



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**Estudios DFT de sistemas modelo de
complejos $\text{Fe}^{2+}/3+$ - $\text{A}\beta$ y propiedades
antiagregantes de polifenoles y carotenoides
en la enfermedad de Alzheimer**

Adrian Leonardo Orjuela Rocha

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Química
Bogotá, Colombia
2024

Estudios DFT de sistemas modelo de complejos $\text{Fe}^{2+}/3+$ - $\text{A}\beta$ y propiedades antiagregantes de polifenoles y carotenoides en la enfermedad de Alzheimer

Adrian Leonardo Orjuela Rocha

Tesis de grado presentada como requisito parcial para optar al título de:
Doctor en Ciencias - Química

Director:

Jorge Isaac Alí Torres, Ph.D.

Codirector:

Francisco Núñez Zarur, Ph.D

Universidad de Medellín

Línea de Investigación:

Química Computacional

Grupo de Investigación:

Química Cuántica y Computacional

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Química
Bogotá, Colombia
2024

Agradecimientos

Primero, quiero expresar mi inmensa gratitud a mis padres Luis Angel Orjuela Jimenez y Maria Piedad de las Mercedes Rocha Delgadillo, cuyo apoyo incondicional y constante ha sido el pilar de mis logros, tanto en lo personal como en lo educativo. Su amor y soporte han sido cruciales para superar obstáculos y alcanzar mis metas.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a los profesores Jorge Alí-Torres y Francisco Núñez-Zarur, mi Director y Codirector de tesis, por su invaluable orientación, apoyo y sabiduría a lo largo de mi proyecto de investigación. La profunda experiencia y conocimiento que ambos poseen en el campo han sido cruciales no solo para enriquecer mi trabajo, sino también para mi desarrollo académico y profesional. La combinación de su mentoría, paciencia y enfoque crítico ha sido esencial para la culminación exitosa de mi tesis.

Estoy particularmente agradecido al Profesor Jorge por acogerme en el grupo de investigación, gracias a una feliz coincidencia orquestada por Natalia López. Su confianza y apoyo a lo largo de los años, así como su dirección clara y visión estratégica, han guiado mi proyecto desde el principio. Su liderazgo y consejo experto han sido invaluable en cada etapa de mi investigación.

De igual manera, mi profundo agradecimiento al Profesor Francisco por su dedicación, meticulosa atención al detalle, infinita paciencia y por desafiarme a alcanzar mi máximo potencial. Su habilidad para proporcionar una perspectiva diferente y complementaria ha enriquecido enormemente tanto mi trabajo como mi comprensión del tema.

También agradezco a los profesores Andrés Reyes y Johan Galindo del grupo de Química Cuántica y Computacional, y a mis colegas de laboratorio, especialmente a Jorge Puello, Nicolás Puentes, y Diego Chaparro. Todos han pasado de ser compañeros a amigos y aliados en este viaje. Las experiencias compartidas y el trabajo en equipo han sido invaluable.

Agradezco además a la profesora Mariona Sodupe y al profesor Luis Rodrigues por permitirme estar de estancia virtual en la Universidad Autónoma de Barcelona y por brindarme recursos computacionales para culminar esta tesis. Igualmente, al INDICASAT en Panamá, a la doctora Johant Lakey y al Dr. Rao por acogerme durante 2 estancias cortas, las cuales contribuyeron enormemente a mi formación como doctor

A todos los docentes que han contribuido a mi formación universitaria, les agradezco por

impartir el conocimiento que me ha permitido llegar hasta aquí. Ustedes han dado vida y significado a las palabras y conceptos que aprendí.

Un agradecimiento especial a mis compañeros, destacando a Christian Becerra y Lady Johanna, entre otros. Su compañía, apoyo y las memorables experiencias compartidas han enriquecido mi vida universitaria.

En este momento especial de logro y reflexión, no puedo dejar de expresar mi más profundo agradecimiento a la persona que ha estado a mi lado en cada paso de este viaje: mi novia Heidy Dayanna Castro Perez . Su amor, apoyo y comprensión han sido el faro que me ha guiado a través de los desafíos y momentos de duda. Su paciencia inagotable y su habilidad para escuchar y ofrecer palabras de aliento en los momentos más necesarios, han sido una fuente de fortaleza y motivación incalculable.

Su presencia ha sido mucho más que un apoyo emocional; ha sido una colaboradora constante, ofreciendo perspectivas valiosas y contribuyendo a mi equilibrio y bienestar. Sus sacrificios y la capacidad de lidiar con las exigencias que conlleva el acompañar a alguien en su trayectoria doctoral, merecen mi más profunda gratitud y reconocimiento.

Finalmente, mi reconocimiento a la Universidad Nacional de Colombia por sus exigencias y oportunidades, incluyendo la financiación de mis estudios. La labor y gestión de cada uno de los directivos han sido clave para proporcionar un entorno de aprendizaje óptimo.

Resumen

Estudios DFT de sistemas modelo de complejos $\text{Fe}^{2+/3+}$ - $\text{A}\beta$ y propiedades antiagregantes de polifenoles y carotenoides en la enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer, una compleja afección multifactorial, implica una serie de factores entre los cuales destaca la hipótesis del papel del hierro en los procesos de neurodegeneración y en la formación de placas amiloides. En este contexto, el presente estudio se enfocó en el uso de métodos computacionales para predecir el potencial estándar de reducción y la generación de especies reactivas mediante complejos $\text{Fe-A}\beta$. Los resultados incluyen el desarrollo de una metodología avanzada para el tratamiento de complejos de hierro, así como una propuesta sobre la reactividad y la formación de H_2O_2 . Además, se elaboró una metodología específica para investigar el potencial antiagregante de derivados de curcumina. Esta misma técnica se aplicó para evaluar la actividad antiagregante de varios carotenoides presentes en el mamey rojo, ampliando así el espectro de posibles intervenciones terapéuticas en la lucha contra la enfermedad de Alzheimer. Estos avances representan un paso significativo en la comprensión y tratamiento de esta enfermedad, abriendo nuevas vías de investigación para combatir sus efectos neurodegenerativos..

Alzheimer, DFT, Hierro, Dinámica Molecular, Acoplamiento molecular, Productos naturales.

Abstract

DFT studies of Fe^{2+/3+}-A β model systems and antiaggregation properties of polyphenols and carotenoids in Alzheimer's disease

Alzheimer's disease, a complex multifactorial condition, involves a series of factors among which the hypothesis of iron's role in neurodegeneration processes and amyloid plaque formation stands out. In this context, the present study focused on the use of computational methods to predict the standard reduction potential and the generation of reactive species through Fe-A β complexes. The results include the development of an advanced methodology for the treatment of iron complexes, as well as a proposal on reactivity and the formation of H₂O₂. Additionally, a specific methodology was developed to investigate the anti-aggregating potential of curcumin derivatives. This same technique was applied to evaluate the anti-aggregating activity of various carotenoids present in red mamey, thus expanding the spectrum of possible therapeutic interventions in the fight against Alzheimer's disease. These advances represent a significant step in the understanding and treatment of this disease, opening new avenues of research to combat its neurodegenerative effects.

Keywords: Alzheimer, DFT, Iron, Molecular Dynamics, Molecular Docking, Natural products

Declaración

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

Bogotá, D.C., 29.01.2024

Adrian Leonardo Orjuela Rocha

Contenido

Resumen	vii
Abstract	viii
Lista de figuras	x
Lista de tablas	x
Abreviaturas	xiii
1. Introducción	1
1.1. Enfermedad de Alzheimer	1
1.2. Cascada β -amiloide	2
1.3. Hipótesis de los iones metálicos	3
1.4. Estrés oxidativo	4
1.5. Papel del hierro en la EA	5
1.6. Productos naturales en la EA	5
1.7. Estudios computacionales	7
1.7.1. Estructura y reactividad de complejos Fe-A β	7
1.7.2. Acoplamiento molecular de compuestos antiagregantes y dinámica molecular	11
2. Justificación y Objetivos	12
2.1. Justificación	12
2.2. Objetivos	12
2.2.1. Objetivo general	12
2.2.2. Objetivos específicos	13
3. Métodos de la química computacional	14
3.1. Ecuación de Schrödinger independiente del tiempo	14
3.2. Método de Hartree-Fock (HF)	15
3.3. Funciones de base	17
3.3.1. Orbitales tipo Slater (STO)	17
3.3.2. Orbitales tipo gaussiano (GTO)	18
3.3.3. Funciones de polarización	19

3.3.4.	Funciones difusas	19
3.3.5.	Bases de Pople	19
3.3.6.	Funciones de Dunning	20
3.3.7.	Potenciales efectivos de core (ECP)	20
3.4.	Teoría del Funcional de la Densidad (DFT)	21
3.4.1.	Aproximación de la densidad local (LDA)	23
3.4.2.	Aproximación del gradiente generalizado (GGA)	24
3.4.3.	Funcionales meta-GGA	25
3.4.4.	Funcionales híbridos	26
3.4.5.	Funcionales doble híbridos	27
3.5.	Propiedades termodinámicas	28
3.5.1.	Energía vibracional de punto cero	29
3.5.2.	Función de partición	29
3.5.3.	Función de partición electrónica	31
3.5.4.	Función de partición translacional	32
3.5.5.	Función de partición rotacional	32
3.5.6.	Función de partición vibracional	33
3.6.	Superficies de energía potencial	33
3.7.	Métodos de solvatación	35
3.7.1.	Modelo de Continuo Polarizable (PCM)	35
3.7.2.	Modelo de solvatación basado en la densidad (SMD)	36
3.7.3.	Métodos de Solvatación Explícita	36
3.8.	Dinámica molecular clásica	36
3.8.1.	Campos de Fuerza	37
3.8.2.	Colectivos	39
3.9.	Acoplamiento molecular	40
3.9.1.	Algoritmos de acoplamiento molecular	41
3.9.2.	Función de energía o score de unión	42
4.	Potenciales de reducción de complejos Fe-Aβ	44
4.1.	Introducción	44
4.2.	Detalles computacionales	44
4.3.	Resultados	45
4.3.1.	Tercera energía de ionización del hierro	45
4.3.2.	Efecto del solvente	48
4.3.3.	Cálculos de SRP para complejos de hierro	50
4.3.4.	Aplicación a los sistemas Fe ^{2+/3+} -A β	56
4.4.	Conclusiones	57

5. Reactividad de complejos Fe-Aβ	58
5.1. Introducción	58
5.2. Detalles computacionales	59
5.3. Resultados	60
5.3.1. Interacción Fe(III)-A β y ascorbato	61
5.3.2. Coordinación del O ₂ y producción de peróxido de hidrógeno	64
5.4. Conclusiones	67
6. Productos naturales en la enfermedad de Alzheimer	69
6.1. Curcuminas	69
6.1.1. Metodología	70
6.1.2. Resultados	73
6.2. Carotenoides	81
6.2.1. Metodología	83
6.2.2. Resultados	85
6.3. Conclusiones	92
7. Conclusiones generales y perspectivas	94
8. Producción académica	95
Bibliografía	97
A. Anexos	112
A.1. Datos suplementarios del capítulo 4	112
B. Anexos	119
B.1. Datos suplementarios del capítulo 5	119
C. Anexos	122
C.1. Datos suplementarios del capítulo 6.1	122
C.2. Datos suplementarios del capítulo 6.2	122

Abreviaturas

Abreviatura	Término
$A\beta$	β -Amiloide
APP	Proteína precursora de amiloide
DM	Dinámica molecular clásica
DFT	Teoría del funcional de la densidad
EA	Enfermedad de Alzheimer
ECR	Exponential rank concensus
HD	Funcionales doble híbridos
HF	Hartree-Fock
MAE	Error medio absoluto.
MC	Monte Carlo
MM	Mecánica molecular
NFT	Ovillos neurofibrilares
PCM	Modelo de continuo polarizable
QM	Mecánica cuántica
RMSD	Desviación cuadrática media
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SMD	Modelo de solvatación basado en la densidad
SRP	Potenciales estándar de reducción

Lista de Tablas

4-1. Valores calculados de SRP (V) para el par $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+/2+}$ en diferentes niveles de teoría utilizando el modelo de solvatación SMD.	50
4-2. SRP calculado (V) para los complejos de hierro de la Figura 4-4 usando M06L/cc-pVDZ(Fe) - 6-31+G(d,p) (C,N,H,O,Cl,S) además del método de solvatación SMD y el método directo. Regresión lineal $\text{SRP}_{\text{calc}} = 1.0184 * \text{SRP}_{\text{exp}} - 0.4334$ Multiplicidades de espín del estado de mínima energía se encuentran en paréntesis para $\text{Fe}^{3+/2+}$ en ese orden. MAE (Error medio absoluto).	54
4-3. SRP calculado (V) para los complejos de hierro de usando M06L/cc-pVDZ(Fe) - 6-31+G(d,p) (C,N,H,O) con el método de solvatación SMD y el método isodésmico. Regresión lineal $\text{SRP}_{\text{calc}} = 0.8773 * \text{SRP}_{\text{exp}} - 0.0590$. Multiplicidades de espín del estado de mínima energía se encuentran en paréntesis para $\text{Fe}^{3+/2+}$ en ese orden. MAE (Error medio absoluto).	55
6-1. Energía de unión ponderada de las conformaciones obtenidas del $A\beta$ y los derivados de curcumina.	74
6-2. ECR de las conformaciones obtenidas del péptido $A\beta$ y los derivados de curcumina. N/A. Sin Actividad *[1].	76
6-3. Energía ponderada de unión y ECR de derivados de curcuminas y fibra $A\beta_{42}$ * [2].	80
6-4. Energía ponderada de la unión (kcal/mol) y ECR de la interacción de de los carotenoides y modelos del péptido $A\beta$	85
A-1. SRP de complejos de hierro reportados experimentalmente del conjunto de entrenamiento	114
A-2. Energía relativa y termoquímica del conjunto de entrenamiento	115
A-3. Energía relativa y termoquímica del conjunto de entrenamiento, continuación	116
A-4. Energía relativa y termoquímica de los modelos Fe- $A\beta$	117
A-5. RMSD (Å) de las geometrías optimizadas en los niveles M06 y M06L para complejos de hierro representativos frente a B3LYP como referencia en fase gaseosa. Los estados de espín ($2S + 1$) de los complejos de hierro se muestran entre paréntesis.	117

A-6. SRP (V) de complejos de hierro seleccionados utilizando geometrías optimizadas tanto en fase gaseosa como en disolución. Para esto, empleamos el modelo de solvente SMD y los métodos directo e isodésmico, al nivel teórico M06L/cc-pVDZ(Fe)-6-31+G(d,p)(O, H). Los estados de espín ($2S + 1$) de estos complejos de hierro se indican entre paréntesis.	118
C-1. Datos de acoplamiento molecular usando ECR del modelo AML1 y los curcuminoides.	124
C-2. Datos de acoplamiento molecular usando ECR del modelo 1BA4 y los curcuminoides.	125
C-3. Datos de acoplamiento molecular usando ECR del modelo 1Z0Q y los curcuminoides.	125
C-4. Datos de acoplamiento molecular usando ECR del modelo de fibra 2BEG y los curcuminoides	126
C-5. ECR del modelo 1AML y los carotenoides. Unidades en kcal/mol.	127
C-6. ECR del modelo 1BA4 y los carotenoides. Unidades en kcal/mol.	128
C-7. ECR del modelo 1Z0Q y los carotenoides. Unidades en kcal/mol.	129

Lista de Figuras

1-1. Secuencia del péptido β -amiloide ($A\beta_{1-42}$) donde se indican las regiones hidrófobas y afines a metales. Además, se muestra el sitio de corte de las secretasas. [3]	2
1-2. Modelo de la esfera de coordinación de los complejos $Cu^{2+/1+}-A\beta$ reaccionando con oxígeno tomado de Mirats <i>et al.</i> [4]	8
1-3. Representación del ciclo catalítico de la formación de ROS mediada por complejos $Fe^{2+/3+}-A\beta$ (adaptado de Alí-Torres [5]).	9
1-4. Estructura de los sistemas modelo más estables a) $Fe^{3+}-A\beta$ y b) $Fe^{2+}-A\beta$. Rojo (oxígeno), morado (hierro), gris (carbono) y blanco (hidrógeno) . Adaptado de Alí-Torres <i>et al.</i> [6]	10
4-1. Mapa de calor para el cálculo de la tercera energía de ionización del hierro usando diferentes combinaciones de funcionales y bases. El valor experimental de la tercera energía de ionización del hierro es 707.42 kcal/mol [7]	46
4-2. Mapa de calor ampliado para funciones de base y funcionales DFT con porcentajes de error menores al 1%. El valor experimental de la tercera energía de ionización del hierro es 707.42 kcal/mol [7]	47
4-3. SRP calculado para el par $[Fe(H_2O)_6]^{3+/2+}$ usando a) M06/cc-pVQZ(Fe)-6-31+G(d,p)(O,H); b) M06L/cc-pVDZ(Fe)-6-31+G(d,p)(O,H); c) M06/6-31+G(d,p); d) B3LYP/6-31+G(d,p). La SRP experimental para $[Fe(H_2O)_6]^{2+/3+}$ es de 0.77 V (línea negra continua).	49
4-4. Complejos de $Fe^{3+/2+}$ utilizados como conjunto de entrenamiento para la calibración de los SRP. Las estructuras subrayadas fueron las usadas en el método isodésmico.	52
4-5. SRP calculados para los complejos de hierro en la Figura 4-4 usando el método M06L/cc-pVDZ(Fe)/6-31+G(d,p) (C,N,H,O); datos en azul: SMD; datos en naranja: PCM con radios de Pauling (factor de escala: 1.05). a) método directo con 17 moléculas; b) método directo con 10 moléculas utilizados en el método isodésmico; c) método isodésmico con 10 moléculas.	

4-6. Geometrías optimizadas y valores SRP (V) calculados para una serie de sistemas modelo $\text{Fe}^{2+/3+} - A\beta$ representativos. Para todos los complejos de a) Fe^{3+} , el estado de espín del sexteto es el estado fundamental, mientras que para b) Fe^{2+} es el quinteto. ^a Datos reportados en Alí-Torres <i>et al.</i> [6] ^b Este trabajo. [8]	56
5-1. Estados del ascorbato en diferentes condiciones de desprotonación y carga.	60
5-2. Mecanismo de reacción de la reducción de $\text{Fe(III)}-A\beta$ a $\text{Fe(II)}-A\beta$ mediada por AscOH^- . El $[\text{Fe}(n)]$ representa la coordinación del hierro en distintos estados de oxidación (n) con (N-HisHis) y $^- \text{OPh}$. Energías relativas a reactivos (20 + AscOH^- + O_2) en kcal/mol.	62
5-3. Geometrías optimizadas de los complejos de la interacción del $\text{Fe}-A\beta$ con AscOH^- . Distancias en Å.	63
5-4. Mecanismo de reacción de formación de peróxido de hidrógeno mediado por el complejo $\text{Fe}-A\beta$. El $[\text{Fe}(n)]$ representa la coordinación del hierro en distintos estados de oxidación (n) con (N-HisHis) y $^- \text{OPh}$. Energías relativas a la de los reactivos (20 + AscOH^- + O_2) en kcal/mol.	65
5-5. Geometrías optimizadas de la formación de peróxido de hidrógeno mediada por $\text{Fe}-A\beta$. Distancias en Å.	66
5-6. Mecanismo de reacción más favorable para la formación de peróxido de hidrógeno mediada por $\text{Fe}-A\beta$ y AscOH^- . El $[\text{Fe}(n)]$ representa la coordinación del hierro en distintos estados de oxidación (n) con (N-HisHis) y $^- \text{OPh}$. Energías relativas a reactivos (20 + AscOH^- + O_2) en kcal/mol.	68
6-1. Estructura 2D de la curcumina.	69
6-2. Estructura 2D de los derivados de curcumina.	70
6-3. Estructuras representativas de la fase de producción de la DM del modelo 1AML $A\beta_{40}$	73
6-4. Ejemplo de interacción entre la curcumina monosustituida y el péptido $A\beta_{40}$. Las interacciones π -alquil se presenta en púrpura y enlaces de hidrógeno en verde.	75
6-5. Ejemplo de acoplamiento de derivado de curcumina disustituido ($\text{Cur}(\text{OSuccAllyl})_2$) con $A\beta$	75
6-6. RMSD promedio y barras de error de 5 réplicas de DM de derivados de curcumina y péptido $A\beta_{40}$. En los gráficos la curcumina o sus derivados se muestran en naranja, $A\beta_{40}$ en verde y el complejo $A\beta$ -curcumina o derivado en azul. El gráfico A corresponde al derivado CurOBn , el B al $\text{Cur}(\text{OSuccAllyl})_2$ y el C a la curcumina, que se utiliza como referencia.	77

6-7. Cambios estructurales de $A\beta_{40}$ durante el tiempo de simulación. Azul claro estructura inicial obtenida de simulaciones de acoplamiento molecular, amarillo 25 ns, verde 50 ns y rosa 75 ns de DM. A) complejo $A\beta_{40}$ con curcumina B) complejo $A\beta_{40}$ con CurOBn.	78
6-8. Cambios estructurales en la dinámica molecular de $A\beta_{40}$ (PDB: 1BA4) con A) Curc(OSuccAllyl) ₂ B) CurcOBn.	79
6-9. Interacciones entre la fibra $A\beta$ y derivados de curcumina con diferentes programas de acoplamiento molecular, izquierda Autodock Vina, centro Smina, derecha AutoDock 4.	80
6-10. Representación de los carotenoides.	82
6-11. Carotenoides de <i>Pouteria. sapota</i> (mamey rojo) seleccionados para el análisis computacional.	84
6-12. A) Sapotexantina (16) B) (5R,8R)-Sapotexantina-epóxido (19) interacción con $A\beta_{42}$ azul (enlace H), púrpura (interacción alquil-alquil). Distancia en Å.	86
6-13. A) Criptocapsina (1) B) (5S,8S)Criptocapsina 5,8 epóxido (26) interacción con $A\beta_{42}$: azul (enlace H), púrpura (interacción alquil-alquil). Distancia en Å.	87
6-14. Interacción del β -caroteno (4) con el péptido $A\beta_{42}$, verde (interacción $\pi - \sigma$) y morado (interacciones alquil-alquil). Distancia en Å.	88
6-15. Interacción entre la luteína y el péptido $A\beta_{42}$: azul (enlace de hidrógeno), púrpura (interacción alquil-alquil). Distancia en Å.	88
6-16. ECR del modelo 1Z0Q $A\beta_{42}$ con carotenoides 6-11 referencia experimental 1 , 2 y 3	89
6-17. ECR del modelo 1ZOQ $A\beta_{42}$ con estructuras base referencia experimental 1 , 2 y 3	90
6-18. ECR de derivados de carotenoides más activos que la criptocapsina (1) respecto al modelo 1ZOQ del $A\beta_{42}$ A) grupo sapotexantina B) grupo criptocapsina.	91
A-1. SRP calculado para el par $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+/2+}$ usando a) M06/cc-pVQZ(Fe)-6-31+G(d,p)(O,H); b) M06L/cc-pVDZ(Fe)-6-31+G(d,p)(O,H); c) M06/6-31+G(d,p); d) B3LYP/6-31+G(d,p). La SRP experimental para $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+/2+}$ es de 0.77 V (línea negra continua).	113
B-1. Geometrías optimizadas de los complejos de la interacción del Fe- $A\beta$ con AscOH. Distancias en angstroms.	120
B-2. Geometrías optimizadas de la formación de peróxido de hidrógeno mediada por Fe- $A\beta$. Distancias en angstroms	120
B-3. Rutas alternas del orden de salida del agua a) después de la desprotonación del AscOH^- b) desde el complejo inicial 20 . El $[\text{Fe}(n)]$ representa la coordinación del hierro en distintos estados de oxidación (n) con (N-HisHis) y $^- \text{O}^{\text{Ph}}$. Energías relativas a reactivos (20 + AscOH^- + O_2) en kcal/mol	121

C-1. Clusters K-means modelo $A\beta_{40}$ 1AML	123
C-2. Clusters K-means modelo $A\beta_{40}$ 1BA4	123
C-3. Clusters K-means modelo $A\beta_{42}$ 1Z0Q	124

1. Introducción

En la antigüedad, todos los trastornos neurodegenerativos se asociaban a una misma enfermedad conocida como demencia senil. Esta enfermedad se caracterizaba por la pérdida de la memoria, la pérdida de las funciones cognitivas y motoras, y de cambios en la personalidad. El nombre “demencia” proviene del latín *demens*, que significa “fuera de sí mismo”. El sufijo “senil” se refiere a la edad, ya que esta enfermedad afecta principalmente a las personas mayores. [9]

Hoy en día, se sabe que la demencia senil es causada por una variedad de factores, incluyendo la enfermedad de Alzheimer, la demencia vascular, la demencia frontotemporal y la demencia por cuerpos de Lewy. [9] Estas enfermedades se caracterizan por el deterioro progresivo de las neuronas, lo que lleva a la pérdida de la memoria, el lenguaje, el juicio, la orientación, la resolución de problemas, la personalidad y la capacidad de realizar actividades de la vida diaria.

1.1. Enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva e irreversible, la cual es una de las principales causas de demencia senil en la población mundial. Esta patología representa aproximadamente del 60-80 % de los casos de demencia diagnosticados con aproximadamente 50 millones pacientes reportados en todo el mundo. [10] Colombia no es un caso aislado a esta realidad, con una prevalencia de demencia senil del 1.8 % en la población general y de 3.4 % en grupos de pacientes de entre 65 y 75 años. [11] Adicionalmente, en Yarumal (Antioquia) se encuentra la población de alzhéimer juvenil (menor a 50 años) más grande del mundo debido a una mutación genética la cual causa degradación en la proteína precursora de amiloide (APP). [12]

El nombre de la enfermedad es en honor al médico alemán Alois Alzheimer, quien en 1906 describió por primera vez la sintomatología neurológica en una paciente, además de la formación de placas seniles que se conocen actualmente como agregados amiloides y ovillos neurofibrilares de proteína (τ). [13] Desde entonces, la investigación ha avanzado significativamente, pero todavía no se ha descubierto una cura definitiva. A medida que la esperanza de vida de la población mundial aumenta, la prevalencia de la enfermedad también se incrementa, convirtiéndola en un desafío importante para la salud pública con una alta carga

para los sistemas de atención médica.

La EA se desarrolla gradualmente y sus síntomas iniciales pueden ser sutiles y confundirse con el envejecimiento normal o el estrés. La pérdida de memoria a corto plazo es uno de los primeros signos distintivos, y con el tiempo, los individuos pueden tener dificultades para recordar eventos recientes, nombres y ubicaciones familiares. Además, pueden tener dificultades para encontrar las palabras adecuadas para expresarse y enfrentar problemas en la planificación y organización de tareas cotidianas. [14]

Para poder explicar el origen de la enfermedad se han propuesto varias hipótesis. Las de relevancia para este trabajo, debido al papel que tienen los cationes metálicos en ellas, se describen a continuación.

1.2. Cascada β -amiloide

La proteína precursora de amiloide (APP) es una proteína de membrana que puede degradarse mediante dos rutas: la vía amiloidogénica y la no amiloidogénica (Figura 1-1). En la ruta no amiloidogénica se produce un corte de la APP mediante la acción de la α -secretasa generando fragmentos de α APPs que desempeñan funciones de neuroprotección, regulación de la excitabilidad celular, plasticidad sináptica y homeostasis de iones metálicos. Sin embargo, cuando existen fallas en la biosíntesis de la APP procede la ruta amiloidogénica. En esta ruta la APP es cortada por la β y γ secretasa creando péptidos de 39 a 42 aminoácidos conocidos como β -amiloides ($A\beta$). [3]

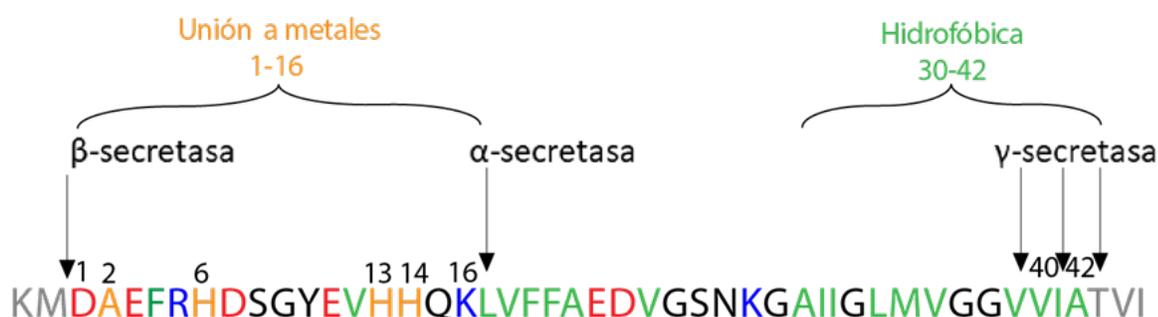


Figura 1-1.: Secuencia del péptido β -amiloide ($A\beta_{1-42}$) donde se indican las regiones hidrófobas y afines a metales. Además, se muestra el sitio de corte de las secretasas. [3]

Los péptidos ($A\beta$) son insolubles en el medio extracelular formando agregados tóxicos en forma de oligómeros, fibras y placas amiloides los cuales interrumpen la sinapsis neuronal

causando neurodegeneración. [15] Estos péptidos poseen 2 regiones de gran relevancia: la región hidrofóbica y la región de afinidad con iones metálicos, en donde las histidinas y la tirosina desempeñan un papel clave en la formación de complejos de cationes metálicos tales como $\text{Fe}^{2+/3+}$, $\text{Cu}^{1+/2+}$ y Zn^{2+} , como se observa en la Figura 1-1.

1.3. Hipótesis de los iones metálicos

Los iones metálicos juegan un papel vital en el cuerpo humano. Son necesarios para la función de muchos sistemas biológicos, incluyendo el sistema nervioso y neurológico. Sin embargo, los metales también pueden ser tóxicos en altas concentraciones. En el análisis *postmortem* de cerebros de pacientes con la EA, se han encontrado niveles de varios metales más altos de lo normal. Estos metales incluyen cationes de cobre, hierro y zinc. [3] A continuación, se presentan los principales metales relacionados con esta hipótesis:

Cobre: Los niveles estándar de Cu en el cerebro rondan entre 100-150 μM cuando se considera el órgano en su totalidad. Desde una perspectiva celular, durante la transmisión sináptica, el Cu es liberado por las vesículas neuronales, alcanzando concentraciones cercanas a los 15 μM [16]. Investigaciones han mostrado un incremento en las concentraciones de Cu con la edad en cerebros de ratones. A pesar de no contar con investigaciones similares en seres humanos, [17] la semejanza en la regulación del Cu entre humanos y ratones sugiere que, en humanos, los niveles de Cu podrían incrementarse con la edad. En cerebros afectados por la EA, se han detectado niveles atípicos de Cu, Zn y Fe en áreas subcorticales como el hipocampo, la amígdala y el bulbo olfatorio, así como en la neocorteza. Mediante el análisis de emisión de rayos X inducido por micropartículas (micro-PIXE) de las áreas corticales y núcleos basales accesorios de la amígdala, se encontró una notable acumulación (de 3 a 5 veces) de Cu y otros metales en las zonas de neuropilo de cerebros afectados por la EA, en comparación con cerebros control. [18] Estos metales se encontraban especialmente presentes en las áreas cerebrales más impactadas por la patología de la EA. A pesar de la falta de información sobre las variaciones de los niveles de Cu en el cerebro a lo largo de la EA, estudios realizados en plasma de pacientes con EA señalan que la alteración en la homeostasis de los metales persiste durante toda la evolución de la enfermedad. [19]

Zinc: Se considera que la concentración promedio de Zn en el cerebro ronda los 150 μM . [20] Pese a que es probable que la concentración intracelular normal de Zn libre sea menor al nanomolar, se estima que la concentración extracelular alcance cerca de 500 nM. [21] No obstante, en el espacio sináptico, los niveles de Zn son sorprendentemente elevados, llegando a estimaciones superiores a 1 mM. [22] Esto posiciona al Zn en una concentración de uno a dos órdenes de magnitud por encima del Cu sináptico, subrayando que el Zn no es meramente un elemento traza, sino un importante regulador iónico en la transmisión sináptica y en otras funciones neuronales. Las concentraciones más altas de Zn también se han asociado

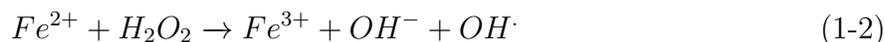
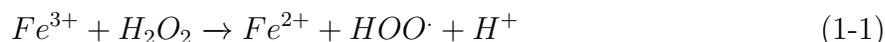
con regiones cerebrales más afectadas en la patología de la EA, incluyendo el hipocampo, neocorteza y amígdala. [23] Dado que la recaptación de Zn después de la liberación sináptica es un proceso que depende de la energía, la depleción de energía asociada con el cerebro con la EA podría contribuir aún más a elevar los niveles extracelulares de Zn.

Hierro: El Fe se acumula en el cerebro hasta llegar a un pico alrededor de la mediana edad, momento en el cual su nivel se estabiliza. Tal como ocurre con el Cu y Zn, un incremento atípico de Fe en el cerebro se relaciona con la EA. [24] Se observa una elevada concentración de Fe en las placas seniles (alcanzando hasta 1 mM) y en los ovillos neurofibrilares (NFTs). [18] Hay una correlación entre las áreas cerebrales con mayores niveles de Fe y aquellas con un mayor riesgo de desarrollar patologías relacionadas con la EA. [25] En cerebros afectados por la EA, un aumento en la acumulación de Fe se asocia con daños oxidativos a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Las proteínas que se asocian al Fe muestran alteraciones metabólicas en la EA. Se ha detectado un aumento significativo de los niveles de oxígeno de hemo en neuronas y astrocitos localizados en el hipocampo y la corteza de cerebros con EA. [26] Adicionalmente, en cerebros con EA, la transferrina se localiza más en células gliales y es notoria la presencia de microglía y placas ricas en ferritina.

El papel exacto de los metales en la EA aún no se conoce completamente. Sin embargo, es posible que los metales desempeñen un papel en la patogénesis de la enfermedad al promover la formación de placas amiloides y ovillos neurofibrilares, dañar las neuronas y aumentar la inflamación cerebral. Teniendo en cuenta esto, los tratamientos dirigidos a los iones metales pueden ser una estrategia prometedora para tratar la EA. [27]

1.4. Estrés oxidativo

La última hipótesis en la cual se centra esta tesis doctoral plantea la neurodegeneración debido al estrés oxidativo promovida por los complejos Fe-A β . Se entiende el estrés oxidativo como un desequilibrio entre los agentes antioxidantes y los radicales libres en el cuerpo. Los radicales libres son moléculas altamente reactivas que pueden dañar las células, incluidas las neuronas. Generalmente el 1 a 3% del estrés oxidativo en el cerebro proviene de los procesos de respiración celular en las mitocondrias, generando principalmente especies reactivas de oxígeno (ROS en inglés Reactive Oxygen Specie) y éstas son eliminados por la acción de los antioxidantes como el ácido ascórbico, enzimas como el glutatión peroxidasa y la superóxido dismutasa. Teniendo en cuenta el desequilibrio de iones metálicos y el exceso de especies oxidantes en el tejido cerebral, se ha observado que los iones metálicos son relevantes en la formación de ROS mediante reacciones tipo Fenton. [28] A continuación se describen las ecuaciones tipo Fenton y Haber-Weiss en las que participan los cationes de hierro:



Cuando existe un desequilibrio entre la cantidad de antioxidantes y agentes oxidantes, se generan ROS que producen daño a nivel neuronal.[3]

1.5. Papel del hierro en la EA

El hierro desempeña un papel fundamental para el funcionamiento del cuerpo humano en los procesos de transporte y distribución de oxígeno por parte de la hemoglobina. En el cerebro juega un papel importante en la síntesis de mielina, cascada electrónica de la mitocondria y en la síntesis de neurotransmisores. [29] Sin embargo, un desequilibrio en la homeostasis de hierro por fallas en los métodos de regulación de sus cationes $Fe^{2+/3+}$ (APP, ferritina, transferrina) desencadenan procesos de neurodegeneración como la generación de ROS y la cascada de señalización de ferroptosis (muerte celular por exceso de hierro). [29] En el entorno intracelular el Fe^{2+} promueve la fosforilación de las citoquinas desencadenando la cascada de señalización de procesos inflamatorios en el cerebro. Este proceso conlleva a la fosforilación de las proteínas τ desestabilizando los microtúbulos y degradándolos. Además, estas proteínas generan agregados fibrilares generando neurotoxicidad. [30]

El hierro además, se encuentra involucrado en la producción de la APP mediante activación de las señalizaciones de biosíntesis en el mRNA. Dada las funciones de modulación y regulación de iones Fe^{2+} un exceso de este ion a nivel intracelular induce la sobreexpresión de la APP generando posteriormente péptidos $A\beta$. [31]

Otro de los procesos en los que intervienen los cationes de hierro es la generación de ROS mediante reacciones de Fenton y Haber-Weiss. Estas ROS generan peroxidación de lípidos, daños en el ADN y oxidación de proteínas, lo cual conlleva a la muerte neuronal. Experimentalmente se ha observado el efecto de hierro en la agregación del péptido $A\beta$ a través del tiempo y la reducción de Fe^{3+} a Fe^{2+} por efectos de este monómero. [32] Dentro de las estrategias de diseño de moléculas capaces de frenar el daño oxidativo mediado por complejos de hierro y otros cationes metálicos se han usado moléculas derivadas de productos naturales, la cuales se describen en la siguiente sección.

1.6. Productos naturales en la EA

Actualmente ha tomado gran relevancia el estudio de productos naturales como bases estructurales para generar nuevos fármacos para la EA en que se espera que inhiban las distintas

vías de neurodegeneración descritas anteriormente, ya sea como agentes quelantes de metales o inhibiendo la formación de ROS, ayudando con esto a evitar o revertir la agregación del péptido A β . [33] Estas propiedades han sido observadas en experimentos *in vitro* en polifenoles [34] y carotenoides [1, 2] siendo una base trascendental para proponer análogos que mejoren estas funciones biológicas.

Experimentalmente se ha comprobado el efecto de los productos naturales como agentes neuroprotectores ante enfermedades neurodegenerativas [35, 36] los cuales tienen un gran potencial para bloquear las diferentes vías de progresión de la EA. Un ejemplo claro de esto es el uso de polifenoles. donde se utiliza el caso de la curcumina, la cual posee propiedades quelantes de iones de Fe^{2+/3+} como ligante bidentado. Además, actúa como agente reductor evitando la propagación de las reacciones de Fenton y Haber-Weiss.[37] Adicionalmente, la formación de complejos metal-A β -polifenol pueden bloquear la formación de fibras amiloides debido a las propiedades antiagregantes y quelantes que poseen.

Teniendo en cuenta las propiedades quelantes y reductoras de los carotenoides y curcuminoïdes, estas deben ser evaluadas mediante cálculos de estructura electrónicas para conocer su potencial de reducción estándar (SRP, por sus siglas en inglés) el cual es un parámetro importante para determinar la propiedad del ligante ya sea como agente quelante o reductor. Si un complejo [Fe(L)_n] (L = polifenol o carotenoïde) tiene un SRP superior a la formación de O₂/H₂O₂ (0.30 V) la reducción del complejo estará favorecida sobre la reducción del oxígeno, evitando así la formación de ROS. Además de esto, teniendo el cambio de la energía libre de la reacción de formación de los complejos [Fe(L)_n] se puede determinar la afinidad de los ligantes con el hierro la cual debe ser suficientemente alta para competir por los cationes de cobre con el A β pero no excesivamente alta para remover el hierro de procesos bioquímicos importantes. [38] Sin embargo, la falta de una metodología adecuada para el cálculo de SRP de complejos de hierro dificulta el diseño o modificaciones racionales de este tipo de ligandos.

