



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA



**ESTUDIO TEÓRICO DE LA CAPSAICINA, SU INTERACCIÓN CON EL
RECEPTOR DE POTENCIAL TRANSITORIO VANILOIDE 1 (TRPV1), Y
SU POSIBLE MODIFICACIÓN EN PRO DE LA ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS

PRESENTA:

Q. A. MIGUEL ÁNGEL PORRAS ALVARADO

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. NELLY MA DE LA PAZ GONZÁLEZ RIVAS

CODIRECTORES:

DR. ERICK CUEVAS YAÑEZ

DR. HORACIO REYES PÉREZ

TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO, ENERO 2022

ÍNDICE

1	RESUMEN:	2
2	ANTECEDENTES:	2
2.1	ANTIOXIDANTES:	2
2.2	CAPSAICINA Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA:	3
2.3	RECEPTOR DE POTENCIAL TRANSITORIO (TRP).....	4
2.4	QUÍMICA COMPUTACIONAL:	5
2.4.1	TEORÍA DE FUNCIONALES DE LA DENSIDAD (DFT).....	6
2.5	DOCKING MOLECULAR.....	9
2.5.1	FUNCIONES DE PUNTUACIÓN.	9
2.5.2	MUESTREO	10
3	HIPÓTESIS.....	11
4	OBJETIVO GENERAL.....	11
5	OBJETIVOS PARTICULARES.....	11
6	METODOLOGÍA:.....	12
6.1	Proposición de análogos:	12
6.2	Optimización de geometría:.....	13
6.3	Topología de densidad electrónica:	14
6.4	Índices de reactividad	15
6.5	Cálculos de pK_a	16
6.6	Docking Molecular:	17
7	RESULTADOS	18
7.1	CONSTRUCCIÓN DE DERIVADOS DE CAPSAICINA	18
7.2	DESCRIPTORES MOLECULARES	19
7.3	ÍNDICES DE REACTIVIDAD.....	20
7.4	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	22
7.5	DOCKING MOLECULAR.....	27
8	CONCLUSIONES	31
9	REFERENCIAS:.....	31

1 RESUMEN:

La capsaicina es el principal componente de los frutos del género *Capsicum* y que pertenecen a la familia de las solanáceas, y es la responsable de la sensación de pungencia (conocido también como “picor”). El contenido bioquímico de las especies de este género ha mostrado ser muy ventajoso para el consumo humano, pues ha recibido especial atención gracias a sus efectos biológicos tales como su actividad antioxidante, antiobesidad y anti diabética, entre otras. En el presente estudio, se propusieron 13 análogos de la capsaicina, de los cuales a través de Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT, por sus siglas en inglés), se estudiaron sus valores de pK_a y sus actividades antioxidantes primarias. La interacción que tienen con el receptor de potencial transitorio vaniloide 1 (TRPV1) se llevó a cabo utilizando docking molecular. Dentro de los resultados obtenidos, cinco de los análogos propuestos mostraron tener mejor habilidad para donar y aceptar electrones, así como energías de afinidad con diferencias mínimas que la capsaicina (~ -0.7 kcal/mol), así como los anclajes con los residuos Y511, T550, y S512, por lo que esperamos que la información obtenida brinde un panorama temprano sobre la actividad antioxidante de los análogos propuestos de capsaicina y su interacción con el receptor.

2 ANTECEDENTES:

2.1 ANTIOXIDANTES:

Todo ser vivo que utiliza oxígeno como sustrato para obtener energía, libera radicales libres, lo cual es incompatible con la vida a no ser que existan mecanismos celulares de defensa que los neutralice. A estas defensas se les denomina como “antioxidantes”. Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de un sustrato oxidable, actuando como donador de electrones (es decir, como agente reductor). Los niveles bajos de los mismos, o la inhibición de las enzimas antioxidantes causan estrés oxidativo y pueden dañar o matar a las células.

Dentro de la medicina tradicional existen diversos tipos de plantas que contienen compuestos antioxidantes, que ayudan a proteger a las células contra los efectos dañinos de especies reactivas del oxígeno (ERO).^{2,3,4}

La reducción del oxígeno se produce a través de los electrones que escapan de la cadena respiratoria, dando origen al superóxido (O_2^-), el cual puede dismutar fácilmente y formar al peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que en presencia de metales de transición como el hierro (Fe^{2+}) y el cobre (Cu^+), produce el radical hidroxilo (OH^-), mediante la reacción de *Fenton*,

que es considerado la especie oxidante más dañina en los sistemas biológicos y el principal responsable del daño oxidativo.⁵

El daño oxidativo puede ser prevenido por moléculas antioxidantes, las que son capaces de donar electrones para estabilizar a los radicales libres y neutralizar sus efectos dañinos. Estas pueden ser de origen endógeno (sintetizados por el organismo) y exógeno (provenientes de fuentes externas).^{1, 3}

Los antioxidantes pueden prevenir o retardar la oxidación de un sustrato biológico, y en algunos casos revertir el daño oxidativo de las moléculas afectadas.

Las formas en las que los antioxidantes pueden trabajar son diversas, como la interacción directa con especies reactivas, la prevención de la formación enzimática y de especies dependientes de metales, la activación o inducción de la actividad de enzimas antioxidantes, entre otros, se clasifican como primarios (Tipo I, o de ruptura de cadenas), secundarios (Tipo II, o preventivos) y terciarios (Tipo III, o reparadores)^{19, 20}. El efecto que los nutrientes antioxidantes tienen es la función en la eliminación de carcinogénicos, inhibición de pre-carcinogénicos y la reparación del daño al DNA.

2.2 CAPSAICINA Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA:

El género *Capsicum*, pertenece a la familia Solanaceae y consiste en hasta 30 especies de frutos con este gen. Biosistemáticamente, el gen *Capsicum* se clasifica por su estructura frutal y floral y por el número de cromosomas en ellos. Aunque el origen del ancestro de las especies *Capsicum* permanece incierto, algunas especies con 26 cromosomas representan el tipo más primitivo, mientras que aquellas especies cultivadas, semidomesticadas y algunas especies silvestres tienen un número predominante de cromosomas (24).

Los frutos de la familia *Capsicum* son una rica fuente de capsaicinoides, carotenoides (algunos de ellos con actividad provitamínica A), flavonoides, ácido ascórbico (vitamina C), y tocoferoles (Vitamina E).

Algunos chiles (de la familia *Capsicum*) se han usado alrededor del mundo como productos alimenticios, especias, y como medicina externa. Algunos Capsaicinoides, son el agente picante en los chiles. Adicionalmente, la capsaicina es consumida alrededor del mundo como el ingrediente principal de muchos alimentos procesados en muchos países como China, Hungría, Japón, Corea y México.⁶

El contenido bioquímico de las especies de la familia *Capsicum* no solamente es valioso para la planta en sí misma, también puede ser ventajosa para el consumo humano.⁷ La actividad antioxidante de los compuestos polifenólicos, tales como los derivados del ácido cinámico y los flavonoides, hasta los radicales libres y el oxígeno reactivo y su potencial actividad anti-

cancerígena, llaman la atención por su posible rol de protector de la salud dentro de la dieta humana y ha recibido especial atención por parte de los químicos clínicos gracias a sus diversos efectos biológicos, tales como su actividad antioxidante, antiobesidad, anticancerígena y antidiabética.⁸

La capsaicina (Figura 1) es un alcaloide cristalino, incoloro y lipofílico. Es conocida a su vez por unirse al receptor de potencial transitorio vanilloide 1 (TRPV1, por sus siglas en inglés), el cual es principalmente expresado en las neuronas sensoriales. Este receptor es un canal catiónico operado por un ligando no-selectivo localizado primeramente en las pequeñas fibras de las neuronas nociceptivas (en el sistema nervioso periférico, las neuronas sensoriales nociceptivas, o nociceptores, detectan estímulos nocivos y convierten estos estímulos en potenciales de acción que son transmitidos al sistema nervioso central)⁹. La unión de la capsaicina y el RPTV1 incrementa la calcificación intracelular, la cual desencadena la liberación de la sustancia P (una clase de undecapéptido), así como de péptidos relacionados genéticamente.

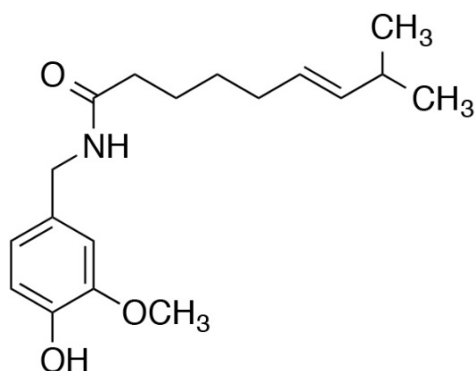


Figura 1. Estructura de la capsaicina

2.3 RECEPTOR DE POTENCIAL TRANSITORIO (TRP)

Los canales receptores de potencial transitorio son detectores de señal polimodales que responden a un amplio rango de estímulos físicos y químicos. El TRPV1 es un canal catiónico activado por calor que es modulado por agentes antiinflamatorios y contribuye a sentir un dolor agudo y persistente (pungencia). Son canales catiónicos no selectivos que pueden ser activados por una amplia variedad de estímulos endógenos y exógenos, los activadores que son mejor conocidos para activar al receptor son: temperaturas mayores a 43°, condiciones ácidas; capsaicina (componente irritante de los chiles y objeto del presente estudio); y al isotiocianato de alilo, el componente pungente en la mostaza y el wasabi.¹⁰

La función del TRPV1 es detectar y regular la temperatura del cuerpo. Además, dicho receptor provee de una sensación de quemadura y de dolor (llamada nocicepción).

Los TRPV1 se encuentran principalmente en las neuronas nociceptivas del sistema nervioso periférico, pero también se han descrito en muchos otros tejidos, incluyendo al sistema nervioso central. El TRPV1 está involucrado en la transmisión, modulación e integración de diversos estímulos del dolor (Figura 2).^{11, 12}

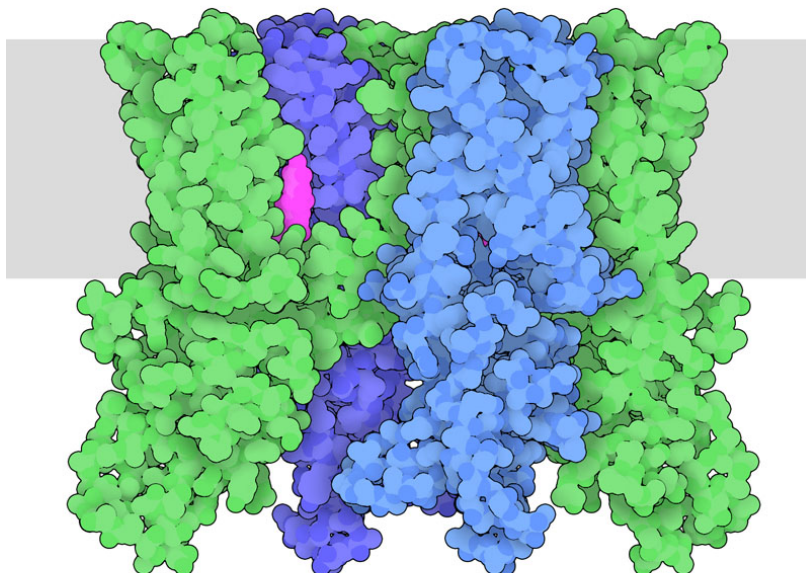


figura 2. TRPV1 unido a Capsacepina (magenta). la locación de la membrana se muestra esquemáticamente en color gris. (Gao, Y, et. al. Nature 534, 347-351 (2016))

2.4 QUÍMICA COMPUTACIONAL:

Dentro de las variadas ramas de la química, hoy en día se ha popularizado el uso de métodos computacionales, los cuales complementan o posibilitan el estudio de sistemas simples y complejos, permitiendo así proponer un mecanismo de reacción entre un sustrato y una determinada proteína, facilitando el diseño de fármacos, explicando fenómenos electrónicos como las interacciones moleculares, entre otras cuestiones. Con la ayuda de la química computacional es posible predecir diferentes propiedades de un sistema; por ejemplo, su geometría y propiedades químicas, e incluso la ejemplificación de la superficie de energía potencial (PES). Uno de los principales puntos de interés al utilizar herramientas de la química computacional, es el uso del nivel de teoría adecuado, ya que todos se basan en la resolución de la ecuación de Schrödinger, utilizando distintas aproximaciones. Entre ellos se encuentra la Teoría de Funcionales de la Densidad, propuesta en 1964 por Pierre Hohenberg y Walter Kohn. Ellos propusieron que la energía del estado fundamental de una molécula puede ser determinada a partir de la densidad electrónica (la cual es una cantidad

detectable por métodos experimentales como la difracción de rayos x), es decir la energía es un funcional de la densidad, $E[\rho]$. Más tarde Kohn-Sham propusieron una forma de obtener la relación funcional descomponiendo la energía del sistema electrónico en cuatro partes; la energía cinética $T[\rho]_e$, la interacción coulombica $J[\rho]$, la interacción núcleo electrón $\int dr \rho(r)v(r)$ y la contribución del intercambio y la correlación $Exc[\rho]$. A pesar de que la teoría es exacta, este último término permanece desconocido por lo que es necesario realizar aproximaciones para su obtención, en ello difieren las diferentes variantes como B3LYP, TPSS, PBE96, PBE0 y M05, este último conocido por su eficiencia al describir interacciones débiles.^{13, 14}

Estas y otras técnicas computacionales, no solo permiten describir la geometría y por ende la energía de sistemas moleculares, si no que dan pie al uso de cantidades capaces de caracterizar la reactividad de un sistema, parte de él e incluso interacciones con moléculas vecinas. Éstas son conocidas como descriptores moleculares, que esencialmente son de tres tipos: energéticos, topológicos y geométricos.

