



Universidad Autónoma del Estado  
de Hidalgo

*Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería*

Área Académica de Química

*LICENCIATURA EN QUÍMICA*

## TESIS

Estudio teórico DFT de los derivados de cinamilos y  
quinoxalinas y su acoplamiento molecular con  
proteínas antiapoptóticas Bcl-2

Para obtener el título de  
LICENCIADA EN QUÍMICA

PRESENTA

Imelda Lizeth Lazcano Carrasco

**Director:** Dr. Julián Cruz Borbolla

**Co-Directora:** Dra. Rosa Luz Camacho Mendoza

Mineral de la Reforma, Hgo., México, 2025



Mineral de la Reforma, Hgo., a 13 de diciembre de 2024

Número de control: ICBI-D/2425/2024  
Asunto: Autorización de impresión.

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

Con fundamento en lo dispuesto en el Título Tercero, Capítulo I, Artículo 18 Fracción IV; Título Quinto, Capítulo II, Capítulo V, Artículo 51 Fracción IX del Estatuto General de nuestra Institución, por este medio le comunico que el Jurado asignado a la Egresada de la Licenciatura en Química **Imelda Lizeth Lazcano Carrasco**, quien presenta el trabajo de titulación "**Estudio teórico DFT de los derivados de cinamilos y quinoxalinas y su acoplamiento molecular con proteínas antiapoptóticas Bcl-2**", después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación, firman de conformidad los integrantes del Jurado:

**Presidente:** Dr. Carlos Zepactonal Gómez Castro

**Secretario:** Dr. José Marco Antonio Franco Pérez

**Vocal:** Dr. Julián Cruz Borbolla

**Suplente:** Dra. Rosa Luz Camacho Mendoza

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

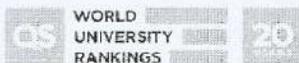
Atentamente  
"Amor, Orden y Progreso"

Mtro. Gabriel Vergara Rodríguez  
Director del ICBI



GVR/YCC

Ciudad del Conocimiento, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5 Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. C.P. 42184  
Teléfono: 771 71 720 00 Ext. 40001  
direccion\_icbi@uaeh.edu.mx,  
vergarar@uaeh.edu.mx



## Agradecimientos

Agradezco al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) (Hoy Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)) por el apoyo otorgado de la beca de “Ayudante de Investigador SNI III”.

Agradezco el tiempo de cómputo al Laboratorio Nacional de Cómputo de Alto Desempeño (LANCAD), a Xiuhcóatl y al proyecto de Sinergias número 1561802.

Al Laboratorio de Química Teórica y Computacional del Área Académica de Química de la UAEH. A Helio por el recurso computacional.

Al *Dr. Julián Cruz Borbolla*, quiero expresar mi más sincero agradecimiento por darme la oportunidad de comenzar mi vida científica, por confiar en mí, por ser mi asesor de tesis y compartirme su gran conocimiento. Su profesionalismo y entusiasmo han sido una gran inspiración.

A la *Dra. Rosa Luz Camacho Mendoza*, mi codirectora de tesis, por su invaluable orientación, paciencia y apoyo constante durante el proceso de investigación. Mi total admiración por su gran liderazgo.

Al *Dr. Carlos Zepactonal Gómez Castro*, por apoyarme en todo, por aportar a mi formación grandes conocimientos en el modelado molecular del cual quedé fascinada. Gracias por sus consejos, sus correcciones y por compartir su gran capacidad intelectual conmigo.

Quiero expresar mi agradecimiento al *Dr. Luis Ángel Zárate Hernández*, por su inestimable apoyo en los cálculos computacionales. Su disposición para brindarme su apoyo, correcciones, conocimiento y retroalimentación fueron cruciales para que este trabajo fuera más enriquecedor.

Al *Dr. José Marco Antonio Franco Pérez*, por aceptar trabajar conmigo en este proyecto. Gracias por brindarme su apoyo, su orientación y su gran conocimiento. Estoy feliz de trabajar con un rockstar de la Química Teórica.

Manifiesto mi más sincera gratitud a todos los integrantes del LQTyC: Dr. José Manuel Vásquez Pérez, Dr. Cinthia por su apoyo en mis primeros cálculos, a la Q. Angelly por su

amistad, al Q. Juan (el chico Python del lab) por su apoyo en el cálculo de BCPs, sus consejos y su gran amistad.

A mi mejor amigo de la universidad, Q. Uri, gracias por creer siempre en mí y por estos 8 años de amistad. Eres el mejor.

Finalmente, a mis padres Erasto Lazcano y Antonia Carrasco, por su amor y apoyo incondicional. A mi abue la Sra. Antonia Amador por ser mi ejemplo de vida. A mi hermano Jhovany por estar siempre presente. A Ricardo por patrocinar me la computadora en la que pude escribir esta gran creación.

## Dedicatoria

*A mi padre, por cruzar ríos, montañas y el desierto para que yo fuera una mejor persona.*

*A mi madre, por alimentarme, cuidarme y apoyarme para que yo fuera una profesionalista.*

*A mi hermano, el Ing. Jhovany, por darme las mejores lecciones de vida.*

*A mi pequeña Andy, por querer ser química como yo.*

*A mi pequeña Aby, por su forma de ser que me hace recordar cómo era yo.*

*Con amor, al Lic. Ricardo por nunca dejarme caer.*

*A mí, por la dedicación, el esfuerzo, la disciplina y mi gran pasión por la ciencia.*

*“Si he logrado ver más lejos ha sido porque he subido a hombros de gigantes”*

*Sir Isaac Newton*

## Resumen

Se realizó un estudio teórico de la reactividad química de los derivados de cinamilos y quinoxalinas empleando la Teoría Funcional de la Densidad (DFT). Los siete compuestos presentados en este trabajo; cuatro del tipo cinamilo y tres del tipo quinoxalina, se sometieron a dinámicas moleculares Born-Oppenheimer para su posterior optimización con diferentes funcionales ( $\omega$ B97XD, B3LYP, PBE y M06) usando el mismo conjunto de base 6-31+G\* con el programa Gaussian 16. La reactividad química fue evaluada mediante descriptores globales, locales y dependientes de temperatura, los cuales permitieron identificar los sitios más reactivos de cada molécula.

Los derivados antes mencionados, presentan actividad biológica ante células de cáncer de páncreas y participan en las cascadas de señalización de caspasas y de proteínas Bcl-2. Se llevó a cabo un estudio de acoplamiento molecular de estos compuestos fungiendo como ligantes en proteínas antiapoptóticas de la familia Bcl-2. Se analizó la energía de unión y la constante de afinidad de los complejos formados. Adicionalmente, se realizó dinámicas moleculares (DM) para los complejos Bcl-x1 – M3 y Bcl-x1 – M5. El complejo Bcl-x1 – M3 fue el que presentó los valores de afinidad y constante de inhibición más bajos, por el contrario, el complejo Bcl-x1 – M5, fue el que presentó las mejores energías de unión. La estabilidad de estos compuestos se analizó mediante la desviación de la raíz cuadrada media (RMSD), la distancia del centro de masa (distCOM) y la raíz media cuadrática de fluctuación (RMSF).

Finalmente, se analizó la naturaleza de las interacciones presentes en los complejos proteína – ligando estudiados anteriormente aplicando la Teoría Cuántica de Átomos en Moléculas (QTAIM, por sus siglas en inglés). Los resultados obtenidos respaldan la información de la dinámica molecular, sugiriendo que las interacciones débiles tienen una menor relevancia en la clasificación de estabilidad en comparación con los enlaces de hidrógeno. Además, el enfoque QTAIM propuesto proporcionó una metodología sólida para identificar las interacciones entre ligando y proteína.

## ÍNDICE

<b>Abreviaturas y símbolos</b> .....	1
<b>Capítulo 1. Antecedentes</b> .....	3
1.1    Proteínas de la familia Bcl-2.....	3
1.2    Cinamilos .....	7
1.3    Quinoxalinas .....	8
1.4    Objetivo General.....	10
1.4.1    Objetivos Específicos .....	10
1.5    Justificación .....	10
<b>Capítulo 2. Estudio de la Reactividad Química de los derivados de cinamilos y quinoxalinas empleando cDFT</b> .....	12
2.1    Teoría Funcional de la Densidad.....	12
2.2    Metodología Computacional.....	19
2.3    Resultados y Discusión.....	20
2.3.1    Propiedades estructurales de cinamilos y quinoxalinas.....	20
2.3.2    Propiedades electrónicas de cinamilos y quinoxalinas .....	23
2.3.3    Orbitales de frontera HOMO-LUMO .....	29
2.3.4    Función de Fukui y Descriptor Dual .....	31
2.3.5    Descriptores locales de reactividad .....	35
2.3    Conclusiones .....	38
<b>Capítulo 3. Acoplamiento Molecular y Dinámicas Moleculares de los derivados de cinamilos y quinoxalinas en proteínas antiapoptóticas de la familia Bcl-2</b> .....	40
3.1    Acoplamiento molecular .....	40
3.1.1    Fundamentos del acoplamiento molecular .....	41
3.1.2    Algoritmos de búsqueda.....	41
3.1.3    Funciones de Score .....	44
3.1.4    Tipos de Interacciones en el Acoplamiento Molecular .....	45
3.2    Metodología Computacional.....	46
3.2.1    Acoplamiento Molecular .....	46
3.2.2    Dinámica Molecular .....	48
3.3    Resultados y discusión.....	49
3.3.1    Acoplamiento molecular .....	49
3.3.2    Dinámica Molecular .....	59

3.4	Conclusiones .....	62
<b>Capítulo 4. Estudio de las interacciones proteína – ligando empleando la Teoría Cuántica de Átomos en Moléculas (QTAIM) .....</b>		
4.1	Átomos en Moléculas .....	64
4.2	Metodología Computacional.....	67
4.3	Resultados y discusión.....	68
4.4	Conclusiones .....	76
<b>Conclusiones Generales.....</b>		<b>78</b>
<b>Referencias.....</b>		<b>80</b>

## Abreviaturas y símbolos

AD	Auto Dock
ADT	AutoDockTools
AIM	Atoms in Molecules (Átomos en Moléculas)
Å	Angstrom
<i>A</i>	Afinidad Electrónica
Bak	Bcl-2 homologous antagonist/killer (Proteína antagonista/asesino homólogo de Bcl-2)
Bax	Bcl-2-like protein 4 (Regulador de apoptosis proteína 4)
Bcl-2	anti-apoptotic B-cell lymphoma-2 (Proteína Antiapoptótica de células B de linfoma-2)
Bcl-xl	B-cell lymphoma-extra large (Proteína de linfoma de células B extragrande)
BH3	Bcl-2 homology 3 domain (Proteína del dominio de homología 3 de Bcl-2)
B3LYP	Funcional híbrido de Becke con tres parámetros, Lee-Yang-Parr
DFT	Density Functional Theory (Teoría Funcional de la Densidad)
cDFT	Density Functional Theory conceptual (Teoría Funcional de la Densidad conceptual)
DD	Descriptor Dual
DM	Dinámica Molecular
DM-BO	Dinámica Molecular de Born-Openheimer
$\eta$	Dureza
$\eta_{\tau}$	Dureza local
$\omega$	Electrofilicidad
$\omega_k^+$	Electrofilicidad local
$\chi$	Electronegatividad de Mulliken
eV	electronvolts
fs	femtosegundos
FF	Función de Fukui
$f^+$	Función de Fukui para la adición de un electrón
$f^-$	Función de Fukui para la extracción de un electrón

$f^0$	Función de Fukui para un radical
FF	Force Field (Campo de Fuerza)
GA	Genetic Algorithm (Algoritmo Genético)
MPE	Mapas de Potencial Electrostático
MM	Mecánica Molecular
MC	Método de Monte Carlo
MOM	Membrana molecular mitocondrial
M06	Funcional híbrido de Truhlar y Zhao
ns	nanosegundos
PBE	Funcional de Perdew, Burke y Ernzerhof
$\omega^+$	Poder electrodonador
$\omega^-$	Poder electroaceptor
PES	Potential Energy Surface (Superficie de Energía Potencial)
PH	Puente de Hidrógeno
$I$	Potencial de ionización
$\mu$	Potencial químico electrónico
$\mu_e$	Potencial químico electrónico local
PT	Poros de Transición de permeabilidad mitocondrial
$S_k^+$	Suavidad local
$\omega$ B97XD	Funcional de Head-Gordon y colaboradores con una dispersión empírica

# Capítulo 1. Antecedentes

## 1.1 Proteínas de la familia Bcl-2

El ciclo celular es un complejo proceso de reproducción y muerte con la finalidad de obtener células hijas idénticas. El desenlace puede ocurrir de dos maneras: por necrosis; un proceso provocado por un daño tisular, radiación, entre otras, o bien por apoptosis, cuyo término proviene del griego “apo” (απο) que significa “separación” y “ptosis” (πτωσις) que significa “caída” asociado a la caída de las hojas de los árboles en otoño (Duque, 2005). La apoptosis es un mecanismo de muerte celular programado por medio de proteínas que activan las caspasas permitiendo liberar al citocromo *c* para dirigirse al citoplasma (Reed, 1998). En este proceso las proteínas de la familia Bcl-2 regulan la apoptosis mitocondrial mediante interacciones complejas sobre la membrana externa mitocondrial. Un grupo cisteína-aspartil proteasa provoca un mecanismo en donde el ADN es fragmentado. Los restos celulares son fagocitados por células vecinas de los tejidos para su eliminación silenciosa, es decir, no se crea una respuesta inmune (Czabotar & García, 2023). En los mamíferos la apoptosis es un proceso genéticamente determinado sin respuesta inflamatoria, regulado por estímulos intrínsecos (daño en el ADN) o por estímulos extrínsecos (respuestas inmunes), por lo cuales estas dos vías actúan sobre la membrana mitocondrial externa. Cuando la célula manda una señal de muerte, está será desintegrada por un grupo de proteasas llamadas caspasas. En los humanos se conocen al menos 11 tipos de caspasas, de las cuales de la 2 a la 10 son las encargadas de la regulación de la apoptosis (Ramírez et al., 2014).

Por otra parte, la relevancia de las proteínas de la familia Bcl-2 reside en que permeabilizan la membrana mitocondrial (MOM) para permitir la entrada de proteínas solubles como el citocromo *c* el cual se dirige hacia el citosol. El citocromo *c* promueve la activación de la caspasa-9 la cual es la iniciadora del empaquetamiento del ADN, para que posteriormente las caspasas 3 y 7 sean las ejecutoras (Chipuk et al., 2010).

También es pertinente destacar que la familia de proteínas Bcl-2 (*B-cell Lymphoma 2*), se identificaron por primera vez como una oncoproteína que contribuye a la creación de linfomas (Saxena et al., 2013). Estas proteínas regulan la permeabilidad de la membrana como se mencionó anteriormente. Esta familia está conformada por alrededor de 25

miembros donde todos tienen cuatro segmentos  $\alpha$ , llamados dominios BH. Esta familia se subclasifica de acuerdo a su homología y función:

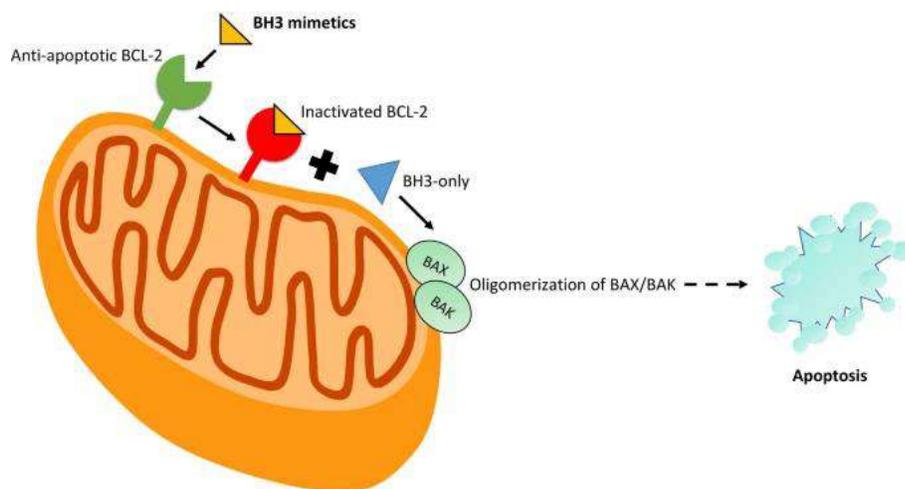
- ✓ *Antiapoptóticas*: como Bcl-2, Bcl-xl, Bcl-w, Mcl-1 y A1; estos inhiben la muerte celular mediante la interacción con proteínas proapoptóticas limitando la permeabilidad de la membrana celular para evitar la liberación del citocromo *c*.
- ✓ *Proapoptóticas*: Bax y Bak; se adhieren a la membrana celular permitiendo la dilatación de los poros y liberando el citocromo *c*. Bax se localiza en el citosol y Bak en la MOM.
- ✓ *Dominio BH3*: son proteínas Bcl-2 que comparten este dominio BH3 (Noxa, Bfm, Bik), interactúan con proteínas antiapoptóticas para antagonizar su función y activan a Bax y Bak para promover su función. Estas proteínas son conocidas como ‘sensibilizadores/activadores’.

En las últimas décadas se ha tratado de explicar cómo esta clase de proteínas organizan las señales para inducir la muerte celular, sin embargo, la acción de estas proteínas aún sigue difícil de explicar. La muerte celular inducida por proteínas de esta familia tiene sus beneficios en la homeostasis de tejidos, el desarrollo embrionario y la maduración de células sanguíneas (García, 2012).

Por lo que con fundamento en estos hechos resulta objeto de interés en este trabajo describir con detalle las proteínas antiapoptóticas particularmente Bcl-2 y Bcl-xl.

En este contexto, *anti-apoptotic B-cell lymphoma-2 (Bcl-2)* está presente en una amplia gama de células hematopoyéticas y células neuronales (Kaloni et al., 2023). Esta proteína está presente de manera equilibrada para regular la apoptosis en un sistema sano. Su participación es de suma importancia para evitar muerte celular no programada. Por el contrario, *B-cell lymphoma-extra large (Bcl-xl)* se expresa durante el desarrollo embrionario. Un déficit de éstas, provoca una apoptosis incontrolable de células inmaduras. Ambas tienen una vida media estable de aproximadamente 20 h. Estas proteínas están reguladas normalmente por factores de transcripción como el factor nuclear beta (NF- $\kappa$ B). Están presentes en el poro mitocondrial (PT), el cual es un canal de contacto entre las membranas internas y externas. Este PT regula la entrada y salida de los iones  $\text{Ca}^{2+}$ , pH, la conductancia de la membrana y

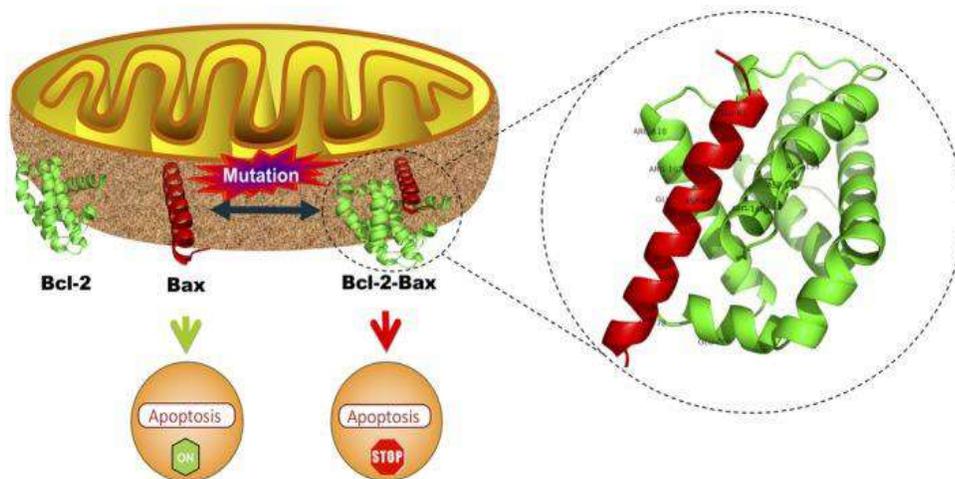
la bioenergía de las mitocondrias (Saxena et al., 2013). Este tipo de proteínas son llamadas guardianes de supervivencia ya que su sobreexpresión inhibe la muerte celular, por lo que deben neutralizarse para que se realice la apoptosis adecuada cuando una célula ya cumplió su ciclo de vida. Estas proteínas interactúan con una alta afinidad sobre proteínas de la subfamilia *Bcl-2 homology 3 domain (BH3)* secuestrándolas para evitar su activación (Figura 1). Esta interacción da lugar a los sitios hidrofóbicos de Bcl-2 (o Bcl-xl) y BH3 formando un puente salino entre una arginina. Investigaciones subyacentes han dado como resultado el estudio y desarrollo de moléculas pequeñas que imitan la actividad de un mimético BH3 con el objetivo de unirse sobre el sitio activo de Bcl-2 y Bcl-xl para que éstas liberen a las proteínas proapoptóticas y se lleve a cabo la apoptosis en células cancerígenas. Por lo tanto, la molécula nueva imitará la actividad de los miembros de la familia ‘sensibilizadora’ y las proteínas antiapoptóticas serán neutralizadas (Czabotar & Garcia, 2023). Bcl-2 y Bcl-xl también pueden evitar la actividad de Bax y Bak.



*Figura 1. Ruta de acción mimética de BH3 para iniciar la cascada apoptótica mediante la oligomerización de BAX y BAK. Imagen recuperada de Ploumaki et al., 2023.*

Las estructuras de Bax y Bak son similares a Bcl-2 antiapoptóticas, con la diferencia de que estas son lábiles y sufren cambios conformacionales de tal manera que permita la oligomerización y la formación de poros en la MOM como parte de su activación. Bax puede

interactuar con todas las proteínas Bcl-2 antiapoptóticas, sin embargo, Bak solo puede interactuar con Bcl-xl. Estas interacciones evitan el paso de oligomerización dando lugar a la formación de un homodímero (una combinación entre una proteína pro y antiapoptótica) y así, tanto Bax y Bak no son participes en los procesos de permeabilidad de MOM (Ver Figura 2) (Kaloni et al., 2023).



*Figura 2. Representación de la formación del heterodímero Bcl-2-Bax el cual inhibe la apoptosis bloqueando los poros de la membrana celular, mientras que la estructura Bax (roja) libre promueve la apoptosis. Imagen recuperada de Raghav et al., 2019*

#### *Bcl-2 y Bcl-xl: proteínas prometedoras para tratamiento del cáncer*

El cáncer es un importante problema de salud mundial debido a sus altas tasas de mortalidad. El cáncer de páncreas es considerado uno de los tumores más agresivos ya que en fases iniciales puede ser asintomático lo que dificulta su diagnóstico. En etapas más avanzadas de la enfermedad, se empiezan a presentar síntomas como ictericia, pérdida de peso, dolor abdominal agudo, náuseas y vómito, orina oscura, cansancio, coágulos sanguíneos, aparición de diabetes o, en caso de tenerla, descontrol de la misma (National Cancer Institute [NIH], 2023). En México representa la decimosegunda causa de cáncer, diagnosticando 4,490 casos al año, representando el 4.9% de las defunciones oncológicas en el país de acuerdo a lo datos reportados por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) en 2015 (Sánchez et al., 2021). En Estados Unidos de América, el cáncer de páncreas es la cuarta causa principal de muerte por cáncer debido a una detección tardía y una alta resistencia a tratamientos quimioterapéuticos con una tasa de supervivencia inferior al 5% (Wang et al, 2022).

Alrededor de los 35 mil casos diagnosticados en ese país, el 95% de estos mueren en los primeros 5 años en que se presenta la enfermedad (Franssen & Chan, 2011).

Una de las líneas celulares cancerígenas más importantes que pueden afectar al páncreas de manera descontrolada es la línea celular de cáncer de páncreas 1 (PANC-1). Esta línea celular puede dar lugar a una neoplasia muy agresiva conocida como adenocarcinoma. Estudios han demostrado que en diferentes tipos de cáncer hay una sobreexpresión descontrolada de miembros antiapoptóticos, los cuales son los encargados de la resistencia a diversos tipos de fármacos.

Por esta razón, en los últimos años, esta clase de proteínas se han estudiado como dianas farmacológicas para el desarrollo y diseño de nuevos fármacos anticancerígenos.

Una disminución de proteínas Bax y Bak y una sobreexpresión anormal de Bcl-2 y Bcl-xl, provoca resistencia a un gran espectro de agentes quimioterapéuticos y radioterapia, favoreciendo la supervivencia de células tumorales. Aproximadamente 3% de los cánceres humanos de diferentes orígenes están relacionados con una amplificación de Bcl-xl. En estudios recientes se ha demostrado que Bcl-xl se sobreexpresa en linfomas y leucemias (García, 2012). De acuerdo a estos estudios, se han propuesto pequeñas moléculas que funcionen como inhibidores de estas proteínas bloqueando su función. Navitoclax (ABT-263) y Venetoclax (ABT-199) son fármacos experimentales que ya están dentro del mercado para el tratamiento de leucemias agudas y crónicas o para personas con resistencia a otros medicamentos en linfomas. Estos compuestos actúan como miméticos de BH3 por lo que bloquean la actividad antiapoptótica de Bcl-2 y Bcl-xl favoreciendo la muerte celular programada en células cancerígenas.

## 1.2 Cinamilos

Numerosos estudios han demostrado que compuestos derivados de la curcumina poseen diversas propiedades farmacológicas como lo son: actividades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas. Sin embargo, su utilidad clínica está limitada debido al metabolismo de la curcumina en el organismo, ya que resulta una baja biodisponibilidad oral (Zhou et al., 2014). Es por ello, que en la última década se ha estudiado compuestos sintéticos análogos a la curcumina, con mejores actividades farmacológicas, como lo son los cinamilos. Es un hecho que los cinamilos (1,6-diarilhexa-1,5-dieno-3,4-dionas) son precursores útiles

para la síntesis orgánica de otros compuestos de interés industrial y farmacológico como triazinas, cicloheptanos, imidazoles, oligopiridinas, quinoxalinas entre otros (Figura 3). Se pueden sintetizar a partir del mecanismo de reacción de Claisen-Schmitt mediante una condensación de diacetilo y benzaldehído en una proporción molar 1:2 con acetato de piperidinio como catalizador alcalino (Luo & Lim, 2019). Son utilizados para los materiales que presentan fotoluminiscencia debido a que son compuestos planos y altamente conjugados.

Por otra parte, Wang y colaboradores recientemente reportaron (Wang et al., 2022) la evaluación de la actividad anticancerígena de compuestos derivados de cinamilos y quinoxalinas ante la línea celular de cáncer pancreático 1 (PANC-1), observándose que los compuestos cinamilos presentaron una mejor actividad biológica de acuerdo al parámetro  $IC_{50}$ . Adicionalmente, se mostró por el análisis de Western Blot, que estos compuestos interfieren en las cascadas de señalización de proteínas Bcl-2 antiapoptóticas y Bax, así como la cascada de caspasas que son clave para la muerte celular. Por lo que se puede inferir, que estos compuestos pueden inhibir la actividad de estas proteínas y favorecer la apoptosis.

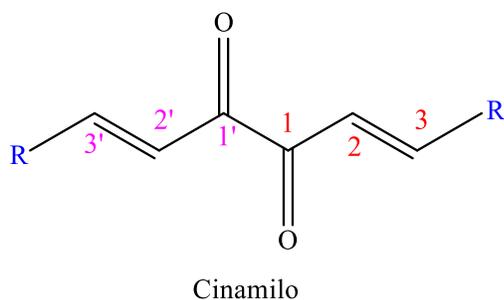


Figura 3. Estructura base de los cinamilos sintetizados por Wang y colaboradores (Wang et al., 2022).

### 1.3 Quinoxalinas

La quinoxalina, también llamada benzopirazina como se observa en la Figura 4, es un compuesto formado por un anillo de benceno y un anillo pirazina (Tariq et al., 2018). Es un compuesto sólido cristalino blanco, con un punto de fusión de 29-30°C y solubles en agua. Posee un pKa muy ácido ( $pK_a=0.56$ ), por lo que al contacto con ácidos forma sales. Su fórmula molecular es  $C_8H_6N_2$  (Montana et al., 2019). Las quinoxalinas pueden sintetizarse por diversos mecanismos de reacción. El método clásico consiste en condensar la o-

fenilendiamina con un compuesto dicarbonílico (como un cinamilo) a temperaturas altas. Sus derivados son materiales coloreados y fluorescentes debido a su geometría plana y altamente conjugada, por lo que son usados como indicadores fotoquímicos (Luo & Lim, 2019). Las quinoxalinas diversamente sustituidas con grupos funcionales de diferente naturaleza, han sido objeto de estudio en la química médica debido a que han mostrado un amplio espectro de actividades biológicas como: antibacterial, antiviral, antiinflamatoria, anticancerígena y herbicida (Abbas et al., 2017). Algunos derivados de quinoxalinas ya han sido estudiados en ensayos clínicos para el tratamiento de diversos tipos de cáncer. El compuesto XK469 ((±)2-[4-(7-cloro-2-quinoxaliniloxi)fenoxil]ácido propanoico) son selectivos para el envenenamiento de la topoisomerasa II para la destrucción del ADN (Bayoumi et al., 2019). Sin embargo, este compuesto está siendo estudiado para la inducción de procesos apoptóticos, debido a que la inhibición de proteínas Bcl-2 está siendo una alternativa muy prometedora para la destrucción de células cancerígenas.

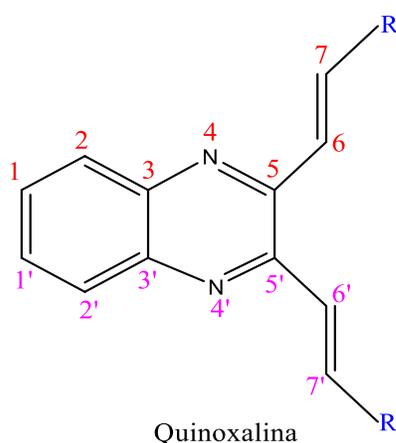


Figura 4. Estructura base de los derivados de quinoxalinas sintetizados por Wang y colaboradores (Wang et al., 2022).

## 1.4 Objetivo General

Analizar la reactividad y propiedades químicas de los derivados de cinamilos y quinoxalinas mediante la Teoría Funcional de la Densidad conceptual (cDFT) para comprender su naturaleza molecular y perfil de reactividad. Así mismo, evaluar su potencial inhibitorio frente a proteínas antiapoptóticas de la familia Bcl-2 a través de estudios de acoplamiento molecular y simulaciones de dinámica molecular, caracterizando las interacciones clave mediante la Teoría Cuántica de Átomos en Moléculas. (QTAIM).

