

ACADEMIA JOURNALS



OPUS PRO SCIENTIA ET STUDIUM

Humanidades, Ciencia, Tecnología e Innovación en Puebla

ISSN 2644-0903 online

Vol. 5. No. 1, 2023

www.academiajournals.com

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN AUSPICIADO POR EL
CONVENIO CONCYTEP-ACADEMIA JOURNALS



Gobierno de Puebla

Hacer historia. Hacer futuro.



**Secretaría
de Educación**
Gobierno de Puebla

CONCYTEP
Consejo de Ciencia
y Tecnología del Estado
de Puebla

Sabrina Marin Cabrera

Estudio Computacional de Derivados Cumarínicos con Propiedades Farmacológicas contra la Enfermedad de Párkinson (EP)

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Directoras: Dra. María Eugenia Castro Sánchez

Dra. Norma Angélica Caballero Concha



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESTUDIO COMPUTACIONAL DE DERIVADOS
CUMARÍNICOS CON PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS
CONTRA LA ENFERMEDAD DE PÁRKINSON (EP).

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

Licenciada en Biotecnología

PRESENTA:

Sabrina Marin Cabrera

DIRECTORAS DE TESIS:

Dra. María Eugenia Castro Sánchez

Dra. Norma Angélica Caballero Concha



Puebla, Puebla, Marzo 2022

Resumen

Estudio Computacional de Derivados Cumarínicos con Propiedades Farmacológicas contra la Enfermedad de Párkinson (EP)

por Sabrina Marin Cabrera

La enfermedad de Párkinson (EP) es la segunda enfermedad neurodegenerativa con mayor prevalencia en el mundo después de la enfermedad de Alzheimer. En México no existen cifras oficiales que informen cuántas personas viven con EP, pero se estima que esta enfermedad se presenta entre el 1 % y 2 % de la población mayor de 60 años de edad en el mundo. De acuerdo con el conteo de población y vivienda realizado en 2020 por parte del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) el 12 % de la población en México se encuentra en este grupo de edad, lo que implicaría una prevalencia aproximada de entre 151,217 y 302,434 personas con EP en México. En el Estado de Puebla, según datos de la Secretaría de Salud en 2020, su incidencia es de 5.3 por cada 100 mil habitantes y este número podría duplicarse en la próxima década. Además, la expectativa de vida se reduce en personas que padecen la EP, pues tienen riesgo de muerte dos a cinco veces mayor que una persona sana, y quienes logran superar esta expectativa tienen una baja calidad de vida debido a los efectos secundarios y a las restricciones alimenticias que deben seguir.

La investigación y desarrollo de fármacos usando las herramientas de la química computacional permite realizar estudios *in silico* con el propósito de encontrar compuestos con mayor potencia farmacológica y menor toxicidad. Al ser catalogada como un problema de salud pública, la EP debe ser tratada desde diferentes puntos de vista, por lo que en este trabajo de tesis se propone el uso de herramientas basadas en la química computacional (cálculos de estructura electrónica basados en la teoría del funcional de la densidad (DFT) y acoplamiento molecular (molecular docking)) para estudiar derivados de cumarinas como inhibidores de las enzimas MAO-A y MAO-B y proporcionar un tratamiento alternativo a los existentes, de tal forma que sea más efectivo, seguro y que no limite la dieta de los pacientes.

«Acceptance doesn't mean resignation; it means understanding that something is what it is and that there's got to be a way through it»

«Aceptación no significa resignación; significa comprender que las cosas son como son y que siempre existe una manera de afrontarlas»

Michael J. Fox

Agradecimientos

Quiero dar las gracias a todas las personas que han contribuido, directa o indirectamente, a la realización de esta tesis.

En primer lugar, quisiera agradecer a mis Directoras de Tesis, la Dra. María Eugenia Castro Sánchez y la Dra. Norma A. Caballero Concha, por la oportunidad de realizar este trabajo y por su ayuda, supervisión y buenos consejos.

Al Dr. Francisco J. Meléndez y al Dr. José Manuel Pérez porque han estado siempre dispuestos a echarme una mano y resolver mis dudas.

A mis compañeros que, aunque ya no los veo, seguimos en contacto: Jess, Adri Carbajal, Adri López, Marisel, Jose Luis, Jorge, Héctor... A ustedes les doy gracias por todos los momentos, fiestas, viajes y reuniones que tuvimos y que hicieron más amena la carrera.

A la Dra. Rocío Gámez Montaña por aceptarme en su laboratorio en la UG durante la estancia de verano del Programa Delfín. También a todos los chicos del laboratorio de Química Orgánica y los que llegaron allí: Alex, Bere, Sandy, Charly, Richi, Fidel, Aldo, Silvia, Bárbara y Alejandro. ¡Gracias por los buenos momentos en Guanajuato!

A Richi y a Vero porque ante cualquier crisis emocional con una salida y unas risas bastaba. No se imaginan cuanto los quiero.

A quienes, a la distancia, han sido mi soporte y mi escape: Carlos, Ari, Vic, Seleny, Cony, Xomi, Yos, Zai, Lexie y Jessie. De verdad gracias por todo.

A Alfonso, por creer en mí y ayudarme cuando las computadoras no cooperaban.

Por último y más importante, a mis padres, mis hermanas y a toda mi familia, los amo a cada uno por su paciencia infinita, su comprensión y el apoyo incondicional que me han dado para que pueda cumplir todos mis sueños y metas. Este logro también es suyo.

Por ustedes haría cualquier cosa.

Una tesis, por ejemplo :)

Al Laboratorio de Química Teórica de la Facultad de Ciencias Químicas, al Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México (LNS-BUAP) por las facilidades otorgadas para realizar esta investigación, a través del proyecto 201801028C titulado: “Identificación de estructuras químicas con relevancia terapéutica empleando técnicas de Docking Molecular y QSAR”.



A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado (VIEP) por la beca otorgada a través del programa Haciendo Ciencia Otoño 2018 y Primavera 2019, y a los Proyectos 100256733-VIEP 2019, 100517029-VIEP 2021 y 100392255-VIEP 2021.



Al Cuerpo Académico BUAP-CA-263 “Investigación experimental y computacional de nuevos materiales y sistemas biomoleculares” (PRODEP-SEP).



SEP
SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA

prodep
TIPO SUPERIOR

Esta investigación fue realizada gracias al apoyo del Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Puebla.

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Bioinorgánica Aplicada del Centro de Química del Instituto de Ciencias y el Laboratorio de Química Teórica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, donde se desarrollan las líneas de generación y aplicación de conocimiento (LGAC): Estudio computacional de nuevos materiales y sistemas moleculares; y Estudio experimental y computacional de mecanismos moleculares de sistemas biológicos.

Durante la elaboración de esta investigación se participó en los siguientes proyectos:

Beca otorgada por la VIEP-BUAP en el programa Haciendo Ciencia Otoño 2018 con el proyecto titulado: "Estudio computacional de fármacos utilizados para la Enfermedad de Párkinson (EP)", del 8 de octubre al 30 de noviembre de 2018. Beca otorgada por la VIEP-BUAP en el programa Haciendo Ciencia Primavera 2019 con el proyecto titulado: "Estudio de docking molecular de fármacos utilizados para la Enfermedad de Párkinson (EP)", del 1 de enero al 31 de diciembre de 2019.

El trabajo se presentó en el congreso:

En la XVIII Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica, con la presentación del cartel "Acoplamiento molecular de derivados de cumarinas con MAO-B en el tratamiento de Párkinson" que se llevó a cabo en Toluca Edo. México, del 24 al 26 de octubre de 2019.

Índice general

Resumen	I
Agradecimientos	III
1. Introducción	1
2. Antecedentes	3
2.1. Enfermedad de Párkinson	3
2.1.1. Historia	3
2.1.2. Etiología	4
2.2. Tratamiento farmacológico	5
2.3. Enzimas Monoamino Oxidasas	8
2.4. Cumarinas	9
3. Marco Teórico	11
3.1. Teoría del funcional de la densidad	11
3.2. Funciones de base	13
3.3. Propiedades electrónicas	17
3.3.1. Orbitales moleculares de frontera	17
3.3.2. Potencial electrostático molecular	17
3.3.3. Cargas atómicas	18
3.4. Acoplamiento molecular	20
4. Justificación, hipótesis y objetivos	23
4.1. Justificación	23
4.2. Hipótesis	24
4.3. Objetivos	24
5. Metodología	25
5.1. Optimización de los ligantes	25
5.2. Acoplamiento molecular	27
6. Resultados y discusión	33
6.1. Caracterización de los ligantes	33
6.2. Acoplamiento molecular	53
7. Conclusiones	69

Índice de figuras

2.1. Metabolismo neuronal de la DA. Tomada de Meiser y col., 2013.	5
2.2. Mecanismo del “efecto queso”. Traducido de Youdim y Bakhle, 2006	8
2.3. Estructura cristalográfica de las monoamino-oxidasas humanas. MAO-A a la izquierda y MAO-B a la derecha. FAD en amarillo.	9
2.4. Estructura química de las cumarinas: 1) cumarinas simples, 2) furanocumarinas, 3) piranocumarinas, 4) dicumarinas y 5) fenilcumarinas.	10
3.1. Mapa de potencial electrostático de una molécula de benceno.	18
3.2. Diagrama de un acoplamiento molecular. Tomada de Tenorio-Barajas, 2012	21
5.1. Estructura molecular y numeración de la rasagilina (Ras1 y Ras2) y la selegilina (Sel) y sus estructuras protonadas.	26
5.2. Estructuras moleculares de los compuestos cumarínicos propuestos (Cum1-Cum8).	28
5.3. Estructura cristalina de la enzima MAO-B. Los ligantes FAD y rasagilina se muestran en barras de color azul.	29
5.4. Estructura cristalina de la enzima MAO-A. Los ligantes FAD y clorgilina se muestran en barras de color azul.	30
6.1. Alineación de las diferentes estructuras de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) obtenidas con los niveles de teoría B3LYP/6-311+G(2d,2p) (P) (color azul) y B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) (color amarillo) respecto a las estructuras reportadas en las bases de datos (color rojo).	35
6.2. Alineación de las estructuras de entre los dos mínimos de las estructuras Ras1 (gris) y Ras2 (verde), que corresponden al nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).	36
6.3. Estructuras moleculares optimizadas de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) calculadas en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).	37
6.4. Estructuras moleculares optimizadas de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) protonadas, calculadas en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).	38

6.5. Orbitales frontera (HOMO y LUMO) de rasagilina (Ras1 y Ras2) calculados en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) graficados con un isovalor de 0.02 u.a.	41
6.6. Orbitales frontera (HOMO y LUMO) de rasagilina (Ras1 y Ras2) protonadas, calculados en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) graficados con un isovalor de 0.02 u.a.	42
6.7. Orbitales frontera (HOMO y LUMO) de selegilina (Sel) calculados con el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) graficados con un isovalor de 0.20 u.a.	42
6.8. Orbitales frontera (HOMO y LUMO) de selegilina (Sel) protonada, calculados con el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) graficados con un isovalor de 0.20 u.a.	43
6.9. Mapas de potencial electrostático molecular (MEP) de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) calculados con el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) graficados en el intervalo de -2.620×10^{-2} a 2.620×10^{-2} con un isovalor de 0.0004 u.a.	46
6.10. Mapas de potencial electrostático molecular (MEP) de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) protonadas, calculados con el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) graficados en el intervalo de 6.859×10^{-2} a 0.185 con un isovalor de 0.0004 u.a.	47
6.11. Estructuras moleculares optimizadas de los derivados cumarínicos (Cum1-Cum8) calculados en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).	49
6.12. Orbitales frontera (HOMO y LUMO) de los derivados cumarínicos (Cum1-Cum8) calculados en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) graficados con un isovalor de 0.02 u.a.	50
6.13. Mapas de potencial electrostático molecular (MEP) de los derivados cumarínicos (Cum1-Cum8) calculados en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) graficados en el intervalo de -5.654×10^{-2} a 5.654×10^{-2} con isovalor de 0.0004 u.a.	52
6.14. <i>Redocking</i> entre MAO-B y su ligante de cristalización, RAS3 (ligante original en cian, redocking en rojo, FAD en verde).	53
6.15. <i>Redocking</i> entre MAO-A y su ligante de cristalización, clorgilina (ligante original en cian, redocking en rojo, FAD en verde).	54
6.16. Acoplamiento molecular con MAO-B. (Cum1 - morado, Cum2 - azul, Cum3 - fucsia, Cum4 - anaranjado, Cum5 - verde, Cum6 - gris, Cum7 - borgoña, Cum8 - amarillo; Ras1, Ras2 y Sel - negro, FAD - representación de esferas).	55
6.17. Superposición de las mejores poses de cada ligante después de realizado el coplamiento molecular con MAO-A. (Cum1 - morado, Cum2 - azul, Cum3 - fucsia, Cum4 - anaranjado, Cum5 - verde, Cum6 - gris, Cum7 - borgoña, Cum8 - amarillo; Ras1, Ras2 y Sel - negro, FAD - representación de esferas).	56

6.18. Interacciones de Ras1 y el espacio de la cavidad del sustrato de MAO-B (arriba) y MAO-A (abajo).	57
6.19. Interacciones de Ras2 y el espacio de la cavidad del sustrato de MAO-B (arriba) y MAO-A (abajo).	58
6.20. Interacciones de Sel y el espacio de la cavidad del sustrato de MAO-B (arriba) y MAO-A (abajo).	59
6.21. Interacciones del compuesto Cum3 y el espacio de la cavidad del sustrato de MAO-B (arriba) y MAO-A (abajo).	60
6.22. Interacciones del compuesto Cum4 y el espacio de la cavidad del sustrato de MAO-B (arriba) y MAO-A (abajo).	61
6.23. Interacciones del compuesto Cum6 y el espacio de la cavidad del sustrato de MAO-B (arriba) y MAO-A (abajo).	62

Índice de tablas

2.1. Criterios del Banco de Cerebros de la Sociedad de Enfermedad de Parkinson del Reino Unido para el diagnóstico de la EP (Hughes y col., 1992).	6
2.2. Principales medicamentos de uso común y recomendados para el tratamiento de los síntomas motores de la EP (Rizek y col., 2016)	7
6.1. Energía total (u.a.), energía relativa (kcal/mol), momento dipolar (Debye), energía de los orbitales frontera (eV) y energía gap (eV) de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) obtenidos con los niveles de teoría B3LYP/6-311+G(2d,2p) (P) y B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).	34
6.2. Valores de RMSD para rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) obtenidos con los niveles de teoría B3LYP/6-311+G(2d,2p) (P) y B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).	34
6.3. Energía total (u.a.), energía relativa (kcal/mol), momento dipolar (Debye), energía de los orbitales frontera (eV) y energía gap (eV) de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) protonadas, obtenidos con el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).	36
6.4. Parámetros optimizados seleccionados de Ras1 y Ras 2 calculados en los niveles de teoría B3LYP/6- 311+G(2d,2p) (P) y B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) (distancias de enlace (Å) y ángulos (°)).	39
6.5. Parámetros optimizados seleccionados de Sel calculados en los niveles de teoría B3LYP/6-311+G(2d,2p) (P) y B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) (distancias de enlace (Å) y ángulos (°)).	40
6.6. Cargas de Mulliken de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) calculadas en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).	44
6.7. Cargas de Mulliken de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) protonadas, calculadas en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).	45
6.8. Energía total (u.a.), momento dipolar (Debye), energía de los orbitales frontera (eV) y energía gap (eV) de los ocho derivados cumarínicos obtenidos con el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ.	48
6.9. Cargas de Mulliken de los derivados cumarínicos (Cum1-Cum8) calculados en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).	51
6.10. Energías de afinidad de los ligantes estudiados en el acoplamiento molecular con MAO-B.	54

6.11. Energías de afinidad de los ligantes estudiados en el acoplamiento molecular con MAO-A.	55
6.12. Interacciones entre el compuesto Cum3 y las dos isoformas de MAO.	64
6.13. Interacciones entre el compuesto Cum4 y las dos isoformas de MAO.	65
6.14. Interacciones entre el compuesto Cum6 y las dos isoformas de MAO.	66

Lista de Abreviaturas

EP	Enfermedad de Párkinson
MAO-A	Monoamino Oxidasa tipo A
MAO-B	Monoamino Oxidasa tipo B
DA	Dopamina
AC	Acetilcolina
BHE	Barrera Hematoencefálica
TH	Tirosina Hidroxilasa
AADC	Aminoácido Aromático Descarboxilasa
VMAT2	Vesicular Monoamine Transporter 2
DOPAC	3,4-Dihydroxyphenylacetic Acid
HVA	Homovanillic Acid
SNC	Sistema Nervioso Central
Q	Quinona
ROs	Reactive Oxygen Species
L-DOPA	Levodopa
ICD	Impulse-Control Disease
NA	Noradrenalina
FAD	Flavín Adenín Dinucleótido
SLN	SYBYL Line Notation
CID	Compound ID
DFT	Density Functional Theory
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
MEP	Molecular Electrostatic Potential
PDB	Protein Data Bank
RMSD	Root Mean Square Deviation

*En memoria de Samuel A. Rosas Zapata
y de H. Evelia Zapata Aguilar.*

*Debí haberles hecho más preguntas
Debí haberles preguntado cómo ser
Debí haberles pedido que lo escribieran para mí
Y debí haber guardado los recibos de los lugares que visitamos
Porque cada recuerdo de ustedes me sería arrebatado*

Capítulo 1

Introducción

La química computacional estudia los procesos químicos mediante diversas herramientas de cómputo (Schleyer y col., 1998) y tiene como objetivo predecir las propiedades moleculares de sistemas químicos haciendo uso de conceptos de la fisicoquímica, la física molecular y la química cuántica, además emplea una gran variedad de técnicas y modelos teóricos en constante desarrollo (Valles y col., 2014). La química computacional permite estudiar características y propiedades que no son posibles de observar a simple vista en un laboratorio, debido a que las condiciones necesarias para desarrollar estos experimentos pueden llegar a ser complicadas de conseguir y los costos de una sola investigación llegan a incrementarse considerablemente (Martínez-Rojas & Saavedra-Amórtegui, 2017).

La química computacional está cobrando cada vez mayor importancia en la investigación y desarrollo de fármacos, pues permite realizar estudios a nivel molecular con el propósito de encontrar sustancias con mayor potencia medicinal y menor toxicidad. Los cálculos basados en la teoría del funcional de la densidad (DFT) son ampliamente utilizados por su versatilidad y precisión en la predicción de propiedades fisicoquímicas de ligantes orgánicos. Además, una de las herramientas computacionales más empleadas es el acoplamiento molecular (*molecular docking*), el cual tiene como finalidad buscar la conformación y posición óptima de un ligante dentro de un blanco molecular o la posición y conformación más favorable de dos macromoléculas (Bello y col., 2013).

En este trabajo de tesis se presenta el estudio de la estructura molecular de ocho cumarinas y su acoplamiento molecular con la enzimas monoamino oxidasa tipo A y tipo B (MAO-A y MAO-B) para analizar el efecto inhibitorio de los compuestos y proponer una alternativa más efectiva y segura que los fármacos usados actualmente en el tratamiento de la enfermedad de Párkinson (EP).

La tesis tiene la siguiente estructura:

- **Capítulo 1, Introducción**, se detalla la estructura general de la tesis.

- **Capítulo 2, Antecedentes**, se hace una revisión sobre el mecanismo de acción de la EP, sus causas, el diagnóstico y tratamientos actuales para entender mejor la naturaleza de este padecimiento. También se presentan las propiedades bioquímicas de las enzimas Monoamino Oxidasas (MAOs), así como las propiedades de las cumarinas.
- **Capítulo 3, Marco Teórico**, se explican los fundamentos y conceptos en los que se basa la metodología empleada, se revisan los conceptos básicos de la teoría del funcional de la densidad, funciones de base, propiedades electrónicas y acoplamiento molecular.
- **Capítulo 4, Justificación, hipótesis y objetivos**, se expone la motivación del trabajo, los resultados esperados y los objetivos planeados.
- **Capítulo 5, Metodología**, se describen las técnicas y herramientas computacionales empleadas a lo largo del trabajo de investigación para llegar a los resultados esperados. Se explica la optimización de la estructura molecular de los ligantes, la preparación de las moléculas receptoras y el acoplamiento molecular entre ambos.
- **Capítulo 6, Resultados**, se presentan los resultados obtenidos con la metodología descrita, discutiendo e interpretando los valores obtenidos en cada una de las técnicas computacionales utilizadas.
- **Capítulo 7, Conclusiones**, se presentan las conclusiones a las que se llegaron a partir del análisis de los resultados obtenidos, y las perspectivas de la investigación. Finalmente, se incluye la bibliografía empleada.

Capítulo 2

Antecedentes

2.1. Enfermedad de Párkinson

2.1.1. Historia

La historia del estudio de la enfermedad de Parkinson (EP) comienza cuando en 1817, el médico británico James Parkinson presenta su trabajo titulado “*An essay on the shaking palsy*” (Un ensayo sobre la p[ar]alisis temblorosa). En este ensayo describe la enfermedad como “Un movimiento tr[em]ulo involuntario, con disminuci[3n] de la fuerza muscular, en partes que no est[an] en acci3n e incluso cuando est[an] apoyadas; con propensi3n a doblar el tronco hacia adelante y dificultad para pasar de un paso de caminar a uno de carrera: los sentidos y el intelecto est[an] ilesos” (Parkinson, 1817). Tiempo despu[3s], en 1951, Wilhelm Raab encontr3 una sustancia parecida a una catecolamina en cerebros animales y humanos, la cual no era adrenalina ni noradrenalina, pues mostraba lecturas colorim[3]tricas distintas. Hoy se sabe que esa sustancia era dopamina (DA) (Raab & Gigg, 1951). Posteriormente, en 1952, Weber analiz3 cerebros de pacientes con EP para encontrar actividad de colinesterasa y encontr3 que en el putamen hab[3a] una reducci3n de la actividad enzim[3]tica (Weber, 1952). Al no conocer el trabajo de Raab, Weber no busc3 indicios del compuesto parecido a la catecolamina en los cerebros. En 1957, Carlsson demostr3 que la DA ten[3a] un papel de neurotransmisor en el cerebro y que no solo era el precursor de la norepinefrina (Carlsson, 1993). Dos a[3]os despu[3s], en 1959, Hornykiewicz y Ehringer analizaron 6 cerebros de pacientes con P[ar]kinson y 17 cerebros sin enfermedades neurol3gicas los cuales sirvieron como control. Ellos encontraron una gran p[er]dida de DA en el n[3]cleo caudado y el putamen en los 6 cerebros con EP (Ehringer & Hornykiewicz, 1960). Esto tuvo una gran importancia ya que se le atribuy3 un papel relevante a la DA en la patofisiolog[3a] de la EP idiop[3]tica (Hornykiewicz, 2006). El nombre de la enfermedad fue dado por el neurofisi3logo franc[3s] Jean Martin Charcot (Charcot, 1886).

2.1.2. Etiología

La EP es un trastorno neurológico progresivo que se caracteriza por un gran número de características motoras y no motoras que pueden impactar su función en un grado variable (Jankovic, 2008). Está asociado con el daño en el sistema dopaminérgico nigrostriatal por la pérdida de neuronas, principalmente en la sustancia nigra *pars compacta* (Mhyre y col., 2012). Se cree que este daño es causado por una combinación de factores genéticos y ambientales que conllevan a procesos de necrosis y apoptosis (Bosboom y col., 2003). Ocurre cuando hay una disminución de DA en el sistema nigroestriatal y un aumento de la actividad de la acetilcolina (AC), causando un desbalance entre estos dos neurotransmisores. La DA se sintetiza a partir de tirosina que pasa a través de la BHE y es hidroxilada mediante la acción combinada de TH y AADC y se importa en vesículas sinápticas por VMAT2 en la neurona. Las células gliares que contienen MAO-A y MAO-B absorben la DA que se escapa de las vesículas y ahí se desamina. La inhibición selectiva de una de las MAO permite que la otra metabolice la dopamina y no altere los niveles estriatales de ésta. Los principales productos de degradación de DA son DOPAC y HVA. La DA y la DOPA se pueden oxidar a sus correspondientes quinonas reactivas (Q) que reaccionan más adelante para formar compuestos parcialmente neurotóxicos. Estas toxinas y las ROS generadas por la desaminación de DA pueden causar daño celular y neurodegeneración. (Figura 2.1). La DA es el neurotransmisor responsable de transmitir señales entre la sustancia nigra y el cuerpo estriado, para producir movimientos suaves y uniformes (NIH, 2018). La pérdida de dopamina produce patrones anormales de activación nerviosa dentro del cerebro que causan deterioro del movimiento y resultando en la aparición de síntomas motores como bradicinesia, temblor en reposo, rigidez e inestabilidad postural, así como síntomas no motores como trastornos del sueño, depresión y déficits cognitivos (Rodríguez-Oroz y col., 2009).

La etiología de la enfermedad aun no está bien descrita, pero la evidencia acumulada parece indicar que el estrés oxidativo es un factor importante en el desarrollo de todas las formas de EP (Blesa y col., 2015; Dias y col., 2013). Este estrés surge al haber una desregulación de la actividad redox celular, en donde la producción de especies reactivas de oxígeno (ROs) supera el de enzimas antioxidantes endógenas (Trist y col., 2019). Otra hipótesis es la que señala como causa principal el proceso normal de envejecimiento (Gan-Or y col., 2015), así como la que dice que la EP comienza en el intestino y se propaga a través de los sistemas nerviosos simpático y parasimpático hasta la sustancia nigra y el SNC (Klingelhoefer & Reichmann, 2015).

El diagnóstico se ha formalizado según los criterios del Banco de Cerebros de la Sociedad de Enfermedad de Parkinson del Reino Unido (*UK Parkinson's Disease Society Brain Bank*), teniendo una precisión diagnóstica de hasta 90 % (Tabla 2.1).

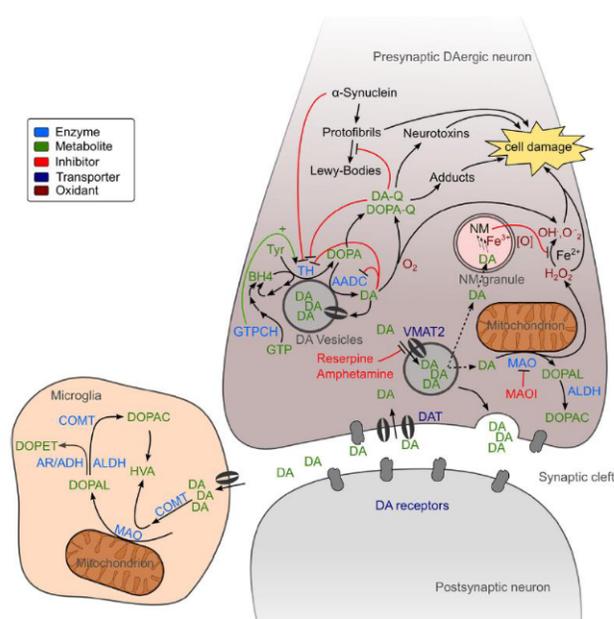


FIGURA 2.1: Metabolismo neuronal de la DA. Tomada de Meiser y col., 2013.

2.2. Tratamiento farmacológico

El primer tratamiento para la EP fue propuesto por Ordenstein con el uso de alcaloides de belladona para tratar el temblor parkinsoniano (Ordenstein, 1868).

En 1910, Henry Dale descubrió que la L-DOPA era un compuesto simpaticomimético débil similar a la epinefrina (Hornykiewicz, 2002) y posteriormente fue sintetizada por primera vez por George Barger y James Ewens en Londres, Inglaterra (Barger & Dale, 1910). En 1957, Holtz reportó por primera vez el efecto de la L-DOPA en el centro excitatorio de roedores y sugirió que la DA es el metabolito activo de la L-DOPA en el cerebro (Holtz y col., 1957). Después de esto, se demostró que al administrarla en animales de laboratorio se inhibían los efectos del síndrome parkinsoniano (Carlsson y col., 1957).