Varios estudios sobre polifenoles dan nuevas esperanzas de actividad neuroprotectora contra la EA. [39, 40] Una de estas moléculas de uso extendido es la curcumina, un producto natural con potentes propiedades terapéuticas y el potencial de generar nuevas terapias alternativas contra la EA. La curcumina se encuentra en el rizoma de la *Curcuma longa* y se considera una molécula pleiotrópica (que tiene múltiples efectos terapéuticos). Sin embargo, la curcumina tiene una escasa biodisponibilidad debido a su baja solubilidad en agua y a su inestabilidad a pH fisiológico, momento en el que la molécula se transforma en ácido ferrúlico, vainillina, dehidrozingeronona y glucurónido de curcumina. Estos factores plantean retos en el descubrimiento de fármacos con curcumina. [41, 42, 43] A pesar de estas dificultades, la curcumina ha demostrado múltiples propiedades terapéuticas por lo cual nos hemos centrado en las propiedades antiagregantes para explorar vías de acción contra la EA. [2]

La curcumina y sus derivados han demostrado resultados interesantes que pueden mejorarse si podemos determinar qué interacciones químicas son cruciales para la actividad antiagregante. En esta tesis, presentamos estudios de acoplamiento molecular y dinámica molecular clásica (MD) sobre la interacción de nueve nuevos derivados de la curcumina sintetizados por nuestros colaboradores con monómeros de $A\beta_{40}$ y $A\beta_{42}$ y de fibrillas de $A\beta_{42}$ para identificar moléculas que puedan bloquear la agregación del péptido β -amiloide.

1.7. Estudios computacionales

La química computacional es una rama de la química que utiliza métodos computacionales para estudiar la estructura, propiedades y reactividad de las moléculas. Ésta hace uso de computadoras para resolver ecuaciones matemáticas que describen el comportamiento de las moléculas. Estas ecuaciones pueden ser muy complejas y las computadoras son necesarias para resolverlas rápidamente.

Teniendo en cuenta la dificultad a nivel experimental para conocer las interacciones a desde una perspectiva molecular de los péptidos $A\beta$ con los cationes de hierro y con moléculas derivadas de productos naturales (dificultades para realizar monocristales en difracción de rayos X y los problemas de solubilidad del péptido para estudios de RMN) es imprescindible recurrir a métodos de química computacional para conocer parámetros energéticos y estructurales, los cuales nos permitirán explicar de forma atomística los procesos moleculares implicados en la neurodegeneración. Esto es de gran importancia al momento de diseñar moléculas para el tratamiento de la EA de forma racional.

1.7.1. Estructura y reactividad de complejos Fe- $A\beta$

Dada la relevancia de los complejos de $Fe^{3+/2+}-A\beta$ y $Cu^{2+/1+}-A\beta$ se han realizado cálculos computacionales para conocer la estructura y reactividad de estos complejos en la generación de ROS. Estos estudios han sido reportados previamente en la literatura, [6] en donde se describió la esfera de coordinación de los complejos $Cu^{2+/1+}-A\beta$ explorando las interacciones con los aminoácidos afines a metales y luego generando la estructura completa del péptido $Cu^{2+/1+}-A\beta_{1-16}$ y su reactividad con oxígeno, como se observa en la Figura 1-2. [4]

Teniendo en cuenta las esferas de coordinación descritas por Alí-Torres *et al.* [6] se realizó el estudio de la formación catalítica de ROS mediada por los complejos $Cu^{2+/1+}-A\beta$ usando el sistema modelo de la esfera de coordinación y el modelo completo. Además, se exploró la viabilidad de diversos ciclos catalíticos en donde se esquematiza a nivel computacional la formación de ROS. [4]

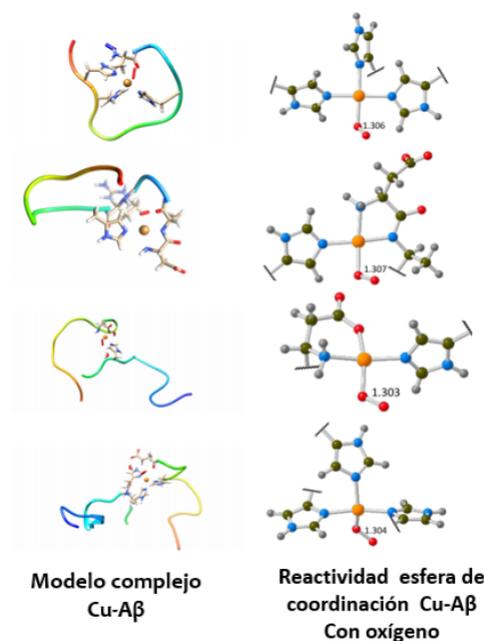
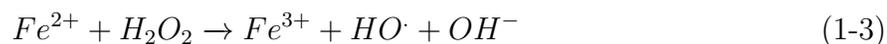


Figura 1-2.: Modelo de la esfera de coordinación de los complejos $\text{Cu}^{2+/1+}-\text{A}\beta$ reaccionando con oxígeno tomado de Mirats *et al.* [4]

Estos mecanismos han sido ampliamente estudiados de forma computacional agregando diferentes variables como la formación de complejos con el ascorbato, donde mediante estudios a nivel DFT y dinámica molecular se exploró la superficie de energía potencial en los distintos pasos catalíticos. [44]

Sin embargo, la reactividad de los complejos de $\text{Fe}^{2+/3+}-\text{A}\beta$ no ha sido explorada computacionalmente a profundidad debido a la complejidad de la estructura electrónica de los complejos de hierro la cual da lugar a diversas configuraciones de espín. Con base en lo anterior, se han planteado mecanismos de reacción asociados a la formación de ROS mediado por iones de hierro siguiendo las siguientes reacciones propuestas por Lane *et al.* en 2018. [45]

Reacción de Fenton para la producción de ROS:



Reducción del oxígeno mediado por Fe^{2+} para generar iones superóxido:



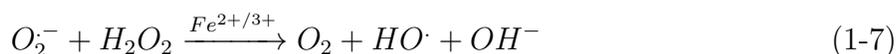
El ion superóxido es dismutado por la actividad del superóxido dismutasa:



Como este superóxido se produce de manera catalítica, es factible que el ion Fe^{3+} sea regenerado por acción del ion superóxido que no fue degradado por la superóxido dismutasa:



La suma de la ecuación 1-3 con la ecuación 1-6 nos genera la ecuación de Haber-Weiss con el hierro como catalizador:



En esta ecuación se muestra que la existencia de cantidades catalíticas de iones de hierro en el tejido cerebral puede generar ROS en presencia de agentes reductores como lo son el ascorbato, el α -tocoferol y el glutatión.

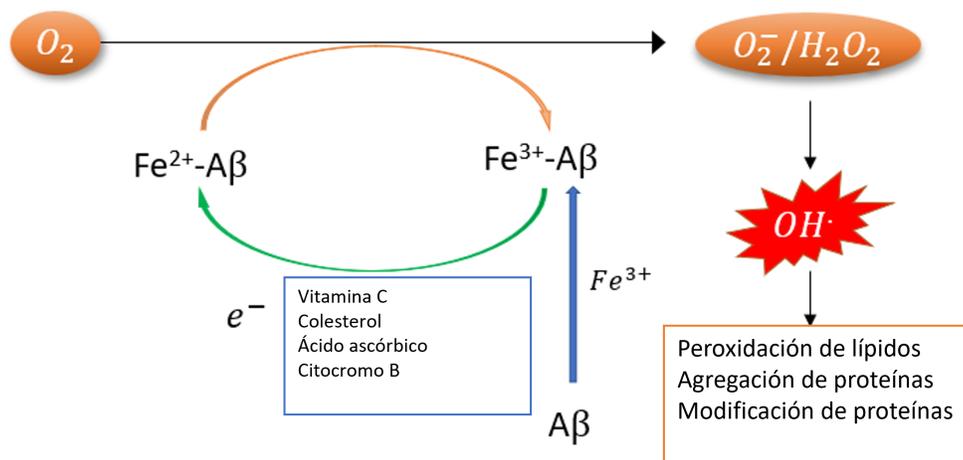


Figura 1-3.: Representación del ciclo catalítico de la formación de ROS mediada por complejos $Fe^{2+/3+}-A\beta$ (adaptado de Alí-Torres [5]).

De acuerdo con la Figura 1-3 y las reacciones 1-3 y 1-7, la determinación experimental del SRP de complejos de hierro es crucial para entender el mecanismo de la formación de ROS. Sin embargo, esta determinación experimental es difícil de llevar a cabo, debido a la poca solubilidad en agua de los complejos de hierro. La química computacional puede ayudarnos en esta tarea. No obstante, el cálculo de los SRP de los complejos de hierro es desafiante dado los efectos de la estructura electrónica en los procesos de reducción del hierro y la descripción de los efectos del solvente, entre otros. Muchos complejos de hierro han sido tratados computacionalmente mediante DFT y métodos altamente correlacionados.[46, 47] Sin embargo, la selección del método computacional y el conjunto de funciones base para

la correcta descripción de la estructura electrónica del hierro sigue siendo un reto dado la naturaleza de capa abierta de estos sistemas y sus varios estados de espín. [48] Además, otros efectos como el entrecruzamiento de espín que pueden ocurrir.[49] El uso de métodos altamente correlacionados (como CCSD(T)) proporcionan buenos resultados en la energía y la descripción de espín del estado basal.[46] No obstante, estos métodos son costosos computacionalmente para ser aplicados en sistemas bioinorgánicos de más de 60 átomos. En este caso, los métodos basados en la DFT proporcionan un buen balance entre precisión y costo computacional teniendo en cuenta que esta teoría ha sido aplicada en el cálculo de SRP en otros complejos de metales de transición.[6, 50, 51, 52] En el caso de sistemas de hierro, recientemente Horch ha usado aproximaciones basadas en DFT para estudiar las propiedades redox de metaloenzimas de hierro.[53]

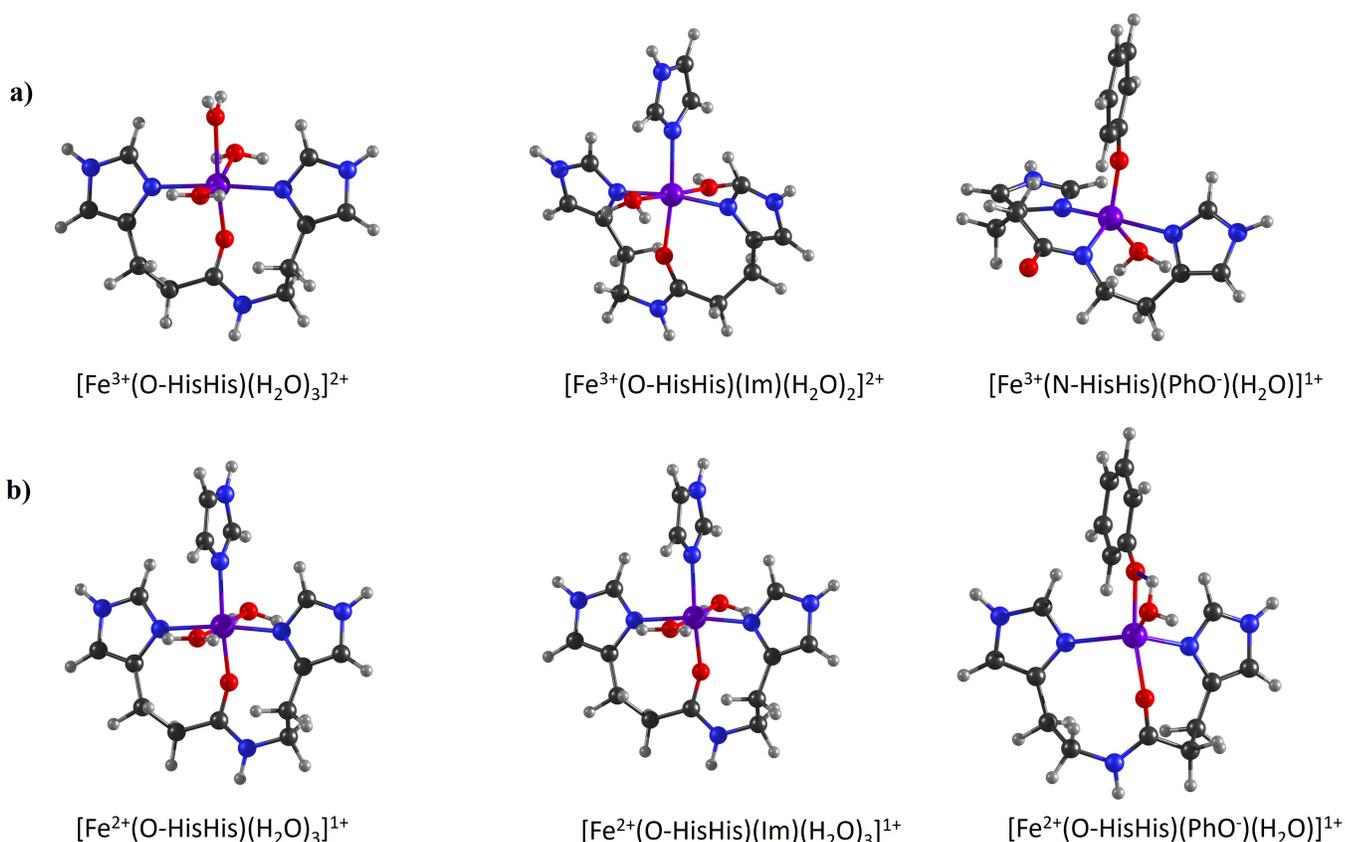


Figura 1-4.: Estructura de los sistemas modelo más estables a) Fe^{3+} -A β y b) Fe^{2+} -A β . Rojo (oxígeno), morado (hierro), gris (carbono) y blanco (hidrógeno) . Adaptado de Alí-Torres *et al.*[6]

Previamente se determinaron las estructuras más favorables formadas entre el Fe^{2+} y Fe^{3+} con fragmentos de aminoácidos del péptido A β . [6] En donde los complejos más estable contiene los aminoácidos His13-His14 y fenolato de Tyr10 de forma pentacordinada $[\text{Fe}^{2+}(\text{O}$ -

$\text{HisHis}(\text{PhO}^-)(\text{H}_2\text{O})]^+$ y $[\text{Fe}^{2+}(\text{N-HisHis})(\text{PhO}^-)(\text{H}_2\text{O})]^+$. Por otra parte, se encontró que la coordinación simultánea de la tirosina y el fragmento de His13-His14 a los iones de $\text{Fe}^{2+/3+}$ es termodinámicamente favorable en agua a pH fisiológico. La estructura de estos complejos se observa en la Figura 1-4. En ese trabajo el cálculo del SRP de los complejos Fe- $A\beta$ fue realizado con la energía de Gibbs calculada con el nivel de teoría MP2 para el proceso de reducción de $\text{Fe}^{3+} + e^- \rightarrow \text{Fe}^{2+}$. Sin embargo, este protocolo implica llevar a cabo cálculos MP2 los cuales son costosos a nivel computacional.

1.7.2. Acoplamiento molecular de compuestos antiagregantes y dinámica molecular

Entender los modos conformacionales de los péptidos $A\beta$ es una pieza clave para conocer con detalle las transiciones a oligómeros y fibras. Esto es de gran relevancia para comprender la progresión de enfermedades neurodegenerativas y diseño de fármacos. Debido a los problemas de solubilidad que presentan los péptidos amiloides muchos modelos teóricos, de dinámica molecular y de grano grueso (*coarse grain*) han sido utilizados para entender estos mecanismos de agregación.[54] Sin embargo, estos estudios están ligados a las condiciones de los experimentos computacionales y la parametrización de los átomos por lo cual se vuelve un trabajo computacionalmente costoso, aunque necesario para el posterior diseño de fármacos con posible actividad terapéutica.[55] En este sentido, nuestro interés en este trabajo será el estudio de los monómeros del péptido $A\beta$.

2. Justificación y Objetivos

2.1. Justificación

Los casos de pacientes con la enfermedad de Alzheimer han aumentado globalmente en los últimos años debido al aumento de la esperanza de vida de la población mundial.[10] Se estima que existen 50 millones de reportes de la EA en el mundo en la actualidad [1] y en Colombia esta cifra es de cerca del 3.4% de la población mayor de 65 años, lo que genera costos de aproximadamente 9 millones al año en tratamientos paliativos por paciente. [10] Este número se espera que crezca en los próximos años si no se encuentra una cura o tratamiento preventivo. Por este motivo es de gran relevancia estudiar los diversos factores que promueven la neurodegeneración para proponer terapias eficaces que busquen detener o revertir la EA.

Esta tesis doctoral se enfoca en el estudio de la estructura y reactividad de los complejos $\text{Fe}^{2+/3+}\text{-A}\beta$ y su papel en la formación de ROS, de gran relevancia en la neurodegeneración observada en la EA. Hasta la fecha, el papel de los complejos de hierro en el desarrollo de la enfermedad ha sido poco estudiado de forma atómica. Con este análisis se contempla ampliar la frontera del conocimiento sobre la generación de ROS a nivel cerebral mediada por complejos $\text{Fe}^{2+/3+}\text{-A}\beta$.

Adicionalmente, se ha encontrado que las propiedades antiagregante/antioxidante y redox de los productos naturales pueden ser utilizados como inspiración para el diseño de moléculas con potencial aplicación en la EA. Por lo descrito anteriormente se plantean los siguientes objetivos.

2.2. Objetivos

2.2.1. Objetivo general

Evaluar mediante herramientas computacionales la formación de ROS catalizadas por complejos $\text{Fe}^{2+/3+}\text{-A}\beta$, así como estudiar las propiedades antiagregantes de polifenoles y carotenoides en la enfermedad de Alzheimer.

2.2.2. Objetivos específicos

- Desarrollar un protocolo computacional apropiado para la descripción de la estructura electrónica de los complejos de $\text{Fe}^{2+/3+}-\text{A}\beta$.
- Proponer mecanismos plausibles para la formación de ROS catalizadas por complejos $\text{Fe}^{2+/3+}-\text{A}\beta$.
- Caracterizar mediante dinámica molecular los distintos estados conformacionales del péptido $\text{A}\beta$.
- Evaluar mediante herramientas computacionales (dinámica molecular, acoplamiento molecular y cálculos DFT) las propiedades antiagregantes de carotenoides y polifenoles.

3. Métodos de la química computacional

La química computacional es una disciplina dentro de la química que emplea métodos matemáticos y herramientas informáticas para resolver problemas químicos. Esta área se fundamenta en principios de la física cuántica, mecánica estadística y física clásica, orientados a simular y determinar propiedades y estructuras moleculares. Además de predecir cómo los sistemas reaccionan en diferentes condiciones.

Según la magnitud de los sistemas químicos de nuestro interés, se eligen las estrategias y recursos computacionales idóneos para analizar sus propiedades físicas y químicas. Entre estas estrategias, los métodos de estructura electrónica ofrecen información sobre el comportamiento de los electrones en átomos o moléculas y su influencia en la estructura, reactividad y termodinámica, pero están limitados en cuanto a la cantidad de átomos que pueden abordar. Por otro lado, los métodos de dinámica molecular clásica (DM) nos facilitan el estudio de sistemas más grandes, como péptidos y proteínas en solución a lo largo del tiempo, aunque no proporcionan una descripción detallada de la estructura electrónica del sistema.

Más allá de los métodos ya descritos, existen enfoques que recurren a la estadística para estimar la disposición espacial y las interacciones entre moléculas, péptidos o proteínas, un proceso conocido como acoplamiento molecular o *molecular docking* en inglés. Estas estrategias desempeñan un papel esencial en el diseño de medicamentos, pues ofrecen una visión detallada de procesos bioquímicos relacionados con blancos farmacológicos y posibilitan la modulación de interacciones moleculares para potenciar o bloquear rutas metabólicas.

En esta sección abordaremos los aspectos conceptuales más importantes de los métodos computacionales usados en esta tesis.

3.1. Ecuación de Schrödinger independiente del tiempo

La ecuación de Schrödinger independiente del tiempo es una pieza fundamental de la mecánica cuántica. Esta ecuación proporciona una descripción matemática del estado estacionario de un sistema cuántico. [56] En su forma estándar, la ecuación se representa como:

$$\hat{H}\psi(r) = E\psi(r) \tag{3-1}$$

Aquí, \hat{H} denota el operador hamiltoniano del sistema $\psi(r)$ es la función de onda del sistema, que encapsula toda la información del mismo y E es la energía asociada con esa función de onda específica. Para un sistema compuesto por varias partículas (núcleos y electrones) y si se asume que los núcleos y electrones son partículas puntuales con masa y carga el operador hamiltoniano se puede expresar como:

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2} \sum_{\alpha} \frac{1}{m_{\alpha}} \nabla_{\alpha}^2 - \frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 + \sum_{\alpha} \sum_{\beta > \alpha} \frac{Z_{\alpha} Z_{\beta}}{r_{\alpha\beta}} - \sum_{\alpha} \sum_i \frac{Z_{\alpha} e^2}{r_{i\alpha}} - \sum_i \sum_{i > j} \frac{e^2}{r_{ij}} \quad (3-2)$$

En esta ecuación los índices α y β se refieren a los núcleos mientras que i y j a los electrones, \hbar representa la constante de Planck reducida, m es la masa de la partícula, y ∇^2 es el operador laplaciano, relacionado con la segunda derivada espacial. El primer termino en el hamiltoniano es el operador de la energía cinética de los núcleos; el segundo es el operador de energía cinética de los electrones; el tercero se refiere a la energía potencial debido a los núcleos α y β , donde $r_{\alpha\beta}$ es la distancia entre los núcleos α y β con numero atómico Z . El cuarto termino corresponde a la energía potencial de atracción núcleo electrón, donde $r_{i\alpha}$ es la distancia entre electrón i y el núcleo α . Y el ultimo termino corresponde a la energía potencial de repulsión entre los electrones con r_{ij} como la distancia entre los electrones i y j . [57]

La solución de la ecuación de Schrödinger proporciona las funciones de onda permitidas para un sistema y sus correspondientes energías. Estas funciones de onda no tienen significado físico, sin embargo su cuadrado representa la probabilidad de encontrar una partícula en un lugar determinado. Por su parte, las energías asociadas representan los niveles de energía permitidos del sistema. [57]

Los estados descritos por la ecuación 3-2 son estacionarios, lo que significa que no evolucionan con el tiempo. Cada función de onda y su energía asociada definen un estado estacionario particular del sistema. Por lo tanto, la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo es esencial para comprender el comportamiento estático y las propiedades de los sistemas cuánticos.

3.2. Método de Hartree-Fock (HF)

El método Hartree-Fock (HF) es un método fundamental en la mecánica cuántica para sistemas multi-electrónicos. La esencia de este método radica en la aproximación de que cada electrón se mueve en un campo promedio producido por todos los demás electrones, simplificando así la compleja tarea de tratar interacciones electrón-electrón directas (Ecuación 3-2). Aunque no es exacto, el método HF ofrece una base sólida sobre la cual se han construido

muchos métodos más avanzadas en química cuántica. [57]

La función de onda del método Hartree-Fock se describe mediante un determinante antisimétrico conocido como determinante de Slater. Esta elección asegura que la función de onda cumpla con el principio de exclusión de Pauli.

$$\psi(r_1 r_2 \dots r_n) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \phi_1(1)\sigma_1(1) & \phi_2(1)\sigma_2(1) & \dots \phi_N(1)\sigma_N(1) \\ \phi_1(2)\sigma_1(2) & \phi_2(2)\sigma_2(2) & \dots \phi_N(2)\sigma_N(2) \\ \phi_1(N)\sigma_1(N) & \phi_2(N)\sigma_2(N) & \dots \phi_N(N)\sigma_N(N) \end{vmatrix} \quad (3-3)$$

Donde cada columna en este determinante contiene a un espín orbital $\psi(\vec{x}) = \phi(\vec{r})\sigma(\omega)$ la primera parte corresponde a las coordenadas espaciales y otra que es función del espín.

Las ecuaciones de Hartree-Fock surgen al minimizar la energía del determinante de Slater sujeto a ciertas restricciones, resultando en una serie de ecuaciones para determinar los orbitales óptimos.

$$F(1)\phi_i(1) = \epsilon_i\phi_i(1) \quad (3-4)$$

Aquí, F es el operador de Fock y ϵ_i la energía de los orbitales. El operador de Fock incorpora los efectos del campo promedio sobre un electrón debido a todos los demás electrones. Está compuesto por un término cinético, un término potencial y los términos de interacción entre electrones: el término de Coulomb, que representa la repulsión promedio entre electrones, y el término de intercambio, que es una corrección cuántica única para sistemas de fermiones. Matemáticamente, el operador de Fock, \hat{F} , se define por:

$$\hat{F}(1) = \hat{h}(1) + \sum_{j \neq i} [2\hat{J}_j(1) - \hat{K}_j(1)] \quad (3-5)$$

Donde \hat{h} es el operador monoeléctrico y los operadores \hat{J}_j y \hat{K}_j representan, respectivamente, los operadores de Coulomb y de intercambio.

En 1951 Roothaan propuso la clave para el cálculo de orbitales moleculares el cual consiste en la expansión de orbitales ϕ_i como una combinación lineal de conjunto de funciones base χ_s de un electrón.

$$\phi_i = \sum_{s=1}^b C_{si}\chi_s \quad (3-6)$$

Al reemplazar la ecuación 3-6 en la ecuación 3-4 se obtiene la ecuación.

$$\sum_{s=1}^b C_{si}^F \chi_s = \epsilon_i \sum_{s=1}^b C_{si} \chi_s \quad (3-7)$$

Para sistemas de capa abierta, donde los electrones no se encuentran asignados por pares a los orbitales, se usa el método de espín no restringido (UHF), esta aproximación asigna diferentes orbitales a los electrones α y β . De esta manera existen 2 conjuntos de orbitales.

$$\phi^\alpha(r) = \sum C_i^\alpha \chi^i(r) : \quad \phi^\beta = \sum C_i^\beta \chi^i(r) \quad (3-8)$$

A pesar de las ventajas y la relevancia del método Hartree-Fock, tiene sus limitaciones intrínsecas. Principalmente, no describe adecuadamente la correlación electrónica dinámica. Esta omisión ha llevado al desarrollo de métodos post-Hartree-Fock, como la teoría de perturbaciones Møller-Plesset y Coupled Cluster que buscan incluir efectos de correlación más allá de la aproximación HF. [57]

3.3. Funciones de base

Las funciones base desempeñan un papel crucial al aproximar las funciones de onda de los sistemas moleculares. Estas funciones base consisten en un conjunto de funciones matemáticas, comúnmente centradas en los núcleos atómicos, que se utilizan para expandir los orbitales moleculares en términos lineales. [57] Las funciones base más empleadas provienen de soluciones analíticas del átomo de hidrógeno, como las funciones tipo Slater (STOs) o las funciones gaussianas (GTOs). En la práctica, las GTOs son ampliamente preferidas debido a su eficiencia computacional en operaciones de integración. Sin embargo, para lograr una precisión adecuada, a menudo se combinan múltiples GTOs para imitar una STO. [58] A lo largo del tiempo, se han desarrollado numerosos conjuntos de funciones base, como STO-3G, 6-31G, y cc-pVDZ, que varían en tamaño y complejidad, y se han optimizado para distintas aplicaciones, desde cálculos rápidos hasta estudios altamente precisos. [59]

3.3.1. Orbitales tipo Slater (STO)

Estas funciones fueron propuestas por John C. Slater y se caracterizan por su forma funcional que refleja más fielmente la forma esperada de un orbital atómico, especialmente cerca del núcleo. Estas funciones emulan las soluciones del átomo de hidrógeno y tienen la forma:

$$\chi(r) = N r^{n-1} e^{-\zeta r} \quad (3-9)$$

Donde n es el número cuántico principal, r es la distancia del electrón desde el núcleo atómico, N es un factor de normalización y ζ es un parámetro que determina el alcance efectivo de la función (exponente de Slater) los cuales se pueden determinar bien por las reglas de

Slater o de forma variacional.

Las STO son particularmente efectivas para modelar la caída exponencial de la densidad electrónica con la distancia desde el núcleo, una característica importante de los orbitales atómicos reales. Esto las hace más realistas cerca del núcleo en comparación con las funciones Gaussianas. Sin embargo, Las integrales necesarias en los cálculos de estructura electrónica son más difíciles y costosas de calcular con funciones de Slater que con funciones Gaussianas.[59]

Debido a estas desventajas computacionales, las STO puras se usan raramente en cálculos modernos de química cuántica. En su lugar, se utilizan aproximaciones basadas en funciones Gaussianas, como las bases de Pople (por ejemplo, STO-3G), donde varias funciones Gaussianas se combinan para imitar la forma de una STO.[59]

3.3.2. Orbitales tipo gaussiano (GTO)

Se utilizan debido a la facilidad de trabajar con ellas en cálculos computacionales, tienen la forma:

$$g(r) = Ne^{-\alpha r^2} \quad (3-10)$$

Donde α es un parámetro específico para cada tipo de orbital y N es un factor de normalización. Sin embargo, estas funciones presentan problemas en el origen y en largas distancias lo que hace necesario aumentar el conjunto de funciones base. A menudo, varias de estas funciones se combinan (gaussianas contraídas) para simular una función de Slater.[59]

$$\phi^{CGTO} = \sum_{j=1}^L C_j g(r)_j^{GTO} \quad (3-11)$$

En la mayoría de las interacciones moleculares, los electrones de valencia juegan un papel crucial en la formación de enlaces. Basándose en este principio, es común representar los orbitales de valencia usando múltiples funciones base. Cada una de estas funciones base puede ser en sí misma una combinación lineal de funciones gaussianas primitivas. Los grupos de funciones base que incluyen varias funciones para cada orbital atómico de valencia se conocen como conjuntos de base doble, triple, cuádruple zeta, etc. (donde "zeta", ζ , solía representar el exponente en una función base tipo STO). Esta variedad en los conjuntos de base permite que la densidad electrónica se ajuste a la extensión espacial específica del entorno molecular. Por otro lado, los conjuntos de base mínima no ofrecen la misma flexibilidad para adaptarse a variados entornos moleculares.[59]

3.3.3. Funciones de polarización

Son un tipo de función base añadida a los conjuntos de funciones base estándar para aumentar la precisión en la descripción de los orbitales moleculares. Su propósito principal es permitir una mayor flexibilidad en la representación de la densidad electrónica, especialmente en términos de su capacidad para distorsionarse en respuesta a presencia de campos eléctricos externos, otros átomos o moléculas, o durante procesos químicos como la formación de enlaces. [59]

Las funciones polarizadas añaden orbitales que tienen un momento angular superior al necesario para describir el estado fundamental de cada átomo. Por ejemplo, en el caso del átomo de carbono, se agregan funciones base tipo d y f , mientras que en los metales de transición, se pueden incorporar incluso funciones base tipo p al átomo de hidrógeno. Estas funciones adicionales amplían la capacidad de descripción de los átomos.[59]

3.3.4. Funciones difusas

Las funciones difusas son variaciones “más extendidas” de las funciones tipo s y p convencionales. Facilitan que los orbitales abarquen una región espacial más amplia. Estas bases que incluyen funciones base difusas son cruciales en sistemas donde los electrones se encuentran a una distancia relativamente mayor de los núcleos, como en sistemas en estados excitados, sistemas con un bajo potencial de ionización, o sistemas con una carga negativa considerable.[59]

3.3.5. Bases de Pople

Las bases de Pople son un conjunto de funciones base utilizadas en cálculos de química cuántica para la construcción de orbitales moleculares. Fueron desarrolladas por John A. Pople y su equipo, y se caracterizan por su diseño especial y su nomenclatura única. La designación de estas funciones base sigue un esquema específico que indica cómo están construidas.[59] Las funciones base de Pople se identifican con denominaciones como 6-31G, 3-21G, etc. Esta nomenclatura tiene un significado específico:

El primer número (como “6” en 6-31G) se refiere a las funciones Gaussianas utilizadas para los orbitales internos o del “core”. Los números siguientes (como “31” en 6-31G) describen cómo se dividen las funciones para los orbitales de valencia. Por ejemplo, en 6-31G, se utilizan tres funciones Gaussianas para el primer orbital de valencia y una para el segundo. Variantes como 6-31G(d) incluyen funciones de polarización (funciones d en este caso) para mejorar la precisión en la descripción de la densidad electrónica.[59]

3.3.6. Funciones de Dunning

Algunos de los conjuntos de funciones base más utilizados han sido desarrollados por Dunning y sus colaboradores. Estos conjuntos están diseñados específicamente para permitir que los cálculos post-Hartree-Fock converjan sistemáticamente hacia el límite de un conjunto de base completo utilizando técnicas de extrapolación empírica.[59]

Para átomos de las primeras y segundas filas de la tabla periódica, se usan los conjuntos de base cc-pVNZ, donde N = D (doble), T (triple), Q (cuádruple), 5, 6, etc. El término “cc-” significa “consistentes en correlación polarizada”, y la “V” indica que son conjuntos de base solo de valencia. Estos incluyen capas progresivamente mayores de funciones de polarización (correlación) (*d*, *f*, *g*, etc.). Más recientemente, estos conjuntos de base se han popularizado y son el estado del arte para cálculos correlacionados o post-Hartree-Fock.[59]

Mientras que los conjuntos de base usuales de Dunning son solo para cálculos de valencia, se pueden agregar funciones adicionales que describen la correlación de electrones del núcleo. Estos conjuntos de base de correlación núcleo-valencia (cc-pCVXZ) se pueden utilizar para acercarse a la solución exacta del problema de todos los electrones y son necesarios para cálculos precisos de propiedades geométricas y nucleares.[59]

3.3.7. Potenciales efectivos de core (ECP)

Los Potenciales Efectivos de Core (ECP, por sus siglas en inglés) representan una herramienta esencial para reducir la complejidad computacional al tratar átomos pesados. Estos potenciales están diseñados para tratar los electrones de valencia de forma explícita y los electrones internos de core se remplazan por funciones analíticas, permitiendo que los cálculos se realicen solamente en los electrones más externos, mientras que se omite la descripción explícita de los electrones de core. [60] Este enfoque es particularmente útil para metales, donde la inclusión de todos los electrones en cálculos cuánticos sería prohibitivamente costosa. A lo largo de los años, se han desarrollado diversos ECPs con diferentes niveles de precisión y aplicabilidad, optimizados para distintos conjuntos de bases y métodos cuánticos. [61] El uso adecuado de ECPs puede llevar a resultados altamente precisos con una fracción del costo computacional que los cálculos completos de todos los electrones. Los ECP se representan de la siguiente manera:

El potencial V_{ECP} puede descomponerse en términos angularmente dependientes:

$$V_{ECP}(r) = \sum_{l=0}^{l_{max}} V_l(r) P_l(\cos(\theta)) \quad (3-12)$$

Donde r es la distancia radial del electrón al núcleo, l es el numero cuántico azimutal, l_{max} es

el valor máximo para l considerado en el ECP y $P_l(\cos(\theta))$ son los polinomios de Legendre, que describen la dependencia angular.

La forma específica de los términos $V_l(r)$ depende del método específico y del ajuste empleado para generar el ECP. Sin embargo, típicamente estos términos tienen una forma funcional que puede incluir exponenciales, términos gaussianos o polinómicos.

Por ejemplo, un término gaussiano en un ECP podría tener una forma como:

$$V_l(r) = \sum_i C_i e^{-\alpha_i r^2} \quad (3-13)$$

Donde C_i y α_i son coeficientes determinados por el ajuste del ECP. La suma se realiza sobre un conjunto de términos gaussianos.

La elección de la forma y el número de términos en los ECP es crucial para su precisión. Estos parámetros se ajustan para reproducir las propiedades de átomos o iones en el contexto de cálculos de estructura electrónica de alta precisión.

En la práctica, al usar un software de química computacional, no es necesario definir o ajustar estos parámetros manualmente, ya que hay conjuntos de ECP ampliamente aceptados y tabulados disponibles para muchos elementos. Sin embargo, es vital seleccionar un ECP adecuado para el sistema y el propósito del estudio, y conocer las limitaciones del ECP seleccionado.[61]

3.4. Teoría del Funcional de la Densidad (DFT)

La Teoría del Funcional de la Densidad (DFT, por sus siglas en inglés) es un pilar fundamental en la química cuántica contemporánea que permite tratar sistemas electrónicos desde un enfoque variacional basado en la densidad electrónica, en lugar de funciones de onda. Esta perspectiva resulta en cálculos computacionalmente más eficientes, facilitando el estudio de sistemas de mayor tamaño que aquellos abordables mediante métodos de correlación electrónica tradicionales. La DFT, inicialmente formulada por Hohenberg y Kohn en la década de 1960, [62] sostiene que la energía de un sistema puede ser expresada en función de su densidad electrónica.

La función de densidad electrónica describe la probabilidad de encontrar electrones en una región específica del espacio alrededor de los núcleos atómicos en un sistema molecular o atómico. Matemáticamente, la densidad electrónica $\rho(r)$ en un punto r se define como la probabilidad por unidad de volumen de encontrar un electrón en ese punto. Para un sistema de muchos electrones descrito por una función de onda ψ , la densidad electrónica se obtiene como sigue:

$$\rho(r) = N \int |\psi(r, r_2, r_3, \dots, r_N)|^2 dr_2 dr_3 \dots dr_N \quad (3-14)$$

donde N es el número total de electrones, y la integral se lleva a cabo sobre todas las coordenadas excepto r . Esta definición implica una integración sobre las coordenadas de todos los electrones excepto uno, lo que da como resultado una función que depende solo de la posición de ese electrón. [63]

La idea central detrás de la DFT se puede resumir en el teorema de existencia de Hohenberg-Kohn, que establece que la energía total de un sistema electrónico puede determinarse únicamente a partir de su densidad electrónica. Matemáticamente, esta relación se expresa como:

$$E[\rho(r)] = T[\rho(r)] + E_{ee}[\rho(r)] + \sum V_{ext}(r)\rho(r)dr \quad (3-15)$$

Donde T es la energía cinética, E_{ee} representa la interacción entre electrones y V_{ext} es el potencial entre los electrones y los núcleos.

El atractivo de este enfoque es evidente: en lugar de lidiar con una función de onda, que puede ser una entidad complicada de múltiples dimensiones, se trabaja con la densidad electrónica, una función de solo tres variables espaciales. Sin embargo, la implementación práctica de la DFT no está exenta de desafíos. Uno de los más significativos es cómo tratar la energía de intercambio y correlación, E_{xc} , que encapsula las complejas interacciones entre electrones. La E_{ee} se descompone como:

$$E_{ee}[\rho(r)] = J[\rho(r)] + E_{xc}[\rho(r)] \quad (3-16)$$

Donde J es el funcional de Coulomb.