### 1.4.1 *Objetivos Específicos*

- Estudiar la reactividad de los derivados de cinamilos y quinoxalinas mediante descriptores globales, locales y dependientes de la temperatura, para comprender la naturaleza química de los compuestos empleando DFT conceptual.
- Analizar la afinidad de las interacciones de los derivados de cinamilos y quinoxalinas en proteínas antiapoptóticas Bcl-2 y Bcl-x1, mediante cálculos de acoplamiento y simulaciones de dinámica molecular, incluyendo el análisis de la estabilidad de los complejos proteína – ligando mediante cálculos de RMSD, RMSF y la distancia del centro de masa.
- Caracterizar las interacciones proteína – ligando con la teoría cuántica de átomos en moléculas brindando información detallada sobre la naturaleza y tipo de enlaces.

## 1.5 Justificación

La búsqueda de nuevos fármacos para los tratamientos contra el cáncer ha cobrado una relevancia creciente debido a la alta resistencia observada a terapias convencionales como la quimioterapia y radioterapia. Esta resistencia ha impulsado el interés en la búsqueda de nuevos compuestos con actividad anticancerígena que ofrezca una mejor eficacia. En este contexto, los compuestos derivados de cinamilos y quinoxalinas se presentan como candidatos prometedores debido a sus propiedades anticancerígenas y como posibles inhibidores de proteínas antiapoptóticas Bcl-2, las cuales juegan un papel crucial en la resistencia a tratamientos y supervivencia de células tumorales. El análisis teórico de la reactividad química y su interacción con proteínas Bcl-2 mediante el modelado molecular, proporcionara un enfoque sólido para el diseño de fármacos asistidos por computadora. Los hallazgos pueden informar cómo estos compuestos pueden ser dirigidos a Bcl-2 ofreciendo

conocimiento sobre los mecanismos moleculares. En conclusión, esta investigación es de gran importancia para comprender como los compuestos de cinamilos y quinoxalinas pueden actuar como inhibidores potenciales de proteínas antiapoptóticas Bcl-2, buscando alternativas para el tratamiento del cáncer.

## Capítulo 2. Estudio de la Reactividad Química de los derivados de cinamilos y quinoxalinas empleando cDFT

En este capítulo se discute el estudio teórico de la reactividad química de los derivados de cinamilos y quinoxalinas, los cuales presentan actividad biológica en células de cáncer de páncreas.

Se sabe que la reactividad química es la capacidad de una sustancia para reaccionar con otra y formar nuevas especies químicas. Es fundamental estudiar la reactividad química desde la perspectiva de la estructura electrónica, ya que describe la distribución de los electrones en una molécula y determina cómo sus átomos interactúan entre sí para formar un compuesto mediante un enlace químico.

La estructura electrónica de un átomo dicta su comportamiento químico debido a los siguientes factores: la *configuración electrónica*, la cual, define que átomo o átomos pueden ganar, perder o compartir electrones; la *electronegatividad*, es la capacidad de un átomo de atraer electrones hacia sí mismo; la *geometría molecular*, describe la disposición tridimensional de los átomos en una molécula para comprender como interactúan a partir de la repulsión de los pares de electrones enlazantes y no enlazantes, y por último; los *orbitales moleculares*, estudian la distribución de los electrones y determinan la fuerza y naturaleza de los enlaces formados.

### 2.1 Teoría Funcional de la Densidad

La Teoría Funcional de la Densidad (DFT, *Density Functional Theory*), es comúnmente utilizada para el estudio de la reactividad química de diversos sistemas moleculares. Se basa en los teoremas de Hohenberg y Kohn, en donde el segundo teorema formula un principio variacional donde establece que la densidad del estado fundamental es aquella densidad que minimiza la energía del sistema para un número fijo de electrones (Ec. 1):

$$\delta \left( E[\rho(\mathbf{r})] - \mu \int \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \right) = 0 \quad (1)$$

Donde  $\mu$  es un multiplicador de Lagrange asociado con la restricción de un número constante de electrones (Hohenberg & Kohn, 1964). Esta ecuación conduce a una ecuación DFT análoga de la ecuación de Schrödinger (Ec. 2):

$$\mu = v(\mathbf{r}) + \frac{\delta F}{\delta \rho(\mathbf{r})} \quad (2)$$

Donde  $v(\mathbf{r})$  es el potencial externo y  $F$  el funcional de Hohenberg-Kohn, el cual contiene la energía cinética y de repulsión electrón-electrón. Kohn y Sham reescribieron esto como una ecuación orbital de la siguiente manera (Ec. 3) (Kohn & Sham, 1965):

$$\left[ -\frac{1}{2} \nabla^2 + v(\mathbf{r}) + v_{xc}(\mathbf{r}) + \int \frac{\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}' \right] \psi_i = \epsilon_i \psi_i \quad (3)$$

En la Ec. 3,  $\psi_i$  son los orbitales de Kohn-Sham, cuyos cuadrados deben sumar la densidad electrónica total de un sistema (Ec. 4) (Proft, & Geerlings, 2001):

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_i |\psi_i|^2 \quad (4)$$

Por otro lado, Parr desarrolló la DFT conceptual (cDFT) (Proft, & Geerlings, 2001), en la cual la densidad electrónica es la cantidad fundamental para describir el comportamiento químico de un sistema mediante los descriptores de reactividad global y local, los cuales predicen el comportamiento químico de un sistema.

Los descriptores globales de reactividad permiten medir de manera global un sistema que está sometido a diferentes perturbaciones (Proft & Geerlings, 2001). A continuación, se describirán de manera sucinta los descriptores globales, locales y dependientes de la temperatura que se usaron para el estudio de la reactividad en este trabajo

- *Potencial de Ionización (I)*: es la energía necesaria para remover un electrón de un orbital atómico o molecular. Esta energía se puede aproximar a la energía del HOMO, de acuerdo al “Teorema de Janak”, propuesto por Janak en 1978 (Janak, 1978), en el que establece una relación directa entre los orbitales moleculares y el funcional de energía en el marco DFT. Este teorema sugiere que, en una aproximación de estado fundamental (cuando una molécula está en su estado de más baja energía), las energías

de los orbitales moleculares pueden obtenerse a partir de la derivada del funcional de energía con respecto a la ocupación de los orbitales de frontera. Por lo tanto, la energía del HOMO es la derivada de la energía total del sistema con respecto a la ocupación de este orbital específico, entonces podemos decir, que el potencial de ionización se aproxima a la energía del HOMO, es decir la energía necesaria para remover un electrón de la molécula es casi igual a la energía del orbital molecular más alto ocupado (Ec.5). Este descriptor, también puede calcularse con la diferencia de la energía total del sistema en su estado neutro ( $N$ ) y en su estado ionizado ( $N - 1$ ) (Ec. 6).

$$I = -E_{HOMO} \quad (5)$$

$$I = E_{N-1} - E_N \quad (6)$$

- *Afinidad Electrónica (A)*: es la energía requerida para aceptar un electrón, es decir, es la susceptibilidad de la molécula para ganar electrones. Se puede estimar como la energía del orbital de menor energía desocupado LUMO, ya que es el orbital disponible para ser ocupado por electrones, en el teorema de Janak se sugiere que la energía del LUMO se puede aproximar como la derivada de la energía total con respecto a la ocupación de este orbital. Entonces si la molécula está en su estado fundamental (neutra), la energía de captura de un electrón se aproxima a la energía de ese LUMO (Ec. 7). La afinidad electrónica también se puede obtener como la diferencia de energía entre la molécula neutra ( $N$ ) y el anión ( $N + 1$ ) (Ec.8):

$$A = -E_{LUMO} \quad (7)$$

$$A = E_N - E_{N+1} \quad (8)$$

- *Potencial químico ( $\mu$ )*: se define como la primera deriva de la energía con respecto al número total de electrones a potencial externo constante  $v(\mathbf{r})$  (López et al., 2016) (Ec. 9).

$$\mu = \left( \frac{\partial E}{\partial N} \right)_{v(\mathbf{r})} \quad (9)$$

El potencial químico electrónico corresponde a la capacidad de un sistema para donar electrones. Esta transferencia de electrones ocurre desde una especie con un potencial

químico más alto hacia una especie con un potencial químico más bajo (López et al., 2016). Una aplicación numérica del potencial químico electrónico es mediante  $I$  y  $A$  (Ec. 10).

$$\mu = -\frac{I + A}{2} \quad (10)$$

La (Ec. 10) puede calcularse en términos de las energías de los orbitales basadas en la aproximación de diferencias infinitas de tres puntos y el teorema de Koopmans (Ec. 8) (Domingo et al., 2016):

$$\mu = \frac{\varepsilon_{LUMO} + \varepsilon_{HOMO}}{2} \quad (11)$$

- *Electronegatividad de Mulliken ( $\chi$ )*: es la medida de la resistencia a la pérdida de densidad electrónica. Se define como lo inverso al potencial químico (Ec. 12).

$$\chi = -\mu \quad (12)$$

- *Dureza ( $\eta$ )*: se define como la segunda derivada de la energía respecto al número total de electrones a potencial externo constante (Ec.13) (López et al., 2016).

$$\eta = \left( \frac{\partial^2 E}{\partial N^2} \right)_{v(r)} \quad (13)$$

También se puede expresar en términos de  $I$  y  $A$  (Ec. 14) y con las energías de los orbitales de frontera (Ec. 15).

$$\eta = I - A \quad (14)$$

$$\eta = \varepsilon_{LUMO} - \varepsilon_{HOMO} \quad (15)$$

La dureza mide la resistencia de sufrir un cambio en su densidad electrónica.

- *Blandura ( $S$ )*: se define como lo inverso a la dureza (Ec. 16). Las moléculas blandas tienen a sufrir cambios en su densidad electrónica más fácilmente.

$$S = \frac{1}{\eta} \quad (16)$$

- *Electrofilicidad ( $\omega$ )*: máxima estabilización de la energía cuando el sistema adquiere carga electrónica adicional que proviene de los alrededores (Ec. 17) (Chattaraj & Giri, 2009)

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (17)$$

- *Poder electroceptor y electrodonador* ( $\omega^+$  y  $\omega^-$ ): miden que tan propenso es el sistema para aceptar o donar carga al sistema. Se pueden calcular mediante una aproximación definida por  $I$  y  $A$  (Ec. 18) y (Ec. 19) (Gázquez et. al, 2007).

$$\omega^+ = \frac{(I + 3A)^2}{16(I - A)} \quad (18)$$

$$\omega^- = \frac{(3I + A)^2}{16(I - A)} \quad (19)$$

- *Función de Fukui (FF)*: la función de Fukui representa el cambio en la densidad electrónica en un punto  $\mathbf{r}$  con respecto a la variación del número de electrones  $N$  con un potencial externo  $v(\mathbf{r})$  constante (Ec. 20):

$$f(\mathbf{r}) = \left( \frac{\partial \rho(\mathbf{r})}{\partial N} \right)_{v(\mathbf{r})} \quad (20)$$

La (Ec. 20) presenta un problema de discontinuidad, por lo que la FF se calcula con tres aproximaciones (Domingo et al., 2016):

$$f^+(\mathbf{r}) = \left( \frac{\partial \rho(\mathbf{r})}{\partial N} \right)_{v(\mathbf{r})}^+ = \rho_{N+1}(\mathbf{r}) - \rho_N(\mathbf{r}) \quad (21)$$

$$f^-(\mathbf{r}) = \left( \frac{\partial \rho(\mathbf{r})}{\partial N} \right)_{v(\mathbf{r})}^- = \rho_N(\mathbf{r}) - \rho_{N-1}(\mathbf{r}) \quad (22)$$

$$f^0(\mathbf{r}) = \frac{1}{2} [f^+(\mathbf{r}) + f^-(\mathbf{r})] \quad (23)$$

$f^+(\mathbf{r})$  es la FF electrofílica, un valor grande indica que el sitio es favorable a aceptar electrones (ataque nucleofílico),  $f^-(\mathbf{r})$  es la función nucleofílica, los valores grandes indican que ese sitio de la molécula es favorecido para la donación electrónica (ataque electrofílico), y, por último  $f^0(\mathbf{r})$ , describe un ataque por un radical y se obtiene como el promedio aritmético de la Fukui electrofílica y nucleofílica.

- *Descriptor Dual (DD)*: Morrell y colaboradores (Martínez, 2015) propusieron al DD como un nuevo descriptor de reactividad local, el cual se define como la derivada parcial de segundo orden de la densidad electrónica  $\rho(\mathbf{r})$  con respecto al número de electrones (Ec. 24):

$$f^2(\mathbf{r}) = \left( \frac{\partial^2 \rho(\mathbf{r})}{\partial N^2} \right)_{v(\mathbf{r})} \quad (24)$$

El DD también se puede definir como la diferencia entre  $f^+(\mathbf{r})$  y  $f^-(\mathbf{r})$  (Ec. 25):

$$\Delta f = f^+(\mathbf{r}) - f^-(\mathbf{r}) \quad (25)$$

Para estudiar la reactividad a partir de este descriptor local, basta con entender que valores donde  $\Delta f > 0$  van indicar un comportamiento electrofílico, y valores donde  $\Delta f < 0$  serán sitios nucleofílicos (Martínez, 2015).

- *Mapeo de los Orbitales moleculares de frontera (HOMO y LUMO)*: los orbitales de frontera permiten analizar la posible reactividad en una región de la molécula. Los orbitales HOMO y LUMO son funciones espaciales asociadas a un valor de energía que determinan la forma en que la molécula interacciona con otras especies. HOMO es el orbital ocupado de mayor energía y actúa como donador de electrones ya que tienden a dar los electrones que se encuentran en él. Por otro lado, el orbital LUMO se define como el orbital desocupado de menor energía, por lo que está susceptible a recibir electrones. Por lo tanto, la distribución y forma de los orbitales dan una idea de los sitios potencialmente capaces de reaccionar a ataques electrofílicos (HOMO) y nucleofílicos (LUMO), por lo que la distribución, forma y tamaño de los lóbulos en los orbitales nos indican estos sitios de reactividad específica (López et al., 2016).

Los descriptores locales nos permiten estudiar la reactividad química de manera puntual sobre un átomo en una molécula. Los descriptores empleados se describen a continuación:

- *Mapas de Potencial Electrostático (MPE)*: los MPE muestran la fuerza de atracción o repulsión que experimenta una partícula cargada positivamente cuando esta interactúa con la superficie de una molécula. Mediante un mapeo de la distribución de la densidad de carga se puede identificar las regiones en donde se carece o se tiene un exceso de dicha densidad (nube de electrones). Las regiones que carecen de densidad electrónica suelen ser susceptibles a ataques con especies ricas en electrones, por lo que se puede interpretar si una región de la molécula se comporta como un electrófilo o nucleófilo. Los MPE permiten visualizar el efecto que tienen los grupos funcionales dentro del sistema molecular (Rodríguez, 2022).

- *Blandura local* ( $S_k^+$ ): es un descriptor local que está relacionada con la función de Fukui para un ataque nucleofílico por la suavidad global  $S$  (Ec. 26).

$$S_k^+ = f_k^+ S \quad (26)$$

- *Electrofilicidad local* ( $\omega_k^+$ ): este concepto fue propuesto por Chattaraj et al. (2009), el cual puede predecir el sitio más electrofílico de una manera más puntual dentro de una molécula, el cual corresponderá al valor máximo de  $\omega_k^+$  (Ec. 27):

$$\omega_k^+ = f_k^+ \omega \quad (27)$$

De acuerdo con el trabajo desarrollado por Franco y sus colaboradores en 2022 (Franco et al., 2020) proponen obtener descriptores dependientes de la temperatura, los cuales son definidos a temperaturas bajas, a continuación, se describirán los utilizados en este trabajo:

- *Potencial químico local* ( $\mu_e$ ): la expresión del potencial químico local dependiente de la temperatura en la cual está en términos del potencial de ionización local, la afinidad electrónica local y la electronegatividad de Mulliken local (Ec. 28).

$$\mu_e(\mathbf{r}) = \begin{cases} \mu^-(\mathbf{r}) = -If^-(\mathbf{r}) & \text{para } \omega < 0 \\ \mu^+(\mathbf{r}) = -Af^+(\mathbf{r}) & \text{para } \omega > 0 \\ \mu^0(\mathbf{r}) = -\frac{1}{2}(If^-(\mathbf{r}) + Af^+(\mathbf{r})) & \text{para } \omega = 0 \end{cases} \quad (28)$$

El potencial químico local es una cantidad más conveniente de analizar con respecto al potencial químico global en el comportamiento ácido-base de diferentes grupos funcionales. El valor  $If^-(\mathbf{r})$  ha demostrado ser una buena descripción de los sitios más propensos a ataques del tipo electrofílico. De manera similar  $Af^+(\mathbf{r})$ , es un indicador local para identificar sitios nucleofílicos, donde  $f$  es la función de Fukui del átomo de estudio (Franco et al., 2020).

- *Dureza local* ( $\eta_\tau$ ): se define en términos de la dureza de Parr-Pearson y el descriptor dual (Ec. 29) (Franco et al., 2020):

$$\eta_{\tau}(\mathbf{r}) = \begin{cases} \eta_{PP}(\mathbf{r}) - \frac{1}{2}\eta\Delta f(\mathbf{r}) & \text{para } \omega = -1 \\ \eta_{PP}(\mathbf{r}) + \frac{1}{2}\eta\Delta f(\mathbf{r}) & \text{para } \omega = +0 \\ \eta(\mathbf{r}) & \text{para } \omega = 0 \end{cases} \quad (29)$$

Donde  $\eta_{PP}(\mathbf{r})$  esta definida por la siguiente ecuación (Ec.30):

$$\eta_{PP}(\mathbf{r}) = If^{-}(\mathbf{r}) - Af^{+}(\mathbf{r}) \quad (30)$$

## 2.2 Metodología Computacional

De acuerdo a los datos experimentales reportados (Wang et al., 2022) se seleccionan siete compuestos que presentaron actividad anticancerígena en la línea celular PANC-1 (cáncer de páncreas). Este grupo de compuestos está conformado por cuatro del tipo cinamilo y tres del tipo quinoxalina (Ver *Tabla 2*, en la sección de Resultados Experimentales).

Las moléculas se construyen con el software Avogadro. Posteriormente se realiza una búsqueda estocástica del conformero de mínima energía para todas las moléculas mediante Dinámicas Moleculares de Born-Oppenheimer (DMBO) (Niklasson, 2008) en demon2k (Koster et al., 2018). Las dinámicas se corren a una temperatura de 600 K considerando 700 pasos de simulación a 2 fs a fin de obtener el mayor número de rotámeros. Las moléculas de mínima energía seleccionadas de la DMBO, se optimizan en fase gaseosa con el software Gaussian 16 (Frisch et al., 2019) empleando diferentes funcionales:  $\omega$ B97XD (Chai & Head-Gordon, 2008), B3LYP (Becke, 1993), PBE (Ernzerhof & Scuseria, 1999) y M06 (Zhao & Truhlar, 2008) usando el mismo conjunto de base 6-31+G\* (Hehre et al., 1972) para todos los funcionales. Además, se calculó la segunda derivada para corroborar las geometrías mínimas en la superficie de energía potencial para todas las moléculas. Una vez obtenidas las moléculas optimizadas, se realiza el estudio teórico de la reactividad química de los compuestos mediante los descriptores globales como el potencial de ionización ( $I$ ), la afinidad electrónica ( $A$ ), potencial químico electrónico ( $\mu$ ), y la dureza ( $\eta$ ), calculando  $I$  y  $A$  de forma vertical, es decir, calculando con la energía de las estructuras ionizadas sin relajación de las posiciones atómicas y empleando el teorema de Janak mediante las ecuaciones (Ec. 5-19). Los descriptores locales se obtienen a partir de las ecuaciones (Ec. 20-27). Por último, los descriptores dependientes de la temperatura se calcularon a partir de las ecuaciones (Ec. 28-30). Para estudiar los efectos del solvente en los sistemas, se realiza una

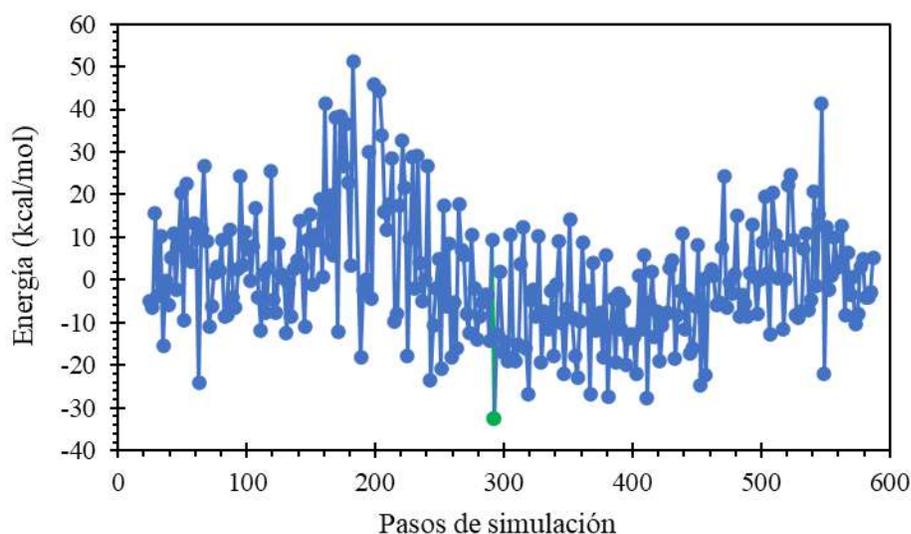
optimización en fase acuosa utilizando el modelo de solvatación SMD (Solvation Model based on Density) con el funcional de intercambio y correlación  $\omega$ B97XD y la función base 6-31+G\* (Chai & Head-Gordon, 2008) para todos los átomos.

Para un análisis cualitativo de la reactividad química de los compuestos en estudio, se usan representaciones gráficas de funciones que dependen de la estructura electrónica como el mapeo de los orbitales moleculares de frontera (HOMO-LUMO), los mapas de potencial electrostático (MPE), así como las funciones de Fukui FF y el descriptor dual (DD) utilizando MultiWFN (Lu et al, 2011) y VMD (Humphrey et al, 1996).

## 2.3 Resultados y Discusión

### 2.3.1 Propiedades estructurales de cinamilos y quinoxalinas

Inicialmente se realizaron cálculos de dinámica molecular de Born-Oppenheimer, con el objetivo de encontrar las estructuras de mínima energía de los siete compuestos. A manera de ejemplo, en la Gráfica 1, se muestra la trayectoria de la dinámica molecular para el compuesto M5 a 600 K, de la cual se selecciona la estructura resaltada en color verde para su optimización.



*Gráfica 1. Trayectoria de la dinámica molecular Born-Oppenheimer para el compuesto M5. El punto seleccionado en verde es la estructura de mínima energía para este sistema.*

Los resultados obtenidos para el grupo cinamilo en los compuestos M1 a M4 revelaron distancias C–O de 1.22 Å y distancias C1–C2 en el rango de 1.46 a 1.47 Å. Estas distancias

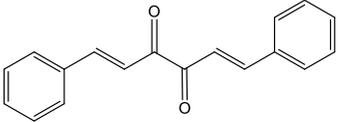
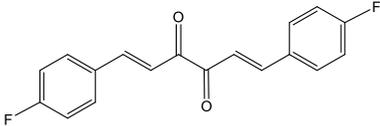
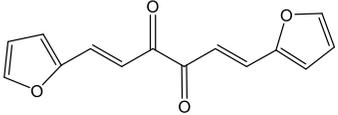
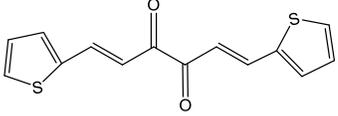
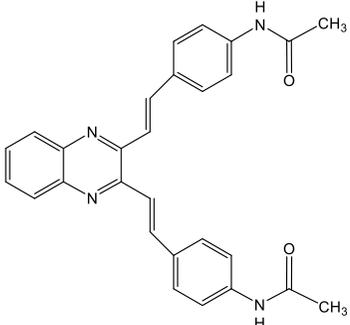
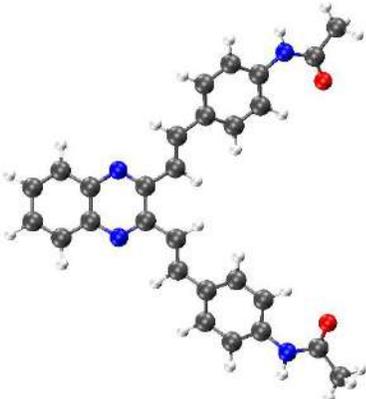
de enlace son comparables con las observadas en el grupo cinamil, el cual presenta distancias típicas C–C de 1.39 Å según datos de estructuras cristalinas obtenidas por difracción de rayos X (Constable et al, 2009) Para el grupo de quinoxalinas en los compuestos M5 a M7, se encontraron distancias N–C5 de 1.32 Å y distancias N–C3 en el rango de 1.36 a 1.37 Å, valores consistentes con los reportados en la literatura para el anillo de pirazina en la quinoxalina (Yu et al, 2015). Es importante destacar que los parámetros geométricos obtenidos para todos los compuestos fueron consistentes con los diferentes funcionales empleados (ver Tabla 1).

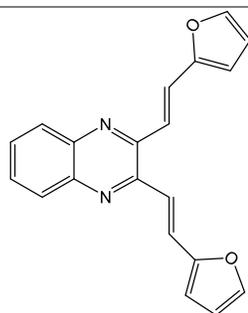
*Tabla 1. Datos geométricos relevantes para los enlaces de la estructura base de los cinamilos y quinoxalinas empleando diferentes funcionales.*

<b>Cinamilos</b>					
	<b>wB97XD</b>	<b>B3LYP</b>	<b>M06</b>	<b>PBE</b>	<b>Experimental*</b>
<i>Enlace (Å)</i>					
C=O	1.22	1.23	1.22	1.24	<b>1.22</b>
C1 – C2	1.47	1.47	1.46	1.46	<b>1.47</b>
C1 – C1'	1.54	1.55	1.54	1.56	<b>1.54</b>
<i>Ángulo de enlace (°)</i>					
C1' – O – C2	115.94	115.95	115.76	115.59	<b>116.20</b>
<b>Quinoxalinas</b>					
<i>Enlace (Å)</i>					
N – C5	1.32	1.33	1.32	1.34	<b>1.33</b>
N – C3	1.36	1.35	1.35	1.35	<b>1.36</b>
C2 – C3	1.42	1.43	1.42	1.44	<b>1.42</b>
<i>Ángulo de enlace (°)</i>					
C3 – N – C5	118.40	118.91	118.66	118.42	<b>117.94</b>

\*(Constable et al, 2009), (Yu et al, 2015)

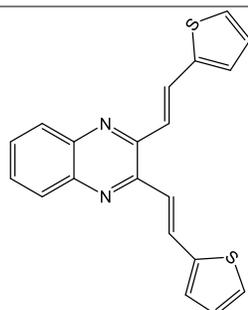
Tabla 2. Derivados de cinamilos y quinoxalinas con actividad biológica en células de cáncer de páncreas.

Compuesto 2D	IC <sub>50</sub> (uM)*	Estructura optimizada a nivel teoría ωB97XD /6-31+G*
 <p>M1</p>	40.25±3.23	
 <p>M2</p>	50.19±3.60	
 <p>M3</p>	1.45±0.98	
 <p>M4</p>	23.49±1.46	
 <p>M5</p>	35.14±3.21	



M6

38.36±3.68



M7

26.95±4.85



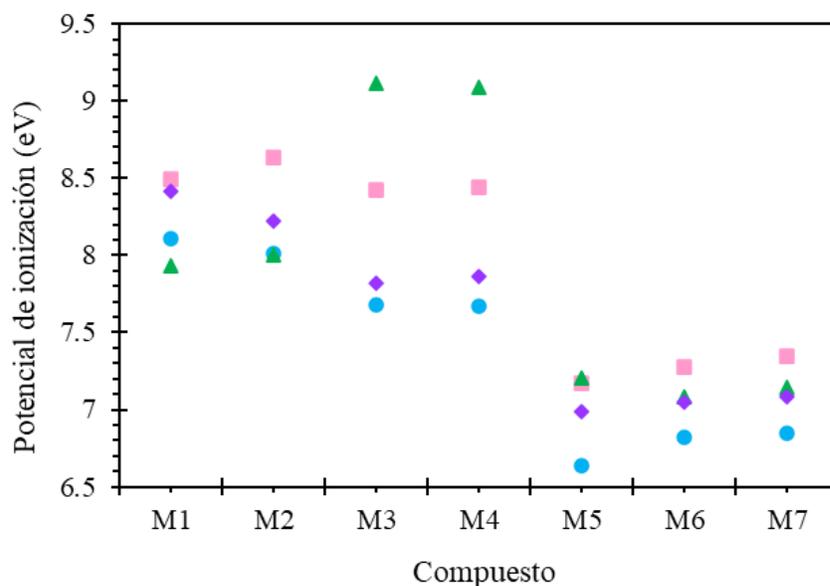
---

\*(Wang et al, 2020)

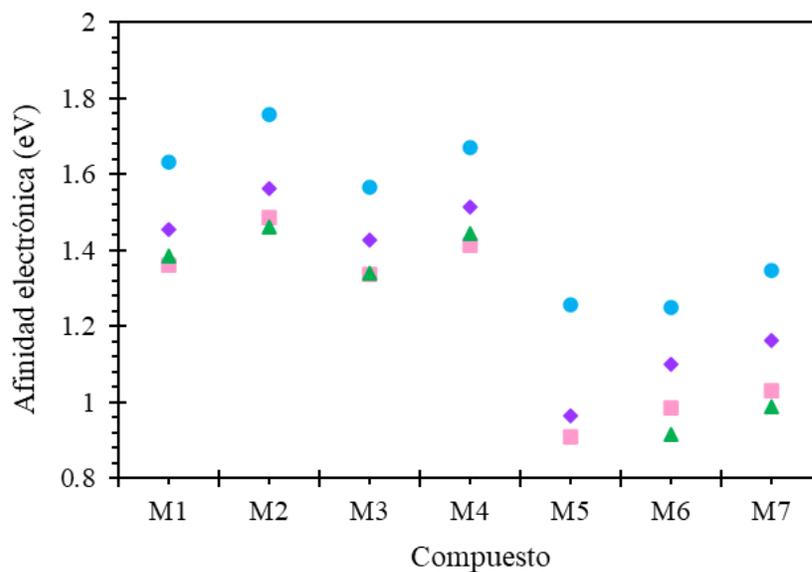
### 2.3.2 Propiedades electrónicas de cinamilos y quinoxalinas

Se calcularon diversas propiedades electrónicas utilizando distintos funcionales. En la Figura 2 se presentan las gráficas del potencial de ionización y la afinidad electrónica calculadas de manera vertical. Para los derivados de cinamilos, los valores de  $I$  (energía de ionización) se encuentran en un rango cercano, entre 7.5 y 8.6 eV, cuando se emplean los funcionales  $\omega$ B97XD, B3LYP y M06, mientras que, para las quinoxalinas, estos valores oscilan entre 6.8 y 7.5 eV. Es importante destacar que el funcional PBE muestra una tendencia diferente en los valores del potencial de ionización para M3 y M4, con 9.0 y 9.1 eV, respectivamente, en comparación con los otros funcionales. Por otro lado, la afinidad electrónica presenta una tendencia similar para todos los funcionales utilizados, con valores de 1.3 a 1.5 eV para los cinamilos y de 0.9 a 1.0 eV para las quinoxalinas. Además, se calcularon los descriptores globales considerando las energías del HOMO y LUMO. Los resultados indican que no hay una diferencia significativa entre la aproximación vertical y la basada en las energías de los orbitales de frontera HOMO y LUMO, con un porcentaje de error menor al 1% en este tipo

de sistemas (ver Tabla 3). Por lo tanto, enfocaremos la discusión utilizando la metodología  $\omega$ B97XD/6-31+G\*, la cual ha mostrado buenos resultados en diversos sistemas (Chai & Head-Gordon, 2008) Previamente se indicó en la metodología que se emplearon diferentes funcionales para el análisis comparativo de la reactividad, donde se muestra en las Gráficas 2 y 3 las tendencias del potencial químico y la afinidad electrónica vertical respectivamente. Se observa que para los cuatro cinamilos el valor de  $I$  es muy similar para el funcional  $\omega$ B97XD, el cual oscila entre los 8.4 y 8.6 eV y para las quinoxalinas entre 7.1 y 7.3 eV. El funcional PBE muestra valores del  $I$  para M3 y M5 de 9.0 y 9.1 eV, siendo muy diferentes del resto de los cinamilos. El funcional B3LYP presenta valores muy bajos de  $I$  para M5. En el caso de la  $A$  vertical, se muestra que los valores son similares para los cinamilos. Para las quinoxalinas el funcional PBE refleja el valor más bajo para M5. B3LYP presenta los valores más altos de afinidad para todos los compuestos.



