasticity and ageing processes in the frame of the 'Red Queen Theory'. *Acta Physiologica Scandinavica*, 145(4), 301–309. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1992.tb09494.x>.
- ²Agnati, L. F., Benfenati, F., Solfrini, V., Biagini, G., Fuxe, K., Guidolin, D., & Zini, I. (1992). Brain aging and neuronal plasticity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 673, 180–186. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1992.tb27450.x>.
- ³Anitha, M., Nandhu, M. S., Anju, T. R., Jes, P., & Paulose, C. S. (2011). Targeting glutamate-mediated excitotoxicity in Huntington's disease: Neural progenitors and partial glutamate antagonist-memantine. *Medical Hypotheses*, 76(1), 138–140. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2010.08.034>
- ⁴Gammon, K. (2014). Neurodegenerative disease: Brain windfall. *Nature*, 515(7526), 299–300. <https://doi.org/10.1038/515299a>
- ⁵Beckman, J. S., Beckman, T. W., Chen, J., Marshall, P. A., & Freeman, B. A. (1990). Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(4), 1620–1624. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.4.1620>.
- ⁶Butterfield, D. A., Hensley, K., Harris, M., Mattson, M., & Carney, J. (1994). Biochem. Biophys. Res. Commun, 200, 710. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 200, 710. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.1375>
- ⁷ (a) Boyd, N. F; McGuire, V. *Free Radic. Biol. Med.* 1991, 10, 185. (b) Nelson, R. L. *Free Radic. Biol. Med.* 1992, 12, 161. (c) Knekt, P; Reunanen, A; Takkunen, H; Aromaa, A.; Heliovarara, M; Hakulinen, T. *Int. J. Cancer* 1994, 56, 379. (d) Omenn, G. S; Goodman, G. E; Thornquist, M. D. *N. Engl. J. Med.* 1996, 334, 1150.
- ⁸ (a) Panasenko, O. M; Nova, T. V; Azizova, O. A; Vladimirov, Y. A. *Free Radic. Biol. Med.* 1991, 10, 137. (b) Steinberg, D. *Circulation* 1991, 84, 1421. (c) Janero, D. R. *Free Radic. Biol. Med.* 1991, 11, 129. (d) Hodis, H. N; Mack, W. J; LaBree, L; Cashin-Hemphill, L; Sevanian, A; Johnson, R; Azen, S. *J. Am. Med. Assoc.* 1995, 273, 1849.
- ⁹ (a) Riemmersma, R. A; Wood, D. A; Macityre, C. C. A; Elton, R. A; Gey, K. F; Oliver, M. F. *Lancet* 1991, 337, 1. (b) Salonen, J. T; Nyyssonen, K; Korpela, H; Tuomilehto, J; Seppanen, R; Salonen, R. *Circulation* 1992, 86, 803. (c) Street, D. A; Comstock, G; Salkeldy, R; Klag, M. *Circulation* 1994, 90, 1154. (d) Kushi, L. H; Folsom, A. R; Prineas, R. J; Mink, P. J; Wu, Y; Bostick, R. *N. Engl. J. Med.* 1996, 334, 1156. (e) Stephens, N. G; Parsons, A; Schofield, P. M; Kelly, F; Cheesman, K; Mitchison, M. J; Brown, M. J. *Lancet* 1996, 347, 781.
- ¹⁰ Castro, L., Tórtora, V., Mansilla, S., & Radi, R. (2019). Aconitases: Non-redox iron–sulfur proteins sensitive to reactive species. *Accounts of Chemical Research*, 52(9), 2609–2619. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.9b00209>
- ¹¹Engwa, G. A., Nweke, F. N., & Nkeh-Chungag, B. N. (2022). Free radicals, oxidative stress-related diseases and antioxidant supplementation. *Alternative Therapies in Health & Medicine*, 28(1).
- ¹²Gutteridge, J. M. C. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods in Enzymology*, 186, 1–85. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86001-J](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86001-J).