2.4.1 TEORÍA DE FUNCIONALES DE LA DENSIDAD (DFT)

La Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) (Parr, 1989) representa una forma alternativa a la de los métodos *ab initio* convencionales de introducir los efectos de la correlación electrónica en la resolución de la ecuación de Schrödinger electrónica. De acuerdo con la DFT, la energía del estado fundamental de un sistema polieletrónico puede expresarse a partir de la densidad electrónica, y de hecho el uso de la densidad electrónica en lugar de la función de onda para el cálculo de la energía constituye la base fundamental de la DFT. Por desgracia, la fórmula matemática exacta que relaciona la energía con la densidad electrónica no es conocida, y es necesario recurrir a expresiones aproximadas. Estas expresiones acostumbran a proporcionar resultados sorprendentemente buenos si uno considera las aproximaciones en las que éstas se basan. El principal inconveniente de estos métodos se encuentra en el hecho de que para sistemas en que DFT da resultados erróneos no hay forma sistemática de mejorarlos. Aun así, los métodos basados en DFT se han popularizado en la última década para el cálculo de sistemas de cierto tamaño, y en especial para los complejos de metales de transición, a partir de la introducción de funcionales de correlación-intercambio que proporcionan resultados de calidad comparable o superior a la que ofrece el método MP2.

2.4.1.1 DESCRIPTORES MOLECULARES

Los descriptores moleculares están estrechamente conectados al concepto de la estructura molecular, y juegan un papel fundamental dentro de la investigación científica, cumpliendo el rol de ser el núcleo teórico de una compleja red de conocimiento. De hecho, los descriptores moleculares están basados en varias teorías distintas, tales como la química cuántica, teoría informática, química orgánica, teoría de gráficas, entre otras, y también se utilizan para modelar distintas propiedades químicas en campos científicos como toxicología, química analítica, fisicoquímica y en el área medicinal, farmacéutica y ambiental. Por ejemplo, y para fines de la investigación que se está llevando a cabo, el potencial electrostático molecular (PEM), es una herramienta útil que describe la distribución de carga en el sistema. También contamos con las funciones de Fukui, las cuales son un criterio muy útil para caracterizar los sitios reactivos de las especies químicas.¹⁵ Otro de los descriptores útiles dentro de la investigación son los que describen la energía del orbital molecular más alto ocupado y más bajo desocupado (HOMO y LUMO, respectivamente), donde podemos suponer que las moléculas con mayores energías obtenidas para los orbitales más altos ocupados, pueden donar sus electrones más fácilmente comparados con las energías menores obtenidas para los orbitales más altos ocupados, y por lo tanto, son más reactivos, mientras que para los orbitales moleculares más bajos desocupados, la obtención de valores energéticos bajos indica una mayor posibilidad de que la molécula acepte electrones mucho mejor que las moléculas cuyos valores energéticos son más altos.¹⁶

2.4.1.2 FUNCIONALES MINNESOTA

Los funcionales de Minnesota son un grupo de funcionales de energía de correlación-intercambio aproximados altamente parametrizados en DFT. Fueron desarrollados por el grupo del profesor Donald Truhlar en la Universidad de Minnesota. Estos funcionales están basados en la aproximación meta-GGA, es decir, incluyen términos que dependen de la densidad de la energía cinética, y todos están basados en formas complicadas de funcionales complicadas parametrizadas en bases de datos de referencia de alta calidad. Estos funcionales pueden ser utilizados para química cuántica tradicional y cálculos físicos de estado sólido.

Un estudio mostró que los errores en densidades atómicas y energéticas son de hecho dispares, y que los funcionales de Minnesota desempeñan mejor para densidades diatómicas que para las densidades atómicas. Dicho estudio concluyó que las densidades atómicas no otorgan un juicio preciso del desempeño de los funcionales de la densidad. Los funcionales Minnesota también mostraron que pueden obtener funciones de Fukui químicamente relevantes mucho mejor de lo que lo hacen con densidades atómicas.

- Minnesota 05: la primera familia de funcionales Minnesota, publicada en 2005, está compuesta por:
 - M05: funcional global híbrido con 28% de intercambio HF (Hartree-Fock).
 - M05-2X: funcional global híbrido con 56% de intercambio HF.

De acuerdo con Zhao y Truhlar, la serie M05 y M06 de funcionales contabilizan implícitamente la correlación electrónica de “rango-medio” debido a la forma en la que está parametrizada, lo cual es suficiente para describir la dispersión de las interacciones en muchos complejos. Estos autores definen la correlación de “rango-medio” como aquella que se encuentra en complejos separados por alrededor de 5 Å o menos.¹⁴ En particular, el funcional M05-2X tiene el mejor desempeño para cinética termoquímica, interacciones no-covalentes (especialmente interacciones débiles, enlazamiento de hidrógeno, apilamiento $\pi\cdots\pi$, por mencionar algunos) y energías de disociación de enlaces alquíl y los mejores resultados energéticos para compuestos, exceptuando metales.¹⁷

El funcional M05-2X es un híbrido global de intercambio-correlación de aproximación de gradiente generalizado (GGA) diseñado para termoquímica, cinética e interacciones no-covalentes²⁴, se ha recomendado también para calcular energías de reacción que involucren radicales libres²⁵. Por otro lado, se ha utilizado ampliamente para estimar valores de pKa, las energías de disociación de enlace y en general la actividad removedora de diversas moléculas antioxidantes²⁶⁻³⁷.

2.4.1.3 SET DE FUNCIONES DE BASE DE CORRELACIÓN-CONSISTENTE (cc-pvdz)

El uso de los sets de base es equivalente al uso de una resolución aproximada de la identidad. Los estados de una partícula simple (orbitales moleculares) se expresan como combinaciones lineales de las funciones de base. Para los átomos de la primera y segunda fila, los sets de base son cc-pVNZ, donde $N=D, T, Q, 5, 6\dots n$ (D=doble, T=triple, Q=cuádruple, etc.). el prefijo “cc-p”, se refiere a la “correlación consistente-polarizada”, y la “V” indica que únicamente son sets de base de valencia. Estos incluyen de manera eficiente grandes capas de funciones de polarización (*d, f, g*, etc.).¹⁸

Los sets de base de correlación-consistente son usados ampliamente en todo el mundo, pues fueron diseñados para hacer converger los cálculos post-Hartree-Fock sistemáticamente para el set de base completo utilizando técnicas de extrapolación empíricas.

2.5 DOCKING MOLECULAR

Las técnicas de docking molecular apuntan a la predicción del mejor modo de acomplamiento de un ligando con un compañero macromolecular (donde sólo se consideran a las proteínas). Consiste en la generación de un número determinado de posibles conformaciones/orientaciones, es decir, poses, en las que el ligando se acopla dentro de la cavidad de la proteína. Puede utilizarse una estructura experimentalmente obtenida (con métodos como cristalografía de rayos-X o con RMN) o bien, con una estructura obtenida por técnicas computacionales.

El docking molecular consiste en dos etapas: el uso de un mecanismo de muestreo de conformaciones/orientaciones, y una función de puntuación, la cual asocia un puntaje con cada pose predicha. El muestreo debería buscar efectivamente el espacio conformacional descrito por el panorama de energía libre, donde la energía, en el docking, es aproximada a la función de puntuación. Dicha función debería poder asociar la conformación de enlace nativa al mínimo global de la hipersuperficie energética.¹⁹

2.5.1 FUNCIONES DE PUNTUACIÓN.

Las funciones de puntuación juegan con el papel de selector de poses, y se utilizan para discriminar módulos putativos correctos de docking, además de las moléculas enlazantes de las no-enlazantes dentro de la gran cantidad de poses generadas a través del buscador de muestreo. Existen esencialmente tres tipos de funciones de puntuación:

1. Funciones de puntuación basadas en campos de fuerza:

El campo de fuerza es un concepto típico de la mecánica molecular, el cual aproxima a la energía potencial de un sistema con la combinación de los componentes enlazados y no-enlazados. En el docking molecular, los componentes que no están enlazados son generalmente tomados en cuenta con la adición de los ligandos que si se encuentran enlazados, especialmente los componentes torsionales. Los componentes intermoleculares incluyen el término van der Waals, descrito por el potencial de Lennard-Jones, el potencial electrostático, descrito por la función de Coulomb, donde una función dieléctrica dependiente de la distancia sea introducida para imitar el efecto del solvente.¹⁹

2. Funciones de puntuación empíricas:

Estas funciones son la suma de varios términos de energía empíricos tales como van der Waals, electrostática, puente de hidrogeno, desolvatación, entropía, hidrofobicidad, etc., las cuales son medidas por coeficientes optimizados para reproducir la información de la afinidad de enlace de un set de entrenamiento por ajuste de mínimos cuadrados.¹⁹

3. Funciones de puntuación basadas en conocimiento:

Estos métodos sugieren que el contacto ligando-proteína más explorado estadísticamente está correlacionado con interacciones favorables. Comenzando de una base de datos de estructuras, las frecuencias de los contactos entre pares de átomos ligando-proteína son computarizados y convertidos en un componente energético. Cuando se evalúa una posición, los componentes energéticos tabulados que se mencionaron con anterioridad, son recopilados para todos los pares de átomos ligando-proteína, dando como resultado la puntuación de la pose.¹⁹

2.5.2 MUESTREO

El primer algoritmo de docking molecular fue desarrollado en los 80's por *Kuntz et. al. (1982)*; el receptor fue aproximado por una serie de esferas que llenaban los espacios en la superficie, y el ligando por otro conjunto de esferas que definían su volumen. La búsqueda fue hecha para encontrar la mejor superposición estérica entre el sitio de enlace y las esferas del receptor, ignorando cualquier tipo de movimiento conformacional.²⁰

Este método pertenece a un grupo de técnicas totalmente rígidas de docking, de acuerdo con la clasificación que divide a los métodos de acoplamiento con los grados de flexibilidad de las moléculas envueltas en el cálculo.²¹

1. Docking rígido:

Se considera tanto al ligando como al receptor como entes rígidos, y solamente los tres grados de libertad traslacionales y rotacionales se consideran dentro del muestreo. Esta aproximación es análoga al modelo de acoplamiento "lock-key" y es utilizado principalmente para docking proteína-proteína, donde el número de grados de libertad conformacionales es muy alto para ser muestreado. Generalmente, en estos métodos, el sitio de enlace (o cavidad) y el ligando se aproximan por puntos "calientes" y la superposición del punto de coincidencia es evaluado.²²

2. Docking semi-flexible:

Solo una de las moléculas, el ligando, es flexible, mientras que la proteína está rígida. Por lo tanto, los grados de libertad conformacionales del ligando son muestreados, además de los seis traslacionales más los rotacionales. Estos métodos asumen que a una conformación fija de una proteína puede corresponder a aquella capaz de reconocer los ligandos que se van a acoplar.²²

3. Docking flexible:

Este acoplamiento se basa en el concepto de que una proteína no se encuentra pasivamente rígida durante el enlazado y considera que tanto la proteína como el ligando con partes flexibles. El gran número de grados de libertad introducidos por acoplamiento flexible hace que la superficie de energía potencial se vuelva una función de numerosas coordenadas. En consecuencia, el esfuerzo computacional requerido para llevar a cabo dicho cálculo de acoplamiento aumenta considerablemente, pero tanto el muestreo como el puntaje deberían ser optimizados para dar un buen balance entre exactitud y velocidad.¹⁹

3 HIPÓTESIS

Al proponer un análogo de la capsaicina con un grupo funcional sustituido dentro del anillo aromático de la misma (-OH, -SH, -NH₂, -OCH₃, -F), la actividad antioxidante de estos se verá potenciada, y la interacción entre el ligando y el receptor no se verá afectada, por lo tanto, alguno de los análogos propuestos será mejor antioxidante que la capsaicina por sí misma.

4 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antioxidante de la capsaicina y sus análogos a través de DFT, para posteriormente verificar que la interacción entre el Receptor de Potencial Transitorio Vaniloide 1 (RPTV1) y los análogos propuestos de la capsaicina no se verá perjudicada.

5 OBJETIVOS PARTICULARES

- Realizar la optimización de geometría de la capsaicina para obtener su estructura más estable.
- Proponer análogos de la capsaicina utilizando el modelo optimizado previamente de la misma.
- Analizar la reactividad química de la capsaicina mediante teoría de funcionales de la densidad (DFT).

- Evaluar la actividad antioxidante primaria de la capsaicina y de los análogos propuestos por medio del estudio de índices de reactividad.
- Estudiar las energías de afinidad del docking molecular del receptor y del ligando.
- Determinar cuál de los análogos propuestos cumple con los objetivos especificados tanto de actividad antioxidante primaria y de interacción ligando-receptor.

6 METODOLOGÍA:

6.1 Análogos propuestos:

Las moléculas propuestas se construyeron utilizando cuatro sustituyentes distintos (-NH₂, -SH, -OCH₃, -F), y se consideraron tomando en cuenta que, de acuerdo con su naturaleza química, puedan contribuir a incrementar la actividad de remoción de electrones (es decir, la actividad antioxidante) vía donación de H, o de electrones.