Gráfica 2. Valores de  $I$  vertical para los derivados de cinamilos y quinoxalinas a nivel teoría  $X/6-31+G^*$  ( $X= \omega$ B97XD, B3LYP, PBE y M06). Los cuadros corresponden a la función  $\omega$ B97XD, los círculos a la función PBE, los triángulos a la función M06 y los diamantes a la función B3LYP.



Gráfica 3. Valores de  $A$  vertical para los derivados de cinamilos y quinoxalinas a nivel teoría  $X/6-31+G^*$  ( $X= \omega B97XD, B3LYP, PBE$  y  $M06$ ). Los cuadros corresponden a la función  $\omega B97XD$ , los círculos a la función  $PBE$ , los triángulos a la función  $M06$  y los diamantes a la función  $B3LYP$ .

Tabla 3. Descriptores globales de reactividad en fase gas con diferentes funcionales, considerando  $I$  y  $A$  vertical. Las unidades están en  $eV$ .

$\omega B97XD/6-31+G^*$							
Molécula	$I$	$A$	$\mu$	$\eta$	$\omega$	$\omega^+$	$\omega^-$
<b>M1</b>	8.4966	1.3607	-4.9287	7.1359	1.7021	1.3858	6.3145
<b>M2</b>	8.6306	1.4875	-5.059	7.1431	1.7915	1.5000	6.5590
<b>M3</b>	8.4212	1.3362	-4.8787	7.0850	1.6797	1.3629	6.2416
<b>M4</b>	8.4418	1.4143	-4.9280	7.0275	1.7279	1.4310	6.3590
<b>M5</b>	7.1669	0.9081	-4.0375	6.2588	1.3023	0.9770	5.0145
<b>M6</b>	7.2788	0.9841	-4.1315	6.2947	1.3558	1.0393	5.1708
<b>M7</b>	7.3459	1.0305	-4.1882	6.3153	1.3888	1.0781	5.2663
<b>B3LYP/6-31+G*</b>							
Molécula	$I$	$A$	$\mu$	$\eta$	$\omega$	$\omega^+$	$\omega^-$
<b>M1</b>	8.1048	1.6338	-4.8693	6.4710	1.8320	1.6338	6.5031
<b>M2</b>	8.0084	1.7568	-4.8826	6.2516	1.9067	1.7628	6.6454
<b>M3</b>	7.6792	1.5653	-4.6222	6.1138	1.7473	1.5655	6.1878
<b>M4</b>	7.6732	1.6728	-4.6730	6.0004	1.8196	1.6778	6.3508

<b>M5</b>	6.6398	1.2585	-3.9492	5.3813	1.4491	1.2599	5.2091
<b>M6</b>	6.8230	1.2492	-4.0361	5.5738	1.4613	1.2529	5.2890
<b>M7</b>	6.8508	1.3467	-4.0987	5.5041	1.5261	1.3469	5.4456
<b>PBE/6-31+G*</b>							
Molécula	<i>I</i>	<i>A</i>	$\mu$	$\eta$	$\omega$	$\omega^+$	$\omega^-$
<b>M1</b>	7.9361	1.3871	-4.6616	6.5490	1.6591	1.3967	6.0583
<b>M2</b>	8.0066	1.4634	-4.7350	6.5432	1.7132	1.4679	6.2029
<b>M3</b>	9.1149	1.3419	-5.2284	7.7730	1.7584	1.3884	6.6168
<b>M4</b>	9.0903	1.4460	-5.2681	7.6443	1.8153	1.4743	6.7424
<b>M5</b>	7.2104	0.6623	-3.9364	6.5481	1.1832	0.8074	4.7437
<b>M6</b>	7.0835	0.9164	-4.0000	6.1671	1.2972	0.9798	4.9798
<b>M7</b>	7.1475	0.9908	-4.0692	6.1566	1.3447	1.0396	5.1088
<b>M06/6-31+G*</b>							
Molécula	<i>I</i>	<i>A</i>	$\mu$	$\eta$	$\omega$	$\omega^+$	$\omega^-$
<b>M1</b>	8.4151	1.4541	-4.9346	6.9610	1.7491	1.4659	6.4005
<b>M2</b>	8.2197	1.5641	-4.8919	6.6556	1.7978	1.5656	6.4575
<b>M3</b>	7.8164	1.4278	-4.6221	6.3886	1.6720	1.4323	6.0544
<b>M4</b>	7.8591	1.5161	-4.6876	6.3431	1.7321	1.5169	6.2045
<b>M5</b>	6.9848	0.9640	-3.9744	6.0208	1.3118	1.0126	4.9870
<b>M6</b>	7.0500	1.1016	-4.0758	5.9483	1.3964	1.1266	5.2024
<b>M7</b>	7.0844	1.1616	-4.1230	5.9229	1.4351	1.1788	5.3018

En la Tabla 3 y 4 se presentan algunos parámetros electrónicos de los sistemas en estudio a nivel de teoría  $\omega$ B97XD/3-61+G\* en fase gas y en solvente (agua) utilizando el modelo de solvatación SMD (Solvation Model based on Density). El potencial químico muestra la siguiente tendencia:  $M3 > M4 > M1 > M2$ , la cual es la misma tendencia en orden decreciente a la actividad biológica, siendo M3 con mayor actividad anticancerígena de los cinamilos y M2 con la menor actividad. Se puede observar que M3 posee el mayor potencial químico y M2 el de menor valor de potencial químico, por lo que se podría deducir que el potencial químico podría estar relacionado con la actividad biológica para los compuestos de cinamilo.

Tabla 4. Descriptores globales en fase solvente a nivel teoría  $\omega$ B97XD/6-31+G\* para los derivados de cinamilos y quinoxalinas. Todas las unidades están en eV.

Molécula	<i>I</i>	<i>A</i>	$\mu$	$\eta$	$\omega$	$\omega^+$	$\omega^-$
<b>M1</b>	8.8158	0.9101	-4.8630	7.9057	1.4957	1.0539	5.9169
<b>M2</b>	8.9420	1.0524	-4.9972	7.8895	1.5826	1.1597	6.1569
<b>M3</b>	8.5792	0.9557	-4.7675	7.6235	1.4907	1.0741	5.8416
<b>M4</b>	8.6397	1.0154	-4.8275	7.6242	1.5284	1.1194	5.9470
<b>M5</b>	8.4960	-0.3986	-4.0487	8.8946	0.9215	0.3745	4.4232
<b>M6</b>	7.7529	0.5311	-4.1420	7.2218	1.1878	0.7560	4.8980
<b>M7</b>	7.8262	0.5380	-4.1821	7.2882	1.1999	0.7642	4.9463

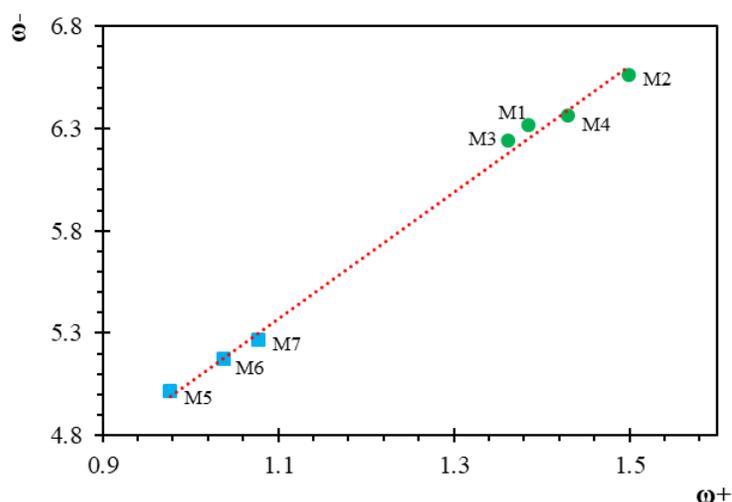
De acuerdo a los valores de dureza presentados, la tendencia para este descriptor en fase gas es la siguiente: M2 > M1 > M3 > M4, y para fase solvente: M1 > M2 > M4 > M3, siendo M3 y M4 las especies más blandas y M1 y M2 las especies de mayor dureza. De acuerdo a la teoría HSAB (Hard and Soft Acids and Bases) (Gázquez, 1997), las especies blandas preferirán reaccionar con especies de igual blandura y las especies duras con especies de igual dureza, por lo tanto, M3 y M4 reaccionarán con especies blandas. Para el caso de las quinoxalinas, M5 es la molécula con menor dureza en fase gas y en fase solvente es la de mayor dureza. Podemos decir que el efecto del solvente sobre la molécula M5 tiene un efecto significativo para cambiar la dureza global del sistema químico.

Por otra parte, los sustituyentes R de las estructuras bases de los cinamilos y quinoxalinas pueden jugar un rol importante en la reactividad química. Aquellos compuestos con sustituyentes tiofeno y furano tienen una mayor capacidad para formar puentes de hidrógeno debido a la presencia de electrones libres que promueven la desestabilización electrónica. En cambio, los compuestos con sustituyentes bencénicos tienden a formar interacciones del tipo  $\pi \cdots \pi$  y  $\pi \cdots \sigma$ , siendo interacciones más débiles.

El índice de electrofilicidad ( $\omega$ ) (Gázquez et al., 2007) es una medida de la estabilización energética que experimenta un sistema cuando adquiere electrones del entorno, y es útil para describir la electrofilia del sistema. Observamos que la tendencia electrofílica de ambos grupos de moléculas, tanto en fase gas como acuosa, sigue el mismo orden: M2 > M4 > M1

$> M3$  y  $M7 > M6 > M5$ . Las moléculas  $M2$  y  $M7$  destacan por su capacidad para estabilizar una carga adicional, lo que se refleja en su alta dureza y bajo potencial químico. Esto les confiere un carácter más electrofílico ya que tienen menor capacidad para estabilizar cargas adicionales en su estructura.

Por otro lado, el esquema *Donor-Acceptor Map* (DAM) propuesto por Martínez [58] es un gráfico que clasifica a las especies en función de su capacidad para donar o aceptar electrones. Un valor bajo de  $\omega^-$  indica una fuerte capacidad para donar electrones, mientras que un valor alto de  $\omega^+$  sugiere una elevada capacidad para aceptarlos. En la Figura 3 se presenta el mapa donante-aceptor de los derivados de cinamilos y quinoxalinas. Las quinoxalinas se encuentran ubicadas en el cuadrante inferior izquierdo, lo que indica que actúan como especies donadoras, mientras que los cinamilos están situados en la parte superior derecha, señalando su comportamiento como especiesceptoras. En efecto, el grupo vinilo en los cinamilos contiene un doble enlace carbono-carbono, un enlace  $\pi$  significativo que permite cierta deslocalización de electrones. En las quinoxalinas, este sistema  $\pi$  se extiende aún más, abarcando el anillo bencénico fusionado con el anillo benzopirazina, lo que facilita una mayor deslocalización electrónica a lo largo de la estructura. Esto se traduce en una mayor capacidad de las quinoxalinas para donar electrones  $\pi$  en comparación con los cinamilos.



Gráfica 4. DAM de los derivados de cinamilos y quinoxalinas. Los círculos representan al grupo de las quinoxalinas, siendo  $M5$  el compuesto con más capacidad donadora. Los círculos representan a los derivados de cinamilos siendo el compuesto  $M2$  el compuesto con más poder electroaceptor.

### 2.3.3 Orbitales de frontera HOMO-LUMO

El mapeo de los orbitales moleculares Figura 5 muestran que la mayor densidad electrónica de los orbitales HOMO se concentra en las posiciones 2 y 3, es decir, en el doble enlace de la estructura base del cinamilo, así como en los anillos furano y tiofeno en M3 y M4, respectivamente. En contraste, en el orbital LUMO, la densidad electrónica se distribuye sobre el grupo carbonilo, especialmente en los carbonos 1 y 1', lo que indica que el orbital HOMO actúa como dador y el orbital LUMO como la región aceptora de electrones (López et al., 2016).

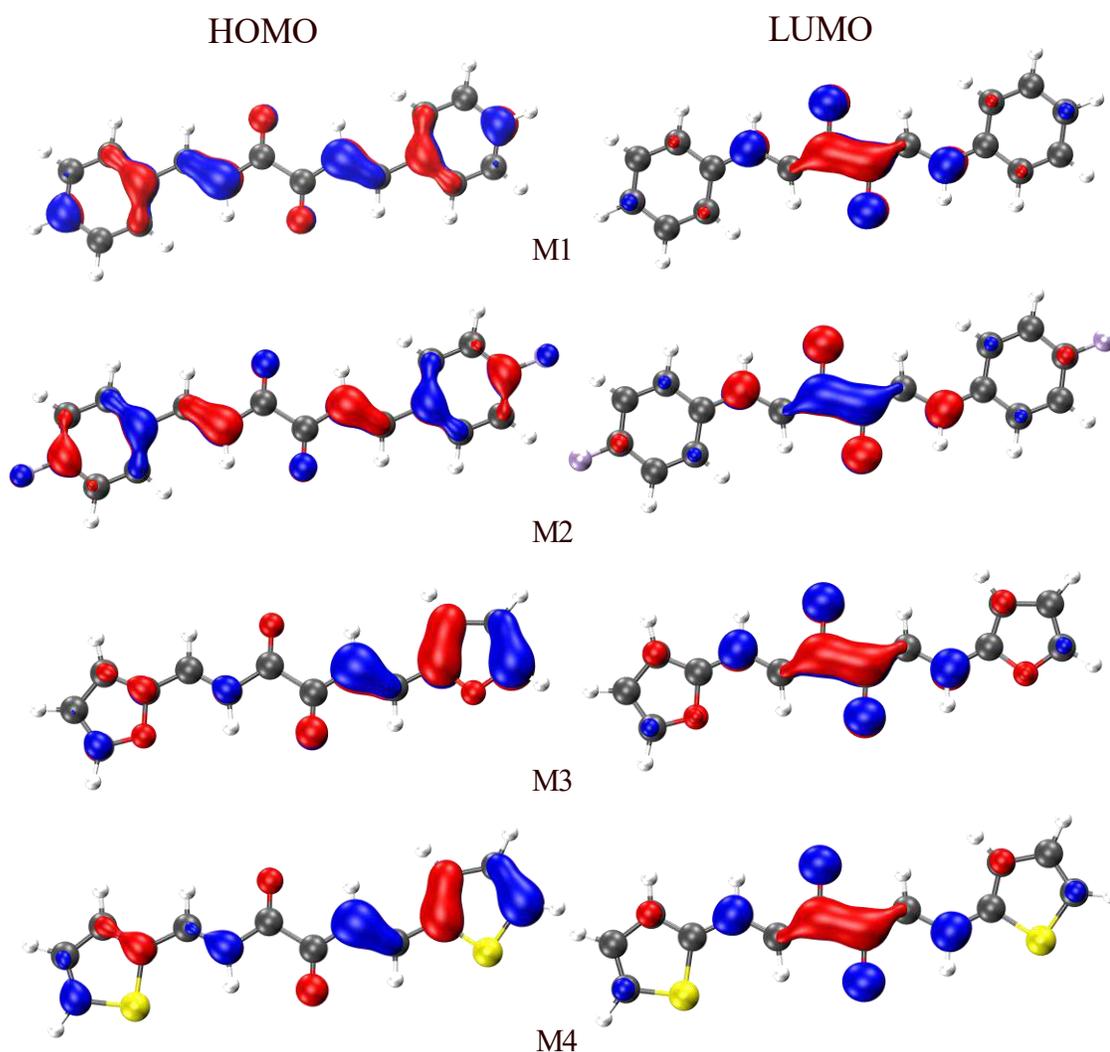


Figura 5. Orbitales moleculares de frontera para cinamilos con un isovalor de 0.05.

En el caso de las quinoxalinas (Figura 6), la densidad del HOMO se localiza principalmente sobre los carbonos C6 y C7, mientras que en el orbital LUMO predomina en los nitrógenos del anillo pirazina, siendo estos los sitios más propensos a aceptar electrones.

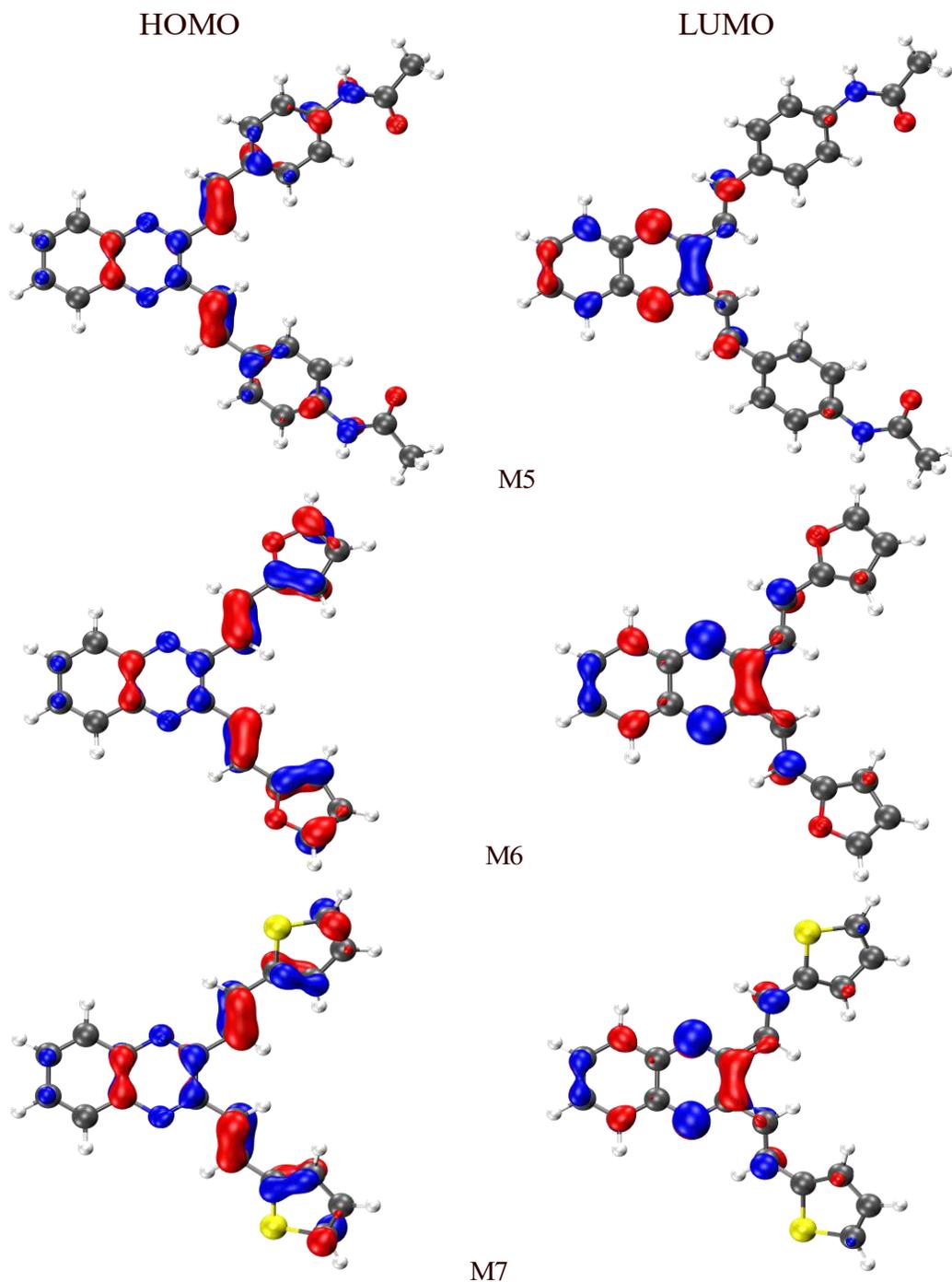


Figura 6. Orbitales de frontera de quinoxalinas con un isovalor de 0.05.

### 2.3.4 Función de Fukui y Descriptor Dual

La función de Fukui depende del número total de electrones, el cual indica una respuesta local del cambio de la densidad electrónica cuando una molécula neutra cambia su número de electrones, ya sea eliminando o adicionando un electrón al sistema.

En la Figura 7, se puede observar que, en los cinamilos,  $f^+$  esta sobre los carbonos de los grupos carbonilos ( $C_1$  y  $C_1'$ ) y sobre los carbonos  $C_3$  y  $C_3'$  los cuales corresponden a los enlaces dobles, estos sitios son electrofílicos, es decir aceptan electrones por lo que se espera un ataque nucleofílico. Mientras que para  $f^-$  la densidad se centra sobre los átomos de oxígeno de los grupos carbonilo mayormente, indicando ataques electrofílicos. Se observa que en M2, M3 y M4, los átomos electronegativos como el flúor, oxígeno y azufre no participan directamente en la reactividad de las moléculas, sin embargo, son importantes para mantener la polaridad de estas. En el caso de la función  $f^0$ , la cual corresponde al ataque por radicales, se observa una contribución sobre los oxígenos de los grupos carbonilo. Por otra parte, los derivados de las quinoxalinas  $f^+$  se ve marcadamente para los átomos de N del anillo pirazina siendo estos átomos susceptibles a ataques nucleofílicos. Para  $f^-$  corresponde a los carbonos  $C_6$ ,  $C_6'$  y  $C_7$  y  $C_7'$ . Así mismo se observa que existe una densidad sobre los átomos de oxígeno de la cadena R, esto significa que los grupos carbonilo son grupos funcionales adecuados para caracterizar  $f^-$  como en el caso de los cinamilos. Respecto de M6 y M7 los grupos aromáticos furano y tiofeno no participan significativamente en la reactividad local. Otro de los descriptores que permite interpretar la reactividad local es el descriptor dual (DD) el cual promedia las FF. Esta función se considera una herramienta más precisa que las funciones de Fukui ya que tiene la capacidad de revelar las regiones electrofílicas y nucleofílicas en una molécula sin exponer ambigüedades implicando que el DD es un descriptor más puntual para designar el sitio más reactivo de la molécula (Martínez, 2015). De acuerdo a la Figura 8, el DD muestra el sitio más electrofílico (sitios en azul) sobre los carbonos  $C_1$  y  $C_1'$ , y el sitio más nucleofílico corresponde a los átomos de oxígeno de los grupos carbonilo (sitios en rosa). Por el contrario, para los derivados de las quinoxalinas, se observa que el DD está principalmente centrado sobre los nitrógenos de la pirazina, como sabemos que el DD es el promedio de  $f^+$  y  $f^-$ , ambas funciones están sobre ese átomo. En M5 se observa en el átomo de oxígeno del grupo carbonilo la densidad en color rosa, el cual corresponde a  $f^-$  como se vio en la FF nucleofílica.

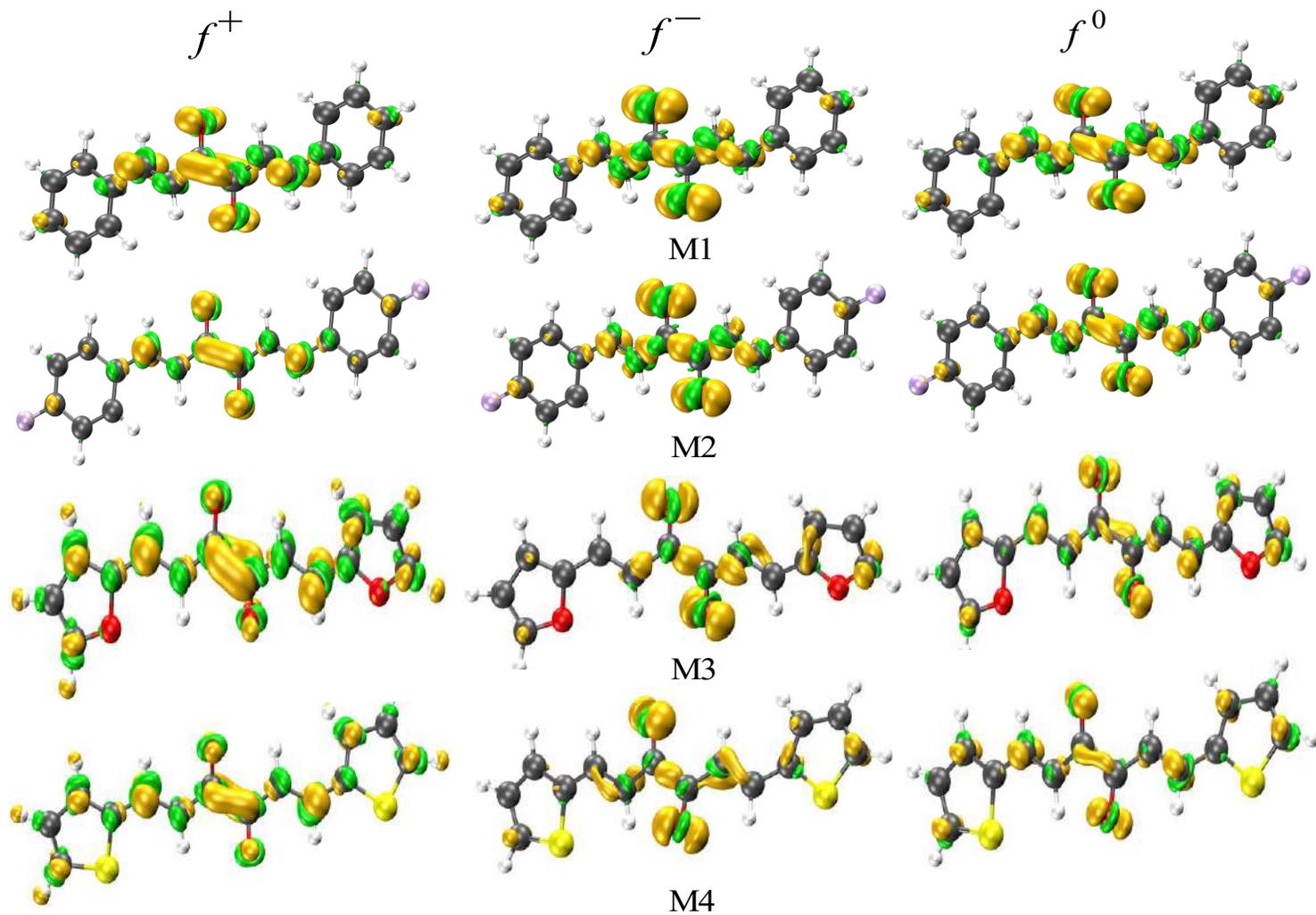


Figura 7. Función de Fukui para cinamilos y quinoxalinas con un isovalor de 0.004. Las regiones en amarillo indican la parte positiva y las regiones en verde la parte negativa.