Para superar este desafío, Kohn y Sham proporcionaron una metodología práctica para calcular la energía que consiste en introducir un sistema de electrones no interactuantes que pueden ser tratados a través de ecuaciones autoconsistentes. [63] Se introdujo un sistema auxiliar de “electrones no interactuantes” a través del formalismo de Kohn-Sham. Estos electrones ficticios se mueven bajo un potencial efectivo y generan la misma densidad electrónica que el sistema real. Las ecuaciones que rigen este sistema son las ecuaciones de Kohn-Sham:

$$\left[\frac{-\hbar^2}{2m_e} \nabla^2 + V_{eff}(r) \right] \psi_i(r) = \epsilon_i \psi_i(r) \quad (3-17)$$

Donde $\psi_i(r)$ es la función de onda del i -ésimo electrón (también llamado orbital de Kohn-Sham), ϵ_i es el i -ésimo valor propio o energía orbital y $v_{eff}(r)$ es el potencial efectivo en el punto r , que se compone de tres términos:

$$v_{eff} = v_{ext}(r) + v_H(r) + v_{xc}(r) \quad (3-18)$$

Donde $v_{ext}(r)$ es el potencial externo, que normalmente es el potencial de atracción de los electrones por los núcleos atómicos, $v_H(r)$ es el potencial de Hartree, que representa la repulsión clásica entre electrones y $v_{xc}(r)$ es el potencial de intercambio-correlación, que incorpora efectos cuánticos de intercambio y correlación entre los electrones. [63]

El término más complicado y menos definido de forma exacta es $v_{xc}(r)$. En la práctica, se usan diferentes aproximaciones para este término, y la elección de una aproximación específica para el funcional de intercambio-correlación es una parte fundamental al aplicar DFT.

Las ecuaciones de Kohn-Sham son resueltas de manera iterativa, ya que el potencial efectivo depende de la densidad electrónica, que a su vez depende de las funciones de onda de Kohn-Sham.

Los funcionales de intercambio y correlación buscan aproximar la energía de intercambio y correlación entre electrones en función de la densidad electrónica del sistema. A continuación, describiremos las formulaciones matemáticas asociadas con los tipos más prominentes de funcionales. [63]

3.4.1. Aproximación de la densidad local (LDA)

El método LDA (Local Density Approximation) es una de las aproximaciones más simples y antiguas para el potencial de intercambio-correlación en DFT. A pesar de su simplicidad, puede proporcionar resultados razonablemente buenos para una amplia gama de sistemas.

En LDA, el potencial de intercambio-correlación $V_{xc}(r)$ se aproxima en función de la densidad electrónica local, asumiendo que la densidad en cada punto es uniforme, como en un gas de electrones uniforme. [64] La energía de intercambio-correlación por electrón en un gas de electrones uniforme es dada por $\epsilon(\rho)$. Entonces, la energía de intercambio-correlación total para el sistema es:

$$E_{xc}^{LDA}[\rho] = \int \epsilon_{xc}(\rho(r))\rho(r)dr \quad (3-19)$$

Dentro del LDA, la energía de intercambio-correlación se divide en dos componentes: el término de intercambio E_x y el término de correlación E_c :

$$E_{xc}^{LDA} = E_x + E_c \quad (3-20)$$

El término de intercambio, para un gas de electrones uniforme, es conocido exactamente y es dado por:

$$E_x[\rho] = -\frac{3}{4} \left(\frac{3}{\pi}\right)^{1/3} \int (\rho(r))^{3/4} dr \quad (3-21)$$

El término de correlación, sin embargo, no es conocido exactamente y debe ser obtenido a través de cálculos cuánticos más detallados o de simulaciones de Monte Carlo cuántico para un gas de electrones uniforme. Se han propuesto varias parametrizaciones para E_c en función de la densidad. [65]

El potencial de intercambio-correlación $v_{xc}(r)$ que se utiliza en las ecuaciones de Kohn-Sham es la derivada funcional de la energía de intercambio-correlación con respecto a la densidad:

$$V_x^{LDA}(r) = \delta E_{xc}^{LDA}[\rho] / \delta \rho(r) \quad (3-22)$$

Para la componente de intercambio, esto se simplifica a:

$$V_x^{LDA}(r) = \frac{4}{3} \epsilon_x(\rho(r)) \quad (3-23)$$

Donde ϵ_x es la energía de intercambio por partícula en el gas de electrones uniforme.

A pesar de que LDA tiene sus limitaciones, como la sobreestimación de los enlaces y la subestimación de las brechas de energía, ha sido útil para una variedad de aplicaciones y sirve como punto de partida para aproximaciones más sofisticadas.

3.4.2. Aproximación del gradiente generalizado (GGA)

La aproximación del gradiente generalizado (GGA) es una extensión y mejora sobre la aproximación de densidad local (LDA) en DFT. Mientras que LDA se basa únicamente en el valor de la densidad electrónica local, GGA también toma en cuenta el gradiente de la densidad, $|\nabla\rho(r)|$, lo que le permite capturar mejor ciertas características de sistemas moleculares y sólidos. [66]

El funcional de energía de intercambio-correlación en GGA puede escribirse como:

$$E_{xc}^{GGA}[\rho] = \int f(\rho(r), |\nabla\rho(r)|) \rho(r) dr \quad (3-24)$$

Aquí, $f(\rho, |\nabla\rho|)$ es una función que depende tanto de la densidad electrónica local $\rho(r)$ como de su gradiente $|\nabla\rho(r)|$.

Al igual que en LDA, el término de intercambio-correlación se divide en componentes de intercambio y correlación:

$$E_{xc}^{GGA} = E_x^{GGA} + E_c^{GGA} \quad (3-25)$$

En GGA, el término de intercambio E_x^{GGA} y el término de correlación E_c^{GGA} se expresan en términos de $\rho(r)$ y $|\nabla\rho(r)|$, y hay muchas variantes de GGA dependiendo de cómo se modelen estos términos. Algunos de los funcionales GGA más populares son PBE, BLYP y PW91, cada uno con su propia forma funcional para $f(\rho, |\nabla\rho|)$.

El potencial efectivo de intercambio-correlación, que se utiliza en las ecuaciones de Kohn-Sham, es la derivada funcional de E_{xc}^{GGA} :

$$V_x^{GGA}(r) = \delta E_{xc}^{GGA}[\rho]/\delta\rho(r) \quad (3-26)$$

En comparación con LDA, GGA tiende a mejorar la descripción de los enlaces químicos y las propiedades estructurales en muchos sistemas, aunque introduce una mayor complejidad en las ecuaciones y en la evaluación del funcional. Sin embargo, como cualquier aproximación en DFT, GGA no es perfecto y puede no ser adecuado para ciertos sistemas o propiedades.

3.4.3. Funcionales meta-GGA

Los funcionales meta-GGA son una extensión de los funcionales GGA en DFT. Mientras que GGA incorpora el gradiente de la densidad electrónica $|\nabla\rho(r)|$, los funcionales meta-GGA incorporan además información de segundo orden, como el laplaciano de la densidad, $\nabla^2\rho(r)$ o el tensor de cinética, que está asociado a la energía cinética promedio de los electrones de Kohn-Sham, $\tau(r)$. [67]

La forma general para el funcional de energía de intercambio-correlación en meta-GGA se puede escribir como:

$$E_{xc}^{meta-GGA}[\rho] = \int f(\rho(r), |\nabla\rho(r)|, \nabla^2\rho(r), \tau(r))\rho(r)dr \quad (3-27)$$

Aquí, $f(\rho, |\nabla\rho|, \nabla^2\rho, \tau(r))$ es una función que depende de la densidad electrónica local, su gradiente, su laplaciano, y el tensor de cinética.

El tensor de cinética, $\tau(r)$, puede expresarse en términos de las funciones de onda de Kohn-Sham:

$$\tau(r) = \sum_i^{ocupados} |\nabla\psi_i(r)|^2 \quad (3-28)$$

Dónde ψ_i son los orbitales de Kohn-Sham.

Al igual que en LDA y GGA, el término de intercambio-correlación se divide en componentes de intercambio y correlación:

$$E_{xc}^{meta-GGA} = E_x^{meta-GGA} + E_c^{meta-GGA} \quad (3-29)$$

Hay varias versiones de funcionales meta-GGA, dependiendo de cómo se modelen los términos en la función f . Algunos ejemplos populares de funcionales meta-GGA incluyen TPSS, revTPSS y M06L.

La ventaja principal de usar meta-GGA sobre GGA o LDA es que se capturan más detalles de la estructura electrónica, permitiendo a menudo una mejor descripción de propiedades electrónicas y estructurales en sistemas más complejos.

3.4.4. Funcionales híbridos

Los funcionales híbridos en DFT combinan la DFT con la teoría HF tradicional. La idea es incorporar una porción del intercambio exacto de Hartree-Fock en el funcional de intercambio-correlación de DFT. Los funcionales híbridos suelen mejorar la descripción de muchos sistemas y propiedades en comparación con los funcionales LDA, GGA o meta-GGA. [68]

Un funcional híbrido general tiene la forma:

$$E_{xc}^{hibrido}[\rho] = (1 - \alpha)E_x^{DFT}[\rho] + \alpha E_x^{HF}[\rho] + E_c^{DFT}[\rho] \quad (3-30)$$

Donde:

- $E_x^{DFT}[\rho]$ es la energía de intercambio de DFT (puede ser LDA, GGA, etc.)
- $E_x^{HF}[\rho]$ es la energía de intercambio exacta de Hartree-Fock.
- $E_c^{DFT}[\rho]$ es la energía de correlación de DFT.
- α es un parámetro que indica la fracción de intercambio exacto de Hartree-Fock incorporado.

El más conocido de los funcionales híbridos es el funcional B3LYP. En el caso de B3LYP, el término de intercambio se compone de una combinación de intercambio exacto de Hartree-Fock, el intercambio LDA y el intercambio GGA (funcional de Becke):

$$E_x^{B3LYP} = 0.2E_x^{HF} + 0.08E_x^{LDA} + 0.72E_x^{Becke} \quad (3-31)$$

El término de correlación en B3LYP combina las contribuciones de correlación de los funcionales LYP y VWN:

$$E_c^{B3LYP} = 0.19E_c^{VWN} + 0.81E_c^{LYP} \quad (3-32)$$

Es importante mencionar que, aunque el uso de funcionales híbridos generalmente mejora la precisión de los cálculos en relación con los funcionales GGA o LDA, también implica un mayor costo computacional debido a la necesidad de calcular el intercambio exacto de Hartree-Fock. Además, vale la pena señalar que hay muchos otros funcionales híbridos en la literatura, y algunos de ellos, como PBE0 o HSE06, han sido diseñados para tratar aspectos específicos de la estructura y la reactividad química.

3.4.5. Funcionales doble híbridos

Los funcionales doble híbridos (DH) representan una categoría más avanzada de funcionales en DFT. Estos funcionales combinan no solo la energía de intercambio exacto de HF (como los funcionales híbridos) sino también incorporan una porción de la energía de correlación post-Hartree-Fock, típicamente proveniente de un cálculo de perturbaciones de segundo orden (MP2). Esta combinación puede proporcionar una precisión superior para una amplia gama de sistemas y propiedades. [69]

La forma general de un funcional doble híbrido puede expresarse como:

$$E_{xc}^{híbrido}[\rho] = (1 - \alpha)E_x^{DFT}[\rho] + \alpha E_x^{HF}[\rho] + E_c^{DFT}[\rho] + (1 - \beta E_c^{DFT} + \beta E_c^{MP2}) \quad (3-33)$$

Donde

- $E_c^{MP2}[\rho]$ es la energía de correlación de MP2
- α y β son parámetros que indican la fracción de intercambio exacto de Hartree-Fock y la fracción de correlación de MP2 incorporados, respectivamente.

Un ejemplo popular de funcional doble híbrido es el B2PLYP. En el caso de B2PLYP, la energía total es dada por:

$$E_{total}^{B2PLYP} = E_{DFT} + 0.53(E_x^{HF} - E_x^{LDA}) + 0.27E_c^{MP2} \quad (3-34)$$

Aquí:

- E_{DFT} es la energía total de DFT usando un funcional específico (usualmente BLYP).
- E_x^{HF} es la energía de intercambio exacta de Hartree-Fock.
- E_x^{LDA} es la energía de intercambio LDA.

Los funcionales doble híbridos suelen ser más precisos que los funcionales GGA, meta-GGA y híbridos tradicionales para una variedad de sistemas y propiedades. Sin embargo, su costo computacional es significativamente mayor debido a la inclusión de términos post-Hartree-Fock. Es fundamental seleccionar el funcional más adecuado en función del equilibrio entre precisión y costo computacional para el sistema y las propiedades específicas de interés.

3.5. Propiedades termodinámicas

El estudio de propiedades termodinámicas se centra en la obtención e interpretación de las energías y funciones termodinámicas de sistemas moleculares a partir de cálculos *ab initio* o semiempíricos. Estos cálculos permiten acceder a parámetros como la energía interna, la entropía, la entalpía y la capacidad calorífica, entre otros, con una precisión que, en muchos casos, es comparable con la obtenida experimentalmente. Un aspecto crucial en este análisis es el uso de las funciones de partición, que juegan un papel fundamental en la conexión entre las propiedades microscópicas y las observables macroscópicas. Las funciones de partición, calculadas a partir de la suma sobre todos los estados energéticos posibles del sistema, permiten derivar las propiedades termodinámicas de interés a través de relaciones matemáticas bien definidas. La teoría de perturbaciones de Møller-Plesset (MPn) y los métodos basados en la DFT son comúnmente empleados para tales propósitos. [57] Mediante técnicas de cálculo cuántico es posible estudiar cómo las moléculas interactúan y reaccionan en diferentes condiciones termodinámicas, lo que proporciona información fundamental para la comprensión de sistemas en condiciones de equilibrio y fuera de él. La inclusión de la termodinámica estadística es crucial en este contexto, ya que al combinar métodos estadísticos con la química cuántica, se puede obtener una visión más detallada y completa sobre el comportamiento termodinámico de sistemas complejos. Este enfoque estadístico, enfatizado por el cálculo de las funciones de partición, permite analizar las fluctuaciones y distribuciones de energías y propiedades en el conjunto de estados accesibles, ofreciendo así una comprensión más profunda de los fenómenos termodinámicos a nivel molecular. [70]

Una aproximación clave a considerar en el análisis termodinámico que realizaremos es que todas las ecuaciones presuponen partículas no interactivas y, por lo tanto, son aplicables solo a un gas ideal. Esta limitación puede introducir cierto error, dependiendo de cuán no ideal sea el sistema estudiado. Además, en lo que respecta a las contribuciones electrónicas, se asume que los primeros y demás estados excitados están completamente inaccesibles. Aunque esta suposición generalmente no presenta problemas, puede causar algunos errores en sistemas con estados excitados electrónicos de baja energía. [70]

3.5.1. Energía vibracional de punto cero

Entender la transición entre los niveles microscópico y macroscópico implica reconocer el carácter esencialmente clásico de la superficie de energía potencial de Born-Oppenheimer. Aunque las energías en puntos específicos se definen mediante coordenadas nucleares fijas, el cálculo de estas energías se realiza a través de técnicas cuánticas enfocadas en la energía electrónica. Interesantemente, al analizar el movimiento de los núcleos sobre esta superficie desde una perspectiva cuántica, se descubre que la energía se encuentra esencialmente encapsulada en las vibraciones moleculares. Esta situación prevalece incluso en condiciones de temperaturas extremadamente bajas, cercanas al cero absoluto, ya que el nivel de energía vibracional más bajo para cualquier vibración restringida no alcanza nunca el valor cero. Este fenómeno subraya la compleja interacción entre los principios cuánticos y clásicos en la comprensión de los sistemas moleculares.[70]

Mediante la aproximación del oscilador armónico, la energía vibracional mas baja se puede obtener mediante la ecuación.

$$E = \left(n + \frac{1}{2} \right) h\omega \quad (3-35)$$

Donde h es la constante de Plank y ω es la frecuencia vibracional.

La energía vibracional de punto cero (ZPVE) se establece a partir de la acumulación de todas las energías correspondientes a cada una de las vibraciones moleculares. Así, la energía interna de una molécula a una temperatura de 0 K puede ser definida en función de este valor. [71]

$$U_0 = E_{elec} + \sum_i^{modos} \frac{1}{2} h\omega \quad (3-36)$$

3.5.2. Función de partición

Dentro del estudio de la mecánica estadística, especialmente cuando se examinan grupos de moléculas, resulta esencial fijar ciertos parámetros macroscópicos a través de influencias externas. Estas condiciones definidas constituyen lo que se llama un “colectivo” el cual nos centraremos en el ensamble canónico. Las variables invariables en este conjunto son el número total de partículas N , que para nuestros propósitos son moléculas, y específicamente moléculas idénticas, además del volumen V y la temperatura T . Este conjunto es frecuentemente referido como el conjunto (N, V, T) . [71]

De forma análoga a la función de onda en la mecánica cuántica, que es esencial para describir sistemas a nivel microscópico, la mecánica estadística posee una función de igual relevancia,

denominada función de partición. En el marco del conjunto canónico, esta función se expresa de la siguiente manera:

$$Q(N, V, T) = \sum_i e^{-E_i(N, V)/k_B T} \quad (3-37)$$

Donde i son todos los posibles estados energéticos del sistema y k_B es la constante de Boltzmann.

Dentro del conjunto canónico, y utilizando definiciones termodinámicas establecidas, obtenemos las siguientes relaciones.

$$U = k_B T^2 \left(\frac{\delta \ln Q}{\delta T} \right)_{N, V} \quad (3-38)$$

$$H = U + PV \quad (3-39)$$

$$S = k_B \ln Q + k_B \left(\frac{\delta \ln Q}{\delta T} \right)_{N, V} \quad (3-40)$$

$$G = H - TS \quad (3-41)$$

En las derivadas parciales se indica que los valores de N (número de partículas) y V (volumen) son constantes respecto a la temperatura (T). Como se puede observar, se presenta un desafío notable en la tarea de definir de manera precisa a Q (la función de partición), de tal forma que se adecue a las necesidades de realizar las derivadas parciales necesarias. En el caso de un conjunto auténtico, la función de partición Q se caracterizaría por ser una entidad compleja, involucrando una interacción entre varios cuerpos y abarcando una extensa gama de niveles energéticos. Así, para progresar en este campo, es necesario recurrir a varias suposiciones simplificadas.[71]

Iniciamos con la premisa de que el conjunto que estamos estudiando representa un gas ideal. Bajo esta suposición y considerando que las moléculas de un gas ideal no tienen interacciones mutuas, nos resulta posible reformular la función de partición de la siguiente manera.

$$Q(N, V, T) = \frac{1}{N!} \sum_i e^{-[\varepsilon_1(v) + \varepsilon_2(v) + \dots + \varepsilon_N(v)]_i / k_B T} \quad (3-42)$$

El factor $1/N!$ se origina en la indistinguibilidad de las partículas según la mecánica cuántica, ε representa la energía total de cada molécula individual. Para simplificar la anterior ecuación la suma se ha modificado de manera que ahora abarca niveles discretos de energía, en lugar de estados individuales.

$$Q(N, V, T) = \left[\sum_k^{Niveles} g_k e^{-\varepsilon_k(V)/k_B T} \right] = \frac{[q(V, T)]^N}{N!} \quad (3-43)$$

y g_k representa la degeneración del nivel k . El término que se encuentra entre corchetes define la función de partición molecular q . Otra implicación de considerar un gas como ideal es que el término PV puede ser reemplazado por $Nk_B T$. En situaciones particulares, como cuando se maneja un mol de moléculas, y N se iguala a N_A (número de Avogadro), es apropiado sustituir PV por RT , siendo R la constante universal de los gases ideales. [71]

Ahora, basándonos en la función de partición molecular q , asumimos que la energía molecular ε se puede representar como una suma desglosable de componentes, específicamente en términos electrónicos, traslacionales, rotacionales y vibracionales.

$$\begin{aligned} q(V, T) &= \sum_k^{Niveles} g_k e^{-[\varepsilon_{elec} + \varepsilon_{trans}(V) + \varepsilon_{rot} + \varepsilon_{vib}]_k / k_B T} \\ &= q_{elec}(T) + q_{trans}(V, T) + q_{rot}(T) + q_{vib}(T) \end{aligned} \quad (3-44)$$

Nuevamente, se aprovecha la capacidad de expresar un exponencial de sumas como un producto de sumas de exponenciales. Las líneas separadas dejan claro que la degeneración de un nivel de energía molecular total es simplemente el producto de las degeneraciones de cada uno de sus componentes. [71]

3.5.3. Función de partición electrónica

Generalmente, calcular la función de partición electrónica es el proceso más fácil. Para una molécula típica singlete con capa cerrada, la degeneración de su estado base es uno. Los estados excitados poseen energías tan elevadas que, especialmente a temperaturas menores a varios miles de grados, su impacto en la función de partición es insignificante, lo que nos permite considerar efectivamente.

$$q_{elec} = e^{-E_{elec}/k_B T} \quad (3-45)$$

Se encuentra frecuentemente que un estado fundamental tiene una multiplicidad de spin mayor que un singlete, aunque los estados excitados siguen siendo tan energéticamente elevados que no influyen en la función de partición electrónica. En estas circunstancias, manteniendo a E_{elec} como el punto cero de la energía, la parte exponencial de la función de partición permanece siendo 1. Sin embargo, la degeneración cambia a $2S + 1$, donde S representa la multiplicidad de spin (1/2) para estados dobletes, 1 para tripletes, etc.). Por lo tanto, la

función de partición se convierte en $2S + 1$. Aunque este valor no afecta la dependencia de la temperatura, y por ende no contribuye a la energía interna, su valor ya no es uno, lo que resulta en una contribución a la entropía. [71]

$$S_{elec} = R \ln(2S + 1) \quad (3-46)$$

3.5.4. Función de partición translacional

Para calcular q_{trans} , consideramos que la molécula se comporta como una partícula dentro de una caja cúbica tridimensional con un volumen de a^3 , siendo a la medida de cada lado del cubo. Los niveles energéticos de este sistema básico de mecánica cuántica se establecen mediante.

$$\varepsilon_{trans}(n_x, n_y, n_z) = \frac{h^2}{8Ma^2}(n_x^2 + n_y^2 + n_z^2) \quad (3-47)$$

Donde M representa la masa de la molécula, y a cada nivel energético le corresponden tres números cuánticos distintos: n_x , n_y y n_z . Dado que los niveles de energía de una partícula en una caja están extremadamente próximos entre sí (especialmente en una caja de tamaño macroscópico), la suma para calcular la función de partición puede ser sustituida por una integral indefinida. Esta integral, a su vez, se puede resolver de forma analítica de la siguiente manera. [71]

$$q_{trans}(V, T) = \left(\frac{2\pi M k_B T}{h^2} \right)^{3/2} V \quad (3-48)$$

3.5.5. Función de partición rotacional

En el caso de una molécula lineal, los niveles de energía rotacional se incluyen en la función de partición rotacional junto con sus degeneraciones respectivas, y se toma el nivel de energía rotacional más bajo como el nivel de referencia cero. Esta suma se puede aproximar con precisión a una integral indefinida a temperaturas 'normales'. Resolviendo esta integral se obtiene un resultado característico para moléculas lineales, el cual es.

$$q_{rot}^{lineal}(T) = \frac{8\pi k_B T}{\sigma h^2} \quad (3-49)$$

Donde σ es 1 para moléculas lineales asimétricas y 2 para moléculas lineales

Resolver la ecuación de Schrödinger para un rotor rígido general, aplicable a moléculas con tres ejes distintos y momentos de inercia relacionados, no es una tarea sencilla. No obstante, al expandir el concepto del problema de rotor rígido en la mecánica clásica, es posible desarrollar una aproximación en la mecánica cuántica que generalmente resulta ser muy acertada. Bajo esta aproximación, la función de partición rotacional se transforma en.

$$q_{rot}(T) = \frac{\sqrt{\pi I_A I_B I_C}}{\sigma} \left(\frac{8\pi^2 k_B T}{h^2} \right)^{3/2} \quad (3-50)$$

Donde I_A , I_B y I_C son los momentos de inercia principales, y σ es el número de rotaciones puras que llevan a la molécula a coincidir consigo misma.

3.5.6. Función de partición vibracional

Para una molécula poliatómica que presenta numerosas vibraciones, aplicamos un método de simplificación a la función de partición vibracional parecido al utilizado previamente para la función de partición molecular: consideramos que la energía vibracional total puede ser representada como una suma de las energías individuales correspondientes a cada modo vibracional. Así, en el caso de una molécula no lineal, resulta que.

$$\begin{aligned} q_{vib}(T) &= \sum_i e^{-[\varepsilon_1 + \varepsilon_2 + \dots + \varepsilon_{3N-6}]_i / k_B T} \\ &= \left[\sum_{j(1)} e^{-\varepsilon_{j(1)} / k_B T} \right] \left[\sum_{j(2)} e^{-\varepsilon_{j(2)} / k_B T} \right] \dots \left[\sum_{j(3N-6)} e^{-\varepsilon_{j(3N-6)} / k_B T} \right] \end{aligned} \quad (3-51)$$

Donde las energías ε_k son los niveles de energía vibracional asociados con cada modo k y hay $3N - 6$ de estos modos en una molécula no lineal ($3N - 5$ en una molécula lineal), donde N es el número de átomos. [71]

3.6. Superficies de energía potencial

Las Superficies de Energía Potencial (SEP) ofrecen una manera visual y teórica de entender cómo la energía de un sistema molecular cambia en relación con la disposición espacial de sus núcleos. Esto se logra mediante la aproximación de Born-Oppenheimer, que distingue entre el movimiento de los electrones y el de los núcleos en una molécula. Las SEP mapean la energía potencial basándose en coordenadas nucleares, incluyendo distancias y ángulos interatómicos, y son herramientas clave para analizar y prever el desarrollo de reacciones químicas. En estas superficies, los puntos bajos corresponden a estados estables de moléculas o complejos moleculares, mientras que los puntos altos o puntos de silla señalan estados de transición, es decir, configuraciones de mayor energía por las cuales un sistema pasa durante un cambio químico. Comprender y estudiar estas superficies es vital para descifrar mecanismos de reacción, identificar barreras energéticas y explorar la dinámica de las transformaciones químicas. [72]

La obtención de SEPs precisas es esencial para la predicción y comprensión de fenómenos químicos a nivel molecular. Diferentes métodos de química cuántica, como la DFT, los métodos post-Hartree-Fock, y técnicas basadas en la teoría de perturbaciones, se emplean para calcular estas superficies. Una vez obtenidas, las SEP se pueden utilizar junto con técnicas de dinámica molecular para simular cómo los sistemas evolucionan con el tiempo y cómo cruzan las barreras de energía, proporcionando así una visión detallada de las reacciones químicas a nivel atómico y molecular. A continuación se presentan las descripciones fundamentales de las SEP. [57]

Para una molécula de N átomos, hay $3N-6$ coordenadas internas ($3N-5$ si la molécula es lineal) que definen completamente su conformación. Así, la SEP es una superficie en un espacio de $3N-6$ dimensiones, lo que la hace difícil de visualizar para moléculas con más de dos o tres átomos. En la práctica, a menudo se consideran cortes bidimensionales o tridimensionales de la SEP para visualizar y entender ciertas propiedades.

Caracterización de la SEP

En toda SEP existen muchos puntos correspondientes a las variadas conformaciones nucleares. De todos estos los químicamente importantes son los llamados puntos estacionarios, para los cuales la primera derivada de la energía respecto a todas las coordenadas es cero. Dentro de este grupo, podemos distinguir dos tipos de estructuras mayor relevancia en reactividad química. [72]

- **Mínimos:** Corresponden a configuraciones geométricas estables, como los reactantes, productos y estados intermedios de una reacción para los cuales las segundas derivadas de la energía con respecto a las coordenadas es siempre cero..
- **Estados de transición:** Son puntos en la SEP donde la energía es mínima en todas las direcciones excepto en una, en la que es máxima y se caracteriza por que todas sus segundas derivadas con respecto a las coordenadas son cero excepto una que corresponde a la coordenada de reacción, cuya segunda derivada es negativa. Tienen especial importancia en la teoría del estado de transición, ya que determinan la barrera de energía que debe superarse para que ocurra una reacción.

Conocer la SEP es crucial para predecir cómo ocurrirá una reacción. Las rutas de reacción se pueden visualizar como trayectorias que conectan reactantes y productos a través de estados de transición. El estudio de estas rutas y las barreras de energía asociadas es esencial para predecir la cinética y la termodinámica de las reacciones químicas.

3.7. Métodos de solvatación

Los métodos de solvatación en química cuántica se utilizan para incorporar los efectos del ambiente químico, en particular de los solventes, en los cálculos teóricos de sistemas moleculares. La incorporación de efectos de solvatación es crucial para obtener resultados que se asemejen a sistemas en condiciones reales, ya que las propiedades y reactividades de las moléculas pueden cambiar significativamente en presencia de un solvente. Existen diversos enfoques para considerar estos efectos: los métodos implícitos, como el modelo continuo polarizable (PCM), [73] donde el solvente se representa como un medio continuo con propiedades dieléctricas que rodea a la molécula de interés; y los métodos explícitos, donde se incluyen moléculas individuales de solvente en la simulación. [71] A menudo, se utilizan combinaciones de ambos enfoques para lograr una descripción más precisa y eficiente del sistema. A medida que la investigación avanza, la importancia de una correcta representación del entorno de solvatación en los cálculos cuánticos se ha vuelto cada vez más evidente, especialmente en estudios relacionados con procesos químicos en solución y en interfaces. [74]

A continuación se describirán algunos métodos que han sido desarrollados para tratar el efecto del solvente en cálculos cuánticos:

3.7.1. Modelo de Continuo Polarizable (PCM)

El PCM es un enfoque comúnmente utilizado. [75] La idea básica es tratar el solvente como un medio dieléctrico continuo y el soluto como una entidad dentro de una cavidad dentro de este medio. La ecuación fundamental en el PCM es la ecuación de Poisson:

$$\nabla \cdot (\varepsilon(r)\nabla\Phi(r)) = -4\pi\rho(r) \quad (3-52)$$

Donde $\varepsilon(r)$ es la permitividad del medio en función de la posición, $\Phi(r)$ es el potencial electrostático y $\rho(r)$ es la densidad de carga.

Se define una superficie de solvatación basada en la densidad electrónica del soluto, denominada superficie de solvatación S . El soluto está dentro de S , y el solvente, modelado como un continuo, está fuera. La energía de solvatación electrostática ΔG_{sol} se puede calcular como:

$$\Delta G_{sol} = \frac{1}{2} \int_s \rho(r)\Phi(r)dr \quad (3-53)$$

3.7.2. Modelo de solvatación basado en la densidad (SMD)

Es un método de solvatación implícita avanzado que combina el tratamiento electrostático del PCM con un tratamiento detallado de efectos no electrostáticos. Este modelo fue desarrollado por Donald Truhlar y colaboradores. En el SMD, la energía libre de solvatación se calcula considerando tanto las interacciones electrostáticas como las no electrostáticas entre la soluta y el solvente. [76]

La energía libre de solvatación en el modelo SMD (ΔG_{solv}), se calcula como la suma de una contribución electrostática y una contribución no electrostática:

$$\Delta G_{solv} = \Delta G_{electrostático} + \Delta G_{no-electrostático} \quad (3-54)$$

La parte electrostática se calcula generalmente mediante un enfoque basado en PCM, donde se soluciona la ecuación de Poisson 3-44. La contribución no electrostática incorpora términos para el efecto de dispersión y el efecto de cavidad, entre otros. Estos términos suelen ser parametrizados para diferentes solventes y se añaden a la energía electrostática para obtener la energía total de solvatación. Aunque no hay una ecuación única que represente esta contribución, en general, se basa en parámetros experimentales y datos empíricos que reflejan las propiedades específicas del solvente.

3.7.3. Métodos de Solvatación Explícita

En estos modelos, se incorporan moléculas de solvente en los cálculos cuánticos. El Hamiltoniano del sistema, \hat{H} , incluye términos de interacción soluto-solvente:

$$\hat{H} = \hat{H}_{soluta} + \hat{H}_{solvente} + \hat{V}_{interaccion} \quad (3-55)$$

3.8. Dinámica molecular clásica

La dinámica molecular (DM) es un método computacional que modela el comportamiento temporal de sistemas moleculares, ofreciendo una visión detallada de las trayectorias atómicas y moleculares en función del tiempo. Este método se basa en las ecuaciones del movimiento de Newton y utiliza campos de fuerza empíricos o construidos mediante métodos cuánticos para representar las interacciones interatómicas, permitiendo la exploración de fenómenos a escalas temporales desde femtosegundos hasta microsegundos. [77] La DM ha proporcionado una comprensión profunda de numerosos procesos biológicos, mecanismos de reacción y propiedades termodinámicas que son difíciles de acceder a través de experimentos tradicionales. [78] A medida que la potencia computacional ha aumentado, junto con la mejora continua de modelos y algoritmos, la DM se ha consolidado como una herramienta

invaluable en campos como la química computacional, la biofísica y la investigación farmacológica.

En la DM clásica, las ecuaciones de movimiento de Newton son fundamentales y se expresan como:

$$F = m * a \quad (3-56)$$

$$a = \frac{dv}{dt} = \frac{d^2r}{dt^2} \quad (3-57)$$

Donde F es la fuerza total en una partícula, m es la masa. a es la aceleración, v es la velocidad y r es la posición.

Para predecir la evolución del sistema se utilizan integradores mediante métodos numéricos como el de Verlet, el cual es una técnica común para integrar las ecuaciones de movimiento. En su forma más simple, el algoritmo de Verlet se puede expresar como:

$$r(t + \Delta t) = 2r(t) - r(t - \Delta t) + a(t) * (\Delta t)^2 \quad (3-58)$$

Donde $r(t + \Delta t)$ y $r(t - \Delta t)$ son las posiciones de la partícula en los tiempos $t + \Delta t$ y $t - \Delta t$ respectivamente, $a(t)$ es la aceleración en el tiempo y Δt es el intervalo de tiempo.

3.8.1. Campos de Fuerza

Los campos de fuerza son modelos matemáticos que describen las interacciones entre átomos y moléculas. Estos son fundamentales para calcular las fuerzas que actúan sobre cada átomo en el sistema, y por ende, para integrar las ecuaciones de movimiento de Newton y obtener las trayectorias atómicas. La expresión de la energía potencial de los campos de fuerza se encuentra descrito por:

$$E_{Total} = E_{enlace} + E_{angulo} + E_{diedro} + E_{electrostatica} + E_{vdW} \quad (3-59)$$

Términos enlazantes

Energía de enlace: Describen cómo se estiran o comprimen los enlaces entre átomos.

$$E_{enlace} = \frac{k_b}{2}(r - r_0)^2 \quad (3-60)$$

Donde k_b es la constante de fuerza de enlace, r es la distancia actual entre los átomos, y r_0 es la distancia de equilibrio.

Energías angulares: Describen cómo cambian los ángulos entre tres átomos consecutivos.

$$E_{\text{ángulo}} = \frac{k_a}{2}(\theta - \theta_0)^2 \quad (3-61)$$

Donde K_a es la constante de fuerza angular, θ es el ángulo actual entre los átomos, y θ_0 es el ángulo de equilibrio.

Energías del ángulo diedro: Describen cómo rotan grupos de átomos alrededor de enlaces.

$$E_{\text{diedro}} = \frac{V_n}{2}(1 + \cos(n\phi - \delta)) \quad (3-62)$$

Donde V_n determina la altura de la barrera de torsión, n es la periodicidad, ϕ es el ángulo diedro actual, y δ es el ángulo de fase.

Interacciones no enlazantes

Interacciones de van der Waals: Las interacciones intermoleculares, como las atracciones de Van der Waals y las repulsiones a corta distancia debidas al principio de exclusión de Pauli, son descritas mediante el potencial de Lennard-Jones. Este potencial es una fórmula matemática utilizada para describir la interacción entre un par de partículas neutras o moléculas. La relevancia de este potencial radica en su capacidad para capturar de manera sencilla pero efectiva el comportamiento de las interacciones entre átomos o moléculas no enlazados.

$$V_{LJ}(r) = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] \quad (3-63)$$

Donde $V(r)$ es el potencial o la energía de interacción entre dos partículas como función de su distancia r , ϵ es la profundidad del pozo de potencial, que indica la fuerza de la atracción; es la energía mínima (negativa) del potencial, correspondiente a la energía de atracción máxima entre las partículas, σ es el diámetro efectivo de las partículas, definido como la distancia a la cual el potencial de interacción es cero. Esencialmente, es la distancia a la cual la repulsión y la atracción se equilibran.

La parte elevada a la duodécima del potencial representa la repulsión entre las partículas y domina a distancias cortas, reflejando el principio de exclusión de Pauli que prohíbe que dos partículas ocupen el mismo espacio. Por otro lado, la parte elevada a la sexta describe la atracción de Van der Waals, que es más relevante a distancias más largas.

Electrostáticas: Las interacciones electrostáticas se calculan como la suma de las interacciones entre pares de cargas puntuales según la ley de Coulomb:

$$E_{elec}(r_{AB}) = \frac{q_a q_b}{4\pi\epsilon_0 r_{AB}} \quad (3-64)$$

Donde q_A y q_B son las cargas puntuales de cada átomo, r_{AB} la distancia entre ellos y ϵ_0 es la constante dieléctrica del medio que los separa.

Las fuerzas se obtienen derivando las ecuaciones de energía potencial con respecto a las coordenadas atómicas. Por ejemplo, la fuerza asociada a un término de enlace es:

$$F_{enlace} = \frac{\delta E_{enlace}}{dr} \quad (3-65)$$

Los campos de fuerza más populares incluyen AMBER, CHARMM, OPLS y GROMOS, entre otros. Cada uno tiene parámetros específicos ajustados para diferentes sistemas y propósitos.

3.8.2. Colectivos

En la DM, los “colectivos” se refieren a diferentes conjuntos de condiciones termodinámicas bajo las cuales se pueden realizar simulaciones. Cada ensamble está caracterizado por un conjunto específico de variables termodinámicas que se mantienen constantes. Algunos de los colectivos más comunes utilizados en dinámica molecular incluyen el colectivo canónico (NVT), el colectivo isotérmico-isobárico (NPT) y el colectivo microcanónico (NVE). [79]

Colectivo microcanónico (NVE)

Variables Constantes: Número de partículas (N), Volumen (V), Energía (E). En este colectivo el sistema está aislado lo que significa que no hay intercambio de energía o partículas con el entorno. En este colectivo se integran las ecuaciones de Newton sin correcciones termostáticas o barostáticas.

$$m_i \frac{d^2 r_i}{dt^2} = F_i \quad (3-66)$$

Donde m_i es la masa de la partícula i , r_i su posición, y F_i es la fuerza que actúa sobre ella.

Colectivo canónico (NVT) Variables Constantes: Número de partículas (N), Volumen (V), Temperatura (T). El sistema intercambia energía (pero no partículas) con el entorno, manteniendo constante la temperatura. Se utiliza un termostato en las ecuaciones de movimiento para mantener constante la temperatura. como por ejemplo el termostato de Langevin:

$$m_i \frac{d^2 r_i}{dt^2} = F_i - \gamma m_i \frac{dr_i}{dt} + \sqrt{2k_B T \gamma m_i} R(t) \quad (3-67)$$

donde γ es el coeficiente de fricción, k_B la constante de Boltzmann, y $R(t)$ un término estocástico.

Colectivo isotérmico-isobárico (NPT) Variables Constantes: Número de partículas (N), Presión (P), Temperatura (T). El sistema puede intercambiar energía y tener cambios de volumen con el entorno, manteniendo constantes la presión y la temperatura. Se utilizan un termostato y un barostato respectivamente. Un ejemplo de barostato es el de Berendsen. Las ecuaciones de Newton se modifican para incluir estos efectos de la siguiente manera.

$$\frac{dV}{dt} = \frac{1}{\tau_P} (P_{ext} - P_{int}) V \quad (3-68)$$

Donde V es el volumen, τ_P es el tiempo de relajación del barostato, P_{ext} es la presión externa y P_{int} es la presión interna del sistema. Este colectivo es ideal para estudiar propiedades termodinámicas a temperatura y presión constantes, como en condiciones ambientales.