El uso de la L-DOPA como fármaco de rutina en el tratamiento para la EP se estableció hasta 1967, cuando Cotzias (Cotzias y col., 1967) introdujo el tratamiento de L-DOPA oral en altas dosis, el cual se usa en la actualidad dando buenos resultados. Desafortunadamente, el alto nivel de eficacia de la L-DOPA viene acompañado de disquinesia severa, psicosis, mareos y otros efectos no deseados (ver Tabla 2.2), sobre todo después de que el paciente ha llevado un tratamiento prolongado con este fármaco.

Actualmente, los medicamentos dopaminérgicos son el principal tratamiento contra los síntomas motores en la EP (Rizek y col., 2016). Es habitual que el inicio

TABLA 2.1: Criterios del Banco de Cerebros de la Sociedad de Enfermedad de Parkinson del Reino Unido para el diagnóstico de la EP (Hughes y col., 1992).

Paso 1: Diagnóstico del síndrome Parkinsionano

Bradiquinesia y al menos alguno de los siguientes:

- Rigidez
- Temblor en reposo (4-6 Hz)
- Inestabilidad postural

Paso 2: Exclusión de otras causas del síndrome Parkinsoniano

- Historia de traumatismo craneoencefálico repetido
- Presencia de tumor cerebral
- Características estrictamente unilaterales después de los 3 años

Paso 3: Criterios positivos prospectivos de apoyo para la EP (se requieren tres o más para el diagnóstico definitivo de EP)

- Inicio unilateral
 - Excelente respuesta a Levadopa (70 % - 100 %)
 - Desorden progresivo
 - Curso clínico de 10 años o más
-

del tratamiento se retrase hasta que el paciente presente síntomas preocupantes, esto para reducir el impacto de los efectos adversos (Zahoor y col., 2018).

Los agonistas de la DA son compuestos químicos que se unen a los receptores de dopamina cuando el neurotransmisor DA está ausente y son otro grupo de fármacos ampliamente usados en el tratamiento de la EP (Nutt & Wooten, 2005). Se clasifican en dos grupos, los agonistas ergóticos y los no ergóticos, esto es, si se derivan de la ergolina o no (Reichmann y col., 2006). Aunque su uso se asocia a una menor incidencia de complicaciones motoras comparado con la L-DOPA (Alonso y col., 2014), también se han encontrado efectos adversos graves como el riesgo de desarrollar insuficiencia valvular cardíaca, en el caso de los agonistas ergóticos (Schade y col., 2007), o de padecer ICD (trastorno de control de impulsos), en el caso de agonistas no ergóticos (Borovac, 2016).

Los inhibidores de las monoamino oxidasas (IMAOs), como rasagilina y selegilina, previenen la degradación de los neurotransmisores monoamínicos, como la dopamina, y de este modo su concentración en el cerebro aumenta (Repič y col., 2011). Se emplearon clínicamente en la década de 1950 como antidepresivos, pero dejaron de usarse debido al llamado “efecto queso”, el cual se define como la potenciación de los efectos cardiovasculares de la tiramina (u otras aminas simpaticomiméticas de acción indirecta) por inhibidores irreversibles de la MAO (Rao & Yeragani, 2009). Estos primeros inhibidores de MAO no solo tuvieron el efecto deseado de elevar los niveles de dopamina del SNC, sino que también potenciaron la acción simpaticomimética de las aminas de acción indirecta, incluida la tiramina, pues la tiramina dietética sufre una primera degradación por

TABLA 2.2: Principales medicamentos de uso común y recomendados para el tratamiento de los síntomas motores de la EP (Rizek y col., 2016)

	Mecanismo de acción	Efectos secundarios	Dosis típica
Levodopa (con carbadopa o benzerasida) (Sinemet, Levocarb, Prolopa)	Se metaboliza en dopamina	Náuseas, vomito, constipación, psicosis, alucinaciones, hipotensión y disquinesia	300-1200 mg/día
Agonistas de Dopamina (Ropinirol, Pramipexol, Rotigotina)	Estimula directamente los receptores de dopamina	Igual que el anterior, más edema de piernas, comportamiento de búsqueda de recompensas, somnolencia diurna y sueño repentino	Ropinirol: 3-24 mg/día Pramipexol: 1.5-4.5 mg/día Rotigotina: 4-8 mg/día
Inhibidores de Monoamino Oxidasa (IMAO) (Selegilina, Rasagilina)	Bloquea MAO-B para reducir la degradación de dopamina (central y periférica)	Náuseas, hipotensión, confusión y alucinaciones	Rasagilina: 0.5-1 mg/día Selegilina: 5-10 mg/día

las isoformas de MAO en la pared intestinal y luego en el hígado. La tiramina que sobrevive para entrar en la circulación sistémica es atenuada aún más por la MAO en las células endoteliales vasculares y el pulmón (Bakhle, 1990). En la neurona adrenérgica, la captación de tiramina inicia la liberación de noradrenalina, que explica los efectos simpaticomiméticos de la tiramina. La inhibición irreversible de MAO-A, la isoforma predominante en la periferia, permite que cantidades mucho mayores de tiramina ingresen a la circulación sistémica y, desde allí, a las neuronas adrenérgicas, lo que aumenta la liberación y el efecto de la noradrenalina. Por el contrario, los inhibidores reversibles de MAO-A son desplazados de la enzima por tiramina que luego es metabolizada normalmente por la enzima. Por tanto, la tiramina circulante nunca alcanza los niveles elevados que resultan de la inhibición irreversible de la MAO. Las crisis hipertensivas después del consumo de alimentos que contienen tiramina, como el queso y el vino tinto, son por lo tanto un efecto secundario peligroso de tales inhibidores (Blackwell y col., 1967) (Figura 2.2).

Desde hace algunos años, se han comenzado a investigar las propiedades inhibitorias de MAO-B, que poseen algunos productos naturales derivados de plantas,

entre los que se encuentran flavonoides, xantonas, taninos, alcaloides y cumarinas, como una alternativa a los tratamientos existentes de la EP, buscando reducir los efectos secundarios (Carradori y col., 2014; Mazziol y col., 2013; Rajput, 2010).

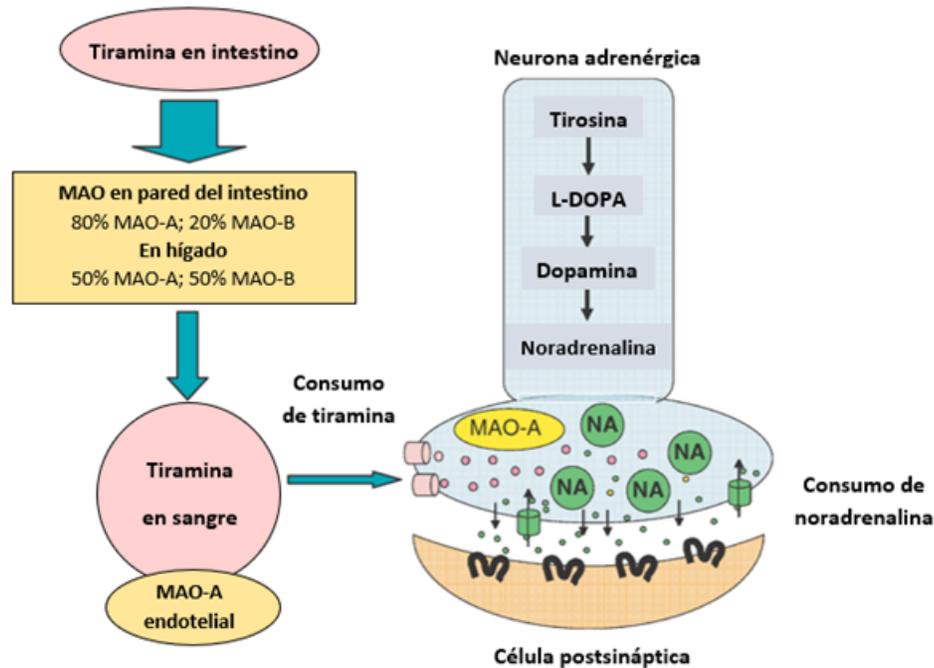


FIGURA 2.2: Mecanismo del "efecto queso". Traducido de Youdim y Bakhle, 2006

2.3. Enzimas Monoamino Oxidasas

Las MAO pertenecen a la familia de las oxidorreductasas de amina que contienen flavina y existen como dos subtipos, A (MAO-A) y B (MAO-B). Inicialmente, los subtipos de MAO se distinguían por su especificidad de sustrato e inhibidor (Youdim y col., 2006). De las monoaminas principales, la MAO-A generalmente metaboliza la serotonina, la norepinefrina, la dopamina y la tiramina. En el cerebro humano la MAO-B metaboliza principalmente la dopamina (Glover y col., 1977).

Fueron descubiertas en 1928 por Mary Hare-Bernheim cuando describió una enzima llamada tiramina oxidasa, que podía metabolizar la tiramina y en 1933 se demostró que también era capaz de metabolizar aminas primarias, secundarias y terciarias (Hare, 1928). Albert Zeller nombró a esta enzima como monoamina oxidasa mitocondrial para poder diferenciarla de la diamina oxidasa (DAO) (Zeller y col., 1965).

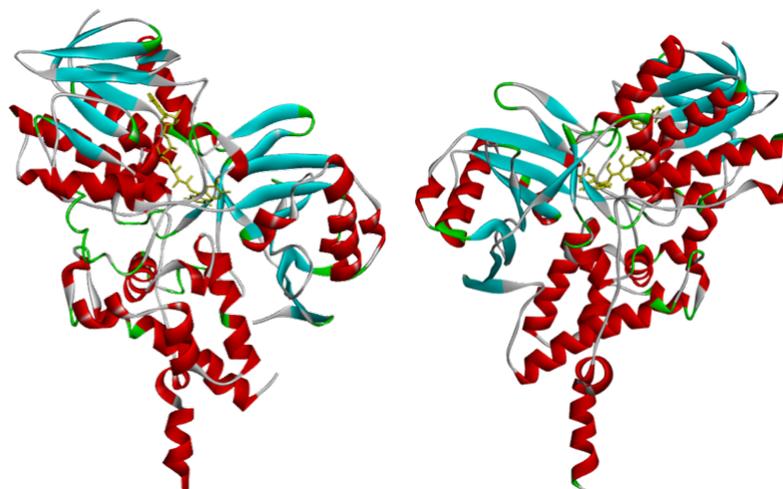


FIGURA 2.3: Estructura cristalográfica de las monoamino-oxidasas humanas. MAO-A a la izquierda y MAO-B a la derecha. FAD en amarillo.

Ambas isoformas de MAO humanas tienen pesos moleculares similares, 60 kDa para MAO-A y 58 kDa para MAO-B y están formadas por dos subunidades idénticas unidas por un puente disulfuro, asociado con un grupo FAD que actúa como cofactor (Cawthon & Breakefield, 1979) (Figura 2.3). MAO-A cristaliza bajo forma monomérica, en cambio MAO-B lo hace en forma dimérica (Lomize y col., 2012). El sitio activo de MAO-A está formado por los aminoácidos del 210 al 216 y en MAO-B está formado por los aminoácidos del 201 al 206. Están altamente conservadas en eucariotas y situadas a nivel subcelular en la membrana mitocondrial externa, ya sea en las terminales nerviosas, en el hígado, el cerebro u otros órganos (Edmondson y col., 2009). La distribución de MAO-A y MAO-B en el cerebro no es aleatoria y no necesariamente corresponde a aquella de su sustrato natural: MAO-A está a menudo presente en las neuronas catecolaminérgicas y MAO-B en las neuronas serotoninérgicas (Saura y col., 1996; Tong y col., 2013).

2.4. Cumarinas

Las cumarinas, también llamadas 1,2-benzopironas, conforman un grupo extenso de heterociclos de oxígeno que están formadas por un anillo de benceno unido a un anillo α -pirona (o δ -lactona), poseen un sistema π - π conjugado rico en electrones (Kontogiorgis & Hadjipavlou-Litina, 2003) y de las cuales se han identificado al menos 13000 (Kostova, 2005). El nombre “cumarina” se debe a que fue aislada por primera vez de las semillas de la planta *Dipteryx odorata*, a quien los habitantes locales llamaban “coumarou” (Jigar, 2019). Se encuentran como metabolitos secundarios de más de 800 especies de plantas pertenecientes a las

familias Orchidaceae, Leguminoceae, Rutaceae, Umbeliferae y Labiatae, entre otras (Murray y col., 1982).

Generalmente son solubles en alcoholes y otros disolventes orgánicos y, al ser lactonas, sufren hidrólisis con formación de sales al someterse a un medio alcalino, también muestran fluorescencia azul o morada en luz UV y presentan un espectro ultravioleta característico el cual es influenciado por sus sustituyentes (Proença da Cunha & Roque, 2005).

Se han categorizado de acuerdo a su estructura en cumarinas simples, furanocumarinas, piranocumarinas, dicumarinas y fenilcumarinas (Figura 2.4).

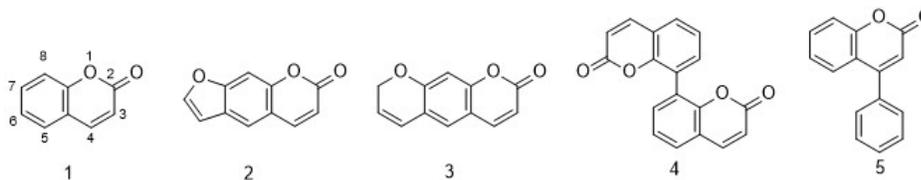


FIGURA 2.4: Estructura química de las cumarinas: 1) cumarinas simples, 2) furanocumarinas, 3) piranocumarinas, 4) dicumarinas y 5) fenilcumarinas.

La revisión de su estructura química muestra que es posible realizar sustituciones en diversos sitios y que hay muchas permutaciones posibles por sustituciones o conjugaciones, esto explica por qué tantas cumarinas son de origen natural (Hoult & Payá, 1996). El anillo cumarínico puede establecer diversos tipos de reacciones no covalentes como interacciones hidrófobas, π - π y electrostáticas, así como enlaces de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals con otras moléculas y en el sitio activo de proteínas. Además el contener oxígeno en el anillo de lactona hace a las cumarinas un buen ligante para realizar ensamblaje molecular y, por tanto, ser empleadas en el diseño y síntesis de moléculas como agentes medicinales (Matos, 2001).

En los últimos años las cumarinas han despertado un creciente interés en la investigación debido a la amplia variedad de propiedades farmacológicas que poseen (Wu y col., 2009), muchas de ellas tienen efectos anticoagulantes, antitumorales, antivirales, antiinflamatorios y antioxidantes, antimicrobianos e inhibición de enzimas (Riveiro y col., 2010).

Capítulo 3

Marco Teórico

3.1. Teoría del funcional de la densidad

La química computacional predice las propiedades de sistemas atómicos y moleculares haciendo uso de modelos matemáticos que se basan en las leyes fundamentales de la mecánica cuántica, cuya ecuación central es la ecuación de Schrödinger (Ecuación 3.1), con la cual se puede calcular la función de onda y la energía de un sistema y así determinar sus propiedades (Foresman, 1996).

$$\left[-\frac{\hbar^2}{8\pi^2m} \nabla^2 + V \right] \Psi = \frac{i\hbar}{2\pi} \frac{\partial \Psi}{\partial t} \quad (3.1)$$

Existen diferentes métodos para estudiar sistemas moleculares pero en la mayoría la resolución de sus ecuaciones resulta ser muy compleja.

Una alternativa a los métodos basados en el cálculo de la función de onda es la teoría del funcional de la densidad (DFT por sus siglas en inglés), la cual simplifica el tratamiento al determinar la función de onda y todas las propiedades electrónicas a partir de la densidad electrónica tridimensional del estado fundamental, ρ_0 (Koch & Holthausen, 2015).

La DFT se basa en los dos teoremas de Hohenberg-Kohn (HK) quienes probaron que para moléculas con un estado fundamental no degenerado, la energía molecular, la función de onda y las demás propiedades electrónicas están determinadas por la densidad de probabilidad electrónica del estado fundamental $\rho_0(x, y, z)$, la cual es una función de solo tres variables. El primer teorema de Hohenberg-Kohn afirma que la energía electrónica del estado fundamental E_0 se puede determinar si se conoce la densidad electrónica ρ_0 (Hohenberg & Kohn, 1964). Es decir, la energía es un funcional de la densidad y se expresa como:

$$E(\rho) = T(\rho) + E_{en}(\rho) + E_{ee}(\rho) \quad (3.2)$$

donde $T(\rho)$ corresponde a la energía cinética, $E_{en}(\rho)$ a la interacción núcleo-electrón y $E_{ee}(\rho)$ a la interacción electrón-electrón.

Khon y Sham consideraron un sistema de $2N$ electrones sin interactuar descrito por los orbitales ϕ_i de forma que la densidad electrónica de este sistema ($\rho_\sigma(r)$) coincida con la del sistema real ($\rho(r)$) en el que sí hay interacciones (Kohn & Sham, 1965):

$$\rho_\sigma(r) = 2 \sum_{i=1}^N |\phi_i|^2 = \rho(r) \quad (3.3)$$

Entonces, la ecuación de la energía electrónica se representa como:

$$E(\rho) = T_s(\rho) + E_{en}(\rho) + J(\rho) + E_{xc}(\rho) \quad (3.4)$$

en donde $T_s(\rho)$ es una aproximación de la energía cinética real $T(\rho)$, ya que $\rho(r)$ se aproxima mediante $\rho_\sigma(r)$ que corresponde a un sistema de N electrones sin interactuar:

$$T_s(\rho) = \sum_{i=1}^N \langle \phi_i | -\frac{1}{2} \nabla_{(1)}^2 | \phi_i \rangle \quad (3.5)$$

$J(\rho)$ es la energía de interacción de Coulomb electrón-electrón clásica. $E_{xc}(\rho)$ es el término de correlación e intercambio que engloba el resto de la energía cinética, que no se tenía en cuenta en $T_s(\rho)$ (Ecuación 3.5) por asumir un sistema de partículas independientes, además de la energía de interacción electrón-electrón no clásica:

$$E_{xc}(\rho) = T(\rho) - T_s(\rho) + E_{ee}(\rho) - J(\rho) \quad (3.6)$$

La dificultad principal en la DFT es encontrar expresiones adecuadas para el término de correlación e intercambio $E_{xc}(\rho)$, pero asumiendo que se conoce dicho funcional entonces se debe determinar el conjunto de orbitales ϕ_i que minimicen la energía con el requerimiento de que éstos sean ortogonales. Las ecuaciones resultantes se denominan ecuaciones de Khon-Sham:

$$\hat{h}_{KS}(1)\phi_1 = \left[-\frac{1}{2} \nabla_{(1)}^2 + \hat{V}_{ef}(1) \right] \phi_i = \varepsilon_i \phi_i \quad (3.7)$$

$$\hat{V}_{ef}(1) = \hat{V}_{en}(1) + 2 \sum_{i=1}^N \hat{J}_i(1) + \hat{V}_{xc}(\rho) \quad (3.8)$$

donde V_{ef} es un potencial efectivo que incluye el potencial de atracción electrón-núcleo V_{en} , el potencial de repulsión electrón-electrón clásico y el potencial de correlación e intercambio es:

$$\hat{V}_{xc}(\rho) = \frac{\delta E_{xc}}{\delta \rho(r)} \quad (3.9)$$

Debido a que $V_{ef}(1)$ depende de la densidad electrónica total, la determinación de los orbitales ϕ_i debe realizarse de forma iterativa. Si se conociera a $E_{xc}(\rho)$ con exactitud, la resolución de estas ecuaciones daría la energía exacta del estado fundamental de un sistema, incluyendo toda la correlación electrónica. Los métodos del funcional de la densidad incluyen la correlación electrónica, aunque de forma aproximada porque el funcional no es el exacto.

Existen distintos tipos de funcionales, los cuales se clasifican según las aproximaciones que se realizan para estimar el término $E_{xc}(\rho)$. El término $E_{xc}(\rho)$ se separa en dos contribuciones, la energía de intercambio y la energía de correlación:

$$E_{xc}(\rho) = E_x(\rho) + E_c(\rho) \quad (3.10)$$

Los funcionales híbridos incorporan parte de la energía de intercambio exacta de Hartree-Fock (E_x^{HF}) en el funcional de intercambio. Uno de los funcionales híbridos más empleado es el propuesto por Becke (B3) en 1993, en el que el funcional se expresa como:

$$E_{xc}^{B3} = E_x^{LDA} + a_0(E_x^{HF} - E_x^{LDA}) + a_x \Delta E_x^{LDA} + a_c \Delta E_c^{PW91} \quad (3.11)$$

donde a_0 , a_x y a_c son tres coeficientes que se obtienen a partir de un ajuste de datos experimentales termodinámicos. El funcional de correlación utilizado para el ajuste es el PW91 (Perdew y col., 1991). A menudo, este funcional de intercambio se combina con el funcional de correlación LYP, con lo que el método toma el nombre de B3LYP (Becke, 1998).

Los métodos basados en DFT son una gran alternativa para estudiar sistemas con un número elevado de electrones a un costo computacional bajo y una gran precisión para encontrar estructuras de mínima energía de moléculas orgánicas.

3.2. Funciones de base

Los métodos usados en química computacional emplean conjuntos de funciones de base que representan la función de onda electrónica y son esenciales para describir la estructura electrónica de los sistemas moleculares (Jensen, 2013). Las

funciones Gaussianas son más usadas que las funciones de tipo Slater debido a su alta eficiencia computacional y a que tienen la ventaja de que todas las integraciones necesarias para los cálculos de Combinación Lineal de Orbitales Atómicos (LCAO) se pueden realizar mediante fórmulas simples (Boys, 1950). Algunos tipos de funciones de base más utilizadas son los conjuntos de base mínima, las bases extendidas y las bases consistentes en correlación.

Funciones de base mínima

Son aquellas en las que se utiliza una sola función de base para cada orbital atómico en cada átomo que constituye el sistema. La función de base mínima más común es STO- n G, donde n es un número entero y representa el número de orbitales Gaussianos (GTO) empleados para aproximar el orbital de tipo Slater (STO) para los orbitales del núcleo y de valencia. Un orbital Gaussiano tiene la forma:

$$g_{nlm}^{GTO} = N_{\alpha} r^{n-1} e^{-\alpha r^2} Y_l^{m_l} \quad (3.12)$$

donde α es un parámetro que se puede determinar variacionalmente y N_{α} es la constante de normalización.

Un orbital de tipo Slater tiene la forma:

$$X_{nlm}^{STO} = N_{\zeta} r^{n-1} e^{-\zeta r} Y_l^{m_l} \quad (3.13)$$

en donde ζ es un parámetro que se determina variacionalmente y N_{ζ} es la constante de normalización.

Las bases más usadas son STO-3G, STO-4G y STO-6G. Tienen la ventaja de ser accesibles en cuanto los recursos computacionales que requieren pero pueden ser poco precisas (Lewars, 2003).

Funciones de base extendidas

Las bases mínimas no son lo suficientemente flexibles para una representación precisa, la cual requiere el uso de funciones múltiples para representar cada orbital atómico. Los conjuntos de base extendidas son más grandes que los de base mínima y brindan flexibilidad adicional a la descripción de los orbitales moleculares, lo que permite conocer características como la forma atómica anisotrópica y la distorsión angular (Ditchfield y col., 1971).

La distribución de la densidad electrónica de los electrones de valencia se representa mejor por la suma de dos orbitales STO con diferentes cargas efectivas. Este es un conjunto de base doble- ζ que incluye bases de valencia dividida *split-valence set* para los electrones internos y de valencia, y la combinación lineal de dos orbitales del mismo tipo, pero con diferentes cargas efectivas. Esta flexibilidad se puede usar para generar orbitales atómicos de tamaños ajustables. Así las

bases extendidas doble- ζ permiten tratar cada orbital separadamente. Las bases extendidas triple- ζ y cuádruple- ζ funcionan de la misma forma pero usan tres y cuatro orbitales STO en lugar de dos. Estas bases mejoran los resultados en precisión pero son más caros computacionalmente. Hay diferentes tipos de bases extendidas, que incluyen: las bases de valencia dividida (*split-valence*), funciones polarizadas (*polarized*) y funciones difusas (*diffused*).

Bases de valencia dividida (*split-valence*)

La notación de los conjuntos de base de valencia dividida tienen la siguiente notación N-MPG donde N es el número de funciones Gaussianas describiendo los orbitales internos. M y P designan al número de funciones Gaussianas que se usan para ajustar los dos orbitales de la capa de valencia:

- M corresponde al número de funciones Gaussianas para describir el orbital más pequeño.
- P corresponde al número de funciones Gaussianas para describir el orbital más grande.

Algunos ejemplos de bases extendidas de valencia comunes son: la base 4-21G se diseñó para un uso eficiente en optimizaciones geométricas que utilizan gradientes analíticos (Pulay y col., 1979). La base 3-21G se desarrolló para los elementos de la primera y segunda fila de elementos de la tabla periódica (Binkley y col., 1980; Gordon y col., 1982). La base 6-31G mejora el rendimiento de la base 3-21G usando un mayor tiempo computacional y su principal diferencia con ésta es que se usa un mayor número de funciones primitivas tanto para los orbitales internos como para los orbitales de valencia (Hehre y col., 1972).

Las bases 6-31G y 6-311G son unas de las bases más utilizadas. En la base 6-31G el orbital interno se representa mediante una función de seis gaussianas y los orbitales de valencia por dos funciones de 3 gaussianas y otra de 1 gaussiana. Por otro lado, en el conjunto de base 6-311G, el orbital interno se representa mediante una función de seis gaussianas y los orbitales de valencia por tres funciones de 3 gaussianas, 1 gaussiana y 1 gaussiana, respectivamente.

Funciones polarizadas

La distribución de carga de los átomos al interactuar entre ellos provoca un efecto de polarización, es decir, la carga positiva se desplaza hacia un lado mientras que la carga negativa lo hace hacia el otro, lo que distorsiona la forma de los orbitales atómicos. En este caso, los orbitales s comienzan a tener características de los orbitales p y viceversa. Estas funciones de polarización son funciones con el mismo número cuántico principal pero correspondientes a un número cuántico angular superior, para poder describir correctamente los cambios de densidad electrónica de un átomo en su entorno molecular. Este tipo de funciones se representan por un asterisco (*) al final de una función de base, esto indica que se tiene en cuenta la polarización en los orbitales p y un doble asterisco indica se tiene en cuenta la polarización para los orbitales p y s. También se puede

realizar esta notación especificando explícitamente mediante su número cuántico angular, por ejemplo, la función de base 6-31G* se denominaría 6-31G(d) y la función 6-31G** se denominaría 6-31G(d,p) (Hariharan & Pople, 1973). La función 6-31G(d) es similar a la base 6-31G pero añadiendo un conjunto de funciones de tipo d para los átomos del segundo periodo. La base 6-31G(d,p) es similar a la base 6-31G pero añadiendo un conjunto de funciones de tipo d para los átomos del segundo periodo y un conjunto de orbitales p para los átomos de hidrógeno, al igual que en la base 6-311G(d,p) (Krishnan y col., 1980). En el caso particular de este proyecto de tesis se usa la función de base 6-311+G(2d,2p) (Pople y col., 1992).

Funciones difusas

Otra adición a las funciones de base es la adición de funciones difusas. Estas funciones tienen el mismo número cuántico angular que las funciones de la capa de valencia pero son más extendidas en el espacio, es decir, son funciones gaussianas con exponentes pequeños. Estas funciones son especialmente importantes en sistemas en los que la distribución electrónica es expandida, como en los aniones. En las bases de Pople se indican por un signo más (+) y en conjuntos de base de tipo Dunning por el prefijo "aug" que viene de "aumentado". Un ejemplo es la base 6-31+G, que es como la función 6-31G pero con una función difusa s y p para los átomos pesados ($Z > 2$) o la base 6-31++G que es como la base anterior pero se añade una función difusa a los átomos de hidrógeno.