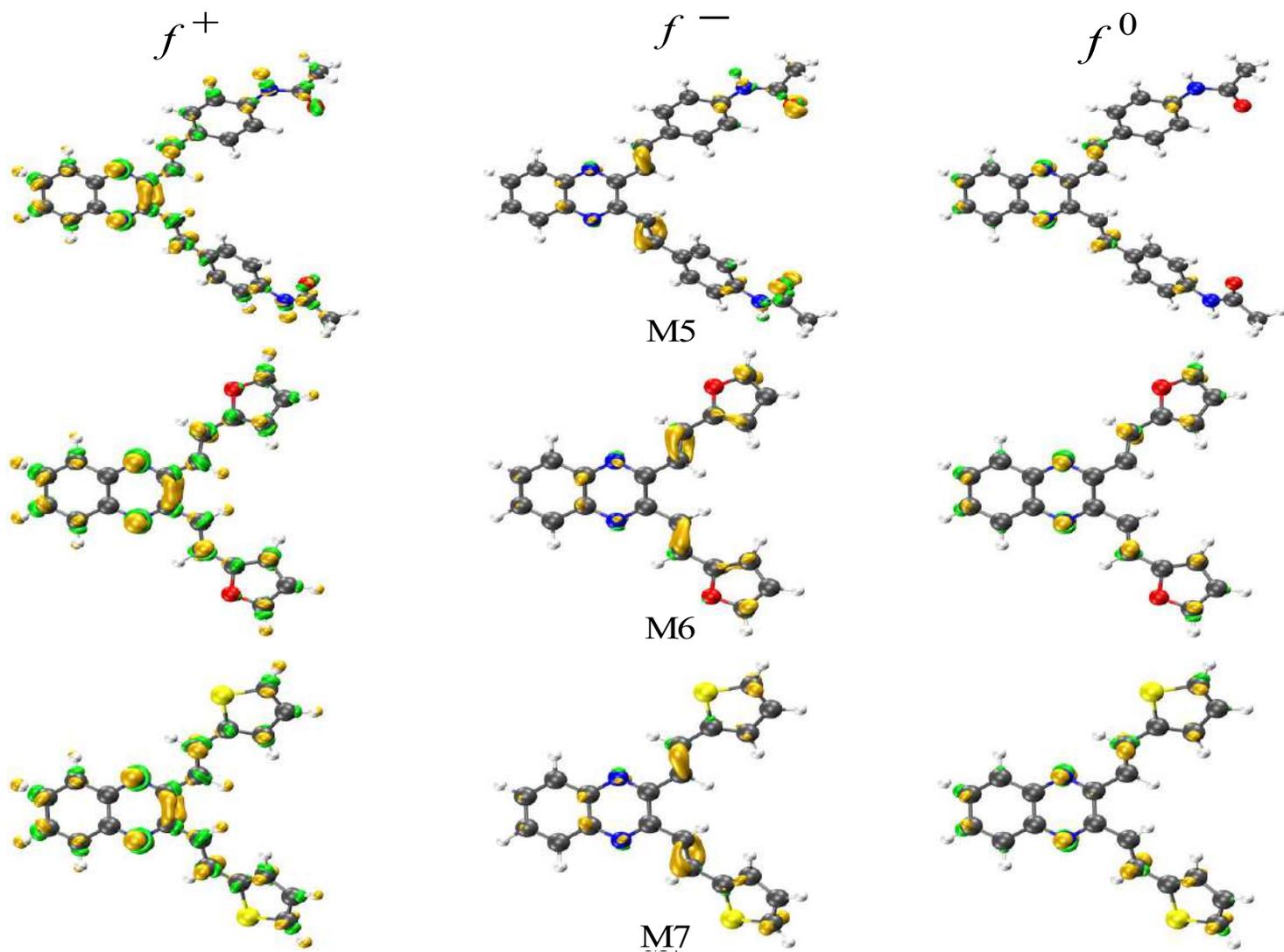


Figura 7. (Continuación).

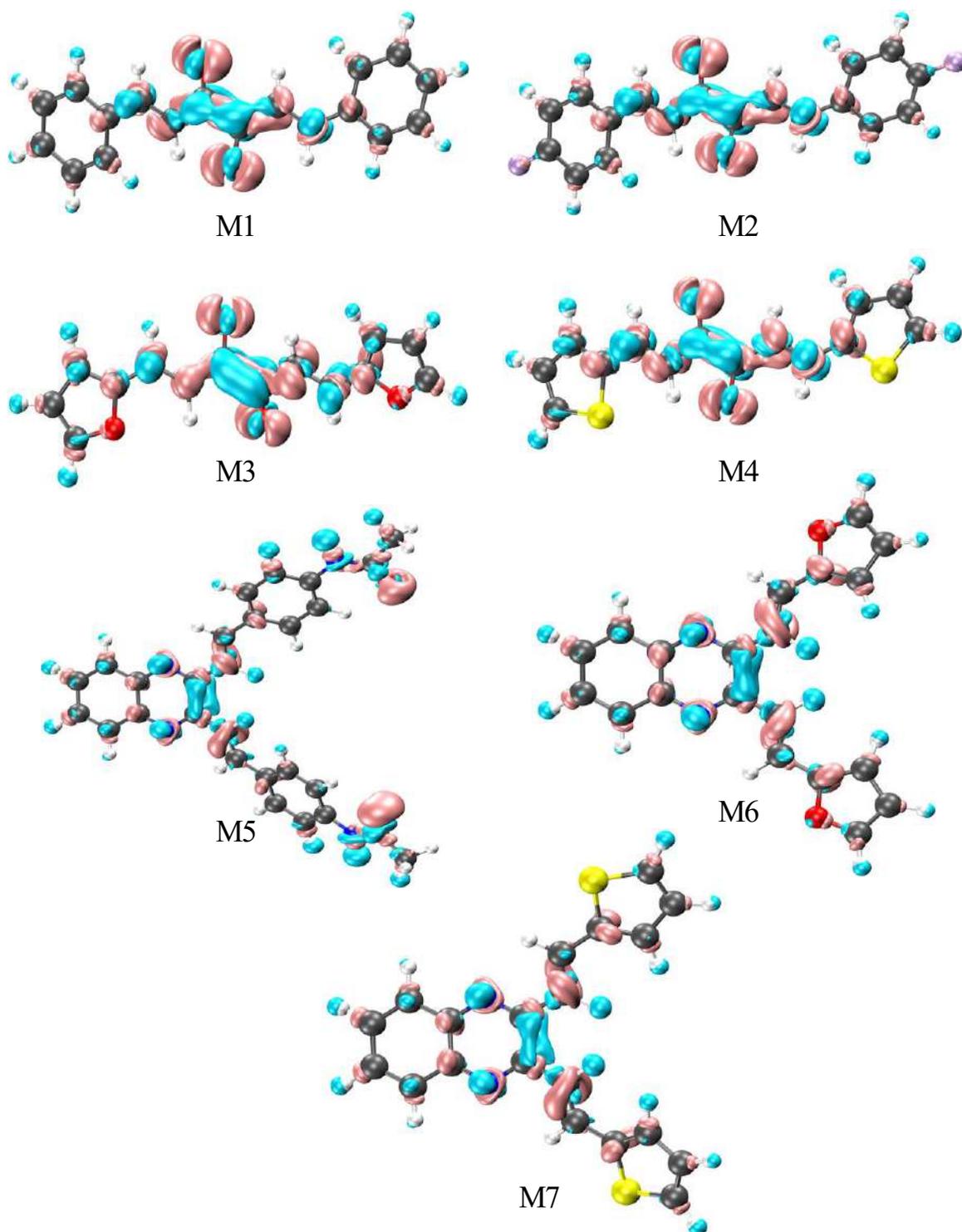
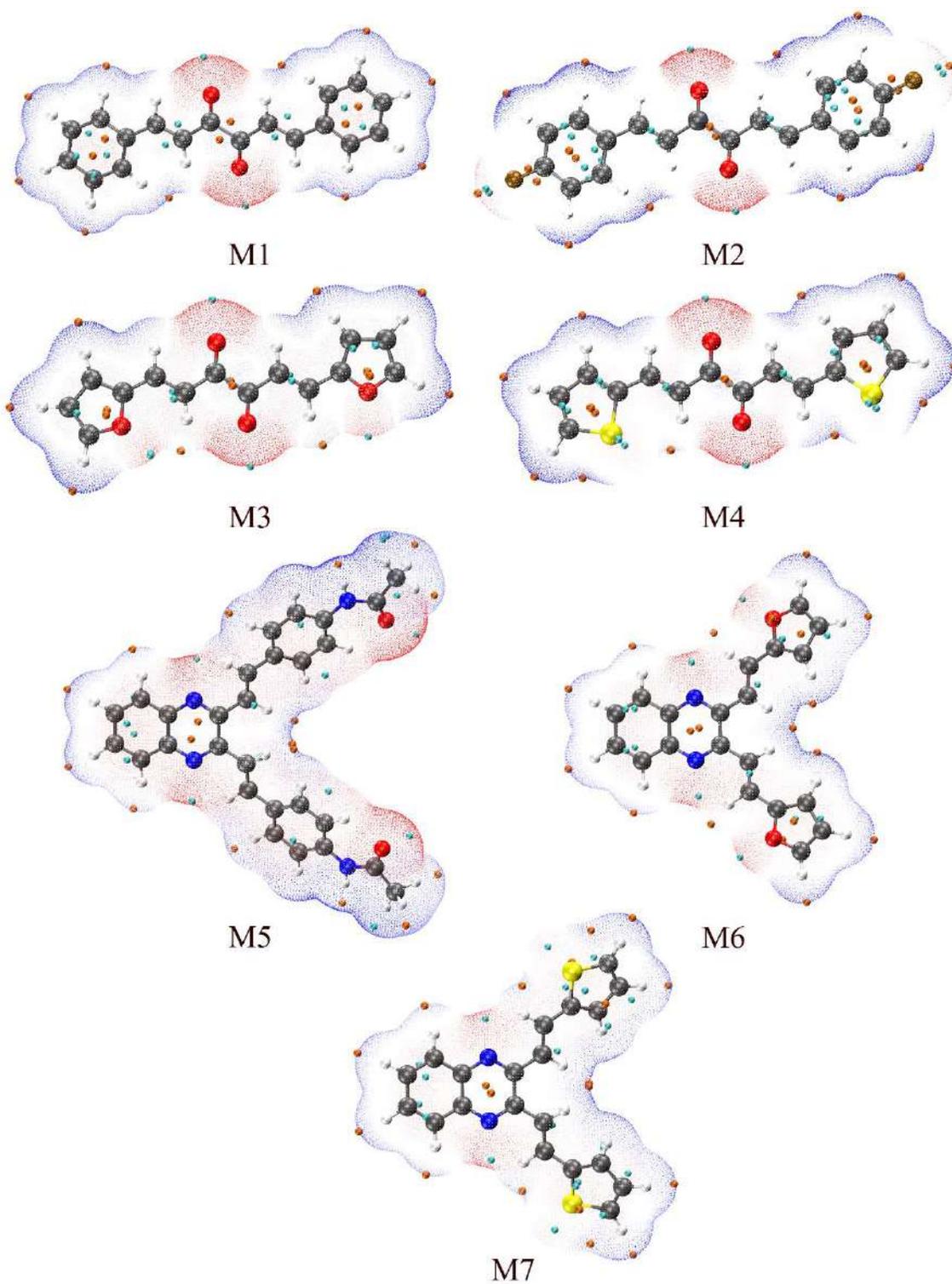


Figura 8. Descriptor Dual para los derivados de cinamilos y quinoxalinas con un isovalor 0.004.  
 Los sitios en azul indican la parte positiva y los sitios en rosa la parte negativa.

### 2.3.5 *Descriptores locales de reactividad*

Los mapas de potencial electrostático (MEP, por sus siglas en inglés) son representaciones gráficas que muestran la distribución del potencial electrostático alrededor de una molécula, y son especialmente útiles para visualizar cómo una molécula puede interactuar con otras, en términos de reactividad química y reconocimiento molecular (Rodríguez, 2022). En nuestros sistemas de estudio, los grupos carbonilo de los cinamilos presentan una alta densidad electrónica, identificándose como regiones altamente susceptibles a ataques nucleofílicos por parte de un electrófilo. De manera similar, el anillo pirazina en las quinoxalinas y los grupos carbonilos destacan como las regiones más nucleofílicas de las moléculas (Figura 9). Adicionalmente, la función de Fukui permite comprender la reactividad química de manera local, identificando regiones o átomos específicos.



*Figura 9. Mapas de potencial electrostático. Los sitios en rojo indican una alta densidad de electrones y las regiones en azules una concentración mínima de electrones.*

Por otra parte, se evaluaron los valores de electrofilicidad ( $\omega_k^+$ ) y suavidad local ( $S_k^+$ ) sobre los átomos de oxígeno del grupo carbonilo en los cinamilos y para los átomos de nitrógeno del anillo pirazina en las quinoxalinas, ya que son los átomos con más reactividad de acuerdo a las funciones de Fukui y Descriptor Dual. Los valores obtenidos (Tabla 5) para estos descriptores locales muestran que son similares entre sí, debido a que los átomos más reactivos forman parte de la estructura base de todas las moléculas. La electrofilicidad local y la suavidad local están relacionadas en el sentido de que ambas afectan la capacidad de una especie química de interactuar en reacciones de transferencia de electrones. Los oxígenos del grupo carbonilo de los cinamilos presentan una mayor suavidad en comparación con los nitrógenos del anillo pirazina de las quinoxalinas. Al ser especies suaves, son más polarizables y, por lo tanto, son más electrofílicos, lo que hace que los cinamilos puedan reaccionar más fácilmente por especies electrofílicas y nucleofílicas que las quinoxalinas.

*Tabla 5. Electrofilicidad y suavidad local.*

<b>Molécula</b>	$\omega_k^+$ (eV)	$S_k^+$ (eV)
M1	0.188	0.016
M2	0.199	0.016
M3	0.185	0.016
M4	0.183	0.015
M5	0.101	0.012
M6	0.107	0.013
M7	0.107	0.012

El análisis de los valores de los descriptores dependientes de la temperatura (Tabla 6) sugiere que el átomo de oxígeno de la molécula M3 exhibe una reactividad diferente en comparación con los oxígenos en M1, M2 y M4. Se puede observar que el valor del potencial químico local ( $\mu^{-0}$ ), es mayor en comparación a los otros cinamilos, indicando que el átomo de oxígeno del grupo carbonilo será la especie que proveerá de carga electrónica al sistema. Esto es consistente con su valor de dureza local ( $\eta_\tau$ ), ya que es el oxígeno menos duro, lo que indica que la especie es muy blanda y, por lo tanto, sería el átomo más reactivo. Por otra parte, en las quinoxalinas, los valores de los descriptores son muy cercanos entre sí para M5

y M6, sin embargo en M7 donde hay deficiencia de oxígenos la reactividad es diferente sobre el grupo tiofeno, ya que este es el que proveerá la reactividad hacia las especies de mayor dureza local.

*Tabla 6. Descriptores perturbados para los átomos de oxígeno de los grupos carbonilo de los cinamilos y para los átomos de nitrógeno del anillo pirazina de las quinoxalinas.*

Molécula	Átomo	$\mu^-$ (eV)	$\mu^+$ (eV)	$\mu^0$ (eV)	$\eta_r$ (eV)
<b>M1</b>	O	-1.337	-0.150	0.744	1.187
<b>M2</b>	O	-1.355	-0.165	0.760	1.190
<b>M3</b>	O	-1.322	-0.209	0.766	1.113
<b>M4</b>	O	-1.314	-0.150	0.732	1.165
<b>M5</b>	O	-0.142	-0.011	0.076	0.131
<b>M6</b>	O	-0.130	-0.010	0.070	0.119
<b>M7</b>	S	-0.403	-0.035	0.219	0.368

### 2.3 Conclusiones

La realización de un estudio de reactividad utilizando cDFT, ha permitido una comprensión más profunda de la naturaleza química de los derivados de cinamilos y quinoxalinas. La metodología empleada, especialmente el nivel de teoría  $\omega$ B97XD/3-61+G\*, ha demostrado una capacidad efectiva para reproducir de manera precisa las distancias y ángulos de enlace en estos compuestos. Aunque el número de moléculas analizadas en este trabajo de tesis es limitado, impidiendo así una correlación robusta entre estructura y actividad, los valores obtenidos para los descriptores globales y locales son en su mayoría similares, ya que los átomos más reactivos forman parte de la estructura base común en todas las moléculas. No obstante, el ambiente químico, representado por los sustituyentes, podría contribuir a las pequeñas variaciones observadas en estos valores. Esto indica que, aunque las moléculas comparten características reactivas generales, la presencia de distintos sustituyentes puede modular la reactividad específica de cada átomo clave dentro de la serie molecular.

A través del análisis de la densidad de electrones (MPE), se identificaron áreas de alta densidad (representadas en rojo) y de baja densidad (representadas en azul). En los derivados de cinamilos, se detectó una mayor densidad de electrones en los grupos carbonilos, mientras

que, en las quinoxalinas, esta densidad se concentró en el anillo de benzopirazina. Estas observaciones también se reflejan en las funciones de Fukui destacando los átomos con mayor reactividad. En el caso de los cinamilos, el oxígeno del grupo carbonilo muestra una mayor susceptibilidad a ataques nucleofílicos, mientras que, en las quinoxalinas, el nitrógeno del anillo pirazina es más propenso a ataques electrofílicos. Los descriptores dependientes de temperatura permitieron dar una mejor interpretación entre la diferencia de reactividad de los átomos de oxígeno de los grupos carbonilos de los cinamilos, siendo M3 la molécula con una reactividad diferente, por lo que este comportamiento químico puede relacionarse con su valor inferior de  $IC_{50}$ .

## Capítulo 3. Acoplamiento Molecular y Dinámicas Moleculares de los derivados de cinamilos y quinoxalinas en proteínas antiapoptóticas de la familia Bcl-2

Los estudios experimentales de Western Blot han demostrado que los derivados de cinamilos y quinoxalinas participan en las cascadas de señalización de caspasas 3 y 9, y de la expresión de proteínas de la familia Bcl-2 (Wang et al., 2022). Respecto de las proteínas antiapoptóticas Bcl-2 y Bcl-xl se sabe que son objeto de estudio de agentes senolíticos en el diseño de nuevos fármacos contra el cáncer. En el caso de las moléculas de estructura pequeña surgen como una opción en la inhibición de las proteínas de interés en este trabajo debido a que es factible que se unan al sitio activo de estas y así, Bcl-2 o Bcl-xl puedan liberar a la proteína Bax (proapoptótica) y esta pueda llevar a cabo el proceso de apoptosis. En este tenor de ideas, se presenta el modelado molecular de los compuestos estudiados en el capítulo anterior fungiendo como ligantes de las dianas farmacológicas de interés.

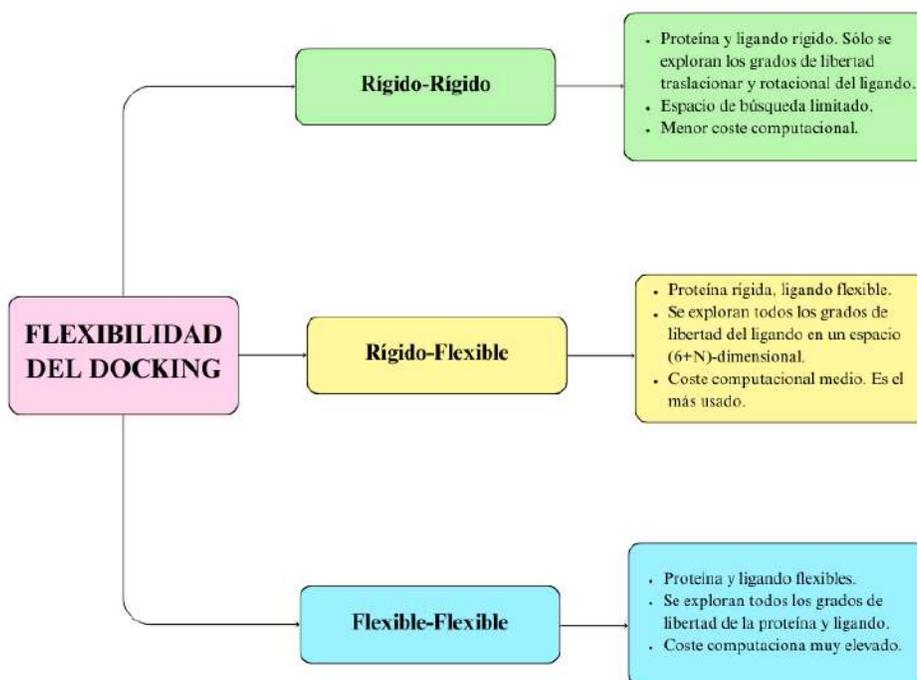
### 3.1 Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular (*molecular docking* en inglés) es un modelo computacional que predice la interacción entre un ligando y un receptor cuando ambos forman un complejo estable (Agarwal & Mehrotra, 2016). El objetivo principal es predecir la conformación (“*pose*”) más favorable del ligando cuando este se une al receptor a partir de sus estructuras tridimensionales y así evaluar su afinidad de unión.

Esta afinidad de unión está basada en las interacciones electrostáticas, van de Waals, geométricas, interacciones de Coulomb y formación de puentes de hidrógeno. La suma de estas interacciones se evalúa por medio de un parámetro de *score*. El ligando puede ser una molécula pequeña de diferente naturaleza como un compuesto orgánico, organometálico, hormona o fármaco. El receptor también se le conoce como “*diana de unión*”, la cual puede tener una actividad biológica de inhibición o activación de interés. Los receptores usualmente son proteínas, hormonas o ácidos nucleicos (Ballón & Grados, 2019). En la actualidad esta herramienta es muy utilizada para pronosticar la orientación del ligante (candidatos a fármacos) hacia su objetivo biomolecular, con la finalidad de establecer parámetros para el diseño racional de fármacos asistidos por computadora.

### 3.1.1 Fundamentos del acoplamiento molecular

Este modelo computacional se basa en la teoría “llave-cerradura” propuesta por Fischer, donde el ligando (llave) entra en el receptor (cerradura) (Fan et al., 2019). En los primeros modelos del acoplamiento molecular trataban al receptor como un cuerpo rígido, por lo que el valor de la afinidad solo estaba parametrizado por el ligando. Posteriormente Koshland planteó que el sitio activo del blanco cambia su conformación dependiendo de las interacciones con el ligando, por lo que sugirió que los receptores también deberían ser cuerpos flexibles (Meng, 2011). Lo anterior lleva a considerar las limitaciones de los recursos computacionales, es por ello que se desarrollaron tres tipos de docking, donde cada uno de ellos tiene sus propias demandas computacionales: docking rígido-rígido, rígido-flexible y flexible-flexible (Agarwal & Mehrotra, 2016) los cuales se describen en el Esquema 1.



Esquema 1. Tipos de acoplamiento molecular.

### 3.1.2 Algoritmos de búsqueda

En el acoplamiento molecular se utilizan algoritmos de búsqueda para explorar las mejores posiciones del ligando y la mejor energía libre. Si se consideran los efectos de la entalpía y la entropía, el mínimo global de energía corresponderá a la conformación experimental de

complejo receptor-ligando (modo de unión nativo) y los mínimos locales corresponderán a modos de vinculación alternativos. Considerar estos dos parámetros termodinámicos no es sencillo, ya que los métodos actuales utilizan cálculos aproximados, consecuentemente no se garantiza que el mínimo global energético investigado en el *docking* corresponda al modo de enlace nativo (Guedes et al., 2014).

El acoplamiento utiliza dos algoritmos por separado, el primero; con la finalidad de predecir todas las conformaciones estructurales (poses) que el ligando pueda obtener dentro del blanco farmacológico, y el segundo; predice las energías de unión mediante una función de puntuación. Los algoritmos de búsqueda se clasifican en tres categorías dependiendo de la metodología que se empleada para explorar la flexibilidad del ligando: métodos sistemáticos, estocásticos y determinísticos.

Los *algoritmos sistemáticos* exploran todos los grados de libertad de los ligandos durante el cálculo de búsqueda. Estos a su vez se clasifican en exhaustivos y de construcción incremental. Los primeros, exploran de manera sistemática el valor de cada grado de libertad rotando los ángulos diédricos de acuerdo a un rango de valores y restricciones iniciales (geométricas y químicas), esto hace que el ligando tenga un número mayor de enlaces giratorios lo que indica que aumentará la complejidad en el proceso de optimización. Los de construcción incremental, se basan en la fragmentación del ligando para formar modelos más pequeños mediante rompiendo sus enlaces rotables. El fragmento más grande se usa como ancla uniéndose a un sitio activo del receptor, para que posteriormente los otros fragmentos se unen de manera covalente (Guedes et al., 2014).

Los *algoritmos estocásticos* cambian de manera aleatoria todos los grados de libertad del ligando generando diversas soluciones las cuales se evalúan mediante un criterio probabilístico para decidir si esas conformaciones son aceptadas o rechazadas. Una de las desventajas que hay que tomar en cuenta en este algoritmo es que no existe una garantía de convergencia para obtener la solución óptima, en consecuencia, se requieren de corridas múltiples para maximizar esa probabilidad de encontrar un mínimo global de energía. Dentro de estos métodos estocásticos se encuentra: el método de Monte Carlo, algoritmos genéticos (GA por sus siglas en inglés), búsqueda Tabú y optimización de Swarm.

- *Método de Monte Carlo (MC)*: se realiza cambios conformacionales en el ligando. Las conformaciones se evalúan en el sitio de unión basándose en el cálculo de energía basado en la MM, posteriormente se rechaza o se acepta la siguiente iteración en función del cambio de energía respecto a la temperatura (factor de Boltzman). La ventaja de este método es que el cambio puede ser muy grande para permitir que el ligando pase las barreras de energía en la superficie de energía potencial. AutoDock, ICM, Affinity son algunos de los softwares que tiene aplicación de este método.
- *Algoritmos Genéticos (GA)*: surgen de la teoría evolutiva de Darwin. Los grados de libertad del ligando se codifican como cadenas binarias (genes). Estos genes forman el “cromosoma” (posiciones del ligando). Existen dos operadores genéticos: mutaciones y crossover. Las mutaciones realizan los cambios aleatorios en los genes; y el crossover intercambia esos genes dentro de los cromosomas. Cuando los operadores genéticos afectan a los genes, da como resultado una nueva estructura del ligando. Las estructuras obtenidas se evalúan mediante una función de puntuación. Estos algoritmos se usan en AutoDock, GOLD, DIVALI, DARWIN.
- *Búsqueda Tabú*: modifica todos los grados de libertad del ligando manteniendo el nivel de energía más bajo. Todas las poses generadas las enlista en una “lista Tabú” que contiene todas las conformaciones de menor energía. Posterior a ello, se aceptará aquella pose que se mantiene distinta de todas las soluciones previamente encontradas (Dias & Filgueira, 2008).
- *Optimizaciones de Swarm*: está inspirado en el comportamiento colectivo de aves y hormigas. En este algoritmo, los cambios realizados en una solución se dirigen para seguir la mejor pose de población.

Por último, describimos a los *métodos determinísticos*. En estos métodos el resultado final depende de la entrada inicial, ya que dada la misma configuración inicial del sistema (parámetros) el estado final será el mismo. Los dos ejemplos más representativos de los métodos determinísticos es la minimización de la energía y la dinámica molecular.

- *Minimización de la energía (EM)*: explora el panorama energético de una manera eficiente mediante una búsqueda local con un gradiente de potencial de energía. El

problema de EM es su poca habilidad para sobrepasar barreras energéticas y encontrar el mínimo local de una manera más eficiente.

- *Dinámica molecular (MD)*: simulan los movimientos del sistema en el tiempo considerando variables termodinámicas (temperatura y presión). Considera la flexibilidad de una manera más efectiva que otros algoritmos ya que considera todos los grados de libertad tanto de la diana molecular como del ligando. Su mayor desventaja es su elevado costo computacional.

### 3.1.3 Funciones de Score

Las funciones de *score* (puntuación) son métodos matemáticos de aproximación que se usan para estimar la constante de afinidad entre el ligando y el receptor a partir de la ecuación de Gibbs-Helmholtz:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (31)$$

Donde  $\Delta G$  es la energía libre de unión,  $\Delta H$  la entalpía,  $T$  es la temperatura (K) y  $\Delta S$  es la entropía.

El acoplamiento molecular también considera otro parámetro de afinidad: la constante de afinidad  $K_i$ , la cual se relaciona con la Ec. 1:

$$\Delta G = -RT \ln K_i \quad (32)$$

Estas funciones de score estiman la energía de enlace del complejo formado considerando las interacciones intermoleculares, de solvatación, efectos electrostáticos y entrópicos, para llegar el valor más real de la energía de enlace en un tiempo mínimo. El primer objetivo del score es distinguir los modos de unión observados experimentalmente (valores de energía más bajos) de todas las demás poses exploradas en el algoritmo de búsqueda. El segundo objetivo es clasificar los ligandos con actividad de los inactivos (cribado virtual). El tercer objetivo es calcular las energías de unión y constantes de afinidad.

Las funciones de score se clasifican en tres tipos:

- *Basados en campos de fuerza*: estima la energía de unión de la suma de las interacciones electrostáticas y van de Waals entre los pares de átomos del ligando y receptor. No se considera la entropía ni el efecto de solvatación.

$$\Delta G_{bind} = \Delta G_{vdW} + \Delta G_{electr} \quad (33)$$

- *Funciones de puntuación empíricas*: estiman la afinidad de unión considerando los factores energéticos más importantes (o de interés) como los enlaces por puente de hidrógeno, efecto hidrófobo, choques estéricos, etc. Utiliza un conjunto de entrenamiento de afinidades de unión conocidas para optimizar las cargas de los factores energéticos mediante un análisis de regresión lineal.

$$\Delta G_{bind} = \Delta G_{Hbond} + \Delta G_{vdW} + \Delta G_{electr} \quad (34)$$

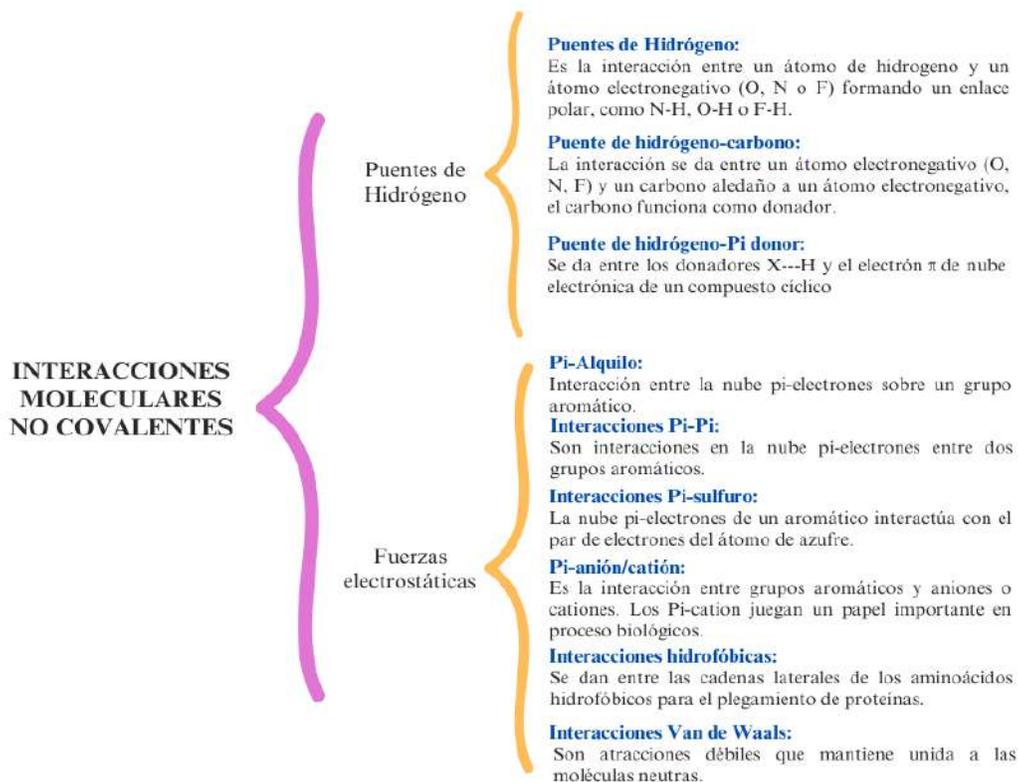
- *Funciones de puntuación basadas en conocimiento*: realizan observaciones estadísticas de contactos intermoleculares identificados en bases de estructuras. Los pares de átomos de la interacción se convierte en un pseudopotencial conocido como potencial de fuerza media, el cual describe las geometrías preferidas de los átomos de los pares ligando-receptor. Los potenciales se calculan utilizando la relación de Boltzmann inversa. Un potencial dependiente de la distancia entre el par de átomos  $i$  -  $j$ :

$$A = \sum_i^{lig} \sum_j^{recep} \omega_{ij}(r) \quad (35)$$

### 3.1.4 Tipos de Interacciones en el Acoplamiento Molecular

Los estudios de acoplamiento molecular arrojan resultados de la estabilidad y afinidad de los complejos formados. *Binding affinity* es un parámetro de energía en kcal/mol, el cual establece que a menor valor el complejo formado será más estable y su afinidad será más alta (Patil et al., 2010). Esta afinidad de unión está dada por las interacciones intermoleculares no covalentes que se estudian en el docking, tales como los puentes de hidrógeno, interacciones electrostáticas, hidrofóbicas y de Van de Waals.