Elección del colectivo

En todas estas ecuaciones, se utilizan diferentes métodos para integrarlas numéricamente y obtener trayectorias temporales de las partículas, lo cual permite estudiar las propiedades termodinámicas y dinámicas del sistema modelado. La elección del ensamble adecuado depende del fenómeno específico que se desea investigar y de las condiciones experimentales que se buscan replicar.

3.9. Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular, también conocido como docking, es una técnica computacional utilizada para predecir la orientación y posición de una molécula (a menudo un ligando pequeño) cuando se une a una macromolécula proteica para formar un complejo estable. Esta técnica es esencial en la investigación de diseño de fármacos asistida por computadora (DiFAC) para prever la afinidad y actividad de la molécula pequeña en su sitio de unión en la proteína objetivo. A través del proceso de acoplamiento, se pueden entender cómo las moléculas interactúan a nivel atómico y, por lo tanto, pueden diseñar moléculas con mejor afinidad y especificidad hacia un blanco biológico específico. [80]

Varias herramientas y algoritmos se han desarrollado para el acoplamiento molecular. Estos programas consideran tanto la conformación de las moléculas como las posibles interacciones

electrostáticas, hidrofóbicas y de enlace de hidrógeno entre el ligando y la proteína de interés. El objetivo es identificar la conformación y orientación más favorable, generalmente basada en una puntuación que refleja la energía libre de unión del complejo. A pesar de los avances en el campo, aún existen desafíos, especialmente en la precisión de las predicciones de energía y en la identificación de conformaciones bioactivas. [81] A continuación, se describirán los algoritmos de búsqueda y funciones de score de forma general.

3.9.1. Algoritmos de acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular implica explorar un espacio complejo de configuraciones posibles entre un ligando y un receptor para encontrar la configuración de mínima energía. Varios algoritmos de búsqueda se emplean en este proceso, cada uno con su propia metodología y matemáticas subyacentes. A continuación, se detallan algunos de estos algoritmos.

Minimización de Energía:

El objetivo es encontrar la configuración que minimice la energía total E . Si tomamos la energía potencial $V(r)$ como función de las coordenadas r de las moléculas, la minimización de energía busca:

$$\nabla V(r) = 0 \quad (3-69)$$

Descenso del gradiente:

$$r_{n+1} = r_n - \alpha \nabla v(r_n) \quad (3-70)$$

Donde α es una constante que determina el tamaño del paso.

Monte Carlo (MC):

Este método realiza movimientos aleatorios en el espacio de coordenadas y acepta o rechaza cada movimiento basado en la diferencia de energía ΔE entre el estado nuevo y el actual: [82]

$$\begin{cases} 1 & \text{si } \Delta E \leq 0 \\ e^{-\Delta E/kT} & \text{si } \Delta E > 0 \end{cases} \quad (3-71)$$

Donde k es la constante de Boltzmann y T es la temperatura.

Enfriamiento Simulado (Simulated Annealing):

Es una variante del MC donde las conformaciones de más alta energía se pueden aceptar con la probabilidad de disminuir con la temperatura del sistema, la temperatura del sistema

disminuye gradualmente en el proceso, lo que reduce la probabilidad de aceptar cambios que resulten en energías más altas. La temperatura T se reduce en cada paso según un esquema de enfriamiento. Una forma común de hacerlo es mediante una reducción geométrica. [83]

$$T_{nueva} = \beta T_{actual} \quad (3-72)$$

Donde $0 < \beta < 1$ es un factor de enfriamiento.

Algoritmos genéticos:

Los algoritmos genéticos tratan las conformaciones como “cromosomas” y las “evoluciona”. La función de ajuste se calcula usando una función de puntuación. Sin una ecuación estándar, el proceso generalmente sigue: [84]

- Selección basada en el ajuste.
- Cruce para combinar cromosomas.
- Mutación con una probabilidad P_m para introducir variabilidad.

3.9.2. Función de energía o score de unión

Las funciones de score o de energía en el acoplamiento molecular desempeñan un papel fundamental en la predicción de la afinidad de unión y la orientación de un ligando dentro del sitio activo de un receptor. Estas funciones intentan cuantificar la interacción entre ligando y receptor mediante términos de campos de fuerza, parámetros fisicoquímicos o empíricos dependiendo de la calibración de cada programa. Los términos más utilizados se describen a continuación. [84]

Energía de Van der Waals:

Estas interacciones reflejan las fuerzas de atracción y repulsión de largo alcance entre átomos. El potencial de Lennard-Jones (ecuación 3-56) es una representación común de estas interacciones.

Energía Electroestática:

Estas interacciones se derivan de la ley de Coulomb entre cargas ecuación (3-64).

Términos de desolvatación:

Los términos de desolvatación se refieren a la energía asociada con el proceso de remover moléculas de solvente, generalmente agua, de la superficie del ligando y del receptor durante la formación del complejo ligando-receptor. Estos términos son fundamentales para calcular la energía total de acoplamiento y predecir la afinidad de unión. Sin embargo, la formulación exacta de estos términos puede variar dependiendo del algoritmo de docking y el modelo utilizado. En muchos casos, los términos de desolvatación se modelan empíricamente. Una formulación común es:

$$\Delta G_{desolv} = \sum_{i \in \text{superficie}} \sigma_i A_i \quad (3-73)$$

Donde ΔG es la energía de desolvatación, σ_i es un coeficiente de desolvatación que depende de las propiedades de la superficie del átomo i (como hidrofobicidad o polaridad), y A_i es el área superficial accesible al solvente del átomo i .

Entropía:

La restricción del movimiento del ligando al unirse a un receptor genera una disminución de la entropía. La entropía es compleja de modelar directamente, por lo que a menudo se incluye de forma implícita o se omite, aunque puede incorporarse mediante técnicas de dinámica molecular o modelos estadísticos.

Términos Empíricos:

Dado que las funciones de score buscan ser rápidas y efectivas, a menudo se incluyen términos empíricos ajustados a datos experimentales, que pueden considerar características específicas de la interacción, como la formación de enlaces de hidrógeno, interacciones de tipo $\pi - \pi$, entre otros.

La función total de score suele ser una combinación ponderada de estos términos:

$$S = w_1 E_{vdW} + w_2 E_{electro} + w_3 E_{desolv} + \dots \quad (3-74)$$

Es crucial entender que, aunque estas funciones intentan reflejar la realidad, son aproximaciones. Por ello, es común validar los resultados del acoplamiento con experimentos *in vitro* para garantizar la precisión de las predicciones.

4. Potenciales de reducción de complejos Fe-A β

4.1. Introducción

El hierro tiene un papel relevante en la enfermedad de Alzheimer y esto está relacionado en parte con su capacidad de formar complejos con el péptido A β . Estos complejos participan activamente en la formación de ROS, [3, 85, 86] si el potencial estándar (SRP) es mayor que los agentes reductores naturales presentes en el cerebro (ácido ascórbico, citocromo B, colesterol, entre otros) y por debajo del par O₂/H₂O₂, [45, 28] donde la presencia de ROS es un signo característico de toxicidad en la EA. Sin embargo, el mecanismo a nivel molecular no es del todo claro debido a falta de información experimental y de valores exactos de los potenciales de reducción de los complejos Fe-A β . En este capítulo se presenta un protocolo computacional para el cálculo de SRP de complejos de Fe-A β y el papel de estos complejos en la formación de ROS.

El objetivo principal de esta sección es proponer un protocolo computacional que nos permita obtener valores confiables de SRP para una serie de sistemas modelo de Fe^{2+/3+}-A β que pueden proporcionar algunas ideas sobre el papel de los complejos de hierro en los procesos neurodegenerativos en la enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, el cálculo de estos SRP requiere una apropiada selección del método de estructura electrónica, método de solvatación y una adecuada metodología para el cálculo de los SRP de complejos de hierro. Esto requiere llevar a cabo varios procesos de calibración en los que consideramos los siguientes: *i*) la tercera energía de ionización de hierro (3EI) (*i.e.* Fe²⁺ \rightarrow Fe³⁺ + e⁻); *ii*) los mejores parámetros para incluir el efecto del solvente usando modelos de solvente continuo; *iii*) el cálculo de SRP usando un conjunto de complejos de hierro con el SRP determinado experimentalmente. Finalmente, el protocolo computacional fue aplicado a una serie de complejos Fe^{2+/3+}-A β (Figura 1-4) que representan posibles esferas de coordinación para estos sistemas.[8]

4.2. Detalles computacionales

Para seleccionar la mejor combinación de funcionales y conjunto de bases calculamos la 3EI del hierro usando 51 funcionales de la densidad y 38 conjuntos de bases. Para el cálculo

del SRP, realizamos la optimización de la geometría con el funcional B3LYP y la base 6-31+G(d) para todos los átomos del conjunto de complejos de hierro usados para el proceso de calibración (Figura 4-4). Adicionalmente el cálculo de frecuencias fue llevado a cabo para todas las moléculas considerando el oscilador armónico a 298.15 K considerando un gas ideal a 1 atm de presión. Una vez obtenidas las geometrías optimizadas con B3LYP se llevaron a cabo cálculos de energía con los funcionales y conjuntos de funciones base que mejor reproducían la tercera energía de ionización del hierro. Para verificar que no hay cambios geométricos importantes al utilizar otros funcionales, Reoptimizamos algunos complejos representativos utilizando los funcionales empleados en los cálculos de energía. En estos, encontramos pequeñas diferencias geométricas basadas en el cálculo del RMSD, comparados con las optimizaciones en fase gas calculadas con B3LYP. Los resultados muestran una baja influencia del funcional usado en la geometría de los complejos (Tabla anexo A-5).

Para incluir el efecto del solvente, primero calibramos el modelo del solvente variando el radio de la cavidad y el factor de escala en los complejos $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+/3+}$, ya que para este sistema existe el valor reportado del SRP. Con la mejor combinación de modelos de solvente implícito, radio de solvatación y factor de escala, se realizaron cálculos de energía de todos los complejos del conjunto de entrenamiento con la mejor combinación de funcionales y funciones base obtenidas anteriormente. Finalmente, el cálculo de los SRP fue realizado mediante dos métodos: ciclo termodinámico directo y el método isodésmico.

Todos los cálculos fueron llevados a cabo usando el programa *Gaussian 16* [87] y en todos los casos se exploraron todos los posibles estados de espín del hierro para determinar el estado de mínima energía. En todos los casos se observó que las diferencias de energía entre los diferentes estados de espín son significativas (Tabla anexo A-2,2).

4.3. Resultados

4.3.1. Tercera energía de ionización del hierro

La calibración del método de estructura electrónica y el conjunto de funciones base para el cálculo de la 3EI del hierro fue llevado a cabo usando bases de Pople, [88] Aldrich,[89] Dunning,[90] Krauss [91] y Los Alamos ECP [91] y diferentes métodos de estructura electrónica con diversos tipos de funcionales en el marco de la DFT. Este extenso conjunto de funcionales abarca una variedad que incluye meta-GGA, funcionales con términos de dispersión y correcciones de largo alcance, entre otros aspectos. La figura 4-1 muestra un mapa de calor reducido de la combinación de métodos y funciones base usados para el cálculo de la 3EI del hierro en fase gas con un error máximo del 2%. Una gráfica más completa y con los valores de la energía de ionización para todos los funcionales y las combinaciones de las fun-

ciones base usados pueden ser encontrados en los anexo A. Para todos los casos encontramos configuraciones de alto espín en el estado basal (*i.e.* quintete para Fe²⁺ y sextete para Fe³⁺).

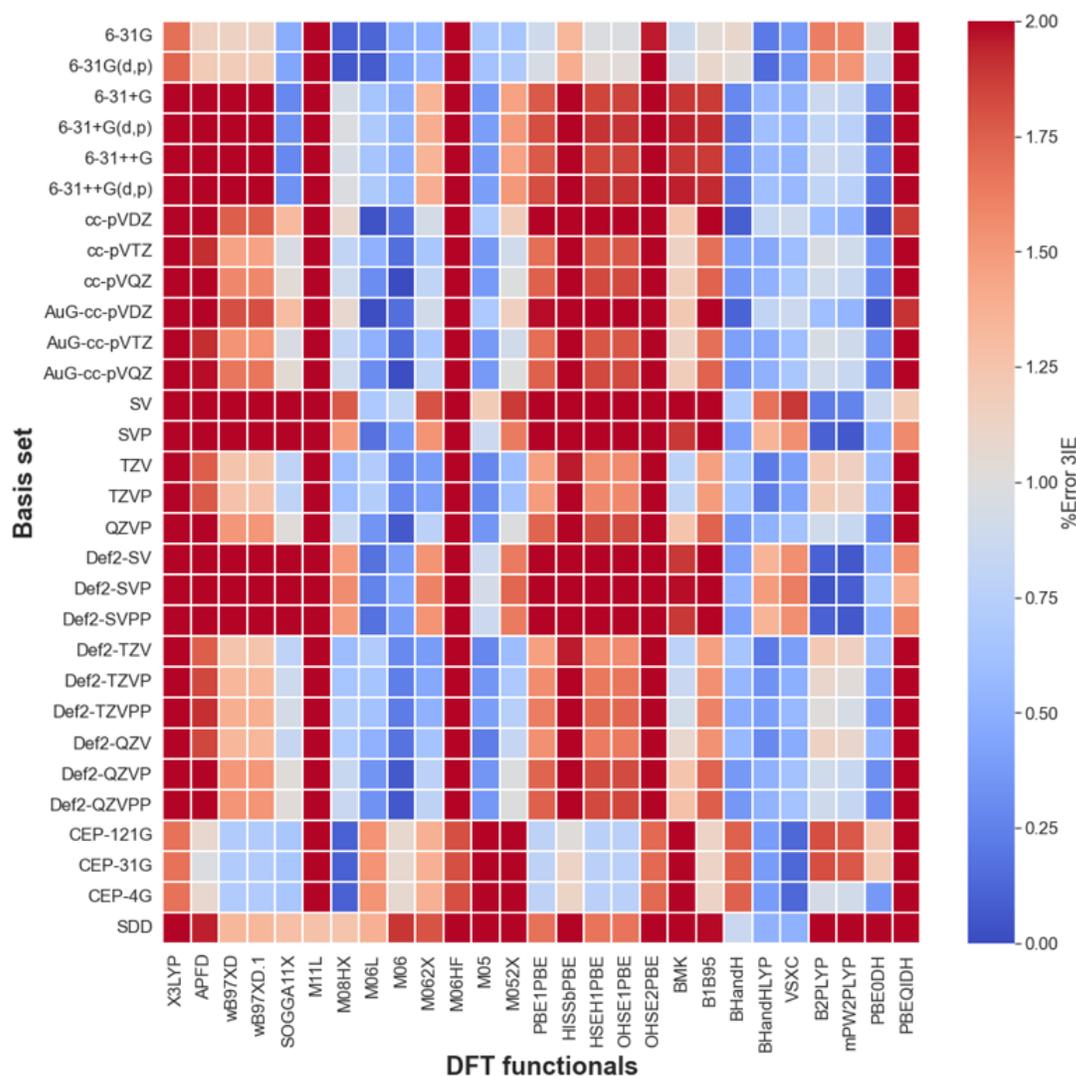


Figura 4-1.: Mapa de calor para el cálculo de la tercera energía de ionización del hierro usando diferentes combinaciones de funcionales y bases. El valor experimental de la tercera energía de ionización del hierro es 707.42 kcal/mol [7]

De acuerdo con la Figura 4-2, los mejores funcionales son los de Minnesota, Half and Half y doble híbridos y las mejores funciones base son las familias de funciones de Pople, Dunning y Aldrich, las cuales proporcionaron el porcentaje de error más bajo comparados con el valor experimental. En la familia de funcionales de Minnesota observamos que funcionales con bajo porcentaje de intercambio Hartree-Fock(HF) puro exhiben mejores correlaciones con el valor experimental de la 3EI. Sin embargo, los funcionales BHandH y BHandHLYP con un 50 % de intercambio HF mostraron buen desempeño. Dentro del conjunto de funcionales puros el funcional VSXC presentó el menor error (0.73 %). Mientras que el funcional doble híbrido

PBE0DH tuvo un error del (0.41 %), lo que está de acuerdo con trabajos computacionales previos de sistemas de metales de transición.[92]

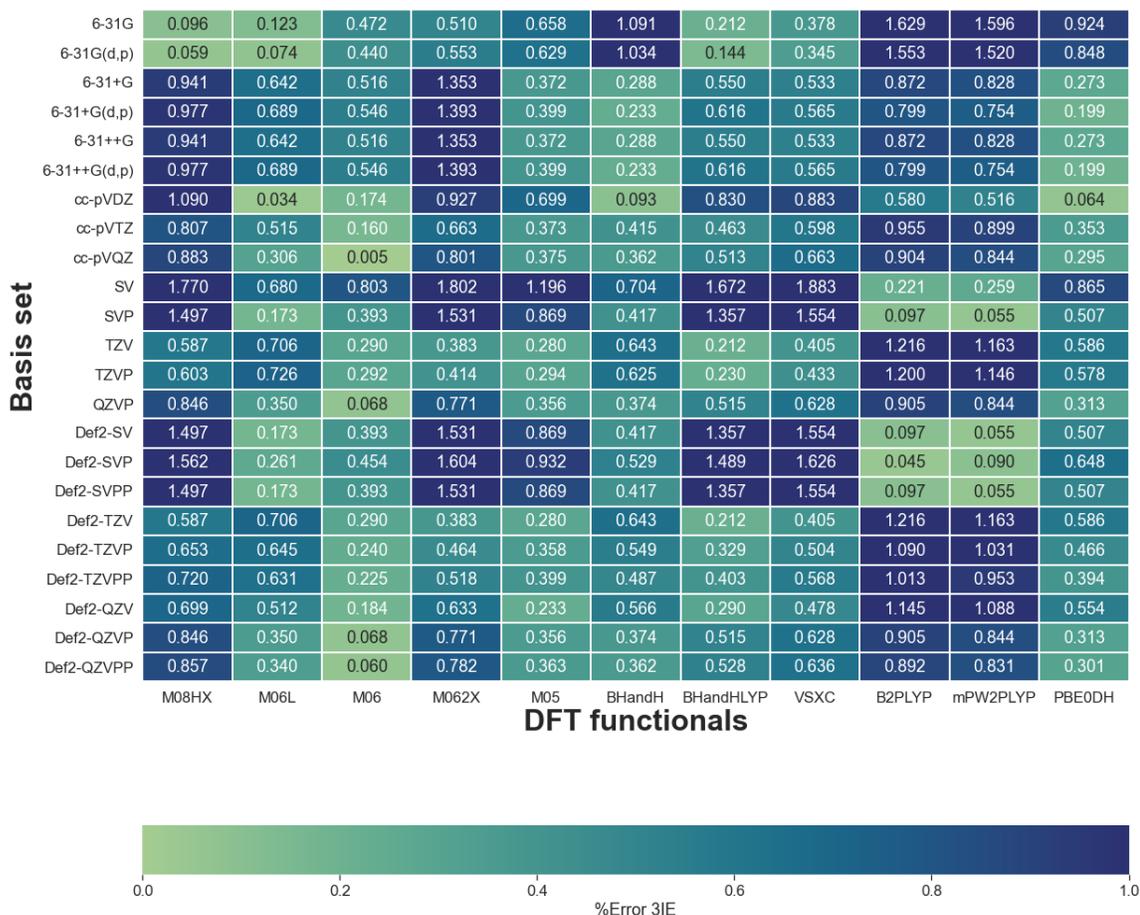


Figura 4-2.: Mapa de calor ampliado para funciones de base y funcionales DFT con porcentajes de error menores al 1%. El valor experimental de la tercera energía de ionización del hierro es 707.42 kcal/mol [7]

Con respecto a las funciones base, se observó que el conjunto de funciones de base de Pople, Dunning y Aldrich dieron los mejores resultados con los funcionales de Minnesota, Half-and-Half y funcionales doble híbridos. Por otro lado, el conjunto de base de Los Alamos sobreestimó la 3EI en la mayoría de los casos. Teniendo en cuenta el menor error de la 3EI, seleccionamos dos diferentes combinaciones de métodos/funciones de base para cálculos posteriores: M06L/cc-pVDZ y M06/cc-pVQZ.

4.3.2. Efecto del solvente

La energía de solvatación es un término relevante en los cálculos de los SRP; esta contribución puede ser calculada usando métodos de solvatación implícita y explícita. Sin embargo, los modelos de solvatación explícita incrementan el costo computacional al considerar todas las moléculas del solvente en el cálculo. El uso de un modelo de solvatación continuo (PCM) [93] simplifica la interacción soluto-solvente usando un medio continuo con propiedades físico-químicas similares. De este modo la energía de Gibbs en solución puede ser calculada de la siguiente forma:

$$G_{sol} = G_{es} + G_{dr} + G_{cav} \quad (4-1)$$

Donde G_{es} representa las interacciones electrostáticas, G_{dr} es el término de dispersión-repulsión y G_{cav} es la energía de la cavidad entre el soluto y el solvente. La influencia de los efectos del solvente y de la cavidad para complejos de hierro fueron previamente explorados por Hyungjun *et al.* [94] Una de las principales conclusiones de ese trabajo es la dependencia del cálculo de los valores SRP con el tamaño de la cavidad.

Una vez seleccionado la mejor combinación de métodos y funciones base para calcular la tercera energía de ionización del hierro, calibramos los parámetros del modelo del solvente: tipo de cavidad y factores de escala para el radio para incluir el efecto del solvente como medio continuo en los cálculos. Para esto usamos el complejo $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+/3+}$ como referencia teniendo su valor experimental de 0.77 V.[95] Para estos cálculos, se realizaron optimizaciones de geometría y cálculos de frecuencias con el método B3LYP/6-31+G(d) en fase gas. Este funcional y base provee una apropiada descripción de la geometría de complejos de hierro. [6] Después de obtener las geometrías se realizaron cálculos de energía en solución usando agua como solvente y los métodos de solvatación implícita PCM,[?] C-PCM[96] y SMD.[76] para estos cálculos, usamos la mejor combinación de funcionales y conjunto de bases obtenidos de la sección anterior para el hierro (*i.e.* M06L/cc-pVDZ y M06/ccpVQZ) y la función base 6-31+G(d,p) para el hidrógeno y el oxígeno. También realizamos cálculos de energía con solvente usando M06/6-31+G(d,p) y B3LYP/6-31+G(d,p) para comparar. Los cálculos de los sistemas $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+/3+}$ con el modelo PCM usando diferentes cavidades y factores de escala se presentan en la Figura 4-3. El estado de mínima energía para el catión del hierro fueron quintuplete y sextete para los complejos de Fe^{2+} y Fe^{3+} , respectivamente.

En general, hemos observado que los cálculos de los SRP para el par $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+/3+}$ muestran un comportamiento consistente en todos los métodos empleados. Todos los valores de SRP aumentan con el factor de escala de la cavidad, De este modo, nuestros resultados muestran que el SRP calculado para el $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+/3+}$ es depende del factor de escala y del radio de solvatación, de acuerdo con reportes previos.[94] En todos los casos el radio UAHF/UAKS sobreestima los valores del SRP, excepto factores de escala de 1.2, donde se

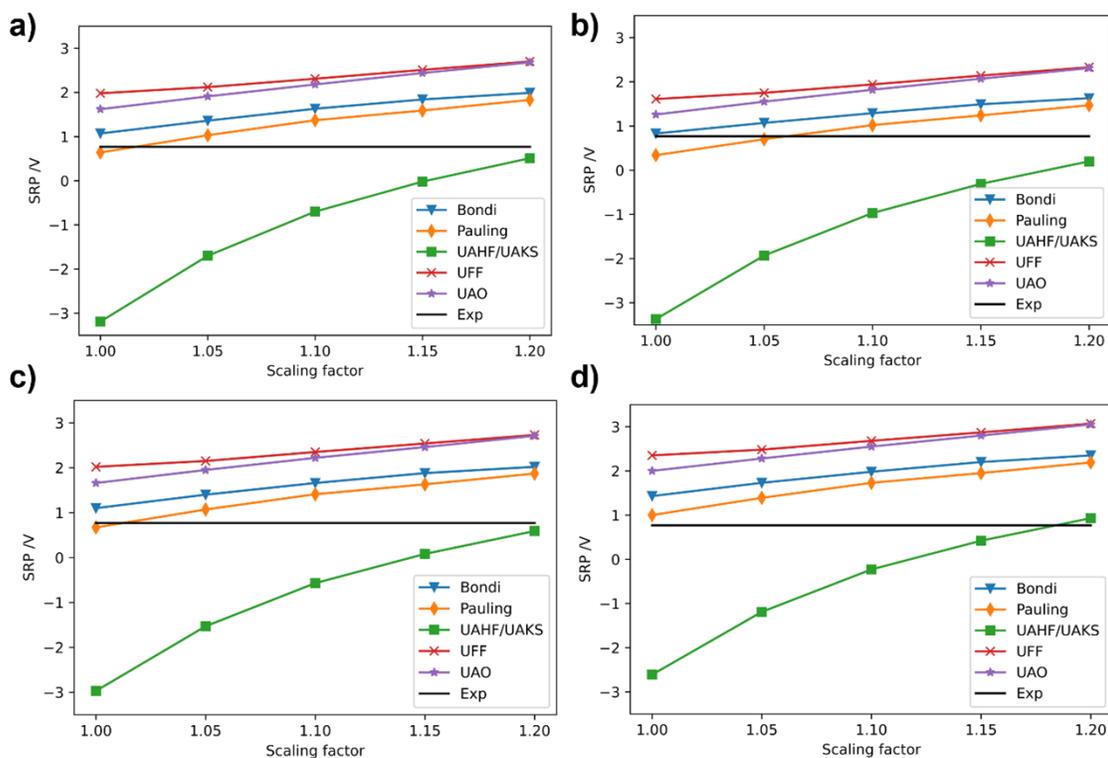


Figura 4-3.: SRP calculado para el par $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+/2+}$ usando a) M06/cc-pVQZ(Fe)-6-31+G(d,p)(O,H); b) M06L/cc-pVDZ(Fe)-6-31+G(d,p)(O,H); c) M06/6-31+G(d,p); d) B3LYP/6-31+G(d,p). La SRP experimental para $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+/3+}$ es de 0.77 V (línea negra continua).

observan valores similares al reportado experimentalmente. En general, el método PCM con radio de Pauling con factor de escala de 1.0 (valor por defecto de 1.1) es la mejor opción para reproducir el SRP para la pareja $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+/3+}$ de todos los métodos revisados. Vale la pena señalar aquí que los mismos cálculos usando el modelo C-PCM dieron las mismas tendencias cuantitativas (Figura A-1).

Además, llevamos a cabo cálculos de energía en solución con las geometrías B3LYP/6-31+G(d) con las combinaciones anteriormente mencionadas de funcionales y funciones base usando el modelo SMD. El resultado es presentado en la Tabla 4-1 donde se puede ver que el modelo SMD reproduce muy bien el valor experimental del SRP donde usando el funcional M06 y M06L y las mismas funciones base usadas en el cálculo de la 3EI. La razón de esto podría ser que el SMD está parametrizado para reproducir energías de solvatación experimentales con la familia de funcionales de Minnesota. Es por esto que el SRP del $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+/3+}$ calculado con B3LYP/6-31+G(d,p) sobreestima el valor del potencial comparado con el valor experimental (1.43 V). Sin embargo, el método M06/6-31+G(d,p) también sobreestima el

Tabla 4-1.: Valores calculados de SRP (V) para el par $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+/2+}$ en diferentes niveles de teoría utilizando el modelo de solvatación SMD.

	M06/cc-pVQZ (Fe) - 6-31+G(d,p) (O, H)	M06L/cc-pVDZ (Fe) - 6-31+G(d,p) (O, H)	M06/6-31+G(d,p)	B3LYP 6-31+G(d,p)
SRP	0.71	0.74	1.10	1.43

valor experimental del SRP, sugiriendo que la función base 6-31+G(d,p) por sí misma no es suficiente para reproducir el valor experimental del SRP de la pareja $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+/3+}$. Teniendo todos estos resultados, observamos que la metodología M06L/cc-pVDZ(Fe)-6-31+G(d,p) reproduce muy bien el SRP de la pareja $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+/3+}$. De acuerdo a estos resultados, SMD y el método M06L/cc-pVDZ (Fe)-6-31+G(d,p) representan un apropiado modelo de solvatación y método para cálculos posteriores.

Vale la pena mencionar que el cálculo de los SRP puede mejorar con la inclusión de moléculas de solvente de forma explícita, lo cual ha sido reportado para complejos de hierro-agua. [97] Sin embargo, esta aproximación requiere una búsqueda conformacional exhaustiva de la posición de las moléculas de agua en la segunda esfera de coordinación por lo cual esto incrementa significativamente el costo de estos cálculos. Por esto Utilizamos el método SMD como modelo de solvente implícito, el cual reproduce con alta precisión el SRP empleando el nivel de teoría M06L/cc-pVDZ(Fe)-6-31+G(d,p) (O,H).

4.3.3. Cálculos de SRP para complejos de hierro

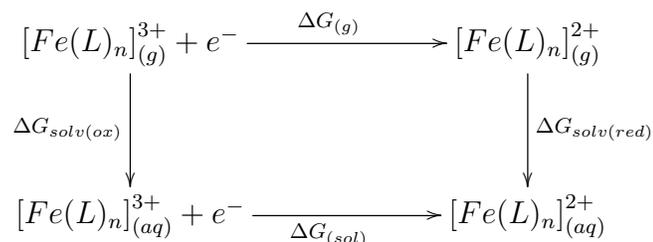
El principal objetivo de este parte del trabajo fue proponer un método para el cálculo de SRP para complejos de hierro relevantes en la enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, el SRP es altamente sensible al entorno químico y al protocolo computacional usado para los cálculos. De este modo, cálculos directos del SRP de complejos de hierro generan errores significativos y, por lo tanto, se necesita un protocolo apropiado que reproduzca mejor los valores experimentales.

Los cálculos de los SRP pueden realizarse usando el método directo e isodésmico. En el método directo el cálculo del SRP implica el cálculo de la energía de Gibbs en disolución y para compararla con el valor conocido de la energía de Gibbs experimental del electrodo de referencia (*e.g.* electrodo estándar de hidrógeno, SHE en inglés). De esta manera, el SRP se calcula usando la siguiente ecuación:

$$E^0 = -(\Delta G^{Fe} - \Delta G^{SHE})/nF \quad (4-2)$$

Donde el primer término ΔG^{Fe} es la energía de Gibbs del proceso de reducción del sistema de hierro calculado y ΔG^{SHE} es el valor experimental de electrodo estándar de hidrógeno

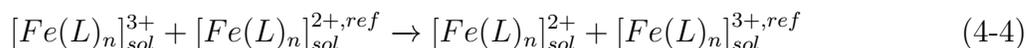
(99.9 kcal/mol).[98] Para sistemas de gran tamaño, la optimización incluyendo efectos del solvente es computacionalmente costosa. Sin embargo, se pueden usar el siguiente ciclo de Born-Haber:[50]



Donde la energía de Gibbs en solución es calculada de la siguiente forma:

$$\Delta G_{sol} = \Delta G_g + \Delta G_{solv(red)} - \Delta G_{solv(ox)} \quad (4-3)$$

En el método isodésmico, la reacción redox se evalúa en relación con un par de referencia específico. Para ser considerado adecuado, este par de referencia idealmente debe cumplir con los siguientes requisitos: *i*) la misma esfera de coordinación; *ii*) mismo número y tipo de enlaces; *iii*) misma carga del centro metálico antes y después de la reducción. Teniendo en cuenta esto la ecuación de reducción puede expresarse de la siguiente forma:



Donde el par de referencia debe corresponder a un sistema con SRP conocido. Para calcular la reacción de oxidación la ecuación 4-4 debe ser considerada en la dirección contraria. Finalmente, el SRP puede ser calculado de la siguiente forma:

$$E^0 = E_{calc}^0 + (E_{exp}^{0,ref} - E_{calc}^{0,ref}) \quad (4-5)$$

En esta ecuación $E_{exp}^{0,ref}$ es el SRP reportado del par de referencia, el $E_{calc}^{0,ref}$ es el SRP calculado para el par de referencia y el E_{calc}^0 es el SRP calculado para nuestro sistema de interés. El método isodésmico ha sido usado para calcular el SRP y el pK_a de complejos de cobalto.[99] [100] Posteriormente, Chaparro y Alí-Torres [101] reportaron una buena correlación entre los valores experimentales y calculados de SRP para una serie de 64 complejos de cobre usando el método isodésmico. La ventaja del método isodésmico está en la cancelación de errores debido a limitaciones en el método de estructura electrónica y de solvente continuo. Sin embargo, la selección del par de referencia con SRP conocido es uno de los principales retos de aplicar esta metodología debido a la poca disponibilidad de valores reportados en la literatura para sistemas de hierro.

Para la presente investigación, seleccionamos un conjunto de 17 complejos de $Fe^{2+/3+}$ (Figura 4-4) con SRP reportado experimentalmente (ver Anexo A-1) como conjunto de entrenamiento para obtener valores de SRP de los complejos de $Fe^{2+/3+}$ -A β . [102] En todos los

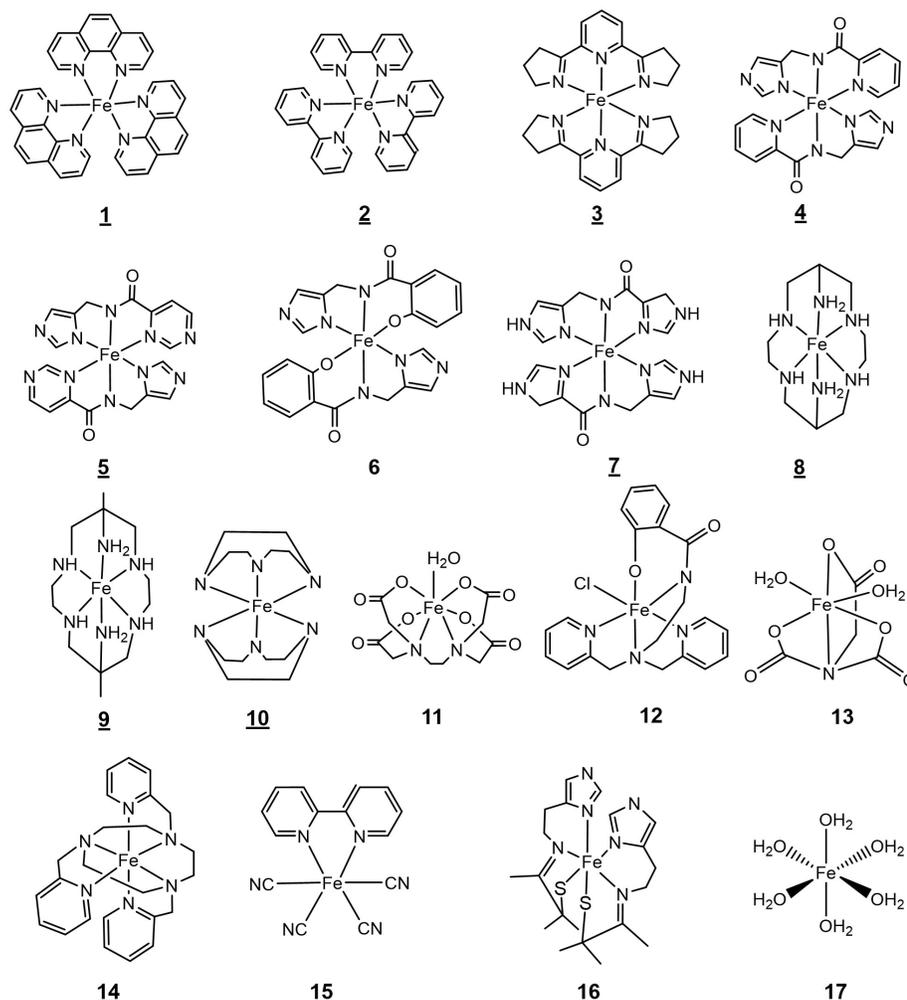


Figura 4-4.: Complejos de Fe^{3+/2+} utilizados como conjunto de entrenamiento para la calibración de los SRP. Las estructuras subrayadas fueron las usadas en el método isodésmico.

casos se realizó el cálculo usando el método directo. Sin embargo, del método isodésmico solo se utilizaron diez de estos complejos teniendo en cuenta los requerimientos de esfera de coordinación similar, estado de oxidación y número/tipo de enlaces comparados con el modelo Fe^{2+/3+}-A β . (Figura 1-4).

El cálculo de los SPR para este conjunto de entrenamiento usando los modelos de solvatación SMD y PCM son presentados en la Figura 4-5 usando los métodos directo e isodésmico. Como puede verse en la Figura 4-5, se logran buenas correlaciones tanto con los métodos como con los modelos de solvatación. En cuanto al modelo de solvatación, se observa que el modelo SMD proporciona mejor correlación y menores errores que PCM con un radio de Pauling y factor de escala de 1.05. Comparando el método directo con el isodésmico, se puede

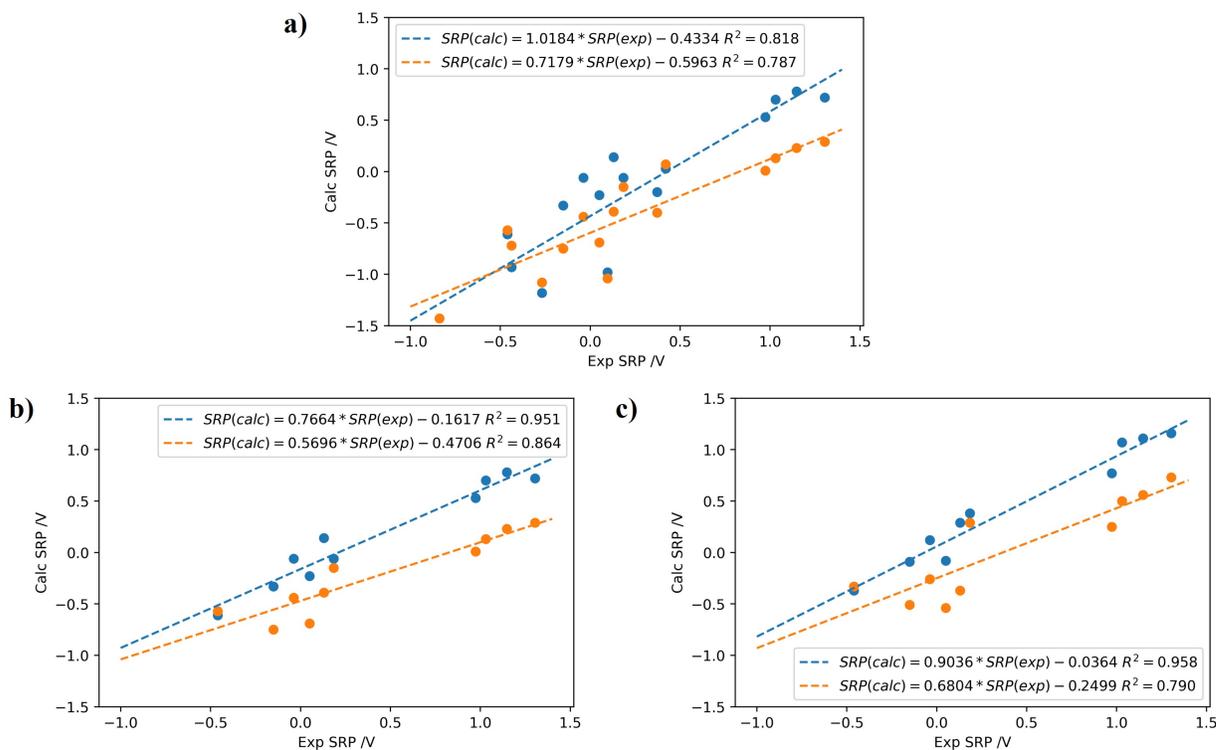


Figura 4-5.: SRP calculados para los complejos de hierro en la Figura 4-4 usando el método M06L/cc-pVDZ(Fe)/6-31+G(d,p) (C,N,H,O); datos en azul: SMD; datos en naranja: PCM con radios de Pauling (factor de escala: 1.05). **a)** método directo con 17 moléculas; **b)** método directo con 10 moléculas utilizados en el método isodésmico; **c)** método isodésmico con 10 moléculas.

inferir de las Figuras 4-5a y c con el modelo SMD que este último muestra una linealidad mejorada, con $R^2=0.95$ frente a $R^2=0.82$ para el método directo. Esto va acompañado de un valor del intercepto mucho más bajo (0.43 frente a 0.04 V). En este caso, observamos que el método isodésmico es el único que da un error por debajo de la incertidumbre experimental esperada para los métodos electroquímicos, es decir $\sim 100mV$.