Funciones de base para métodos correlacionados

Este tipo de funciones de bases están conformadas por una función de valencia dividida y una combinación lineal de dos orbitales del mismo tipo, pero con diferentes cargas efectivas (es decir, ζ) y esta flexibilidad se puede utilizar para generar orbitales atómicos de tamaños ajustables (Dunning Jr & Hay, 1977). Dunning y cols. desarrollaron este tipo de funciones de bases para métodos correlacionados, que se conocen como bases de correlación consistente (cc), las cuales incluyen funciones con alto momento angular (d, f, g, ...), que reducen el error en la energía de correlación en 1 kcal/mol o menos (Dunning Jr, 1989).

Las funciones de base de este tipo presentan las siguientes ventajas: permiten recuperar una parte elevada de la correlación electrónica, ofrecen una mejora sistemática hacia el límite de base infinita, el aumento de la calidad de la base se traduce en una mejora sistemática del resultado. La función de base más pequeña de este tipo es cc-pVDZ, la cual es un punto de partida para diversos cálculos correlacionados. A estas bases también se les puede añadir funciones difusas, las cuales se denominan aug-cc-pVXZ. En el caso particular de este proyecto de tesis se usa la función de base cc-PVTZ (Dunning Jr, 1989).

3.3. Propiedades electrónicas

3.3.1. Orbitales moleculares de frontera

Se denominan orbitales moleculares frontera al último orbital ocupado, que recibe el nombre de HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) y al primer orbital desocupado (virtual), que recibe el nombre de LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) (Fukui, 1982). El orbital HOMO es considerado el orbital más externo que se encuentra ocupado e indica el electrón o par de electrones que más fácilmente puede donar la molécula, mientras el orbital LUMO es el orbital más interno desocupado que contiene lugares libres para aceptar electrones (Demir & Akman, 2017). Estos dos orbitales y sus energías son importantes descriptores de la reactividad de una molécula (Tathe y col., 2015). La energía gap se obtiene al calcular la diferencia de energía entre los orbitales HOMO y LUMO, y se interpreta como un indicador directo de la estabilidad cinética, es decir, una alta energía gap indica una baja reactividad química porque es energéticamente desfavorable ceder electrones a un LUMO alto o extraerlos de un HOMO con energía baja (Aihara, 1999).

3.3.2. Potencial electrostático molecular

El potencial electrostático molecular (MEP) se define como la fuerza que actúa sobre una carga de prueba positiva (un protón) en un punto $p(x,y,z)$ en las proximidades de la molécula y generado por el conjunto de núcleos y electrones de la molécula (Poltzer & Murray, 1991):

$$V(r) = \sum_A^{\text{nucleo}} \frac{Z_A}{|r - R_A|} - \int \frac{|\psi(r_i)|^2}{|r - r_i|} d\tau \quad (3.14)$$

Esta propiedad juega un papel clave en la identificación de sitios de interacción y reacción en las distintas regiones de una molécula: las especies cargadas positivamente tenderán a aproximarse y atacar químicamente en sitios donde el potencial electrostático sea fuertemente negativo (ataque electrofílico) mientras que las especies cargadas negativamente lo harán en donde el potencial sea fuertemente positivo (ataque nucleofílico) (Chattaraj, 2009). Dicho de otro modo, un valor negativo del potencial indica una atracción del protón hacia zonas donde se concentra la densidad electrónica de la molécula (pares de electrones libres, enlaces π , etc.). Y un valor positivo corresponde a la repulsión de los protones por los núcleos atómicos en las regiones de baja densidad electrónica donde la carga de los núcleos está parcialmente apantallada. Los valores de MEP mapeados en la superficie de una molécula se visualizan como una superficie roja y azul (con intermedios en verde-amarillo), donde los valores positivos son las

zonas azules y los negativos son las zonas rojas (Liu y col., 2018), como se muestra por ejemplo en la molécula de benceno (Figura 3.1).

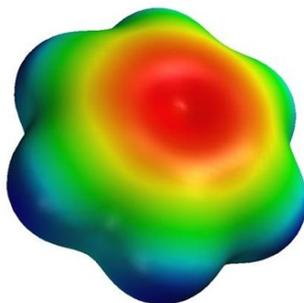


FIGURA 3.1: Mapa de potencial electrostático de una molécula de benceno.

El potencial electrostático se han convertido en una herramienta útil para proporcionar información sobre las regiones más reactivas propensas a ataques nucleofílicos o electrofílicos en una molécula, así como en la descripción cualitativa de la deslocalización electrónica (Weiner y col., 1982).

3.3.3. Cargas atómicas

Las cargas atómicas son un indicador numérico arbitrario de riqueza o pobreza de electrones y es una propiedad que no es posible determinar experimentalmente ni observar físicamente, solamente es calculable a partir de modelos teóricos basados en la partición de la densidad electrónica entre los átomos que integran la molécula, lo que se conoce como análisis poblacional (Szabo & Ostlund, 2012).

Se pueden definir las cargas atómicas dependiendo del tipo de esquema de análisis poblacional que se utilice, uno de ellos es el método de Mulliken. Las cargas de Mulliken están basadas en la densidad local de electrones, en las que para cada átomo se suman todas las contribuciones de carga electrónica de los orbitales centrados en ese átomo, y las nubes electrónicas superpuestas entre dos átomos se dividen por igual entre los dos átomos (Mao, 2014).

Para un sistema de capa cerrada de $2N$ electrones, la densidad electrónica $\rho(r)$ en un punto se expresa como:

$$\rho(r) = 2 \sum_{i=1}^N |\phi_i(r)|^2 \quad (3.15)$$

en donde N es el número de orbitales moleculares Ψ_i ocupados.

Teniendo en cuenta que los orbitales moleculares se expresan como una combinación lineal de K funciones de base:

$$\Psi_i = \sum_{\mu=1}^K C_{i\mu} \chi_{\mu} \quad (3.16)$$

La densidad electrónica está dada por la ecuación:

$$\rho(r) = 2 \sum_{i=1}^N \sum_{\mu=1}^K \sum_{v=1}^K C_{i\mu} C_{iv} \chi_{\mu}(r) \chi_v(r) = \sum_{\mu=1}^K \sum_{v=1}^K P_{\mu v} \chi_{\mu}(r) \chi_v(r) \quad (3.17)$$

donde $P_{\mu v}$ son los elementos de la matriz densidad.

Al integrar $\rho(r)$ en todo el espacio electrónico se obtiene:

$$\begin{aligned} \int \rho(r) dr &= \sum_{\mu=1}^K \sum_{v=1}^K P_{\mu v} \langle \chi_{\mu}(r) | \chi_v(r) \rangle \\ &= \sum_{\mu=1}^K \sum_{v=1}^K P_{\mu v} S_{\mu v} \\ &= 2N \end{aligned} \quad (3.18)$$

donde $S_{\mu v}$ son los elementos de la matriz densidad.

Los elementos diagonales de la matriz densidad $P_{\mu v}$ corresponden a la función χ_v y por lo tanto la densidad electrónica se centra en el núcleo que está asociado a este orbital. Sin embargo, los elementos no diagonales $P_{v\mu}$ corresponden a los orbitales que están centrados en distintos átomos.

La población asociada a estos elementos se distribuye en partes iguales entre las dos funciones. De esta forma, la población total asociada a una función χ_v se define como:

$$\rho_{\mu} = P_{\mu\mu} S_{\mu\mu} + \sum_{\mu=v}^K P_{\mu v} S_{\mu v} \quad (3.19)$$

De acuerdo con ese criterio de división de la densidad electrónica, la población atómica total sobre un átomo A se obtiene sumando todas las poblaciones de las funciones centradas en A , es decir:

$$\rho_A = \sum_{\mu \in A}^K \rho_\mu \quad (3.20)$$

con lo que la carga neta del átomo viene dada por $Z_A - q_A$:

$$q_A = Z_A - \rho_A \quad (3.21)$$

Finalmente, se define el orden de enlace como:

$$BO_{A-B} = \sum_{\alpha \in A}^{AO} \sum_{\beta \in B}^{AO} (PS)_{\alpha\beta} (PS)_{\beta\alpha} \quad (3.22)$$

La distribución de cargas obtenida es arbitraria y se debe tomar con precaución, ya que puede resultar en distribuciones de carga erróneas respecto al momento dipolar del sistema en algunas ocasiones.

Estas cargas tienen un valor semi cuantitativo y dependen en gran medida de la función de base empleada, porque son muy sensibles a la densidad de probabilidad (Mulliken, 1955a, 1955b). A pesar de esto, las cargas de Mulliken se pueden calcular fácilmente y son útiles para evaluar tendencias la contribución de tipo electrostático a la energía potencial del sistema (Carbó-Dorca & Bultinck, 2004).

3.4. Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular (*molecular docking*) es un método empleado en la química computacional que permite predecir la orientación favorable de un ligante con un receptor para formar un complejo estable, así como anticipar su orientación de unión con el fin de predecir la afinidad y la actividad (Lengauer & Rarey, 1996) (Figura 3.2). Por esto, el acoplamiento molecular ha comenzado a tener un papel importante en el diseño y descubrimiento de fármacos (Kitchen y col., 2004).

AutoDock Vina (Eberhardt y col., 2021) es un programa de acoplamiento molecular que se basa en el Algoritmo Genético Lamarkiano (LGA) como método de búsqueda de las diferentes conformaciones que puede presentar la interacción del ligante con el receptor. En este algoritmo los individuos de la población de conformaciones iniciales “mutan” al intercambiar sus parámetros conformacionales y compiten de una manera análoga a la evolución biológica en generaciones sucesivas, al finalizar solo quedan los individuos con conformaciones de energía libre mínima de acoplamiento las cuales se evalúan mediante una *función de puntuación*. Este proceso permite a las conformaciones buscar mínimos

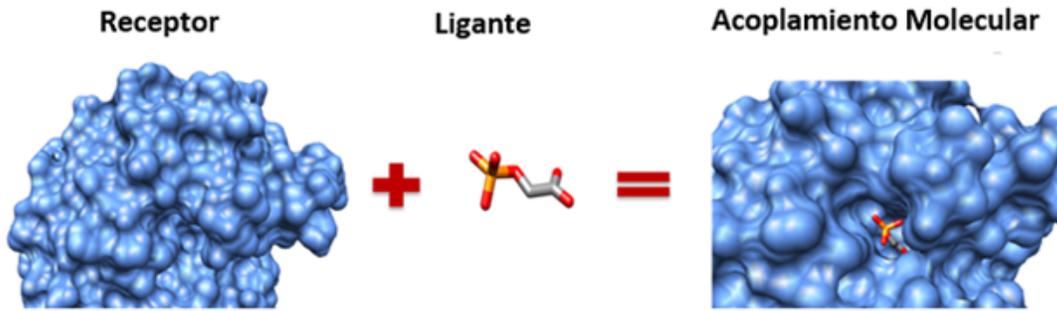


FIGURA 3.2: Diagrama de un acoplamiento molecular. Tomada de Tenorio-Barajas, 2012

locales para pasar esa información a las siguientes generaciones hasta encontrar la conformación más óptima del ligante.

Vina emplea una función de puntuación empírica que tiene en cuenta las contribuciones inter e intramoleculares y su forma general es definida como:

$$C = \sum_{i < j} f_{t_i t_j}(r_{ij}) \quad (3.23)$$

donde t_i es el tipo del átomo de índice i , r_{ij} es la distancia interatómica y la función de interacción es definida como $f_{t_i t_j}(r_{ij}) \equiv h_{t_i t_j}(d_{ij})$, donde $d_{ij} = r_{ij} - R_{t_i} - R_{t_j}$, R_t es el radio de van der Waals para el átomo de tipo t y es expresado en Å. La función $h_{t_i t_j}(d_{ij})$ es una suma ponderada de interacciones estéricas:

$$\text{gauss}_1(d) = e^{-(d/0,5)^2} \quad (3.24)$$

$$\text{gauss}_2(d) = e^{-((d-3)/2)^2} \quad (3.25)$$

$$\text{repulsin}(d) = \begin{cases} d^2, & \text{si } d < 0 \\ 0, & \text{si } d \geq 0 \end{cases} \quad (3.26)$$

$$\text{hidrofobia}(d) = \begin{cases} 1, & \text{si } d < 0,5 \\ -d + 1,5, & \text{si } 0,5 \leq d \leq 1,5 \\ 0, & \text{si } d > 1,5 \end{cases} \quad (3.27)$$

$$\text{enlaceHidrogeno}(d) = \begin{cases} 1, & \text{si } d < -0,7 \\ -\frac{10}{7}d, & \text{si } -0,7 \leq d \leq 0 \\ 0, & \text{si } d > 0 \end{cases} \quad (3.28)$$

En esta implementación, todas las funciones de interacción $f_{t;t_j}$ se cortan en $r_{ij} = 8\text{\AA}$.

El formato necesario para los archivos de entrada es *pdbqt* tanto para el receptor como para el ligante, en este tipo de archivos se encuentran las coordenadas 3D de los átomos y los datos de torsión de la estructura molecular. El archivo de salida también se encuentra en formato *pdbqt* el cual contiene también las coordenadas 3D, los datos de torsión y la información energética de las mejores poses del ligante, ordenadas por puntuación energética y por los valores de RMSD de las conformaciones respecto a la mejor conformación.

Capítulo 4

Justificación, hipótesis y objetivos

4.1. Justificación

La enfermedad de Párkinson (EP) es la segunda enfermedad neurodegenerativa con mayor prevalencia en el mundo después de la enfermedad de Alzheimer (Willis, 2013). En México no existen cifras oficiales que informen cuántas personas viven con EP, pero se estima de forma mundial que esta enfermedad se presenta entre el 1% y 2% de la población mayor de 60 años de edad. De acuerdo con el conteo de población y vivienda realizado en 2020 por parte del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, 2015) el 12% de la población en México se encuentra en este grupo de edad, lo que implicaría una prevalencia aproximada de entre 151,217 y 302,434 personas con EP en México. La incidencia que tienen en el Hospital de Especialidades del IMSS es de 40 a 50 casos por cada 100 mil habitantes (UNAM, 2019). Se ha calculado que para el año 2030 esta cifra será duplicada por lo que conlleva a un problema grave de salud pública (CSG, 2010). En el estado de Puebla, según datos de la Secretaría de Salud en 2020, su incidencia es de 5.3 por cada 100 mil habitantes y este número podría duplicarse en la próxima década. Además, la expectativa de vida se reduce en personas que padecen la EP, pues tienen riesgo de muerte dos a cinco veces mayor que una persona sana (Casamitjana y col., 2007), y quienes logran superar esta expectativa tienen una baja calidad de vida debido a los efectos secundarios y a las restricciones alimenticias que deben seguir. Por otra parte, la química computacional está cobrando cada vez mayor importancia en la investigación y desarrollo de fármacos, pues permite realizar estudios *in silico* con el propósito de encontrar compuestos con mayor potencia medicinal y menor toxicidad. Al ser catalogada como un problema de salud pública, la EP debe ser tratada desde diferentes puntos de vista, por lo que en este trabajo de tesis se propone el uso de herramientas basadas en la química computacional (cálculos de estructura electrónica basados en la teoría del funcional de la densidad (DFT) y acoplamiento molecular (*molecular docking*)) para estudiar derivados de cumarinas como inhibidores de las enzimas MAO-A y MAO-B y proporcionar un tratamiento alternativo a los existentes, de tal forma que sea más efectivo, seguro y que no limite la dieta de los pacientes.

4.2. Hipótesis

Se espera encontrar que las moléculas derivadas de cumarinas presenten una interacción selectiva con MAO-B en comparación con los fármacos más comúnmente usados en la actualidad (rasagilina y la selegilina), los cuales no son selectivos provocando efectos secundarios no deseables, entre ellos las crisis hipertensivas.

4.3. Objetivos

General

- Realizar un estudio computacional de la estructura molecular y las propiedades electrónicas de un conjunto de derivados cumarínicos para posteriormente realizar el acoplamiento molecular con las dos isoformas de la enzima MAO para analizar su posible selectividad.

Específicos

- Calcular las propiedades estructurales y electrónicas de un conjunto de derivados cumarínicos mediante métodos basados en la teoría del funcional de la densidad (DFT).
- Realizar un estudio de acoplamiento molecular entre los derivados cumarínicos seleccionados y las dos isoformas de la enzima MAO.

Capítulo 5

Metodología

5.1. Optimización de los ligantes

Moléculas control

Las estructuras moleculares de los compuestos inhibidores más comúnmente utilizados en el tratamiento para la EP, los cuales son rasagilina (Ras1) (CID: 3052776) (NCBI, 2021b) y selegilina (Sel) (CID: 26757) (NCBI, 2021a) se obtuvieron de la base de datos PubChem de *National Institutes of Health* (NIH). Adicionalmente, la estructura de rasagilina también fue obtenida de la base de datos *Protein Data Bank* (PDB) (Ras2) (PDB ID: RAU) (Berman y col., 2000). Estas estructuras fueron utilizadas como las geometrías iniciales para encontrar el mejor nivel de teoría y validar la metodología.

Se utilizó la teoría del funcional de la densidad (DFT) con el funcional B3LYP (Becke, 1998) y con dos diferentes conjuntos de base, la base 6-311+G(2d,2p) (Pople y col., 1992), la cual es una base de Pople que incluye funciones polarizadas y difusas; y la base cc-pVTZ (Dunning Jr, 1989), la cual es una base de correlación consistente de Dunning triple ζ . Se realizaron cálculos de optimización total y de frecuencias vibracionales para asegurar que las geometrías encontradas fueran mínimos de energía sobre la superficie de energía potencial. Posteriormente, a partir de ambas estructuras optimizadas se obtuvieron las energías de los orbitales frontera (HOMO y LUMO) y sus potenciales electrostáticos moleculares (MEP). También se realizó un análisis general de las cargas de Mulliken en ambos niveles de teoría. Se usaron los criterios de la energía electrónica y el valor de RMSD para validar las metodologías utilizadas. Esta metodología se aplicó de igual manera a las estructuras protonadas, pues se considera el pH fisiológico (pH 7). En la Figura 5.1 se observan las estructuras moleculares de rasagilina y selegilina, así como sus estructuras protonadas.

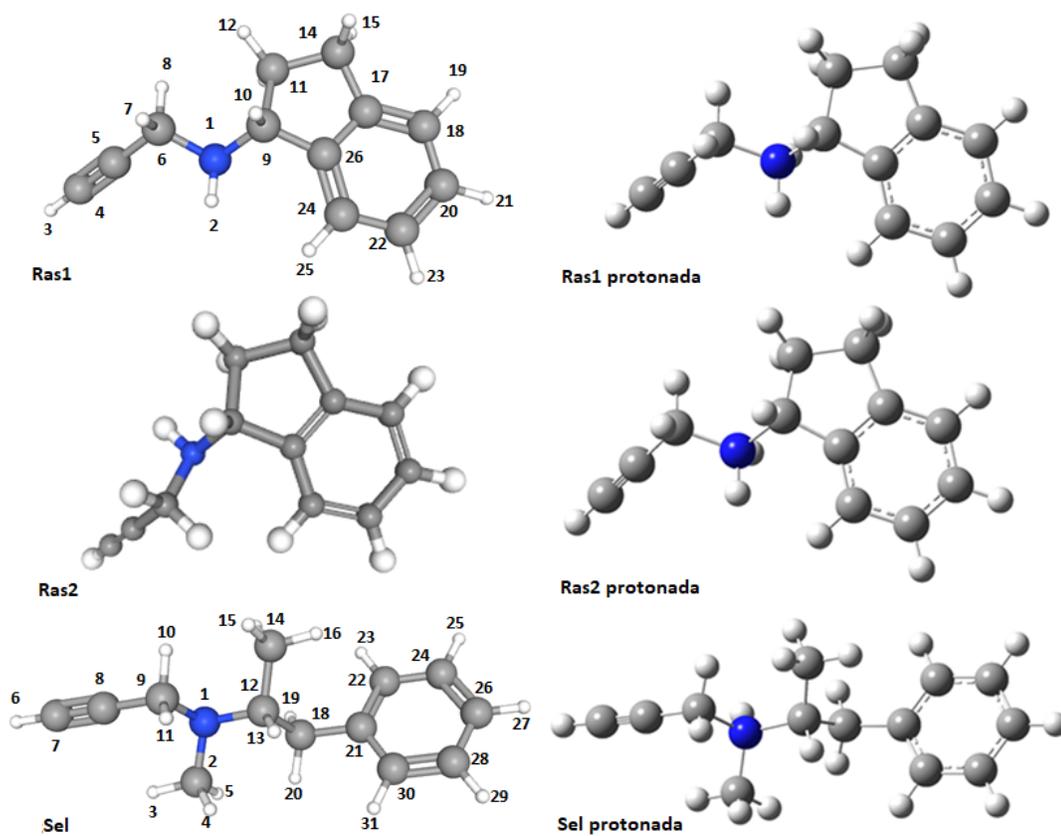


FIGURA 5.1: Estructura molecular y numeración de la rasagilina (Ras1 y Ras2) y la selegilina (Sel) y sus estructuras protonadas.

Cumarinas

Se propusieron ocho estructuras de derivados cumarínicos como inhibidores de MAO-B: 7-hidroxi-5-[(2R,3R)-3-hidroxiбутан-2-il]-6-metil-3-(2-metil-4-oxo-2,3-dihidropiran-6-il)cromen-2-ona (Cum1); 7-hidroxi-5-(3-hidroxiбутан-2-il)-6,8-dimetil-3-(2-metil-4-oxo-2,3-dihidropiran-6-il)cromen-2-ona (Cum2) (Hossain y col., 1996); (E)-7-((3-(5,5-dimetil-4-oxo-4,5-dihidrofuran-2-il)but-2-en-1-il)oxi)-2H-cromen-2-ona (Cum 3); (E)-7-((3-(5,5-dimetil-4-oxo-4,5-dihidrofuran-2-il)but-2-en-1-il)oxi)-3,4-dimetil-2H-cromen-2-ona (Cum4) (Carotti y col., 2002); 6-bromo-8-metoxi-3-fenil-2H-cromen-2-ona (Cum5); 6-bromo-8-metoxi-3-(4-metoxifenil)-2H-cromen-2-ona (Cum6) (Matos y col., 2011); S-(furan-2-ilmetil) 2-oxo-2H-cromen-3-carbotioato (Cum7); S-(furan-2-ilmetil)-6,8-dibromo-2-oxo-2H-cromen-3-carbotioato (Cum8) (He y col., 2014) (Figura 5.2). Tres de los compuestos cumarínicos propuestos son de origen natural: Cum1 y Cum2, también conocidos como monankarina A y monankarina C respectivamente, ambos metabolitos secundarios de *Monascus anka*; y Cum3 también conocido como geiparvarina, que se encuentra en las hojas de *Geijera parviflora*.

Estas moléculas se optimizaron totalmente para obtener su geometría de mínima energía y se realizó un cálculo de frecuencias vibracionales para asegurar que fueran estructuras de mínima energía sobre la superficie de potencial. Los cálculos se llevaron a cabo con el nivel de teoría B3LYP/cc-PVTZ, el cual se validó con las estructuras que se usaron como controles. De los ocho compuestos se obtuvieron las energías de los orbitales frontera (HOMO y LUMO), sus potenciales electrostáticos moleculares (MEP) y el análisis de cargas de Mulliken.

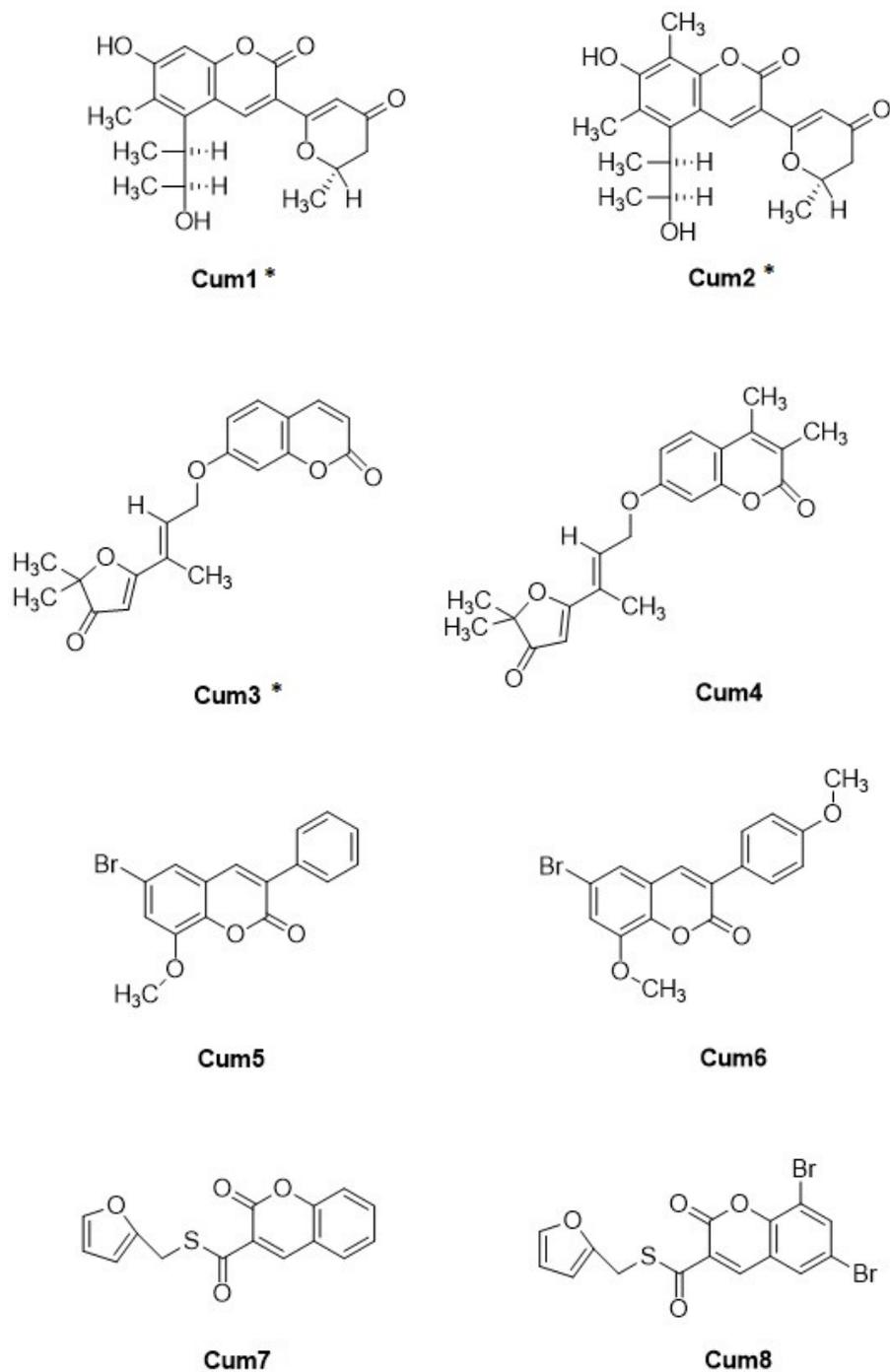
Los cálculos de estructura molecular y de las propiedades electrónicas de los ligantes se llevaron a cabo en el programa Gaussian 16 (Frisch y col., 2016). Las isosuperficies de los orbitales moleculares frontera y los potenciales electrostáticos moleculares se graficaron con el programa GaussView 6.0 (Dennington y col., 2019).