Las interacciones intermoleculares no covalentes son las responsables de las atracciones o repulsiones entre moléculas. En este tipo de interacciones no se comparten pares de electrones, por lo que son enlaces débiles. No obstante, la distancia de las interacciones es muy importante, ya que mientras más grande es la distancia más débil es la interacción y viceversa. En el siguiente esquema (Esquema 2) se especifican los tipos de interacciones que se pueden analizar en un acoplamiento molecular.



*Esquema 2. Tipos de Interacciones moleculares no covalentes más estudiadas en el acoplamiento molecular.*

## 3.2 Metodología Computacional

### 3.2.1 Acoplamiento Molecular

El estudio de la interacción molecular proteína-ligando para analizar la energía de los sitios de unión entre los compuestos (ligandos) y los blancos (proteínas antiapoptóticas Bcl-2) se realiza empleando el software AutoDock 4.2.6 y Autodock Tools (ADT) (Forli et al, 2016).

Los compuestos M1 a M7 se identifican como **ligantes** en el acoplamiento molecular. Inicialmente los siete compuestos optimizados previamente en el contexto de DFT en el nivel de teoría  $\omega$ B97XD/6-31+G\*, se convierten a formato \*.pdb. Después se preparan los ligandos con ADT adicionando hidrógenos no polares y cargas de Gasteiger, guardando estas modificaciones en formato \*.pdbqt. Las estructuras cristalinas de las proteínas de la familia Bcl-2 (Figura 10), se extraen de la base de datos Protein Danta Bank (<https://www.rcsb.org/>), con PDB ID: 4IEH y 3ZK6, estas proteínas han sido objeto de estudio en otras

investigaciones (Abd et al., 2020) debido a que tiene el sitio de interacción con un BH3. Con el software VMD (Visual Molecular Dynamics) se eliminan las moléculas de agua cristalina y los compuestos cocrystalizados unidos a ellas. Posteriormente se añaden átomos de hidrógeno y cargas de Kollman usando ADT 1.5.2 guardando el receptor en formato \*.pdbqt.

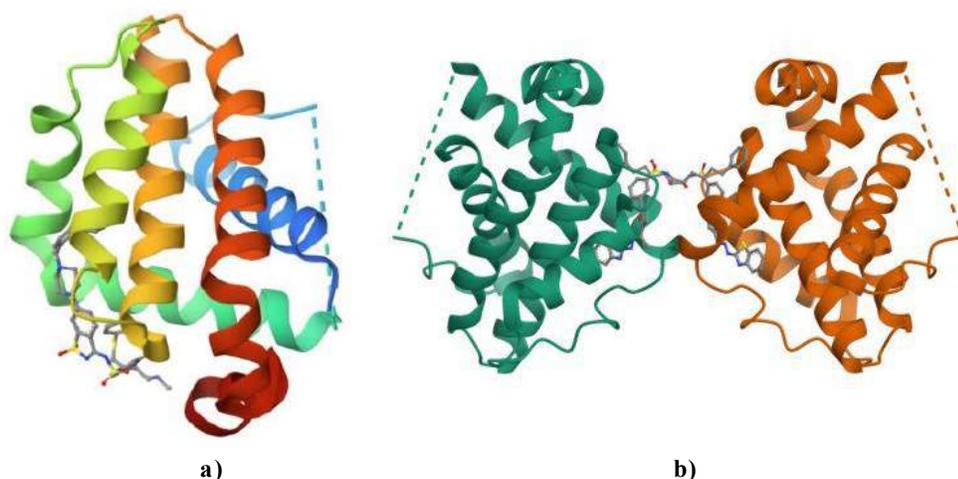


Figura 10. a) Estructura de la proteína antiapoptótica Bcl-2 con PDB ID: 4IEH y b) Estructura de la proteína antiapoptótica Bcl-xl con PDB ID: 3ZK6. Imágenes recuperadas del Protein Data Bank.

Para el estudio del acoplamiento molecular, se seleccionan los sitios de unión potenciales reportados en la literatura (Abd et al., 2020). Mientras que para la proteína 4IEH se coloca la grid box con centro en  $x = 10.659$ ;  $y = 24.4212$ ;  $z = 8.479$ , con un número de puntos de 86 y un espaciado de 0.375 Å. Para la segunda proteína antiapoptótica 3ZK6 el número de puntos de la cuadrícula fue de 102 con centro en  $x = 20.181$ ;  $y = 52.776$ ;  $z = 0.135$  con un espaciado de cuadrícula de 0.375 Å. Con AutoGrid 4.2 se obtienen los mapas de afinidad electrónica para cada átomo de cada ligando, con la finalidad de generar los sitios de afinidad de más baja energía.

Se aplica el Algoritmo Genético Larmackiano (LGA) con 100 recorridos de acoplamiento y 26,000 generaciones. Los resultados obtenidos se analizan con la interfaz ADT 1.5.2 buscando las conformaciones de mínima energía ( $EU$ ) y constante de inhibición ( $Ki$ ). Las imágenes de las interacciones proteína-ligando se visualizan con los softwares Biova Discovery Studio (Baroroh et al., 2023) y Chimera (Pettersen et al., 2004).

### 3.2.2 *Dinámica Molecular*

Se realizan simulaciones de DM para los ligandos M3 y M5 con la proteína Bcl-x1 (PDB ID: 1LXL) debido a que la molécula M5 previamente presentó las mejores energías de unión y constantes de inhibición de acuerdo al acoplamiento molecular, por otra parte, el ligante M3 fue el que presentó las peores energías de unión.

El modelo final de los complejos proteína-ligando se llevan a dinámicas de equilibración y producción. La primera simulación tiene la finalidad de uniformar las propiedades locales del sistema para que las condiciones de la simulación de producción sean las correctas. El protocolo de equilibración consiste en cinco pasos de los cuales dos etapas son primordiales: “adaptación del solvente” y “calentamiento y ajuste de volumen”.

La primera etapa involucra una minimización de las moléculas de agua y de los iones a 50,000 pasos de optimización geométrica minimizando la energía potencial. En la segunda etapa se realiza un calentamiento a 310 K partiendo de una temperatura de 10 K e incrementando 1 K cada 200 fs. En un paso intermedio de esta etapa, se deja libre la proteína y el ligando apagando el calentamiento para que el sistema se minimice por completo. En esta etapa se permite el movimiento de todas las especies (solvente, iones, proteína y ligando) eliminando las restricciones aplicadas en la etapa anterior nuevamente aplicando 50,000 pasos de minimización de la energía de 10 K a 310 K con incrementos de 1 K cada 200 fs a una presión de 1 atm.

Posteriormente, la simulación de producción parte de las coordenadas y velocidades finales del último paso de equilibración para todos los átomos usando el ensamble isotérmico-isobárico NTP, sin restricciones estructurales. Se efectúan 500 ns de simulación de producción utilizando el software NAMD v. 2.14 (Phillips et al., 2005), empleando el campo de fuerza de CHARMM36 (Huang & MacKerell, 2013). La temperatura de las simulaciones se controla utilizando dinámicas de Langevin y la presión aplicando el método de pistón de Langevin que proporciona el paquete NAMD (Martyna et al., 1994).

### 3.3 Resultados y discusión

#### 3.3.1 Acoplamiento molecular

Los resultados de acoplamiento se analizaron en función de su energía de unión ( $EU$ ), la constante de inhibición ( $Ki$ ) y las interacciones proteína-ligando como se muestra en la Tabla 7. AutoDock utiliza un tipo de acoplamiento rígido-flexible, donde se exploran todos los grados de libertad del ligando dentro del sitio de inhibición de las proteínas.

Tabla 7. Resultados del acoplamiento molecular entre los ligantes M1-M7 con proteínas antiapoptóticas de la familia Bcl-2.

Proteína	Ligando	Sitios de unión	Energía de unión (kcal/mol)	Constante de inhibición ( $\mu$ M)	Distancia de enlace ( $\text{\AA}$ )	Interacción más relevante
Bcl-2	M1	Arg66	-6.33	22.79	1.973	N-H•••O <sub>lig</sub>
	M2	Arg105	-5.53	88.50	2.201	N-H•••O <sub>lig</sub>
	M3	Arg66	-5.33	124.5	2.066	N-H•••O <sub>lig</sub>
	M3	Gly104	-5.14	170.9	2.214	N-H•••O <sub>lig</sub>
	M4	Arg66	-5.87	49.83	1.970	N-H•••O <sub>lig</sub>
	M5	Arg105	-8.89	0.303	1.934	N-H•••O <sub>lig</sub>
	M5	Tyr161	-8.45	0.664	2.057	H-O•••H-N <sub>lig</sub>
	M6	Arg66	-7.30	4.490	1.917	N-H•••O <sub>lig</sub>
Bcl-xl	M7	Arg105	-6.75	11.30	2.127	N-H•••N-C <sub>lig</sub>
	M2	Ser106	-6.42	19.69	2.984	N-H•••O <sub>lig</sub>
	M3	Ser106	-5.29	133.5	2.989	N-H•••O <sub>lig</sub>
	M4	Ser106	-5.90	47.59	2.896	N-H•••O <sub>lig</sub>
	M5	Ser106	-9.15	0.197	2.160	C-O•••H-N <sub>lig</sub>
	M5	Arg139	-8.35	0.762	2.951	N-H•••O <sub>lig</sub>
	M5	Gly138	-9.49	0.111	2.128	C=O•••H-N <sub>lig</sub>
	M6	Ser106	-7.46	3.420	2.751	C=O•••N-C <sub>lig</sub>
M7	Ser106	-8.05	1.250	2.685	C=O•••N-C <sub>lig</sub>	

Como se observa en la Tabla 7, los siete compuestos interactuaron con la proteína antiapoptótica Bcl-2. Por otro lado, el ligante M1, no interactuó en el sitio de inhibición de Bcl-xl por lo que M1 no sería un inhibidor de esta proteína. Las quinoxalinas (M5-M7) presentaron bajos valores de  $EU$  y  $Ki$  indicando altas afinidades de unión y emparejamiento debido a que las estructuras de las quinoxalinas llegan a posicionarse mejor dentro del saco de unión. Los valores de  $EU$  son más bajos en comparación con Bcl-2, lo que le da como

resultado que los complejos formados con esta proteína son más estables. Se ha demostrado que compuestos carbonílicos análogos a la curcumina (como los cinamilos) pueden regular negativamente los niveles de sobreexpresión de Bcl-xl en tumores cancerígenos, lo que conlleva que los grupos carbonilo son la clave de la interacción en el sitio de inhibición de estas proteínas (Warsito et al., 2021).

### **Acoplamiento con Bcl-2**

En el sitio de unión de Bcl-2, se ilustra que los compuestos M1, M3, M4 y M6 se unen a Arg66 mediante una interacción PH entre el oxígeno del grupo carbonilo del compuesto y el H de la amina del residuo (N-H...O<sub>lig</sub>) con una distancia de enlace de 1.97 Å. De los cuatro compuestos cinamilo, M1 es el que presentó mejores valores de *EU* (-6.33 kcal/mol) y una *Ki* pequeña (22.79 μM). Estas energías son comparables con los resultados presentados en la literatura (Alam et al., 2021). En la Figura 11, podemos observar que M1 también se une por PH con Tyr67 al igual M3 y M4. Por el contrario, el cinamilo M3 es el que presenta valores más altos de afinidad y *Ki* con la proteína, lo que resulta contradictorio con los resultados experimentales donde demuestra una disminución significativa la expresión de esta proteína antiapoptótica en células cancerígenas (Wang et al, 2022). Con respecto a los demás ligantes, los resultados demostraron que M5 tiene una fuerte afinidad de unión (-8.89 kcal/mol) con la proteína ya que se une en dos de los sitios clave de la cavidad electrostática: Arg105 y Trp103 mediante puente de hidrógeno. De acuerdo con diversos estudios se ha demostrado que Arg66, Arg105, Gly104, Tyr161, Trp103, son residuos claves en el sitio de inhibición de esta proteína (Abd et al., 2020).

De lo anterior, podemos decir que los compuestos derivados de cinamilos y quinoxalinas que se están estudiando en este trabajo si actúan sobre el sitio de inhibición de la proteína de interés. Además de las interacciones por PH, tanto los derivados de cinamilos y quinoxalinas presentan anillos aromáticos en su estructura, por lo que se puede apreciar interacciones del tipo  $\pi \cdots \pi$ ,  $\pi \cdots$  alquil,  $\pi \cdots \sigma$  y  $\pi \cdots$  azufre, para el caso de M4 y M7 que contienen anillos tiofeno, las cuales son muy estudiadas en sistemas biológicos, debido a que el azufre puede formar interacciones  $\pi$ -anión/catión actuando como donador de densidad de carga.

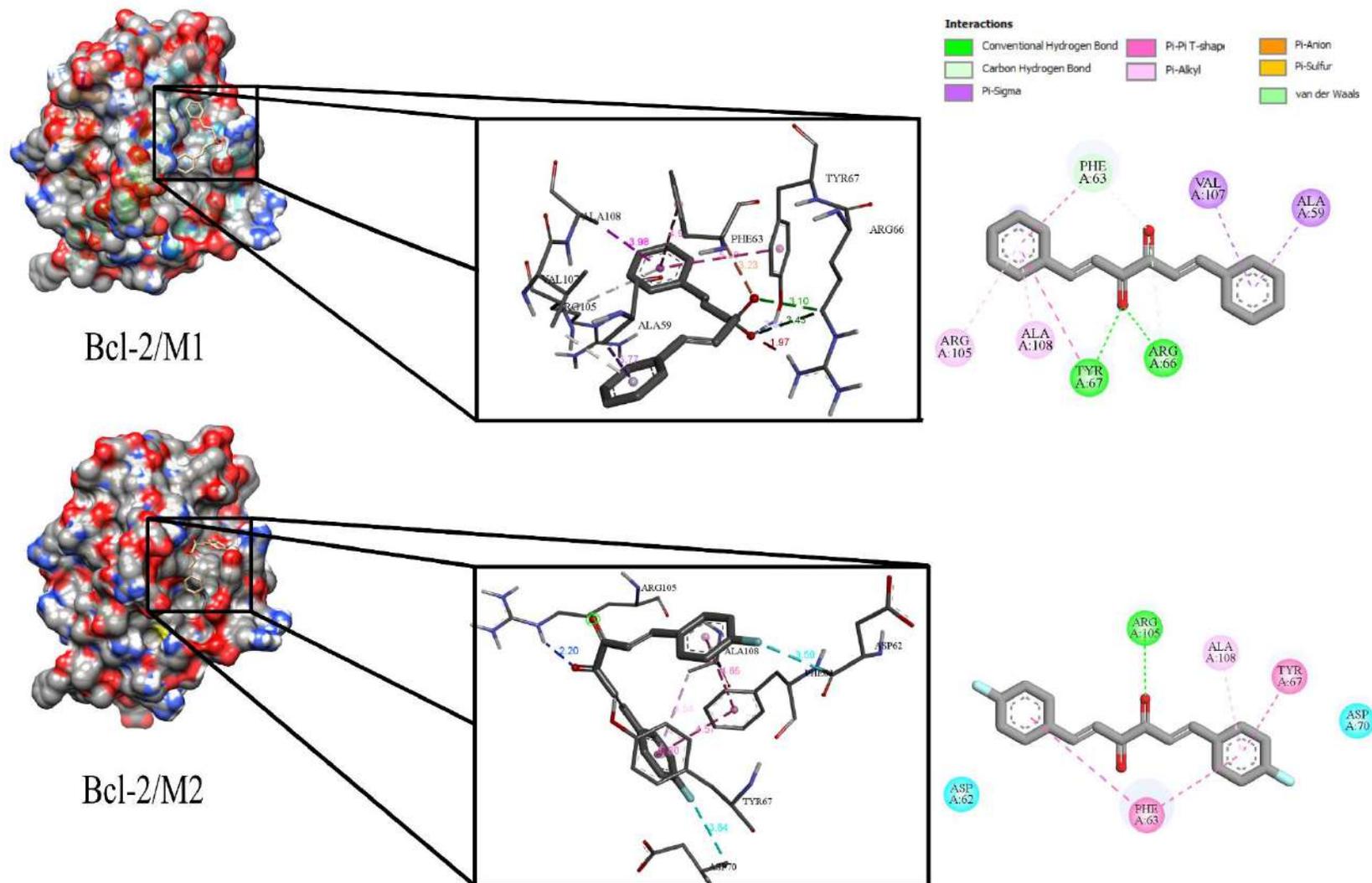


Figura 11. Interacciones proteína-ligando de la proteína antiapoptótica Bcl-2 con cinamilos y quinoxalinas.

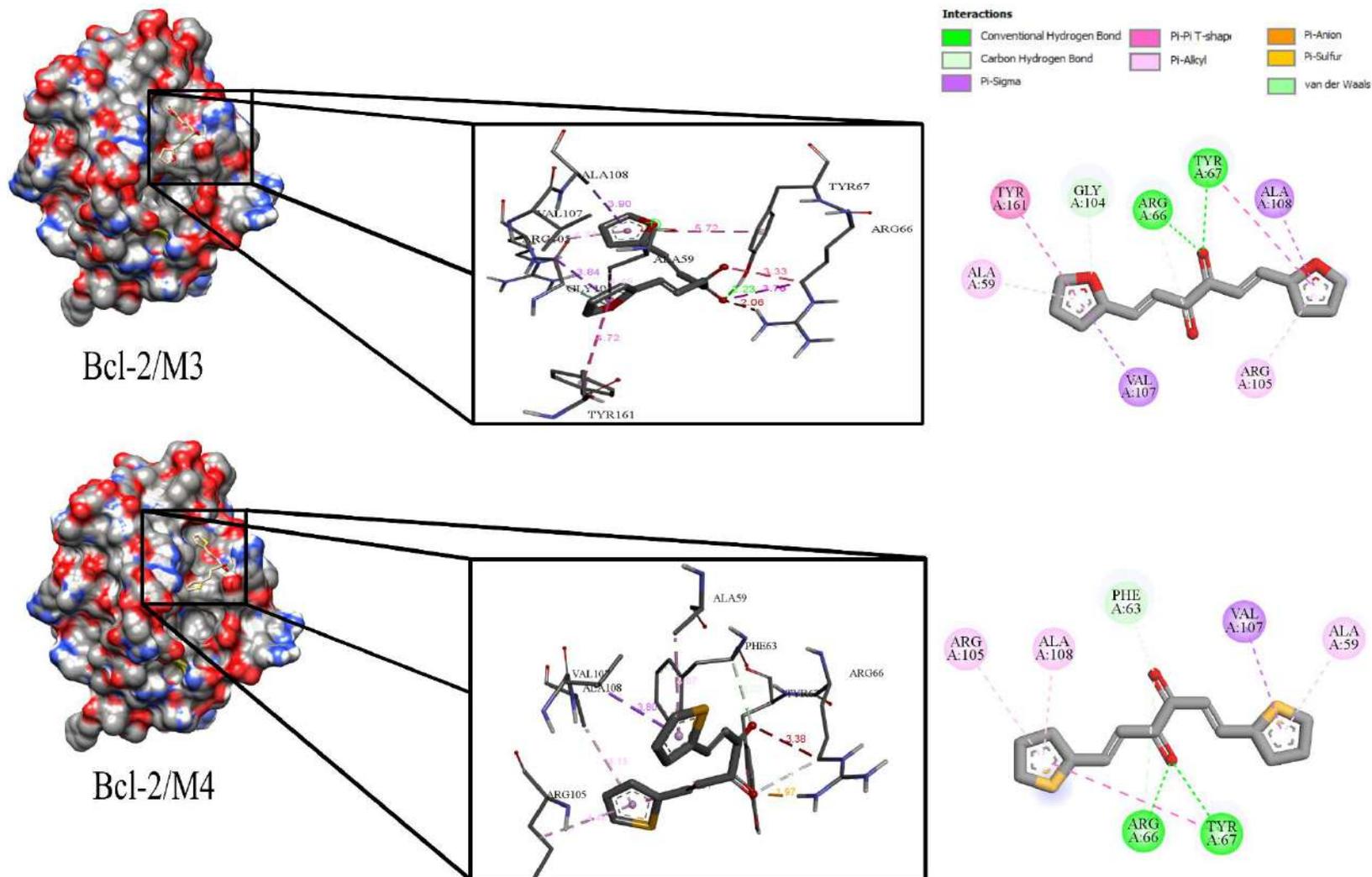


Figura 11. (Continuación)

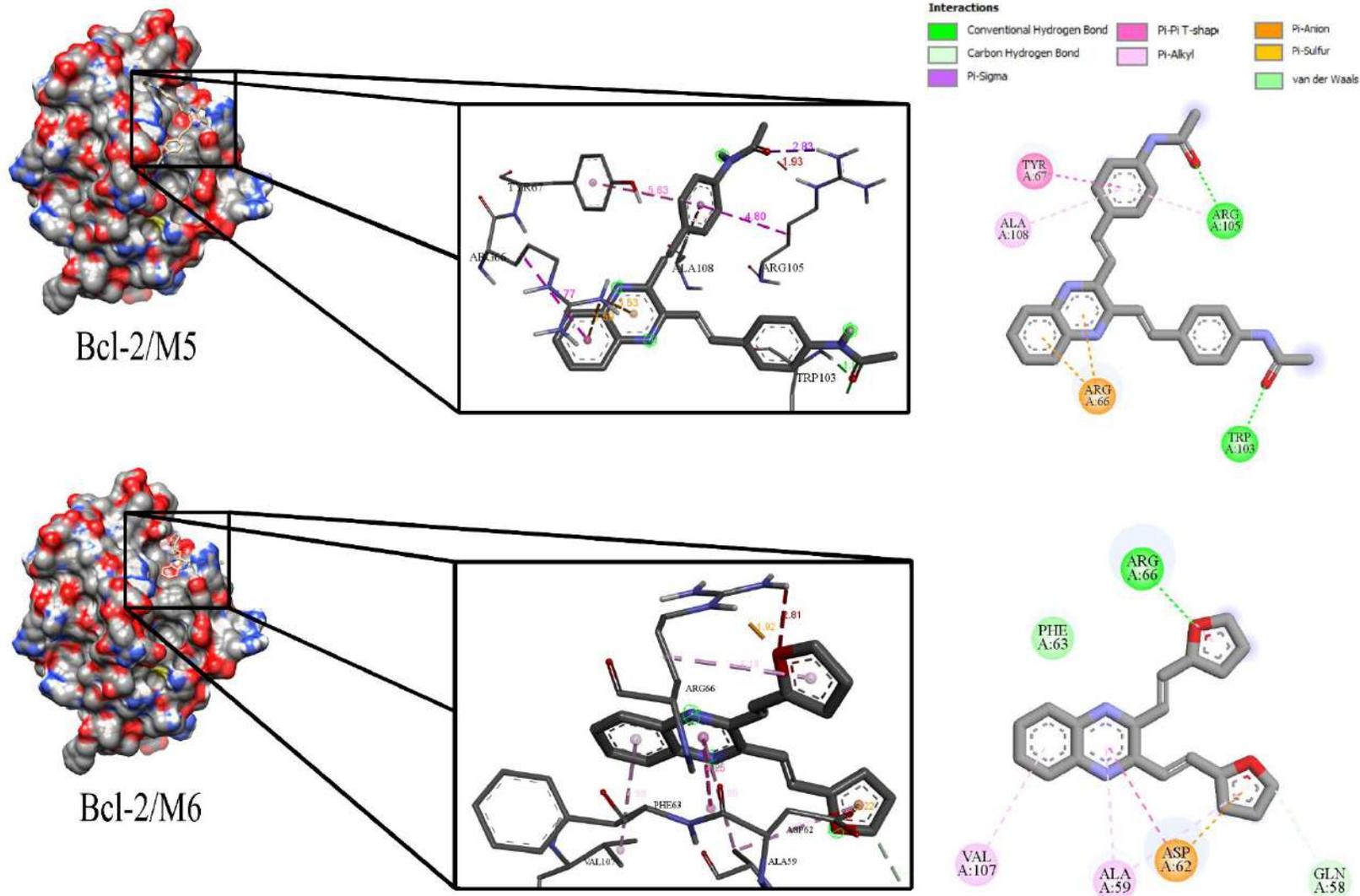
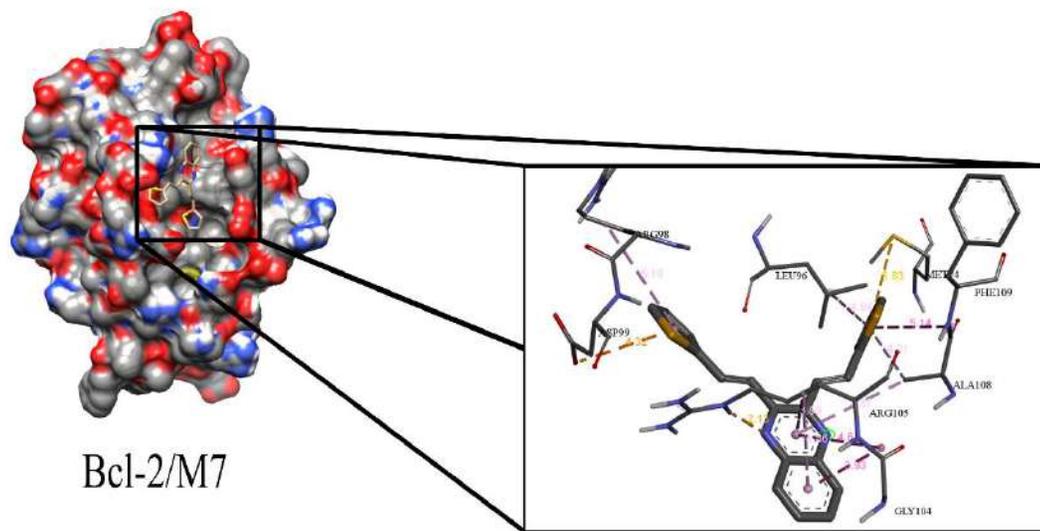


Figura 11. (Continuación)



**Interactions**

- |   |  |   |
|---|--|---|
| <span style="color: green;">■</span> Conventional Hydrogen Bond | <span style="color: magenta;">■</span> Pi-Pi T-shape | <span style="color: orange;">■</span> Pi-Anion          |
| <span style="color: lightgreen;">■</span> Carbon Hydrogen Bond  | <span style="color: pink;">■</span> Pi-Alkyl         | <span style="color: yellow;">■</span> Pi-Sulfur         |
| <span style="color: purple;">■</span> Pi-Sigma                  |  | <span style="color: lightgreen;">■</span> van der Waals |

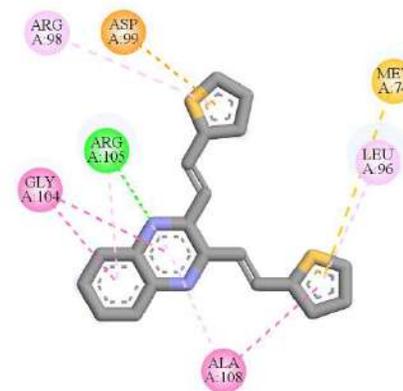


Figura 11. (Continuación)

### Acoplamiento con Bcl-xl

El estudio de acoplamiento entre Bcl-xl y M5 muestra que este ligando se une a través de tres aminoácidos en el sitio activo (Arg139, Ser106 y Gly138) con energías de unión de  $-9.49$ ,  $-9.15$  y  $-8.35$  kcal/mol respectivamente. M5 muestra valores muy bajos de  $K_i$ , confirmando que los complejos formados tienen buena afinidad y estabilidad (Figura 12). Además, en este ligante existe una interacción de tipo  $\pi \cdots$  alquil con la Arg139 ayuda a aumentar la interacción electrostática de la arginina conservada. Los ligandos M6 y M7 se unen a Ser106 mediante el nitrógeno de la benzopirazina.

Los anillos furano y tiofeno presentes en estas estructuras presentan interacciones  $\pi \cdots \pi$ ,  $\pi \cdots$  alquil y  $\pi \cdots \sigma$  con los anillos de Phe105 y Leu108. Los residuos Phe105, Ser106 y Leu108 están presentes en la  $\alpha$ -hélice 3 de Bcl-xl, donde el mimético BH3 actúa como inhibidor natural (Lessene et al., 2013), por lo que estos compuestos se unen fuertemente a las bolsas hidrofóbicas que constituyen el surco de unión de esta proteína ya que estos sitios tienen un alto grado de plasticidad en la cadena permitiendo que sea modificada la estructura a partir de moléculas pequeñas. Estos resultados muestran que existe coincidencia entre las interacciones de un inhibidor natural y los compuestos estudiados, lo que sugiere una posible analogía en el mecanismo de acción de la proteína Bcl-xl.