Aunque el grupo tiol puede ser considerado que tenga funcionalidad indeseada debido a su alta reactividad, se ha incluido dentro de la investigación. La razón yace exactamente en esa reactividad, ya que los análogos propuestos y diseñados en el trabajo actúan como agentes antioxidantes químicos. Así, al colocar los sustituyentes mencionados en las distintas posiciones del anillo aromático de la capsaicina (R₁ a R₃; Figura 3), se construyeron 13 derivados de capsaicina, cuatro de ellos con un sustituyente colocado en donde se encuentra el grupo -OH original de la capsaicina, cuatro con el sustituyente donde se encuentra el grupo -OCH₃ original de la capsaicina, y finalmente, cinco derivados con los grupos sustituyentes descritos anteriormente colocados en la posición *orto* al carbono que tiene al grupo -OH de la capsaicina (Figura 4), la capsaicina misma fue incluida dentro del estudio como referente.

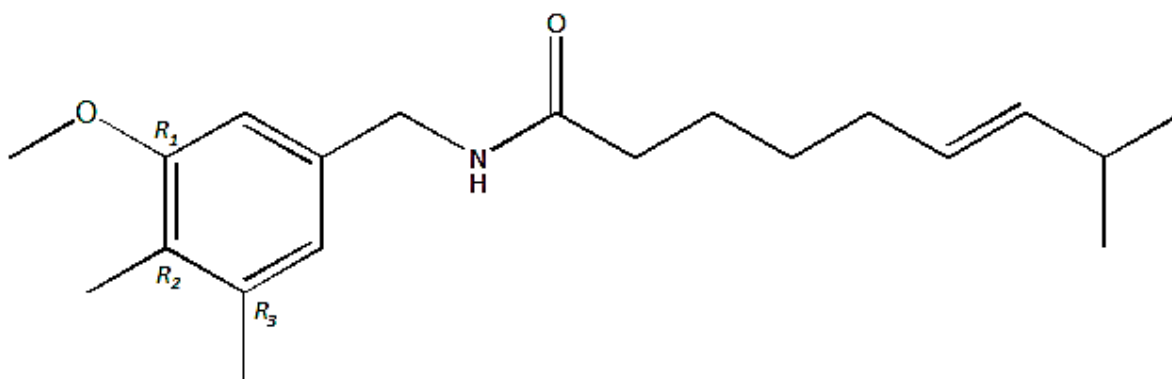


Figura 3. Posiciones donde se colocaron los grupos funcionales propuestos dentro del estudio.

6.2 Optimización de geometría:

Para poder estudiar el comportamiento antioxidante de los análogos propuestos, se consideraron ciertos índices de reactividad específicos. Para conocerlos, es necesario llevar a cabo cálculos electrónicos, los cuales fueron llevados a cabo con el software NWChem 6.6²², los cálculos de optimización de energía y frecuencias vibracionales se llevaron a cabo utilizando DFT, a un nivel de teoría M05-2X/cc-pVDZ²³ en fase gas.

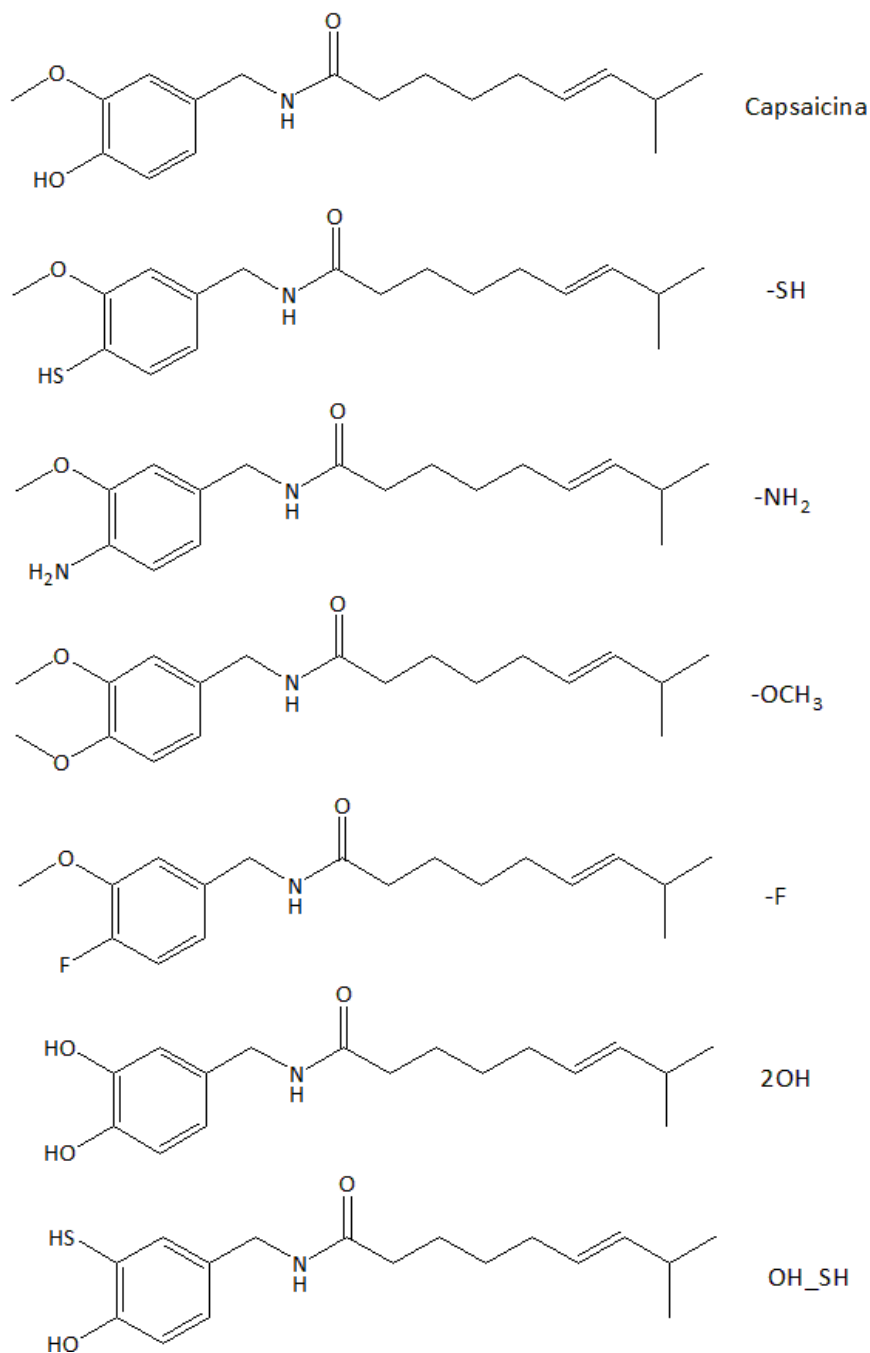


Figura 4. Representación gráfica de los derivados de capsaicina propuestos y su rotulación

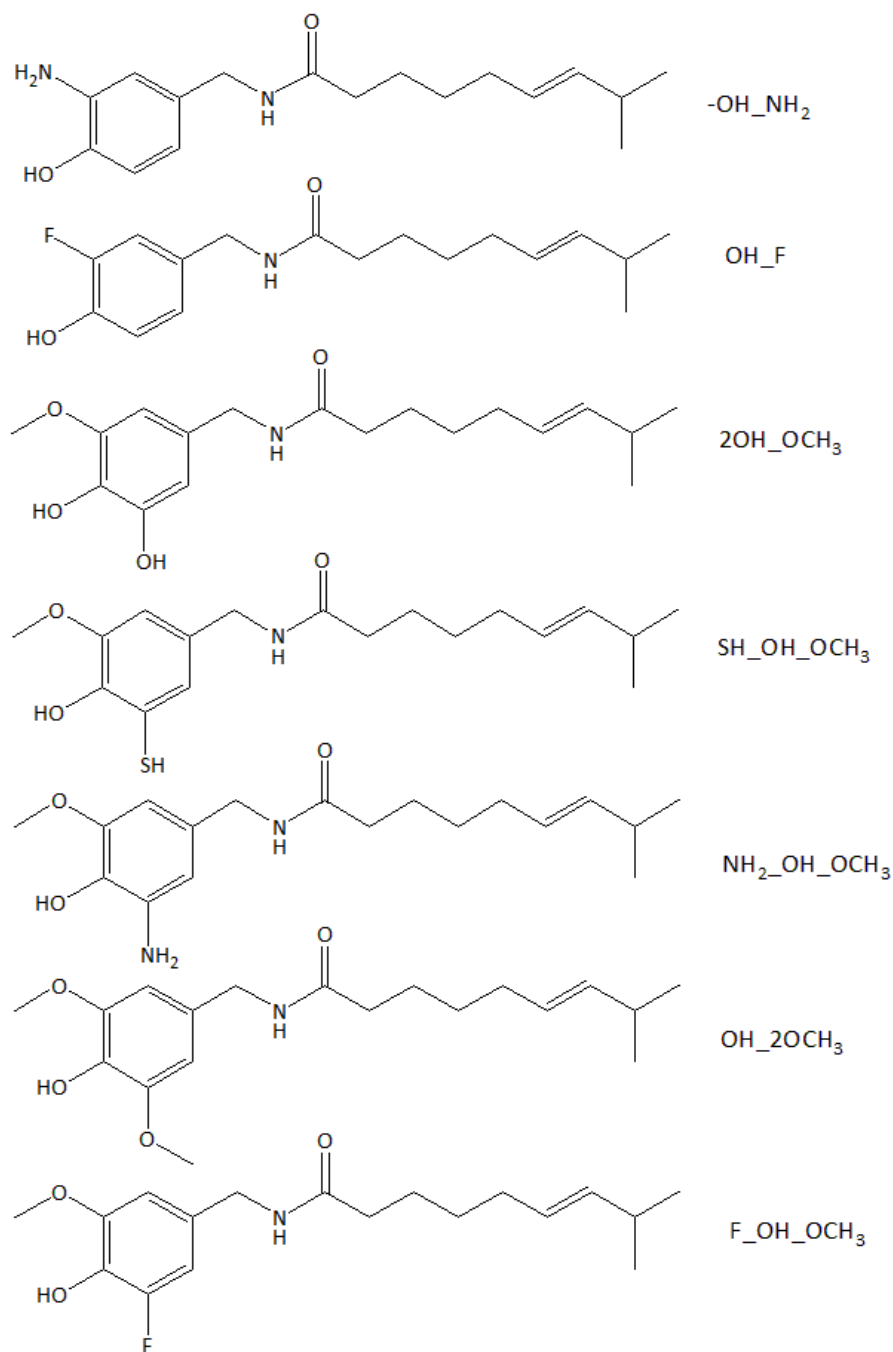


Figura 4. Representación gráfica de los derivados de capsaicina propuestos y su rotulación

6.3 Topología de densidad electrónica:

Al tratarse de análogos propuestos y estudiados computacionalmente, es necesario contar con un modelo que pueda predecir algunas de las propiedades que se requieren para comprender aún más lo que se está estudiando, describiéndolas en formas que puedan

relacionarse a sus características físicas o químicas. Para realizar una predicción razonable para cualquier set de moléculas, la información física o biológica debe estar relacionada con la molécula a través de algunas series de descriptores. Estos pueden ser estructurales, relacionando información acerca de la posición relativa de átomos, o información calculada como densidad electrónica utilizando métodos químico-cuánticos³⁸. La actividad antioxidante de diversas moléculas se debe a su facilidad para reducir la producción de radicales libres, por lo que es necesario conocer algunos de las características moleculares de la capsaicina y sus análogos propuestos, siendo el primero de estos el potencial electrostático ($\phi(\vec{r})$), el cuál es una propiedad fundamental de un sistema, cuya importancia va más allá de su papel en la reactividad. Por ejemplo, la energía de un átomo o molécula puede ser expresada rigurosamente en términos de potenciales electrostáticos en sus núcleos, dicho descriptor se obtuvo con NWChem 6.6 y fue gráficamente estudiado con UCSF Chimera 1.14^{39, 40}. Por otra parte, se estudiaron las funciones de Fukui f^+ y f^- , las cuales miden la reactividad hacia un sistema donador de electrones, y hacia un sistema aceptor de electrones, respectivamente⁴¹, dichas funciones se obtuvieron gráficamente con Multiwfn 3.7.⁴²

6.4 Índices de reactividad

Varios índices de reactividad fueron estimados para analizar el comportamiento químico de los análogos de capsaicina (Tabla 1).

	Acrónimo	Cálculo
Energía de ionización	IE	$IE = \rho_{N+1}(r) - \rho_N(r)$
Afinidad Electrónica	AE	$EA = \rho_N(r) - \rho_{N-1}(r)$
Electrofilicidad ⁵⁵	ω	$\frac{(IE + EA)^2}{8(IE + EA)}$
Poder Electrodonador ⁵⁵	ω^-	$\frac{(3IE + EA)^2}{16(IE + EA)}$
Potencial Químico ⁵⁵	μ	$-\left(\frac{IE + EA}{2}\right)$
Energía de Disociación de Enlace ⁵⁵	BDE	$E(D) + E(H) - E(DH)$

Tabla 1. Índices de reactividad, sus acrónimos, métodos de cálculo e interpretación (Reina M, et. al. Melatonin Res. 2018, Vol. 1 (1) 27-58).