5.2. Acoplamiento molecular

Preparación de los receptores

Monoamino oxidasa B

Se obtuvo la estructura cristalina de la enzima MAO-B en complejo con rasagilina, con código de entrada PDB 1S2Q (Binda y col., 2004) (Figura 5.3), con una resolución de 2.07 Å. Al tener dos subunidades idénticas únicamente se trabajó con la cadena A. El archivo PDB fue editado de la misma manera que la proteína MAO-A, eliminando la cadena B junto con el ligante rasagilina RAS3, el cual es un inhibidor irreversible de MAO-B. El análisis de acoplamiento molecular del modelo de la estructura terciaria de MAO-A y MAO-B con todos los ligantes



* Origen natural

FIGURA 5.2: Estructuras moleculares de los compuestos cumarínicos propuestos (Cum1-Cum8).

optimizados anteriormente se realizó empleando el programa Autodock Vina (Eberhardt y col., 2021).

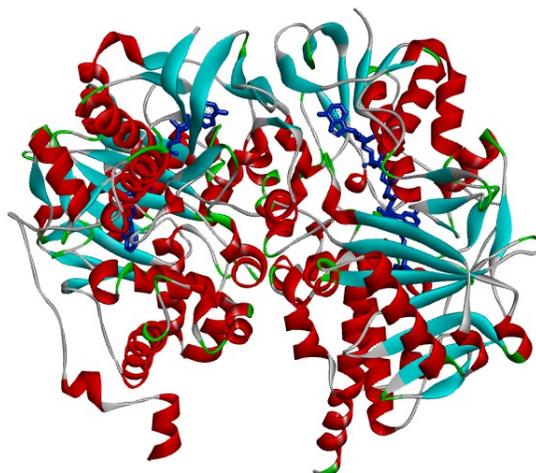


FIGURA 5.3: Estructura cristalina de la enzima MAO-B. Los ligandos FAD y rasagilina se muestran en barras de color azul.

Todas las estructuras optimizadas de los derivados cumarínicos fueron guardadas en formato PDB para poder ser usadas como *input* en el acoplamiento molecular.

Monoamino oxidasa A

Se obtuvo la estructura cristalina de la enzima MAO-A en complejo con clorgilina, con código de entrada PDB 2BXS (De Colibus y col., 2005) (Figura 5.4), con una resolución de 3.15 Å. Al tener dos subunidades idénticas, únicamente se trabajó con la cadena A. El archivo PDB fue editado con ayuda del programa UCSF Chimera (Pettersen y col., 2004) para eliminar la cadena B, y eliminar de la cadena A el ligante de cristalización, es decir, la clorgilina el cual es un inhibidor irreversible de MAO-A. También se eliminaron todos los elementos no proteicos no importantes para la función de la proteína, conservando el compuesto FAD (Flavín Adenín Dinucleótido) que tiene la función de cofactor. El compuesto clorgilina se guardó en un archivo con formato PDB para utilizarlo en la validación del docking.

Acoplamiento molecular entre los ligandos y las isoformas de la enzima MAO

Se prepararon los ligandos en Autodock Tools (Morris y col., 2009) agregando cargas atómicas de tipo Gasteiger y dejando libres todos los enlaces detectados como rotables. Posteriormente se guardaron en un archivo con formato PDBQT.

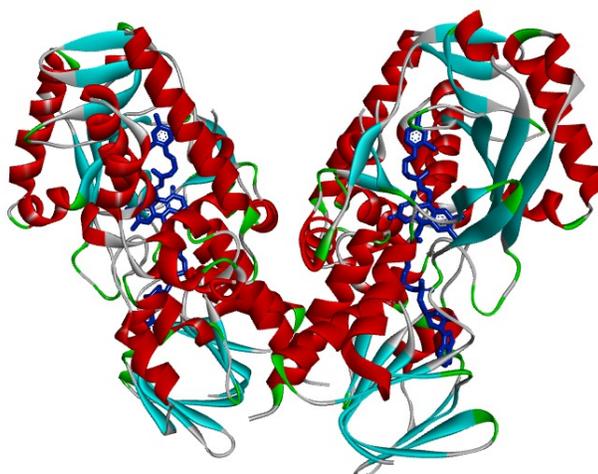


FIGURA 5.4: Estructura cristalina de la enzima MAO-A. Los ligandos FAD y clorgilina se muestran en barras de color azul.

Delimitación del sitio de búsqueda

Un punto importante para la realización del acoplamiento con AutoDock Vina (Eberhardt y col., 2021) es la identificación del sitio de unión al sustrato de la enzima, ya que se debe delimitar una zona de búsqueda donde el programa buscará la conformación de menor energía para el sustrato. En este caso se seleccionaron las cavidades donde se encontraban acoplados los ligandos co-cristalizados de cada isoforma de MAO.

Delimitación del GRID

Una vez delimitado el sitio de búsqueda se procede a generar el GRID el cual consiste en una red tridimensional de puntos regularmente espaciados, que rodean (total o parcialmente) y se centran en alguna región de interés de la macromolécula en estudio. El usuario debe especificar el tamaño de la llamada GRID box en cada dimensión, X, Y y Z en un archivo *txt*, así como sus coordenadas de acuerdo a la delimitación del sitio de búsqueda y los archivos *pdbqt* que se usan como receptor y como ligante.

Las especificaciones para MAO-B son:

```
receptor = maoB.pdbqt  
ligand = CumN.pdbqt
```

```
center_x = 50.944  
center_y = 154.889  
center_z = 25.778
```

```
size_x = 30  
size_y = 30  
size_z = 30
```

De manera similar, las especificaciones para MAO-A son:

```
receptor = maoA.pdbqt  
ligand = CumN.pdbqt
```

```
center_x = 9.661  
center_y = 125.999  
center_z = 52.222
```

```
size_x = 30  
size_y = 30  
size_z = 30
```

Al término de cada fase se analizaron las energías de afinidad así como la mejor pose de cada ligante.

La metodología anteriormente descrita se aplicó para ambos receptores, es decir para MAO-B y MAO-A.

Capítulo 6

Resultados y discusión

6.1. Caracterización de los ligantes

Moléculas control

Se llevaron a cabo cálculos de optimización total y frecuencias vibracionales de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) en los niveles de teoría B3LYP/6-311+G(2d,2p) (P) y B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).

La Tabla 6.1 resume los resultados de energía total, energía relativa, momento dipolar, energías de los orbitales HOMO y LUMO, así como las energías gap. De los resultados se puede observar que con el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) se obtienen las estructuras de menor energía de las 3 moléculas por 20 kcal/mol aproximadamente, respecto al nivel de teoría B3LYP/6-311+G(2d,2p) (P). La diferencia de energía entre los mínimos Ras1 y Ras2 es de 1.7×10^{-3} kcal/mol. Los cálculos de frecuencias vibracionales indicaron que las estructuras encontradas en ambos métodos fueron estructuras correspondientes a mínimos globales sobre la superficie de energía potencial, obteniendo todos los valores positivos de las frecuencias vibracionales. Las energías de los orbitales HOMO fueron mayores, mientras los orbitales LUMO fueron menores para el nivel de teoría (D), lo cual aporta energías gap ligeramente menores que favorecen la interacción donador-aceptor.

Se comparan las geometrías optimizadas obtenidas con ambos niveles de teoría con respecto a la geometría reportada experimentalmente para las tres moléculas utilizando el programa VMD (Humphrey y col., 1996).

Los valores de RMSD considerando todos los átomos se muestran en la Tabla 6.2 para ambas moléculas. Los resultados indican que para la rasagilina la estructura obtenida en el nivel de teoría (P) es ligeramente más cercana a la estructura experimental. Para el caso de la selegilina, la estructura más cercana también corresponde al nivel de teoría (P).

TABLA 6.1: Energía total (u.a.), energía relativa (kcal/mol), momento dipolar (Debye), energía de los orbitales frontera (eV) y energía gap (eV) de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) obtenidos con los niveles de teoría B3LYP/6-311+G(2d,2p) (P) y B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).

Nombre	Energía (u. a.)	Energía relativa (kcal/mol)	Momento dipolar (Debye)	HOMO (eV)	LUMO (eV)	Gap (eV)
Ras1 (P)	-519.9346	20.08	1.206	-0.238	-0.024	0.214
Ras1 (D)	-519.9666	0.00	1.166	-0.237	-0.025	0.212
Ras2 (P)	-519.9363	20.08	1.488	-0.236	-0.021	0.215
Ras2 (D)	-519.9683	0.00	1.449	-0.236	-0.022	0.214
Sel (P)	-560.4570	21.27	0.860	-0.229	-0.019	0.210
Sel (D)	-560.4909	0.00	0.821	-0.229	-0.020	0.209

TABLA 6.2: Valores de RMSD para rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) obtenidos con los niveles de teoría B3LYP/6-311+G(2d,2p) (P) y B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).

Nombre	RMSD	Nombre	RMSD	Nombre	RMSD
Ras1	0.0	Ras2	0.0	Sel	0.0
Ras1 (P)	0.1898	Ras2 (P)	0.4475	Sel (P)	0.2654
Ras1 (D)	0.1918	Ras2 (D)	0.4481	Sel (D)	0.2754

La Figura 6.1 muestra la comparación de las estructuras calculadas respecto a las estructuras reportadas experimentalmente. La Figura 6.2 muestra la comparación entre los dos mínimos de las estructuras Ras1 y Ras2. Se observa que hay una diferencia importante entre ambas estructuras con un RMSD de 3.5702 de Ras1 respecto a Ras2. Los valores de la desviación media cuadrática (RMSD, Root mean standar deviation) se obtienen mediante la ecuación:

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N [(\chi_i - \chi'_i)^2 + (y_i - y'_i)^2 + (z_i - z'_i)^2]} \quad (6.1)$$

donde N es el número de átomos del sistema y (x,y,z) son las coordenadas de los átomos de la estructura de referencia (datos de la estructura cristalina experimental) y (x',y',z') son las coordenadas del sistema calculado.

En la Figura 6.3 se observan las estructuras optimizadas de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel), en fase gas obtenidas en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D), el cual aportó las estructuras energéticamente más estables de acuerdo a los resultados presentados en la Tabla 6.1. En la Tabla 6.3 se muestran los resultados de la energía total, energía relativa, momento dipolar, energías de los orbitales HOMO y LUMO y las energías gap de las estructuras protonadas de

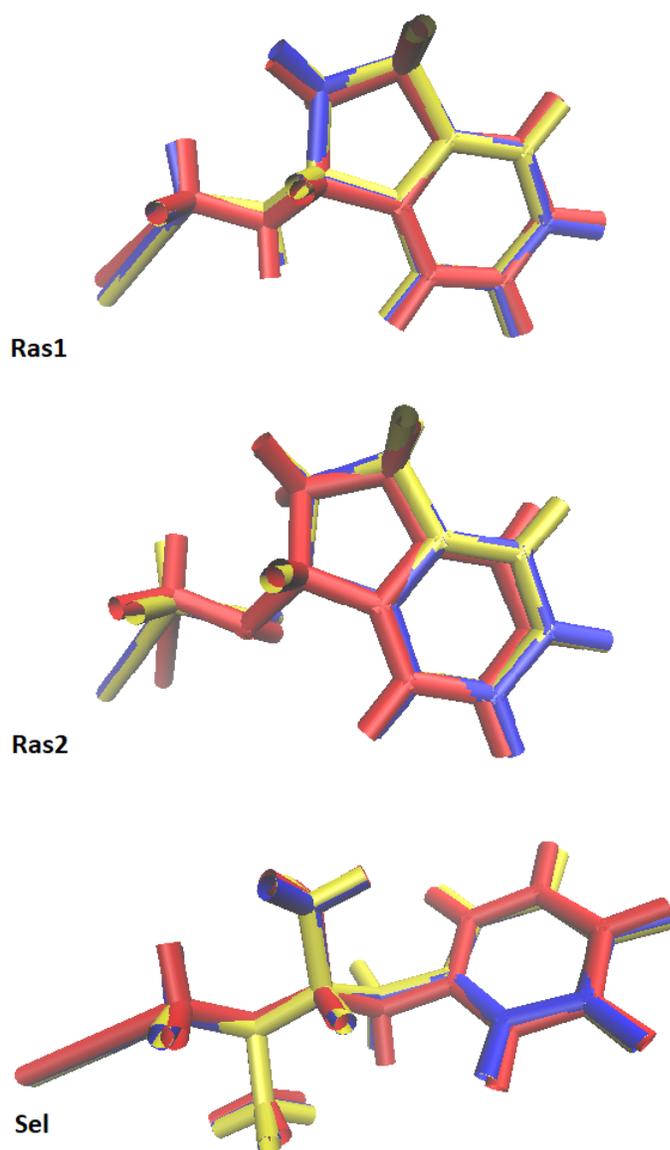


FIGURA 6.1: Alineación de las diferentes estructuras de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) obtenidas con los niveles de teoría B3LYP/6-311+G(2d,2p) (P) (color azul) y B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) (color amarillo) respecto a las estructuras reportadas en las bases de datos (color rojo).

Ras1, Ras 2 y Sel obtenidas en el nivel de teoría (D). En general, los sistemas protonados mostraron valores de energía más bajos respecto a las estructuras sin protonar. Los valores del gap son similares a las estructuras sin protonar. En la Figura 6.4 se muestran las estructuras optimizadas de los controles protonados.

En las Tablas 6.4 y 6.5 se resumen los parámetros optimizados (distancias de

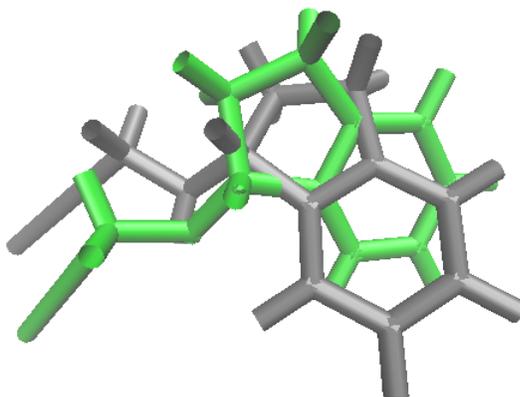


FIGURA 6.2: Alineación de las estructuras de entre los dos mínimos de las estructuras Ras1 (gris) y Ras2 (verde), que corresponden al nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).

TABLA 6.3: Energía total (u.a.), energía relativa (kcal/mol), momento dipolar (Debye), energía de los orbitales frontera (eV) y energía gap (eV) de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) protonadas, obtenidos con el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).

Nombre	Energía (u. a.)	Energía relativa (kcal/mol)	Momento dipolar (Debye)	HOMO (eV)	LUMO (eV)	Gap (eV)
Ras1 protonada (D)	-520.3437	0.00	5.094	-0.380	-0.170	0.210
Ras2 protonada (D)	-520.3437	0.00	380.820	-0.380	-0.170	0.210
Sel protonada (D)	-560.8730	0.00	7.6371	-0.363	-0.156	0.207

enlace, ángulos de enlace y ángulos diedros) más representativos de Ras1, Ras2 y Sel, así como los valores de RMSD para cada uno de ellos. En los tres casos se observan valores de RMSD pequeños para las distancias de enlace de menos de 1.0 Å, de 1.25 a 3.0° en los ángulos de enlace y las mayores desviaciones se observaron en los ángulos diedros con valores de 5.6 a 9.2°.

En la Figura 6.5 se muestran las distribuciones de los orbitales moleculares frontera para Ras1 y Ras2, mientras que la Figura 6.6 muestra las distribuciones de los orbitales moleculares frontera para las moléculas protonadas. Se observa que para Ras1 el orbital HOMO está mayormente localizado en la zona donde se encuentra el átomo de nitrógeno N1 y la parte cíclica de la molécula y para Ras1 protonada solo se encuentra en la parte cíclica dejando libre el átomo de nitrógeno N1, lo que se atribuye al cambio de densidad electrónica sobre el átomo de nitrógeno al protonarse. El orbital LUMO para Ras1 tiene contribuciones de los enlaces aromáticos de la parte cíclica y algunas contribuciones del sustituyente lineal $-C-C\equiv H$ del grupo propargilamina, en el caso de Ras1 protonado el orbital LUMO se encuentra prácticamente en distribuido en toda la molécula.

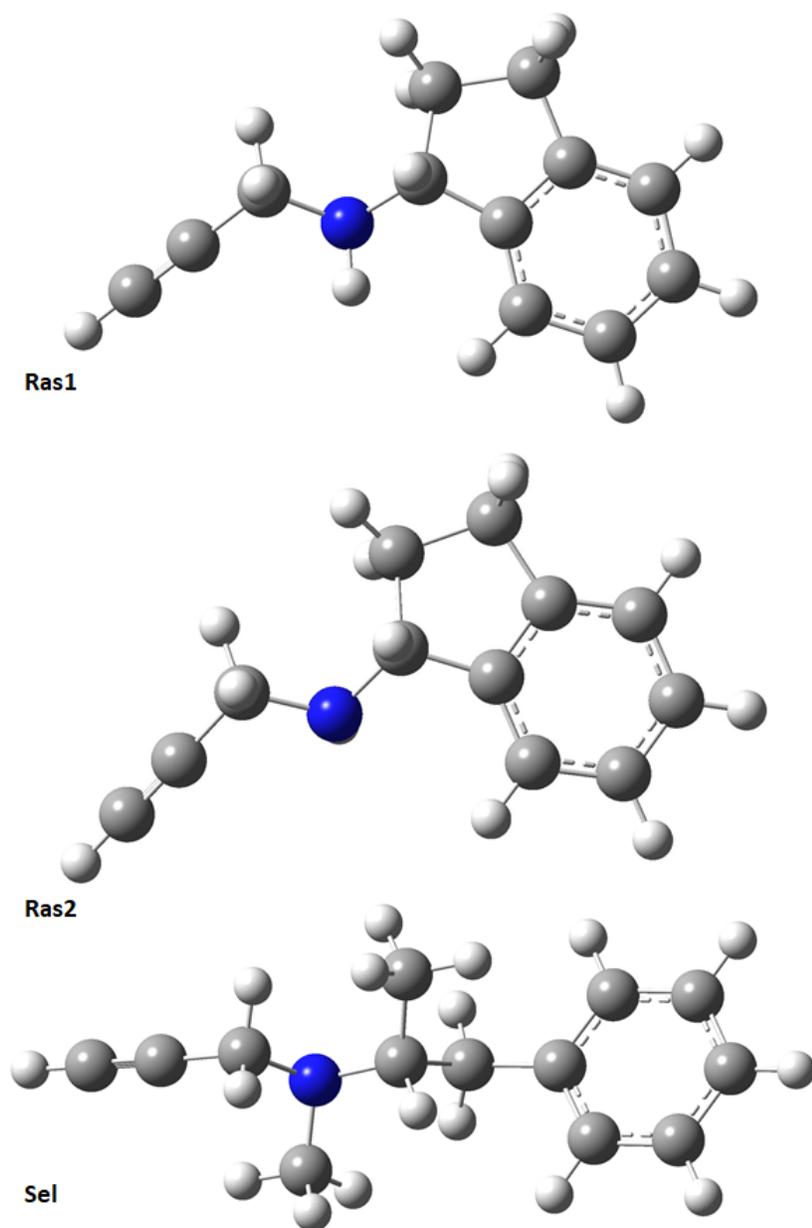


FIGURA 6.3: Estructuras moleculares optimizadas de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) calculadas en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).

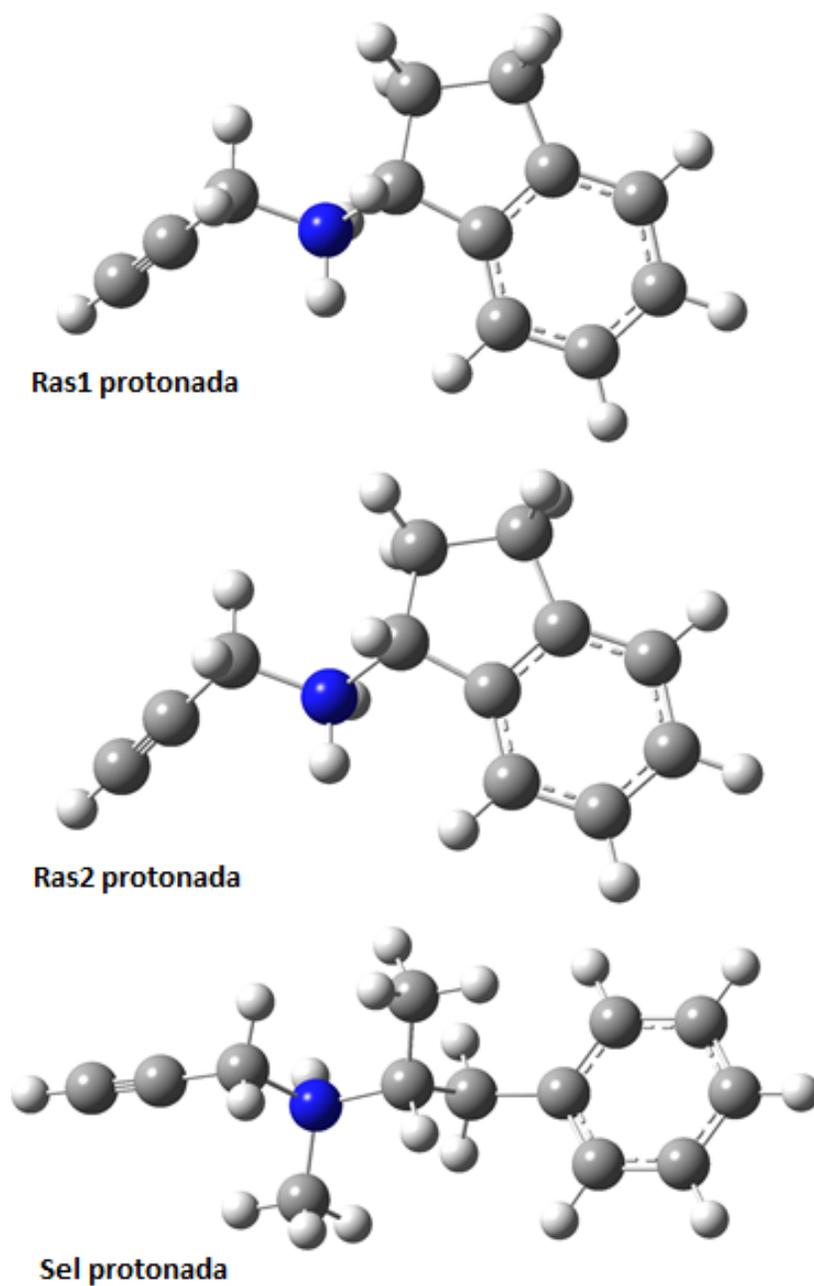


FIGURA 6.4: Estructuras moleculares optimizadas de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) protonadas, calculadas en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).

TABLA 6.4: Parámetros optimizados seleccionados de Ras1 y Ras 2 calculados en los niveles de teoría B3LYP/6-311+G(2d,2p) (P) y B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) (distancias de enlace (Å) y ángulos (°)).

Parámetros	Ras1	Ras1 (P)	Ras1 (D)	Ras2	Ras2 (P)	Ras2 (D)
N1 C9	1.454	1.463	1.461	1.455	1.459	1.457
N1 C6	1.457	1.466	1.465	1.467	1.465	1.463
N1 H2	1.020	1.012	1.011	1.000	1.014	1.014
C9 C11	1.543	1.549	1.548	1.515	1.558	1.557
C9 C26	1.503	1.515	1.514	1.414	1.516	1.515
C9 H10	1.099	1.105	1.106	1.100	1.097	1.098
C11 C14	1.537	1.544	1.544	1.506	1.545	1.544
C11 H12	1.095	1.090	1.089	1.100	1.089	1.089
C11 H13	1.100	1.091	1.091	1.100	1.093	1.094
C14 C17	1.497	1.510	1.509	1.380	1.513	1.509
C14 H15	1.095	1.095	1.095	1.100	1.094	1.095
C14 H16	1.094	1.090	1.091	1.100	1.090	1.090
C26 C17	1.402	1.395	1.394	1.340	1.394	1.394
C26 C24	1.387	1.389	1.388	1.334	1.390	1.388
RMSD		0.007	0.007		0.061	0.060
C9 N1 C6	111.02	113.16	113.35	117.26	114.24	114.46
C9 N1 H2	109.22	110.27	110.52	107.47	110.30	110.57
C6 N1 H2	108.90	108.94	109.23	107.51	109.93	110.24
N1 C6 C11	111.10	112.89	112.99	114.74	117.81	117.81
N1 C9 C17	114.85	113.28	113.30	108.06	112.52	112.58
N1 C9 H10	111.28	110.41	110.45	109.09	106.14	106.19
C11 C9 C17	100.78	102.74	102.70	106.82	102.42	102.40
C11 C9 H10	110.43	108.86	108.75	108.34	108.94	108.85
C17 C9 H10	107.90	108.29	108.27	109.70	108.79	108.77
C9 C11 C14	106.18	105.50	105.43	98.68	105.31	105.29
C9 C11 H12	112.93	113.05	113.03	112.09	113.22	113.22
C9 C11 H13	110.65	107.50	107.48	112.12	108.21	108.25
C14 C11 H12	111.34	112.67	112.67	112.12	112.80	112.81
C12 C11 H13	108.38	109.87	109.91	112.08	109.50	109.51
RMSD		1.25	1.28		3.00	3.00
C6 N1 C9 C11	-66.01	-75.58	-75.40	-45.11	-65.76	-65.98
C6 N1 C9 C26	179.56	168.17	168.32	164.15	175.44	175.18
C6 N1 C9 H10	57.48	46.53	46.67	76.64	56.56	56.26
H2 1N C9 C11	173.88	162.12	161.61	76.02	58.66	59.23
H2 1N C9 C26	60.33	45.87	45.33	-43.02	-60.14	-59.60
H2 1N C9 C10	-62.62	-75.77	-76.33	-162.23	-179.02	-178.52
C9 N1 C6 C5	179.43	171.11	171.05	155.49	178.57	178.61
C9 N1 C6 H7	-59.52	-48.72	-48.67	-85.77	-61.65	-61.47
C9 N1 C6 H8	59.86	68.67	68.62	36.72	55.92	56.04
H2 1N C6 C5	-60.27	-48.07	-47.34	34.38	53.96	53.22
H2 1N C6 H7	60.77	74.32	75.03	153.12	173.74	173.15
H2 1N C6 C8	-179.85	-168.30	-167.68	-84.39	-68.70	-69.35
1N C9 C11 C14	-153.62	-148.28	-148.52	-143.68	-150.29	-150.51
1N C9 C11 C12	84.10	88.17	87.99	98.10	86.03	85.81
RMSD		5.61	5.68		9.19	9.15

TABLA 6.5: Parámetros optimizados seleccionados de Sel calculados en los niveles de teoría B3LYP/6-311+G(2d,2p) (P) y B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) (distancias de enlace (Å) y ángulos (°)).