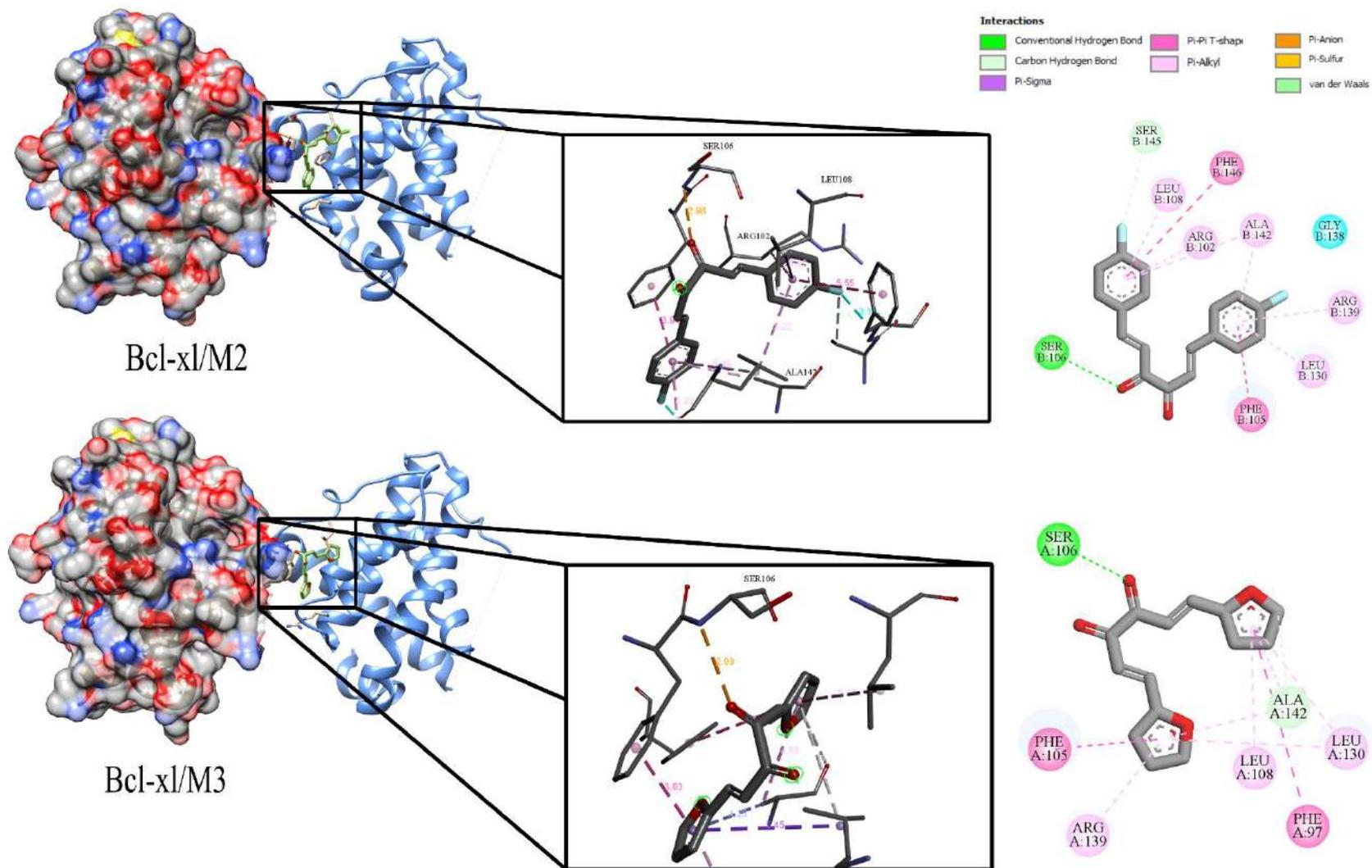
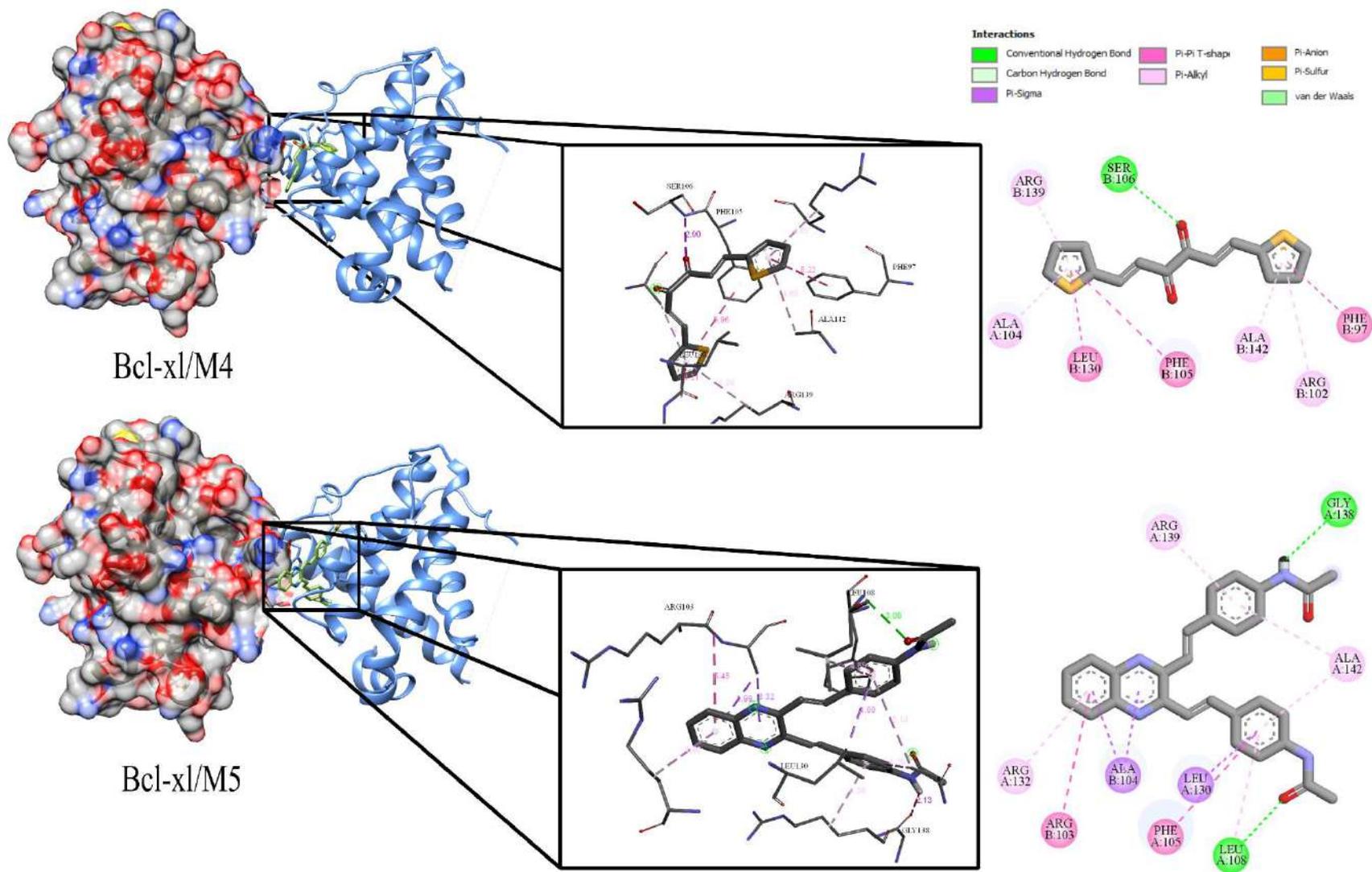


Figura 12. Interacciones proteína-ligando de la proteína antiapoptótica Bcl-x1 con cinamilos y quinoxalinas.



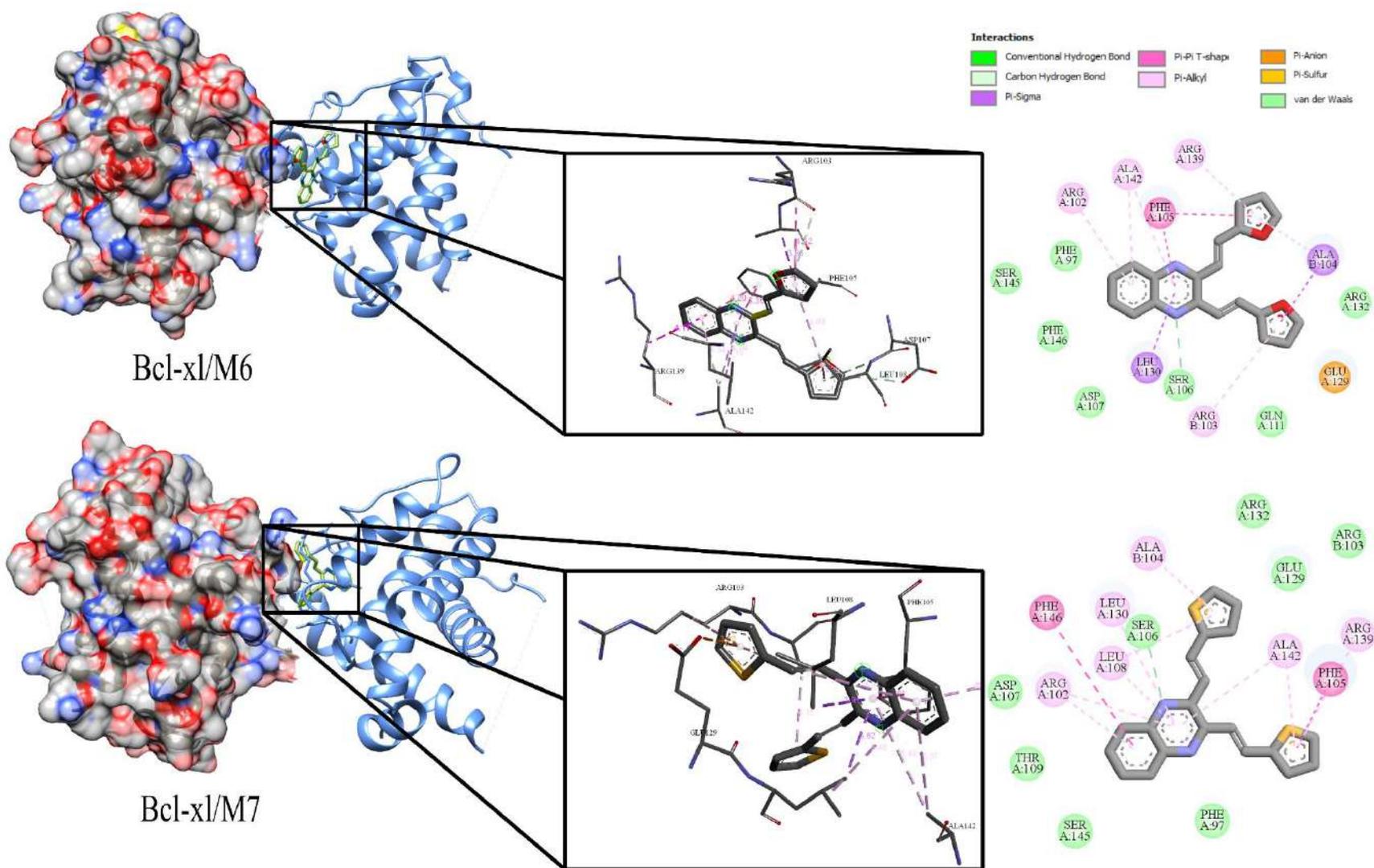
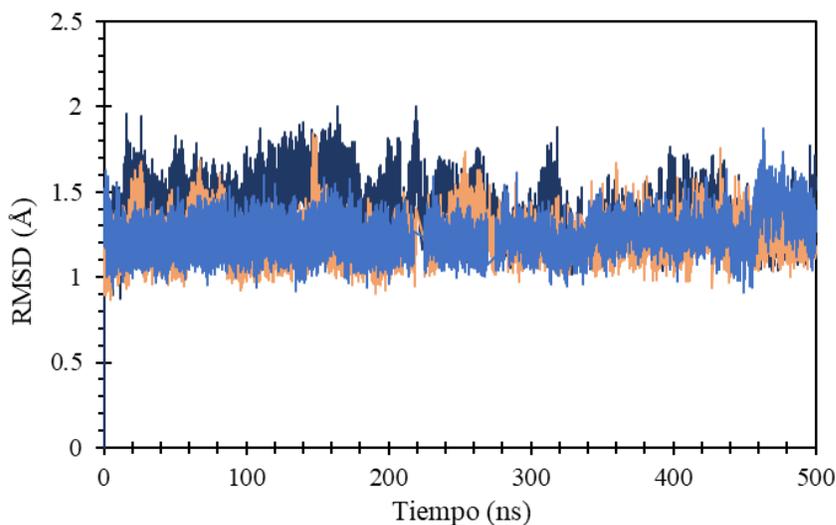


Figura 12. (Continuación)

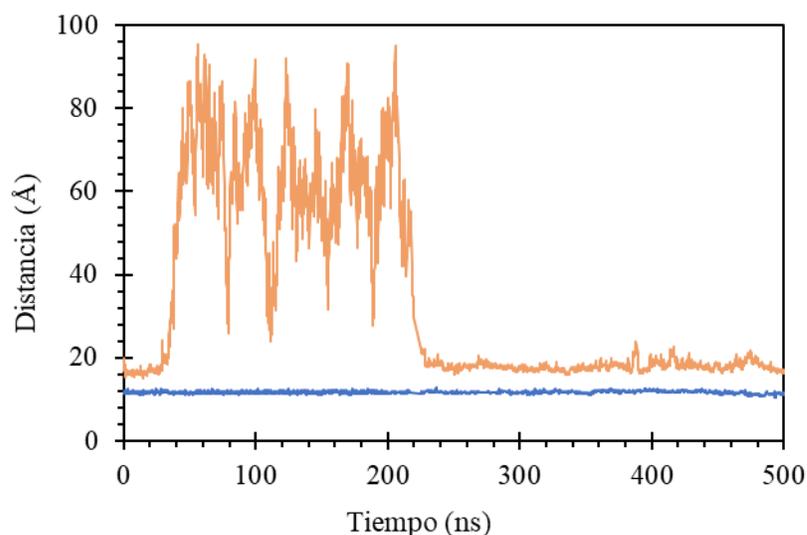
### 3.3.2 Dinámica Molecular

A partir de las trayectorias de simulación de cada sistema, se calcularon algunos observables para analizar los cambios conformacionales de la proteína. Con VMD se inspeccionó de manera visual los cambios de estructura de la proteína en el sitio activo de inhibición, esto se hizo tanto para la proteína nativa (sin ligante) como para los complejos obtenidos del acoplamiento molecular (con los ligantes M3 y M5). Inicialmente se realiza el análisis de la desviación cuadrática media (RMSD) debido a que es un excelente predictor de la estabilidad estructural a lo largo de toda la simulación y determina cuando se alcanza el equilibrio. Este valor se obtiene a partir de la comparación entre dos estructuras, se prefiere que la estructura de referencia sea la proteína en su estado nativo, es decir, sin ligante. Aplicando esta premisa se observa en la Gráfica 5 el RMSD para los tres sistemas, donde los valores de la proteína nativa están por debajo de los 2 Å durante toda la simulación, que es un valor típico para simulaciones DM de proteínas estables plegadas de forma nativa. En el caso del complejo Bcl-xl – M3 se observan varias fluctuaciones en toda la simulación en 20, 60 y 150 ns por lo que el ligante podría considerarse que no es estable dentro del sitio de unión. Por otro lado, el sistema Bcl-xl – M5 alcanza 1.5 Å al inicio, pero en toda la trayectoria logra estabilizarse presentando menores fluctuaciones.



Gráfica 5. RMSD de los  $C_{\alpha}$  para la proteína nativa y la proteína con los ligantes M3 y M5 en 200 ns de simulación. La trayectoria azul marino corresponde a la proteína Bcl-xl sin ligante, la trayectoria en color naranja corresponde al complejo Bcl-xl – M3, y, por último, la trayectoria en azul rey corresponde al complejo Bcl-xl – M5.

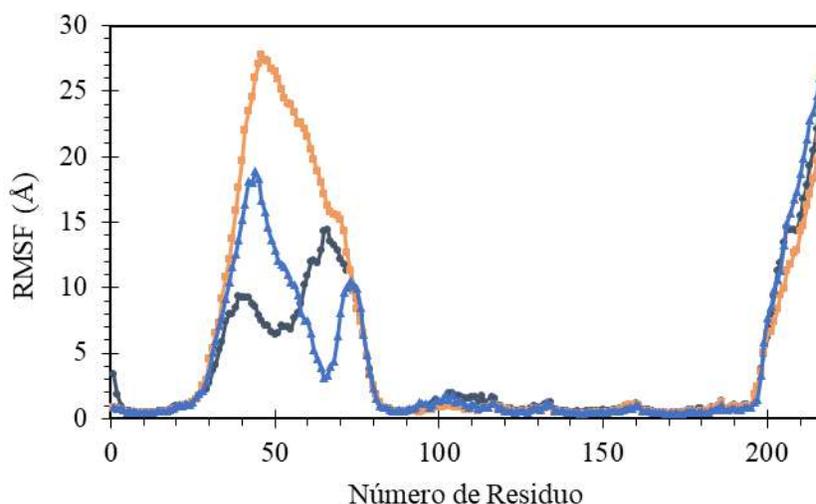
El distCOM (distancia del centro de masa), es un factor observable útil para caracterizar el movimiento general y el comportamiento del sistema molecular en particular, lo que nos permite determinar si el centro de masa del ligando se aleja o se acerca al centro de masa del receptor. Este parámetro permite caracterizar el movimiento del ligante relativo a la proteína y en general el comportamiento del complejo. En la Gráfica 6, la línea naranja muestra como el ligante M3 permanece dentro del sitio de unión de la proteína durante los 30 ns iniciales, sin embargo, cuando alcanza los 45 ns de simulación este comportamiento fluctúa registrando una distancia hasta 99 Å a partir del centro de masa de la proteína, donde el ligante se sale del surco de acoplamiento perdiendo la estabilidad del complejo. Sin embargo, a los 226 ns la proteína sufre cambios conformacionales dentro del sitio activo y el propio ligando se acopla nuevamente dentro de la cavidad de unión conservándose hasta los 500 ns muy cerca del modo de unión original, mostrando distancias menores a 20 Å entre los centros de masa, lo que sugiere que los cálculos de DM podrían refinar los resultados obtenidos en el acoplamiento molecular. Para el sistema Bcl-xl – M5 (línea en azul rey), indica que el ligante M5 permanece dentro del sitio activo ya que la distancia al centro de masa con el receptor es constante durante los 500 ns.



*Gráfica 6. Distancias del centro de masa entre la proteína Bcl-xl y el ligante M3 (línea naranja) y M5 (línea azul rey).*

Por último, se realizó el cálculo de la fluctuación cuadrática media (RMSF) de los átomos  $C_{\alpha}$  de los residuos para los tres sistemas: la proteína nativa sin ligante, el complejo Bcl-xl – M3

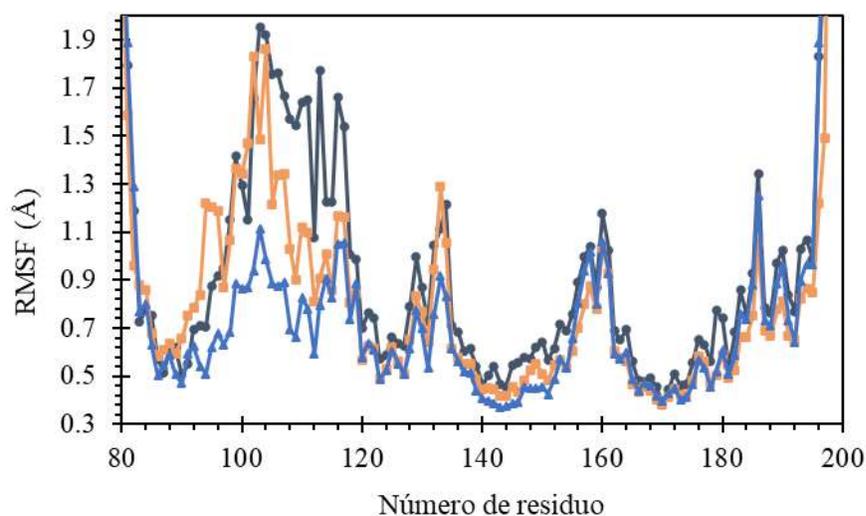
y Bcl-xl – M5. Este análisis RMSF permite identificar las regiones más flexibles dentro del sistema proteico de estudio, el cual se observa en la Gráfica 7, donde los residuos 30 a 80 corresponden a la estructura del loop de la proteína indicando una fluctuación de hasta 23 Å. De manera análoga los residuos 200 al 217, los cuales corresponden a la cadena terminal de la proteína, tienen diferentes fluctuaciones ya que estas son las partes más flexibles de la proteína. En este punto es conveniente indicar que los fragmentos del loop y la cadena terminal de la hélice  $\alpha_3$  solo dan estabilidad a la proteína Bcl-xl, pero no interfieren en la actividad inhibitoria de la misma (Muchmore et al., 1996).



*Gráfica 7. RMSF de los C $\alpha$  de los residuos de la proteína. En esta gráfica se muestra el sistema completo de la proteína incluyendo los fragmentos del loop y de la cadena terminal. La línea azul marino corresponde a la proteína Bcl-xl sin ligante, la línea naranja corresponde al complejo Bcl-xl – M3 y, por último, la línea azul rey corresponde al complejo Bcl-xl – M5.*

Adicionalmente se presenta un acercamiento en los residuos 80-200 (Gráfica 8) los cuales corresponden a la parte globular de la proteína el cual es el sitio de interés. La línea naranja corresponde al complejo con el ligante M3, en donde los átomos de C $\alpha$  fueron los que más fluctuaciones presentaron en comparación a M5. El perfil dinámico del complejo Bcl-xl – M5 es el que presenta menores fluctuaciones en comparación con el sistema de referencia. Además, los aminoácidos conservados como Phe105, Ser106, Leu108 presentaron menor fluctuación en un rango de 0.7 a 1.1 Å, lo que sugiere que estos residuos forman interacciones estables por puente de hidrógeno con M5, dando lugar a la estabilidad de este compuesto.

Por otro lado, los residuos Gly138 y Arg139, son los residuos conservados con menor fluctuación dentro del sistema. Se sabe que estos residuos forman parte del sitio de inhibición de la proteína (Luan et al., 2022; Huang et al., 2022). Para el caso del ligante M3, estos residuos tuvieron una fluctuación mayor hasta de 1.8 Å, comprobando una menor estabilidad a comparación con M5 y, por lo tanto, el ligando M5 actúa como un inhibidor potencial de la proteína Bcl-xl.



Gráfica 8. RMSF de los  $C_{\alpha}$  de la parte globular de la proteína, en los residuos 80-200. La línea azul marino corresponde a la proteína Bcl-xl sin ligante, la línea naranja corresponde al complejo Bcl-xl - M3 y, por último, la línea azul rey corresponde al complejo Bcl-xl - M5.

### 3.4 Conclusiones

Los estudios detallados sobre el acoplamiento molecular han demostrado que los compuestos derivados de cinamilos y quinoxalinas tienen el potencial de actuar como inhibidores efectivos de las proteínas Bcl-2 y Bcl-xl, respaldados por sus altas afinidades de unión y constantes de afinidad. La presencia de puentes de hidrógeno entre los ligandos y la proteína Bcl-xl se asocia con mayores afinidades de unión en comparación con Bcl-2, sugiriendo diferencias significativas en la interacción de estos ligandos con las dos proteínas, a pesar de su alta homología secuencial en los bolsillos activos.

Aunque el mecanismo exacto de señalización de Bcl-xl aún no se comprende completamente, se estima que esta proteína es aproximadamente diez veces más funcional que Bcl-2 al ser

inducida por un candidato a fármaco (Fiebig et al., 2006). Esto subraya la importancia de Bcl-xl como diana molecular en el diseño de fármacos asistidos por computadora.

Las simulaciones de dinámica molecular realizadas para el ligando M3 demostró ser menos estable que M5 en el sitio activo de la proteína después de 40 ns de simulación, tal como se predijo en los resultados de docking molecular los cuales revelaron baja EU y Ki. Sin embargo, el compuesto logró posicionarse nuevamente en el sitio activo a partir de los 226 ns. En contraste, el ligando M5, presentó los mejores valores de acoplamiento de los siete compuestos de estudio, mostrando una mayor afinidad y estabilidad en el sitio de unión de acuerdo a los parámetros de RMSD, distCOM y RMSF. Esto indica que M5 podría ser un candidato prometedor para estimular el proceso apoptótico.

En conclusión, nuestros hallazgos destacan la relevancia de M5 como un potencial inhibidor de Bcl-xl, lo que podría abrir nuevas vías para el desarrollo de tratamientos dirigidos en la lucha contra el cáncer. Se recomienda continuar con estudios adicionales para validar estas predicciones y explorar más a fondo el potencial terapéutico de estos compuestos.

## Capítulo 4. Estudio de las interacciones proteína – ligando empleando la Teoría Cuántica de Átomos en Moléculas (QTAIM)

Un “complejo reducido” es aquel fragmento recortado del complejo proteína – ligando, considerando parámetros de análisis, esta estrategia se aplica con la finalidad de acotar la demanda computacional de los cálculos, para sistemas moleculares de gran tamaño.

Por lo que el estudio de las interacciones proteína – ligando es factible realizarlo en el contexto de una teoría robusta como la Teoría Cuántica de Átomos en Moléculas la cual permite analizar la naturaleza de las interacciones en el sistema de interés.

### 4.1 Átomos en Moléculas

El estudio de la afinidad de unión en un sistema proteína–ligando sigue siendo un desafío. Las interacciones más relevantes que se dan entre el ligando hacia su objetivo biológico deseado son del tipo puente de hidrógeno no convencionales los cuales suelen ser más débiles que un enlace típico del tipo covalente, pero en algunos casos se pueden presentar interacciones intermoleculares covalentes en estos sistemas. El puente de hidrógeno no convencional generalmente se define como una interacción del tipo  $X - H \cdots Y$ , donde Y es un centro aceptor de protones y  $X - H$  es una interacción típica covalente. X y Y son átomos electronegativos como O, N, Cl, F. Principalmente hay cuatro tipos de enlaces de hidrógeno no convencionales, como los  $H \cdots C - H$ , en el que  $C - H$  actúa como un donante no convencional, la interacción entre un hidrógeno una nube  $\pi$  de electrones  $H \cdots \pi$ , en donde la nube  $\pi$  actúa como un aceptor no convencional, y, por último, las otras dos interacciones no convencionales son del tipo  $H \cdots C - H \cdots C$  y  $C - H \cdots \pi$  (Grabowski, 2001). Para estudiar más a profundidad este tipo de interacciones nos apoyamos de la siguiente teoría.

La Teoría de Átomos en Moléculas (AIM por sus siglas en inglés *Atoms in Molecules*) fue propuesta por el químico cuántico canadiense Richard Bader en 1994. Esta teoría ha evolucionado a lo que hoy en día conocemos como Teoría Cuántica de Átomos en Moléculas (QTAIM), en ella la estructura molecular es caracterizada por la topología de la distribución electrónica  $\rho(\mathbf{r})$ , la cual describe como está distribuida la carga en el espacio real en un

campo ejercido por los núcleos (Bader, 1994). Esta densidad disminuye a medida que se aleja del núcleo y eventualmente aumenta cuando se acerca a otro. Como la densidad tiene un máximo sobre cada núcleo, estas posiciones nucleares terminan en conjuntos de trayectorias, por lo que el espacio molecular queda dividido en cuencas atómicas, siendo cada cuenca una región del espacio. Se forman rutas de enlace entre dos núcleos que interactúan siguiendo la línea en donde la densidad electrónica es máxima. Existe un punto a lo largo de esta línea con la densidad electrónica más baja, es decir donde  $\nabla\rho(\mathbf{r}) = 0$  (donde la densidad es un máximo o un mínimo), el cual se denomina “*punto crítico de enlace*” (BCP) (Isert et al., 2024). El término  $\nabla\rho(\mathbf{r})$ , se le conoce como el gradiente de la densidad electrónica y se calcula de la siguiente manera:

$$\nabla\rho(\mathbf{r}) = \frac{\partial\rho(\mathbf{r})}{\partial x}\hat{i} + \frac{\partial\rho(\mathbf{r})}{\partial y}\hat{j} + \frac{\partial\rho(\mathbf{r})}{\partial z}\hat{k} \quad (36)$$

Existe un par único de trayectorias que se originan en cada uno de estos puntos críticos terminando en los núcleos vecinos. A este par de trayectorias se le conoce como “*bond path*” o simplemente “*path*” (Isert et al., 2024). Estos caminos corresponden a los enlaces dentro de los sistemas químicos, por lo tanto, podemos definir al enlace en una molécula como la línea que une a dos átomos en donde la densidad electrónica es máxima.

Hay cuatro clases de puntos críticos. En un punto crítico se define al rango ( $\omega$ ), como el número de curvaturas diferentes a cero, y la firma ( $\sigma$ ) como la suma de sus signos algebraicos. Estos dos conceptos ( $\omega, \sigma$ ) caracterizan a los puntos críticos (CPs) de la siguiente manera:

- **(3,-3) Punto crítico nuclear (NCP):** todas las curvaturas de la  $\rho(\mathbf{r})$  son negativas, es decir  $\rho(\mathbf{r})$ , es un máximo local en el punto  $\mathbf{r}$ .
- **(3,-1) Punto crítico de enlace (BPC):** es un punto de silla donde dos curvaturas son negativas en  $r$ . La  $\rho(\mathbf{r})$  es un máximo en el plano definido por las dos coordenadas asociadas.
- **(3, +1) Punto crítico de anillo (RCP):** es un punto de silla donde las dos curvaturas son positivas. La  $\rho(\mathbf{r})$  es un mínimo en el plano definido por las dos coordenadas asociadas.

- **(3, +3) Punto crítico de caja (CCP):** todas las curvaturas de la  $\rho(\mathbf{r})$  son positivas, por lo tanto, es un mínimo.

Diversas propiedades de la mecánica cuántica se pueden evaluar en un punto crítico, como el laplaciano de la densidad electrónica  $\nabla^2\rho(\mathbf{r})$ , el cual se define como:

$$\nabla^2\rho(\mathbf{r}) = \frac{\partial^2\rho(\mathbf{r})}{\partial x^2}\hat{i} + \frac{\partial^2\rho(\mathbf{r})}{\partial y^2}\hat{j} + \frac{\partial^2\rho(\mathbf{r})}{\partial z^2}\hat{k} \quad (37)$$

El valor del Laplaciano nos permite diferenciar las interacciones de capa compartida (del tipo covalente) y de capa cerrada (iónica, no covalente, de van der Waals, etc). Si  $\nabla^2\rho(\mathbf{r}) > 0$ , entonces indica que hay una gran densidad de electrones entre los átomos, lo que indica que la interacción es de tipo covalente o de capa compartida. Por otro lado, si  $\nabla^2\rho(\mathbf{r}) < 0$ , significa que hay poca carga entre los átomos indicando cualquier interacción de capa cerrada (Mohajeri et al., 2011).