Donde:

EI: capacidad de donación de un electrón. Mientras mas pequeño sea el valor de la EI, probablemente sea mayor la protección antioxidante a través de transferencia de electrones.

AE: capacidad de aceptar un electrón. Cuanto mayor sea el valor de AE, probablemente sea también mayor la protección antioxidante, al convertir $O_2^{\bullet-}$ en $3O_2$, a través de la transferencia de electrones.

ω : en una reacción que involucra a dos moléculas, se espera que la que tenga el ω más alto sea el electrófilo, mientras que la otra se espera que se comporte como el nucleófilo. [41,57](#)

ω^- : este índice mide la capacidad de un sistema químico para donar una cantidad fraccionada de carga. Cuanto menor sea el valor, es más probable que la molécula actúe como donante de electrones durante interacciones débiles con otras especies. [42,43](#)

μ : en este índice, los electrones fluirán de regiones de alto μ a regiones de bajo μ . El número de electrones que fluyen sería proporcional a las diferencias en μ , mientras que la energía de estabilización asociada debería ser proporcional a su μ^2 .

BDE: este índice mide la energía necesaria para romper los enlaces donantes (D)-H. Si el valor de BDE es bajo, la actividad antioxidante sería mayor, a través de la transferencia de H. [55](#)

6.5 Cálculos de pK_a

Para realizar los cálculos de pK_a , se realizó una segunda optimización de las geometrías a un nivel de teoría M05-2X/6-311+G(d) bajo el modelo de solvatación implícita SMD (agua) para mimetizar un ambiente polar y así poder llevar a cabo el cálculo de valores de pK_a computacional. El modelo de solvatación basado en la densidad se considera como universal, debido a su aplicabilidad para cualquier soluto cargado y neutro en cualquier solvente o medio líquido para el cual algunos descriptores clave son conocidos²³. Para todos los casos, la ausencia de frecuencias imaginarias fue identificada para asegurar que las estructuras encontradas fueran mínimas locales. El procedimiento se llevó a cabo de la misma forma para todos los análogos de la capsaicina, partiendo con la estructura optimizada obtenida de la misma, para reducir ampliamente el tiempo de cálculo computacional.

Las constantes de acidez, expresadas como pK_a , se calcularon para todos los análogos de capsaicina propuestos (excepto aquellos en donde sólo había como sustituyente al -F y

al grupo -OCH₃, ya que, para fines de cálculos de pKa, no cuentan con un protón ácido que pueda ser considerado dentro del cálculo). La proporción de especies neutras contra especies cargadas con comportamiento ácido-base está pautado por la relación pKa-pH. Para moléculas recién diseñadas, los valores experimentales de pKa no han sido estimados, por lo que en el presente estudio se utilizaron predicciones teóricas, afortunadamente existen aproximaciones que son fáciles de usar y muy efectivas. La aproximación utilizada dentro del estudio es conocida como FPA (Fitted Parameters Approach), e involucra el uso de valores experimentales de pKa de un set de referencia de moléculas pequeñas para obtener dos parámetros (*m* y *C*₀) a partir de ajustes lineales:

$$pK_{a_{exp}} = m\Delta G_{BA} + C_0^{47}$$

En la ecuación mostrada antes, ΔG_{BA} representa la diferencia de energías de Gibbs entre la base conjugada y su correspondiente ácido ($G_{calc(A^-)} - G_{calc(HA)}$). Los parámetros *m* y *C*₀ se encuentran disponibles en numerosos niveles de teoría, para fenoles, aminas, tioles y ácidos carboxílicos, siendo los tres primeros los objetos de interés dentro de la investigación^{46, 47}, es decir, los grupos funcionales usados en el proyecto para construir los análogos de capsaicina. Los valores de *m* y *C*₀ utilizados en el trabajo se muestran en la Tabla 2.

Grupo funcional	<i>m</i>	<i>C</i> ₀
Fenol ⁴⁷	0.313	-79.435
Tiol ⁴⁶	0.353	-92.371
Amina ⁴⁷	0.475	-123.807

Tabla 2. Valores de los parámetros *m* y *C*₀ a un nivel de teoría M05-2X/6-311+G(d), para diversos grupos funcionales.

6.6 Docking Molecular:

Las técnicas de docking molecular apuntan a predecir el mejor modo de activación de enlace de un ligando (capsaicina) con un receptor macromolecular (TRPV1, donde las proteínas suelen ser las únicas consideradas). Consiste básicamente en la generación de un número de posibles conformaciones/orientaciones, es decir, de posiciones, del ligando dentro de la cavidad de la proteína en la cual se da la interacción. El receptor utilizado en el estudio se obtuvo del a través de microscopía electrónica con una resolución de 3.43 Å por

medio del Protein Data Bank con el ID 5is0⁴⁸. El docking molecular se realizó por medio del software Autodock Tools 4.2⁴⁹, con la extensión de software VINA, la cual ha mostrado mejores resultados en cuanto a interacciones entre ligandos pequeños y receptores macromoleculares⁵⁰, dentro del análisis, se construyó una caja delimitando la superficie en la cual se da la interacción ligando-receptor, dicha caja tiene como medidas 20.625 Å³ y se construyó considerando la información previa que *Darré et. al.* aportó con relación a los residuos con los cuales el ligando tiene interacción, los cuales son Y511 y T550⁵¹. Las interacciones obtenidas entre el ligando y el receptor se estudiaron con el software Dassault Systèmes BIOVIA; Discovery Studio v20.1.0⁵².

7 RESULTADOS

7.1 CONSTRUCCIÓN DE DERIVADOS DE CAPSAICINA

Como se explicó anteriormente, para poder llevar a cabo los cálculos necesarios dentro del estudio, se llevó a cabo la optimización de geometría y el cálculo de frecuencias vibracionales para la capsaicina como molécula de partida, y posteriormente para todos los análogos propuestos. Dicho procedimiento se llevó a cabo a un nivel de teoría M05-2X/cc-pvdz y posteriormente a un nivel de teoría M05-2X/6-311+G(d) para fines del cálculo de *pKa*, y siempre tomando como partida la estructura optimizada de la capsaicina (Figura 5), para que posteriormente sólo se sustituyera el grupo funcional que se fuera a estudiar, obteniendo así los análogos mostrados en la Figura 6 y descritos previamente en la Figura 4.

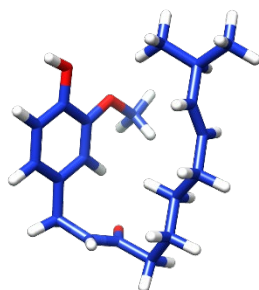


Figura 5. Estructura optimizada de la capsaicina a un nivel de teoría M05-2X/cc-pVDZ

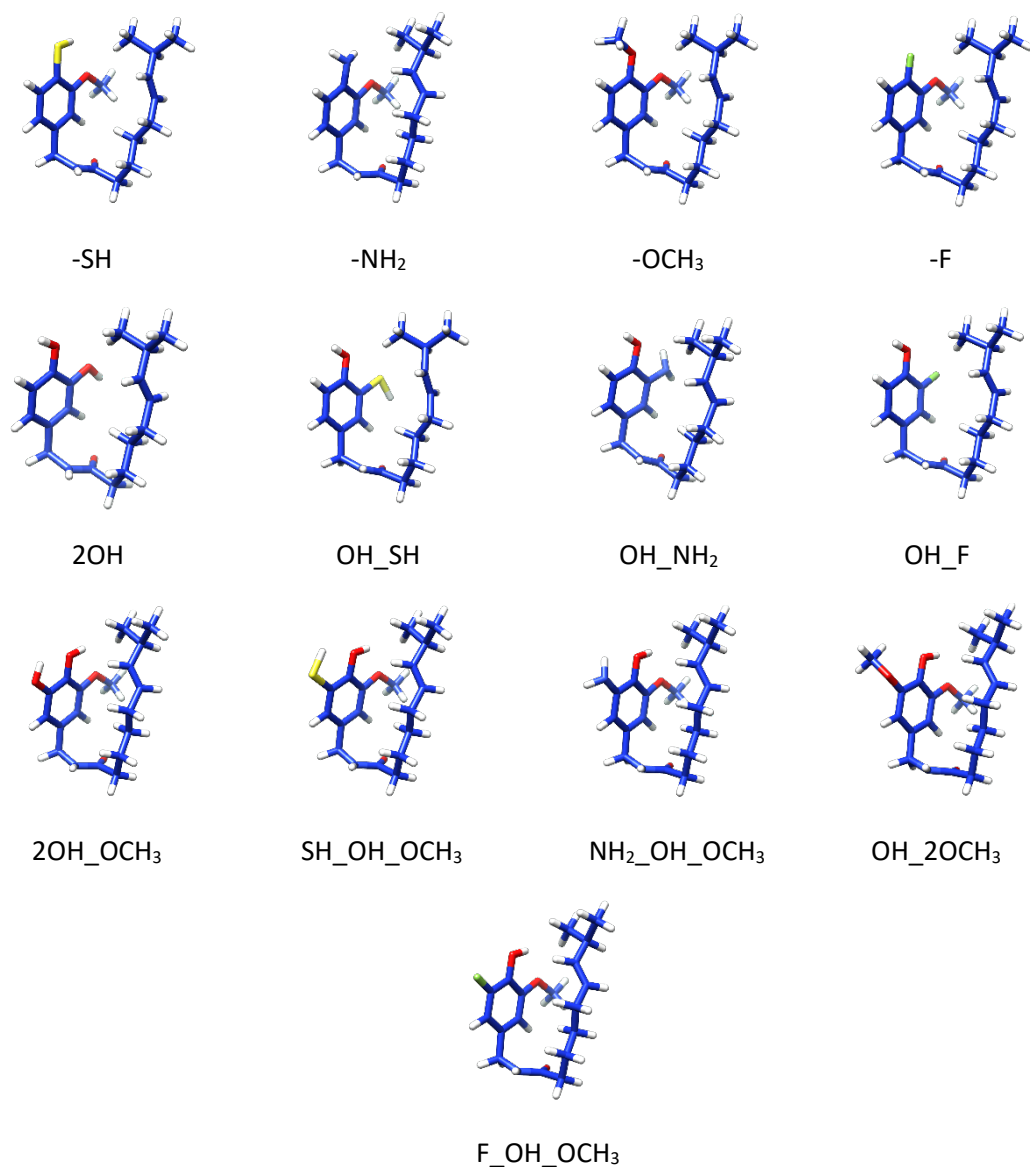


Figura 6. Moléculas optimizadas de los análogos propuestos de capsaicina a un nivel de teoría M05-2X/cc-pVDZ, con su respectiva rotulación, tomando como punto de partida a la capsaicina (Figura 5)

7.2 DESCRIPTORES MOLECULARES

Se estudió a los análogos propuestos junto con la capsaicina como la especie de referencia, la superficie molecular del potencial electrostático mostrada en la Figura 7, señala con color rojo las áreas con un valor menor (o negativo) de potencial electrostático, las áreas azules con valor mayor (o positivo) de potencial electrostático, y con color verde las áreas neutras de la molécula. Dichas áreas con valores negativos de PE, ilustran los lugares en donde se espera que se dé la interacción con el TRPV1, así como las áreas en dónde se pueden dar las reacciones de TES (transferencia de electrones simple).

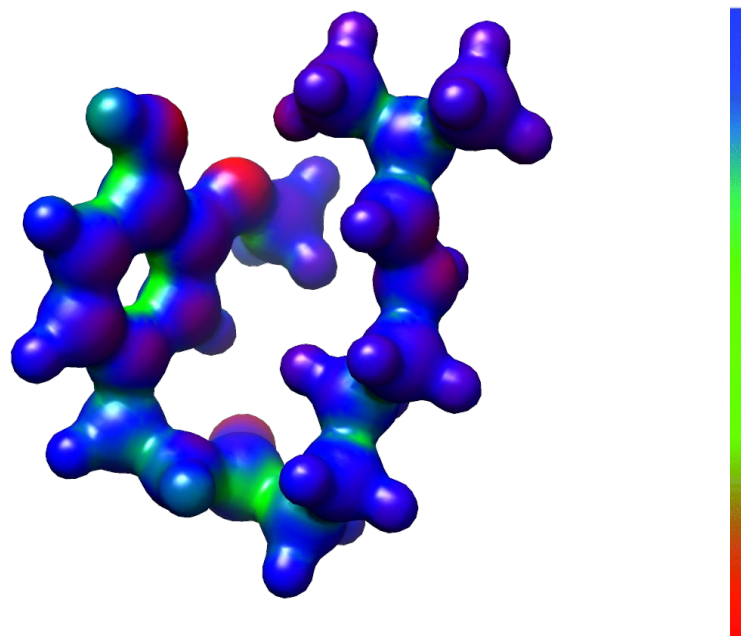


Figura 7. Mapa electrostático de la molécula de capsaicina, los valores reportados en la escala están reportados en kcal/mol

7.3 ÍNDICES DE REACTIVIDAD

Los índices de reactividad fueron obtenidos para el conjunto de moléculas propuestas, así como la capsaicina, debido a que su involucramiento en el equilibrio ácido-base puede ser relevante para el comportamiento que se está buscando, por lo que sus valores de pK_a fueron calculados (Tabla 3) y comparados contra el valor de referencia experimental existente de la capsaicina⁵⁸. Por otro lado, los índices de reactividad para las especies ácido-base se reportan en la Tabla 4.

	pK_a calc.	pK_a exp. ⁵⁸	ΔpK_a
Capsaicina	9.35	10.1	0.75
-SH	6.56		
-NH ₂	3.19		
-OCH ₃	-		
-F	-		
-2OH	8.22		
-OH_SH	8.30		
-OH_NH ₂	8.12		
OH_F	6.96		

2OH_OCH ₃	8.61
SH_OH_OCH ₃	8.54
NH ₂ _OH_OCH ₃	9.55
OH_2OCH ₃	8.81
F_OH_OCH ₃	7.93

Tabla 3. Valores de pKa calculados a un nivel de teoría M05-2X/6-311+G(d) para la capsaicina y sus derivados.