- ¹³Van der Schyf, C. J., Geldenhuys, W. J., & Youdim, M. B. (2006). Multifunctional neuroprotective drugs for the treatment of cognitive and movement impairment disorders, including Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Drugs of the Future*, 31, 447–460.
- ¹⁴Fang, J., Jiang, F., Li, J., & Zhu, Y. (2012). Rationale for the use of multifunctional drugs as neuroprotective agents for glaucoma. *Neural Regeneration Research*, 7(4), 313–318. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2012.04.009>
- ¹⁵Stahl, S. M. (2009). Multifunctional drugs: A novel concept for psychopharmacology. *CNS Spectrums*, 14(2), 71–73. <https://doi.org/10.1017/S1092852900012496>.
- ¹⁶Evans, T. M., Bhattacharya, A., Shi, Y., Qi, W., Block, T. J., Chaudhuri, A., ... & Van Remmen, H. (2016). Moderate modulation of disease in the G93A model of ALS by the compound 2-(2-hydroxyphenyl)-benzoxazole (HBX). *Neuroscience Letters*, 624, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.04.009>.
- ¹⁷Guzman-Lopez, E. G., Reina, M., Perez-Gonzalez, A., Francisco-Marquez, M., Hernandez-Ayala, L. F., Castañeda-Arriaga, R., & Galano, A. (2022). CADMA-Chem: A computational protocol based on chemical properties aimed to design multifunctional antioxidants. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 13246. <https://doi.org/10.3390/ijms232113246>.
- ¹⁸Graton, J., Goupille, A., Ferré, T., Offmann, B., André-Miral, C., & Le Questel, J. Y. (2024). Antioxidant properties of catechin and its 3' O- α -glucoside: Insights from computational chemistry calculations. *Computational and Theoretical Chemistry*, 1236, 114608. <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2024.114608>.
- ¹⁹Spiegel, M. (2024). Unveiling the anti-radical potential of galangin—a detailed density functional theory investigation.
- ²⁰Spiegel, M. (2024). Unveiling the antioxidative potential of galangin: Complete and detailed mechanistic insights through density functional theory studies. *The Journal of Organic Chemistry*.
- ²¹Prasetyo, W. E., Kurniansyah, V., Firdaus, M., Wibowo, F. R., Hadda, T. B., Almalki, F. A., ... & Kusumaningsih, T. (2024). Free radical scavenging behaviour of the plant-beneficial secondary metabolite 2, 4-diacetylphloroglucinol derivatives under physiological conditions: A joint experimental and theoretical study. *Journal of Molecular Structure*, 1302, 137498. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.137498>
- ²²Marchese, E., Orlandi, V., Turrini, F., Romeo, I., Boggia, R., Alcaro, S., & Costa, G. (2023). In silico and in vitro study of antioxidant potential of urolithins. *Antioxidants*, 12(3), 697. <https://doi.org/10.3390/antiox12030697>
- ²³Hassan, A. S., Morsy, N. M., Aboulthana, W. M., & Ragab, A. (2023). Exploring novel derivatives of isatin-based Schiff bases as multi-target agents: Design, synthesis, in vitro biological evaluation, and in silico ADMET analysis with molecular modeling simulations. *RSC Advances*, 13(14), 9281–9303. <https://doi.org/10.1039/D3RA01010A>.
- ²⁴Reina, M., Castañeda-Arriaga, R., Pérez-González, A., Guzman-Lopez, E. G., Tan, D. X., Reiter, R. J., & Galano, A. (2018). A computer-assisted systematic search for melatonin derivatives with high potential as antioxidants. *Melatonin Research*, 1(1), 27–58. <https://doi.org/10.32794/mr11250038>.
- ²⁵Castro-Gonzalez, L. M., Alvarez-Idaboy, J. R., & Galano, A. (2020). Computationally designed sesamol derivatives proposed as potent antioxidants. *ACS Omega*, 5(16), 9566–9575. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01782>.
- ²⁶Pérez-González, A., Castañeda-Arriaga, R., Guzmán-López, E. G., Hernández-Ayala, L. F., & Galano, A. (2022). Chalcone derivatives with a high potential as multifunctional antioxidant neuroprotectors. *ACS Omega*, 7(43), 38254–38268. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c06364>.
- ²⁷Reina, M., Guzmán-López, E. G., Romeo, I., Marino, T., Russo, N., & Galano, A. (2021). Computationally designed p-coumaric acid analogs: Searching for neuroprotective antioxidants. *New Journal of Chemistry*, 45(32), 14369–14380. <https://doi.org/10.1039/D1NJ02581J>.