La Tabla 4-2 muestra los valores detallados de la SRP para los diferentes complejos $Fe^{2+/3+}$ utilizados para la calibración, incluyendo los errores respecto a los experimentales con el método directo y el modelo SMD. Vale la pena señalar que volver a calcular los valores de SRP para todos los complejos en el conjunto de calibración utilizando la fórmula de regresión $SRP_{(calc)} = 1.0184 * SRP_{(exp)} - 0.4334$ conduce a una reducción del promedio del error absoluto en aproximadamente un 55%.

Centrándonos en la Figura 4-5c, se puede ver que el método isodésmico proporciona una

Tabla 4-2.: SRP calculado (V) para los complejos de hierro de la Figura 4-4 usando M06L/cc-pVDZ(Fe) - 6-31+G(d,p) (C,N,H,O,Cl,S) además del método de solvatación SMD y el método directo. Regresión lineal $SPR_{calc} = 1.0184 * SPR_{exp} - 0.4334$ Multiplicidades de espín del estado de mínima energía se encuentran en paréntesis para Fe^{3+/2+} en ese orden. MAE (Error medio absoluto).

Complejo	SRP Experimental	Directo		Regresión Lineal	
		SRP calculado	Error absoluto	SRP calculado	Error absoluto
1 (2/1)	1.15	0.78	0.37	1.19	0.04
2 (2/1)	1.03	0.7	0.33	1.11	0.08
3 (2/1)	1.3	0.72	0.58	1.13	0.17
4 (2/5)	-0.04	-0.06	0.02	0.37	0.4
5 (2/5)	0.18	-0.06	0.24	0.37	0.18
6 (6/5)	-0.84	-1.55	0.71	-1.1	0.26
7 (2/5)	-0.46	-0.61	0.15	-0.17	0.29
8 (2/1)	0.05	-0.23	0.28	0.2	0.15
9 (2/1)	-0.15	-0.33	0.18	0.1	0.25
10 (2/1)	0.13	0.14	0.01	0.56	0.43
11 (6/5)	0.1	-0.98	1.08	-0.54	0.63
12 (6/5)	-0.27	-1.18	0.91	-0.73	0.47
13 (6/5)	0.37	-0.2	0.57	0.23	0.14
14 (2/1)	0.97	0.53	0.44	0.95	0.03
15 (2/1)	0.54	0.03	0.51	0.46	0.09
16 (2/5)	-0.44	-0.93	0.49	-0.49	0.05
MAE			0.43		0.24

buena corrección en los valores de SRP predichos. Esto puede deberse al hecho de que este método cancela los errores debido al cálculo de la estructura electrónica y la descripción del solvente cuando se usa un complejo similar al complejo de interés. De la Tabla 4-2, la regresión muestra cómo el uso del método isodésmico mejora la predicción de los valores de SRP en comparación con el método directo. Esto postula al método isodésmico como una metodología adecuada para los cálculos SRP de complejos de hierro. A partir de estos datos podemos ver que los errores absolutos, tanto el calculado como el estimado con la ecuación de regresión lineal, están por debajo de la incertidumbre proporcionada por los métodos electroquímicos experimentales, y estos errores son significativamente inferiores a los obtenidos aplicando el método directo (Tabla 4-3). Estos resultados confirman que es necesaria una selección adecuada de método, conjunto de bases, modelo de solvatación y ciclos termodinámicos para obtener valores confiables de SRP.

Tabla 4-3.: SRP calculado (V) para los complejos de hierro de usando M06L/cc-pVDZ(Fe) - 6-31+G(d,p) (C,N,H,O) con el método de solvatación SMD y el método isodésmico. Regresión lineal $SPR_{calc} = 0.8773 * SRP_{exp} - 0.0590$. Multiplicidades de espín del estado de mínima energía se encuentran en paréntesis para $Fe^{3+/2+}$ en ese orden. MAE (Error medio absoluto).

Complejo	SRP Exp	Directo	Isodésmico		Regresión lineal Isodésmico		Par de ref
		Error absoluto	SRP calculado	Error absoluto	SRP calculado	Error absoluto	
1 (2/1)	1.15	0.37	1.13	0.04	1.2	0.05	2
2 (2/1)	1.03	0.33	1.05	0.04	1.15	0.12	1
3 (2/1)	1.30	0.58	1.25	0.14	1.26	0.04	14
4 (2/5)	-0.04	0.02	0.52	0.16	0.07	0.11	7
5 (2/5)	0.18	0.24	0.81	0.2	0.37	0.19	4
7 (2/5)	-0.46	0.15	0.39	0.09	-0.48	0.02	5
8 (2/1)	0.05	0.28	-0.17	0.13	-0.16	0.21	9
9 (2/1)	-0.15	0.18	0.17	0.06	-0.17	0.02	8
10 (2/1)	0.13	0.01	0.35	0.03	0.12	0.01	9
14 (2/1)	0.97	0.44	0.34	0.2	0.82	0.16	1
MAE		0.19		0.11		0.09	

Hasta ahora se observa que el método isodésmico muestra un mejor desempeño que el método directo para el cálculo de SRP de complejos de hierro utilizando el modelo de solvatación SMD. Sin embargo, la comparación de los ajustes en las Figuras 4-5-a y 4-5c no es realmente justa, ya que en el cálculo usando el método isodésmico se llevó a cabo con solo diez complejos de hierro, los que tienen un entorno químico más similar a nuestros complejos objetivo $Fe^{2+/3+}-A\beta$ (Figura 1-4). Por lo tanto, desarrollamos una tercera regresión para el SRP de los complejos de hierro usando el método directo, pero incluyendo solo los diez sistemas usados en los cálculos usando el método isodésmico. Los resultados se muestran en la Figura 4-5c para los modelos de solvatación SMD y PCM. Como se observa, nuevamente el método de SMD funciona mejor que el PCM y el ajuste en este caso es casi idéntico al ajuste mostrado en el método isodésmico ($R^2=0.95$ versus $R^2=0.96$). Sin embargo, aunque las regresiones son estadísticamente similares, dos factores están en contra del método directo en comparación con el isodésmico: *i*) una pendiente más baja (0.77 versus 0.91); y *ii*) un error absoluto mayor para la regresión, por encima del valor experimental aceptado (0.43 V versus 0.11 V). Por lo tanto, incluso comparando el mismo conjunto de complejos de hierro con los dos métodos para el cálculo de SRP, notamos que el método isodésmico sigue siendo

mejor para la predicción de los valores de SRP de los complejos de hierro.

Para verificar el efecto del solvente en los cálculos de SRP, se volvieron a optimizar las geometrías de los complejos **8** y **9** en solución (agua) y calculamos sus SRP por métodos directos e isodésmico. Los resultados se muestran en el anexo **A-6**. Observamos pequeños cambios en el SRP calculado y, de hecho, estos efectos son menores cuando se utiliza el método isodésmico. Este acuerdo puede atribuirse a la cancelación de errores debido al uso de un par de referencia en el método isodésmico.

4.3.4. Aplicación a los sistemas Fe^{2+/3+}-A β

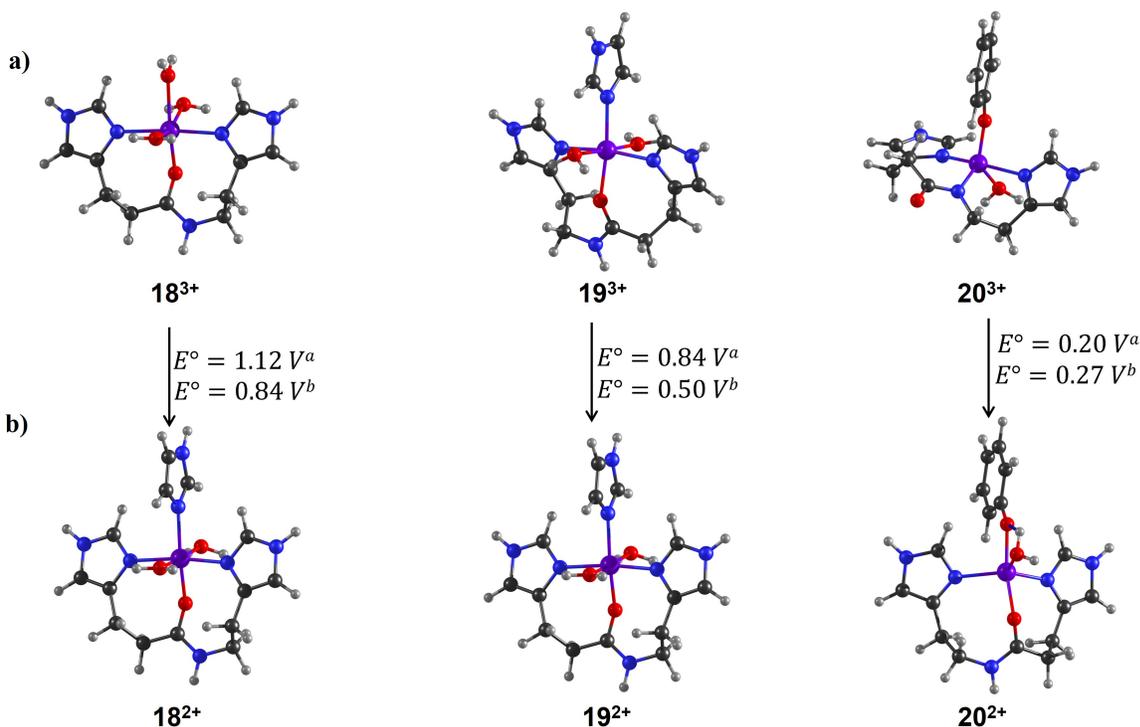


Figura 4-6.: Geometrías optimizadas y valores SRP (V) calculados para una serie de sistemas modelo Fe^{2+/3+}-A β representativos. Para todos los complejos de a) Fe³⁺, el estado de espín del sexteto es el estado fundamental, mientras que para b) Fe²⁺ es el quinteto. ^aDatos reportados en Alí-Torres *et al.* [6] ^bEste trabajo. [8]

Con los resultados obtenidos de las secciones anteriores, utilizamos la regresión obtenida con el método isodésmico $SRP(calc) = 0.9036SRP(exp) - 0.0364$ con el fin de predecir los SRP de algunos sistemas modelo Fe^{2+/3+}-A β relevantes en la enfermedad de Alzheimer. Estos complejos fueron seleccionados porque representan esferas de coordinación plausibles para los complejos Fe^{2+/3+}-A β , de acuerdo con trabajos computacionales previos [6] y de

espectroscopía Raman. [103, 104] Las geometrías para los complejos $\text{Fe}^{2+/3+}-\text{A}\beta$ se optimizaron a nivel B3LYP/6-31+G(d). Las energías relativas de todas las estructuras en todos los posibles estados de espín de los complejos $\text{Fe}^{2+/3+}-\text{A}\beta$ se muestran en el anexo **A-4**. Estas estructuras, así como su SRP calculado, se presentan en la Figura **4-6**. Todos los cálculos de solvatación se realizaron de acuerdo a los resultados obtenidos en la calibración previa.

Los valores obtenidos de estos complejos concuerdan con reportes computacionales previos donde se calcularon valores de SRP usando el método MP2. En este trabajo, el uso del método DFT disminuye el costo computacional, lo que permite el cálculo de SRP de un gran conjunto de complejos de hierro con una precisión similar. Los valores obtenidos para los tres complejos muestran que la coordinación de la tirosina disminuyó el valor de SRP permitiendo la participación de este complejo en el ciclo de formación de ROS que se muestra en la Figura **1-3**. Esto se debe a que es el único par con un SRP inferior al correspondiente al par $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}_2$ (0.30 V)[105]. El protocolo propuesto mostró un buen desempeño en el cálculo del SRP con una buena relación entre precisión y costo computacional.

4.4. Conclusiones

En este capítulo, proponemos un protocolo computacional para calcular el SRP de complejos de hierro utilizando cálculos DFT. La evaluación de 51 funcionales de densidad en combinación con 38 conjuntos de bases mostró que los mejores métodos para reproducir la tercera energía de ionización del hierro fueron los funcionales de Minnesota, Half and Half y doble híbridos, y los mejores conjuntos de bases fueron las familias de Pople, Dunning y Aldrich, ya que proporcionaron el menor porcentaje de error comparado con el valor experimental. De manera similar, el modelo SMD fue el método que mejor reprodujo el SRP para el par $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+/2+}$. Además, el método isodésmico generó mejores SRP de acuerdo con los valores experimentales para una serie de complejos de hierro que el método directo (Error Absoluto Medio: 0.43 V para el método directo y 0.11 V para el isodésmico). Al combinar el funcional M06L con el modelo de solvatación implícita SMD y el método isodésmico, evaluamos tres complejos de hierro que representan las esferas de coordinación de los sistemas $\text{Fe}^{2+/3+}-\text{A}\beta$. Los resultados mostraron que este protocolo reproduce bastante bien los resultados en comparación con aquellos calculados previamente con el método MP2. Esto confirma este protocolo como una herramienta factible para el cálculo del SRP de complejos de hierro.

5. Reactividad de complejos Fe-A β

5.1. Introducción

Como se describió en los capítulos 1 y 4, el hierro desempeña un papel crucial en la formación de ROS a nivel cerebral. Este fenómeno ha sido objeto de numerosas investigaciones, dada su relevancia en procesos neurodegenerativos. El hierro, al estar involucrado en reacciones redox, puede facilitar la formación de ROS, incluyendo el peróxido de hidrógeno y radicales libres, que son dañinos para las células neuronales. Sin embargo, el mecanismo exacto a nivel molecular no ha sido estudiado aún. La complejidad de estos procesos en el cerebro y las limitaciones de las técnicas experimentales actuales han dificultado la obtención de evidencia concluyente.

Por otro lado, el peróxido de hidrógeno, un componente de los ROS, ha sido objeto de estudio en relación con la enfermedad de Alzheimer debido a su papel potencial en los procesos de estrés oxidativo. El estrés oxidativo se refiere al daño celular causado por radicales libres y otras especies reactivas de oxígeno, incluido el peróxido de hidrógeno. En el cerebro, un exceso de peróxido de hidrógeno puede dañar las células nerviosas y contribuir a la neurodegeneración, un rasgo característico de la enfermedad de Alzheimer. Las investigaciones sugieren que la acumulación de peróxido de hidrógeno puede estar vinculada con la disfunción mitocondrial y la alteración de las vías de señalización celular, [29] lo que a su vez puede influir en la formación de placas amiloides y ovillos neurofibrilares, marcas patológicas de esta enfermedad. La interrelación entre el hierro, [15] la formación de ROS y el estrés oxidativo subraya la complejidad de las interacciones moleculares y celulares en la enfermedad de Alzheimer, abriendo vías para investigaciones más profundas y potenciales enfoques terapéuticos.

Además, estudios recientes han explorado cómo la glutatión peroxidasa, que descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, podría tener un papel protector en el contexto de la EA. [106] La disminución de la actividad de enzimas antioxidantes en el cerebro se ha asociado con un aumento de estrés oxidativo y una aceleración en la progresión de la enfermedad. Por lo tanto, estrategias que apuntan a mejorar la actividad de enzimas antioxidantes analogos a la glutatión peroxidasa están siendo investigadas como posibles terapias para mitigar el daño causado por el estrés oxidativo en la EA.[107] En este sentido, la comprensión de la formación de peróxido de hidrógeno en la patogénesis de esta enfermedad podría abrir

nuevas vías para el desarrollo de tratamientos más efectivos.

En este contexto, el objetivo de esta sección es proponer un posible mecanismo de reacción para la generación de peróxido de hidrógeno a partir de un sistema modelo Fe-A β . Estos complejos se han identificado como catalizadores potenciales en el desequilibrio entre la superóxido dismutasa, la cual se encarga de la eliminación del peróxido de hidrógeno, dejándolo libre en el medio celular para posteriores reacciones de Fenton-Haber Weiss y así formar ROS mediante iones de Fe y Cu. [45] Aunque el peróxido de hidrógeno es menos reactivo que otras especies reactivas de oxígeno, tiene la capacidad de atravesar fácilmente las membranas celulares, lo que le permite propagar el daño oxidativo en las células. Comprender este mecanismo podría proporcionar información valiosa sobre la EA, donde la acumulación de complejos Fe-A β se reconoce como un factor contribuyente significativo.



A pesar de los avances en técnicas analíticas y computacionales, aún no se entiende por completo el papel del hierro y los complejos Fe-A β en la generación de ROS en el cerebro. Los estudios *in vitro* han proporcionado alguna información de la participación de los complejos de hierro en la neurodegeneración en la EA. Sin embargo, a nivel molecular no existen mecanismos plausibles para la formación de ROS por lo que el enfoque computacional podría ser clave para conocer este complejo mecanismo a nivel molecular.

5.2. Detalles computacionales

Para iniciar el estudio de reactividad, se partió del complejo **20** en estado de oxidación 3+ del capítulo anterior. Además, se utilizó explícitamente ascorbato (AscOH⁻) como reductor natural del cuerpo a pH fisiológico (Figura 5-1). Aunque en estudios de interacción de complejos metálicos del péptido A β con ascorbato se utiliza de manera implícita mediante su potencial redox en los mecanismos de reacción, [4] en este caso se ha optado por una aproximación explícita.

Todos los intermediarios de reacción fueron optimizados en sus diferentes estados de espín mediante el funcional B3LYP y la base 6-31+G(d,p). Esta elección se debe a la capacidad del funcional B3LYP para proporcionar un equilibrio adecuado entre exactitud y eficiencia computacional además de ser utilizado para la descripción geométrica en diferentes estudios, [108] especialmente en sistemas con metales de transición como el hierro.[6] Además, se realizó el cálculo de frecuencias para confirmar la naturaleza de cada estado estacionario (intermediarios). Este paso es crucial para asegurarse de que las estructuras estudiadas correspondan a verdaderos mínimos en la superficie de energía potencial. Todos los cálculos

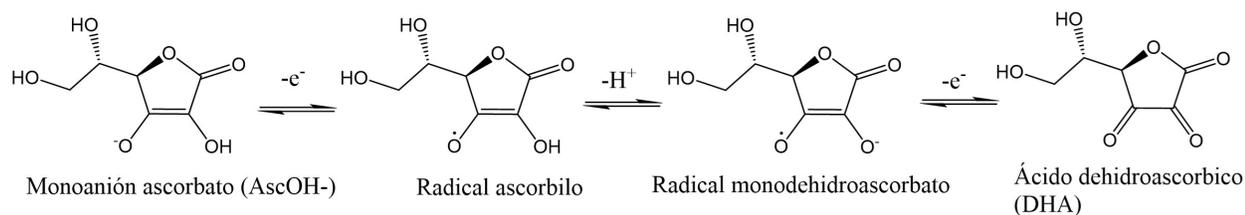


Figura 5-1.: Estados del ascorbato en diferentes condiciones de desprotonación y carga.

fueron realizados con el programa *Gaussian 16*. [87]

Posteriormente, se incorporó el efecto del agua como disolvente utilizando el método de solvatación implícito SMD descrito en el capítulo 4. Este método fue seleccionado específicamente por su eficacia en la reproducción de los SRP. Esta propiedad es especialmente sensible a los cambios en la energía de Gibbs, un factor crítico en el análisis de la reactividad química. Conforme a lo descrito en el capítulo 4, se empleó el funcional M06L en combinación con la base cc-pVDZ para el átomo de hierro (Fe) y 6-31+G(d,p) para los demás átomos, asegurando así una aproximación precisa y detallada en el estudio de la estructura electrónica. [8]

Finalmente, para el cálculo de las propiedades termodinámicas, se emplearon las aproximaciones descritas en el capítulo anterior sección 4.2. Como referencia para todas las energías de Gibbs calculadas para los intermediarios, se tomaron los reactivos iniciales, que consisten en el complejo **20**, el ascorbato y el O₂ en estado triplete. Para los procesos de pérdida de agua, se realizó una corrección termodinámica a la entropía, considerando la descoordinación de una molécula de agua, la cual se calcula como $RT\ln(55.44)$. Para el proceso de protonación o desprotonación, se utilizó la energía de Gibbs de solvatación del protón, que es de -265.9 kcal/mol. [98].

5.3. Resultados

En este capítulo se explorarán diferentes mecanismos de reacción para la formación de peróxido de hidrógeno como modelo de ROS mediada por un modelo del sistema Fe-A β . Para este último, se escogió el complejo **20** (Figura 4-5) ya que es uno de los sistemas de Fe³⁺ con el péptido A β de mayor estabilidad termodinámica, [6] y la reacción a estudiar es la mostrada en la ecuación 5-1. Dadas las limitaciones de evidencias experimentales respecto a la reacción de formación de ROS en el cerebro humano y en estudios *in vitro*, el mecanismo de la reacción mostrado en la ecuación 5-1 usando sistemas de hierro nunca se ha estudiado previamente, ni a través de técnicas experimentales ni computacionales. A continuación se describirán los posibles caminos de reacción para activar oxígeno molecular y a través de reacciones tipo Fenton producir el peróxido de hidrógeno. Cabe resaltar que solo se descri-

birán intermedios de reacción para análisis termodinámico y no se incluirá análisis cinético debido a la gran cantidad de reacciones e intermedios propuestas. Además, no se consideran la formación de especies aniónicas y radicalarias OH^- y OH^\cdot , que resultan de la degradación del peróxido de hidrógeno. Dado que el camino de reacción consiste en una gran cantidad de pasos elementales, este se dividirá en dos partes, la primera concerniente a la coordinación del anión ascorbato (AscOH^-) y su posterior oxidación para reducir al ion Fe^{3+} a Fe^{2+} , y la segunda parte asociada con la coordinación y reducción del O_2 para su conversión a peróxido de hidrógeno. Estas reacciones se pueden resumir de la siguiente forma:



5.3.1. Interacción Fe(III)-A β y ascorbato

En el complejo inicial **20** el hierro tiene estado de oxidación formal de +3, por lo cual el complejo tiene carga total +1. En este, la geometría local alrededor del Fe^{3+} es una pirámide de base cuadrada distorsionada (ver Figura **5-3**), donde el oxígeno del grupo fenóxido (que simula la tirosina), la molécula de agua y dos grupos histidinas forman la base cuadrada distorsionada, y el tercer nitrógeno de la cadena del péptido es el ligando apical. Las distancias del Fe^{3+} a los nitrógenos de los anillos de histidina son 2.13 y 2.16 Å, mientras que la distancia Fe^{3+} al nitrógeno de la cadena es de 1.95 Å. Por otro lado, la distancia de enlace Fe^{3+} -O Ph es de 1.84 Å y el agua se coordina al Fe^{3+} con distancia de 2.30 Å. En este complejo, aunque formalmente el ion Fe^{3+} es un d^5 , los cálculos muestran una densidad de espín de sin 3.96 en el metal, indicando que un electrón de la subcapa d del hierro está deslocalizado, principalmente en el nitrógeno de la cadena peptídica y el oxígeno del ligando PhO^- .

El primer paso de todo el mecanismo es la coordinación del anión ascorbato AscOH^- al complejo **20**, para su posterior oxidación y reducción del Fe^{3+} a una especie de Fe^{2+} . Este paso es necesario ya que se presume, en base a estudios previos con la pareja redox $\text{Cu}^{2+/1+}$, que el metal reducido puede transferir un electrón al O_2 y formar especies superóxido.[4] La Figura **5-2** muestra las estructuras y las energías asociadas a esta primera etapa, y la Figura **5-3** (Anexo complementario **B-1**) muestran las geometrías optimizadas de todos los intermedios. Debido a la cantidad de conformaciones para la interacción inicial del AscOH^- con el complejo **20** se usó el programa CREST [109] para hacer una búsqueda conformacional con el objetivo de determinar las geometrías de menor energía. En este ejercicio se evaluó cerca de 3000 conformeros, los cuales se filtraron y finalmente se escogieron dos isómeros para dicha interacción $\text{Fe(III)}-\text{A}\beta \cdots \text{AscOH}^-$, representados en los complejos **21** y **24** (Figura **5-3**).

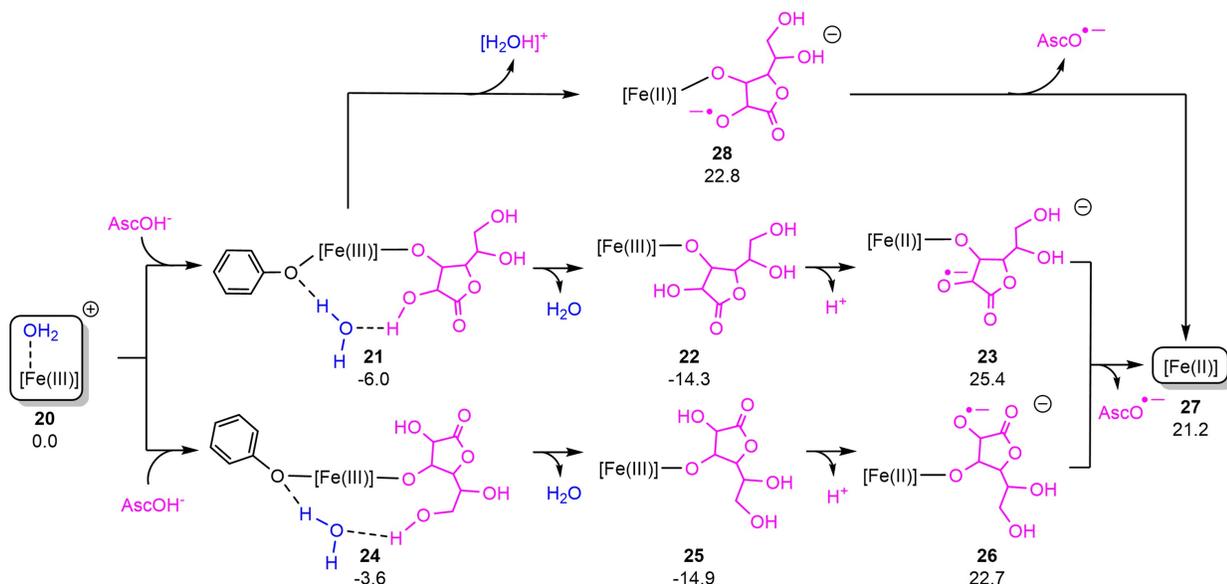


Figura 5-2.: Mecanismo de reacción de la reducción de Fe(III)-A β a Fe(II)-A β mediada por AscOH⁻. El [Fe(n)] representa la coordinación del hierro en distintos estados de oxidación (n) con (N-HisHis) y ⁻OPh. Energías relativas a reactivos (**20** + AscOH⁻ + O₂) en kcal/mol.

En ambos complejos, la coordinación del ascorbato se produjo de forma simultánea con la disociación del agua de la primera esfera de coordinación del Fe³⁺, la cual pasa en dichos complejos a estar en la segunda capa de coordinación. En **21**, el ascorbato se coordina al Fe³⁺ a través del oxígeno aniónico con distancia Fe–O de 2.00 Å, mientras que el otro grupo OH⁻ del ascorbato está a una distancia de 2.82 Å del centro metálico. El agua se estabiliza en la segunda esfera de coordinación a través de interacciones de hidrógeno con el PhO⁻ y el OH⁻ del ascorbato. En este caso, la geometría del complejo sigue siendo pirámide base cuadrada, aunque menos distorsionada que en **20**. En **24**, la geometría del complejo cambia a bipirámide trigonal y el ascorbato se coordina al Fe³⁺ con la misma distancia de enlace que en **21** (2.00 Å), con la diferencia de que el grupo OH⁻ del ascorbato está mucho más alejado del metal (~4 Å) y el agua en la segunda esfera de coordinación interacciona con el PhO⁻ y el OH⁻ terminal de la cadena alquílica del ascorbato. Los dos complejos se forman de manera exérgica a partir de **20** y ascorbato, con energías de -6.0 y -3.6 kcal/mol para **21** y **24**, respectivamente. Se presume que la mayor estabilidad de **21** respecto a **24** es la mayor cercanía entre el Fe³⁺ y el OH⁻ del ascorbato en **21**.

A partir de **21** o **24** se pueden seguir las mismas reacciones para producir la especie de Fe²⁺, para lo cual se requiere la transferencia de un electrón desde el ligando ascorbato al hierro en conjunto con la deprotonación de su grupo OH⁻. Desde **21**, la salida de agua genera **22**, cuya energía respecto a los reactivos aislados es -14.3 kcal/mol. La deprotonación del ligan-

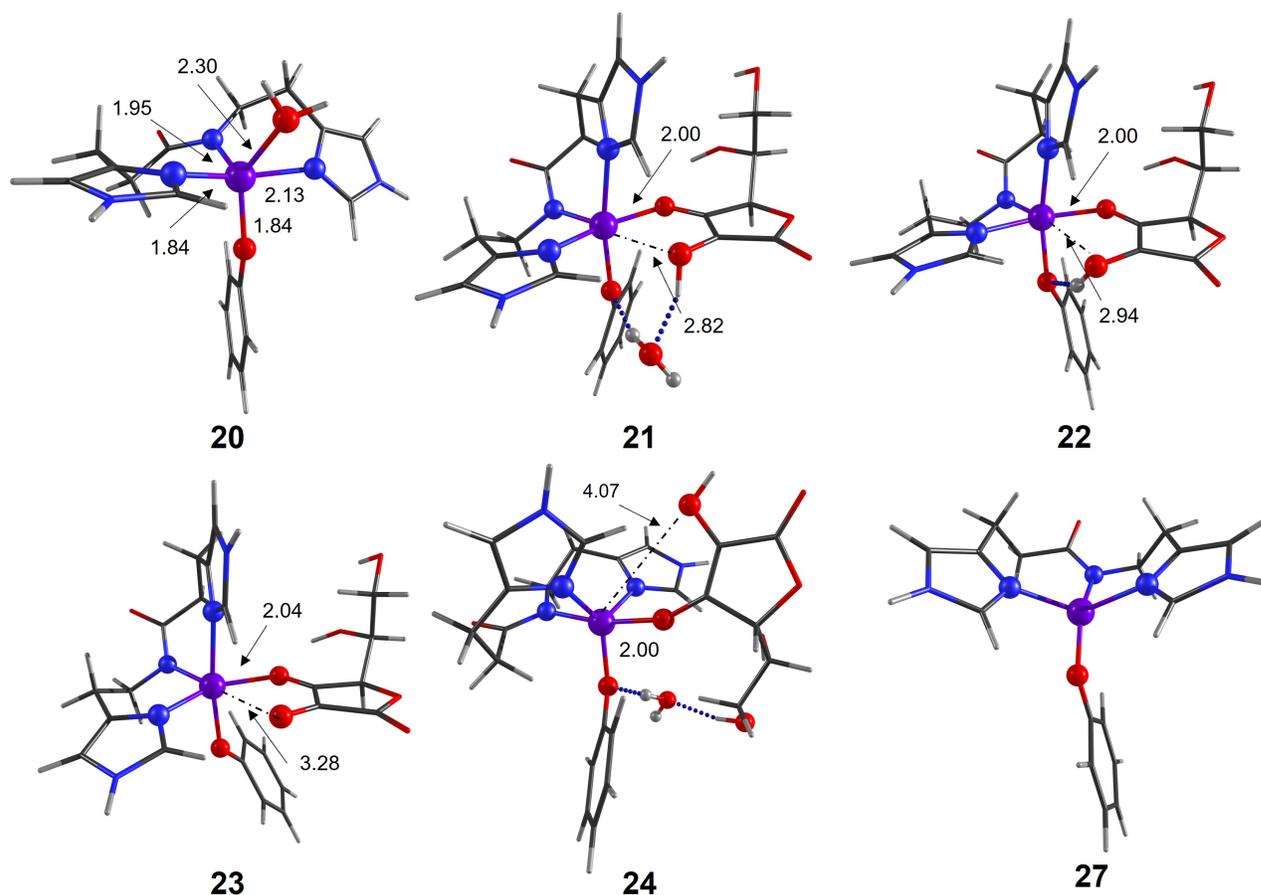


Figura 5-3.: Geometrías optimizadas de los complejos de la interacción del Fe-A β con AscOH $^-$. Distancias en Å.

do AscOH $^-$ produce **23**, en el cual la distancia Fe–O $_{asc}$ es de 2.04 Å y el oxígeno radical del ascorbato está a 3.28 Å del metal. Cálculos de densidad de espín muestran que el electrón desapareado del ligando ascorbil en realidad está deslocalizado sobre la fracción –OCCO \bullet^- cercana al hierro. Este intermedio está a 25.4 kcal/mol por encima de reactivos, por lo cual el paso **22** \rightarrow **23** tiene una energía de reacción asociada $\Delta G_r = \sim 40$ kcal/mol, una energía muy alta para reacciones en fase homogénea a baja temperatura. Desde **23**, la disociación del radical ascorbil es apenas ligeramente exérgica para producir el complejo de Fe $^{2+}$ **27**, cuya energía es de 21.2 kcal/mol. Este complejo se caracteriza por tener una geometría tetraédrica distorsionada alrededor del hierro, asociado a una población de espín de 3.64. Esto indica que tanto Fe $^{3+}$ como Fe $^{2+}$ cargan casi la misma cantidad de electrones en la subcapa d , con la diferencia de que el electrón adicional en el primero está deslocalizado en los ligandos. Desde **24** se obtienen intermedios isómeros de **22** y **23** con energías similares, indicando que las conformaciones de los ligandos ascorbato y ascorbil no influyen de forma significativa en las energías de reacción. Así, las energías de **25** y **26** son -14.9 y 22.7 kcal/mol, con un $\Delta G_r =$

37.6 kcal/mol para la reacción **25** \rightarrow **26**. El complejo **26** presenta las mismas características electrónicas de **23**.

Como rutas alternativas para la formación de **27** se exploraron tres opciones. En la primera se considera la reducción del Fe³⁺ a Fe²⁺ en **21** asistido por agua, generando la especie **28**, que es un isómero conformacional de **23** y **26**. En este caso, es el agua quien abstrae el protón del ascorbato coordinado liberando un ion hidronio. La energía de **30** es de 22.8 kcal/mol respecto a los reactivos iniciales, indicando entonces que el paso **21** \rightarrow **28** es el más demandante termodinámicamente con energía de reacción $\Delta G_r = 28.8$ kcal/mol. Las otras dos rutas alternas se muestran en la Figura **B-3** del Anexo B, y consisten en verificar el orden de salida de los grupos agua y ascorbil en **21** y **24** (Figura **B-3a**) y la eliminación de agua en el complejo inicial **20** (Figura **B-3b**). En el mecanismo descrito en la Figura **5-2** se sugiere primero la salida de agua y luego del ascorbil. Sin embargo, el orden opuesto también es posible, por lo cual se calculó un paso alterno desde **21** (no se explora este camino desde **24** debido a que las rutas de deprotonación desde **21** y **24** son similares energéticamente), donde primero se deprotona el ligando ascorbil. En este caso se forma el complejo **29**, cuya energía es de -8.2 kcal/mol. Sin embargo, a diferencia de **23** o **26**, en **28** los dos oxígenos del ascorbil están coordinados al hierro, con distancias Fe-O de 2.07 y 2.09 Å, mientras que la molécula de agua mantiene interacciones secundarias con el ligando fenóxido. En este caso, la energía de reacción **28** \rightarrow **23** es $\Delta G_r = 33.6$ kcal/mol. En la eliminación del ligando agua desde el complejo inicial **20** se forma el complejo **29**, con energía de -6.0 kcal/mol.

Como se puede comprobar a partir de los cálculos termodinámicos, todas las posibles rutas de reacción para producir la especie de Fe²⁺ **27** pasan por intermedios de alta energía (**23**, **26**, **28**) y la preferencia por una ruta u otra parece depender del orden de eliminación de ligandos agua y ascorbil y la forma cómo se eliminan. De las 3 rutas posibles, la que sigue la formación del intermedio **28** es la más favorable, en donde la brecha más alta para producir **27** es el paso **21** \rightarrow **28** con $\Delta G_r = 28.8$ kcal/mol, mucho más favorable que las otras rutas donde ΔG_r (**22** \rightarrow **23**) = 39.7 kcal/mol y ΔG_r (**25** \rightarrow **26**) = 37.6 kcal/mol. Sin embargo, la energía de reacción asociada entre **21** y **28** sigue siendo muy alta considerando que las reacciones son en fase homogénea y a baja temperatura, por lo cual la formación de la especie de Fe²⁺ parece estar limitada termodinámicamente. Por esto, es necesario buscar otras alternativas más favorables que lleven a la producción del peróxido de hidrógeno.

5.3.2. Coordinación del O₂ y producción de peróxido de hidrógeno

Los resultados obtenidos en la sección anterior muestran que producir una especie de Fe²⁺ libre a partir del complejo de Fe³⁺ **20** es bastante desfavorable termodinámicamente. La formación de dicha especie es necesaria ya que de esta forma el Fe²⁺ puede transferir un electrón al O₂ coordinado y formar la especie superóxido, que a la postre puede formar el

peróxido de hidrógeno. En esta sección se estudiará la coordinación y reducción de O_2 en **27** para formar peróxido de hidrógeno y se exploraran otros caminos alternativos para dicha reacción que eviten la formación de la especie de Fe^{2+} libre. Los mecanismos estudiados se pueden ver en la Figura 5-4, y las estructuras optimizadas de todos los intermedios se pueden ver en la Figura 5-5 y Anexo B-2.