Otra forma de definir al Laplaciano de la densidad electrónica es en términos de la densidad de energía cinética  $G(\mathbf{r})$  y la densidad de energía potencial  $V(\mathbf{r})$ :

$$\nabla^2\rho(\mathbf{r}) = 2G(\mathbf{r}) + V(\mathbf{r}) \quad (38)$$

Como ya definimos, un valor de laplaciano negativo indica una interacción compartida, y esto se debe al exceso de energía potencial en el BCP debido a que introduce la concentración de la carga en la región entre los núcleos. Un valor de laplaciano positivo muestra una mayor contribución de la energía cinética, debido a que una interacción está dominada por la contracción de la densidad. Otra de las propiedades de la mecánico-cuánticas en los puntos críticos para su interpretación química es la energía total de los electrones  $H(\mathbf{r})$ , que es la suma de las densidades de la energía cinética y potencial en el BCP:

$$H(\mathbf{r}) = G(\mathbf{r}) + V(\mathbf{r}) \quad (39)$$

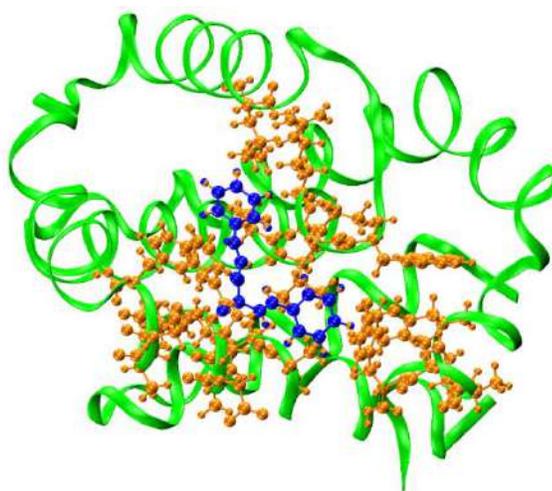
Las interacciones son de tipo covalente si  $H(\mathbf{r}) < 0$  debido a la estabilización de los electrones, y son del tipo no covalente si  $H(\mathbf{r}) > 0$  por la desestabilización de los electrones. Por último, otra característica para diferenciar una interacción covalente de una no covalente es mediante la relación  $-G(\mathbf{r})/V(\mathbf{r})$ . Un valor  $-G(\mathbf{r})/V(\mathbf{r}) > 1$  indica una interacción del

tipo no covalente, y a medida que la relación se vuelve menor a la unidad, la naturaleza covalente aumenta (Mohajeri et al., 2011).

#### 4.2 Metodología Computacional

La metodología para la obtención de los complejos reducidos se basa en los resultados obtenidos del acoplamiento molecular. Se eligen los complejos proteína-ligando Bcl-2-M1, Bcl-x1-M3 y Bcl-x1-M5, siendo estos los más representativos del cálculo de docking. A los ligandos con la conformación elegida se les adicionan los hidrógenos polares. Utilizando el software VMD, se seleccionan los residuos que tengan algún contacto con el ligando, es decir, residuos que cualquiera de sus átomos se encuentre a menos de 4.5 Å de cualquier átomo del ligando, siendo estos la primera esfera de interacción. Esta metodología del recorte de proteínas ya se ha reportado en los trabajos de Chen et al. (2022).

Del paso anterior se generan fragmentos que se conectan entre sí por la cadena principal de la proteína cuando dos fragmentos se encuentran separados a menos de tres aminoácidos en la secuencia de la proteína. Estos “loops” conectores de fragmentos se mutan a alaninas ya que no se encuentran en contacto directo con los fragmentos y permite simplificar más el modelo sin eliminar contactos ligando-receptor (Figura 13). Estas selecciones se elaboran mediante un script en VMD aplicando la herramienta de construcción de estructuras PSFGen.



*Figura 13. Representación de los complejos reducidos. La estructura en color verde representa la proteína completa, la estructura en color naranja representa el complejo la primera esfera de interacción y los residuos no interactuantes alrededor del ligante. La estructura en azul es el ligante ubicado en el sitio de inhibición de la proteína.*

Posteriormente se procede a realizar el DM de los complejos reducidos con DFTB+ (Hourahine et al., 2020) con la versión 17.1 y el conjunto de parámetros “3ob” de Slater-Köster (Papaconstantopoulos & Mehl, 2003) para los átomos de carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, flúor y azufre. En los parámetros de la dinámica se fijan los átomos de la proteína reducida y se deja en movimiento los átomos del ligante para cada complejo.

La DM se realiza a 1 fs, con 50,000 pasos, considerando un cambio de energía de 300 K a 1 K (enfriamiento). Se modifica la carga para cada complejo. Después a la DM, se optimizan las estructuras con el método “Density Functional Tight Binding” utilizando DFTB+. De la optimización se toma la última estructura para el cálculo del Single-Point Energy Calculations (Energías en un Solo Punto) con el funcional y el conjunto de base  $\omega$ B97XD/6-31+G\*.

Una vez obtenido los cálculos anteriores, se procede a la obtención de los puntos críticos de enlace mediante un script de Python y el programa Multiwfn. Con el script se obtiene dos archivos: un archivo \*.pdb del complejo ligante-receptor y un archivo de función de onda \*.fchk a partir de los cálculos DFT previos, del cual se hace el cálculo de los puntos críticos del tipo (3,-1) y (3,+1), empleando Multiwfn. Se considera la distancia euclídea entre cada punto crítico y todos los átomos del ligante y del receptor, por lo que se establece un criterio de corte (cutoff) de 2.3 Å. Si la distancia entre un punto crítico y un átomo del ligante o del receptor era menor o igual al valor de cutoff, se consideraba que el punto crítico estaba en la interfaz de la interacción receptor – ligante. A los BCPs que cumplen con el criterio de corte, se hizo el cálculo de las propiedades mecánico-cuánticas. Por último, se realiza un filtrado de los puntos BCPs considerando la relación  $-G(\mathbf{r})/V(\mathbf{r})$ .

### 4.3 Resultados y discusión

#### **Bcl-2 – M1**

El análisis topológico de la densidad electrónica del sistema bajo investigación muestra la existencia de 4 puntos críticos de enlace (BCP) asociados a enlaces del tipo puente de hidrógeno no covalente. Las propiedades de los BCP se analizaron en función de la relación  $-G(\mathbf{r})/V(\mathbf{r}) < 1.3$ . Las propiedades mecánico-cuánticas proporcionan la información específica sobre la naturaleza de la interacción. La densidad electrónica para los BCPs de los enlaces C – H•••O=C, N – H•••O=C y N•••H – C se muestra en la Tabla 8, en donde su

densidad corresponde al tipo de interacción puente de hidrógeno de capa cerrada en un rango de densidad de 0.007 – 0.027 u.a., estas densidades se encuentran dentro de los parámetros reportados en la literatura para este tipo de interacciones que van de 0.002 – 0.04 u.a. (Mohajeri et al., 2011).

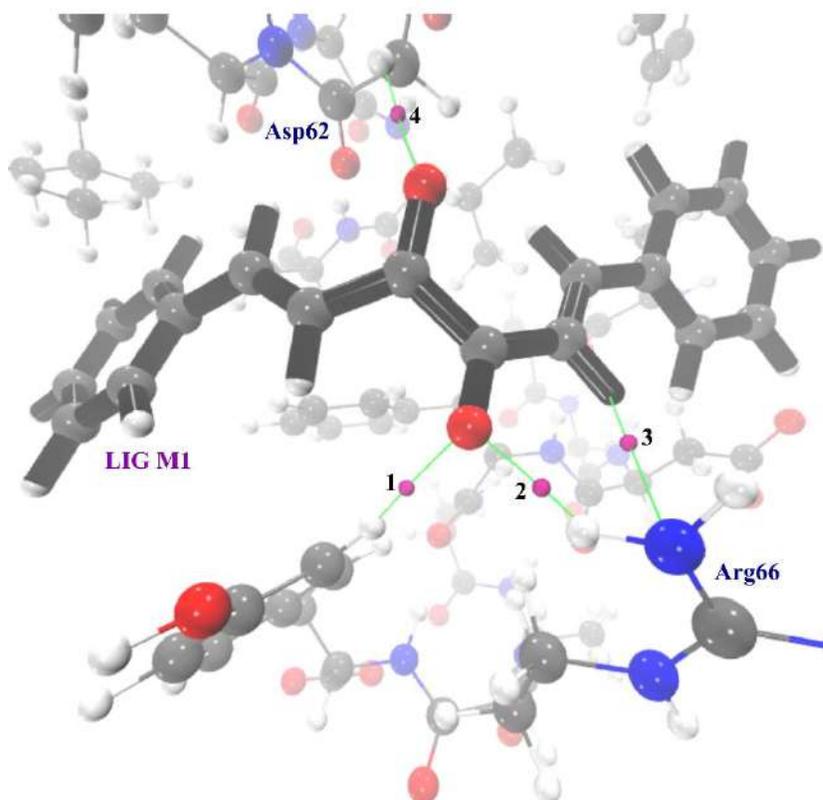
Anteriormente se indicó que el signo del laplaciano de la densidad electrónica en un BCP define si la interacción es de capa compartida o capa cerrada, y de acuerdo a esa definición clasificaríamos a los BCPs de este sistema como de capa compartida ya que son mayor a 0, sin embargo, se ha reportado que para sistemas típicos unidos por enlaces de hidrógenos  $\nabla^2\rho(\mathbf{r})$  son positivos (Shahia & Arunan, 2014), debido a que se asemejan a las interacciones del tipo iónicos, con valores comúnmente aceptados en un rango de 0.02 – 0.15 u.a. (Mohajeri et al., 2011). Para los cuatro BCPs para el sistema Bcl-2 –, se revela que los valores de  $\nabla^2\rho(\mathbf{r})$  van de un rango de 0.022 – 0.096 u.a. Se ha demostrado que la caracterización del enlace basándose solo con el valor del laplaciano puede arrojar conclusiones falsas, ya que en otros estudios se ha mencionado que el valor de este parámetro en sistemas como en carbonilos o enlaces triples es positivo (Shahia & Arunan, 2014), es por ello que se sugirió estudiar al laplaciano en términos de la energía como se describe en la (Ec. 38).

Por otra parte, en las interacciones de capa cerrada la densidad de energía cinética predomina sobre la potencial como consecuencia de la desestabilización de electrones entre los núcleos. En los resultados se puede apreciar que los valores de  $G(\mathbf{r})$  están ligeramente superiores a los de  $|V(\mathbf{r})|$ , por tanto, los valores de  $H(\mathbf{r})$  son casi cero.

*Tabla 8. Propiedades topológicas de los BCPs de los enlaces proteína-ligando del complejo Bcl-2 – M1 con un valor de  $-G(\mathbf{r})/V(\mathbf{r}) < 1.3$ , calculados con  $\omega B97XD$  y la base orbital 6-31+G\*. Las unidades están en u.a.*

ID BCP	Densidad electrónica $\rho(\mathbf{r})$	Lagrangiano de la energía cinética $G(\mathbf{r})$	Densidad de energía potencial $V(\mathbf{r})$	Densidad de energía total $H(\mathbf{r})$	Laplaciano de la densidad electrónica $\nabla^2\rho(\mathbf{r})$	Relación $-G(\mathbf{r})/V(\mathbf{r})$
1	0.0271	0.0238	-0.0236	$1.41 \times 10^{-4}$	0.0956	1.006
2	0.0149	0.0125	-0.0118	$7.29 \times 10^{-4}$	0.0531	1.061
3	0.0123	0.0103	-0.0091	$1.20 \times 10^{-3}$	0.0462	1.131
4	0.0066	0.0047	-0.0037	$9.28 \times 10^{-4}$	0.0224	1.248

Retomando la naturaleza química de los contactos para este complejo, podemos notar que las interacciones aquí discutidas fueron observadas en el acoplamiento molecular, tal como se muestra en la Figura 14. Existe un BCP entre la Arg66 y el átomo de oxígeno del carbonilo del compuesto M3 (BCP 2). Esta interacción por puente de hidrógeno ( $C - H \cdots O = C_{Lig}$ ) fue observada en el acoplamiento molecular.



*Figura 14. Representación de los BCP más relevantes en el sistema Bcl-2 – M1. Las esferas en magenta representan los puntos críticos de enlace entre el ligando – receptor y las líneas en verde representa los paths de los BCPs.*

### **Bcl-xl – M3**

En contraste al caso anterior, para los sistemas con la proteína Bcl-xl se obtuvieron un mayor número de BCPs, esto lo podemos asociar a que los ligantes se unen con más afinidad a esta proteína en comparación con Bcl-2. En la Tabla 9 se reportan los valores de los parámetros cuánticos de los puntos críticos de enlace. El rango para la densidad electrónica es de 0.008 – 0.017 u.a., lo cual entra entre en el rango reportado para las interacciones por puente de hidrógeno antes ya mencionadas. Al igual que el caso anterior, los valores del laplaciano de la densidad electrónica son positivos, pero están dentro del valor referente. Podemos destacar

que el valor de la densidad de energía total es prácticamente cero y se debe a que el valor de  $|V(\mathbf{r})|$  es igual que  $G(\mathbf{r})$  en el BCP **6**, **2** y **5**.

Tabla 9. Propiedades topológicas de los BCPs de los enlaces proteína-ligando del complejo Bcl-xl – M3 con un valor de  $-G(\mathbf{r})/V(\mathbf{r}) < 1.3$ , calculados con  $\omega$ B97XD y la base orbital 6-31+G\*. Las unidades están en u.a.

ID BCP	Densidad electrónica $\rho(\mathbf{r})$	Lagrangiano de la energía cinética $G(\mathbf{r})$	Densidad de energía potencial $V(\mathbf{r})$	Densidad de energía total $H(\mathbf{r})$	Laplaciano de la densidad electrónica $\nabla^2\rho(\mathbf{r})$	Relación $-G(\mathbf{r})/V(\mathbf{r})$
1	0.011	0.009	-0.008	$9.49 \times 10^{-4}$	0.039	1.121
2	0.009	0.007	-0.007	$8.50 \times 10^{-4}$	0.032	1.136
3	0.008	0.006	-0.005	$8.76 \times 10^{-4}$	0.027	1.172
4	0.017	0.013	-0.012	$8.93 \times 10^{-4}$	0.055	1.075
5	0.008	0.006	-0.006	$9.76 \times 10^{-4}$	0.028	1.188
6	0.017	0.014	-0.014	$3.10 \times 10^{-4}$	0.056	1.022
7	0.009	0.006	-0.004	$1.04 \times 10^{-3}$	0.026	1.233

De acuerdo a los resultados de acoplamiento molecular, la interacción más fuerte (menor EU y Ki) es con el residuo Ser106 por medio de un puente de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo del ligando de la Ser106. En el análisis de QTAIM, se ve claramente el punto crítico (BCP **5**) en esa unión con un valor de  $-G(\mathbf{r})/V(\mathbf{r})$  mayor a la unidad indicando una interacción del tipo no covalente. De acuerdo a estos resultados, la interacción de M3 con la Ser106, no es la interacción más fuerte ya que su valor de densidad electrónica es la más pequeña de las reportadas. Como se puede observar en la Figura 15 hay dos interacciones con Phe105, en donde hay una interacción fuerte del tipo C – H•••O=C con un valor de densidad electrónica de 0.017 u.a. y una interacción débil  $C_{\text{anillo}} - C$  con  $\rho(\mathbf{r}) = 0.009$  u.a.

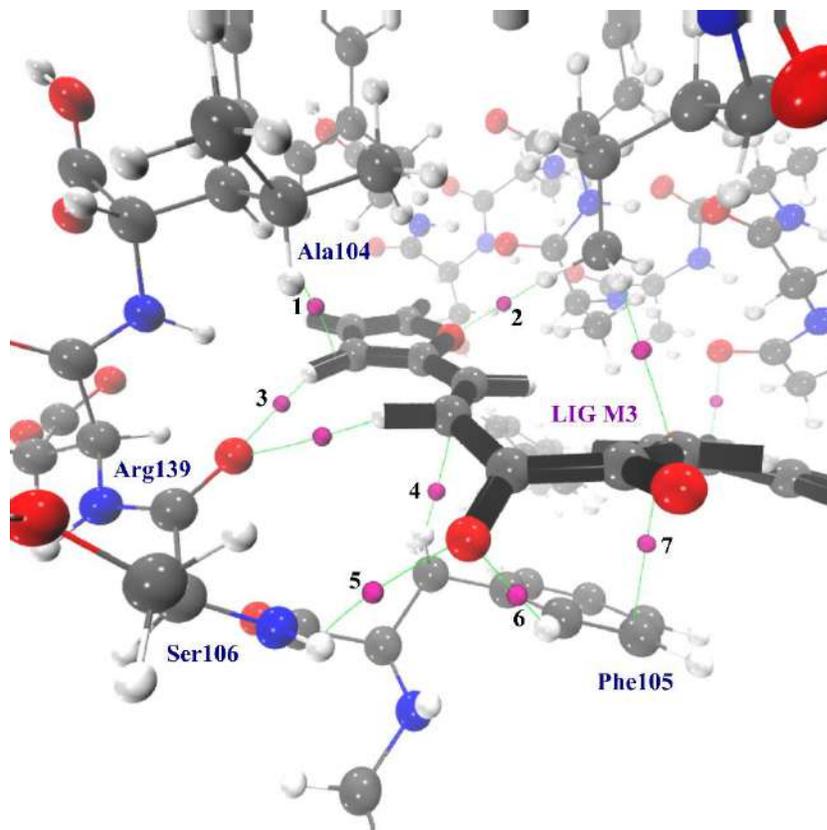


Figura 15. Representación de los BCPs en el sistema Bcl-x1 – M3. Las esferas en magenta representan los puntos críticos de enlace entre el ligando – receptor y las líneas en verde representa los paths de los BCPs.

Otra de las interacciones relevantes para este sistema es con el residuo Arg139 mediante una interacción  $O \cdots H - C_{\text{furan}}$ , aunque esta interacción es débil de acuerdo a sus parámetros de densidad electrónica, hay que destacar que Ser106, Phe105 y Arg139 son aminoácidos conservados de proteína.

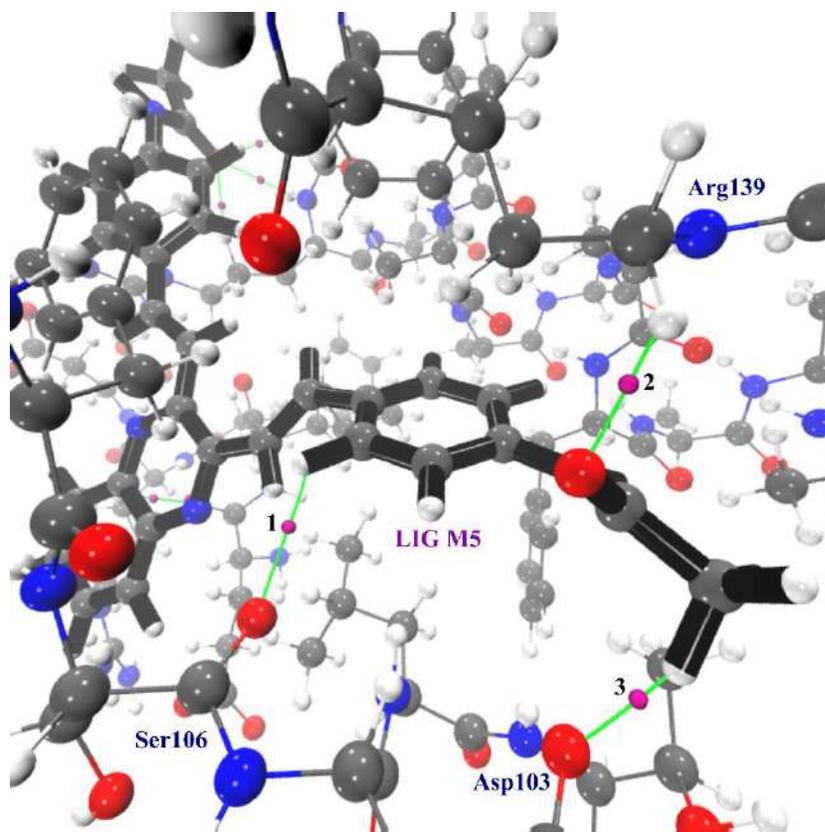
### Bcl-x1 – M5

Por último, discutiremos el complejo que tuvo mayor afinidad a la proteína Bcl-x1. La observación inicial es que en todos los casos la densidad electrónica es mayor a 0.002 u.a. y el laplaciano de la densidad electrónica es ligeramente mayor a cero indicando contactos de tipo capa cerrada. Un valor de  $H(\mathbf{r}) > 0$  nos deduce que las interacciones son de naturaleza electrostática (Ver Tabla 10).

Tabla 10. Propiedades topológicas de los BCPs de los enlaces proteína-ligando del complejo Bcl-xl – M5 con un valor de  $-G(\mathbf{r})/V(\mathbf{r}) < 1.2$ , calculados con  $\omega$ B97XD y la base orbital 6-31+G\*. Las unidades están en u.a.

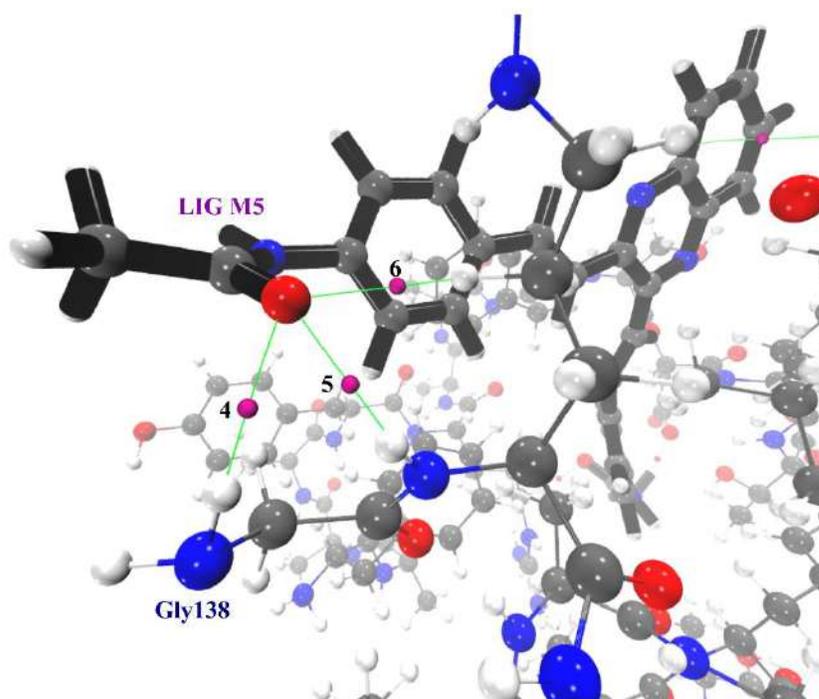
BCP	Densidad electrónica $\rho(\mathbf{r})$	Lagrangiano de la energía cinética $G(\mathbf{r})$	Densidad de energía potencial $V(\mathbf{r})$	Densidad de energía total $H(\mathbf{r})$	Laplaciano de la densidad electrónica $\nabla^2\rho(\mathbf{r})$	Relación $-G(\mathbf{r})/V(\mathbf{r})$
1	0.009	0.007	-0.006	$1.07 \times 10^{-3}$	0.032	1.179
2	0.026	0.023	-0.022	$6.36 \times 10^{-4}$	0.093	1.029
3	0.012	0.009	-0.009	$6.14 \times 10^{-4}$	0.040	1.087
4	0.011	0.008	-0.008	$6.11 \times 10^{-4}$	0.036	1.080
5	0.014	0.012	-0.010	$1.37 \times 10^{-3}$	0.054	1.129
6	0.011	0.009	-0.009	$6.76 \times 10^{-4}$	0.040	1.079
7	0.007	0.005	-0.004	$8.76 \times 10^{-4}$	0.025	1.196

Al igual que en el complejo Bcl-xl – M3, algunos valores de  $|V(\mathbf{r})|$  son iguales que  $G(\mathbf{r})$ , por lo tanto  $H(\mathbf{r})$  es casi 0 para todos los casos. El rango de la densidad electrónica está en 0.007 – 0.026 u.a., por lo que consideraríamos que todas las interacciones son del tipo X•••H. Al estudiar cada interacción se observa que para el BCP 3 hay un contacto entre el oxígeno del aspartato (Asp103) y el hidrógeno del grupo metilo de la quinoxalina (C=O•••H – CH<sub>2</sub>). Por otro lado, la interacción del tipo puente de hidrogeno entre el carbonilo del ligante con la Leu108 ya no estuvo presente en este análisis. Estudiando la estructura geométrica 3D del sistema, se observó que el grupo R de la quinoxalina realizó un cambio conformacional de *cis* a *trans*, colocando al grupo carbonilo detrás del plano por lo que la nueva interacción se da con la Arg139 (Ver Figura 16). Este cambio conformacional se pudo llevar a cabo en la dinámica molecular del complejo reducido.



*Figura 16. Representación de los BCP en el sistema Bcl-xl – M5. Las esferas en magenta representan los puntos críticos de enlace entre el ligando – receptor y las líneas en verde representa los paths de los BCPs.*

Los BCPs 4, 5 y 6 están presentes en la interacción del ligando con el residuo Gly138. En los estudios de acoplamiento molecular solo se observaba una unión, sin embargo, podemos apreciar en la Figura 17 que el oxígeno del grupo carbonilo se une a tres hidrógenos del aminoácido Gly138, debido a que hay 3 puntos críticos de enlace sobre los diferentes hidrógenos de la glicina. Podemos decir que la suma de los tres puntos críticos de enlace con dicho residuo, podría ser la energía total de la interacción Gly – M5 Hay que destacar que Gly138, es un residuo clave para la interacción con la proteína en su sitio activo.



*Figura 17. Representación de los BCP en el sistema Bcl-xl – M5. Las esferas en magenta representan los puntos críticos de enlace entre el ligando – receptor y las líneas en verde representa los paths de los BCPs.*

Por último, el punto crítico de enlace 7 como se muestra en la Figura 18, indica la unión del oxígeno del glutamato y el benceno de la estructura base de la quinoxalina, mediante una interacción de tipo  $\pi \cdots \pi$  alquil. Analizando las energías de este punto crítico, se observa que el valor de la energía cinética es predominante en comparación con la energía potencial, y esto se debe a que, en una interacción de capa cerrada, por lo tanto, existe una mayor desestabilización de los electrones alrededor de los núcleos atómicos.

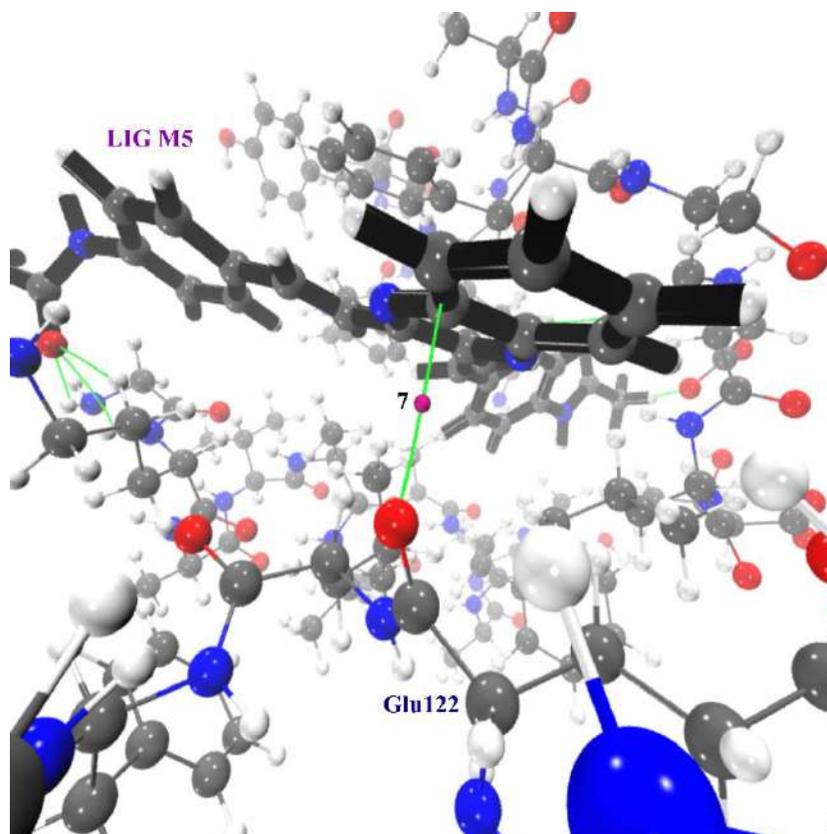


Figura 18. Interacción entre el anillo benceno de la quinoxalina y el residuo Glu122 mediante una interacción  $C \cdots O=C$ . Las esferas en magenta representan los puntos críticos de enlace entre el ligando – receptor y las líneas en verde representa los paths de los BCPs.

#### 4.4 Conclusiones

En este capítulo se caracterizaron las interacciones moleculares entre los ligantes M1, M3 y M5 con las proteínas Bcl-2 y Bcl-xl utilizando la teoría QTAIM. Esta teoría permitió identificar interacciones no convencionales de tipo  $C - H \cdots Y$ ,  $C - H \cdots O$ ,  $C=O \cdots C$  y  $C - C$ . Una condición necesaria para confirmar la presencia de un enlace de hidrógeno mediante la presencia de puntos críticos de enlace entre el átomo de hidrógeno y el átomo aceptor. La mayoría de las interacciones observadas fueron presentadas en el capítulo 3, sin embargo, aquí las interacciones suelen ser más acertadas debido a que la teoría QTAIM considera la densidad electrónica característica del enlace y no sólo la contribución de los núcleos como en el modelado molecular.

La mecánica molecular proporciona valores de afinidad no tan robustos a comparación de las técnicas *ab initio*. La metodología de la reducción de proteínas permitió estudiar de una

manera más ordenada los BCPs, sin embargo, esta metodología es de gran coste computacional, además de un exhaustivo procesamiento de datos en comparación con los cálculos de mecánica clásica. Como perspectiva, se espera seguir trabajando sobre este perfil cuántico para la predicción de la afinidad y el estudio de las interacciones de sistemas biológicos de muchos átomos.