	AE	IE	ω	ω^*	μ	BDE
Neutro						
Capsaicina	-1.77	7.68	41.35	267.81	-6.80	71.28
-SH	-1.34	7.65	44.84	263.23	-6.98	67.83
-NH ₂	-1.82	7.30	34.22	229.96	-6.38	-26.61
-OCH ₃	-1.80	7.54	38.57	253.69	-6.64	-
-F	-1.49	8.20	54.68	324.48	-7.46	-
-2OH	-1.70	7.87	45.51	287.27	-7.01	71.22
-OH_SH	-1.38	7.78	46.96	276.84	-7.09	70.87
-OH_NH ₂	-1.85	7.43	36.16	242.68	-6.50	64.30
-OH_F	-1.48	8.36	58.30	343.21	-7.62	75.53
-2OH_OCH ₃	-1.86	7.71	41.08	271.46	-6.78	67.02
-SH_OH_OCH ₃	-1.59	7.65	42.56	264.43	-6.86	70.96
-NH ₂ _OH_OCH ₃	-1.99	7.29	32.59	229.77	-6.29	64.54
-OH_2OCH ₃	-1.75	7.69	41.73	269.13	-6.82	71.28
-F_OH_OCH ₃	-1.66	7.95	47.57	296.29	-7.12	74.69
Anión						
Capsaicina	-1.26	7.48	42.20	245.19	-6.84	70.77
-SH	-0.56	7.69	52.40	261.42	-7.40	69.15
-NH ₂	-1.10	8.05	55.41	304.78	-7.50	69.18
-OCH ₃	-1.08	7.55	45.20	251.54	-7.01	-
-F	-0.85	8.23	61.73	322.67	-7.80	-
-2OH	-1.16	7.57	44.83	253.46	-6.98	68.75
-OH_SH	-0.56	7.72	53.25	265.32	-7.44	71.56
-OH_NH ₂	-0.99	7.89	52.80	285.76	-7.39	69.22
-OH_F	-0.49	7.84	56.34	276.86	-7.59	70.16
-2OH_OCH ₃	-0.85	8.00	56.50	296.54	-7.57	70.53
-SH_OH_OCH ₃	-0.72	7.85	54.56	279.97	-7.49	68.47
-NH ₂ _OH_OCH ₃	-1.15	7.50	43.65	246.82	-6.92	70.39
-OH_2OCH ₃	-0.98	7.94	53.99	291.00	-7.44	69.64
-F_OH_OCH ₃	-0.71	8.24	63.43	322.49	-7.88	70.06

Tabla 4. Primera energía de ionización (IE, eV) y afinidades electrónicas (EA, eV), electrofilicidad (ω), poder electrodonador y electroceptor (ω , ω^*), potencial eléctrico (μ , eV), dureza química (η , eV), y energía de disociación de enlace (BDE, kcal/mol) para la capsaicina y su conjunto de derivados.

7.4 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los índices de reactividad estimados dentro de la investigación fueron calculados con el fin de ayudar a predecir comportamiento antioxidante, vía actividad recogedora de radicales libres, siendo de nuestro conocimiento que dicha actividad involucra transferencia de electrones simple (TES) y/o mecanismos de transferencia formal de átomos de hidrógeno (TAH). Existe una herramienta gráfica, conocida como el mapa completo donador-aceptor de electrones (FEDAM, por sus siglas en inglés)^{53, 54} que permite predecir, rápida y cualitativamente, la dirección del flujo de electrones en las reacciones TES (Figura 8). Dicha herramienta está basada en el precepto de que en las reacciones TES entre dos especies químicas, aquella con la IE menor será la donadora de electrones, y aquella con la IE mayor será la aceptora de electrones.

Por lo tanto, la herramienta FEDAM fue utilizada para el conjunto de derivados de la capsaicina propuesta dentro de la investigación (Figura 9). Algunas especies reactivas de oxígeno fueron utilizadas en el mapa para facilitar los análisis, así como la capsaicina por sí misma para llevar a cabo las comparaciones⁵⁵. Las diferentes especies ácido-base de los derivados propuestos fueron incluidos dentro de la Figura 9, ya que se espera que la desprotonación juegue un papel importante en la viabilidad de la TES. De hecho, puede apreciarse en la figura, donde las especies ácido-base están agrupadas dependiendo de su carga. De acuerdo con el mapa, los análogos con carga neutra que tienen dentro del anillo aromático al grupo $-NH_2$, al grupo $-OH$ en posición *orto* al carbono con el grupo $-OH$ original de la capsaicina, y finalmente, el análogo cuyo sustituyente corresponde al grupo $-OCH_3$, son aquellos de quienes se espera que donen un electrón a las especies de oxígeno reactivo (ROS). Por lo tanto, se espera que estos derivados de la capsaicina se comporten como removedores de ERO (especies reactivas de oxígeno), por lo menos vía TES. Es interesante mencionar también que estos análogos son ligeramente mejores en este propósito que la capsaicina por sí misma. La tendencia obtenida del FEDAM está relacionada con los valores obtenidos del potencial químico (μ , Tabla 4), lo cual es un resultado lógico, pues se espera que los electrones vayan de las regiones de mayor μ a las regiones con menor μ . Además, μ tiene una dependencia lineal con la IE (Figura 10).

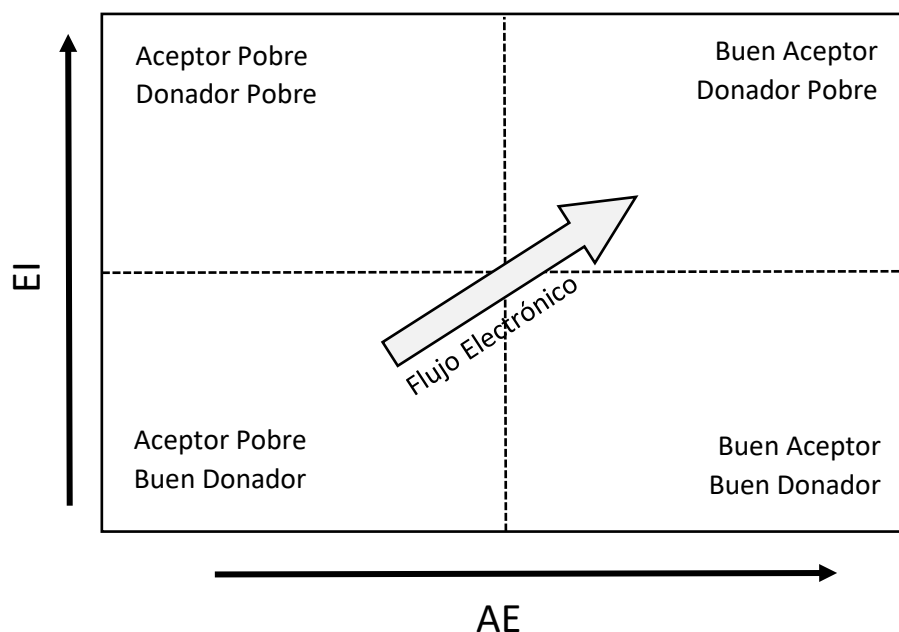


Figura 8. representación esquemática del mapa completo donador-aceptor de electrones (FEDAM) (Reina, M. et. al. Melatonin Res. 2018, Vol 1 (1) 27-58)

Las especies ácido-base que son las más prometedoras para desactivar radicales libres a través de TES, actuando como donadores de electrones y basados en sus valores de ω , son las especies neutras (Figura 11), pues la mayoría de los análogos tienen los valores menores de ω ; y como se mencionó anteriormente, en una reacción química que involucre dos reactivos, se esperaría que aquel con el menor valor de ω actúe como la especie nucleófila^{41, 42}. Las especies neutras analizadas en la Figura 6 tienen valores de ω menores que todos los radicales libres sometidos a la investigación, por lo tanto, se espera que sean eficientes en la recolección de radicales libres vía transferencia de electrones.

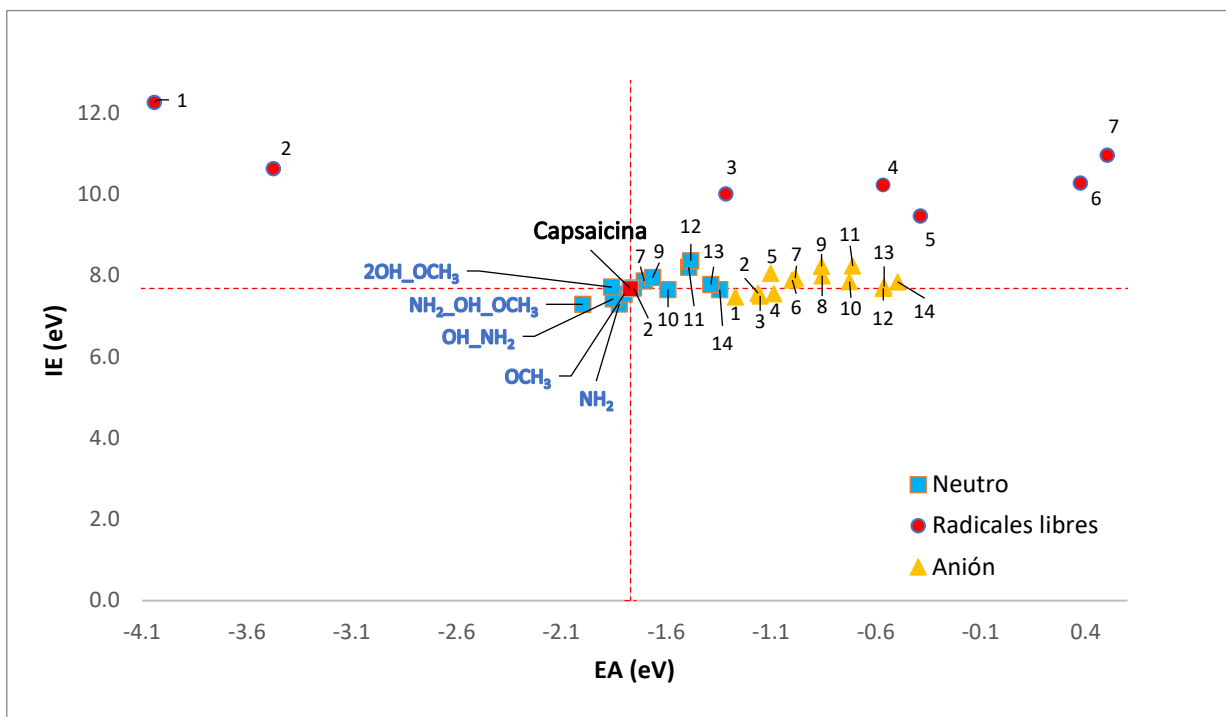


Figura 9. FEDAM correspondiente a la capsaicina y sus derivados

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
●	H ₂ O/•OH	CH ₃ OH/ •OCH ₃	H ₃ CC(O ₂) OH/H ₃ CC (O ₂)O•	H ₂ O ₂ /• OOH	CH ₃ OO H/•OO CH ₃	CCl ₃ OOH/ •OCCl ₃	CCl ₃ OH/•O CCl ₃	---	---	---	---	---	---	---
▲	Capsaicina	2OH	NH ₂ _OH _OCH ₃	-OCH ₃	-NH ₂	OH_NH ₂	OH_OCH ₃	2OH_ OCH ₃	-F	SH_OH _OCH ₃	F_OH_ OCH ₃	-SH	OH_SH	OH_F
□	---	OH_2 OCH ₃	---	---	---	---	2OH	---	F_OH_ OCH ₃	SH_OH _OCH ₃	-F	OH_F	OH_SH	-SH