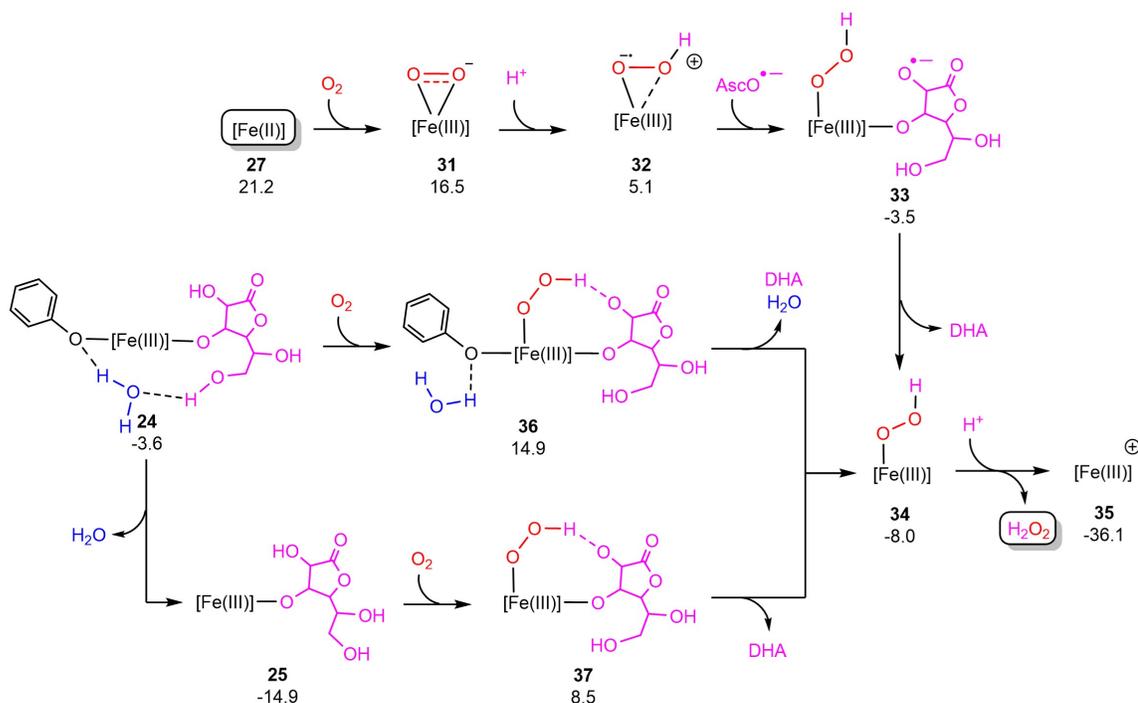


Figura 5-4.: Mecanismo de reacción de formación de peróxido de hidrógeno mediado por el complejo Fe-Aβ. El [Fe(n)] representa la coordinación del hierro en distintos estados de oxidación (n) con (N-HisHis) y ^-OPh . Energías relativas a la de los reactivos (**20** + $AscOH^-$ + O_2) en kcal/mol.

Desde **27** la coordinación de O_2 genera el intermedio **31** donde el O_2 se coordina de lado (modo *side-on*). No se pudo localizar un intermedio donde el O_2 se coordine de forma lineal (modo *end-on*). Esta coordinación es favorable por 4.7 kcal/mol y en **31** las distancias Fe-O del O_2 son 2.04 y 2.22 Å. En este intermedio, la carga natural calculada con el método NBO en el fragmento O_2 coordinado es $-0.49e$, indicando que el O_2 se reduce parcialmente por transferencia de electrones de los orbitales ocupados d_{xy} del hierro al orbital π^* del O_2 , dándole carácter parcial de superóxido al O_2 coordinado, por lo cual dicha especie podría representarse como $Fe(III)-A\beta-O_2^-$. Esta transferencia parcial al orbital antienlazante del O_2 debilita el enlace, lo que se demuestra con la distancia O-O del O_2 en el **31** de 1.32 Å, mucho más larga que la misma distancia en el O_2 libre (1.21 Å). Estas características son similares a las observadas en simulaciones de coordinación de O_2 a complejos de Cu^+ para

producir superóxido.[44] La protonación de **31** lleva a **32** con una ganancia energética de 11.4 kcal/mol, dejando al último con una energía de 5.1 kcal/mol por encima de reactivos. En **32** la distancia Fe–O se acorta a 1.89 Å y la distancia O–O es 1.46 Å. Finalmente, en **33** se produce la coordinación de un ascorbil para dar **33** en una reacción favorable energéticamente. Así, **33** tiene una energía de –3.5 kcal/mol con respecto a los reactivos iniciales.

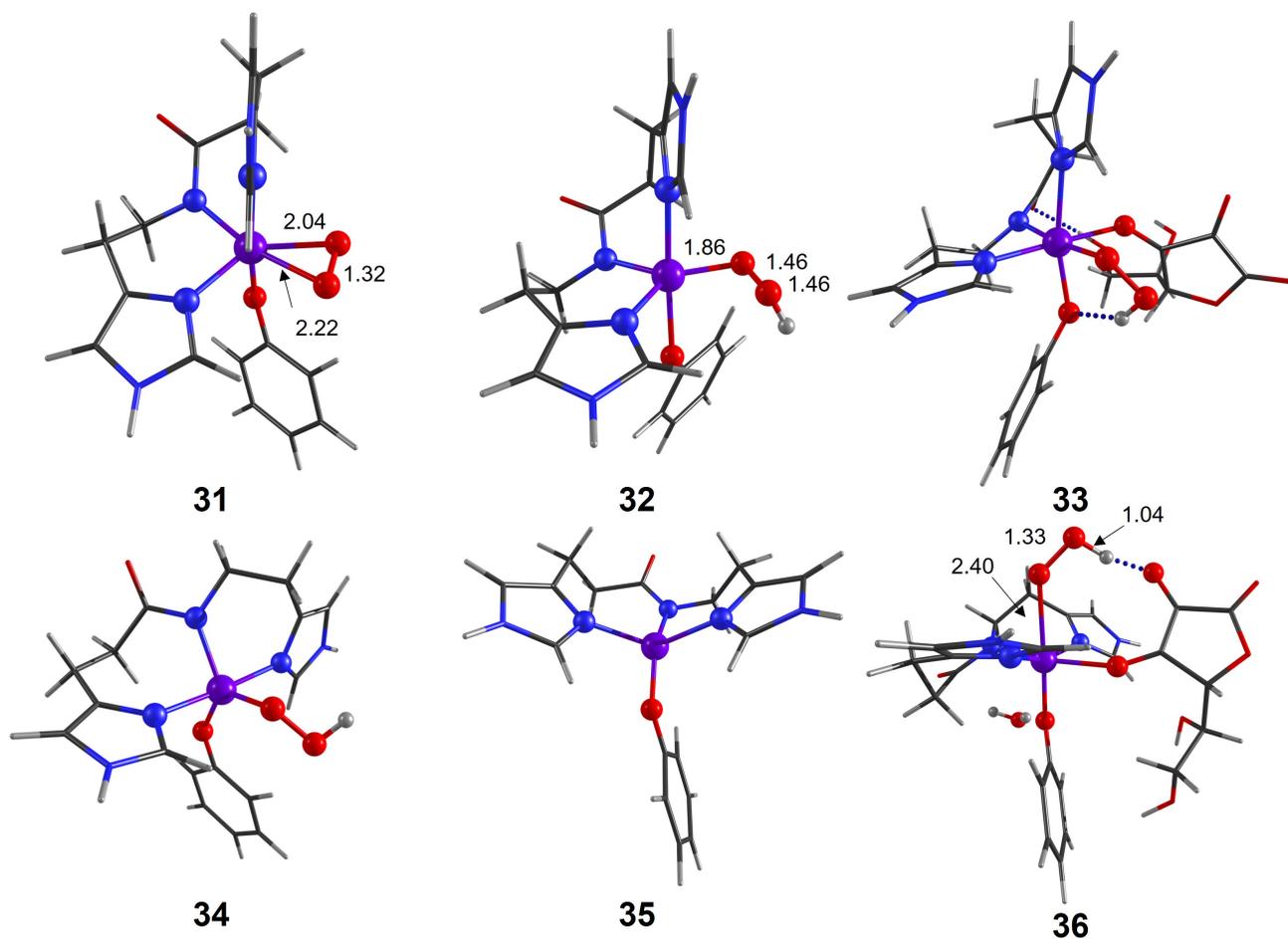


Figura 5-5.: Geometrías optimizadas de la formación de peróxido de hidrógeno mediada por Fe-A β . Distancias en Å.

El papel principal del ascorbil en este paso es del asistir la oxidación del Fe²⁺ a Fe³⁺ con producción de ácido dehidroascórbico (DHA). En este caso se forma **34**, que tiene una energía de –8.0 kcal/mol. Finalmente, la protonación del ligando hidroperoxil en **34** libera el peróxido de hidrógeno en una reacción altamente favorable ($\Delta G_r = -28.1$ kcal/mol). Se puede observar en esta cascada de reacciones desde **27** que el perfil de energía es descendente, lo que indica que la coordinación y reducción de O₂ y posterior formación de peróxido de hidrógeno es altamente favorable. Sin embargo, como se vio en la sección anterior, todo el proceso está

limitado por el cuello de botella termodinámico para formar **27**. Debido a esto, exploramos dos caminos adicionales que evitan la formación de **27** para formar peróxido de hidrógeno. Estos dos caminos inician desde las especies **24** y **25**, donde hemos querido observar la influencia del agua en las energías de reacción. Por un lado, desde **24** la coordinación de O₂ produce **36**, un complejo octaédrico donde el O₂ captura el hidrógeno ácido del ascorbato y forma hidroperoxil coordinado al Fe³⁺. En este caso las distancias Fe–O y O–O son 2.40 y 1.33 Å, respectivamente, mientras que la distancia O–H en el hidroperoxil es 1.04 Å. La energía de **36** es de 14.9 kcal/mol, y la salida de DHA y el agua conecta directamente con el camino descrito anteriormente para generar **34**. Por otro lado, la coordinación de O₂ en **25** genera **37**, un complejo estructuralmente similar a **36** (excepto por el agua). La energía de esta especie es de 8.5 kcal/mol. A partir de este la eliminación de DHA conecta con **34**. Estas dos últimas especies **36** y **37** tienen en general energías más altas que las del primer camino descrito (**31** → **32** → **33**), sin embargo, cabe anotar que éstas se han formado a partir de **24** y **25**, que son especies bajas en energía y se ha evitado la formación de especies altamente inestables como **23** y **26**. Esto quiere decir que los cuellos de botella termodinámicos son ahora $\Delta G_r = 18.5$ kcal/mol para el paso **24** → **36** y $\Delta G_r = 23.4$ kcal/mol para el paso **25** → **37**. Estos valores son significativamente más bajos que los calculados en la sección anterior donde se buscó formar **27**, y por tanto, estos últimos mecanismos son los más probables para la reacción considerada en este capítulo.

5.4. Conclusiones

Se puede concluir entonces que para el caso de los sistemas de Fe(III)-A β , el mecanismo de reacción más probable consiste en la interacción y coordinación inicial del ascorbato, generando la especie **24**. Esta coordinación inicial es crucial, ya que establece las bases para las reacciones subsiguientes. Posteriormente, se da la coordinación de O₂ para generar la especie **36**, simultáneamente con la transferencia del H⁺ del ascorbato al oxígeno terminal estabilizando esta especie. Esto es un paso significativo que implica la activación del oxígeno molecular, un aspecto fundamental en la química de estos sistemas. A partir de la especie **36**, se pueden eliminar DHA y agua para generar especies de tipo hidroperoxil **34**. Este paso es particularmente interesante, ya que la formación de especies hidroperoxil podría tener implicaciones importantes en el contexto biológico, dado su potencial papel en procesos de estrés oxidativo y daño celular. Finalmente, el proceso culmina con la formación de peróxido de hidrógeno, como se resume en la Figura 5-6. Cabe resaltar que aunque la reacción presenta un cuello de botella termodinámico en la especie **36** la producción de peróxido de hidrógeno es altamente favorable ($\Delta G_r = -36.1$), considerando su relevancia en diversos procesos patológicos y neurodegenerativos. Además, este resultado aporta a la comprensión de cómo los sistemas de Fe(III)-A β podrían influir en la homeostasis del hierro y el equilibrio redox en el cerebro.

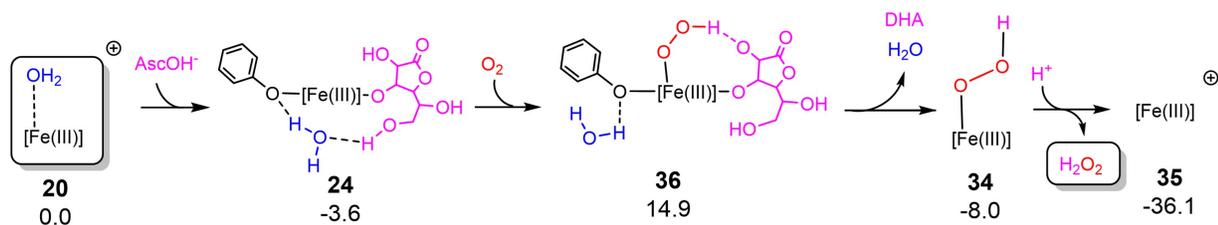


Figura 5-6.: Mecanismo de reacción más favorable para la formación de peróxido de hidrógeno mediada por Fe-A β y AscOH⁻. El [Fe(n)] representa la coordinación del hierro en distintos estados de oxidación (n) con (N-HisHis) y ⁻OPh. Energías relativas a reactivos (**20** + AscOH⁻ + O₂) en kcal/mol.

Finalmente, este estudio aporta significativamente a la comprensión del mecanismo de reacción de los sistemas de Fe(III)-A β , subrayando la importancia de la coordinación de ascorbato y oxígeno, y la generación de especies reactivas de oxígeno. Estos hallazgos tienen implicaciones tanto en el ámbito de la química bioinorgánica como en el entendimiento de la EA, marcando un primer paso en la investigación de la reactividad de los sistemas de Fe-A β .

6. Productos naturales en la enfermedad de Alzheimer

Ante la urgente demanda de tratamientos innovadores y eficaces, los productos naturales han emergido como opciones terapéuticas con gran potencial en la enfermedad de Alzheimer. Los tratamientos con propiedades neuroprotectoras han evidenciado que tanto los derivados animales, por ejemplo los ácidos grasos omega-3, como los compuestos vegetales pueden reducir la toxicidad celular y presentar propiedades antiinflamatorias. [110] Los fitoquímicos, gracias a sus características antiinflamatorias, antioxidantes y neuroprotectoras, y sus escasos efectos adversos, muestran una capacidad prometedora para combatir y prevenir la neurodegeneración en la EA. [111] Además, los productos naturales desempeñan un papel en la gestión del estrés mitocondrial, en la neutralización de radicales libres y en la modulación de factores apoptóticos y neurotróficos. [112] La inflamación intensifica la evolución de la EA, impulsando la neurodegeneración [111] de tal manera que la intervención precoz y el control de la inflamación pueden representar estrategias valiosas para tratar o aliviar síntomas de la EA.

La curcumina es un producto natural con amplias propiedades terapéuticas. Este polifenol ha sido relacionado como una nueva alternativa contra la EA.

6.1. Curcuminas

La curcumina (Figura 6-1) se halla en el rizoma de la *Curcuma longa* y es reconocida como una molécula pleotrópica. Sin embargo, a pesar de sus beneficios, enfrenta retos, como su baja biodisponibilidad a causa de su solubilidad limitada en agua y su inestabilidad en pH fisiológico, transformándose en ácido ferúlico, vainillina, dehidrozingeron y glucurónido de curcumina. Estos factores presentan desafíos actuales en la investigación farmacológica de la curcumina. [41, 42, 43] A pesar de ello, la curcumina ostenta diversas propiedades terapéuticas. Debido a esto se ha centrado su interés en sus propiedades antiagregantes y

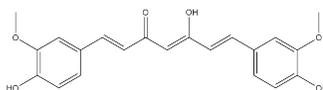


Figura 6-1.: Estructura 2D de la curcumina.

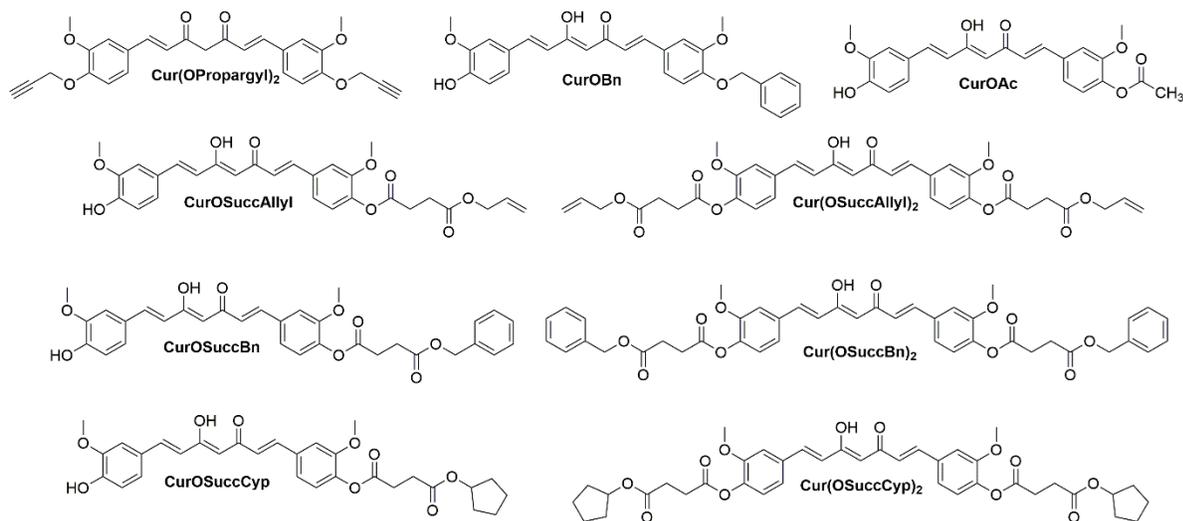


Figura 6-2.: Estructura 2D de los derivados de curcumina.

antiinflamatorias, buscando caminos terapéuticos alternativos para la EA. [33, 113] En donde recientes publicaciones se han orientado a la síntesis de derivados de curcumina, con el propósito de mejorar su biodisponibilidad y potenciar su actividad neuroprotectora. [33] Si entendemos las interacciones químicas esenciales para la actividad antiagregante, los resultados con curcumina y sus derivados podrían optimizarse aún más. Desde esta óptica, se presenta el estudio de acoplamiento molecular y dinámica molecular (DM) sobre la interacción de nueve derivados inéditos de curcumina, con monómeros $A\beta_{40}$ y $A\beta_{42}$ y fibrillas $A\beta_{42}$, con el fin de identificar moléculas potenciales que inhiban la cinética de agregación de $A\beta$.

6.1.1. Metodología

Para analizar la interacción entre los derivados de curcumina y los monómeros $A\beta_{40}$ y $A\beta_{42}$, así como con los modelos de fibra $A\beta_{42}$, partimos de los derivados de curcumina recientemente descritos por Lakey-Beitia *et al.* presentados en la Figura 6-2. [1]

La geometría de estos derivados se optimizó utilizando el funcional de densidad B3LYP-D3BJ, el cual incluye la corrección por dispersión, y el conjunto de bases 6-31+g(d). Se consideró el efecto del solvente (agua) como un continuo usando el modelo de solvatación (SMD) [76]. Todos estos cálculos se efectuaron con el conjunto de programas Gaussian 16. [87]

Para comprender las bases moleculares detrás de las propiedades antiagregantes de estas moléculas, llevamos a cabo simulaciones de acoplamiento molecular con tres modelos del péptido $A\beta$ obtenidos por resonancia magnética nuclear (RMN) y registrados en el *Protein Data Bank* (PDB): dos correspondientes a $A\beta_{40}$ (códigos PDB: 1AML, 1BA4) [114, 115] y uno a $A\beta_{42}$ (código PDB: 2BEG). Previo al proceso de acoplamiento, ejecutamos simulaciones

de dinámica molecular para los tres péptidos $A\beta$ con el fin de identificar las conformaciones más estables y considerar la notable flexibilidad de estas estructuras. Adicionalmente, para profundizar en cómo estos compuestos interactúan con las fibras $A\beta_{42}$ analizamos la relación entre las diez moléculas y los modelos de fibras $A\beta_{42}$. Los detalles de estos análisis se muestran a continuación.

Dinámica molecular $A\beta$

Dada la considerable flexibilidad de los monómeros $A\beta$, se llevaron a cabo simulaciones de dinámica molecular para determinar las conformaciones más estables durante el proceso de acoplamiento molecular. Todas las simulaciones DM se efectuaron utilizando el paquete Amber 18. [116] La preparación del sistema se hizo mediante tleap, siguiendo estos parámetros: los monómeros $A\beta$ fueron caracterizados con el campo de fuerza amber FF14SB [117] se introdujo solvente a través del modelo de agua TIP3P en un entorno periódico y se estableció una concentración de cloruro de sodio (NaCl) de 0.15 mM.

El protocolo de simulación comenzó con la minimización de energía del sistema para evitar tensiones en la estructura, como átomos demasiado cercanos o ángulos y enlaces distorsionados, que pueden causar alteraciones en la simulación. Seguido de esto se realizó una simulación DM de 2 ns en un colectivo NVT para calentar gradualmente el sistema de 0 a 300 K. Posteriormente, la densidad del sistema se equilibró mediante una simulación DM de 5 ns en un colectivo NTP. Por último, se realizó una fase de producción de 100 ns utilizando un conjunto NVT para explorar el espacio conformacional del péptido $A\beta$. Adicionalmente, se realizaron 5 réplicas de 100 ns de la etapa de producción. Usamos Visual Molecular Dynamics (VMD) [118] para visualizar y estudiar las trayectorias, y el paquete CPPTRAJ [119] para su análisis. Con el objetivo de escoger las conformaciones más estables destinadas al acoplamiento molecular, aplicamos el algoritmo de agrupamiento K-means [120] estableciendo 10 centroides y posteriormente los examinamos usando PyMOL. [121]

Acoplamiento molecular entre los curcuminoides y el péptido $A\beta$

Para conocer las interacciones entre el péptido $A\beta$ y los derivados de curcumina, se llevaron a cabo acoplamientos de la curcumina y sus derivados con diez estructuras representativas de cada modelo de monómero $A\beta$. Los puntajes de acoplamiento se representan como un promedio ponderado de las diez conformaciones, determinadas mediante un algoritmo *k-mean* basado en la similitud de la Distancia Cuadrática Media (RMSD) a lo largo de la DM. Con el objetivo de identificar el sitio de unión óptimo en los modelos $A\beta$, recurrimos a un consenso derivado de tres herramientas de acoplamiento: AD4 [122], Vina [123] y Smina (utilizando la función de puntuación vinardo) [124]. La preparación de los modelos se efectuó en AutoDock Tools [124] donde se añadieron las cargas Gasteiger y se preparó en formato pdbqt. Las

cargas atribuidas a los derivados de curcumina provienen del análisis poblacional de Mulliken, basado en los cálculos DFT. Durante las simulaciones de acoplamiento molecular, se centró el área de búsqueda en todo el péptido A β para determinar la mejor orientación de los ligandos. El análisis de las interacciones se llevó a cabo con el software Maestro.[125] Finalmente, y con el propósito de refinar los resultados del acoplamiento y minimizar la dependencia estructural y sistémica [126] , recurrimos a la clasificación de consenso exponencial (ECR por sus siglas en inglés) propuesto por Palacio-Rodríguez *et al.* [127] Utilizando las mismas herramientas mencionadas anteriormente, para cada molécula, el ECR se articuló a través de una puntuación de consenso $P(i)$ la cual se basa en la suma de su clasificación exponencial de los distintos programas, tal y como se describe en la ecuación siguiente:

$$P(i) = \frac{1}{\sigma} \sum_j \exp\left(-\frac{r_j^i}{\sigma}\right) \quad (6-1)$$

En donde σ es el valor esperado de la distribución exponencial con respecto al número de moléculas i , y r_j^i representa el puntaje de la molécula i predicho con el programa j .

Dinámica molecular complejos A β -curcuminoides

Para observar la estabilidad y los cambios conformacionales del complejo A β -curcuminoides, tomamos el mejor complejo A β -derivado del análisis de acoplamiento. A continuación, aplicamos el mismo protocolo de DM usado para el péptido A β . La curcumina y sus derivados se describieron utilizando un campo de fuerza basado en parámetros obtenidos de cálculos mecánico-cuánticos. La estabilidad se estudió a través de los cambios en el RMSD a lo largo del tiempo tanto para el A β como para el complejo A β -curcuminoides, evaluando también los cambios estructurales.

Dinámica molecular en el modelo de fibra A β

Para estudiar las interacciones entre la fibra A β_{42} y los derivados de curcumina, se utilizó el modelo de fibra RMN reportado con el código PDB: 2BEG. [128] Consideramos el primer conformero reportado en PDB para los cálculos de acoplamiento, ya que el modelo no muestra una alta flexibilidad. El modelo fue protonado a pH 7 para simular un ambiente fisiológico. Debido a la rigidez de la fibra A β_{42} en comparación con los monómeros A β , no se realizó DM con el objetivo de conservar la estructura extraída del reporte experimental. De manera similar al caso de los monómeros A β , para mejorar la exactitud en el cálculo de la energía y las conformaciones del ligando en los estudios de acoplamiento molecular, utilizamos el protocolo de ECR descrito anteriormente [127] , empleando los mismos tres programas de acoplamiento molecular: AD4, Vina y Smina. Las cargas de los ligandos y del modelo de fibra se añadieron utilizando la misma metodología que para los monómeros A β . El espacio

de búsqueda en las simulaciones de acoplamiento molecular se seleccionó en todo el espacio de la fibra $A\beta_{42}$ para encontrar la mejor posición de los ligandos.

6.1.2. Resultados

Dinámica molecular del péptido $A\beta$

Las simulaciones DM de los monómeros $A\beta$ revelaron cambios significativos en la estructura del péptido $A\beta$. Al principio, la estructura es un α -hélice, pero después cambia a una formación con dos α -hélices y una estructura *random coil*. En la Figura 6-3 se muestran los cambios en la conformación del $A\beta_{40}$ (1AML) y el porcentaje de tiempo que adopta las diferentes conformaciones; las estructuras representativas para los modelos 1BA4 y 1Z0Q están reportadas en la Información Suplementaria.

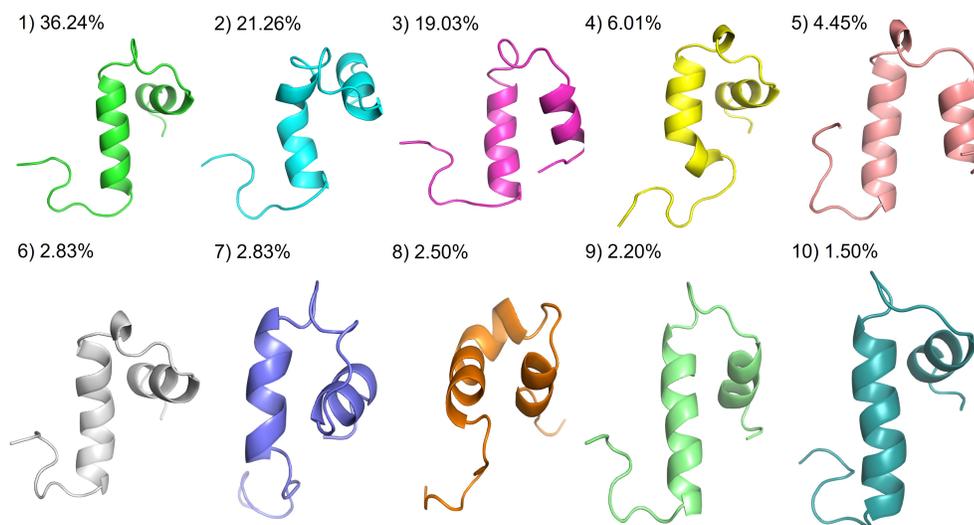


Figura 6-3.: Estructuras representativas de la fase de producción de la DM del modelo 1AML $A\beta_{40}$

Como se observa, en las estructuras representativas 1, 2, 3, 6, 8 y 10, se ven dos regiones de α -hélice: la primera corresponde a la región entre la GLU11 a ASP23 y la segunda de la ALA30 a VAL36. Estas dos regiones están conectadas por un *random coil* que corresponde a la región entre la GLY25 a GLY29. Estos aminoácidos coinciden con los observados en la región de giro de las estructuras cristalinas de fibras $A\beta_{42}$, como por ejemplo las estructuras 2BEG y 2MLN registradas en el PDB. Esto sugiere que un posible mecanismo para inhibir la agregación podría ser bloqueando esta región de plegamiento.

Tabla 6-1.: Energía de unión ponderada de las conformaciones obtenidas del A β y los derivados de curcumina.

Ligandos	Energía de unión ponderada (kcal/mol)								
	1AML A β_{40}			1BA4 A β_{40}			1Z0Q A β_{42}		
	Vina	AD4	Smia	Vina	AD4	Smia	Vina	AD4	Smia
Curcumina	-6.1	-3.2	-6.3	-5.7	-3.2	-6.0	-6.3	-3.5	-5.7
CurOAc	-6.1	-3.2	-6.8	-5.8	-2.6	-6.0	-6.3	-2.2	-5.8
CurOSuccAllyl	-6.1	-4.5	-6.6	-5.8	-3.6	-6.1	-6.2	-3.8	-5.8
CurOBn	-6.6	-4.2	-7.4	-6.1	-3.7	-7.0	-6.4	-3.5	-5.8
CurOSuccCyp	-6.2	-4.3	-6.9	-5.8	-4.5	-6.5	-5.7	-4.4	-6.3
Cur(OPropargyl)₂	-5.5	-5.3	-6.5	-5.3	-5.3	-6.3	-5.2	-5.8	-6.6
CurOSuccBn	-5.8	-4.7	-6.6	-5.6	-5.4	-6.5	-5.9	-5.3	-6.6
Cur(OSuccAllyl)₂	-5.7	-3.3	-6.6	-5.0	-2.9	-5.8	-4.6	-2.1	-5.5
Cur(OSuccBn)₂	-5.3	-6.0	-6.3	-4.9	-5.5	-5.7	-5.2	-5.3	-5.8
Cur(O-SuccCyp)₂	-5.4	-5.1	-6.0	-5.4	-5.5	-6.1	-6.0	-5.2	-5.1

Es común que en los cálculos de acoplamiento, trabajar con receptores flexibles arroje resultados insatisfactorios. Por lo tanto, en ocasiones es necesario ajustar la posición de las cadenas laterales del receptor para incrementar las probabilidades de éxito en los cálculos. El uso de DM u otros métodos de muestreo para generar diferentes rotámeros de la cadena lateral a partir de estructuras representativas, ha demostrado ser efectivo en estudios de acoplamiento y cribado virtual. [129, 130, 131] Por lo tanto, combinar varias estructuras iniciales con dinámica molecular podría mejorar la probabilidad de encontrar buenos complejos entre A $\beta_{40/42}$ y derivados de curcumina. Así, el acoplamiento molecular se llevó a cabo en las diez estructuras más frecuentes extraídas de las simulaciones DM para los modelos 1AML, 1BA4 y 1Z0Q.

Acoplamiento molecular péptido A β con derivados de curcumina

Como se puede observar en la Tabla 6-1, el promedio energía de unión ponderada de los derivados monosustituidos de la curcumina (ligandos 2-5) fue más favorable que la de los disustituidos, para los tres programas de acoplamiento utilizados. Esto se debe a la presencia de un enlace de hidrógeno establecido por el grupo OH de la curcumina (Figura 6-4). Esta interacción no está presente en el caso de los ligandos disustituidos. Además, como se muestra en la Figura 6-4, los ligandos forman interacciones tipo dispersivas con las cadenas laterales de los aminoácidos no polares presentes en el monómero A β_{40} . Estas interacciones son clave para prevenir la formación de la estructura tipo β -lámina característica de las fibras A β .

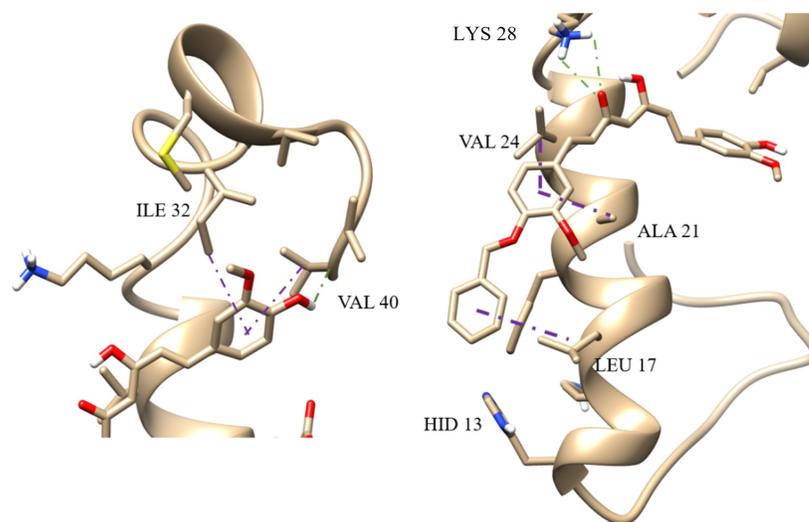


Figura 6-4.: Ejemplo de interacción entre la curcumina monosustituida y el péptido $A\beta_{40}$. Las interacciones π -alquil se presenta en púrpura y enlaces de hidrógeno en verde.

Los resultados del acoplamiento dependen tanto del programa como de la estructura. Por lo tanto, un software de acoplamiento puede mostrar buenos resultados para una estructura, pero malos resultados para otra estructura del receptor. Para superar esta limitación, se implemento la estrategia del ECR usando tres programas de acoplamiento. En la Tabla **6-2** se reportan el ECR y la actividad experimental de los compuestos activos; en general, el ECR muestra una buena concordancia con los valores de IC_{50} .

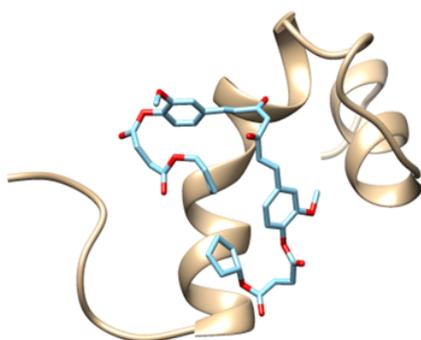


Figura 6-5.: Ejemplo de acoplamiento de derivado de curcumina disustituido ($Cur(OSuccAllyl)_2$) con $A\beta$.

Como se puede observar en esta tabla, los ligandos monosustituidos tienen una mejor clasificación con los tres monómeros $A\beta_{40}$ que los disustituidos. Como se mencionó anteriormente, estas diferencias se deben a la capacidad del grupo hidroxilo para establecer una interacción

Tabla 6-2.: ECR de las conformaciones obtenidas del péptido $A\beta$ y los derivados de curcumina. N/A. Sin Actividad *[1].

Ligando	Ensayo experimental ($A\beta_{42}$)		1AML $A\beta_{40}$		1BA4 $A\beta_{40}$		1Z0Q $A\beta_{42}$	
	Ensayo ThT IC ₅₀ (μ M)*	Posición	ECR	Posición	ECR	Posición	ECR	Posición
Curcumina	1.49 \pm 0.9	2	0.569	6	0.525	5	0.565	4
CurOAc	1.32 \pm 0.7	1	0.583	2	0.556	2	0.568	2
CurOSuccAllyl	1.77 \pm 0.9	3	0.581	3	0.527	4	0.560	3
CurOBn	2.05 \pm 0.1	6	0.614	1	0.561	1	0.578	1
CurOSuccCyp	2.04 \pm 0.7	5	0.570	5	0.532	3	0.556	5
Cur(OPropargyl)₂	N/A	N/P	0.551	7	0.522	6	0.547	6
CurOSuccBn	N/A	N/P	0.577	4	0.513	7	0.543	8
Cur(OSuccAllyl)₂	1.96 \pm 0.7	4	0.546	8	0.507	8	0.519	9
Cur(OSuccBn)₂	N/A	N/P	0.544	9	0.499	9	0.494	10
Cur(OSuccCyp)₂	N/A	N/P	0.532	10	0.495	10	0.544	7

de enlace de hidrógeno con el péptido. Además, el tamaño de los derivados aumenta con una segunda sustitución, lo que genera impedimentos estéricos para establecer interacciones estabilizantes con los péptidos parcialmente plegados, reduciendo así el número de contactos y, por lo tanto, el valor de la puntuación. Un ejemplo de la interacción de un derivado de curcumina disustituido con el monómero $A\beta$ se presenta en la Figura 6-5.

Como se observa en la Figura 6-5, la capacidad de bloquear la región de plegamiento está relacionada con las actividades *in vitro* reportadas de estos derivados para prevenir agregaciones de $A\beta$. Sin embargo, los ligandos disustituídos tienen interacciones menores con el monómero $A\beta$ en comparación con los monosustituídos. Los resultados de estas simulaciones sugieren que una sola sustitución en la curcumina es suficiente para mejorar su actividad.

Dinámica molecular entre derivados de curcumina y el péptido $A\beta$

En la DM. utilizamos el derivado de curcumina CurcOBn, que obtuvo la mejor calificación, para estudiar las interacciones a lo largo del tiempo y su estabilidad. Además, empleamos el derivado de curcumina disustituido Cur(OSuccAllyl)₂ como referencia de un derivado de curcumina disustituido con actividad biológica, y la curcumina no sustituida como control.

El RMSD a lo largo de las cinco réplicas de DM se muestra en la Figura 6-6. De esta figura se desprende que, en los tres casos, el $A\beta_{40}$ es muy flexible y fluctuó durante la simulación. Sin embargo, se mantuvieron varias interacciones entre el ligando y el péptido durante toda la

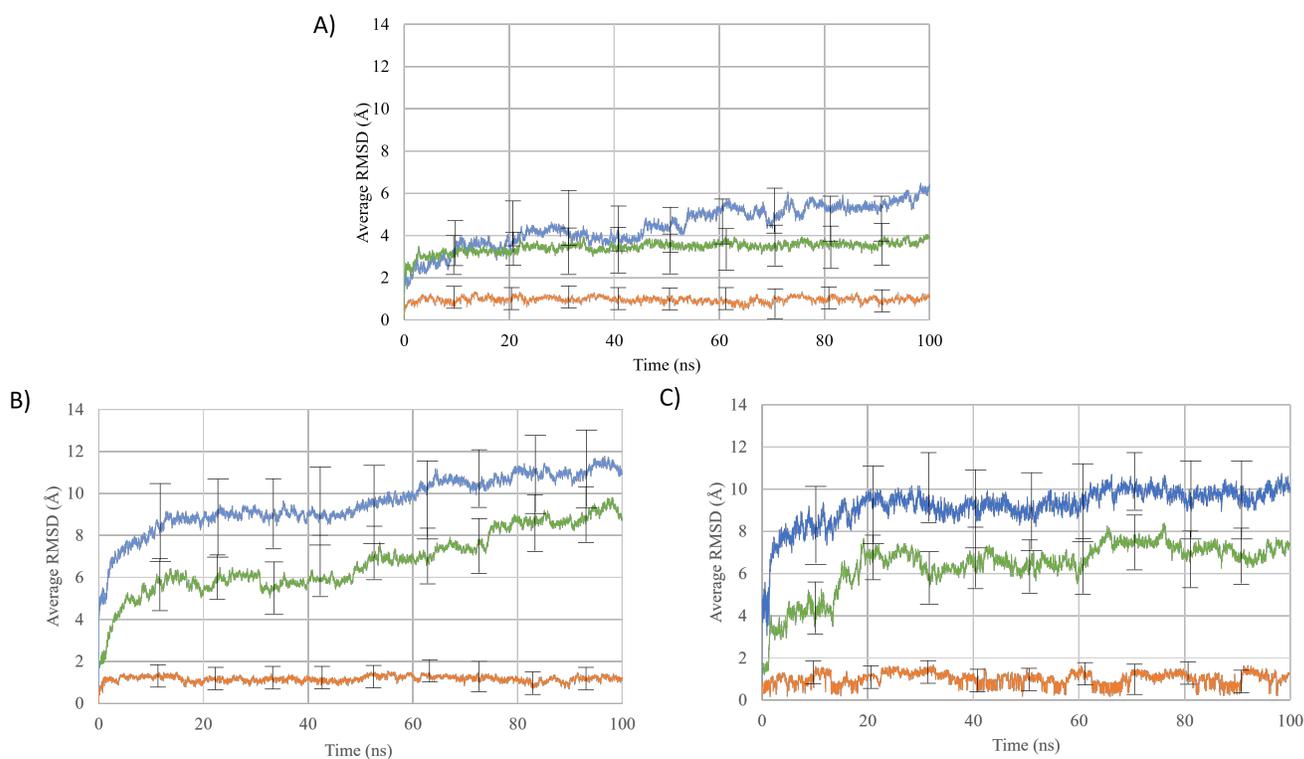


Figura 6-6.: RMSD promedio y barras de error de 5 réplicas de DM de derivados de curcumina y péptido $A\beta_{40}$. En los gráficos la curcumina o sus derivados se muestran en naranja, $A\beta_{40}$ en verde y el complejo $A\beta$ -curcumina o derivado en azul. El gráfico **A** corresponde al derivado CurOBn, el **B** al Cur(OSuccAllyl)₂ y el **C** a la curcumina, que se utiliza como referencia.

dinámica, demostrando la estabilidad del complejo péptido-ligando (Figura 6-7). De acuerdo con las DM de los tres complejos, el que contiene el derivado monosustituido muestra una mayor estabilización del péptido que el complejo que contiene curcumina no sustituida y el complejo disustituido, como se puede ver en los valores de RMSD.