-
- ²⁸Reina, M., Guzmán-López, E. G., & Galano, A. (2023). Computational design of rasagiline derivatives: Searching for enhanced antioxidant capability. *International Journal of Quantum Chemistry*, 123(2), e27011. <https://doi.org/10.1002/qua.27011>.
- ²⁹Guzmán-López, E. G., Reina, M., Hernández-Ayala, L. F., & Galano, A. (2023). Rational design of multifunctional ferulic acid derivatives aimed for Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Antioxidants*, 12(6), 1256. <https://doi.org/10.3390/antiox12061256>.
- ³⁰Hernández-Ayala, L. F., Guzmán-López, E. G., & Galano, A. (2023). Quinoline derivatives: Promising antioxidants with neuroprotective potential. *Antioxidants*, 12(10), 1853. <https://doi.org/10.3390/antiox12101853>.
- ³¹Morales-García B. C., Perez-Gonzalez A., Álvarez-Idaboy J. R., Galano A., "Computer-aided Design of Caffeic Acid Derivatives: Free Radical Scavenging Activity and Reaction Force" *J. Mol. Model.*, 2024, Aceptado. Factor de impacto 2.1.
- ³²Stolk, R. P., Rosmalen, J. G., Postma, D. S., de Boer, R. A., Navis, G., Slaets, J. P., ... & Wolffenbuttel, B. H. (2008). Universal risk factors for multifactorial diseases: LifeLines: a three-generation population-based study. *European Journal of Epidemiology*, 23(1), 67-74. <https://doi.org/10.1007/s10654-008-9270-6>
- ³³World Health Organization. (2015). *World report on ageing and health*. World Health Organization.
- ³⁴Migliore, L., & Coppedè, F. (2009). Genetics, environmental factors and the emerging role of epigenetics in neurodegenerative diseases. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 667(1-2), 82-97. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2009.03.001>.
- ³⁵Van der Schyf, C. J., & Youdim, M. B. (2009). Multifunctional drugs as neurotherapeutics. *Neurotherapeutics*, 6, 1-3. <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2008.09.003>.
- ³⁶Van der Schyf, C. J., & Youdim, M. B. (2009). Multifunctional drugs as neurotherapeutics. *Neurotherapeutics*, 6, 1-3. <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2008.09.003>.
- ³⁷Zanelli, S. A. (2005). Mechanisms of ischemic neuroprotection by acetyl-L-carnitine. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1053, 153-161. <https://doi.org/10.1196/annals.1341.022>.
- ³⁸Simão, F., et al. (2011). Resveratrol prevents oxidative stress and inhibition of Na⁺/K⁺-ATPase activity induced by transient global cerebral ischemia in rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 22, 921-928. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.06.008>.
- ³⁹Modern pharmacology with clinical applications (6th ed.). (2003). Lippincott Williams & Wilkins.
- ⁴⁰Mental Health Daily. (2015, February 17). Neuroprotective agents: List of drugs & supplements. *Mental Health Daily*. Retrieved February 2, 2018, from <https://mentalhealthdaily.com/2015/02/17/neuroprotective-agents-list-of-drugs-supplements/>.
- ⁴¹Liu, Z., Liu, Y., Zeng, G., Shao, B., Chen, M., Li, Z., ... & Zhong, H. (2018). Application of molecular docking for the degradation of organic pollutants in the environmental remediation: A review. *Chemosphere*, 203, 139-150. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.019>.
- ⁴²Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., ... & Bourne, P. E. (2000). The protein data bank. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 235-242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>.
- ⁴³Bohacek, R. S., McMartin, C., & Guida, W. C. (1996). The art and practice of structure-based drug design: A molecular modeling perspective. *Medicinal Research Reviews*, 16(1), 3-50. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1128\(199601\)16:1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1128(199601)16:1).
- ⁴⁴Binda, C., Wang, J., Pisani, L., Caccia, C., Carotti, A., Salvati, P., ... & Mattevi, A. (2007). Structures of human monoamine oxidase B complexes with selective noncovalent inhibitors: Sildenafil and coumarin analogs. *Journal of Medicinal Chemistry*, 50(23), 5848-5852. <https://doi.org/10.1021/jm070835p>.
-