Parámetros	Sel	Sel (P)	Sel (D)
N1 C12	1.466	1.482	1.479
N1 C9	1.462	1.469	1.468
N1 C2	1.462	1.463	1.460
C12 C18	1.540	1.551	1.551
C12 C14	1.529	1.530	1.529
C12 H13	1.100	1.103	1.103
C18 C21	1.510	1.512	1.510
C18 C19	1.099	1.091	1.091
C18 C20	1.095	1.089	1.090
C14 H15	1.095	1.089	1.089
C14 H16	1.096	1.091	1.092
C14 H17	1.092	1.088	1.088
C21 C22	1.385	1.396	1.396
C21 C30	1.386	1.398	1.398
RMSD		0.007	0.006
C12 N1 C9	110.31	113.74	114.05
C12 N1 C2	110.30	111.82	111.93
C9 N1 C2	110.58	109.66	109.89
N1 C12 C18	109.51	109.29	109.30
N1 C12 C19	108.36	113.19	113.36
N1 C12 H20	110.40	109.28	109.27
C18 C12 C14	112.51	109.24	109.18
C18 C12 H13	108.38	108.00	107.98
C14 C12 H13	107.67	107.71	107.62
C12 C18 C21	113.62	114.35	114.35
C12 C18 H19	110.31	107.75	107.77
C12 C18 H20	112.38	109.57	109.43
C21 C18 H19	109.13	110.12	110.14
C21 C18 H20	105.41	108.36	108.40
RMSD		1.93	1.96
C9 N1 C12 C18	-179.40	-163.02	-161.74
C9 N1 C12 C14	-57.54	-41.03	-39.71
C9 N1 C12 H13	60.15	78.99	80.30
C2 N1 C12 C18	56.95	72.10	72.71
C2 N1 C12 C14	-179.99	-165.91	-165.26
C2 N1 C12 H13	-62.31	-45.89	-45.24
C12 N1 C9 C8	177.67	171.72	171.45
C12 N1 C9 H11	-59.43	-65.66	-65.91
C12 N1 C9 H10	61.57	52.36	52.04
C2 N1 C9 C8	-60.04	-62.25	-61.94
C2 N1 C9 H11	62.85	60.37	60.69
C2 N1 C9 H10	176.14	178.39	178.65
C12 N1 C7 H5	-72.98	-60.26	-59.36
C12 N1 C7 H6	-171.69	-178.83	-178.07
RMSD		8.88	9.04

En el caso de Ras2 la localización de los orbitales HOMO y LUMO es muy similar a la de la Ras1, de igual manera la localización de los orbitales moleculares en Ras2 protonado es similar a la de Ras1 protonado.

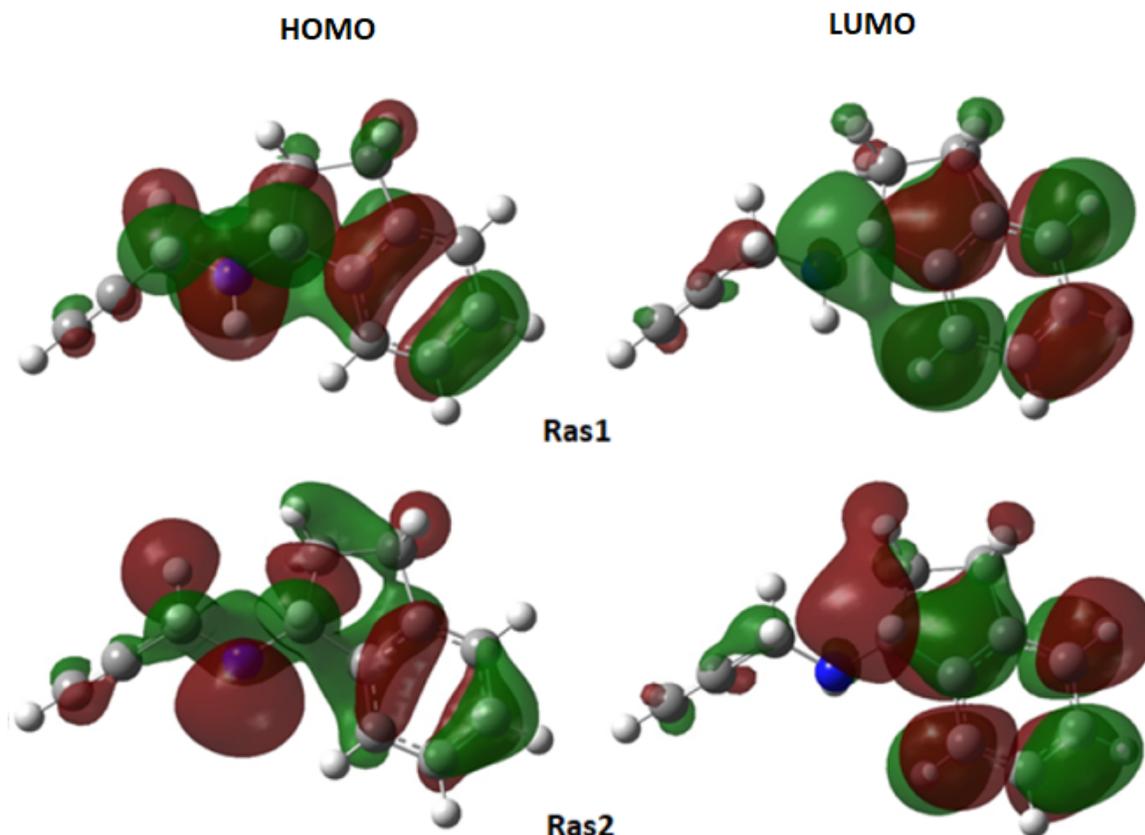


FIGURA 6.5: Orbitales frontera (HOMO y LUMO) de rasagilina (Ras1 y Ras2) calculados en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) graficados con un isovalor de 0.02 u.a.

Para Sel el orbital HOMO está localizado en la parte del sustituyente lineal y en la amina terciaria, mientras el LUMO se encuentra localizado en el anillo aromático como se muestra en la Figura 6.7. Para Sel protonada, en la Figura 6.8 se muestran las distribuciones de los orbitales moleculares frontera, las cuales son muy similares a las de Sel sin protonar.

La Figura 6.9 muestra los potenciales electrostáticos moleculares (MEP) para las tres moléculas. Estas superficies muestran el potencial electrostático molecular mapeado sobre la densidad electrónica total. El código de colores indica que las zonas en color rojo tienen concentración de carga negativa, mientras que las regiones azules indican carga positiva. Las regiones de amarillo a verde indican

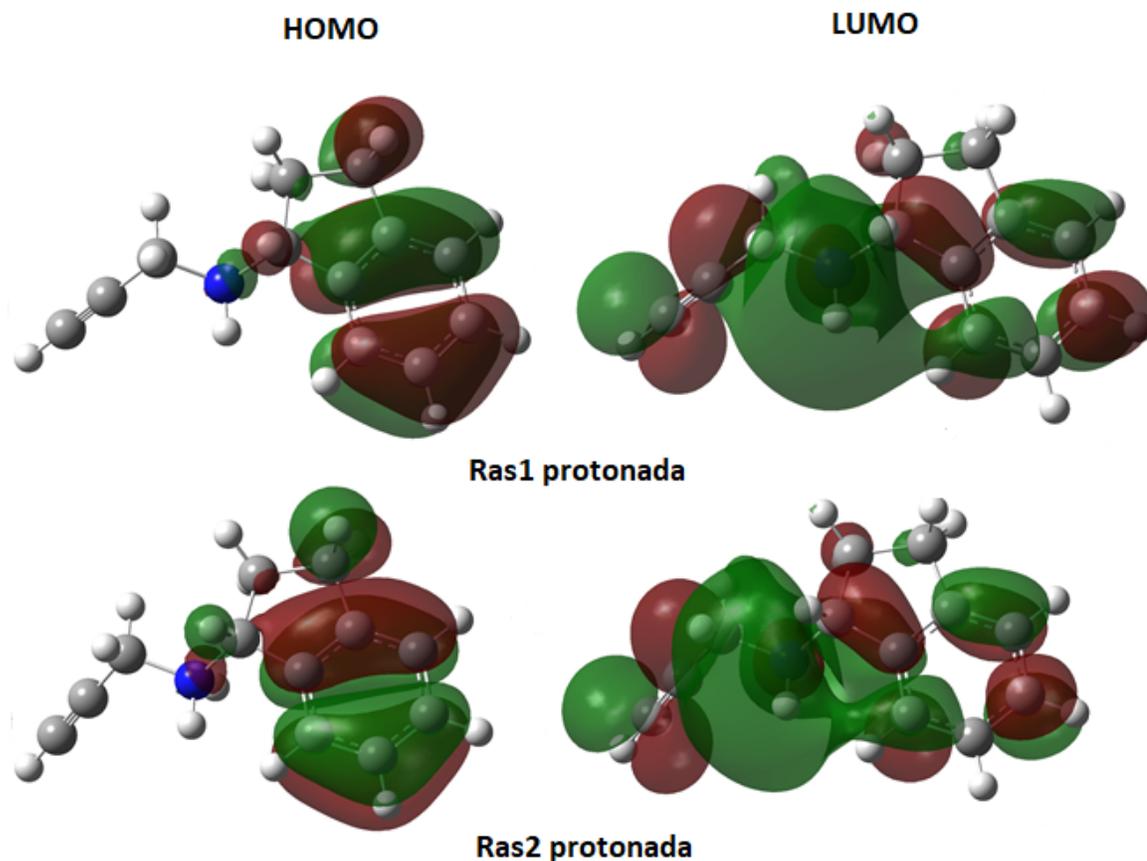


FIGURA 6.6: Orbitales frontera (HOMO y LUMO) de rasagilina (Ras1 y Ras2) protonadas, calculados en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) graficados con un isovalor de 0.02 u.a.

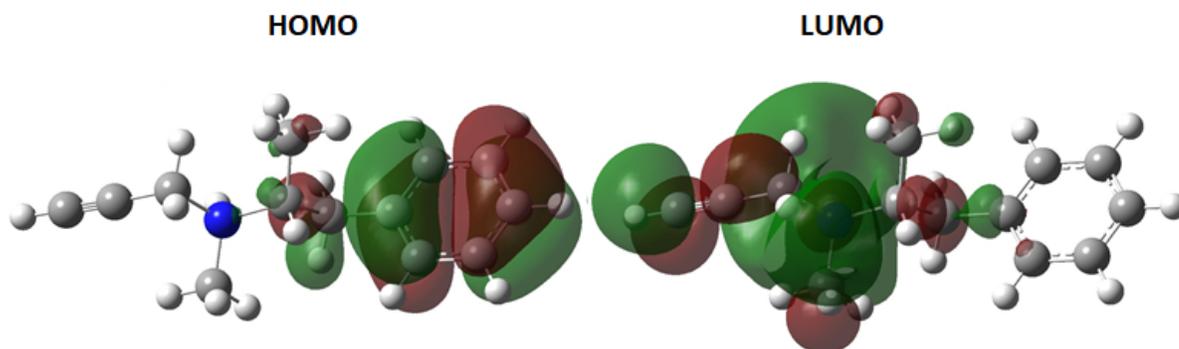


FIGURA 6.7: Orbitales frontera (HOMO y LUMO) de selegilina (Sel) calculados con el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) graficados con un isovalor de 0.20 u.a.

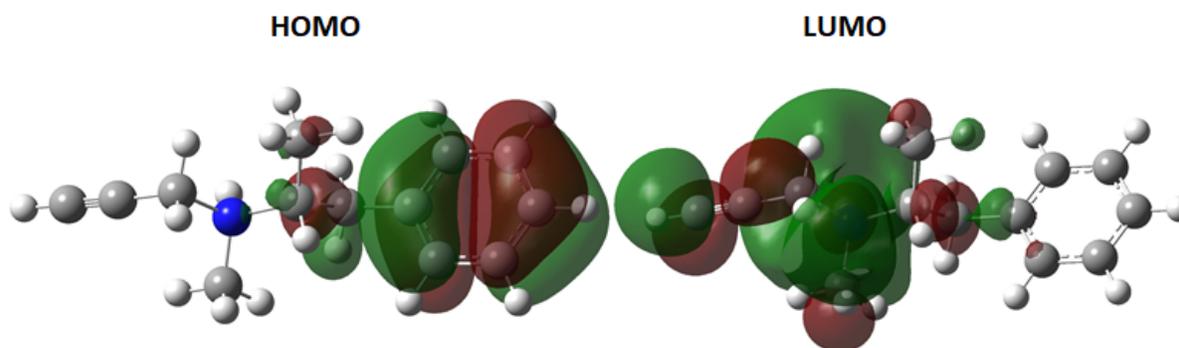


FIGURA 6.8: Orbitales frontera (HOMO y LUMO) de selegilina (Sel) protonada, calculados con el nivel de teoría B3LYP/ aug-cc-pVTZ (D) graficados con un isovalor de 0.20 u.a.

valores intermedios. En estos sistemas las zonas con carga negativa están localizadas donde se encuentra el átomo de nitrógeno N1 y las positivas en donde se encuentran los átomos de hidrógeno terminales del grupo propargilamina. En la Figura 6.10 se representan los potenciales electrostáticos moleculares (MEP) para las tres moléculas protonadas. En estos sistemas la localización de las zonas con carga positiva cambia a donde se encuentra el átomo de nitrógeno protonado. Estas zonas rojas y azules corresponden a los valores más negativos y positivos de las cargas de Mulliken resumidas en las Tablas 6.6 y 6.7.

En la Tabla 6.6 se observa que las cargas más negativas corresponden a los átomos de carbono localizados en los dobles enlaces y el átomo de nitrógeno, mientras en la Tabla 6.7 se observa claramente el cambio del átomo de nitrógeno N1 con carga positiva para las estructuras protonadas.

TABLA 6.6: Cargas de Mulliken de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) calculadas en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).

Ras1					
Más negativos			Más positivos		
4	C	-1.632	5	C	1.196
18	C	-0.920	17	C	0.795
24	C	-0.887	9	C	0.580
14	C	-0.568	26	C	0.509
1	N	-0.521	21	H	0.389
Ras2					
Más negativos			Más positivos		
4	C	-1.634	5	C	1.168
24	C	-0.957	11	C	0.794
14	C	-0.905	6	C	0.601
9	C	-0.594	16	H	0.413
1	N	-0.457	25	H	0.405
Sel					
Más negativos			Más positivos		
7	C	-1.663	21	C	1.582
2	C	-0.966	8	C	1.401
14	C	-0.905	12	C	1.064
22	C	-0.878	27	H	0.421
30	C	-0.803	6	H	0.348

TABLA 6.7: Cargas de Mulliken de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selgilina (Sel) protonadas, calculadas en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).

Ras1					
Más negativos			Más positivos		
4	C	-1.676	5	C	1.258
24	C	-0.945	17	C	0.738
18	C	-0.869	26	C	0.615
14	C	-0.593	1	N	0.552
22	C	-0.453	21	H	0.423
Ras2					
Más negativos			Más positivos		
4	C	-1.677	5	C	1.258
24	C	-0.945	11	C	0.739
14	C	-0.869	18	C	0.616
9	C	-0.592	1	N	0.552
17	C	-0.452	25	H	0.423
Sel					
Más negativos			Más positivos		
2	C	-1.595	21	C	1.528
22	C	-0.883	8	C	1.491
30	C	-0.873	1	N	0.810
2	C	-0.871	12	C	0.634
14	C	-0.871	27	H	0.463

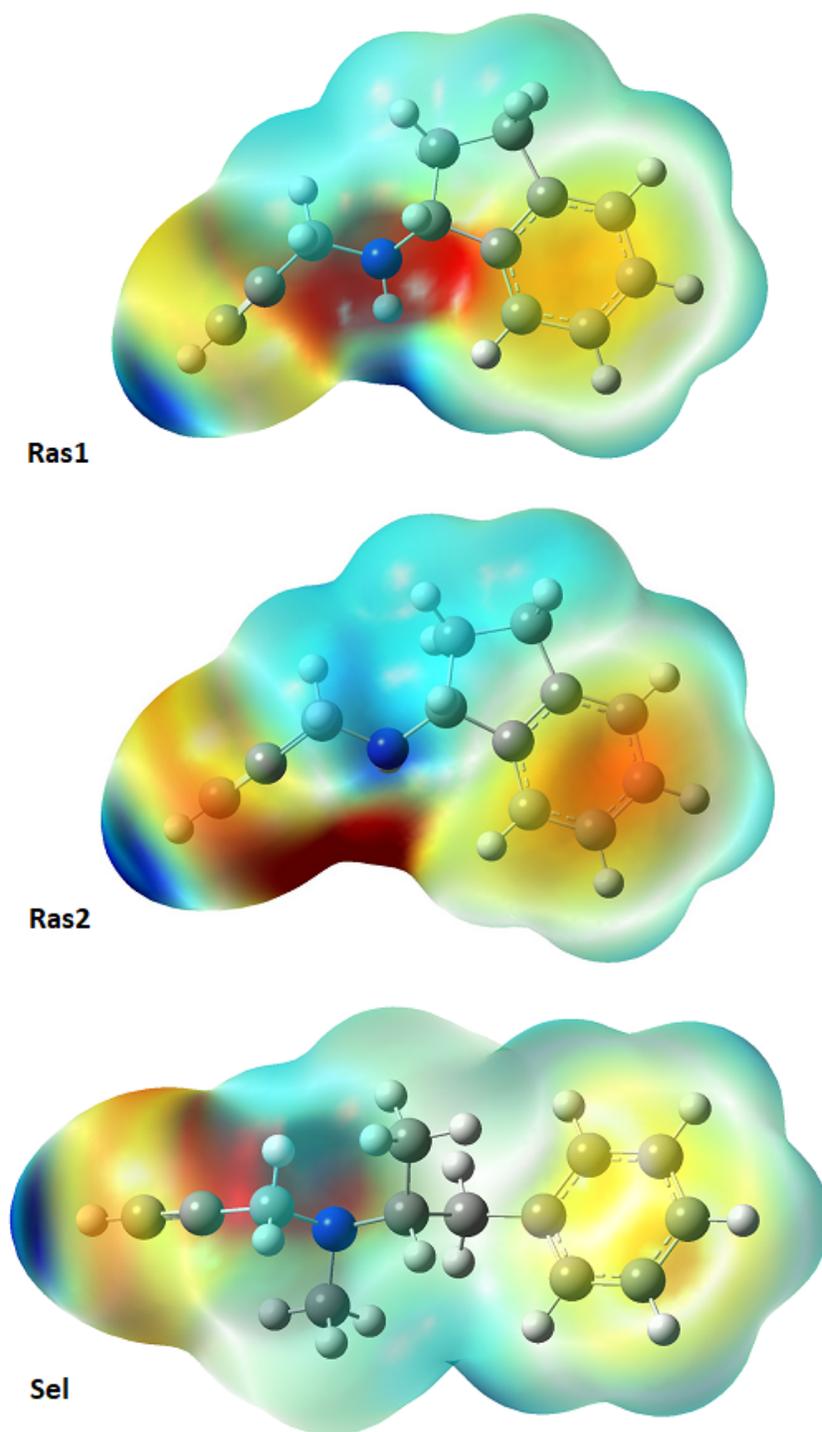


FIGURA 6.9: Mapas de potencial electrostático molecular (MEP) de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) calculados con el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) graficados en el intervalo de -2.620×10^{-2} a 2.620×10^{-2} con un isovalor de 0.0004 u.a.

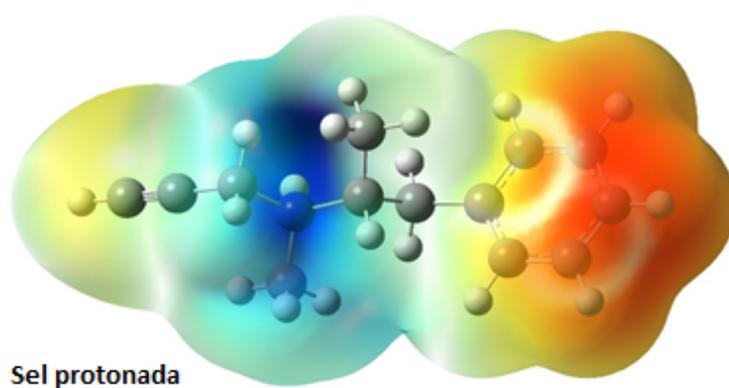
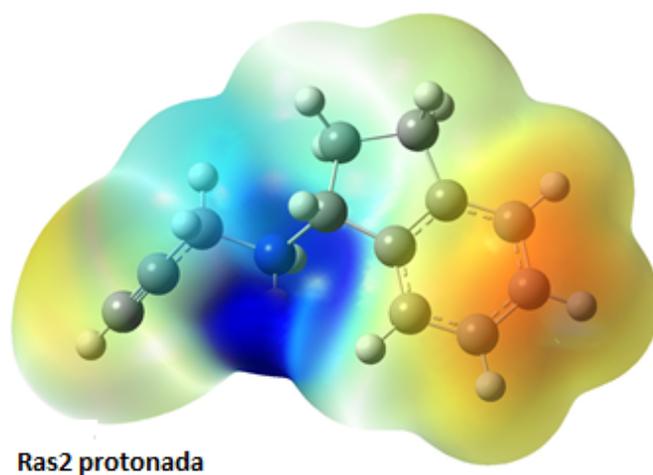
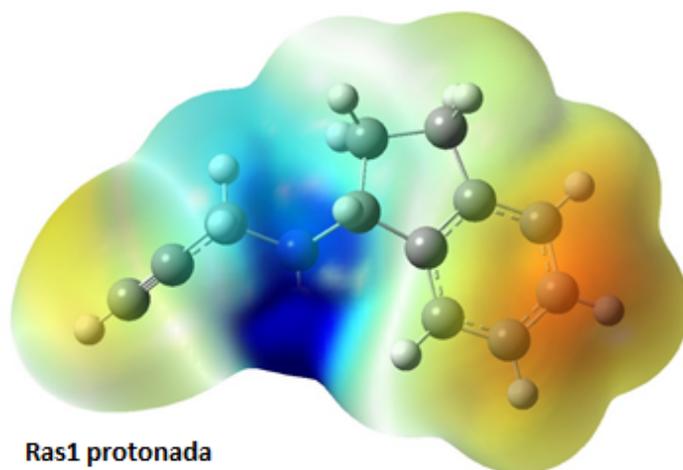


FIGURA 6.10: Mapas de potencial electrostático molecular (MEP) de rasagilina (Ras1 y Ras2) y selegilina (Sel) protonadas, calculados con el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) graficados en el intervalo de 6.859×10^{-2} a 0.185 con un isovalor de 0.0004 u.a.

Cumarinas

Se realizaron cálculos de optimización y frecuencias vibracionales de los ocho derivados cumarínicos en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) para obtener sus estructuras más estables y sus propiedades electrónicas. En la Figura 6.11 se observan las estructuras optimizadas de los compuestos cumarínicos (Cum1-Cum8). La Tabla 6.8 muestra los resultados de energía total, momento dipolar, energías de los orbitales HOMO y LUMO, así como las energías gap de los ocho derivados cumarínicos. Aquí se observa que las moléculas Cum8, Cum7 y Cum6 son las más reactivas debido a que presentan una baja energía gap.

TABLA 6.8: Energía total (u.a.), momento dipolar (Debye), energía de los orbitales frontera (eV) y energía gap (eV) de los ocho derivados cumarínicos obtenidos con el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ.

Nombre	Energía (u.a.)	Momento dipolar (Debye)	HOMO (eV)	LUMO (eV)	Gap (eV)
Cum1	-1227.1733	5.568	-6.413	-2.437	3.976
Cum2	-1266.5095	5.549	-6.370	-2.456	3.913
Cum3	-1111.3774	3.973	-6.523	-2.228	4.295
Cum4	-1190.0399	4.635	-6.294	-2.159	4.134
Cum5	-3416.5282	2.565	-6.448	-2.384	4.064
Cum6	-3531.0973	1.344	-6.055	-2.265	3.790
Cum7	-1277.0487	4.054	-6.315	-2.905	3.410
Cum8	-6424.2909	2.295	-6.438	-3.245	3.193

En la Figura 6.12 se muestran las isosuperficies de los orbitales moleculares frontera, donde se observa que para las moléculas Cum1 y Cum2, los orbitales HOMO y LUMO se distribuyen a lo largo de toda la molécula, excepto en el sustituyente butan-2-ol, en las moléculas Cum3 y Cum4 el orbital HOMO se localiza en el anillo cumarínico, mientras el orbital LUMO se localiza en el sustituyente 5,5-dimetil-4-oxo-4,5-dihidrofuran-2-il, en la molécula Cum5 el orbital HOMO está localizado principalmente en la zona donde se encuentra el anillo 3-fenil, mientras que el orbital LUMO se encuentra en el anillo cumarínico, lo que ocurre de forma similar en Cum6. Y finalmente, en las moléculas Cum7 y Cum8 el orbital HOMO se localiza en el anillo de furano y el orbital LUMO se encuentra en el anillo cumarínico.

La Figura 6.13 muestra los potenciales electrostáticos moleculares (MEP) para las ocho cumarinas. Estos resultados muestran que la distribución de la carga negativa se localiza en los átomos de oxígeno, sobre todo en los que están contenidos en la lactona del anillo cumarínico, también en el caso de Cum1 y Cum2 se encuentran en la δ -lactona que no forma parte del anillo cumarínico y en Cum3 y Cum4 se observan cargas negativas en el anillo de γ -lactona. Las cargas

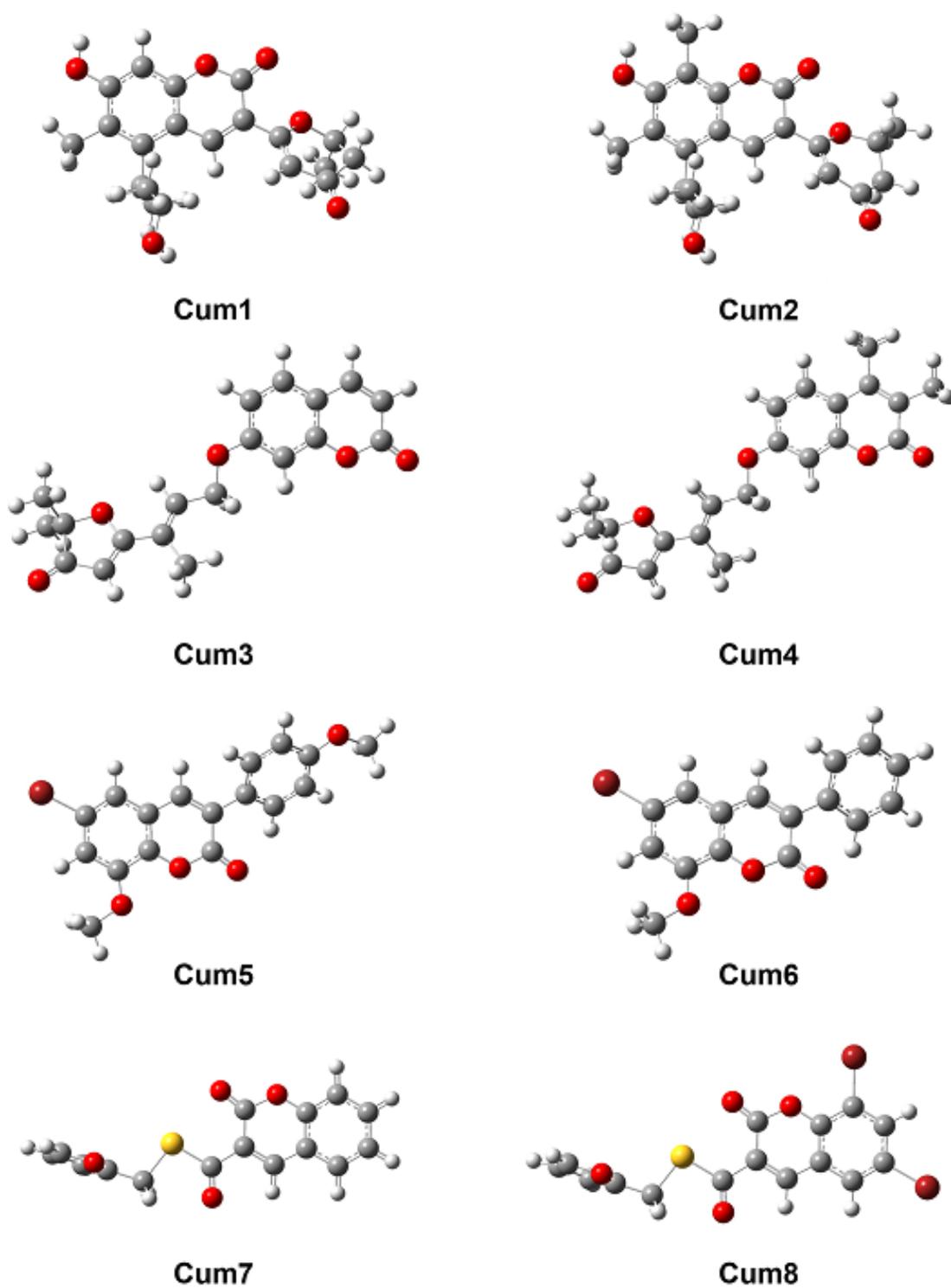


FIGURA 6.11: Estructuras moleculares optimizadas de los derivados cumarínicos (Cum1-Cum8) calculados en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).