Según se observa en la Figura 6-6, los curcuminoides fueron estables en el tiempo con un cambio en la distancia cuadrática media menor a 2 Å. El complejo péptido-ligando se estabilizó en todos los casos en 20 ns de DM. El péptido-ligando y el $A\beta$ mostraron el mismo comportamiento dinámico en todos los casos, pero el complejo Cur(OSuccAllyl)₂ tuvo cambios estructurales cercanos a los 50, 70 y 80 ns, como se muestra en la Figura 6-8-A. Teniendo en cuenta la flexibilidad del $A\beta_{40}$ descrita en esta investigación, los cambios estructurales en el *random coil* y la región de los aminoácidos 1-14 podrían afectar los valores en el RMSD. En el análisis de RMSD de la curcumina y CurcOBn, los cambios fueron constantes a lo largo del tiempo, menos significativos en la curcumina con una estructura de estabilidad mostrada

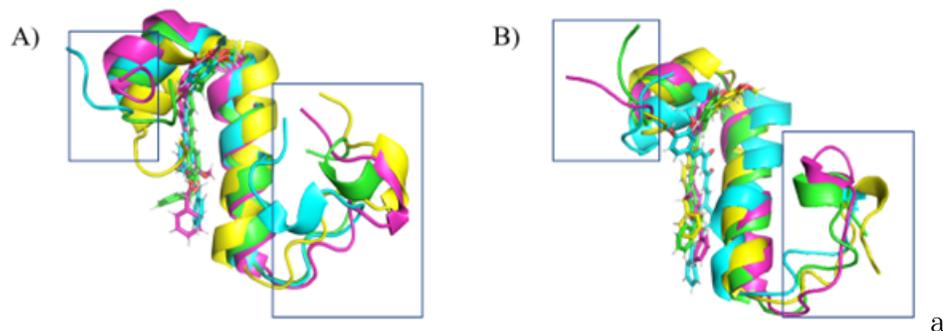


Figura 6-7.: Cambios estructurales de $A\beta_{40}$ durante el tiempo de simulación. Azul claro estructura inicial obtenida de simulaciones de acoplamiento molecular, amarillo 25 ns, verde 50 ns y rosa 75 ns de DM. A) complejo $A\beta_{40}$ con curcumina B) complejo $A\beta_{40}$ con CurOBn.

en la Figura **6-8B**.

Acoplamiento molecular entre derivados de la curcumina y fibra de $A\beta_{42}$

Se llevó a cabo un acoplamiento molecular entre derivados de la curcumina y las fibras $A\beta_{42}$ (código PDB: 2BEG) utilizando los programas Vina, AD4 y Smina. Siguiendo un procedimiento similar al empleado para los monómeros $A\beta$, se implementó el protocolo ECR. Los resultados de este protocolo se muestran en la Tabla **6-3** y la Figura **6-9**. El ECR sugiere que los ligandos monosustituídos CurcOBn, CurOSuccCyp y CurOAc presentan las mayores afinidades hacia las fibras $A\beta_{42}$. Sin embargo, los compuestos con actividad antiagregante (Curcumina, CurOSuccAllyl y Cur(OSuccAllyl)₂) están entre los peor clasificados, junto con varios derivados de curcumina disustituídos inactivos. Por ejemplo, en contraste con los resultados para el estado monomérico, la curcumina mostró una peor clasificación que un derivado disustituído, Curc(OSucc-Bn)₂, sin actividad antiagregante.

De acuerdo con los resultados de IC_{50} y acoplamiento molecular, el ECR o las actividades relativas de la curcumina y sus derivados se predicen mejor cuando el acoplamiento se realiza con los monómeros $A\beta$ que con las fibras $A\beta_{42}$. Esto permite plantear la hipótesis de que los compuestos activos tienen más afinidad por los monómeros $A\beta$. Sin embargo, estos resultados podrían verse influenciados por la dependencia estructural de los programas de acoplamiento, aunque en este estudio se redujo esa dependencia mediante la implementación del ERC. Así, tenemos algunas evidencias para hipotetizar que los compuestos activos muestran más afinidad por los monómeros $A\beta$. Por lo tanto, se podría suponer que el derivado de curcumina monosustituído estabiliza el monómero $A\beta$, desplazando el equilibrio entre las fibras $A\beta_{42}$ y los monómeros $A\beta$ hacia el estado monomérico, lo cual apoyaría las propiedades antiagregantes. No obstante, esta hipótesis debe ser contrastada con experimentos o

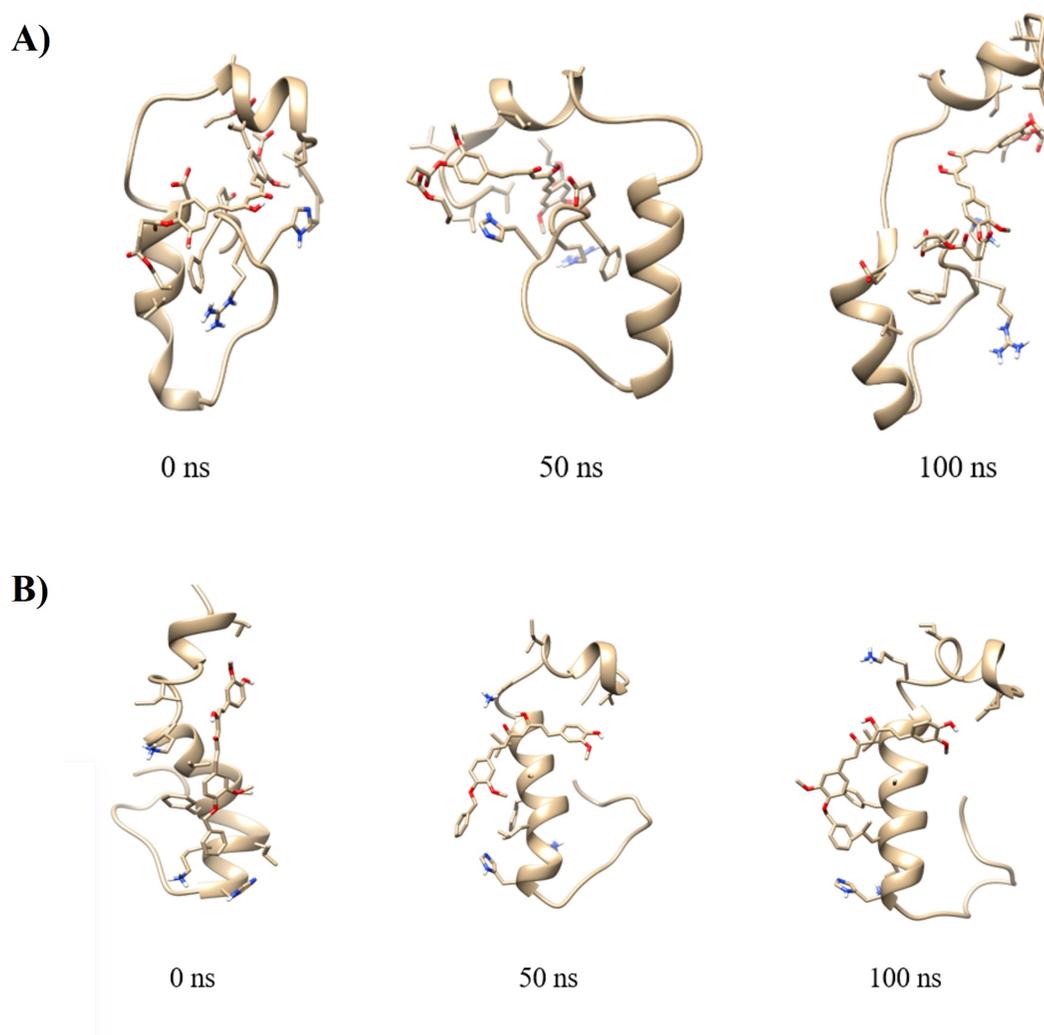


Figura 6-8.: Cambios estructurales en la dinámica molecular de $A\beta_{40}$ (PDB: 1BA4) con **A)** Curc(OSuccAllyl)₂ **B)** CurcOBn.

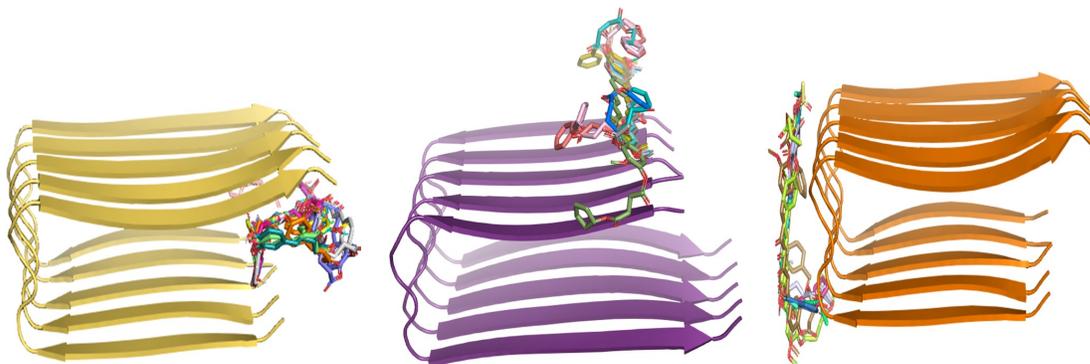
simulaciones mas largas de los complejos fibra-ligando.

En esta parte de la tesis, nos centramos en encontrar una relación entre el acoplamiento molecular y la actividad biológica de derivados de la curcumina con monómeros de $A\beta$ y fibras amiloides. Consideramos que el acoplamiento molecular es una herramienta poderosa que permite identificar rápidamente qué tipos de interacciones son cruciales en el proceso de agregación. Con estos resultados, podemos diseñar y sintetizar nuevos compuestos con potencial terapéutico para enfermedades neurodegenerativas, basándonos en los resultados del acoplamiento molecular. En trabajos reportados anteriormente, se mostraron los resultados biológicos de la curcumina y sus derivados contra la agregación de $A\beta$. [1] Esto significa si los

Tabla 6-3.: Energía ponderada de unión y ECR de derivados de curcuminas y fibra $A\beta_{42}$ * [2].

Ligandos	Ensayo ThT IC50 (μM)*	Vina (kcal/mol)	AD4 (kcal/mol)	Smyna (kcal/mol)	Posición
Curcumina	1.49 ± 0.9	-7.40	1.03	-7.00	10
CurOAc	1.32 ± 0.7	-6.70	-1.59	-7.00	8
CurOSuccAllyl	1.77 ± 0.9	-6.60	-2.92	-6.30	7
CurOBn	2.05 ± 0.1	-8.00	-2.63	-8.40	1
CurOSuccCyp	2.04 ± 0.7	-7.00	-3.43	-7.90	4
Cur(OPropargyl) ₂	N/A	-6.80	-3.27	-5.60	9
CurOSuccBn	N/A	-8.00	-3.05	-7.50	2
Cur(OSuccAllyl) ₂	1.96 ± 0.7	-7.10	-1.77	-7.00	6
Cur(OSuccBn) ₂	N/A	-7.00	-4.04	-7.50	3
Cur(OSuccCyp) ₂	N/A	-6.90	-3.94	-6.70	5

derivados de curcumina pueden bloquear la agregación de $A\beta$ o la desagregación de las fibras.

**Figura 6-9.:** Interacciones entre la fibra $A\beta$ y derivados de curcumina con diferentes programas de acoplamiento molecular, izquierda Autodock Vina, centro Smyna, derecha AutoDock 4.

En la literatura se ha demostrado que los residuos de aminoácidos en la región $A\beta_{16-20}$ del péptido $A\beta$ son relevantes para la autoasociación de los péptidos en fibras amiloides. [132] En la estructura de la fibra $A\beta$, $A\beta_{16-20}$ forma una estructura de lámina- β anti-paralela, uniéndose a las regiones homólogas, $A\beta_{17-21}$ o $A\beta_{18-22}$. Se ha mostrado que la eliminación de $A\beta_{16-20}$ y la unión de ligandos a la región $A\beta_{16-20}$ inhiben la formación de fibras, [133] evidenciando esta región (16-20) como el sitio de nucleación más importante para la agregación del péptido.

Nuestros resultados muestran que los derivados de la curcumina podrían inhibir la agregación del péptido A β al interactuar fuertemente con la región 20-28, (Figura 6-4) destacándose la interacción adicional de los derivados que promueven la antiagregación mediante un enlace de hidrógeno en el puente salino formado por la LYS28 y alterando la estabilidad del puente entre los monómeros (Figura 6-4). Además, los derivados interactúan con los residuos C-terminales, como ILE32 y VAL40. Se observa una correlación entre los resultados del modelo de acoplamiento molecular y la actividad biológica, indicando que los derivados de curcumina con un grupo hidroxilo capaces de formar enlaces de hidrógeno con los monómeros/fibras de A β tienen mayor potencial para inhibir la agregación/desagregación del péptido.

En la Figura 6-2 se muestran los derivados de curcumina utilizados en este estudio. Los derivados monosustituídos como CurOBn, CurOAc, CurOSuccAllyl, CurOSuccBn y CurOSuccCyp, a pesar de tener un grupo hidroxilo para formar enlaces de hidrógeno con A β , muestran comportamientos diferentes, resaltando la importancia del tamaño de la molécula. Por ejemplo, CurOSuccAllyl, a pesar de ser más largo que CurOBn y CurOAc, muestra actividad biológica y enlace de hidrógeno con el péptido.

Los derivados disustituídos de la curcumina muestran una disminución en la actividad biológica hasta volverse inactivos, lo que también se observa en los resultados de acoplamiento molecular donde no se detectan interacciones de enlace de hidrógeno y $\pi - \pi$ con A β . Esto subraya la importancia de los derivados monosustituídos en comparación con los disustituídos. Además, los monosustituídos sin conector son preferibles, ya que un tamaño molecular mayor reduce su actividad, como se evidencia también en ensayos bioquímicos antiinflamatorios. Esto indica la importancia del tamaño del derivado de curcumina, es decir, un grupo hidroxilo y derivados cortos que puedan aumentar la interacción $\pi - \pi$ con A β . Se encontró una relación entre nuestros resultados de acoplamiento molecular y los experimentales, lo cual es útil para diseñar nuevas moléculas con posible actividad neuroprotectora.

6.2. Carotenoides

Como se mencionó anteriormente, los productos naturales tienen una potencial aplicación en la prevención de la EA debido a sus potenciales propiedades neuroprotectoras.[33] Varias investigaciones se han centrado en productos naturales como los compuestos de polifenoles y carotenoides, los cuales han mostrado actividad preventiva prometedora, así como ayuda en la desaceleración del progreso de la enfermedad en modelos animales y celulares.[27, 134, 135, 136]

En particular, se ha identificado a los carotenoides como productos naturales que podrían inhibir las vías neurodegenerativas. Debido a su lipofilia,[136, 137] la mayoría de los carote-

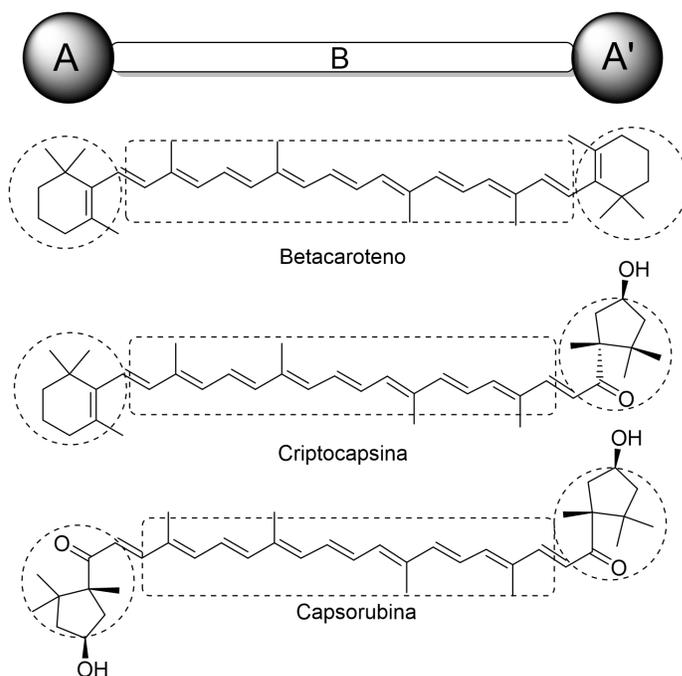


Figura 6-10.: Representación de los carotenoides.

noides pueden cruzar la barrera hematoencefálica.[138] Existen más de 750 carotenoides en la naturaleza, pero solo se ha explorado la actividad antiagregante de unos pocos.[136, 138] Generalmente, los carotenoides contienen 40 átomos de carbonos (C_{40}) y están compuestos de dos miembros terminales (A y A') conectados por una cadena larga conjugada (B). Los carotenoides se pueden clasificar en dos tipos: carotenos y xantófilas, que pueden ser tanto acíclicos como cíclicos.[139, 140, 141]

Mientras los carotenos solo contienen carbono e hidrógeno, las xantófilas consisten en carbono, hidrógeno y oxígeno. Hay algunas excepciones a esto, como los apocarotenoides (que contienen oxígeno y menos de 40 átomos de carbono) y el caroteno acíclico (sin oxígeno y C_{40}). La mayoría de los carotenoides comparten un anillo común de β -ionona en ambos lados (A y A') de la molécula, como el que presenta el β -caroteno (Figura 6-10). También existen carotenoides no convencionales que tienen un grupo keto-capa en uno o ambos sitios, como el criptocapsina (1) o el capsorubina (30), (Figura 6-10). La cadena larga conjugada (B) puede ser un isómero trans-carotenoide (Figura 6-10) o un isómero cis-carotenoide, siendo el primero el más predominante en la naturaleza.

En esta parte de la tesis, nos centramos en carotenoides novedosos del fruto de mamey rojo (*Pouteria sapota*), ya que contiene carotenoides poco convencionales con grupos terminales de anillo κ , como el sapotexantina (16), criptocapsina (1), capsorubina (30) y otros carotenoides (Figura 6-11).[137, 142, 143] En revisiones bibliográficas se encontró que la

criptocapsina (**1**) tenía una actividad antiagregante del péptido A β más alta que la zeaxantina (**2**), y que esta actividad disminuía cuando la criptocapsina tenía un grupo epóxido, como en el caso de la criptocapsina-5,6-epóxido (**24**).[1] Un análisis computacional comparando la criptocapsina con luteína, licopeno, astaxantina, fucoxantina y bixina mostró que la criptocapsina y la luteína tenían la mayor actividad antiagregante.[137] Además, recientemente se reportaron los aspectos químicos y los beneficios biológicos de los carotenoides del mamey rojo. Aunque el fruto de mamey rojo contiene más de 30 carotenoides (Figura 6-11), solo dos de ellos (**1**, **24**) han sido evaluados experimentalmente por su actividad antiagregante contra la enfermedad de Alzheimer. [142]

6.2.1. Metodología

Para evaluar las propiedades antiagregantes de los carotenoides de la Figura 6-10 se utilizó el protocolo presentado anteriormente para evaluar las propiedades de los derivados de las curcuminas. Teniendo en cuenta que el protocolo anterior brindó una mejor descripción de la actividad antiagregante sobre el péptido A β que sobre la fibra amiloide, solo se realizó el estudio sobre los monómeros de A β para los carotenoides.

Para este estudio consideramos todas las conformaciones representativas de modelos de A $\beta_{40/42}$. Con el fin de calcular la energía de unión de los carotenoides a cada modelo de péptido A β , Utilizamos una función de energía de unión ponderada para cada carotenoide usando el porcentaje de la representación individual con la siguiente ecuación:

$$S_w = \sum X_i R_i \quad (6-2)$$

Donde S_w es la energía de acoplamiento ponderada del modelo i , X_i es la energía de unión de la representación i y R_i es el porcentaje de la representación i . Para considerar todas las funciones de energía de los software de acoplamiento molecular, realizamos un ECR descrito por Palacio *et al.* [127] Utilizamos los siguientes programas de acoplamiento molecular: AutoDock 4 (ATD), [122] AutoDock Vina (Vina), [144] Smina (función de puntuación Vinardo), [124] QuickVina 2, [145] QuickVina W [146] y PSOVina. [147] La preparación de archivos para su uso en programas de acoplamiento molecular se realizó en AutoDock Tools 4.[122] Para describir las cargas del péptido A β , calculamos las cargas de Gasteiger. Las cargas sobre los átomos de los carotenoides se tomaron de los cálculos DFT. Considerando que no se conoce el sitio de unión de los carotenoides, el espacio de búsqueda del acoplamiento molecular cubrió toda la superficie del péptido para determinar la posición de mejor afinidad. Las interacciones se analizaron con el software Maestro. [125]

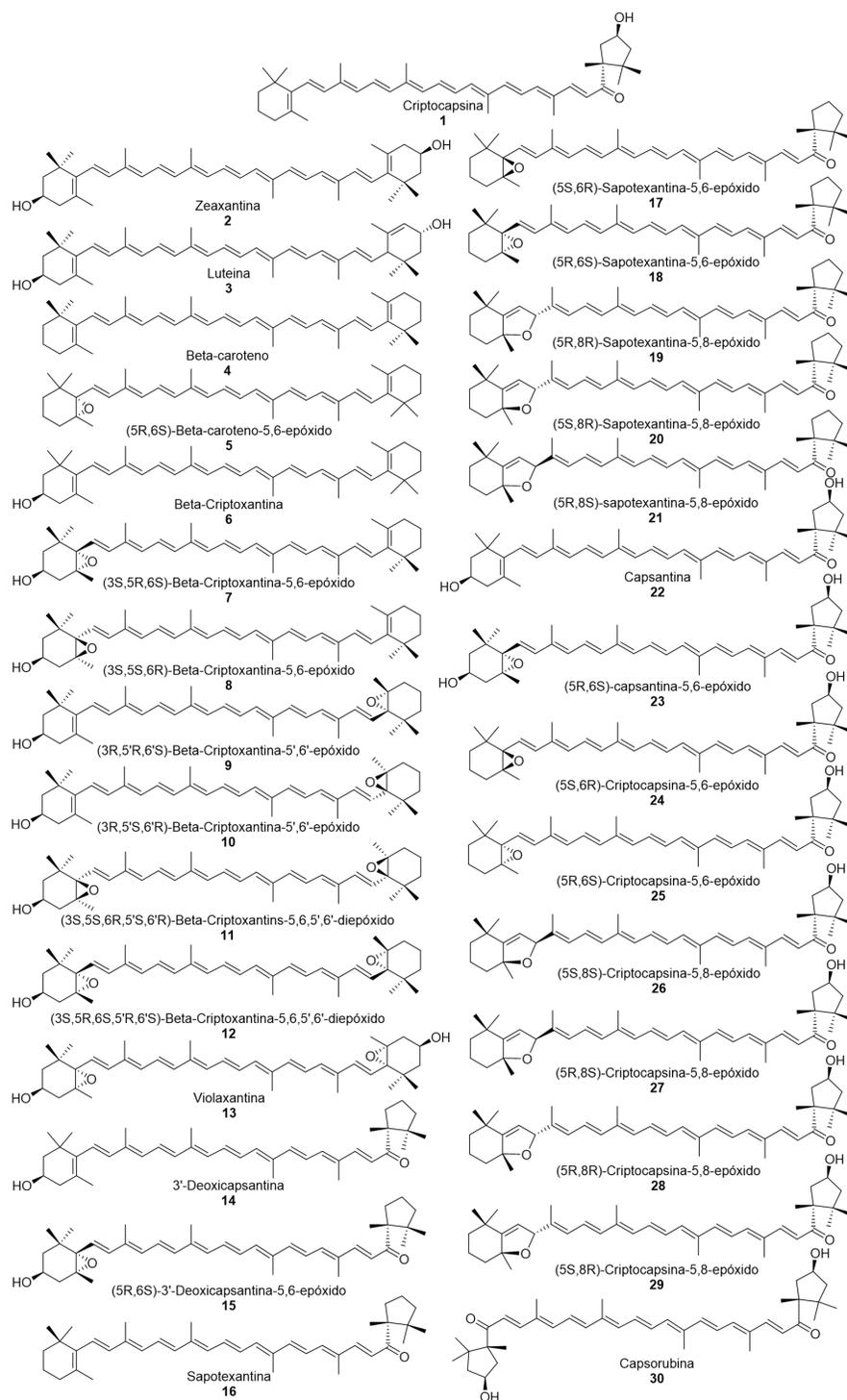


Figura 6-11.: Carotenoides de *Pouteria sapota* (mamey rojo) seleccionados para el análisis computacional.

6.2.2. Resultados

Los resultados del proceso de acoplamiento molecular se presentan en la Tabla **6-4**. Los carotenoides (5R,8R)-Sapotexantina-5,8-epóxido (**19**) y la (5R,8R)-Criptocapsina-5,8-epóxido (**28**), exhiben la mejor clasificación en los tres modelos del péptido A β . A pesar de las diferencias en las representaciones de los modelos de A β , debido a la dinámica molecular, los resultados subrayan la robustez de los métodos usados.

Tabla 6-4.: Energía ponderada de la unión (kcal/mol) y ECR de la interacción de de los carotenoides y modelos del péptido A β .

Model A β_{40} 1AML							
Carotenoides	ATD	VINA	Smina	Qvina2	QvinaW	PSOVINA	Rank
19	-7.18	-7.13	-9.25	-7.14	-7.10	-6.39	1.26
28	-7.30	-7.06	-9.37	-7.08	-7.10	-6.22	1.26
26	-6.95	-7.11	-9.20	-7.13	-7.07	-6.22	1.25
20	-7.15	-6.96	-8.59	-6.95	-6.86	-6.14	1.22
1	-7.40	-6.75	-8.83	-6.69	-6.66	-5.67	1.21
3	-7.39	-6.60	-8.69	-6.66	-6.64	-5.86	1.21
2	-6.97	-6.72	-8.85	-6.63	-6.61	-5.99	1.21
Model A β_{40} 1BA4							
Carotenoides	ATD	VINA	Smina	Qvina2	QvinaW	PSOVINA	Rank
19	-7.34	-7.30	-9.21	-7.39	-7.44	-6.66	1.28
28	-7.64	-7.30	-9.02	-7.32	-7.36	-6.54	1.28
4	-7.17	-7.13	-8.94	-7.12	-7.16	-6.46	1.25
26	-6.85	-7.18	-8.94	-7.13	-7.19	-6.24	1.24
3	-7.44	-6.89	-8.97	-6.87	-6.93	-6.04	1.24
2	-7.08	-6.91	-9.02	-6.96	-6.96	-5.99	1.23
1	-7.46	-6.85	-8.67	-6.90	-6.87	-5.99	1.23
Model A β_{42} 1Z0Q							
Carotenoides	ATD	VINA	Smina	Qvina2	QvinaW	PSOVINA	Rank
19	-7.18	-7.45	-9.52	-7.36	-7.35	-6.86	1.29
26	-7.16	-7.40	-9.44	-7.37	-7.35	-6.91	1.29
28	-7.23	-7.33	-9.25	-7.33	-7.28	-6.60	1.28
4	-6.74	-7.30	-9.28	-7.18	-7.21	-6.55	1.26
3	-6.84	-7.16	-9.03	-7.16	-7.21	-6.30	1.25
1	-7.03	-7.16	-9.07	-7.03	-7.08	-6.02	1.24
2	-6.39	-7.19	-9.19	-7.13	-7.17	-6.19	1.24

Los cálculos de acoplamiento molecular realizados sobre el modelo del péptido A β_{42} (1Z0Q)

muestran una fuerte correlación con los datos experimentales de los carotenoides criptocapsina (**1**), zeaxantina (**2**) y luteína (**3**). Además, los modelos experimentales utilizados consisten en monómeros del péptido A β ₄₂, lo que nos permite investigar las interacciones de estos modelos con la clasificación identificada.

En todos los modelos del péptido A β , el (5R,8R)-sapotexantina-5,8-epóxido (**19**) mostró interacciones alquilo-alquilo con los aminoácidos VAL12, HIS6 y PHE19, así como una interacción alquilo- π con la PHE19. Estas interacciones se producen en todo el péptido y son establecidas por los aminoácidos hidrófobos de la α -hélice. Además, la formación de un enlace de hidrógeno entre la HIS6 y la SER8 contribuye a la estabilización general del péptido. Estas interacciones tienen el potencial de impedir la agregación del péptido al estabilizar las α -hélices y evitar el apilamiento de los monómeros para formar las fibras. En la Figura 6-12 se presenta una representación de estas interacciones.

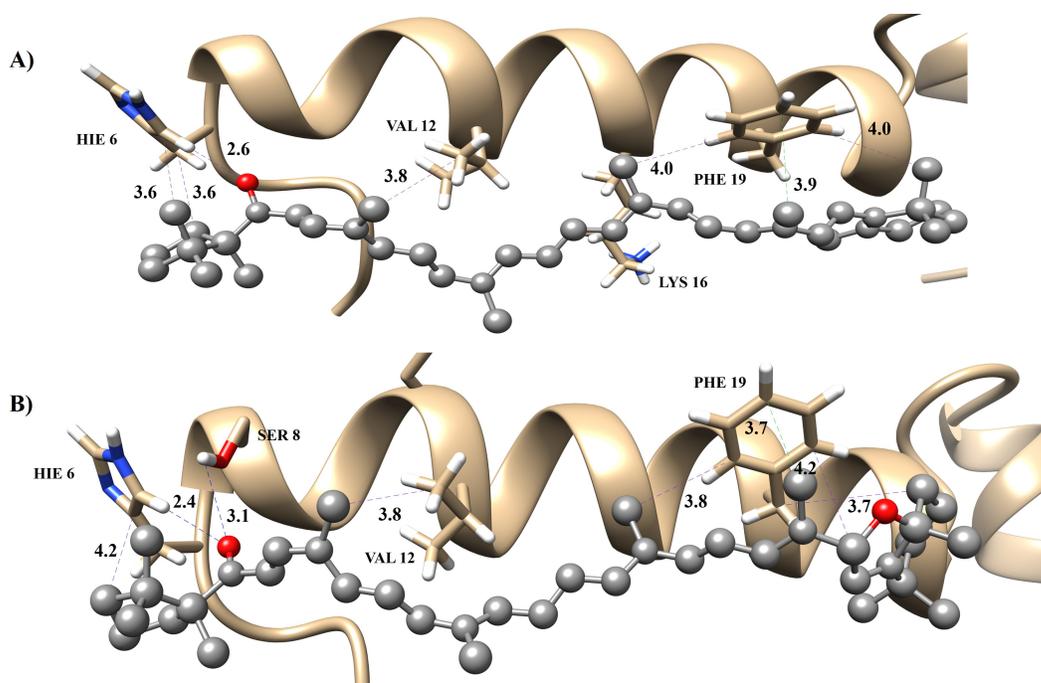


Figura 6-12.: A) Sapotexantina (**16**) B) (5R,8R)-Sapotexantina-epóxido (**19**) interacción con A β ₄₂ azul (enlace H), púrpura (interacción alquil-alquil). Distancia en Å.

Al comparar las interacciones del carotenoide **19**, concretamente el epóxido de (5R,8R)-sapotexantina, con la estructura base del carotenoide **16** (sapotexantina) se observó una disminución de las interacciones hidrofóbicas. Sin embargo, cabe destacar que el modo de unión con el péptido amiloide permaneció inalterado, como se ilustra en la Figura 6-13.

El carotenoide **26**, (5R,8R)-criptocapsina-5,8-epóxido, presenta las mismas interacciones con

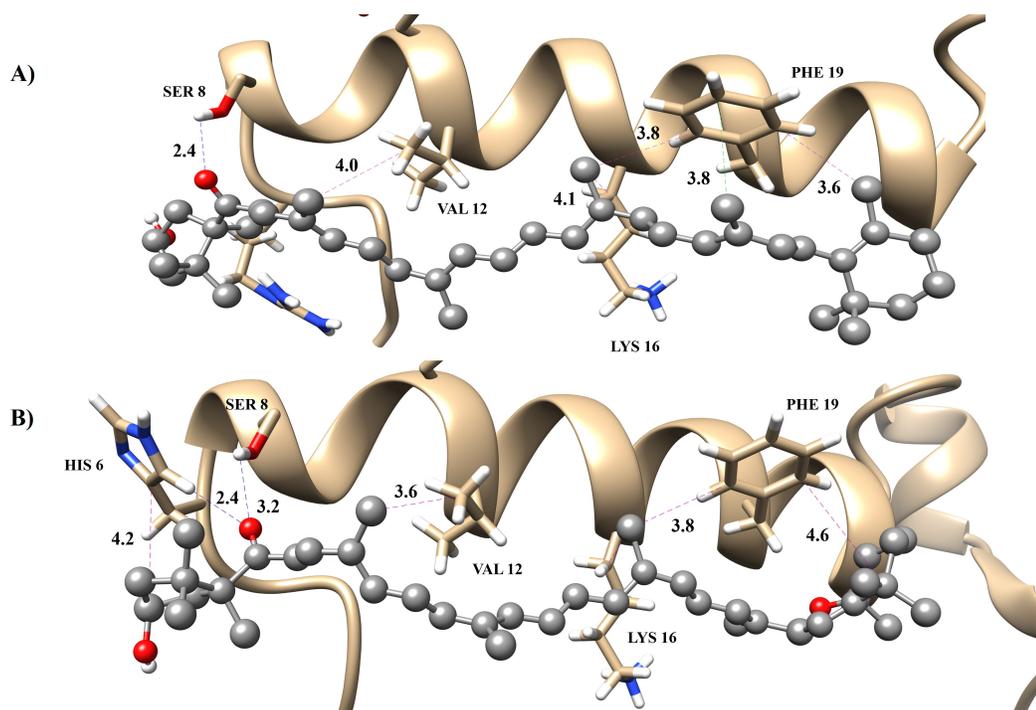


Figura 6-13.: A) Criptocapsina (**1**) B) (5S,8S)Criptocapsina 5,8 epóxido (**26**) interacción con $A\beta_{42}$: azul (enlace H), púrpura (interacción alquil-alquil). Distancia en Å.

el péptido $A\beta$ que el carotenoide **21**. Sin embargo, en el caso del carotenoide **26**, su grupo hidroxilo forma enlaces de hidrógeno con la HIS6. Esta conformación reduce las interacciones hidrofóbicas con las cadenas laterales del péptido, como se representa en la Figura **6-13**. Cabe anotar, que el modo de unión observado en la criptocapsina (**1**) sigue siendo coherente con el carotenoide **26**, lo que pone de relieve la importancia de la HIS6 en la formación de enlaces de hidrógeno con el grupo carbonilo. Aunque esta interacción específica está ausente, los enlaces de hidrógeno con la SER8, así como las interacciones hidrofóbicas con la VAL12, LYS16 y PHE19, persisten.

En cuanto al carotenoide **4**, β -caroteno, hemos identificado distintas interacciones π -alquil y alquilo-alquilo de las observadas anteriormente, en las que predominaban las interacciones hidrofóbicas. La Figura **6-14** ilustra esta distinción, destacando la participación significativa de la TYR10, PHE4 y ALA21 en estas interacciones.

En el caso del carotenoide **3**, la luteína, hemos observado interacciones distintas que difieren de los casos examinados anteriormente. En particular, estas interacciones contribuyen a la estabilización de las dos α -hélices. Concretamente, se forman enlaces de hidrógeno tanto con la ILE41 como con la GLY15, como se muestra en la Figura **6-15**.

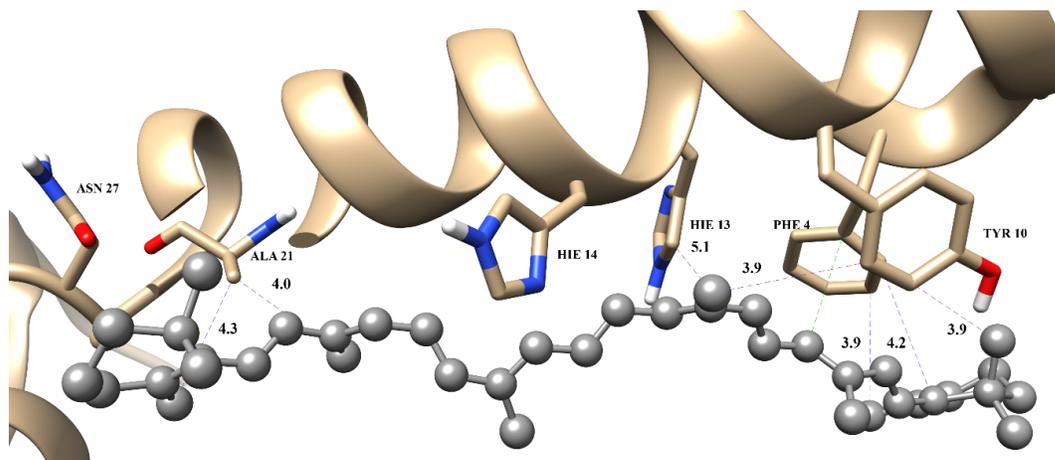


Figura 6-14.: Interacción del β -caroteno (4) con el péptido $A\beta_{42}$, verde (interacción $\pi - \sigma$) y morado (interacciones alquil-alquil). Distancia en Å.