-
- ⁴⁵Cheung, J., Rudolph, M. J., Burshteyn, F., Cassidy, M. S., Gary, E. N., Love, J., ... & Height, J. J. (2012). Structures of human acetylcholinesterase in complex with pharmacologically important ligands. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55(22), 10282–10286. <https://doi.org/10.1021/jm3014286>.
- ⁴⁶Ellermann, M., Lerner, C., Burgy, G., Ehler, A., Bissantz, C., Jakob-Roetne, R., ... & Rudolph, M. G. (2012). Catechol-O-methyltransferase in complex with substituted 3'-deoxyribose bisubstrate inhibitors. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 68(3), 253–260. <https://doi.org/10.1107/S0907444912001417>.
- ⁴⁷Chou, T. H., Epstein, M., Michalski, K., Fine, E., Biggin, P. C., & Furukawa, H. (2022). Structural insights into binding of therapeutic channel blockers in NMDA receptors. *Nature Structural & Molecular Biology*, 29(6), 507–518. <https://doi.org/10.1038/s41594-022-00765-2>.
- ⁴⁸Schmidt, H. R., Betz, R. M., Dror, R. O., & Kruse, A. C. (2018). Structural basis for $\sigma 1$ receptor ligand recognition. *Nature Structural & Molecular Biology*, 25(10), 981–987. <https://doi.org/10.1038/s41594-018-0144-0>.
- ⁴⁹Kimura, K. T., Asada, H., Inoue, A., Kadji, F. M. N., Im, D., Mori, C., ... & Shimamura, T. (2019). Structures of the 5-HT_{2A} receptor in complex with the antipsychotics risperidone and zotepine. *Nature Structural & Molecular Biology*, 26(2), 121–128. <https://doi.org/10.1038/s41594-019-0166-6>.
- ⁵⁰Ohno, Y., Suzuki, M., Asada, H., Kanda, T., Saki, M., Miyagi, H., ... & Uchida, S. (2023). In vitro pharmacological profile of KW-6356, a novel adenosine A_{2A} receptor antagonist/inverse agonist. *Molecular Pharmacology*, 103(6), 311–324. <https://doi.org/10.1124/molpharm.122.000521>.
- ⁵¹McCord, J. M., & Fridovich, I. (1969). The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. *The Journal of Biological Chemistry*, 244(22), 6049–6055.
- ⁵²Iqbal, K., & Grundke-Iqbal, I. (2010). Alzheimer's disease, oxidative stress, and metal ions. *Journal of Alzheimer's Disease*, 20(1), 175–183. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-0910>
- ⁵³Nakanishi, T., & Nakayama, S. (1997). Xanthine oxidase and its inhibitors in the pathophysiology of cardiovascular diseases. *Circulation Research*, 80(3), 306–309. <https://doi.org/10.1161/01.RES.80.3.306>.
- ⁵⁴El-Bassossy, H., & El-Fayoumi, H. (2007). Xanthine oxidase and its role in neurodegenerative diseases. *Free Radical Biology and Medicine*, 42(6), 961–967. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.01.019>
- ⁵⁵Zhang, Y., & Wang, L. (2021). PPAR γ : A promising therapeutic target in neurodegenerative diseases. *Neuropharmacology*, 179, 108267. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108267>
- ⁵⁶<https://agalano.com/Smile-It/>
- ⁵⁷<https://www.epa.gov/chemical-research/toxicity-estimation-software-tool-test>
- ⁵⁸<https://ambit.sourceforge.net/reactor.html>
- ⁵⁹Kochev, N., Avramova, S., Angelov, P., & Jeliazkova, N. (2018). Computational prediction of synthetic accessibility of organic molecules with Ambit-synthetic accessibility tool. *Org. Chem. Ind. J*, 14(2), 123.
- ⁶⁰<https://github.com/rdkit/rdkit>
- ⁶¹Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advances in Drug Delivery Reviews*, 46(1-3), 3–26.
- ⁶²Ghose, A. K., Viswanadhan, V. N., & Wendoloski, J. J. (1999). A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. *Journal of Combinatorial Chemistry*, 1(1), 55–68.
- ⁶³Veber, D. F., et al. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 45(12), 2615–2623.
-