Tabla 5. Relación de análogos de capsaicina con respecto al FEDAM de la Figura 9

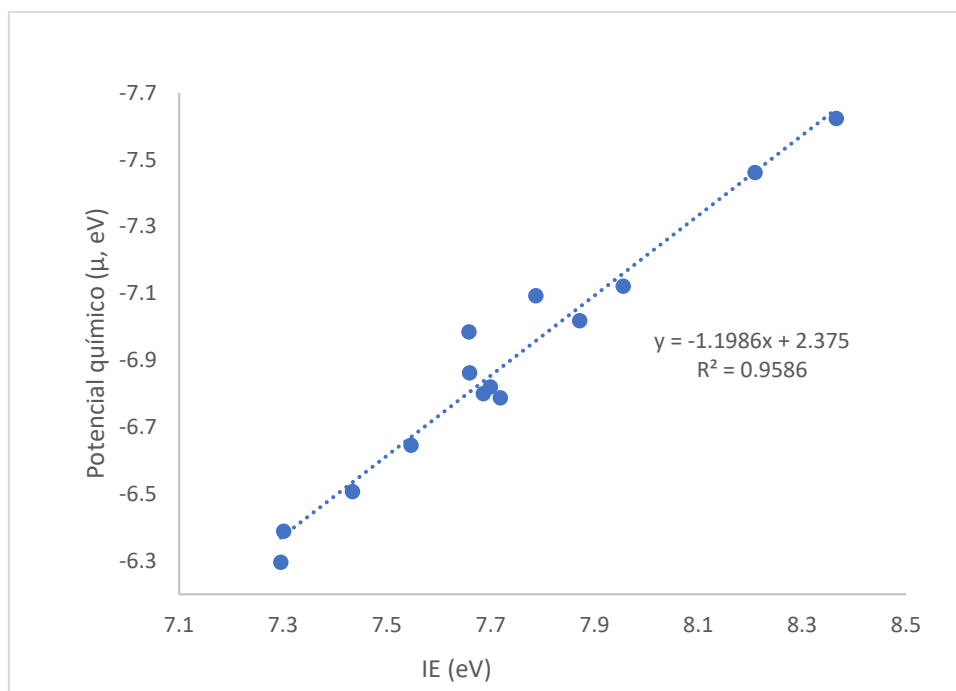


Figura 10. Dependencia lineal del potencial químico con la energía de ionización para derivados de capsaicina

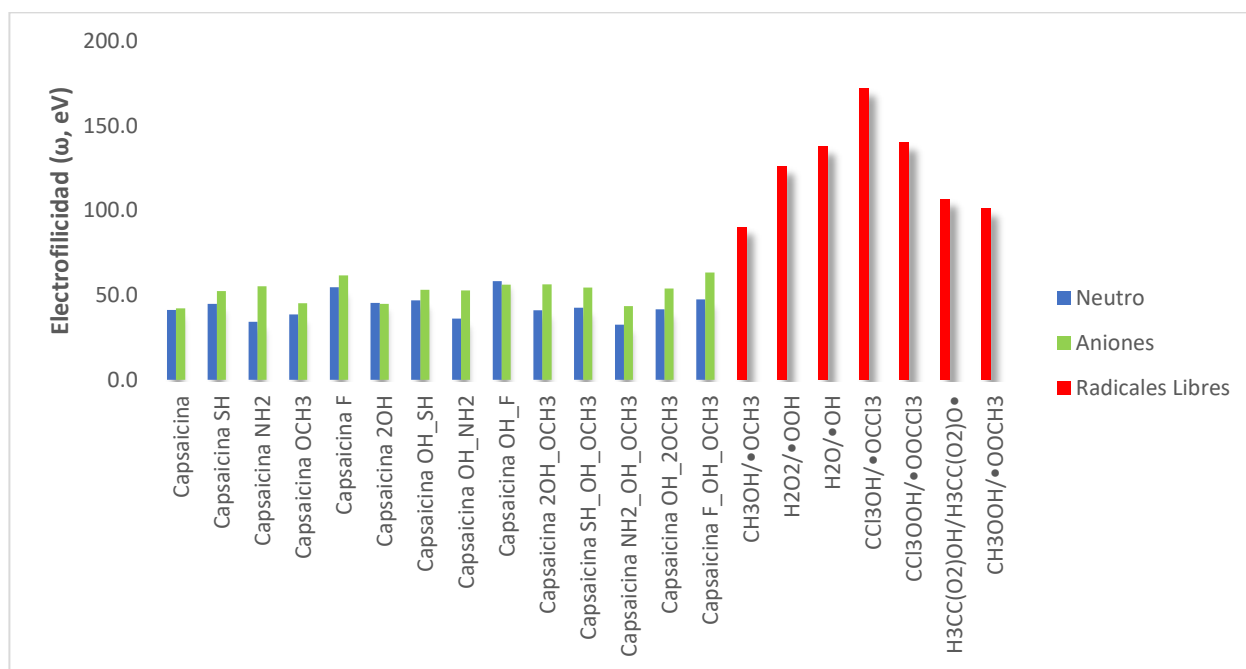


Figura 11. Electrofilicidad de las especies ácido-base para la capsaicina y sus derivados.

Otra herramienta gráfica utilizada dentro de la investigación para contabilizar simultáneamente la semejanza como donador de electrones (reacciones TES) y donadores de H (Reacciones formales de TAH) es el mapa de habilidad de donación de electrones e hidrogeno para antioxidantes (*electron and hydrogen donating ability map for antioxidants, eH-DAMA*), que simultáneamente incluye el poder electrodonador (ω^- , que cuantifica la

viabilidad de la TES) y las energías de disociación de enlace (BDE, que cuantifica la viabilidad de TAH)⁵⁵. La figura 12 muestra el mapa para la capsaicina y sus derivados, así como el par $H_2O_2/O_2^{\bullet-}$ tomado como el potencial oxidante. Este último fue seleccionado debido a que es más fácil de recoger su electrón a diferencia de alguna otra especie reactiva de oxígeno.

Se espera que las especies químicas con valores menores de ω^- sean eficientes para recoger radicales libres actuando como donadores de electrones por vía TES, mientras que las especies con menor energía de disociación de enlace se espera que sean efectivas para recoger radicales libres actuando como donadores de H vía reacciones formales de TAH. Por consiguiente, las especies localizadas a la izquierda de la capsaicina (especie de referencia) sean las que actúen de ambas formas, es decir, que son interesantes como antioxidantes.

Las especies que mostraron dicho comportamiento ligeramente mejor que la capsaicina, coinciden en cuatro análogos, basando la información en los datos mostrados en la Figura 7, los cuales corresponden a los derivados de capsaicina con un grupo $-NH_2$ dentro del anillo aromático de la misma, así como dos especies que cuentan con un grupo $-SH$ como sustituyente.

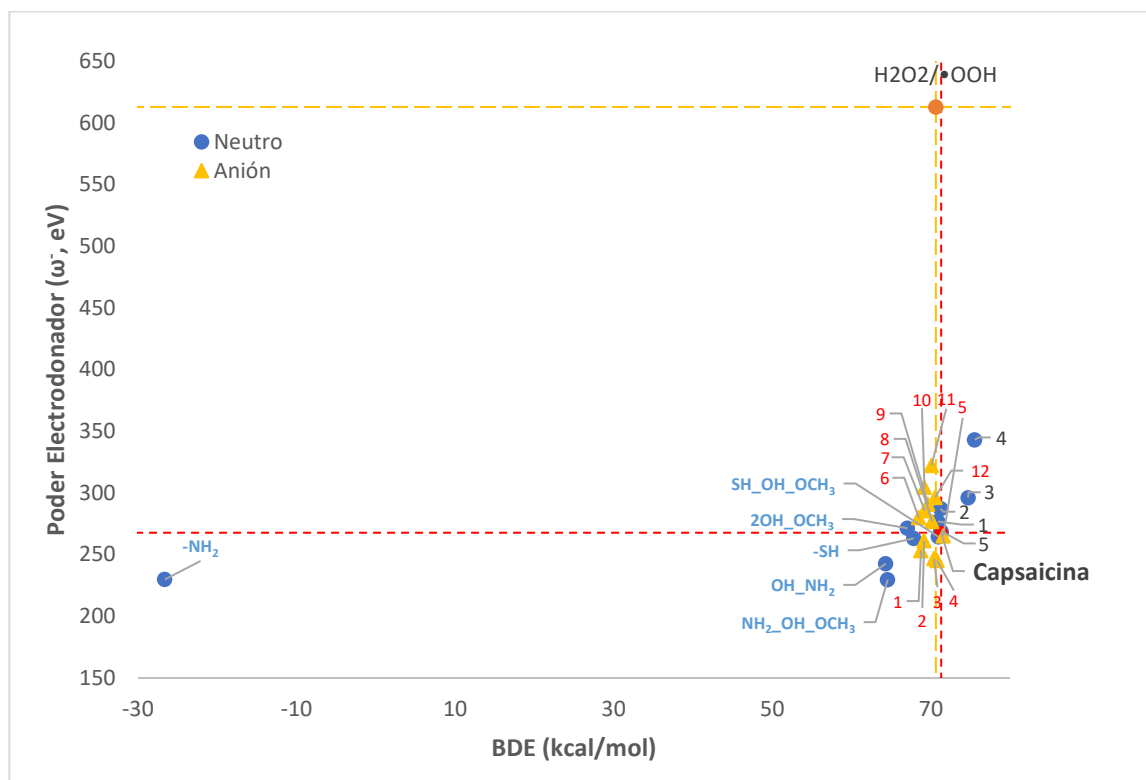


Figura 12. Mapa de Habilidad de Donación de Electrones e Hidrógeno para Antioxidantes (eH-DAMA), incluyendo a las especies ácido-base de la capsaicina y sus derivados, y el par $H_2O_2/O_2^{\bullet-}$

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
⚠	2OH	-SH	NH ₂ _OH _OCH ₃	Capsaicina	OH_SH	SH_OH _OCH ₃	OH_NH ₂	OH_F	OH_2 OCH ₃	-NH ₂	F_OH_ OCH ₃	2OH_ OCH ₃
●	OH_SH	2OH	F_OH_ OCH ₃	OH_F	OH_2OCH ₃	---	---	---	---	---	---	---

Tabla 7. Relación de análogos de capsaicina con respecto al eH-DAMA de la Figura 12

7.5 DOCKING MOLECULAR

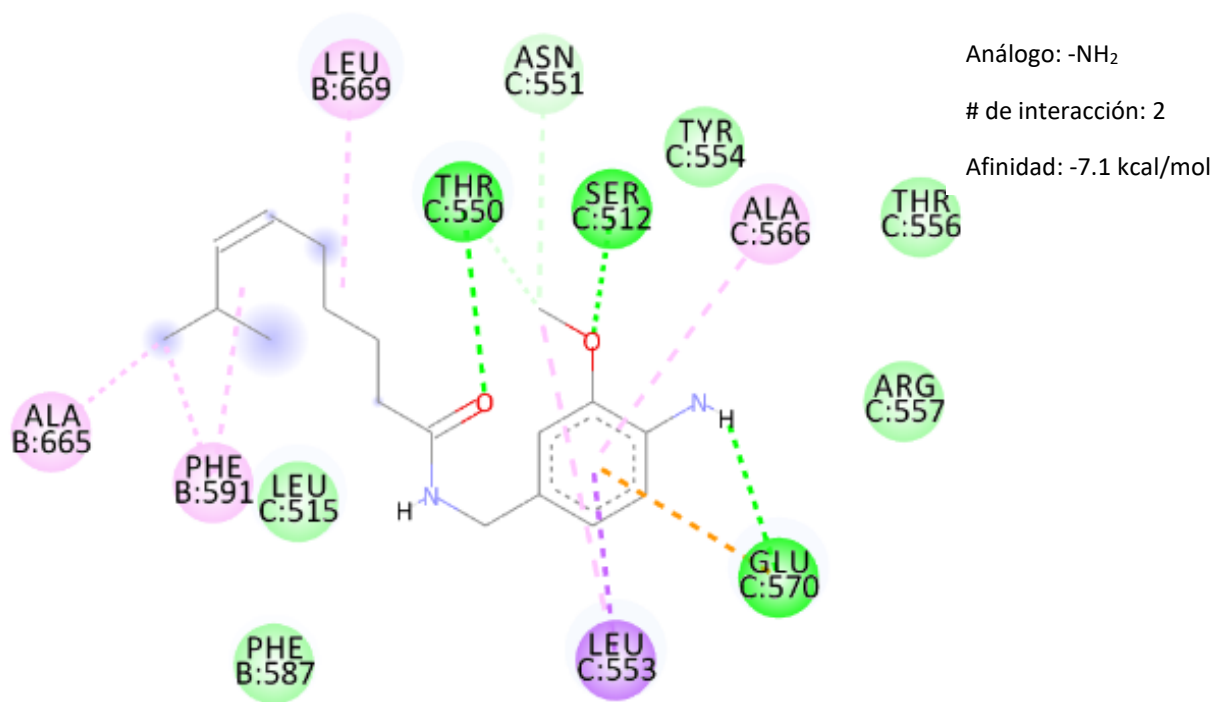
El docking molecular se realizó entre el TRPV1 y los ligandos, (capsaicina y análogos propuestos). El receptor utilizado para el estudio se tomó a partir de la representación tridimensional obtenida a partir de microscopía electrónica del Protein Data Bank; ID: 5is0, el cual se modificó acorde a las necesidades del estudio, pues al ser un tetrámero, sólo se necesitó adaptar la zona en donde se encuentra la cavidad responsable de que se lleve a cabo la interacción y el anclaje con los residuos Y511 y T550^{51, 56}. Tomando como ligando de referencia a la capsaicina, se obtuvieron las energías mínimas de enlace para cada uno de los acoplamientos, las cuales se muestran en la Tabla 7, dentro de los análisis realizados, es evidente que las energías de enlace entre el ligando de referencia (capsaicina) y los análogos propuestos varían muy poco (~0.67 kcal/mol).