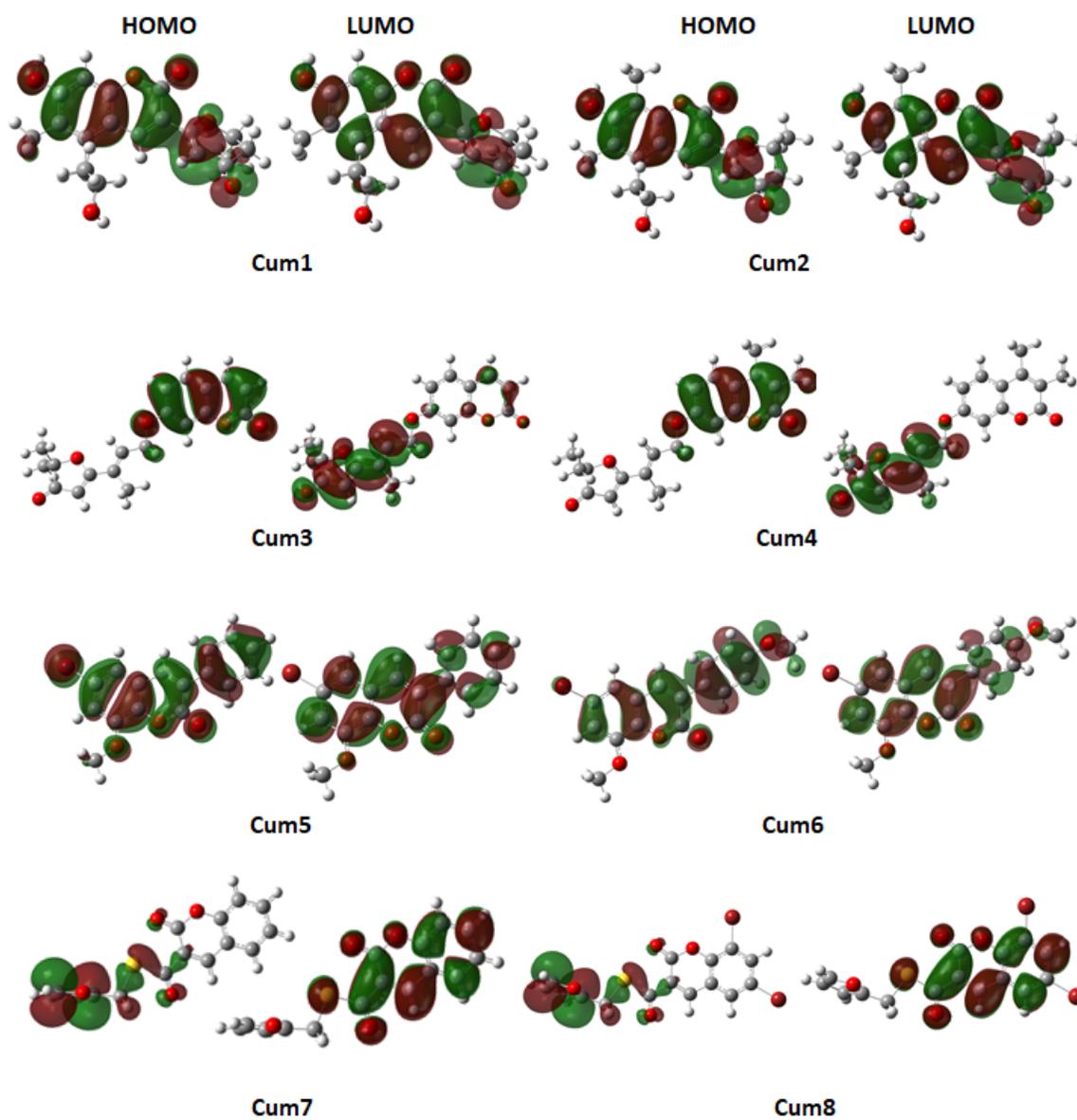


FIGURA 6.12: Orbitales frontera (HOMO y LUMO) de los derivados cumarínicos (Cum1-Cum8) calculados en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) graficados con un isovalor de 0.02 u.a.

positivas se encuentran sobre átomos de hidrógeno presentes en algunos sustituyentes del anillo cumarínico, en Cum1 y Cum2 se observa sobre el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo sustituyente del anillo cumarínico. Estas cargas más negativas y más positivas de cada molécula corresponden a las cargas de Mulliken que se muestran resumidas en la Tabla 6.9.

TABLA 6.9: Cargas de Mulliken de los derivados cumarínicos (Cum1-Cum8) calculados en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D).

Cum1				Cum2							
Más negativos		Más positivos		Más negativos		Más positivos					
12	C	-1.132	20	C	1.4185	13	C	-1.1442	20	C	1.1886
5	O	-0.991	7	C	0.994	5	O	-1.0199	7	C	0.9517
6	O	-0.976	25	C	0.890	1	O	-0.9829	14	C	0.9203
17	C	-0.974	13	C	0.877	6	O	-0.9791	26	C	0.8698
3	O	-0.944	16	C	0.872	18	C	-0.9671	21	C	0.7349
Cum3				Cum4							
Más negativos		Más positivos		Más negativos		Más positivos					
22	C	-1.143	2	C	1.661	15	C	-0.936	10	C	1.6152
21	C	-1.127	13	C	1.293	11	C	-0.978	6	C	1.011
23	O	-1.024	3	C	0.986	2	O	-1.023	9	C	1.008
4	C	-0.891	5	C	0.938	5	O	-1.129	35	C	0.941
1	O	-0.880	10	C	0.896	36	C	-1.146	34	C	0.851
Cum5				Cum6							
Más negativos		Más positivos		Más negativos		Más positivos					
4	O	-0.966	9	C	1.802	15	C	-1.084	10	C	1.710
16	C	-0.945	5	C	1.407	4	O	-0.984	6	C	1.409
8	C	-0.927	10	C	0.718	9	C	-0.871	20	C	0.980
15	C	-0.864	7	H	0.674	2	O	-0.774	7	C	0.785
11	C	-0.772	21	C	0.417	12	C	-0.770	11	C	0.764
Cum7				Cum8							
Más negativos		Más positivos		Más negativos		Más positivos					
4	O	-0.954	15	C	1.350	4	O	-0.960	13	C	1.290
25	C	-0.903	18	C	0.954	23	C	-0.903	16	C	0.881
2	O	-0.854	30	H	0.635	2	O	-0.856	28	H	0.635
7	C	-0.799	24	C	0.619	11	C	-0.726	22	C	0.604
13	C	-0.722	19	C	0.540	8	C	-0.578	17	C	0.524

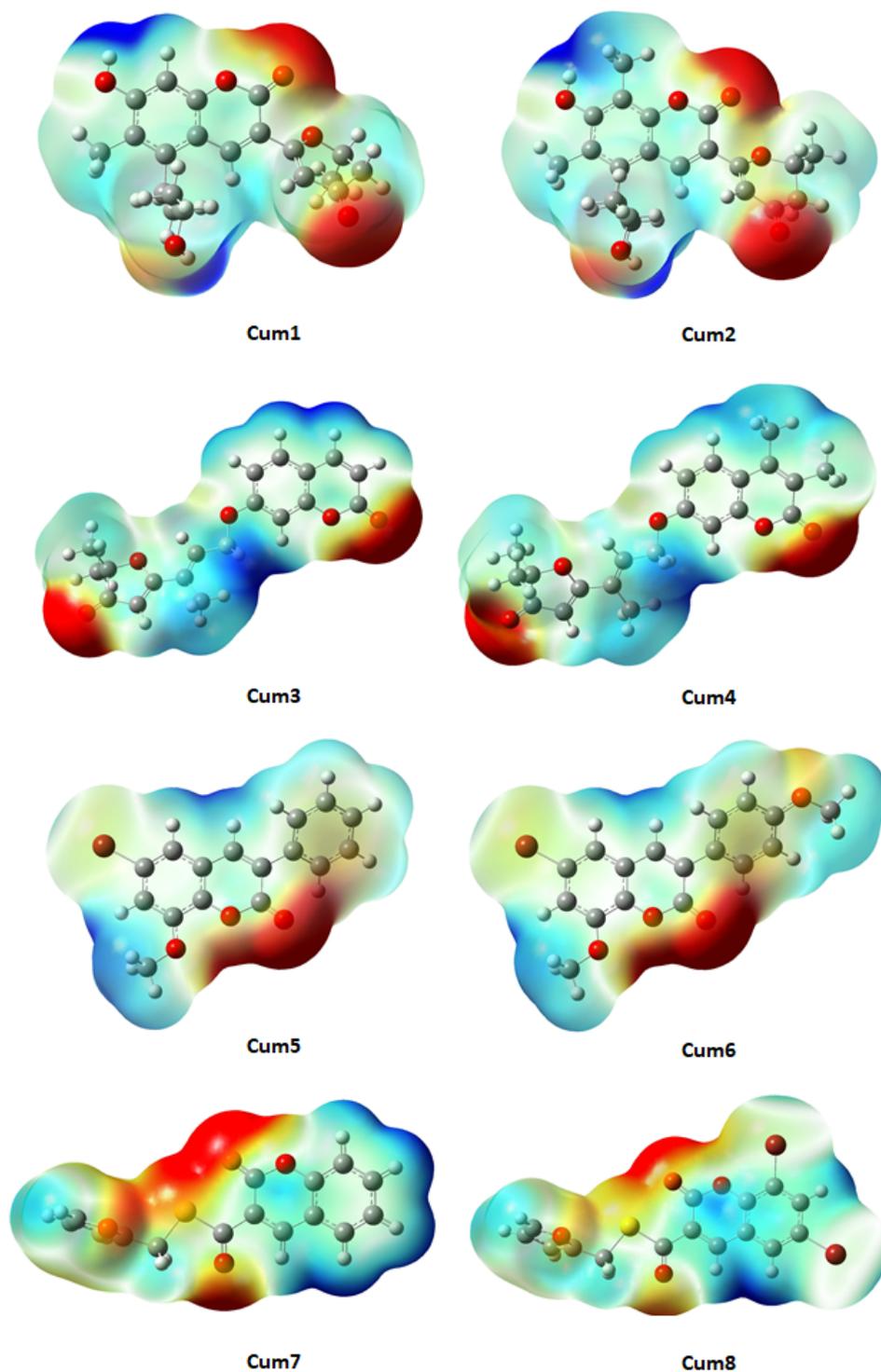


FIGURA 6.13: Mapas de potencial electrostático molecular (MEP) de los derivados cumarínicos (Cum1-Cum8) calculados en el nivel de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) graficados en el intervalo de -5.654×10^{-2} a 5.654×10^{-2} con isovalor de 0.0004 u.a.

6.2. Acoplamiento molecular

Validación

Con el objetivo de validar la metodología empleada, se realizaron los acoplamientos de cada una de las isoformas de MAO con sus respectivos ligantes de cristalización *redocking*, es decir MAO-B con RAS3 y MAO-A con clorgilina. Los resultados muestran que con los parámetros establecidos para llevar a cabo el acoplamiento se reproduce de manera aceptable el lugar y la pose que tiene el ligante en la estructura cristalina. Las representaciones de estos *redockings* se muestran en las Figuras 6.14 y 6.15.

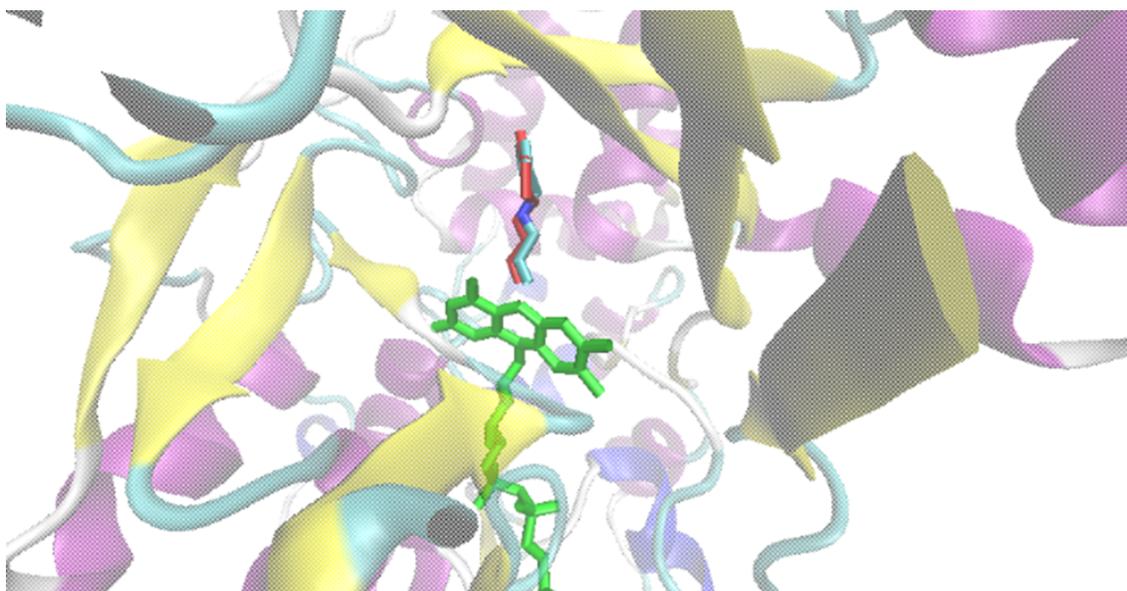


FIGURA 6.14: *Redocking* entre MAO-B y su ligante de cristalización, RAS3 (ligante original en cian, redocking en rojo, FAD en verde).

Los resultados muestran una energía de afinidad de -7.6 kcal/mol entre MAO-B y RAS3, así como una afinidad de -8.7 kcal/mol entre MAO-A y clorgilina.

Acoplamiento molecular con los compuestos cumarínicos

Una vez validada la metodología, se llevó a cabo el acoplamiento molecular entre las estructuras cristalinas de ambas isoformas de MAO y los compuestos cumarínicos utilizando el programa Autodock Vina (Eberhardt y col., 2021). Para analizar los resultados se seleccionaron las poses con menor energía de afinidad y se empleó el programa Discovery Studio Visualizer para obtener diagramas en 2D y visualizar las interacciones ligante-receptor (BIOVIA, 2021). En las Tablas 6.10 y 6.11 se presentan los resultados eligiendo la mejor pose para cada compuesto y en las Figuras 6.16 y 6.17 se muestran todas las moléculas acopladas con MAO-B y MAO-A, respectivamente.

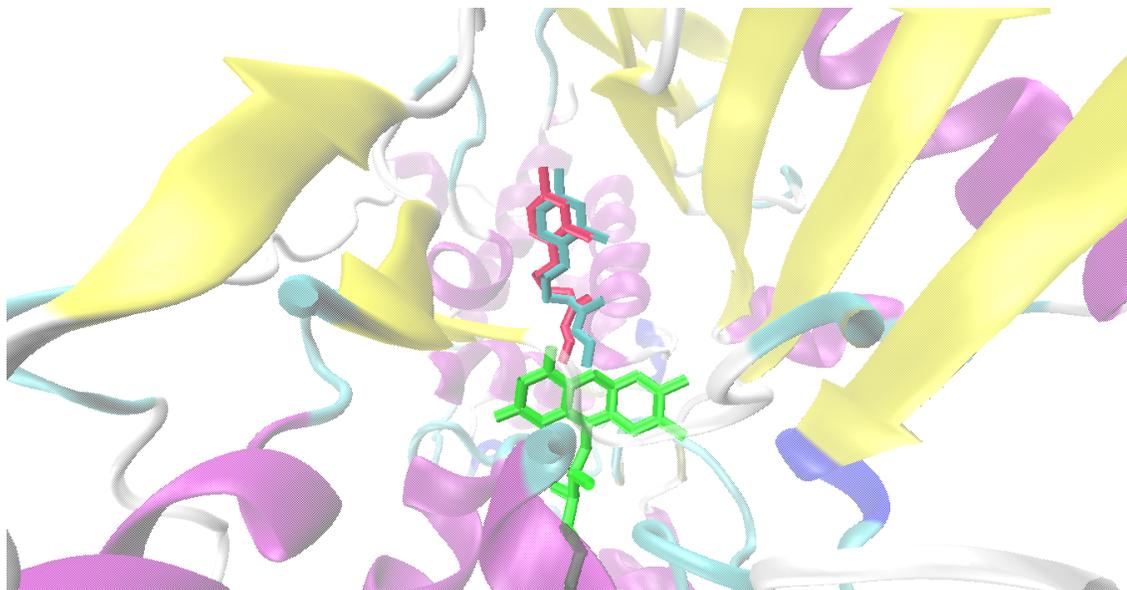


FIGURA 6.15: *Redocking* entre MAO-A y su ligante de cristalización, clorgilina (ligante original en cian, redocking en rojo, FAD en verde).

TABLA 6.10: Energías de afinidad de los ligantes estudiados en el acoplamiento molecular con MAO-B.

Nombre	Afinidad (kcal/mol)
Cum3	-11.1
Cum4	-10.8
Cum6	-9.1
Cum7	-8.9
Cum8	-8.8
Cum5	-8.6
Ras1	-8.0
Ras2	-8.0
Cum2	-7.1
Sel	-7.1
Cum1	-5.8

En la Tabla 6.10 se muestra que los compuestos Cum3 con -11.1 kcal/mol y Cum4 con -10.8 kcal/mol son los que presentan mejor afinidad por la isoforma MAO-B. Por otra parte, los compuestos por los que MAO-B presentó menor afinidad son Sel y Cum2 con -7.1 kcal/mol, además de Cum1 con -5.8 kcal/mol.

De manera similar, en la Tabla 6.11 se puede observar que MAO-A presentó mayor afinidad por los compuestos Cum4 y Cum3 con energías de afinidad de

TABLA 6.11: Energías de afinidad de los ligantes estudiados en el acoplamiento molecular con MAO-A.

Nombre	Afinidad (kcal/mol)
Cum4	-8.6
Cum3	-8.3
Cum5	-8.3
Cum6	-8.2
Cum7	-8.2
Cum8	-8.2
Cum1	-7.9
Ras1	-7.2
Ras2	-7.2
Sel	-7.0
Cum2	-6.2

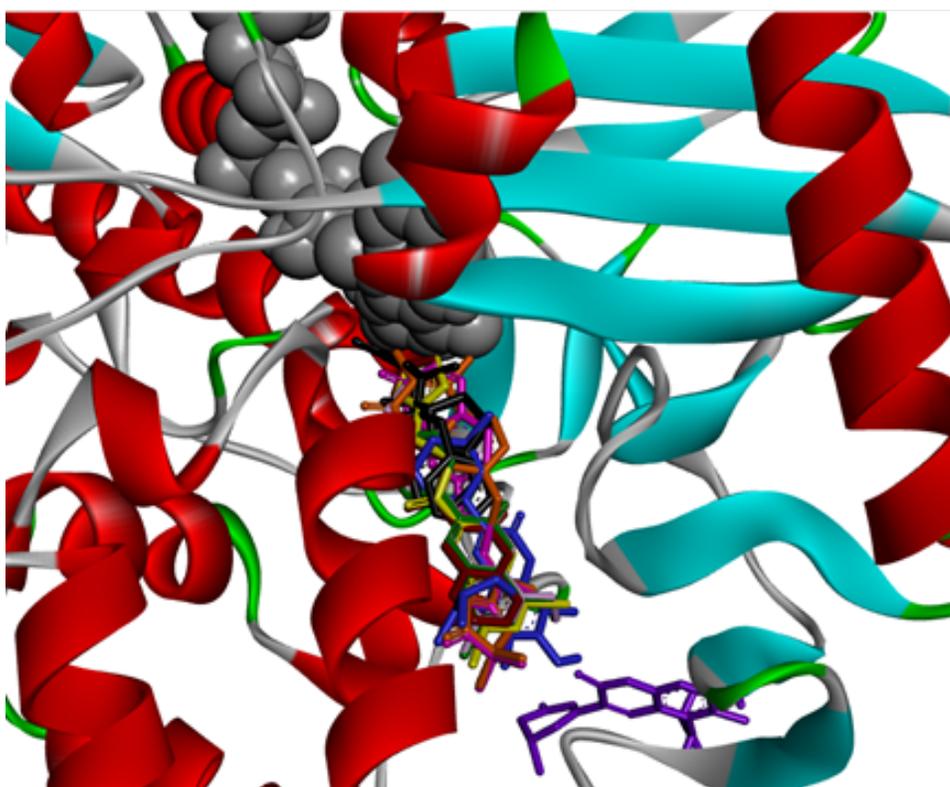


FIGURA 6.16: Acoplamiento molecular con MAO-B. (Cum1 - morado, Cum2 - azul, Cum3 - fucsia, Cum4 - anaranjado, Cum5 - verde, Cum6 - gris, Cum7 - borgoña, Cum8 - amarillo; Ras1, Ras2 y Sel - negro, FAD - representación de esferas).

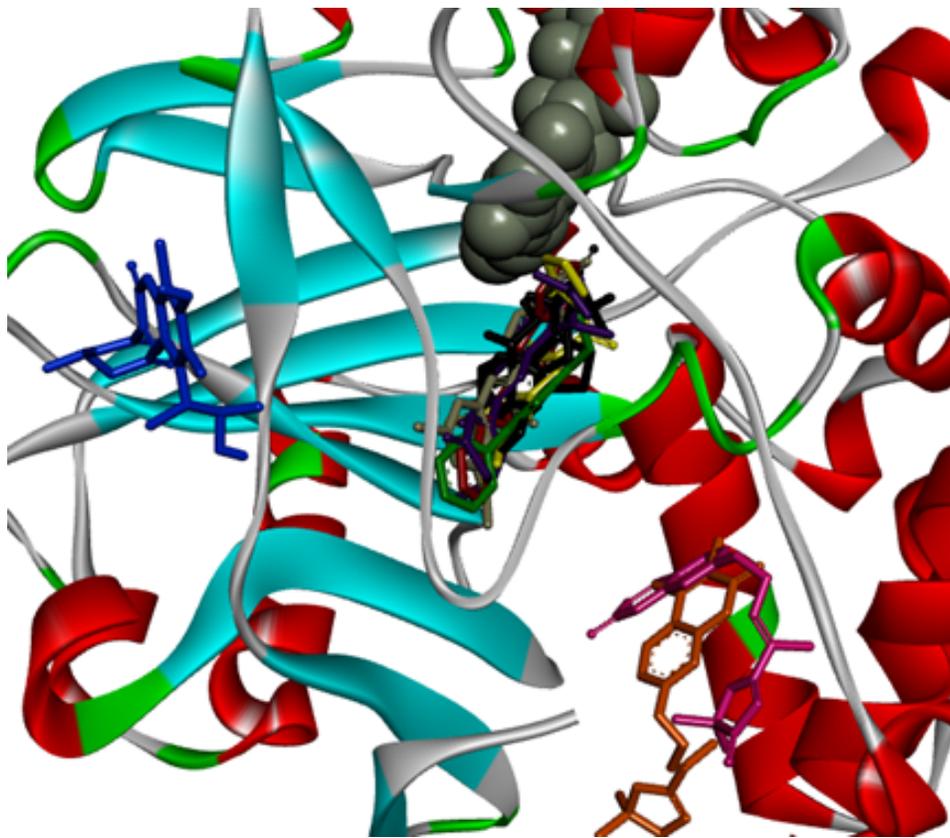


FIGURA 6.17: Superposición de las mejores poses de cada ligante después de realizado el coplamiento molecular con MAO-A. (Cum1 - morado, Cum2 - azul, Cum3 - fucsia, Cum4 - anaranjado, Cum5 - verde, Cum6 - gris, Cum7 - borgoña, Cum8 - amarillo; Ras1, Ras2 y Sel - negro, FAD - representación de esferas).

-8.6 kcal/mol y 8.3 kcal/mol, respectivamente. MAO-A presentó menor afinidad son Cum2, Sel y Ras2, con energías de afinidad de -7.0 kcal/mol, y -7.2 kcal/mol, respectivamente.

Las Figuras 6.16 y 6.17 muestran que tanto Cum3 y Cum4 se acoplan cerca del sitio de la enzima MAO-B donde también se acoplan Ras1, Ras2 y Sel, pero al acoplarse con MAO-A éstas se localizan en una posición más alejada, aunque aún cerca del sitio activo.

En las Figuras 6.18, 6.19 y 6.20 se muestran las interacciones que presentan Ras1, Ras2 y Sel con las isoformas de MAO. Cuando Ras1 se acopla con MAO-B también se encuentran interacciones π -sigma y de apilamiento π en la parte cíclica, así como una interacción desfavorable con TYR435. Cuando Ras1 se encuentra acoplado a MAO-A existen interacciones de tipo π -alquilo sobre todo en la parte cíclica de la molécula y los aminoácidos LEU337, ILE335 y PHE208. También se encuentra una interacción π -catión entre el átomo de nitrógeno y GLU216, así

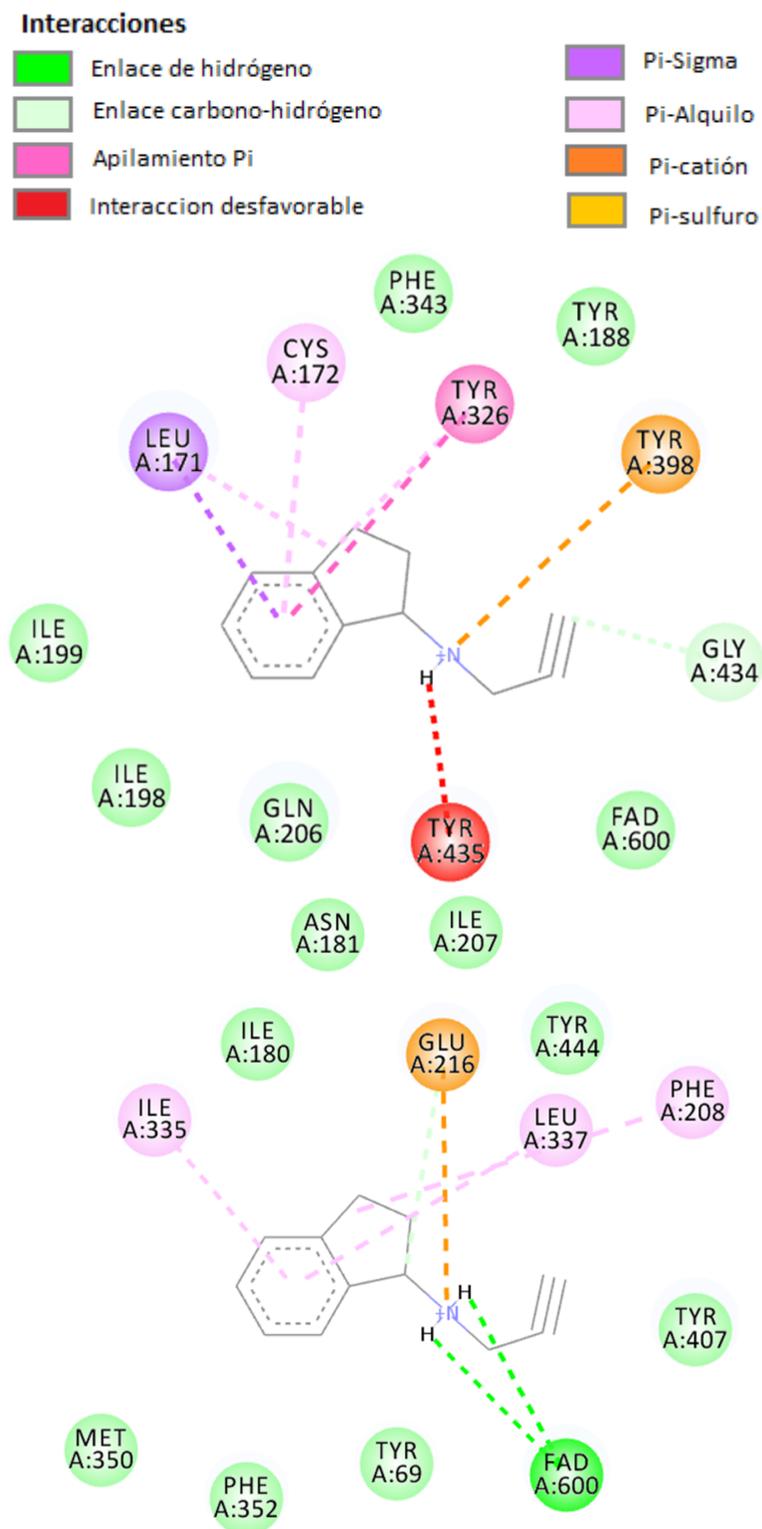


FIGURA 6.18: Interacciones de Ras1 y el espacio de la cavidad del sustrato de MAO-B (arriba) y MAO-A (abajo).