-
- ⁶⁴ Muegge, I., Heald, S. L., & Brittelli, D. (2001). Simple selection criteria for drug-like chemical matter. *Journal of Medicinal Chemistry*, 44(12), 1841-1846.
- ⁶⁵ Egan, W. J., Merz, K. M., & Baldwin, J. J. (2000). Prediction of drug absorption using multivariate statistics. *Journal of Medicinal Chemistry*, 43(21), 3867-3877.
- ⁶⁶ Zhong, H. A., Mashinson, V., Woolman, T. A., & Zha, M. (2013). Understanding the molecular properties and metabolism of top prescribed drugs. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 13, 1290-1307. <https://doi.org/10.2174/15680266113139990034>.
- ⁶⁷ Gleeson, M. P., Hersey, A., Montanari, D., & Overington, J. (2011). Probing the links between in vitro potency, ADMET, and physicochemical parameters. *Nature Reviews Drug Discovery*, 10, 197. <https://doi.org/10.1038/nrd3367>
- ⁶⁸ Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., ... & Fox, D. J. (2009). *Gaussian 09*. Gaussian Inc. Wallingford, CT, USA.
- ⁶⁹ Zhao, Y., Schultz, N. E., & Truhlar, D. G. (2006). A new representation of the electron correlation energy for use in molecular calculations. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2(2), 364. <https://doi.org/10.1021/ct050292r>.
- ⁷⁰ Marenich, A. V., Cramer, C. J., & Truhlar, D. G. (2009). Performance of density functional theory for computing solvation free energies. *The Journal of Physical Chemistry B*, 113(19), 6378-6384. <https://doi.org/10.1021/jp810292m>.
- ⁷¹ Pérez-González, A., Castañeda-Arriaga, R., Verastegui, B., Carreón-González, M., Álvarez-Idaboy, J. R., & Galano, A. (2018). Estimation of empirically fitted parameters for calculating pKa values of thiols in a fast and reliable way. *Theoretical Chemistry Accounts*, 137(5), 79. <https://doi.org/10.1007/s00214-018-2322-4>.
- ⁷² 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., & Álvarez-Idaboy, J. R. (2016). Computational study of antioxidant activity in thiol compounds: A new approach to the mechanistic characterization. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 56(9), 1714-1724. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00244>
- ⁷³ Berman, H., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T., Weissig, H., Shindyalov, I., & Bourne, P. (2000). The Protein Data Bank, 1999. In M. G. Rossmann & E. Arnold (Eds.), *International Tables for Crystallography* (Vol. 67, pp. 675-684)
- ⁷⁴ Šali, A., & Blundell, T. L. (1993). Comparative protein modelling by satisfaction of spatial restraints. *Journal of Molecular Biology*, 234(3), 779-815. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1993.1254>.
- ⁷⁵ Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785-2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>.
- ⁷⁶ Bonvin, A. M. J. J., Mark, A. E., & van Gunsteren, W. F. (2019). GROMOS96: A high-performance molecular dynamics simulation tool. *Computational Physics Communications*, 128(3), 550-557. <https://doi.org/10.1016/j.cpc.2019.01.003>.
- ⁷⁷ Johansson, M. U., Zoete, V., Michielin, O., & Guex, N. (2012). DeepView: Visualizing protein structures and interactions. *BMC Bioinformatics*, 13, 1-11. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-1>.
- ⁷⁸ Singh, U. C., & Kollman, P. A. (1984). An approach to computing electrostatic charges for molecules. *Journal of Computational Chemistry*, 5(2), 129-145. <https://doi.org/10.1002/jcc.540050204>.
- ⁷⁹ Eberhardt, J., Santos-Martins, D., Tillack, A. F., & Forli, S. (2021). AutoDock Vina 1.2.0: New docking methods, expanded force field, and Python bindings. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 61(8), 3891-3898. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00694>.
- ⁸⁰ BIOVIA. (2023). *Discovery Studio 2021 Client*. Dassault Systèmes. San Diego, CA, USA.
-