molécula \ interacción	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Capsaicina	-7.6	-7.4	-6.8	-6.8	-6.3	-6.3	-6.3	-6.3	-6.2
-SH	-7.2	-7.1	-6.7	-6.3	-6.2	-6.0	-6.0	-6.0	-5.8
-NH₂	-7.5	-7.1	-7.1	-7.0	-6.6	-6.5	-6.3	-6.2	-6.1
-OCH₃	-7.5	-6.6	-6.5	-6.1	-6.1	-5.9	-5.9	-5.8	-5.8
-F	-7.3	-7.0	-6.8	-6.7	-6.5	-6.4	-6.4	-6.3	-6.3
2OH	-7.5	-7.0	-6.9	-6.9	-6.8	-6.4	-6.4	-6.2	-6.1
OH_SH	-7.1	-7.0	-6.9	-6.6	-6.1	-6.1	-5.9	-5.9	-5.7
OH_NH₂	-7.4	-7.3	-7.1	-6.6	-6.5	-6.2	-6.1	-6.1	-5.9
OH_F	-7.4	-7.4	-6.8	-6.7	-6.6	-6.4	-6.2	-6.1	-6.1

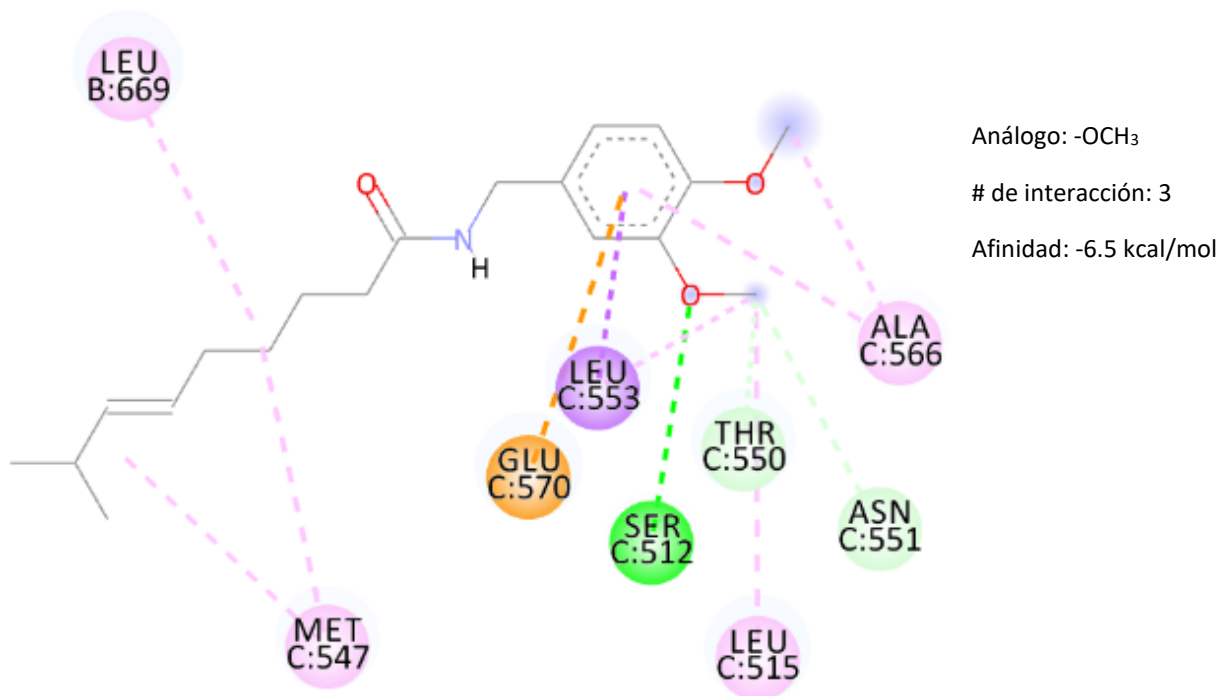
2OH_OCH₃	-7.3	-7.2	-7.1	-6.4	-6.4	-6.3	-6.2	-6.2	-6.2
SH_OH_OCH₃	-7.0	-6.5	-6.4	-6.4	-6.4	-6.2	-6.2	-5.9	-5.8
NH₂_OH_OCH₃	-7.2	-7.0	-7.0	-6.7	-6.5	-6.3	-6.0	-5.9	-5.8
OH_2OCH₃	-7.5	-7.2	-6.6	-6.6	-6.5	-6.4	-6.4	-6.2	-6.1
F_OH_OCH₃	-7.3	-7.2	-7.2	-7.0	-6.6	-6.3	-6.3	-6.2	-6.1

Tabla 7. Energías mínimas de enlace correspondientes al docking molecular entre capsaicina y sus análogos propuestos, en kcal/mol

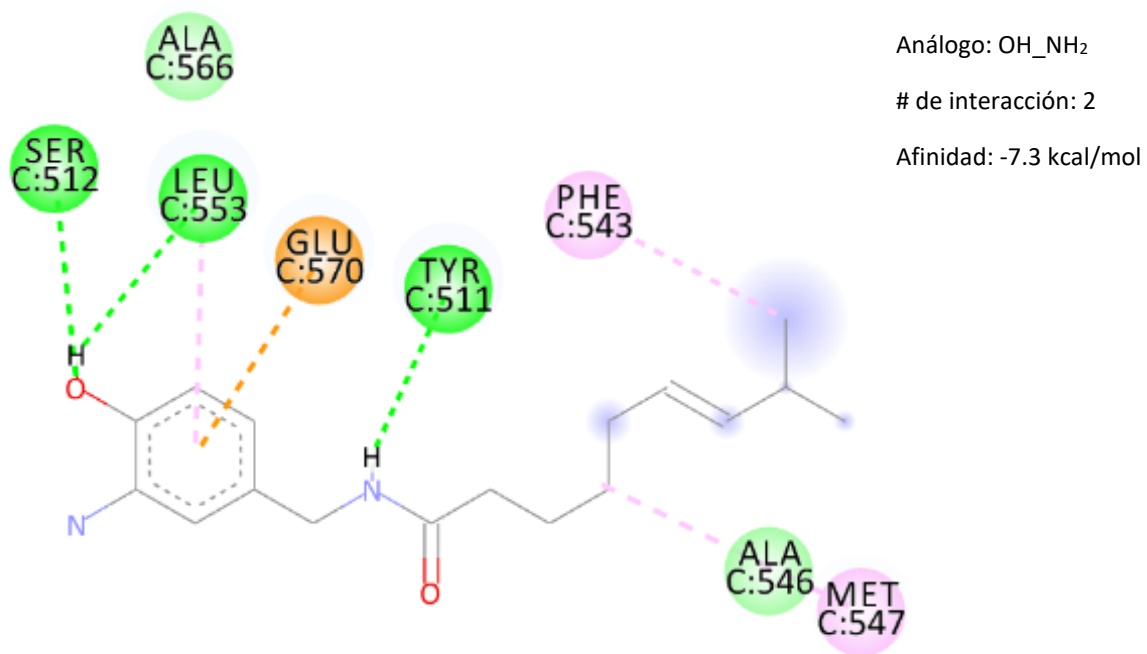
Así mismo, en la figura 13 se muestran las interacciones entre los ligandos con mejor actividad antioxidante y el receptor donde se llevó a cabo el anclaje con los residuos esperados, donde se pudo corroborar la interacción existente con los residuos TYR511 y THR550 con energías mínimas de enlace de alrededor de -7.0 kcal/mol para los módulos mostrados, teniendo una diferencia de -0.6 kcal/mol en comparación con la capsaicina, la incertidumbre reportada por Trott et. al. en su investigación es de 2.85 kcal/mol, por lo tanto, los valores obtenidos se encuentran dentro de lo esperado⁴⁰, así mismo, una de las interacciones que reveló el estudio al llevarlo a cabo con AutoDock VINA fue la interacción con el residuo SER512, el cual al igual que el residuo TYR511 y THR550, también forma puente de hidrógeno en los sitios en donde se esperaba con anterioridad, es decir, con los sustituyentes propuestos para el estudio, o bien, en el grupo amida de la capsaicina.



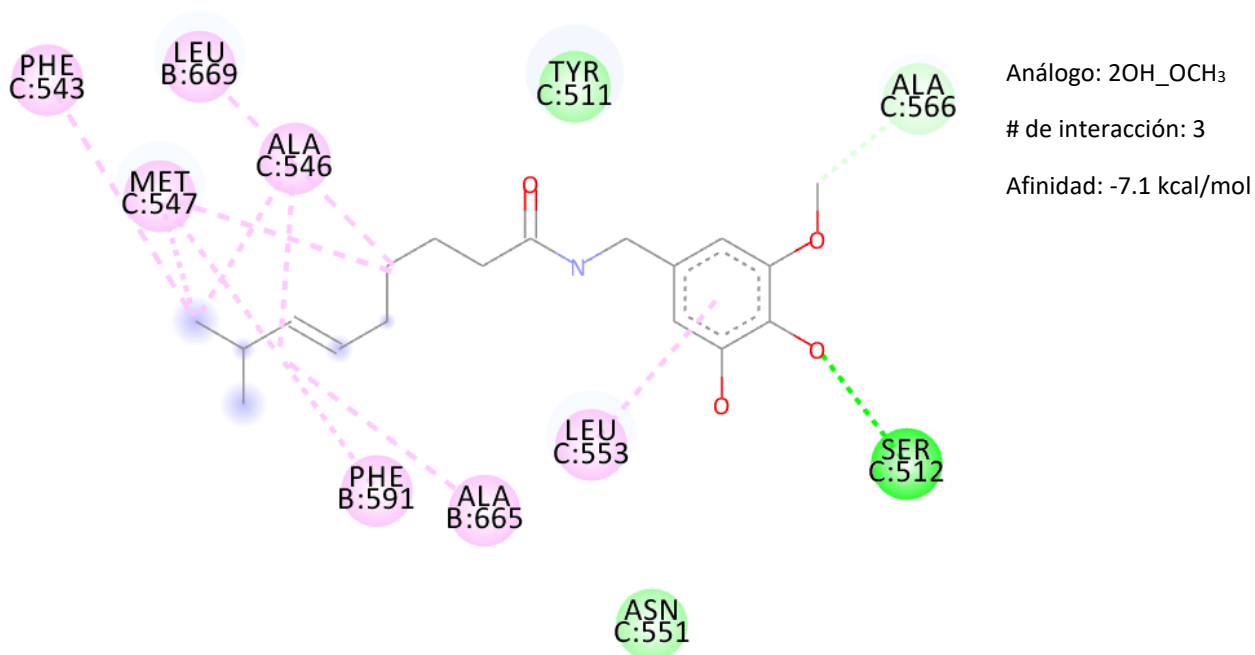
A)



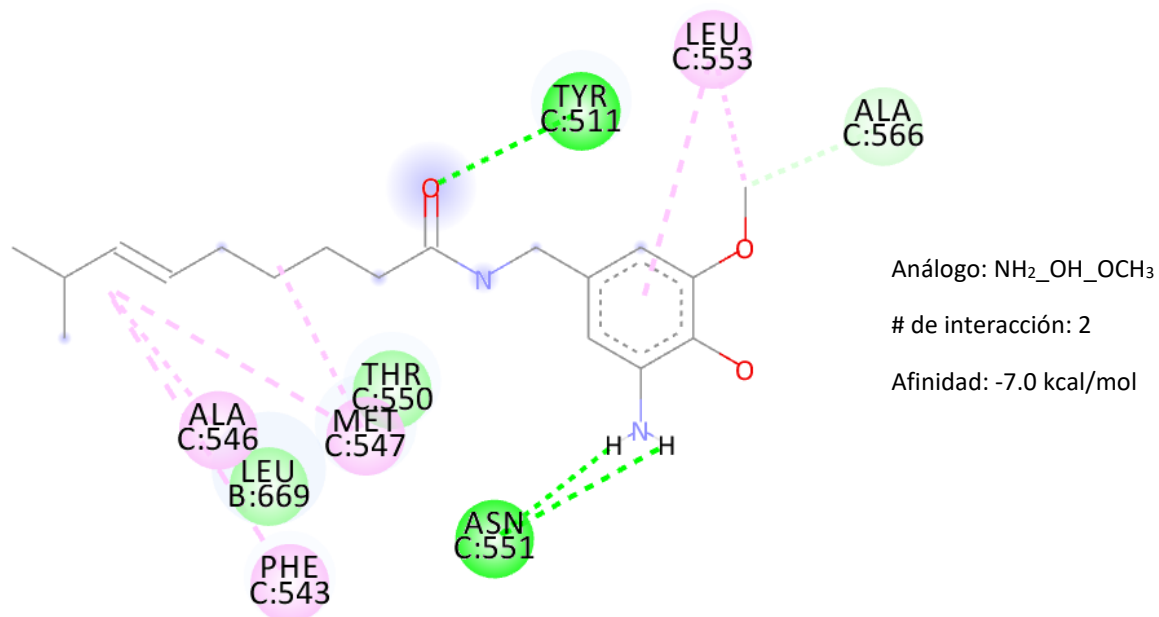
B)



C)



D)



E)

Figura 13. Esquemas correspondientes a los docking moleculares de los análogos de capsaicina, el número de interacción y las energías mínimas de enlace: **A)** NH₂, **B)** OCH₃, **C)** OH_NH₂, **D)** 2OH_OCH₃, **E)** NH₂_OH_OCH₃, donde pueden apreciarse las interacciones de puente de hidrógeno (verde) con los residuos T550, S512, Y511, E570, L553, N551, los enlaces representados en magenta corresponden a enlaces de tipo alquil, y en color naranja el enlace de tipo π -anión.