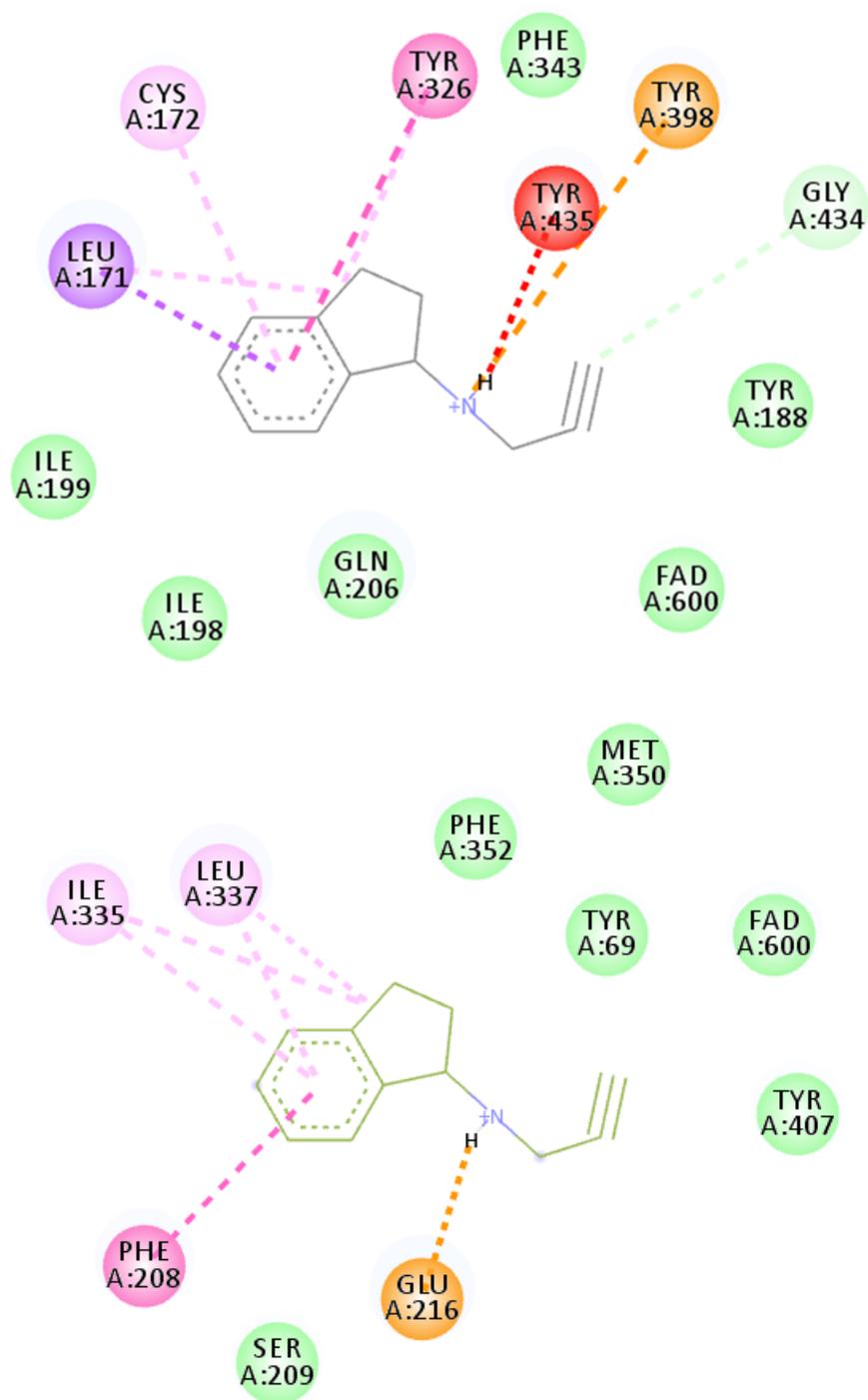


FIGURA 6.19: Interacciones de Ras2 y el espacio de la cavidad del sustrato de MAO-B (arriba) y MAO-A (abajo).

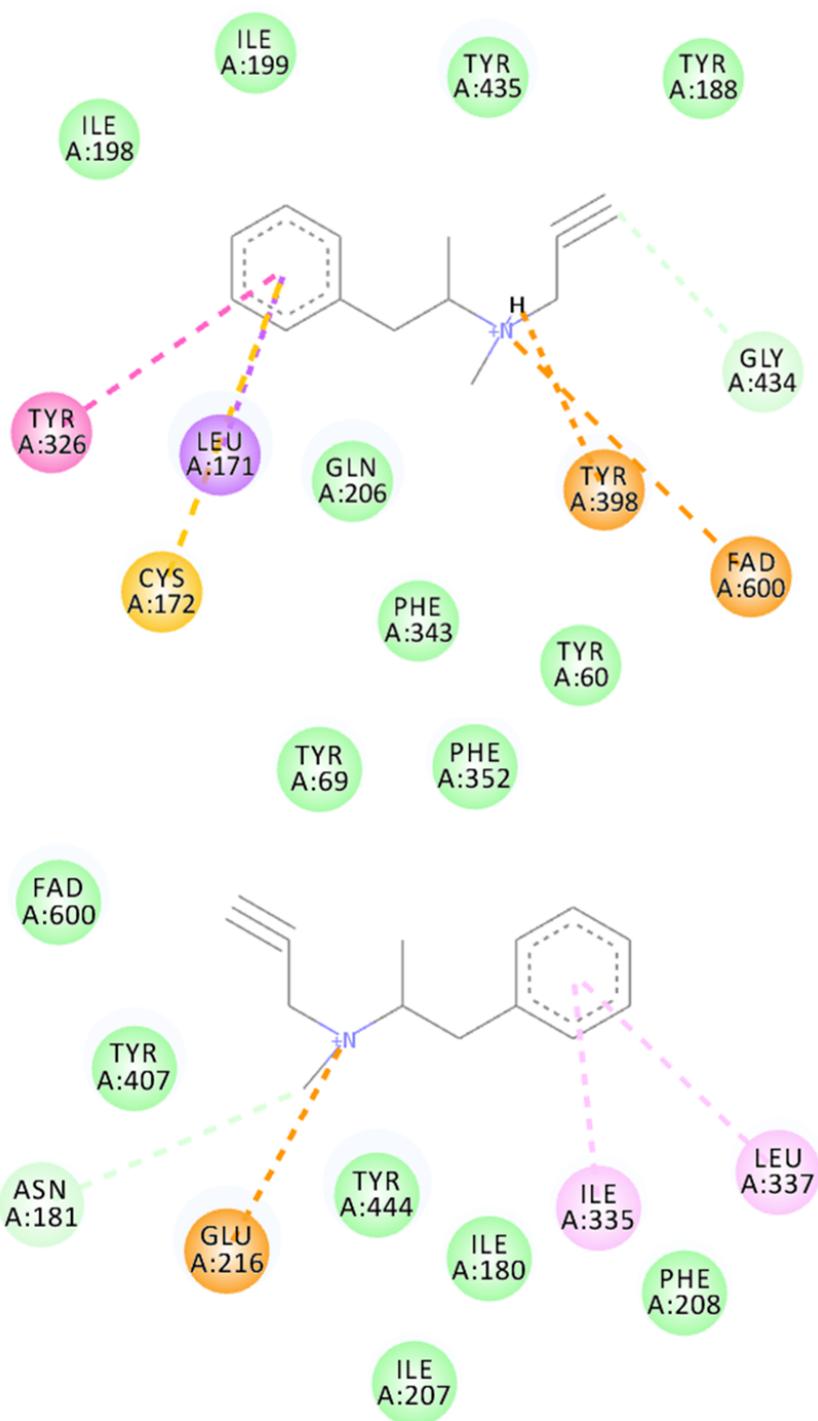


FIGURA 6.20: Interacciones de Sel y el espacio de la cavidad del sustrato de MAO-B (arriba) y MAO-A (abajo).

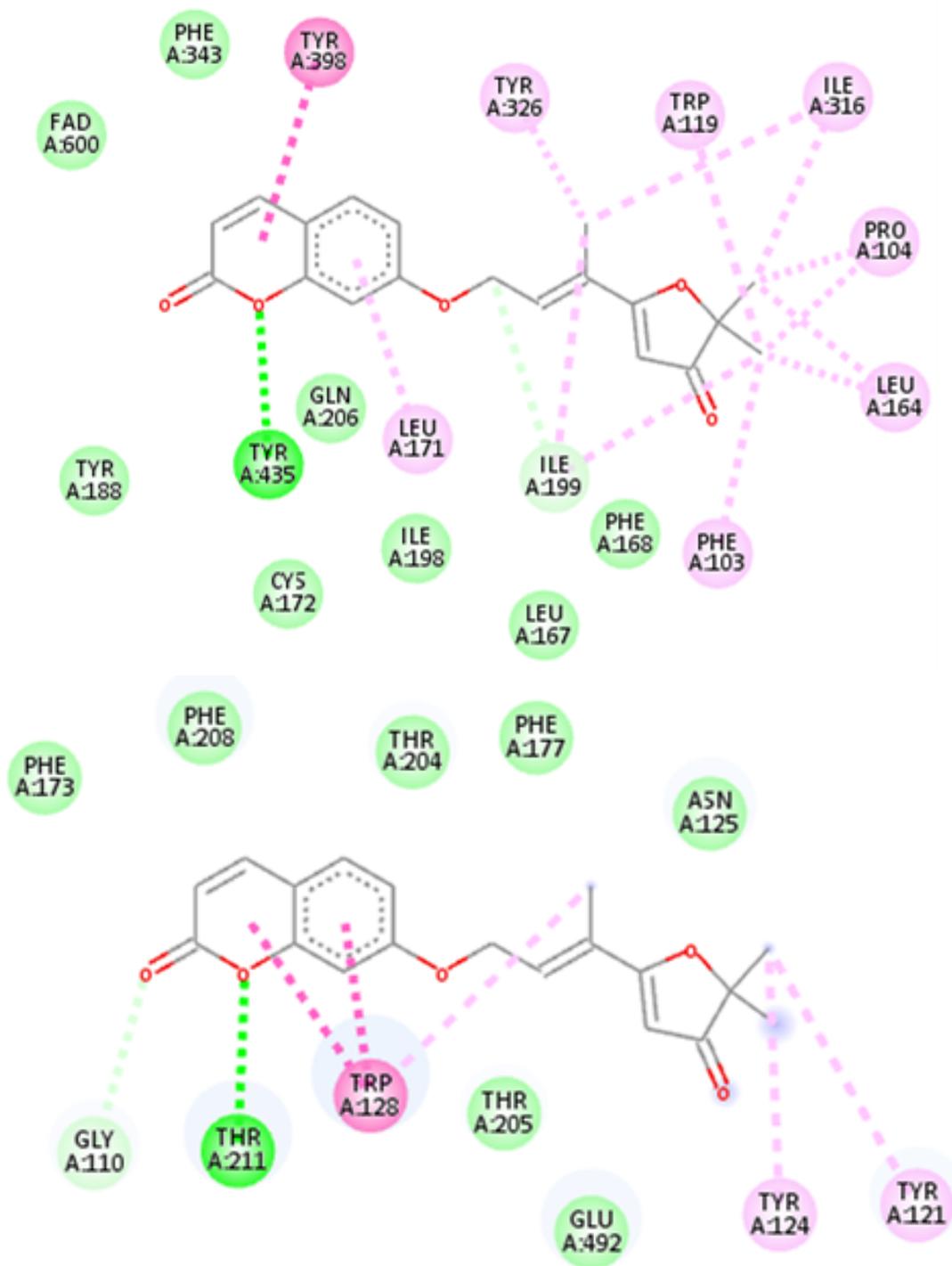


FIGURA 6.21: Interacciones del compuesto Cum3 y el espacio de la cavidad del sustrato de MAO-B (arriba) y MAO-A (abajo).

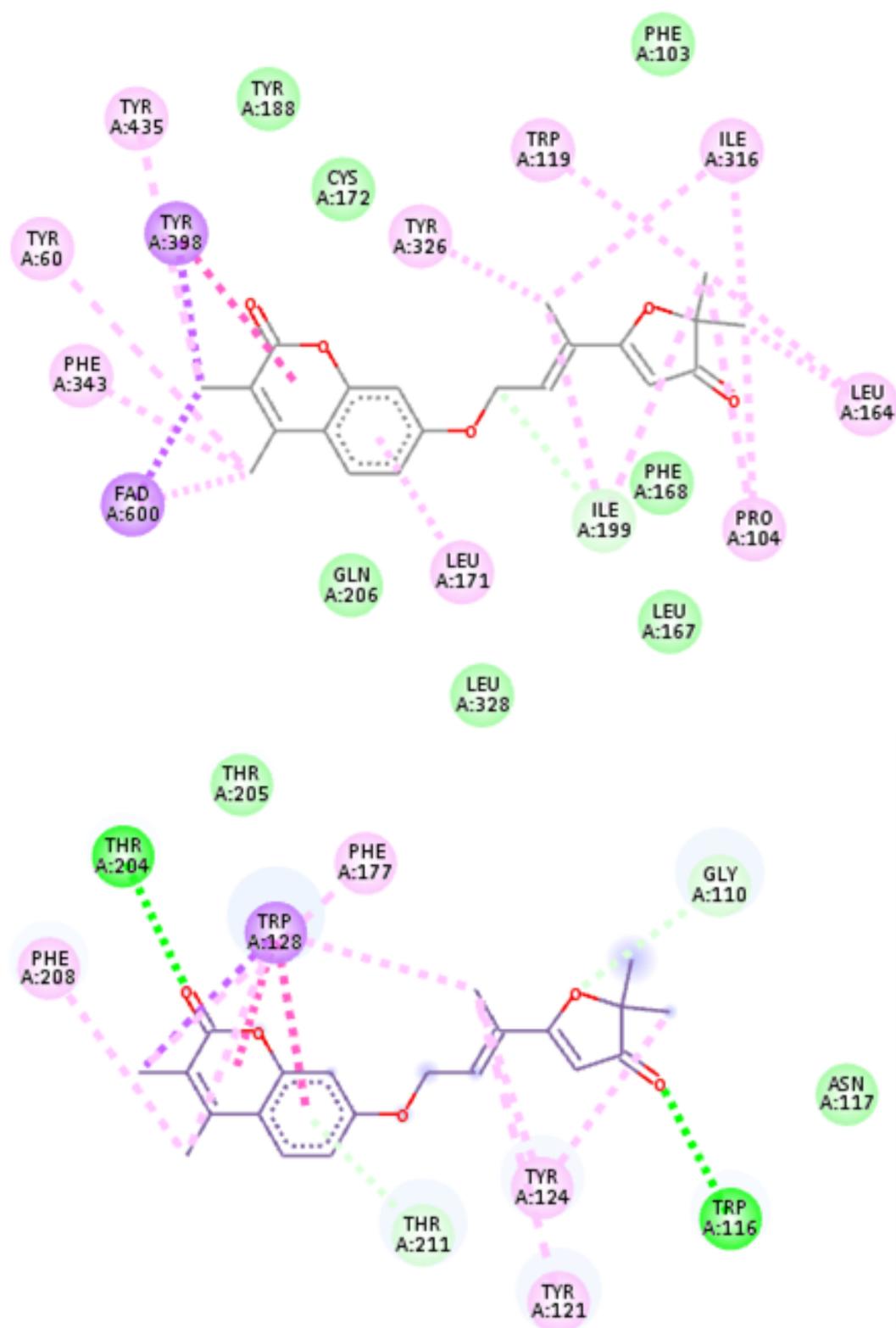


FIGURA 6.22: Interacciones del compuesto Cum4 y el espacio de la cavidad del sustrato de MAO-B (arriba) y MAO-A (abajo).

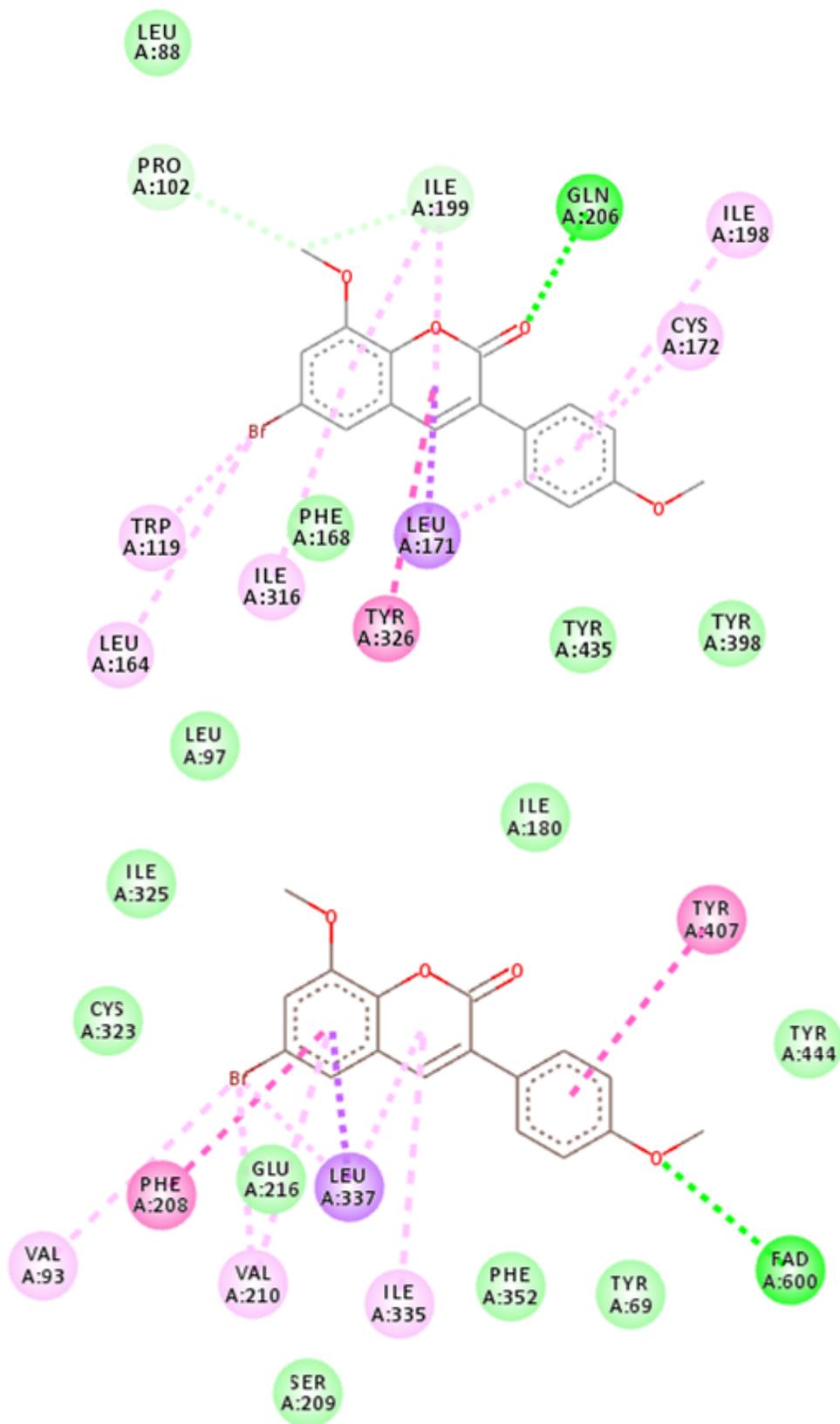


FIGURA 6.23: Interacciones del compuesto Cum6 y el espacio de la cavidad del sustrato deMAO-B (arriba) y MAO-A (abajo).

como enlaces de hidrógeno con FAD.

En el caso de Sel cuando se acopla a MAO-B se observan interacciones de tipo apilamiento π , π -sigma y π -catión entre el anillo bencénico y los aminoácidos TYR326, LEU171, CYS172, respectivamente. También se observan interacciones de tipo π -catión entre el átomo de nitrógeno protonado y TYR398, así como con FAD. Cuando Sel se acopla a MAO-A se observa una interacción π -catión entre el átomo de nitrógeno y GLU216 así como interacciones de tipo π -alquilo entre el anillo bencénico y los aminoácidos ILE335 y LEU337.

La Figura 6.21 muestra las interacciones que presenta el compuesto Cum3 con las dos isoformas de MAO. Al analizar esta figura, se puede observar que en el caso de Cum3 cuando está acoplado con MAO-B se observan interacciones tipo π -Alquilo en TYR326, LEU171, LEU164, ILE316, ILE199, PHE103, PRO104, TRP119, un enlace de hidrógeno entre TYR435 y O24, una interacción de apilamiento π entre TYR398 y la α -pirona, así como un enlace C-H entre ILE199 y C12, el cual es un enlace covalente. Por otro lado, con MAO-A existen interacciones de apilamiento π entre el anillo cumarínico y PHE208 así como con TRP128, interacciones π -Alquilo en TYR121 y TYR124, enlaces de hidrógeno en THR211 y THR204 con O24 y O13 respectivamente, así como un enlace C-H con GLY110. Estas interacciones se resumen en la Tabla 6.12

La Figura 6.22 muestra las interacciones que presenta el compuesto Cum4 con las dos isoformas de MAO. En el caso de Cum4 acoplado a MAO-B se observan interacciones π -Alquilo en TYR60, TYR435, TYR326, PHE343, LEU164, LEU171, PRO104, ILE316, ILE199, TRP119, interacciones π - σ de TYR398 y FAD600 con C22, una interacción de apilamiento π entre TYR398 y el anillo de α -pirona, así como un enlace C-H entre ILE199 y C12. Cuando se encuentra acoplado a MAO-A se encuentran interacciones de tipo π -Alquilo en PHE177, PHE208, TYR121, TYR124 y TRP128, enlaces de hidrógeno entre THR204 y O25, así como entre TRP116 y O2. También se observan interacciones π - σ entre TRP128 y C22 al igual que un enlace C-H entre THR211 y el anillo bencénico. Estas interacciones se resumen en la Tabla 6.13

La Figura 6.23 muestra las interacciones que presenta el compuesto Cum6 con ambas isoformas de MAO. Los aminoácidos GLU492, TYR124, TRP128, TRP116, TYR12 y TYR121 coinciden con el espacio de la cavidad del sustrato de MAO-B que tiene la forma de un disco elipsoidal revestido por LEU171, CYS172 y TYR398 en un lado y por ILE198, ILE199 y TYR435 en el lado opuesto. La cadena lateral de TYR188 y los residuos aromáticos TYR60, TYR326 y PHE343 forman, respectivamente, el piso y el techo de la cavidad (Binda y col., 2004). Cuando Cum6 está acoplado a MAO-A se presentan enlaces de C-H entre GLU492 y C14, así como entre TYR124 y C22. También se observa un enlace π -halógeno entre TRP128 y Br1, un enlace de hidrógeno entre TRP116 y O21, y enlaces de apilamiento π en TYR12 y TYR121. Estas interacciones se resumen en la Tabla 6.14.

TABLA 6.12: Interacciones entre el compuesto Cum3 y las dos isoformas de MAO.

MAO-B			
Aminoácido	Átomo	Características	Tipo de interacción
PHE103	C7	Apolar, hidrófobo, cíclico	π -Alquilo
TRP119	C7	Apolar, hidrófobo, cíclico	π -Alquilo
TYR398	α -pirona		Apilamiento π
TYR435	O24	Polar, hidrófilo, cíclico	Enlace de hidrógeno
TYR326	C10		π -Alquilo
LEU171	Anillo bencénico		π -Alquilo
LEU164	C7, C8	Apolar, hidrófobo, alifático	π -Alquilo
ILE199	C7, C10		π -Alquilo
	C12	Apolar, hidrófobo, alifático	Enlace C-H
ILE316	C8, C10		π -Alquilo
PRO104	C7 C8	Apolar, hidrófobo, alifático	π -Alquilo
MAO-A			
GLY110	O25	Polar, hidrófilo, alifático	Enlace C-H
THR204	O13		Enlace de hidrógeno
THR211	O24	Polar, hidrófilo, alifático	Enlace de hidrógeno
PHE208	O24	Apolar, hidrófobo, cíclico	Apilamiento π
TRP128	Benzopirona	Apolar, hidrófobo, cíclico	Apilamiento π
TYR124	C7		π -Alquilo
TYR121	C7	Polar, hidrófilo, cíclico	π -Alquilo

TABLA 6.13: Interacciones entre el compuesto Cum4 y las dos isoformas de MAO.

MAO-B			
Aminoácido	Átomo	Características	Tipo de interacción
PHE343	C20	No polar, hidrófobo, cíclico.	π -Alquilo
TRP119	C7	Polar, hidrófobo, cíclico.	π -Alquilo
TYR60	C20		π -Alquilo
TYR326	C10		π -Alquilo
TYR398	C22	Polar, hidrófilo, cíclico	π - σ
	α -pirona		Apilamiento π
TYR435	C22		π -Alquilo
LEU164	C7,C8		π -Alquilo
LEU171	Anillo bencénico	Apolar, hidrófobo, alifático	π -Alquilo
ILE199	C7, C10		π -Alquilo
	C12	Apolar, hidrófobo, alifático	Enlace C-H
ILE316	C10, C8		π -Alquilo
PRO104	C7, C8	Apolar, hidrófobo, alifático	π -Alquilo
FAD 600	C20		π - σ
	C22		π -Alquilo
MAO-A			
GLY110	O1	Polar, hidrófilo, alifático	Enlace C-H
THR204	O25		Enlace de hidrógeno
THR211	Anillo bencénico	Polar, hidrófilo, alifático	Enlace C-H
PHE208	C20		π -Alquilo
PHE177	C22	Apolar, hidrófobo, cíclico	π -Alquilo
	C22		π - σ
TRP128	C20		π -Alquilo
	Benzopirona	Apolar, hidrófobo, cíclico	Apilamiento π
	C10		π -Alquilo
TRP116	O2		Enlace de hidrógeno
TYR124	C10, C8		π -Alquilo
TYR121	C10	Polar, hidrofóbico, cíclico	π -Alquilo

TABLA 6.14: Interacciones entre el compuesto Cum6 y las dos isoformas de MAO.