-
- ⁸¹Galano, A., & Alvarez-Idaboy, J. R. (2013). A computational methodology for accurate predictions of rate constants in solution: Application to the assessment of primary antioxidant activity. *Journal of Computational Chemistry*, 34(28), 2430-2445. <https://doi.org/10.1002/jcc.23330>.
- ⁸²Eyring, H. (1935). The activated complex in chemical reactions. *Journal of Chemical Physics*, 3, 63. <https://doi.org/10.1063/1.1749584>.
- ⁸³Evans, M. G., & Polanyi, M. (1935). *Trans Faraday Soc*, 31, 875.
- ⁸⁴Kuppermann, A., & Truhlar, D. G. (1971). *J Am Chem Soc*, 93, 1840.
- ⁸⁵Eyring, H. (1935). The activated complex in chemical reactions. *Journal of Chemical Physics*, 3, 107.
- ⁸⁶Evans, M. G., & Polanyi, M. (1935). Some applications of the transition state method to the calculation of reaction velocities, especially in solution. *Transactions of the Faraday Society*, 31, 875.
- ⁸⁷Truhlar, D. G., Hase, W. L., & Hynes, J. T. (1983). Current status of transition-state theory. *Journal of Physical Chemistry*, 87(15), 2664.
- ⁸⁸Marcus, R. A. (1964). Chemical and electrochemical electron-transfer theory. *Annual Review of Physical Chemistry*, 15, 155.
- ⁸⁹Marcus, R. A. (1993). Electron transfer reactions in chemistry: Theory and experiment (Nobel Lecture). *Reviews of Modern Physics*, 65, 599.
- ⁹⁰Marcus, R. A. (1997). Electron transfer reactions in chemistry: Theory and experiment (Nobel Lecture). *Pure and Applied Chemistry*, 69(1), 13.
- ⁹¹Collins, F. C., & Kimball, G. E. (1949). Diffusion-controlled reaction rates. *Journal of Colloid Science*, 4, 425.
- ⁹²Smoluchowski, M. (1917). Versuch einer mathematischen Theorie der Koagulationskinetik kolloider Lösungen. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 92, 129.
- ⁹³Truhlar, D. G. (1985). Nearly encounter-controlled reactions: The equivalence of the steady-state and diffusional viewpoints. *Journal of Chemical Education*, 62(2), 104.
- ⁹⁴Einstein, A. (1905). On the movement of small particles suspended in stationary liquids required by the molecular-kinetic theory of heat. *Annalen der Physik (Leipzig)*, 17, 549.
- ⁹⁵Stokes, G. G. (1903). On the effect of the internal friction of fluids on the motion of pendulums: Part I - Analytical investigation. *Mathematical and Physical Papers*, 3, 55.
- ⁹⁶Singh, U. C., & Kollman, P. A. (1984). An approach to computing electrostatic charges for molecules. *Journal of Computational Chemistry*, 5(2), 129-145. <https://doi.org/10.1002/jcc.540050204>
- ⁹⁷Mohos, V., Fliszár-Nyúl, E., & Poór, M. (2020). Inhibition of xanthine oxidase-catalyzed xanthine and 6-mercaptopurine oxidation by flavonoid aglycones and some of their conjugates. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), 3256. <https://doi.org/10.3390/ijms21093256>
- ⁹⁸Michel, T. M., Camara, S., Tatschner, T., Frangou, S., Sheldrick, A. J., Riederer, P., & Grünblatt, E. (2010). Increased xanthine oxidase in the thalamus and putamen in depression. *World Journal of Biological Psychiatry*, 11(2 Pt 2), 314-320. <https://doi.org/10.3109/15622970802123695>
- ⁹⁹Herken, H., Akyol, O., Yilmaz, H. R., Tutkun, H., Savas, H. A., Ozen, M. E., Kalenderoglu, A., & Gulec, M. (2006). Nitric oxide, adenosine deaminase, xanthine oxidase, and superoxide dismutase in patients with panic disorder: Alterations by antidepressant treatment. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, 21(1), 53-59. <https://doi.org/10.1002/hup.742>
- ¹⁰⁰Michel, T. M., Sheldrick, A. J., Camara, S., Grünblatt, E., Schneider, F., & Riederer, P. (2011). Alteration of the pro-oxidant xanthine oxidase (XO) in the thalamus and occipital cortex of patients with schizophrenia. *World Journal of Biological Psychiatry*, 12(8), 588-597. <https://doi.org/10.3109/15622975.2010.526146>
- ¹⁰¹Terpinc, P., & Abramovic, H. (2010). *Food chemistry*, 121, 366.
- ¹⁰²Itagaki, S., Kurokawa, T., Nakata, C., Saito, Y., Oikawa, S., Kobayashi, M., Hirano, T., & Iseki, K. (2009). In vitro and in vivo antioxidant properties of ferulic acid: A comparative study with other
-