8 CONCLUSIONES

Se llevó a cabo una búsqueda sistemática de derivados de capsaicina, tomando en cuenta las propiedades antioxidantes conocidas dentro del anillo aromático de la misma (o grupo vanillil), utilizando un protocolo computacional existente. Se propusieron 13 análogos y se introdujo a la capsaicina como molécula referente dentro del estudio. A los análogos se les añadió o sustituyó dentro del anillo aromático con los grupos funcionales (-OH, -NH₂, -SH, -OCH₃, -F).

Para este conjunto de análogos, se realizaron análisis computacionales enfocados en calcular de forma cualitativa la actividad antioxidante de los mismos (es decir, la actividad antioxidante primaria), seguidos del cálculo del *pKa*, con el fin de utilizar dichos análogos para realizar dockings moleculares con el TRPV1. De acuerdo con los resultados obtenidos, los tres análogos con el grupo sustituyente -NH₂, 2OH_OCH₃ y el análogo OCH₃, mostraron -cualitativamente- ser mejores antioxidantes que la capsaicina por sí misma, y también mostraron buena interacción con el receptor, y valores mínimos de energía de enlace de alrededor de -0.7 kcal/mol, en comparación con la capsaicina, además de “anclarse” con un residuo más, el cual corresponde a la Serina512. Esperamos que los resultados obtenidos dentro de la investigación motiven a realizar más investigaciones para estas moléculas, utilizando métodos teóricos más robustos que aproximen los resultados a lo esperado experimentalmente.

9 REFERENCIAS:

1. León G, Torrenegra M, Osorio M, Gil J. Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Plectranthus amboinicus* L. *Rev Cub Farmacia*. 2015;49(4):708-718.
2. Granados C., Yáñez Y, Santafé G. Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Calycolpus moritzianus* y *Minthostachys mollis* de Norte de Santander. *Bistua. Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*. 2012;10(1):12-23.
3. Rojano BA, Gaviria CA, Saez JA. Antioxidant activity determination in a lipidic peroxidation model of butter inhibited by isoespintanol. *VITAE*. 2008;15(2):212-18.

4. Palomo I, Gutiérrez M, Astudillo L, Rivera C, Torres C, Guzmán L, Moore-Carrasco R, Carrasco G, Alarcón M. Efecto antioxidante de frutas y hortalizas de la zona central de Chile. *Rev Chil Nutr.* 2009;36(2):152-58.
5. Wahyuni, Y.; Ballester, A. (2013). Secondary Metabolites of *Capsicum* Species and Their Importance in the Human Diet. *Journal of Natural Products*. DOI: 10.1021/np300898z
6. Lee, M; Cho, J. (2015). Bioconversion of Capsaicin by *Aspergillus oryzae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b01730
7. Choi, A.; Kim, C. (2013). Pharmacokinetic Characteristics of Capsaicin-Loaded Nanoemulsions Fabricated with Alginate and Chitosan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. DOI: 10.1021/jf3052708
8. Lu, H.; Chen, Y. (2010). Antitumor Activity of Capsaicin on Human Colon Cancer Cells in Vitro and Colo 205 Tumor Xenografts in Vivo. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. DOI: 10.1021/jf103335w
9. Zhao, J.; Gover, T. (2006). Caged Vanilloid Ligands for Activation of TRPV1 Receptors by 1- and 2-Photon Excitation. Medical Biotechnology Center, University of Maryland Biotechnology Institute, Baltimore, Maryland. DOI: 10.1021/bi052082f CCC
10. Everaerts W, Gees M, Alpizar YA, Farre R, Leten C, Apetrei A, et al. (February 2011). "The capsaicin receptor TRPV1 is a crucial mediator of the noxious effects of mustard oil". *Current Biology*. **21** (4): 316–21. DOI: 10.1016/j.cub.2011.01.031
11. Cui M, Honore P, Zhong C, Gauvin D, Mikusa J, Hernandez G, et al. (September 2006). "TRPV1 receptors in the CNS play a key role in broad-spectrum analgesia of TRPV1 antagonists". *The Journal of Neuroscience*. **26** (37): 9385–93. doi:10.1523/JNEUROSCI.1246-06.2006.
12. Huang SM, Bisogno T, Trevisani M, Al-Hayani A, De Petrocellis L, Fezza F, et al. (June 2002). "An endogenous capsaicin-like substance with high potency at recombinant and native vanilloid VR1 receptors". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **99** (12): 8400–5. Bibcode:2002PNAS...99.8400H. doi:10.1073/pnas.122196999.
13. Geerlings, P.; De Proft, F.; Langenaeker, W. Conceptual Density Functional Theory. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1793-1873.

14. Zhao, Y.; Truhlar, D. G. Applications and validations of the Minnesota density functionals. *Chemical Physics Letters* **2011**, *502*, 1-13.
15. L. Senthilkumar & P. Kolandaivel (2005) Study of effective hardness and condensed Fukui functions using AIM, ab initio, and DFT methods, *Molecular Physics: An International Journal at the Interface Between Chemistry and Physics*, *103*:4, 547-556.
16. Todeschini, R.; Consonni, V. Molecular Descriptors for Chemoinformatics. *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*. **2009**, 617-618.
17. Zhao, Y.; Schultz, N. E.; Truhlar, D. G. Design of density functionals by combining the method of constraint satisfaction with parametrization for thermochemistry, thermochemical kinetics, and noncovalent interactions. *Journal of Chemical Theory and Computation*. **2006**, *364*, 1-19.
18. Thom H. Dunning Jr., "Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. I. The atoms boron through neon and hydrogen", *The Journal of Chemical Physics* *90*, 1007-1023 (1989) <https://doi.org/10.1063/1.456153>
19. Salmaso V & Moro S, (2018). Bridging Molecular Docking to Molecular Dynamics in Exploring Ligand-Protein Recognition Process: An Overview. *Front. Pharmacol.* *9*:923. Doi: 10.3389/fphar.2018.00923
20. Chaiyasit W, Elias RJ, McClements DJ, & Decker EA (2007) Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* *47* (3): 299-317.
21. Galano A & Alvarez-Idaboy JR (2018) Computational strategies for predicting free radical scavengers' protection against oxidative stress: Where are we and what might follow? *Int. J. Quantum Chem.* *118* (13): art. e25665.
22. E. Aprà, et al. (2020) "NWChem: Past, present, and future", *The Journal of Chemical Physics* *152*, 184102. DOI: 10.1063/5.0004997
23. Zhao Y, Schultz NE, & Truhlar DG (2006) Design of density functionals by combining the method of constraint satisfaction with parametrization for thermochemistry, thermochemical kinetics, and noncovalent interactions. *Journal of Chemical Theory and Computation* *2* (2):364-382.
24. Zhao Y & Truhlar DG (2008) How well can new-generation density functionals describe the energetics of bond-dissociation reactions producing radicals? *J. Phys. Chem. A* *112* (6): 1095-1099.

25. Galano A & Alvarez-Idaboy JR (2013) A computational methodology for accurate predictions of rate constants in solution: Application to the assessment of primary antioxidant activity. *J. Comput. Chem.* 34 (28): 2430-2445.
26. Pérez-González A, et al. (2017) Estimation of empirically fitted parameters for calculating pK_a values of thiols in a fast and reliable way. *Theor. Chem. Acc.* 137 (1): art. 5 (10 pages).
27. Galano A, et al. (2016) Empirically Fitted Parameters for Calculating pK_a Values with Small Deviations from Experiments Using a Simple Computational Strategy. *J. Chem. Inf. Model.* 56 (9): 1714-1724.
28. Galano A, Francisco Marquez M, & Pérez-González A (2014) Ellagic acid: An unusually versatile protector against oxidative stress. *Chem. Res. Toxicol.* 27 (5): 904-918.
29. Marino T, Galano A, & Russo N (2014) Radical scavenging ability of gallic acid toward OH and OOH radicals. Reaction mechanism and rate constants from the density functional theory. *J. Phys. Chem. B* 118 (35):10380-10389.
30. Galano A, Raul Alvarez-Idaboy J, & Francisco-Márquez M (2010) Mechanism and branching ratios of hydroxy ethers + ·OH gas phase reactions: Relevance of H bond interactions. *J. Phys. Chem. A* 114 (28):7525-7536.
31. León-Carmona JR, Martínez A, & Galano A (2014) New free radicals to measure antiradical capacity: A theoretical study. *J. Phys. Chem. B* 118 (34): 10092-10100.
32. Pérez-González A, Galano A, & Alvarez-Idaboy JR (2014) Dihydroxybenzoic acids as free radical scavengers: Mechanisms, kinetics, and trends in activity. *New J. Chem.* 38 (6): 2639-2652.
33. Pérez-González A & Galano A (2013) On the hydroperoxyl radical scavenging activity of two Edaravone derivatives: Mechanism and kinetics. *J. Phys. Org. Chem.* 26 (3): 261-268.
34. Pérez-González A & Galano A (2012) On the ·OH and ·OOH scavenging activity of 3-methyl-1-pyridin-2-yl-5-pyrazolone: Comparisons with its parent compound, edaravone. *Int. J. Quantum Chem* 112 (21): 3441-3448.
35. Álvarez-Diduk R, Ramírez-Silva MT, Galano A, & Merkoçi A (2013) Deprotonation mechanism and acidity constants in aqueous solution of flavonols: A combined experimental and theoretical study. *J. Phys. Chem. B* 117 (41): 12347-12359.

36. Medina ME, Galano A, & Alvarez-Idaboy JR (2014) Theoretical study on the peroxy radicals scavenging activity of esculetin and its regeneration in aqueous solution. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 16 (3): 1197-1207.
37. Rebollar-Zepeda AM & Galano A (2016) Quantum mechanical based approaches for predicting pKa values of carboxylic acids: evaluating the performance of different strategies. *RSC Adv.* 6 (113):112057-112064.
38. Molecular Descriptors <https://chem.libretexts.org/@go/page/192006> (consultado: 14-junio-2021).
39. Murray J & Politzer P (2011). *The Electrostatic Potential: An Overview*. John Wiley & Sons, Ltd. *WIREs Comput Mol Sci* 2011 1 153–163 DOI: 10.1002/wcms.19
40. UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. *J Comput Chem.* 2004 Oct;25(13):1605-12.
41. Parr RG, Szentpály Lv, & Liu S (1999) Electrophilicity Index. *J. Am. Chem. Soc.* 121 (9): 1922-1924.
42. Chattaraj PK, Maiti B, & Sarkar U (2003) Philicity: A Unified Treatment of Chemical Reactivity and Selectivity. *J Phys. Chem. A* 107 (25):4973-4975.
43. Gázquez JL, Cedillo A, & Vela A (2007) Electrodonating and Electroaccepting Powers. *J. Phys. Chem. A* 111 (10): 1966-1970.
44. Gázquez JL (2008) Perspectives on the density functional theory of chemical reactivity. *J. Mex. Chem. Soc.* 52 (1): 3-10.
45. Gázquez J.; Méndez F. "The hard and soft acids and bases principle: an atoms in molecules viewpoint". *J. Phys. Chem* 1994, 98, 4591-4593.
46. Pérez-González A, et al. (2017) Estimation of empirically fitted parameters for calculating pK a values of thiols in a fast and reliable way. *Theor. Chem. Acc.* 137 (1): art. 5 (10 pages).
47. Galano A, et al. (2016) Empirically Fitted Parameters for Calculating pKa Values with Small Deviations from Experiments Using a Simple Computational Strategy. *J. Chem. Inf. Model.* 56 (9): 1714-1724.

48. Salmaso V & Moro S, (2018) "Bridging Molecular Docking to Molecular Dynamics in Exploring Ligand-Protein Recognition Process: An Overview". *Front. Pharmacol.* 9:923. DOI: 10.3389/fphar.2018.00923
49. Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S. and Olson, A. J. (2009) Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *J. Computational Chemistry* 2009, 16: 2785-91.
50. Trott, O & Olson A, (2009) "AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading". *J. Comput. Chem* 31: 455-461, 2010. DOI: 10.1002/jcc.21334
51. Darré L & Domene C, (2015) "Binding of Capsaicin to the TRPV1 Ion Channel". *Mol. Pharmaceutics*, 12, 4454-4465. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.5b00641
52. Dassault Systèmes BIOVIA, Discovery Studio Modeling Environment, 2019, San Diego: Dassault Systèmes, 2019.
53. Martínez A, Vargas R, & Galano A (2009). "What is important to prevent oxidative stress? A theoretical study on electron-transfer reactions between carotenoids and free radicals". *J. Phys. Chem. B* 113 (35):12113-12120.
54. Martínez A, Rodríguez-Girones MA, Barbosa A, & Costas M (2008) "Donator acceptor map for carotenoids, melatonin and vitamins". *J. Phys. Chem. A* 112 (38):9037-9042.
55. Reina M, et. al. (2018) "A computer-assisted systematic search for melatonin derivatives with high potential as antioxidants". *Melatonin Res. Vol 1 (1)* 27-58. DOI: 10.32794/mr11250003
56. Gao, Y., Cao, E., Julius, D. et al. TRPV1 structures in nanodiscs reveal mechanisms of ligand and lipid action. *Nature* 534, 347–351 (2016). <https://doi.org/10.1038/nature17964>
57. Marenich AV, Cramer CJ, & Truhlar DG (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. *J. Phys. Chem. B* 113 (18):6378-6396.
58. McLatchie, L.M.; Bevan, S. The effects of pH on the interaction between capsaicin and the vanilloid receptor in rat dorsal root ganglia neurons. *Br. J. Pharmacol.* **2001**, 132, 899–908.