MAO-B			
Aminoácido	Átomo	Características	Tipo de interacción
TRP119	Br1	Apolar, hidrófobo, cíclico	π -Halógeno
TYR326	α -pirona	Polar, hidrófilo, cíclico	Apilamiento π
LEU164	Br1		π -Halógeno
LEU171	α -pirona	Apolar, hidrófobo, alifático	π - σ
	Anillo bencénico		π -Alquilo
ILE198	Anillo bencénico		π -Alquilo
ILE199	Benzopirona	Apolar, hidrófobo, alifático	π -Alquilo
	C14		Enlace C-H
ILE316	Anillo bencénico		π -Alquilo
PRO102	C14	Apolar, hidrófobo, alifático	Enlace C-H
GLN206	O3	Polar, hidrófilo, alifático	Enlace de hidrógeno
CYS172	Anillo bencénico	Polar, hidrófilo, alifático	π -Alquilo
MAO-A			
TRP116	O21		Enlace de hidrógeno
TRP128	Br1	Apolar, hidrófobo, cíclico	π -Halógeno
TYR121	α -pirona		Apilamiento π
	α -pirona	Polar, hidrófilo, cíclico	Apilamiento π
TYR124	Anillo bencénico		Apilamiento π
	C22		Enlace C-H
GLU492	C14	Polar, hidrófilo, alifático	Enlace C-H

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede observar que la introducción de dos grupos metilo en el anillo cúmarinico (Cum4) aumenta las interacciones de tipo π -Alquilo con MAO-B, sin embargo esto no contribuye a tener una mejor afinidad por la enzima pues Cum3 tiene una menor energía de afinidad por 0.3 kcal/mol con respecto a Cum4, aunque este valor no es significativo. Si bien Cum3 es el segundo compuesto con la mejor energía de afinidad con MAO-A, existe una diferencia de 2.4 kcal/mol entre la energía de afinidad del compuesto Cum3 acoplado a MAO-B y la energía de afinidad del mismo compuesto acoplado a MAO-A.

En el caso de Cum6 se puede mencionar que la adición de un átomo de Br al anillo cumarínico también crea interacciones de tipo π -Alquilo, sobre todo con MAO-B.

El análisis de los resultados mencionados permite confirmar que los compuestos utilizados en la actualidad para la EP no son específicos, ya que presentan las peores energías de afinidad dentro del grupo de ligantes estudiados con valores muy semejantes para las dos isoformas de MAO. Por otro lado, los compuestos Cum3 y Cum4 (con o sin dos grupos metilo sustituidos en el anillo cumarínico) a pesar de ser los mejores para ambas isoformas, presentan valores de energía de afinidad mejores para MAO-B que para MAO-A. Aunque Cum3 y Cum4 no se pueden considerar como ligantes específicos para MAO-B, las energías de acoplamiento apuntan a que podrían considerarse como base en el desarrollo de nuevos compuestos más específicos.

El compuesto Cum6 recibe particular atención cuando se acopla con MAO-B, que si bien presenta una afinidad por debajo de Cum3 y Cum4, es mayor a la presentada por los demás ligantes, además de que el valor de la energía de afinidad presentada por MAO-B es mejor que el valor presentada por cualquiera de los ligantes por MAO-A, de tal manera que podría considerarse como otra estructura molecular base para el tratamiento de la EP.

Capítulo 7

Conclusiones

En este proyecto de tesis se estudiaron ocho compuestos derivados de cumarinas para evaluar su actividad inhibitoria de las enzimas MAO-B y MAO-A, involucradas en el tratamiento de la enfermedad de Párkinson (EP). De acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación, se concluye que ambos niveles de teoría B3LYP/aug-cc-pVTZ (D) y B3LYP/6-311+G(2d,2p) dieron buenos resultados en los parámetros geométricos obtenidos en las moléculas control de rasagilina y selegilina. Sin embargo, las estructuras usando el nivel de teoría B3LYP/6-311+G(2d,2p) (P) fueron menos estables energéticamente por aproximadamente 20 kcal/mol con respecto a las obtenidas en B3LYP/cc-pVTZ (D), por lo que se utilizó éste último para realizar los cálculos de optimización y frecuencias vibracionales de los controles protonados considerando el pH fisiológico de 7 y de los derivados cumarínicos empleados en el estudio. Del análisis de los orbitales moleculares se obtuvo que Cum3, Cum4 y Cum5 tienen una energía gap ligeramente mayor, indicando una mayor estabilidad. Mediante el análisis de los mapas de potencial electrostático molecular y cargas de Mulliken se identificó que las zonas más reactivas en las moléculas son las regiones donde se localizan los átomos de oxígeno de la lactona del anillo cumarínico.

Al analizar los resultados del estudio de acoplamiento molecular se encontró que los compuestos Cum3, Cum4 y Cum6 presentaron una muy buena afinidad por la enzima MAO-B, incluso más que la selegilina y la rasagilina, mostrando para Cum3 una energía de afinidad de -11.1 kcal/mol contra una energía de -8.0 kcal/mol para Ras1 y Ras2 y de -7.1 para Sel con MAO-B. En el caso de MAO-A las cumarinas que presentaron mejor afinidad son Cum4, Cum 3 y Cum5, con energías de afinidad de -8.6, -8.3 y -8.2 kcal/mol, respectivamente. Estos compuestos presentan una afinidad relativamente alta por la enzima MAO-A, existe una diferencia de 2.4 kcal/mol entre la energía de afinidad de Cum3 cuando esta acoplado a MAO-B y cuando se encuentra acoplado a MAO-A. En el caso de Cum4 esta diferencia es de 2.1 kcal/mol y para Cum6 de 1.5 kcal/mol. Con esto se puede concluir que ninguno de los compuestos cumarínicos es un inhibidor específico para MAO-B.

Se afirma que la adición de grupos metilo en el anillo cumarínico aumenta el número de interacciones del tipo π -Alquilo y π - σ entre los ligantes y las isoformas de MAO, sobre todo con MAO-B. Sin embargo, este hecho no contribuye a obtener una mejor afinidad.

Lo anterior mencionado permite proponer a los compuestos Cum3, Cum4 y Cum6 como estructuras base para el desarrollo de nuevos fármacos para el tratamiento de la EP, que son necesarios para tener un mejor control de los síntomas contrarrestando los efectos secundarios que los fármacos tradicionales causan y que afectan la calidad de vida del paciente que padece esta enfermedad.

Como perspectiva del trabajo de investigación se sugiere realizar un estudio de dinámica molecular con los mismos derivados cumarínicos utilizados como ligantes para obtener su información cinética. De igual manera se sugiere realizar un estudio QSAR que permitiría predecir la actividad biológica de éstos y otros compuestos que sean propuestos.

Bibliografía

- Aihara, J. (1999). Reduced HOMO- LUMO gap as an index of kinetic stability for polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Phys. Chem. A*, 103(37), 7487-7495.
- Alonso, A., Luquin, R., García, P., Burguera, J., Campos, V., Castro, A., Linazasoro, G., López, J., Vela, L. & Martínez, J. (2014). Agonistas dopaminérgicos en la enfermedad de Parkinson. *Neurología*, 29(4), 230-241.
- Bakhle, Y. (1990). Pharmacokinetic and metabolic properties of lung. *Br. J. Anaesth.*, 65(1), 79-93.
- Barger, G. & Dale, H. (1910). Chemical structure and sympathomimetic action of amines. *J. Physiol.*, 41(1-2), 19-59.
- Becke, A. (1998). Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *Chem. Phys.*, 98, 5648.
- Bello, M., Martínez-Archundia, M. & Correa-Basurto, J. (2013). Automated docking for novel drug discovery. *Expert Opin. Drug Discov.*, 8(7), 821-834.
- Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N. & Bourne, P. E. (2000). The protein data bank. *Nucleic Acids Res.*, 28(1), 235-242.
- Binda, C., Hubálek, F., Li, M., Herzig, Y., Sterling, J., Edmondson, D. & Mattevi, A. (2004). Crystal structures of monoamine oxidase B in complex with four inhibitors of the N-propargylaminoindan class. *J. Med. Chem.*, 47(7), 1767-1774.
- Binkley, J., Pople, J. & Hehre, W. (1980). Self-consistent molecular orbital methods. 21. Small split-valence basis sets for first-row elements. *J. Am. Chem. Soc.*, 102(3), 939-947.
- BIOVIA, D. S. (2021). Discovery Studio Visualizer. San Diego:Dassault Systèmes.
- Blackwell, B., Marley, E., Price, J. & Taylor, D. (1967). Hypertensive interactions between monoamine oxidase inhibitors and foodstuffs. *Br. J. Psychiatry*, 113(497), 349-365.
- Blesa, J., Trigo-Damas, I., Quiroga-Varela, A. & Jackson-Lewis, V. (2015). Oxidative stress and Parkinson's disease. *Front. Neuroanat.*, 9, 91.
- Borovac, J. (2016). Focus: The Aging Brain: Side effects of a dopamine agonist therapy for Parkinson's disease: a mini-review of clinical pharmacology. *Yale J. Biol. Med.*, 89(1), 37.
- Bosboom, J., Stoffers, D. & Wolters, E. (2003). The role of acetylcholine and dopamine in dementia and psychosis in Parkinson's disease, En *J. Neural Transm. Suppl.* Springer.

- Boys, S. (1950). Electronic wave functions-I. A general method of calculation for the stationary states of any molecular system. *Proc. R. Soc. A*, 200(1063), 542-554.
- Carbó-Dorca, R. & Bultinck, P. (2004). Quantum mechanical basis for Mulliken population analysis. *J. Math. Chem.*, 36(3), 231-239.
- Carlsson, A. (1993). Thirty years of dopamine research. *Adv. Neurol.*, 60, 1-10.
- Carlsson, A., Lindqvist, M. & Magnusson, T. (1957). 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. *Nature*, 180(4596), 1200-1200.
- Carotti, A., Carrieri, A., Chimichi, S., Boccalini, M., Cosimelli, B., Gnerre, C., Carotti, A., Carrupt, P. & Testa, B. (2002). Natural and synthetic geiparvarins are strong and selective MAO-B inhibitors. Synthesis and SAR studies. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 12(24), 3551-3555.
- Carradori, S., D'Ascenzio, M., Chimenti, P., Secci, D. & Bolasco, A. (2014). Selective MAO-B inhibitors: a lesson from natural products. *Mol. Divers.*, 18(1), 219-243.
- Casamitjana, C., García, S., Zarate-Mendez, A., Hernández-Salazar, M., Suárez, S., Dávalos, E., Ortiz-Cuauhtémoc, G., Venegas, J., Valencia-Granados, F. & Cervantes, J. (2007). Calidad de vida en pacientes con enfermedad de Parkinson y estimulación cerebral profunda. *Med. Int. Méx.*, 23(1), 7-14.
- Cawthon, R. & Breakefield, X. (1979). Differences in A and B forms of monoamine oxidase revealed by limited proteolysis and peptide mapping. *Nature*, 281(5733), 692-694.
- Charcot, J. (1886). *Leçons sur les maladies du système nerveux* (Vol. 1). Lecrosnier et Babè.
- Chattaraj, P. (2009). *Chemical reactivity theory: a density functional view*. CRC press.
- Cotzias, G., Van Woert, M. & Schiffer, L. (1967). Aromatic amino acids and modification of parkinsonism. *N. Engl. J. Med.*, 276(7), 374-9.
- CSG. (2010). Diagnóstico y tratamiento de la Enfermedad de Parkinson inicial y avanzada en el tercer nivel de atención. Guía práctica clínica. Secretaría de Seguridad.
- De Colibus, L., Li, M., Binda, C., Lustig, A., Edmondson, D. & Mattevi, A. (2005). Three-dimensional structure of human monoamine oxidase A (MAO A): relation to the structures of rat MAO A and human MAO B. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102(36), 12684-12689.
- Demir, P. & Akman, F. (2017). Molecular structure, spectroscopic characterization, HOMO and LUMO analysis of PU and PCL grafted onto PEMA-co-PHEMA with DFT quantum chemical calculations. *J. Mol. Struct.*, 1134, 404-415.
- Dennington, R., Keith, T. & Millam, J. (2019). GaussView Version 6 [Semichem Inc. Shawnee Mission KS].
- Dias, V., Junn, E. & Mouradian, M. (2013). The role of oxidative stress in Parkinson's disease. *J. Parkinsons Dis.*, 3(4), 461-491.

- Ditchfield, R., Hehre, W. & Pople, J. (1971). Self-consistent molecular-orbital methods. IX. An extended Gaussian-type basis for molecular-orbital studies of organic molecules. *J. Chem. Phys.*, 54(2), 724-728.
- Dunning Jr, T. (1989). Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. I. The atoms boron through neon and hydrogen. *J. Chem. Phys.*, 90(2), 1007-1023.
- Dunning Jr, T. & Hay, P. (1977). *Methods of Electronic Structure Theory. Modern Theoretical Chemistry* (Vol. 3). Springer.
- Eberhardt, J., Santos-Martins, D., Tillack, A. & Forli, S. (2021). AutoDock Vina 1.2.0: new docking methods, expanded force field, and Python bindings.
- Edmondson, D., Binda, C., Wang, J., Upadhyay, A. & Mattevi, A. (2009). Molecular and mechanistic properties of the membrane-bound mitochondrial monoamine oxidases. *Biochemistry*, 48(20), 4220-4230.
- Ehringer, H. & Hornykiewicz, O. (1960). Verteilung von Noradrenalin und Dopamin (3-Hydroxytyramin) im Gehirn des Menschen und ihr Verhalten bei Erkrankungen des extrapyramidalen Systems. *Klin. Wochenschr.*, 38(24), 1236-1239.
- Foresman, J. (1996). *Exploring chemistry with Electronic Structure Methods*. Gaussian Inc.
- Frisch, M., Trucks, G., Schlegel, H., Scuseria, G., Robb, M., Cheeseman, J., Scalmani, G., Barone, V., Petersson, G., Nakatsuji, H., Li, X., Caricato, M., Marenich, A., Bloino, J., Janesko, B., Gomperts, R., Mennucci, B., Hratchian, H., Ortiz, J., ... Fox, D. (2016). Gaussian~16 Revision C.01 [Gaussian Inc. Wallingford CT].
- Fukui, K. (1982). Role of frontier orbitals in chemical reactions. *Science*, 218(4574), 747-754.
- Gan-Or, Z., Dion, P. & Rouleau, G. (2015). Genetic perspective on the role of the autophagy-lysosome pathway in Parkinson disease. *Autophagy*, 11(9), 1443-1457.
- Glover, V., Sandler, M., Owen, F. & Riley, G. (1977). Dopamine is a monoamine oxidase B substrate in man. *Nature*, 265(5589), 80-81.
- Gordon, M., Binkley, J., Pople, J., Pietro, W. & Hehre, W. (1982). Self-consistent molecular-orbital methods. 22. Small split-valence basis sets for second-row elements. *J. Am. Chem. Soc.*, 104(10), 2797-2803.
- Hare, M. (1928). Tyramine oxidase: A new enzyme system in liver. *Biochem. J.*, 22(4), 968-979.
- Hariharan, P. & Pople, J. (1973). The influence of polarization functions on molecular orbital hydrogenation energies. *Theor. Chem. Acc.*, 28(3), 213-222.
- He, X., Chen, Y., Shi, J., Tang, W., Pan, Z., Dong, Z., Song, B., Li, J. & Liu, X. (2014). New coumarin derivatives: Design, synthesis and use as inhibitors of hMAO. *Bioorg. Med. Chem.*, 22(14), 3732-3738.
- Hehre, W., Ditchfield, R. & Pople, J. (1972). Self-consistent molecular orbital methods. XII. Further extensions of Gaussian-type basis sets for use

- in molecular orbital studies of organic molecules. *J. Chem. Phys.*, 56(5), 2257-2261.
- Hohenberg, P. & Kohn, W. (1964). Inhomogeneous electron gas. *Phys. Rev.*, 136(3B), B864.
- Holtz, P., Balzer, H., Westermann, E. & Wezler, E. (1957). Beeinflussung der Evi-pannarkose durch Reserpin, Iproniazid und biogene Amine. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.*, 231(4), 333-348.
- Hornykiewicz, O. (2002). Dopamine miracle: from brain homogenate to dopamine replacement. *Mov. Disord.*, 17(3), 501-508.
- Hornykiewicz, O. (2006). The discovery of dopamine deficiency in the parkinsonian brain, En *Parkinson's Disease and Related Disorders*. Springer.
- Hossain, C., Okuyama, E. & Yamazaki, M. (1996). A new series of coumarin derivatives having monoamine oxidase inhibitory activity from *Monascus anka*. *Chem. Pharm. Bull.*, 44(8), 1535-1539.
- Hoult, J. & Payá, M. (1996). Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. *Gen. Pharmacol. Vasc. S.*, 27(4), 713-722.
- Hughes, A., Daniel, S., Kilford, L. & Lees, A. (1992). Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 55(3), 181-184.
- Humphrey, W., Dalke, A. & Schulten, K. (1996). VMD – Visual Molecular Dynamics. *J. Mol. Graph.*, 14, 33-38.
- INEGI. (2015). Población. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. INEGI. <https://www.inegi.org.mx/temas/estructura/>
- Jankovic, J. (2008). Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 79(4), 368-376.
- Jensen, F. (2013). Atomic orbital basis sets. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.*, 3(3), 273-295.
- Jigar, L. (2019). *The Introduction of Coumarin*. Blue Rose Publishers.
- Kitchen, D., Decornez, H., Furr, J. & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 3(11), 935-949.
- Klingelhoefer, L. & Reichmann, H. (2015). Pathogenesis of Parkinson disease—the gut–brain axis and environmental factors. *Nat. Rev. Neurol.*, 11(11), 625-636.
- Koch, W. & Holthausen, M. (2015). *A chemist's guide to density functional theory*. John Wiley & Sons.
- Kohn, W. & Sham, L. (1965). Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *Phys. Rev.*, 140(4A), 1133-1138.
- Kontogiorgis, C. & Hadjipavlou-Litina, D. (2003). Biological evaluation of several coumarin derivatives designed as possible anti-inflammatory / antioxidant agents. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 18(1), 63-69.
- Kostova, I. (2005). Synthetic and natural coumarins as cytotoxic agents. *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents*, 5(1), 29-46.

- Krishnan, R., Binkley, J., Seeger, R. & Pople, J. (1980). Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions. *J. Chem. Phys.*, 72(1), 650-654.
- Lengauer, T. & Rarey, M. (1996). Computational methods for biomolecular docking. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 6(3), 402-406.
- Lewars, E. (2003). *Computational chemistry. Introduction to the theory and applications of molecular and quantum mechanics*. Springer.
- Liu, L., Miao, L., Li, L., Li, F., Lu, Y., Shang, Z. & Chen, J. (2018). Molecular electrostatic potential: a new tool to predict the lithiation process of organic battery materials. *J. Phys. Chem. Lett.*, 9(13), 3573-3579.
- Lomize, M., Pogozheva, I., Joo, H., Mosberg, H. & Lomize, A. (2012). OPM database and PPM web server: resources for positioning of proteins in membranes. *Nucleic Acids Research*, 40(D1), 370-376.
- Mao, J. (2014). Atomic charges in molecules: a classical concept in modern computational chemistry. *Postdoc. J.*, 2(2), 33.
- Martínez-Rojas, E. & Saavedra-Amórtegui, J. (2017). *Química computacional. Una revisión histórica* (Tesis doctoral). Universidad Pedagógica Nacional.
- Matos, M. (2001). *Cumarinas: versatilidad estructural y aplicaciones en Química Farmacéutica* (Tesis doctoral). Universidade de Santiago de Compostela.
- Matos, M., Vazquez-Rodriguez, S., Uriarte, E., Santana, L. & Viña, D. (2011). MAO inhibitory activity modulation: 3-Phenylcoumarins versus 3-benzoylcoumarins. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 21(14), 4224-4227.
- Mazzio, E., Deiab, S., Park, K. & Soliman, K. (2013). High throughput screening to identify natural human monoamine oxidase B inhibitors. *Phytother. Res.*, 27(6), 818-828.
- Meiser, J., Weindl, D. & Hiller, K. (2013). Complexity of dopamine metabolism. *Cell Commun. Signal.*, 11(1), 1-18.
- Mhyre, T., Boyd, J., Hamill, R. & Maguire-Zeiss, K. (2012). Parkinson's disease. *Subcell. biochem.*, 65, 389-455.
- 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.
- Mulliken, R. (1955a). Electronic population analysis on LCAO-MO molecular wave functions. I. *J. Chem. Phys.*, 23(10), 1833-1840.
- Mulliken, R. (1955b). Electronic population analysis on LCAO-MO molecular wave functions. II. Overlap populations, bond orders, and covalent bond energies. *J. Chem. Phys.*, 23(10), 1841-1846.
- Murray, R., Mendez, J. & Brown, S. (1982). *Coumarin activity in plants and bioorganic aspects* [2nd ed.]. John Wiley.
- NCBI. (2021a). PubChem Compound Summary for CID 26757, Selegiline.
- NCBI. (2021b). PubChem Compound Summary for CID 3052776, Rasagiline.
- NIH. (2018). Parkinson's Disease: Hope Through Research. U.S. Department of Health; Human Services. <https://www.ninds.nih.gov/Disorders/>

Patient - Caregiver - Education / Hope - Through - Research / Parkinsons - Disease - Hope - Through - Research

- Nutt, J. & Wooten, G. (2005). Diagnosis and initial management of Parkinson's disease. *N. Engl. J. Med.*, 353(10), 1021-1027.
- Ordenstein, L. (1868). *Sur la paralysie agitante et la sclérose en plaques généralisée*. A. Delahaye.
- Parkinson, J. (1817). An essay on the shaking palsy. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.*, 14(2), 223-236.
- Perdew, J., Ziesche, P. & Eschrig, H. (1991). Electronic structure of solids' 91. Akademie Verlag, Berlin.
- Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C. & Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of computational chemistry*, 25(13), 1605-1612.
- Politzer, P. & Murray, J. (1991). Molecular electrostatic potentials and chemical reactivity. *Rev. Comput. Chem.*, 273-312.
- Pople, J., Gill, P. & Johnson, B. (1992). Kohn—Sham density-functional theory within a finite basis set. *Chem. Phys. Lett.*, 199(6), 557-560.
- Proença da Cunha, A. & Roque, O. (2005). Compostos fenólicos: características e origem biossintética. *Farmacognosia e fitoquímica.*, 211-216.
- Pulay, P., Fogarasi, G., Pang, F. & Boggs, J. (1979). Systematic ab initio gradient calculation of molecular geometries, force constants, and dipole moment derivatives. *J. Am. Chem. Soc.*, 101(10), 2550-2560.
- Raab, W. & Gige, W. (1951). Concentration and Distribution of "Enkephalin" in the Brain of Humans, and Animals. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 76(1), 97-100.
- Rajput, M. (2010). Natural monoamine oxidase inhibitors: a review. *J. Pharmacy Res.*, 3, 482-485.
- Rao, T. & Yeragani, V. (2009). Hypertensive crisis and cheese. *Indian J. Psychiatry*, 51(1), 65.
- Reichmann, H., Bilsing, A., Ehret, R., Greulich, W., Schulz, J., Schwartz, A. & Rascol, O. (2006). Ergoline and non-ergoline derivatives in the treatment of Parkinson's disease. *J. Neurol.*, 253(4), iv36-iv38.
- Repič, M., Kržan, M., Mavri, J. & Vianello, R. (2011). Irreversible inhibition of monoamine oxidase B by the antiparkinsonian medicines rasagiline and selegiline: a computational study. *Eur. J. Org. Chem.*, 2011(32), 6419-6433.
- Riveiro, M., De Kimpe, N., Moglioni, A., Vazquez, R., Monczor, F., Shayo, C. & Davio, C. (2010). Coumarins: old compounds with novel promising therapeutic perspectives. *Cur. Med. Chem.*, 17(13), 1325-1338.
- Rizek, P., Kumar, N. & Jog, M. (2016). An update on the diagnosis and treatment of Parkinson disease. *Can. Med. Assoc. J.*, 188(16), 1157-1165.
- Rodriguez-Oroz, M., Jahanshahi, M., Krack, P., Litvan, I., Macias, R., Bezard, E. & Obeso, J. (2009). Initial clinical manifestations of Parkinson's disease: features and pathophysiological mechanisms. *Lancet Neurol.*, 8(12), 1128-1139.

- Saura, J., Bleuel, Z., Ulrich, J., Mendelowitsch, A., Chen, K., Shih, J., Malherbe, P., Da Prada, M. & Richards, J. (1996). Molecular neuroanatomy of human monoamine oxidases A and B revealed by quantitative enzyme radioautography and in situ hybridization histochemistry. *Neuroscience*, 70(3), 755-774.
- Schade, R., Andersohn, F., Suissa, S., Haverkamp, W. & Garbe, E. (2007). Dopamine agonists and the risk of cardiac-valve regurgitation. *N. Engl. J. Med.*, 356(1), 29-38.
- Schleyer, P., Schreiner, P., Schaefer III, H., Jorgensen, W., Thiel, W., Glen, R., Allinger, L., Clark, T., Gasteiger, J. & Chandler, D. (1998). *Encyclopedia of computational chemistry*. John Wiley & Sons.
- Szabo, A. & Ostlund, N. (2012). *Modern quantum chemistry: introduction to advanced electronic structure theory*. Courier Corporation.
- Tathe, A., Gupta, V. & Sekar, N. (2015). Synthesis and combined experimental and computational investigations on spectroscopic and photophysical properties of red emitting 3-styryl coumarins. *Dyes Pigm.*, 119, 49-55.
- Tenorio-Barajas, A. Y. (2012). Fabricación de nanopartículas biopoliméricas para uso como potencial acarreador de antígenos de dengue.
- Tong, J., Meyer, J. H., Furukawa, Y., Boileau, I., Chang, L., Wilson, A. & Houle, S. (2013). Distribution of monoamine oxidase proteins in human brain: implications for brain imaging studies. *J.Cereb. Blood Flow Metab.*, 33(6), 863-871.
- Trist, B., Hare, D. & Double, K. (2019). Oxidative stress in the aging substantia nigra and the etiology of Parkinson's disease. *Aging Cell*, 18(6), e13031.
- UNAM. (2019). Padecen Parkinson más de 7 millones de personas en el mundo. <https://www.gaceta.unam.mx/padecen-parkinson-mas-de-7-millones-de-personas-en-el-mundo/>
- Valles, A., Rosales, L., Serrato, L. & Farías, L. (2014). Métodos y Usos de la Química Computacional. *Revista científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 6(11), 16-21.
- Weber, G. (1952). Zum Cholinesterasegehalt des Gehirns bei Hirntumoren und bei Parkinsonismus. *Bull. Schweiz Akad. Med. Wiss*, 8, 263-268.
- Weiner, P., Langridge, R., Blaney, J., Schaefer, R. & Kollman, P. (1982). Electrostatic potential molecular surfaces. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 79(12), 3754-3758.
- Willis, A. (2013). Parkinson disease in the elderly adult. *Mo. Med.*, 110(5), 406.
- Wu, L., Wang, X., Xu, W., Farzaneh, F. & Xu, R. (2009). The structure and pharmacological functions of coumarins and their derivatives. *Curr. Med. Chem.*, 16(32), 4236-4260.
- Youdim, M. & Bakhle, Y. (2006). Monoamine oxidase: isoforms and inhibitors in Parkinson's disease and depressive illness. *Br. J. Pharmacol.*, 147(S1), S287-S296.
- Youdim, M., Edmondson, D. & Tipton, K. (2006). The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors. *Nature reviews neuroscience*, 7(4), 295-309.

- Zahoor, I., Shafi, A. & Haq, E. (2018). *Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects*. Codon Publications.
- Zeller, V., Ramachander, G. & Zeller, E. (1965). Amine Oxidases. XXI. A Rapid Method for the Determination of the Activity of Monoamine Oxidase and Monoamine Oxidase Inhibitors. *J. of Med. Chem.*, 8(4), 440-443.