natural oxidation inhibitors. *Food Chemistry*, 114, 466-471.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.073>.

¹⁰³ Alberto, M. E., Russo, N., Grand, A., & Galano, A. (2013). A physicochemical examination of the free radical scavenging activity of trolox: Mechanism, kinetics and influence of the environment. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15, 4642–4650. <https://doi.org/10.1039/C3CP43319F>.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00124

Matrícula: 2223803336

Diseño Racional de
Neuroprotectores
Derivados de la
2-(2'-hidroxifenil)
benzoxazol

En la Ciudad de México, se presentaron a las 16:30 horas del día 28 del mes de marzo del año 2025 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. JUAN RAUL ALVAREZ IDABOY
DR. JOEL IRETA MORENO
DR. HUMBERTO LAGUNA GALINDO



BRENDA CAROLINA MORALES GARCIA
ALUMNA

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS (QUÍMICA)

DE: BRENDA CAROLINA MORALES GARCIA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBI

Roman Linares Romero
DR. ROMAN LINARES ROMERO

PRESIDENTE

Juan Raul Alvarez Idaboy
DR. JUAN RAUL ALVAREZ IDABOY

VOCAL

Joel Ireta Moreno
DR. JOEL IRETA MORENO

SECRETARIO

Humberto Laguna Galindo
DR. HUMBERTO LAGUNA GALINDO