## Conclusiones Generales

El estudio de reactividad realizado a través de cDFT ha proporcionado una visión detallada sobre la naturaleza química de los derivados de cinamilos y quinoxalinas, permitiendo identificar diferencias clave en su reactividad a nivel atómico. Si bien la muestra de moléculas es limitada, los resultados obtenidos sugieren que los sustituyentes presentes en las estructuras modulan la reactividad, lo que puede explicar las pequeñas variaciones observadas en los descriptores de reactividad. El análisis de la densidad electrónica y las funciones de Fukui ha permitido identificar sitios específicos en las moléculas más propensos a reacciones nucleofílicas y electrofílicas, lo que resalta la importancia de ciertos grupos funcionales y átomos en la reactividad general de los compuestos. Además, el estudio dependiente de la temperatura ha aportado una mejor comprensión sobre las diferencias en la reactividad de los grupos carbonilos de los cinamilos, destacando a M3 como un compuesto con comportamiento químico distintivo, lo cual está correlacionado con su actividad biológica más baja ( $IC_{50}$ ). Estos resultados abren la puerta a un análisis más profundo sobre el diseño molecular de compuestos con propiedades biológicas.

Los estudios realizados sobre el acoplamiento molecular de compuestos del tipo cinamilo y quinoxalina, han demostrado su prometedor potencial como inhibidores de las proteínas Bcl-2 y Bcl-x1, especialmente en lo que respecta a la inhibición de Bcl-x1, dada su mayor funcionalidad y afinidad de unión. Las simulaciones de dinámica molecular sugieren que el ligando M5 es el más estable y con mejor energía de unión, posicionándolo como un candidato atractivo para la inducción del proceso apoptótico, por lo que es necesario seguir explorando a esta clase de compuestos en estudios adicionales para confirmar su eficacia terapéutica y su aplicabilidad en el tratamiento del cáncer de páncreas.

De acuerdo a la teoría de QTAIM, se caracterizó las interacciones moleculares para los complejos Bcl-2 – M1, Bcl-x1 – M3 y Bcl-x1 – M5. Se observaron interacciones no convencionales, siendo los puentes de hidrógeno las más predominantes en el sistema proteína – ligando. Para cada sistema se observaron interacciones con los residuos que están presentes en el surco de unión. El modelo Bcl-2 – M1 presentó dos interacciones con los residuos Tyr67 y Arg66. Bcl-x1 – M3 presentó la unión más fuerte con Arg139 y en Bcl-x1 – M5 se observó la interacción Gly138 mediante tres puentes de hidrógeno no convencionales.

Hay que destacar que la teoría QTAIM considera la densidad electrónica característica del enlace y no sólo la contribución de los núcleos. Los avances de resultados en la correlación de la densidad electrónica de los puntos críticos de enlace intermoleculares entre la proteína y el ligando, pueden ayudar a predecir la afinidad de unión entre estos dos sistemas y ayudar a centrar a futuros análisis QTAIM.

Como perspectiva a este trabajo de tesis, se espera ampliar el número de compuestos de la misma naturaleza para poder hacer mejores predicciones de estructura – actividad, así como también seguir explorando en la predicción de la afinidad de unión en sistemas biológicos utilizando modelos más robustos como los cálculos *ab initio*.

## Referencias

- Abbas, H., Al-Marhabi, A., Ammar, Y. (2017). Design, synthesis and biological evaluation of 2,3-disubstituted and fused quinoxalines as potential anticancer and antimicrobial agents. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, 74, 445-458. [https://www.ptfarm.pl/pub/File/Acta\\_Poloniae/2017/2/445.pdf](https://www.ptfarm.pl/pub/File/Acta_Poloniae/2017/2/445.pdf)
- Abd Ghani, M., Othman, R., & Nordin, N. (2020). Molecular docking study of naturally derived flavonoids with antiapoptotic Bcl-2 and Bcl-xl proteins toward ovarian cancer treatment. *Journal of Pharmacy Bioallied Sciences*, 12, 676-680. [https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS\\_272\\_19](https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_272_19)
- Agarwal, S., & Mehrotra, R. (2016). An overview of molecular docking. *JSM chem*, 4(2), 1024-1028.
- Ahmad, H., Gillani, S., Babar, R., Munawar, M., Gul, S. (2020). A rapid and efficient protocol for the synthesis of cinnamils. *Ineos Open*, 3. <http://doi.org/10.32931/io2002a>
- Alam, S., Mohammad, T., Padder, R., Hassan, M., Husain, M. (2021). Thymoquinone and quercetin induce enhanced apoptosis in non-small cell lung cancer in combination through the Bax/Bcl-2 cascade. *Journal of Cellular Biochemistry*, 132, 259-274. <https://doi.org/10.1002/jcb.30162>
- Bader, R. (1994). *Atoms in Molecules: A Quantum Theory*. USA. Oxford University Press.
- Ballón, W., & Grados, R. (2019). Acoplamiento molecular: criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos. *Revista Con-Ciencia*, 7(2), 55-72.
- Baroroh, U., Biotek, M., Muscifa, Z. S., Destiarani, W., Rohmatullah, F. G., & Yusuf, M. (2023). Molecular interaction analysis and visualization of protein-ligand docking using Biovia Discovery Studio Visualizer. *Indonesian Journal of Computational Biology (IJCB)*, 2(1), 22-30. <https://doi.org/10.24198/ijcb.v2i1.46322>
- Bayoumi, A., Ghiaty, A., Abd El-Hilil, S., Husseiny, E., & Ebrahim, M. (2019). Exploration of quinoxaline derivatives as antimicrobial and anticancer agents. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 56, 3215-3235. <https://doi.org/10.1002/jhet.3716>

- Becke, A. (1993). Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *The Journal of Chemical Physics*, 98 (7), 5648–5652. <https://doi.org/10.1063/1.464913>
- Bernardi, P., & Di Lisa, F. (2015). The mitochondrial permeability transition pore: molecular nature and role as a target in cardioprotection. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 78, 100–106. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2014.09.023>
- Blinder, S. (2021). Chapter 14-Density functional theory. *Introduction to Quantum Mechanics*. (pp. 235-244). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822310-9.00022-7>
- Burke, K. (2012). Perspective on density functional theory. *Journal Chemistry Physics*, 136, 150901. <https://doi.org/10.1063/1.4704546>
- Castro, A., Costa, A., & Vilarrasa, J. The performance of several docking programs at reproducing protein-macrolide-like crystal structures. *Molecules*, 22. <https://doi.org/10.3390/molecules22010136>
- Chai, J., & Head-Gordon, M. (2008). Long-range corrected hybrid density functionals with damped atom-atom dispersion corrections. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 10(44), 6615-6620. <https://doi.org/10.1039/B810189B>
- Chai, J & Head-Gordon, M. (2008). Systematic optimization of long-range corrected hybrid density functionals. *The Journal of Chemical Physics*, 128(8), 084106. <https://doi.org/10.1063/1.2834918>
- Chattaraj, P., y Giri, S. (2009). Electrophilicity index within a conceptual DFT framework. *Annual Reports Section "C" (Physical Chemistry)*, 105, 13-39. <https://doi.org/10.1039/B802832J>
- Chen, Y., Sheng Y., Ma, Y. & Ding, H. (2022). Efficient calculation of protein–ligand binding free energy using GFN methods: the power of the cluster model. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 24, 14339–14347. <https://doi.org/10.1039/D2CP00161F>
- Chipuk, J., Moldoveanu, T., Llambi, F., Parsons, M. & Green, D. The Bcl-2 Family Reunion. *Molecular Cell*, 37(3), 299-310. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.01.025>

- Constable, E., Hannon, M., Herrero, D. (1994). Cinnamil – an oligopyridine precursor. *Tetrahedron Letters* 35, 6657-6660. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)73460-5](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)73460-5)
- Constable, E., Redondo, A., Housecroft, C., Neuburger, M., & Schaffner, S. (2009). Copper(i) complexes of 6,6'-disubstituted 2,2'-bipyridine dicarboxylic acids: new complexes for incorporation into copper-based dye sensitized solar cells (DSCs). *Dalton Transactions*, 6634, 6634–6644. <https://doi.org/10.1039/B901346F>
- Corona, P., Carta, A., Loriga, M., Vitale, G., Paglietti, G. (2009). Synthesis and in vitro antitumor activity of new quinoxaline derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44, 1579-1591. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.07.025>
- Cramer, J. (2004). *Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models*. Wiley, 2da Edición.
- Czabotar, P., & García A. (2023). Mechanisms of BCL-2 family proteins in mitochondrial apoptosis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 24, 732-748. <https://doi.org/10.1038/s41580-023-00629-4>
- Deuri, S., y Phukan, P. (2012). A DFT study on nucleophilicity and site selectivity of nitrogen nucleophiles. *Computational and Theoretical Chemistry*, 980, 49-55. <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2011.11.017>
- Dias, R., & de Azevedo, W. F., Jr (2008). Molecular docking algorithms. *Current Drug Targets*, 9(12), 1040–1047. <https://doi.org/10.2174/138945008786949432>
- Domingo, L., Gutiérrez, M., & Pérez, P. (2016). Applications of the conceptual density functional theory indices to organic chemistry reactivity. *Molecules*, 21, 748. <https://doi.org/10.3390/molecules21060748>
- Duque-Parra J. (2005). Note on the origin and history of the term "apoptosis". *Anatomical record. Part B, New anatomist*, 283(1), 2-4. <https://doi.org/10.1002/ar.b.20047>
- Ernzerhof, M. & Scuseria, G. (1999). Assessment of the Perdew–Burke–Ernzerhof exchange-correlation functional. *The Journal of Chemical Physics*, 110(11), 5029–5036. <https://doi.org/10.1063/1.478401>

- Fan, J., Fu, A., & Zhang, L. (2019). Progress in molecular docking. *Quantitative biology*, 7(2), 83-89. <https://doi.org/10.1007/s40484-019-0172-y>
- Fiebig, A., Zhu, W., Hollerbach, C., Leber, B., & Andrews, D. W. (2006). Bcl-XL is qualitatively different from and ten times more effective than Bcl-2 when expressed in a breast cancer cell line. *BMC Cancer*, 6, 213. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-6-213>
- Forli, S., Huey, R., Pique, M. E., Sanner, M. F., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2016). Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. *Nature Protocols*, 11(5), 905–919. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.051>
- Franco, M., Polanco, C., Gázquez, J., y Ayers, P. (2018). Local and nonlocal counterparts of global descriptors: the cases of chemical softness and hardness. *Journal of Molecular Modeling*, 24(285). <https://doi.org/10.1007/s00894-018-3823-4>
- Franco, M., Polanco, C., Gázquez, J., Ayers, P., & Vela, A. (2020). Study of organic reactions using chemical reactivity descriptors derived through a temperature-dependent approach. *Theoretical Chemistry Accounts*, 139, 44. <https://doi.org/10.1007/s00214-020-2557-4>
- Franssen, B., & Chan, C. (2011). Cáncer de páncreas; el punto de vista del cirujano. *Revista de Gastroenterología de México*, 79(4), 353-361.
- Frish, M., Trucks, G., Schlegel, H., Scuseria, G., Robb, M., Cheeseman, J., Scalmani G., Barone, V., Mennucci, B., Petersson, G., Nakatsuji H., Caricato, M., Li, X., Hratchian, H., Izmaylov, A., Bloino, J., Zheng, G., Sonnenberg, J., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Vreven, T., Montgomery, J., Peralta, J., Ogliaro, F., Bearpark, M., Heyd, J., Brothers, E., Kudin, K., Staroverov, V., Kobayashi, R., Normand, J., Raghavachari, K., Rendell, A., Burant, J., Iyengar, S., Tomasi, J., Cossi, M., Rega, N., Milliam, J., Klene, M., Knox, J., Cross, J., Bakken, V., Adamo, C., Jaramillo, J., Gomperts, R., Stratmann, R., Yaztey, O., Austin, A., Cammi, R., Pomelli, C., Ochterski, J., Martin, R., Morokuma, K., Zakrzewski, V., Voth, G., Salvador, P., Dannenberg, j., Dapprich, S., Daniels, A., Farkas, Ö., Roresmann, J., Ortiz, J., Cioslowski & J., Fox, D. (2019). Gaussian 16, Revision D.01. Gaussian, Inc. Wallingford, CT. <https://gaussian.com/gaussian16/>

- García, A. (2012). The secrets of the Bcl-2 family. *Cell Death and Differentiation*, 19(11), 1733–1740. <https://doi.org/10.1038/cdd.2012.105>
- Gázquez, J. (2008). Perspectives on the Density functional Theory of chemical reactivity. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 52, 3-10. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=47552102>
- Gázquez, J. (1997). The hard and soft acids and bases principle. *The Journal of Physical Chemistry*, 101(26), 4657-4659. <https://doi.org/10.1021/jp970643+>
- Gázquez, J., Cedillo, A., y Vela, A. (2007). Electrodonating and electroaccepting Powers. *Journal of Physical Chemistry*, 111(10), 1966-1970. <https://doi.org/10.1021/jp065459f>
- Gillani, S., Ali, M., & Mohammed, K., & Jamil, Ch. (2020). Synthesis of 2,5-diphenyl-3,4-distryrylcyclopenta-2,4-dienone. *Organic and Biochemistry*, 42(6), 81-86. <http://dx.doi.org/10.52568/000607>
- Grabowski, S. (2001). Ab Initio Calculations on Conventional and Unconventional Hydrogen Bonds –Study of the Hydrogen Bond Strength. *The Journal of Physical Chemistry*, 105(47), 10739–10746. <https://doi.org/10.1021/jp011819h>
- Guedes, I. A., de Magalhães, C. S., & Dardenne, L. E. (2014). Receptor-ligand molecular docking. *Biophysical Reviews*, 6(1), 75–87. <https://doi.org/10.1007/s12551-013-0130-2>
- Hata, A., Engelman, J., & Faber, A. (2015). The Bcl-2 family: key mediators of the apoptotic response to targeted anticancer therapeutics. *Cancer Discovery*, 5, 475–487. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-0011>
- 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. *The Journal of Chemical Physics*, 56 (5), 2257–2261. <https://doi.org/10.1063/1.1677527>
- Hohenberg, P. & Kohn, W. (1964). Inhomogeneous Electron Gas. *Physical Review*, 136 (3B); 864–871. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.136.B864>

Hourahine, B., Aradi, B., Blum, V., Bonafé, F., Buccheri, A., Camacho, C., Cevallos, C., Deshayé, M. Y., Dumitrică, T., Dominguez, A., Ehlert, S., Elstner, M., van der Heide, T., Hermann, J., Irle, S., Kranz, J. J., Köhler, C., Kowalczyk, T., Kubař, T., Lee, I. S., ... Frauenheim, T. (2020). DFTB+, a software package for efficient approximate density functional theory based atomistic simulations. *The Journal of chemical physics*, *152*(12), 12 4101. <https://doi.org/10.1063/1.5143190>

Huang, D., Wang, Y., Hu, B., Luo, Z., Huang, J., Wang, J. & Zhang, F. (2022). A computational perspective for tailor-made selective Mcl-1 and Bcl-XL inhibitors. *Journal of Molecular Structure*, *1253*, 132269. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.132269>

Huang, J. & Mackerell, A. (2013). CHARMM36 all-atom additive protein force field: Validation based on comparison to NMR data. *Journal of Computational Chemistry*, *34*(25), 2135-2145. <https://doi.org/10.1002/jcc.23354>

Humphrey, W., Dalke, A., & Schulten, K. (1996). VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics*, *14* (1), 33-38. [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5)

Isert, C., Atz, K., Riniker, S., & Schneider, G. (2024). Exploring protein-ligand binding affinity prediction with electron density-based geometric deep learning. *RSC Advances*, *14*(7), 4492–4502. <https://doi.org/10.1039/d3ra08650j>

Janak, J. (1978). Proof that  $\partial E/\partial n_e = \epsilon$  in density-functional theory. *Physical Review B* *18*, 7165-7168. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.18.7165>

Jaung, J. (2006). Synthesis and halochromism of new quinoxaline fluorescent dyes. *Dyes and Pigments*, *71*, 245-250. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2005.07.008>

Kaloni, D., Diepstraten, S. T., Strasser, A., & Kelly, G. L. (2023). BCL-2 protein family: attractive targets for cancer therapy. *Apoptosis: an international journal on programmed cell death*, *28*(1-2), 20–38. <https://doi.org/10.1007/s10495-022-01780-7>

Karki, S., Hazare, R., Kumar, S., Bhadauria, V., Balzarini, J., Clercq, E. (2009). Synthesis, anticancer and cytostatic activity of some 6H-indolo[2,3-b]quinoxalines. *Acta Pharmaceutica*, *59*, 431-440. <https://doi.org/10.2478/v10007-009-0040-9>

Kelly, P., & Strasser, A. (2011). The role of Bcl-2 and its pro-survival relatives in tumorigenesis and cancer therapy. *Cell Death and Differentiation*, 18:1414-1424. <https://doi.org/10.1038%2Fcd.2011.17>

Khan, M., Qazi, J., Rasul, A., Zheng, Y., Ma, T. (2013). Evodiamine induces apoptosis in pancreatic carcinoma PANC-1 cells via NF- $\kappa$ B inhibition. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 8, 8-14. <https://doi.org/10.3329/bjp.v8i1.12802>

Khattab, M., & Al-Karmalawy, A. (2021). Revisiting activity of some nocodazole analogues as a potential anticancer drug using molecular docking and DFT calculations. *Frontiers in Chemistry*, 9. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.628398>

Kohn, W. & Sham, L.J. (1965). Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Physical Review*, 140 (4A); 1133–1138. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.140.A1133>

Körzdörfer, T., Sears, J., Sutton, C., & Brédas, J-L. (2011). Long-range corrected hybrid functionals for  $\pi$ -conjugated systems: dependence of the range-separation parameter on conjugation length. *Journal of Chemical Physics*, 135(20), 204107. <https://doi.org/10.1063/1.3663856>

Koster, A., Geudtner, G., Álvarez, A., Calaminici, P., Casida, M., Carmona, J., Domínguez, V., Flores, R., Gamboa, G., Goursot, A., Heine, T., Ipatov, A., de la Lande, A., Janetzki F., del Campo, J., Mejía, D., Reveles, J., Vasquez, J., Vela, A., Zuniga, B & Salahub, D. (2018). deMon2k, Versión 5, The demon developers, *Cinvestav, Mexico City*. [http://www.demon-software.com/public\\_html/index.html](http://www.demon-software.com/public_html/index.html)

Krishnamurty, S., y Pal, S. (2000). Intermolecular Reactivity Trends Using the Concept of Group Softness. *The Journal of Physical Chemistry*, 104(32), 7639-7645. <https://doi.org/10.1021/jp0010280>

Langenaeker, W., Proft, F., Geerlings, P. (1996). Electron correlation effects on Fukui functions. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 362(2), 175-179. [https://doi.org/10.1016/0166-1280\(95\)04399-3](https://doi.org/10.1016/0166-1280(95)04399-3)

Lessene, G., Czabotar, P., Sleebs, B., et al. Structure-guided design of a selective Bcl-xl inhibitor. *Nature Chemical Biology*, 9, 390-397. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1246>

López, J., Ensuncho, A., & Robles, J. (2013). Global and local reactivity descriptors for the design of new anticancer drugs base on cic-platinum(II). *Quimica Nova*, 36, 1308-1317. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000900006>

Lu, T. & Chen, F. (2012). Multiwfn: a multifunctional wavefunction analyzer. *Journal Computational Chemistry*, 33, 580-592. <https://doi.org/10.1002/jcc.22885>

Luan, J., Hu, B., Wang, S., Liu, H., Lu, S., Li, W., Sun, X., Shi, J. & Wang, J. (2022). Selectivity mechanism of BCL-XL/2 inhibition through in silico investigation. *Journal of Physical Chemistry Chemical Physics*, 24, 17105-17115. <https://doi.org/10.1039/D2CP01755E>

Luo, X., & Lim, L. (2019). Cinnamil and quinoxaline – derivative indicator dyes for detecting volatile amines in fish spoilage. *Molecules*, 24, <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24203673>

Ma, C., Taghour, M., Belal, A., Mehany, A., Mostafa, N., Nabeeh, A., Eissa, I., & Al-Karmalawy, A. (2021). Design and synthesis of new quinoxaline derivatives as potential histone deacetylase inhibitors targeting hepatocellular carcinoma: in silico, in Vitro and SAR studies. *Frente Chemistry*, 9. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.725135>

Marenich, A., Cramer, C., & Truhlar, D. (2009). Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic Surface tensions. *Journal of Physical Chemistry*, 18, 6378-6396. <https://doi.org/10.1021/jp810292n>

Martínez, J. (2015). Why is the dual descriptor a more accurate local reactivity descriptor than Fukui functions? *Journal of Mathematical Chemistry*, 53, 451-465. <https://doi.org/10.1007/s10910-014-0437-7>

Martyna, G., Tobias, D., & Klein, M. (1994). Constant pressure molecular dynamics algorithms. *Journal of Chemical Physics*, 101 (5), 4177-4189. <https://doi.org/10.1063/1.467468>

Meng, X., Zhang, G., Mezei, N., & Cui, M. (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug Discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7, 146-157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>

Mohajeri, A., Alipour, M. & Mousaee, M. (2011). Halogen –Hydride Interaction between Z –X(Z = CN, NC; X = F, Cl, Br) and H–Mg–Y (Y = H, F, Cl, Br, CH<sub>3</sub>). *The Journal of Physical Chemistry*, 115 (17), 4457-4466. <https://doi.org/10.1021/jp200689b>

Montanaa, M., Matías, F., Terme, T., & Vanelle, P. (2019). Antitumoral activity of quinoxaline derivatives: A systematic review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 163, 136-147. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.11.059>

Muchmore, S., Sattler, M., Liang, H., Meadows, R., Harlan, J., Yoon, H., Nettlesheim, D., Chang, B., Thomposon, C., Wong, S., Ng, S. & Fesik, S. (1996). X-ray and NMR structure of human Bcl-xl, an inhibitor of programmed cell death. *Nature*, 381, 335-341. <https://doi.org/10.1038/381335a0>

National Cancer Institute. (2024, November). Pancreatic Cancer Treatment. <https://www.cancer.gov/types/pancreatic/patient/pancreatic-treatment-pdq>

Niklasson, A. (2008). Extended Born-Oppenheimer molecular dynamics. *Physical Review Letters*. 100(12), 123004. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.100.123004>

Noolvi, M. N., Patel, H. M., Bhardwaj, V., & Chauhan, A. (2011). Synthesis and in vitro antitumor activity of substituted quinazoline and quinoxaline derivatives: search for anticancer agent. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(6), 2327–2346. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.03.015>

Ola, M., Nawas, M. & Ahsan, H. Role of Bcl-2 family proteins and caspases in the regulation of apoptosis. (2011). *Molecular and Cellular Biochemistry*, 311, 41-58. <https://doi.org/10.1007/s11010-010-0709-x>

Ono, Y., Ninomiya, M., Kaneko, D., Sonawane, A. D., Udagawa, T., Tanaka, K., Nishina, A., & Koketsu, M. (2020). Design and synthesis of quinoxaline-1,3,4-oxadiazole hybrid derivatives as potent inhibitors of the anti-apoptotic Bcl-2 protein. *Bioorganic chemistry*, 104, 104245. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104245>

Orozco, U., Gázquez, J., & Vela, A. (2018). Role of Reaction Conditions in the Global and Local Two Parabolas Charge Transfer Model. *The Journal of Physical Chemistry*, 122(6), 1796-1806. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.7b12001>

Pal, R., & Chattaraj, P. (2021). Chemical reactivity forms a conceptual density functional theory perspective. *Journal of the Indian Chemical Society*, 98, 100008. <https://doi.org/10.1016/j.jics.2021.100008>

Papaconstantopoulos, D. A. & Mehl, M. J. (2003). The Slater–Koster tight-binding method: a computationally efficient and accurate approach. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 15(10), 413-440. <http://dx.doi.org/10.1088/0953-8984/15/10/201>

Patil, R., Das, S., Stanley, A., Yadav, L., Sudhakar, A., Varma, A. (2010). Optimized hydrophobic interactions and hydrogen bonding at the target-ligand interface leads the pathways of drug-designing. *Plos One*, 5. Article e12029. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012029>

Pereira, J., Pessoa, A., Cordeiro, M., Fernandes, R., Prudencio, C., Noronha, J., & Vieira, M. (2015). Quinoxaline, its derivatives and applications: a state of the art review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 664-672. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.06.058>

Petros, A., Olejniczak, E., & Fesik, S. (2004). Structural biology of the Bcl-2 family of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Cell Research*, 1664, 83-94. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2003.08.012>

Pettersen E., Goddard T., Huang C., Couch G., Greenblatt D., Meng E. & Ferrin T. (2004). UCSF Chimera: a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational of Chemistry*, 25 (13), 1605-12. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>

Phillips, J.C., Braun, R., Wang, W., Gumbart, J., Tajkhorshid, E., Villa, E., Chipot, C., Skeel, R.D., Kalé, L. and Schulten, K. (2005). Scalable molecular dynamics with NAMD. *Journal of Computational of Chemistry*, 26, 1781-1802. <https://doi.org/10.1002/jcc.20289>

Proft, F., y Geerlings, P. (2001). Conceptual and Computational DFT in the Study of Aromaticity. *Chemical Reviews*, 101(5), 1451-1464. <https://doi.org/10.1021/cr9903205>

- Raghav, P. K., Kumar, R., Kumar, V., & Raghava, G. P. S. (2019). Docking-based approach for identification of mutations that disrupt binding between Bcl-2 and Bax proteins: Inducing apoptosis in cancer cells. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, 7(11), Article: e910. <https://doi.org/10.1002/mgg3.910>
- Ramírez, M., Márquez, H., Barranco, G., & López, J. (2014). Bcl-2: su papel en el ciclo celular, apoptosis y cáncer. *El Residente*, 9(3), 84-89. [www.medigraphic.com/elresidente](http://www.medigraphic.com/elresidente)
- Red, J. (1998). Bcl-2 family proteins. *Oncogene*, 17, 3225-3236. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1202591>
- Rodríguez, S. (2022). Mapas de potencial electrostático para la comprensión de la reactividad química. *CIENCIAUANL, Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Universidad Autónoma de Nuevo León*, 113. [https://cienciauanl.uanl.mx/?p=11694#:~:text=Un%20mapa%20de%20potencial%20electrostatico%20Al%20tico,mol%20A9cula%20\(Hardinger%20C%202010\).](https://cienciauanl.uanl.mx/?p=11694#:~:text=Un%20mapa%20de%20potencial%20electrostatico%20Al%20tico,mol%20A9cula%20(Hardinger%20C%202010).)
- Sánchez, G., Moguel, R., Flores, J., Clemente, U., Sánchez-García, E., Domínguez, I., & Chan, L. (2021). Adenocarcinoma ductal de páncreas. Experiencia de 11 años en un centro de tercer nivel. *Revista de Gastroenterología de México*, 86, 118-124. <https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2020.04.004>
- Sarmah, P., y Deka, R. (2008). Solvent effect on the reactivity of CIS-platinum(II) complex: a density functional approach. *International Journal of Quantum Chemistry*, 108, 1400-1409. <https://doi.org/10.1002/qua.21635>
- Saxena, N., Katiyar, S., Liu, Y., Grover, A., Gao, R., Sundar, D., Kaul, S., & Wadhwa, R. (2013). Molecular interactions of Bcl-2 and Bcl-xl with mortalin: identification and functional characterization. *Bioscience Reports*, 33. Article e00073. <https://doi.org/10.1042/BSR20130034>
- Shahi, A., & Arunan, E. (2014). Hydrogen bonding, halogen bonding and lithium bonding: an atom in molecules and natural bond orbital perspective towards conservation of total bond order, inter – and intra – molecular bonding. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 16, 22935-22952. <https://doi.org/10.1039/C4CP02585G>

- Tariq, S., Somakala, K., Amir, M. (2018). Quinoxaline: An insight into the recent pharmacological advances. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 143, 542-557. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.11.064>
- Thirumurugan, P., Muralidharan, D., Perumal, P. (2009). The synthesis and photophysical studies of quinoxaline and pyridopyrazine derivatives. *Dyes and Pigments*, 81, 245-253. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2008.10.018>
- Wakui, N., Yoshino, R., Yasuo, N., Ohue, M., & Sekijima, M. (2018). Exploring the selectivity of inhibitor complexes with Bcl-2 and Bcl-XL: A molecular dynamics simulation approach. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 79, 166-174, <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2017.11.011>.
- Wang, R., Li, C., Cho, S., Chang, C., Chen, J., Shih, T. (2022) Synthesis of cinnamils and quinoxalines and their biological evaluation as anticancer agents. *Archiv der Pharmazie* 355, Article e2100448. <https://doi.org/10.1002/ardp.202100448>
- Warsito, W., Murlistyarini, S., Suratmo, S., O Azzahra, V., Sucahyo, A. (2021). Molecular docking compounds of cinnamaldehyde derivatives as anticancer agents. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 22, 2409-2419. <https://doi.org/10.31557%2FAPJCP.2021.22.8.2409>
- Yang, J., Liu, X., Bhalla, K., Kim, C., Ibrado, A., Cai, J., Peng, T., Jones, D., Wang, X. (1997). Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science*, 275, 1129-1132. <https://doi.org/10.1126/science.275.5303.1129>
- Yu, Changjiang., Hao, E., Li, T., Wang, J., Sheng, W., Wei, Y., Mua, X. & Jiao, L. (2015). Dipyrrolylquinoxaline difluoroborates with intense red solid-state fluorescence. *Dalton Transactions*, 44, 13897. <https://doi.org/10.1039/C5DT02012C>
- Yunta, M. J. (2016). Docking and ligand binding affinity: uses and pitfalls. *American Journal Modeling Optimization*, 4(3), 74-114. <http://pubs.sciepub.com/ajmo/4/3/2>
- Zhou, D., Ding, N., Zhao, S., Li, D., Van Doren, J., Qian, Y., Wei, X., & Zheng, X. (2014). Synthesis and evaluation of curcumin-related compounds containing inden-2-one for their

effects on human cancer cells. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 37(12), 1977–1981.  
<https://doi.org/10.1248/bpb.b14-00477>

Zhao, Y. & Truhlar, D. (2008). The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. *Theoretical Chemistry Accounts*, 120, 215–241  
<https://doi.org/10.1007/s00214-007-0310-x>

Parte de este trabajo se presentó en la:

**XXI Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica** en modalidad póster bajo el título *“Estudio DFT y acoplamiento molecular de cinamilos y quinoxalinas para cáncer de páncreas”* llevada a cabo en Pachuca, Hidalgo del 9 al 11 de noviembre de 2023.

**XXII Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica** en modalidad póster bajo el título *“Dinámicas Moleculares de la proteína Bcl-xl con un derivado de cinamilo y una quinoxalina”* llevada a cabo en Chihuahua, Chihuahua del 7 al 9 de noviembre de 2024.