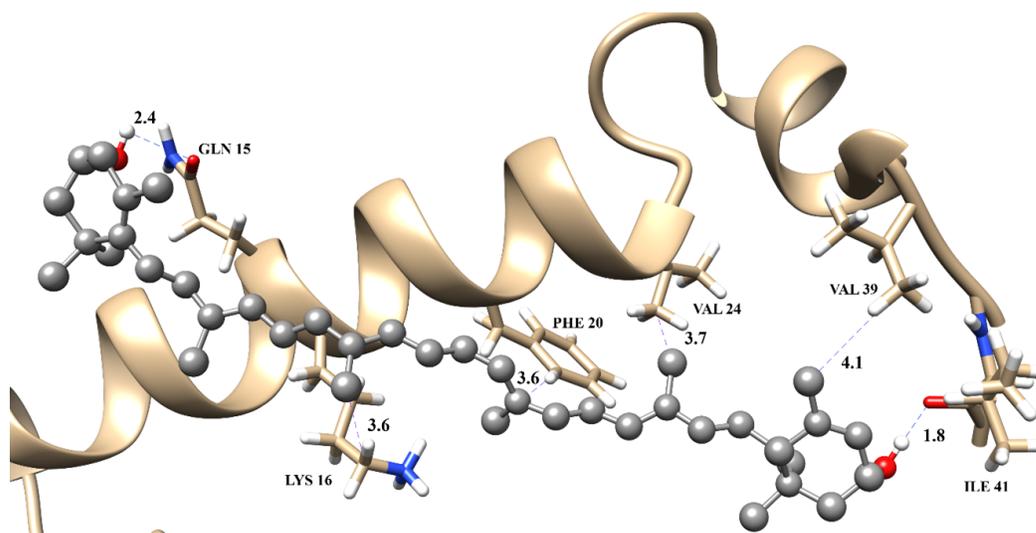


Figura 6-15.: Interacción entre la luteína y el péptido $A\beta_{42}$: azul (enlace de hidrógeno), púrpura (interacción alquil-alquil). Distancia en Å.

En esta sección, buscamos comprender la relación estructura-actividad entre carotenoides convencionales y no convencionales, enfocándonos en sus posibles propiedades antiagregantes. Investigaciones previas mostraron que la criptocapsina, seguida por la zeaxantina y el epóxido de criptocapsina-5,6, presentaron una actividad biológica significativa contra la agregación del $A\beta$. Katayama y colaboradores encontraron que la luteína es más activa biológicamente que el β -criptoxantina, el β -caroteno, el α -caroteno y la zeaxantina.[138] Además, análisis computacionales anteriores sugerían que la luteína es más activa que la criptocapsina.[137] Basados en estos hallazgos, seleccionamos la criptocapsina, la zeaxanti-

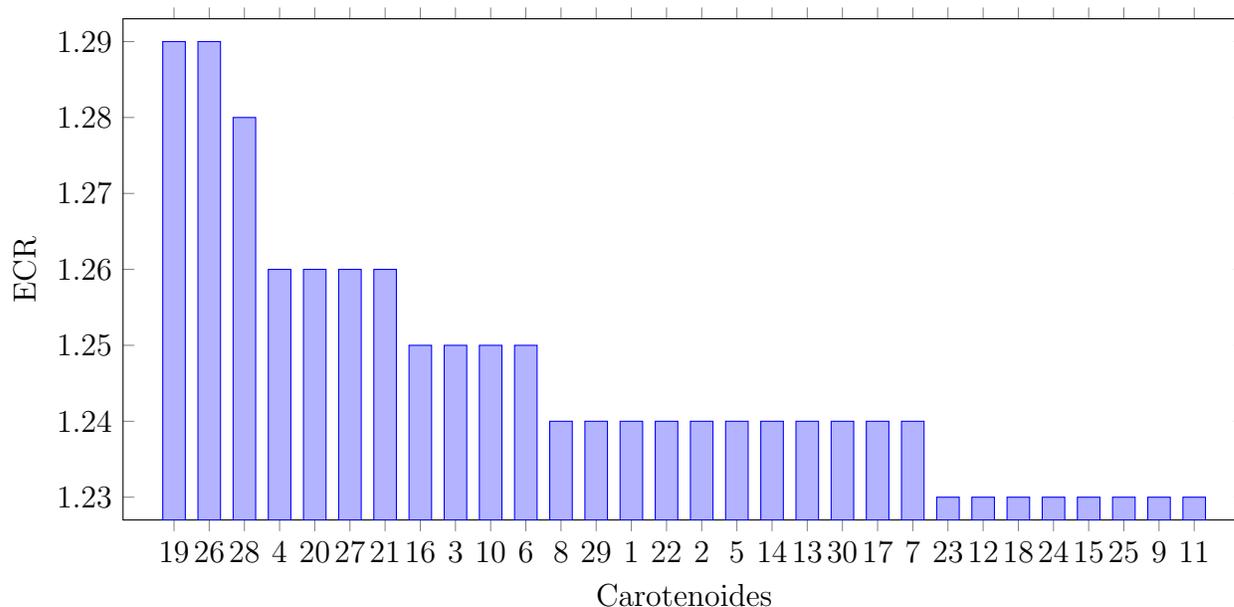


Figura 6-16.: ECR del modelo 1Z0Q $A\beta_{42}$ con carotenoides **6-11** referencia experimental **1, 2 y 3**.

na, la luteína y el epóxido de criptocapsina-5,6 como controles de referencia para evaluar otros carotenoides encontrados en el fruto del mamey rojo (**6-10**), prestando especial interés en las diferentes interacciones químicas que cada carotenoide puede tener con los monómeros de $A\beta$. Esto significa que los carotenoides seleccionados del mamey rojo pueden bloquear la agregación de $A\beta$ o la desagregación de la fibra.

El análisis computacional reveló el siguiente orden en términos de actividad: (5R,8R)-sapotexantina-5,8-epóxido (**19**) y (5S,8S)-criptocapsina-5,8-epóxido (**26**) mostraron la mayor actividad. A estos les siguieron, en orden, (5R,8R)-criptocapsina-5,8-epóxido (**28**), β -caroteno (**4**), (5S,8R)-sapotexantina-5,8-epóxido (**20**), (5R,8S)-criptocapsina-5,8-epóxido (**27**), luteína (**3**), (3R,5'S,6'R)- β -criptoxantina-5,6-epóxido (**10**), sapotexantina (**16**), (5R,8S)-sapotexantina-5,8-epóxido (**21**), criptocapsina (**1**) y zeaxantina (**2**). Este orden se ilustra en la Figura **6-16**.

La Figura **6-17** muestra una variación clara en la actividad entre las estructuras básicas de carotenoides convencionales y no convencionales. Dentro de los carotenoides convencionales, el β -caroteno (**4**) se destaca como el más prometedor, seguido de cerca por la luteína (**3**). Entre los carotenoides no convencionales, la sapotexantina (**16**), conocida por sus propiedades de provitamina A, y la criptocapsina (**1**), un compuesto altamente activo contra el amiloide encontrado en el fruto del mamey rojo, muestran una actividad notable. Después de estos, tres carotenoides convencionales, específicamente la zeaxantina (**2**), la β -criptoxantina (**6**) y la violaxantina (**13**), demuestran su actividad. Finalmente, tres carotenoides no convencio-

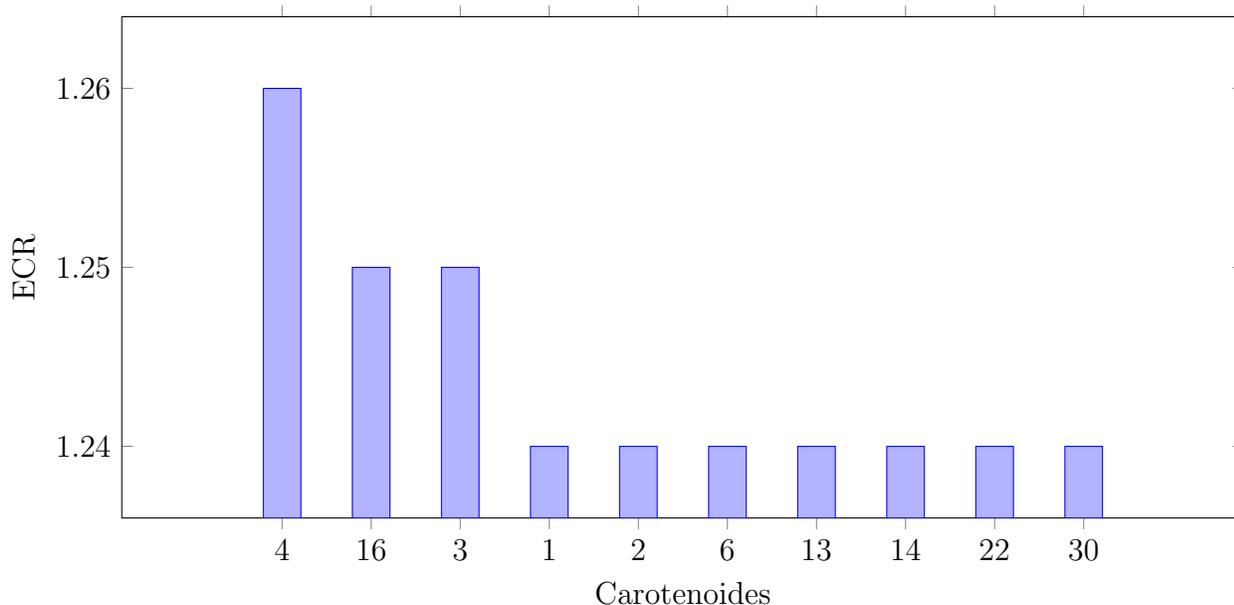


Figura 6-17.: ECR del modelo 1ZOQ $A\beta_{42}$ con estructuras base referencia experimental **1**, **2** y **3**.

nales, la 3'-deoxi-capsantina (**14**), la capsantina (**22**) y la capsorrubina (**30**), exhiben una actividad comparativamente más baja. Además, se sugiere una distinción en la actividad entre carotenos y xantófilas. Entre los carotenos evaluados, el β -caroteno (**4**) muestra la actividad más prometedora, mientras que xantofilas como la luteína (**3**), la sapotexantina (**16**) y la criptocapsina (**1**) exhiben niveles de actividad comparables, destacando la naturaleza distinta de los carotenos y las xantófilas.

Es destacable que la epoxidación en las posiciones 5,8 de la sapotexantina y la criptocapsina muestra mejor desempeño en comparación con las epoxidaciones en las posiciones 5,6, como se muestra en la Figura **6-18**. Nuestros resultados también sugieren que el tipo de epoxidación puede influir en el potencial antiagregación del péptido $A\beta_{42}$. La epoxidación en las posiciones 5,8 parece ser más prometedora que la epoxidación en las posiciones 5,6 en la sapotexantina y la criptocapsina, lo que indica la posibilidad de ajustar la actividad mediante diferentes tipos de epoxidación. Además, la estereoquímica también resultó ser influyente; por ejemplo, el (5R,8R)-sapotexantina-5,8-epóxido demostró mayor actividad que sus contrapartes (5S,8R) y (5S,8S).

En cuanto al sapotexantina-5,8-epóxido, se observaron variaciones en la actividad entre diferentes formas: (5R,8R) > (5S,8R) > (5S,8S). De manera similar, el criptocapsina-5,8-epóxido mostró patrones de actividad distintos: (5S,8S) > (5R,8R) > (5R,8S). Es notable que todas las formas de sapotexantina-5,8-epóxido demostraron una actividad mayor que la criptocap-

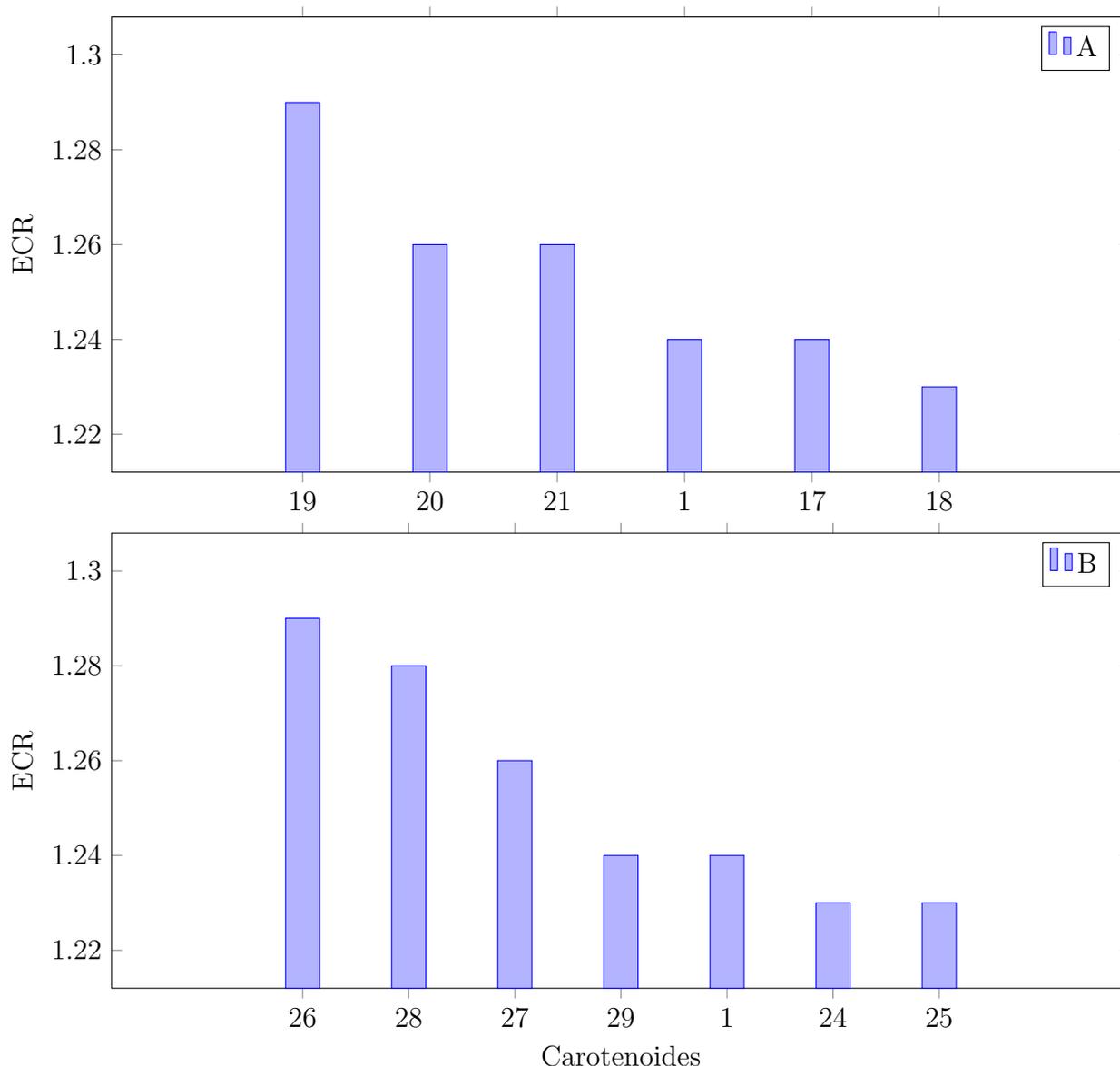


Figura 6-18.: ECR de derivados de carotenoides más activos que la criptocapsina (**1**) respecto al modelo 1ZOQ del $A\beta_{42}$ A) grupo sapotexantina B) grupo criptocapsina.

sina, lo que indica la importancia de realizar análisis *in vitro* para validar estos hallazgos. Además, tres variantes de criptocapsina-5,8-epóxido exhibieron una actividad mayor que la criptocapsina misma. Por el contrario, el sapotexantina-5,6-epóxido, el criptocapsina-5,6-epóxido y el β -caroteno-5,6-epóxido mostraron una actividad menor que la criptocapsina (Figura 6-18), resaltando la influencia del tipo de epóxido en sus respectivas actividades.

Estos análisis de relación estructura-actividad podrán orientar futuras investigaciones *in vitro*, centrándonos en sapotexantina-5,8-epóxido y criptocapsina-5,8-epóxido [11,17,23,25–28].

El análisis computacional nos ayuda a priorizar los carotenoides con mayores propiedades terapéuticas potenciales, ahorrando así tiempo y esfuerzo considerables en el progreso de la investigación.

También examinamos las diferentes interacciones químicas que cada carotenoide podría tener con los monómeros de $A\beta$. Nuestro objetivo era determinar si estos carotenoides seleccionados del fruto del mamey rojo podrían bloquear la agregación del péptido $A\beta$ para formar fibras. Nuestros hallazgos sugieren una correlación entre la actividad biológica y el acoplamiento molecular de carotenoides seleccionados con monómeros de $A\beta$. El análisis computacional indicó que modificaciones específicas en el extremo de la estructura del carotenoide podrían afectar significativamente la actividad biológica. Sin embargo, se requieren más estudios para validar experimentalmente estos resultados computacionales. Este estudio subraya el potencial de aprovechar compuestos naturales en el tratamiento de enfermedades complejas. Aunque los compuestos sintetizados juegan un papel crucial en la farmacología moderna, la naturaleza también ofrece una vasta gama de moléculas complejas que pueden poseer propiedades terapéuticas. En este contexto, el fruto del mamey rojo y otras fuentes ricas en carotenoides podrían convertirse en recursos vitales en la lucha contra la enfermedad de Alzheimer. Finalmente, este estudio representa un paso importante en nuestra comprensión del posible papel de los carotenoides en enfermedades neurodegenerativas. Sin embargo, es importante señalar que el análisis computacional es solo el principio. Los candidatos prometedores identificados en esta investigación requieren validación a través de estudios *in vitro* e *in vivo* adicionales. Si estos estudios subsiguientes confirman nuestros hallazgos, estos compuestos podrían convertirse en una valiosa adición a nuestro arsenal en la lucha contra la enfermedad de Alzheimer.

6.3. Conclusiones

El acoplamiento molecular es una herramienta valiosa para identificar una nueva molécula o derivado estructural con propiedades terapéuticas contra la enfermedad de Alzheimer que posea actividad antiagregante. En este capítulo se utilizó una combinación de simulaciones de dinámica molecular y acoplamiento molecular para evaluar la curcumina y sus derivados en su interacción con el péptido y fibra $A\beta$. Los resultados mostraron que una única sustitución en la curcumina es mejor que una doble sustitución para mejorar la interacción de los ligandos con el monómero $A\beta$. Además, Se encontró una relación entre el acoplamiento molecular y los resultados experimentales.

Además, la clasificación de compuestos predicha muestra una mejor correlación con las propiedades antiagregantes cuando se utiliza el monómero $A\beta$ como receptor. Los derivados de la curcumina han demostrado propiedades antiagregantes y antiinflamatorias, lo que sugiere que mejorar la actividad antiagregación también mejoraría su actividad antiinflamatoria.

Estos estudios de modelado molecular proporcionan así importantes conocimientos para entender qué tipo de interacciones químicas son críticas para mejorar la actividad biológica de las moléculas con posible actividad terapéutica.

Teniendo en cuenta los resultados de la metodología utilizada en el estudio de los derivados de curcumina, Se evaluaron treinta carotenoides del fruto del mamey rojo usando programas de acoplamiento molecular como AutoDock 4 (ATD), AutoDock Vina (Vina), Smina (función de puntuación Vinardo), QuickVina 2, QuickVina W y PSOVina. Se observó una fuerte correlación entre nuestros resultados computacionales y los datos experimentales. La criptocapsina (**1**) y la zeaxantina (**2**) mostraron una actividad biológica similar, mientras que el epóxido de criptocapsina-5,6 (**24**) fue menos activo tanto *in vitro* como *in silico*. El análisis computacional reveló el siguiente orden de actividad decreciente: (5R,8R)-sapotexantina-5,8-epóxido (**19**) y (5S,8S)-criptocapsina-5,8-epóxido (**26**) mostraron la mayor actividad, seguidos por (5R,8R)-criptocapsina-5,8-epóxido (**28**), β -caroteno (**4**), (5S,8R)-sapotexantina-5,8-epóxido (**20**), (5R,8S)-criptocapsina-5,8-epóxido (**27**), luteína (**3**), (3R,5'S,6'R)- β -criptoxantina-5,6-epóxido (**10**), sapotexantina (**16**), (5R,8S)-sapotexantina-5,8-epóxido (**21**), criptocapsina (**1**) y zeaxantina (**2**). El análisis computacional nos ayudó a priorizar los carotenoides con mayores propiedades terapéuticas potenciales, ahorrando así tiempo y esfuerzo considerables en el progreso de la investigación.

7. Conclusiones generales y perspectivas

En el Capítulo 4, se exploró una metodología sistemática para la predicción de potenciales estándar de reducción. Esta metodología, innovadora por su enfoque, podría aplicarse a otros sistemas de complejos de hierro con características similares, lo que representa un avance significativo en esta área. Esta relevancia se debe a la escasez de información, tanto experimental como computacional, disponible para tratar este tipo de sistemas.

En el Capítulo 5, se realizó el estudio termodinámico de posibles mecanismos de formación de ROS mediada por complejos Fe-A β . Este estudio se puede complementar explorando los parámetros cinéticos de nuestra propuesta. Este análisis constituye un paso inicial esencial para futuros trabajos, que deberían incluir enfoques tanto computacionales como experimentales, para una comprensión más profunda y detallada de estos complejos.

En el Capítulo 6, se desarrolló una metodología robusta y detallada para la caracterización de propiedades antiagregantes de carotenoides y polifenoles con el péptido A β . Esta metodología se contrastó con datos experimentales rigurosos, lo que valida su eficacia y precisión. Gracias a este protocolo, es posible extrapolar la metodología a otras moléculas para evaluar su actividad antiagregante. Este enfoque ofrece una herramienta valiosa para futuras investigaciones en el campo de la química de carotenoides y polifenoles.

Con los conocimientos adquiridos a través de estos dos capítulos de la tesis, se contempla, a futuro, la generación de nuevas moléculas con propiedades tanto antiagregantes como quelantes de metales, enfocándose en elementos como el hierro y el cobre. La capacidad de predecir tanto el SRP en sistemas de Fe-A β como las propiedades antiagregantes es fundamental para la bifuncionalidad de estas nuevas moléculas. Este enfoque innovador no solo enriquece la comprensión científica actual sino que también abre nuevas avenidas para el desarrollo de terapéuticos y agentes químicos con aplicaciones específicas en el campo de la bioquímica y la farmacología.

8. Producción académica

Artículos derivados de la tesis:

- **A. L. Orjuela**, F. Nùñez-Zarur, and J. Alí-Torres, A computational protocol for the calculation of the standard reduction potential of iron complexes: application to $\text{Fe}^{2+/3+}$ - $\text{A}\beta$ model systems relevant to Alzheimer's disease, RSC Advances, vol. 12, pp 24077-24087, 2022.
- **A. L. Orjuela**, J. Lakey-Beitia, R. Mojica-Flores, M. L. Hegde, I. Lans, J. Ali-Torres, and K. Rao, Computational evaluation of interaction between curcumin derivatives and amyloid- monomers and fibrils: Relevance to alzheimer's disease, Journal of Alzheimer's Disease, vol 82, pp S321-S333, 2020.
- **A. L. Orjuela**, Oleg V. Larionov, Muralidhar L. Hegde, K.S. Jagannatha Rao, Jorge Ali-Torres and Johant Lakey-Beitia. Computational evaluation of carotenoids from Red Mamey fruit (*Pouteria sapota*) and their interactions with amyloid- β Monomers in Alzheimer's Disease, *submitted*, 2024
- **A. L. Orjuela**, F. Nùñez-Zarur, and J. Ali-Torres, computational study of hydrogen peroxide formation via $\text{Fe-A}\beta$ complexes , *in preparation*, 2024.
- Muestra de Cartel Physics and Chemistry Meeting at the Interface. Humboldt Kolleg - Medellín 2019.
- Ponencia Oral en el Simposio universitario de investigación en química - SUQUI Bogotá 2021.
- Ponencia Oral en el Simposio universitario de investigación en química - SUQUI Medellín 2022.
- Ponencia Oral en el VIII Encuentro Nacional de Químicos Teóricos y Computacionales (ENQTC) Bogotá 2023.
- Muestra de Cartel LatinXchem 2023.

Artículos académicos en colaboración:

- G. Backman-Blanco, H. Valdés, M. T. Ramírez-Apan, P. Cano-Sanchez, S. Hernandez-Ortega, **A. L. Orjuela**, J. Alí-Torres, A. Flores-Gaspar, R. Reyes-Martínez, and D. Morales-Morales, “Synthesis of Pt(II) complexes of the type [Pt(1,10-phenanthroline)(SSrF_n)₂] (SArF_n = SC₆H₃-3,4-F₂; SC₆F₄-4-H; SC₆F₅). preliminary evaluation of their in vitro anticancer activity,” *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 211, pp 111206-111221, 2020.
- O. Linares-Anaya, A. Avila-Sorrososa, F. Díaz-Cedillo, L. Gil-Ruiz, J. Correa- Basurto, D. Salazar-Mendoza, **A. L. Orjuela**, J. Alí-Torres, M. T. Ramírez-Apan, and D. Morales-Morales, “Synthesis, characterization, and preliminary in vitro cytotoxic evaluation of a series of 2-substituted Benzo[d][1,3] azoles,” *Molecules*, vol. 26, no. 9, pp 2780-2793, 2021.
- R. López-Sánchez, J. Roberto Pioquinto-Mendoza, L. González-Sebastián, R. A. Toscano, M. Flores-Alamo, M. Teresa Ramírez-Apan, **A. L. Orjuela**, J. Alí-Torres, and D. Morales-Morales, “Synthesis and preliminary in vitro cytotoxic activity of Pd(II) complexes including salen-or salphen-ligands,” *Inorganica Chimica Acta*, vol. 550, 121450-121464, 2023.
- D. Canseco-González, I. Rodríguez-Victoria, T. Apam-Ramírez, A. O. Viviano- Posadas, J. S. Serrano-García,, **A. L. Orjuela**, J. Alí-Torres, A. Dorazco- González, and D. Morales-Morales, “Facile, single step synthesis of a series of d-ring ethisterone substituted with 1,4-1,2,3-triazoles. preliminary evaluation of their cytotoxic activities,” *ChemMedChem*, vol. 18, pp e202200659-e202200670, 2023.
- D. Canseco-González, I. Rodríguez-Victoria, T. Apam-Ramírez, A. O. Viviano- Posadas, J. S. Serrano-García, **A. L. Orjuela**, J. Alí-Torres, A. Dorazco- González, and D. Morales-Morales, “Front cover: Facile, single step synthesis of a series of d-ring ethisterone substituted with 1,4-1,2,3-triazoles. preliminary evaluation of their cytotoxic activities,” *Front Cover*.

Reconocimientos

- Beca auxiliar docente 2019.
- Beca asistente docente 2020-2023.

Bibliografía

- [1] J. Lakey-Beitia, Y. González, D. Doens, D. E. Stephens, R. Santamaría, E. Murillo, M. Gutiérrez, P. L. Fernández, K. S. Rao, O. V. Larionov, and A. A. Durant-Archibold, “universal solvation modelment of novel curcumin derivatives as potent inhibitors of inflammation and amyloid- β aggregation in alzheimer’s disease,” *J. Alzheimer’s Dis.*, vol. 60, pp. S59–S68, 2017.
- [2] J. Lakey-Beitia, R. Berrocal, K. S. Rao, and A. A. Durant, “Polyphenols as therapeutic molecules in alzheimer’s disease through modulating amyloid pathways,” *Molecular Neurobiology*, vol. 51, pp. 466–479, 2015.
- [3] K. P. Kepp, “Bioinorganic chemistry of Alzheimer’s disease,” *Chemical reviews*, vol. 112, p. 5193–5239, 2012.
- [4] A. Mirats, J. Ali-Torres, L. Rodríguez-Santiago, M. Sodupe, and G. L. Penna, “Dioxygen activation in the Cu-amyloid β complex,” *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 17, pp. 27270–27274, 2015.
- [5] J. Alí-Torres, “Estudio teórico de la estructura electrónica y molecular de complejos de $\text{Cu}^{1+/2+}$ y $\text{Fe}^{2+/3+}$ relevantes en la enfermedad de Alzheimer,” *Tesis Doctoral*, 2011.
- [6] J. Alí-Torres, L. Rodríguez, M. Sodupe, and A. Rauk, “Structures and stabilities of $\text{Fe}^{2+/3+}$ complexes relevant to Alzheimer’s disease: An ab Initio study,” *Journal of Physical Chemistry*, vol. 115, pp. 12523–12530, 2011.
- [7] A. Kramida, Yu. Ralchenko, and J. Reader, “NIST atomic spectra database ionization energies data,” 2021.
- [8] A. L. Orjuela, F. Núñez-Zarur, and J. Alí-Torres, “A computational protocol for the calculation of the standard reduction potential of iron complexes: application to $\text{Fe}^{2+/3+}$ – $A\beta$ model systems relevant to alzheimer’s disease,” *RSC Advances*, vol. 12, pp. 24077–24087, 2022.
- [9] M. del Pilar Cañabate González, “La demencia senil, el Alzheimer y el demente. nuevas categorías para antiguos significados,” *Tesis Doctoral*), 2014.
- [10] A. Association, “2021 Alzheimer’s disease facts and figures,” *Alzheimers Dement*, vol. 13, pp. 325–373, 2021.

-
- [11] C. R. de Sanchez, D. M. Nariño, and J. Fernando, “Epidemiología y carga de la enfermedad de alzheimer,” *Acta Neurologica Colombiana*, vol. 26, pp. 87–94, 2010.
- [12] F. Lopera, M. Arcos, L. Madrigal, K. Kosik, W. Cornejo, and J. Ossa, “Demencia tipo Alzheimer con agregación familiar en Antioquia , Colombia,” *Acta Neurológica Colombiana*, vol. 10, pp. 173–187, 1994.
- [13] P. V. Arriagada, J. H. Growdon, E. T. Hedley-Whyte, and B. T. Hyman, “Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer’s disease,” *Neurology*, vol. 42, pp. 631–631, 2012.
- [14] G. Waldemar, B. Dubois, M. Emre, J. Georges, I. G. McKeith, M. R. P. Scheltens, P. Tariska, B. Winblad, , and EFNS, “Recommendations for the diagnosis and management of Alzheimer’s disease and other disorders associated with dementia: Efn guideline,” *Eur. J . Neurol*, vol. 14, pp. 1–26, 2007.
- [15] A. Rauk, “The chemistry of Alzheimer’s disease,” *Chemical Society Reviews*, vol. 38, pp. 2698–2715, 2009.
- [16] J. Kardos, I. Kovfics, F. Hajós, M. Kálaman, and M. Simonyi, “Nerve endings from rat brain tissue release copper upon depolarization. a possible role in regulating neuronal excitability,” *Neuroscience Letters*, vol. 103, pp. 139–144, 1989.
- [17] C. J. Maynard, R. Cappai, I. Volitakis, R. A. Cherny, A. R. White, K. Beyreuther, C. L. Masters, A. I. Bush, and Q. X. Li, “Overexpression of alzheimer’s disease amyloid-opposes the age-dependent elevations of brain copper and iron,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 277, pp. 44670–44676, 2002.
- [18] M. Lovell, J. Robertson, W. Teesdale, J. Campbell, and W. Markesbery, “Copper, iron and zinc in alzheimer’s disease senile plaques,” *Journal of the Neurological Sciences*, vol. 158, pp. 47–52, 1998.
- [19] F.-G. Pajonk, H. Kessler, T. Supprian, P. Hamzei, D. Bach, J. Schweickhardt, W. Herrmann, R. Obeid, A. Simons, P. Falkai, G. Multhaup, and T. A. Bayer, “Cognitive decline correlates with low plasma concentrations of copper in patients with mild to moderate alzheimer’s disease,” *Journal of Alzheimer’s Disease*, vol. 8, pp. 23–27, 2005.
- [20] T. Borchardt, J. Camakaris, R. Cappai, C. L. Masters, K. Beyreuther, and G. Multhaup, “Copper inhibits β -amyloid production and stimulates the non-amyloidogenic pathway of amyloid-precursor-protein secretion,” *Biochem. J*, vol. 344, pp. 461–467, 1999.

- [21] J. H. Weiss, S. L. Sensi, and J. Y. Koh, “Zn²⁺: a novel ionic mediator of neural injury in brain disease,” *Trends in Pharmacological Sciences*, vol. 21, pp. 395–401, 2000.
- [22] C. J. Frederickson, S. W. Suh, D. Silva, C. J. Frederickson, and R. B. Thompson, “Importance of zinc in the central nervous system: The zinc-containing neuron,” *The Journal of Nutrition*, vol. 130, pp. 1471S–1483S, 2000.
- [23] L. M. Miller, Q. Wang, T. P. Telivala, R. J. Smith, A. Lanzirotti, and J. Miklossy, “Synchrotron-based infrared and x-ray imaging shows focalized accumulation of cu and zn co-localized with -amyloid deposits in alzheimer’s disease,” *Journal of Structural Biology*, vol. 155, pp. 30–37, 2006.
- [24] J. R. Connor, S. L. Menzies, J. R. Burdo, and P. J. Boyer, “Iron and iron management proteins in neurobiology,” *Pediatric Neurology*, vol. 25, pp. 118–129, 2001.
- [25] J. L. Beard, J. R. Connor, and B. C. Jones, “Iron in the brian,” *Nutrition Reviews*, vol. 51, pp. 157,170, 1993.
- [26] H. M. Schipper, “Heme oxygenase-1: role in brain aging and neurodegeneration,” *Experimental Gerontology*, vol. 35, pp. 821–830, 2000.
- [27] N. Puentes-Díaz, D. Chaparro, D. Morales-Morales, A. Flores-Gaspar, and J. Alí-Torres, “Role of metal cations of copper, iron, and aluminum and multifunctional ligands in Alzheimer’s disease: Experimental and computational insights,” *ACS Omega*, vol. 8, pp. 4508–4526, 2023.
- [28] C. C. Winterbourn, “Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction,” *Toxicology Letters*, vol. 82-83, pp. 969–974, 1995.
- [29] A. A. Belaidi and A. I. Bush, “Iron neurochemistry in Alzheimer’s disease and parkinson’s disease: targets for therapeutics,” *Journal of Neurochemistry*, pp. 179–197, 2016.
- [30] A. A. Mamun, M. S. Uddin, B. Mathew, and G. M. Ashraf, “Toxic tau: Structural origins of tau aggregation in Alzheimer’s disease,” *Neural Regeneration Research*, vol. 15, pp. 1417–1420, 2020.
- [31] J. T. Rogers, J. D. Randall, C. M. Cahill, P. S. Eder, X. Huang, H. Gunshin, L. Leiter, J. McPhee, S. S. Sarang, T. Utsuki, N. H. Greig, D. K. Lahiri, R. E. Tanzi, A. I. Bush, T. Giordano, and S. R. Gullans, “An iron-responsive element type II in the 5-untranslated region of the Alzheimer’s amyloid precursor protein transcript,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 277, pp. 45518–45528, 2002.
- [32] D. J. Pinero and J. R. Connor, “Iron in the brain: An important contributor in normal and diseased states,” *Neuroscientist*, vol. 6, pp. 435–453, 2000.

- [33] G. P. Kumar and F. Khanum, "Neuroprotective potential of phytochemicals.," *Pharmacogn Rev*, vol. 6, pp. 81–90, 2012.
- [34] M. Iranshahi, M. G. Chini, M. Masullo, A. Sahebkar, A. Javidnia, M. C. Yazdi, C. Pergola, A. Koeberle, O. Werz, C. Pizza, S. Terracciano, S. Piacente, and G. Bifulco, "Can small chemical modifications of natural pan-inhibitors modulate the biological selectivity? the case of curcumin prenylated derivatives acting as hdac or mpges-1 inhibitors," *Journal of Natural Products*, vol. 78, pp. 2867–2879, 2015.
- [35] I. Morales, C. Cerda-Troncoso, V. Andrade, and R. B. Maccioni, "The natural product curcumin as a potential coadjuvant in Alzheimer's treatment," *Journal of Alzheimer's Disease*, vol. 60, pp. 451–460, 2017.
- [36] M. Dumont and M. F. Beal, "Neuroprotective strategies involving ROS in Alzheimer disease," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 51, pp. 1014–1026, 2011.
- [37] J. Lakey-Beitia, A. M. Burillo, G. L. Penna, M. L. Hegde, and K. S. Rao, "Polyphenols as potential metal chelation compounds against Alzheimer's disease," *Journal of Alzheimer's Disease*, vol. 82, pp. S335–S357, 2021.
- [38] D. Chaparro, A. Flores-Gaspar, and J. Alí-Torres, "Computational design of copper ligands with controlled metal chelating, pharmacokinetics, and redox properties for Alzheimer's disease," *Journal of Alzheimer's Disease*, vol. 82, pp. S179–S193, 2021.
- [39] K. Ono, Y. Yoshiike, A. Takashima, K. Hasegawa, H. Naiki, and M. Yamada, "Potent anti-amyloidogenic and fibril-destabilizing effects of polyphenols in vitro: implications for the prevention and therapeutics of Alzheimer's disease," *J Neurochem*, vol. 87, pp. 172–181, 2003.
- [40] C. Rivière, T. Richard, X. Vitrac, J. M. Mérillon, J. Valls, and J. P. Monti, "New polyphenols active on -amyloid aggregation," *Bioorg. Med. Chem. Lett*, vol. 18, pp. 828–831, 2008.
- [41] K. I. Priyadarsini, "The chemistry of curcumin: From extraction to therapeutic agent," *Molecules*, vol. 19, pp. 20091–20112, 2014.
- [42] A. Marchiani, S. Mammi, G. Siligardi, R. Hussain, I. Tessari, L. Bubacco, G. Delogu, D. Fabbri, and P. Ruzza, "Small molecules interacting with alpha -synuclein: antiaggregating and cytoprotective properties," *Amino Acids*, vol. 45, pp. 327–338, 2013.
- [43] J. Wu, Y. Zhang, Y. Cai, J. Wang, B. Weng, Q. Tang, X. Chen, Z. Pan, G. Liang, and S. Yang, "Discovery and evaluation of piperid-4-one-containing mono-carbonyl analogs of curcumin as anti-inflammatory agents," *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, vol. 21, pp. 3058–3065, 2013.

- [44] F. Arrigoni, T. Prosdocimi, L. Mollica, L. D. Gioia, G. Zampella, and L. Bertini, “Copper reduction and dioxygen activation in Cu-amyloid beta peptide complexes: insight from molecular modelling,” *Metallomics*, vol. 10, pp. 1618–1630, 2018.
- [45] D. J. Lane, S. Ayton, and A. I. Bush, “Iron and Alzheimer’s disease: An update on emerging mechanisms,” *Journal of Alzheimer’s Disease*, vol. 64, pp. S379–S395, 2018.
- [46] M. Radoń, “Benchmarking quantum chemistry methods for spin-state energetics of iron complexes against quantitative experimental data,” *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 21, pp. 4854–4870, 2019.
- [47] G. M. Sandala, K. H. Hopmann, A. Ghosh, and L. Noodleman, “Calibration of dft functionals for the prediction of 57 Fe mössbauer spectral parameters in iron-nitrosyl and iron-sulfur complexes: Accurate geometries prove essential,” *Journal of Chemical Theory and Computation*, vol. 7, pp. 3232–3247, 2011.
- [48] S. Song, M.-C. Kim, E. Sim, A. Benali, O. Heinonen, and K. Burke, “Benchmarks and reliable DFT results for spin-crossover complexes,” *arXiv: Chemical Physics*, 2017.
- [49] J. Conradie and A. Ghosh, “DFT calculations on the spin-crossover complex Fe(salen)(NO): A quest for the best functional,” *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 111, pp. 12621–12624, 2007.
- [50] K. Arumugam and U. Becker, “Computational redox potential predictions: Applications to inorganic and organic aqueous complexes, and complexes adsorbed to mineral surfaces,” *Minerals*, vol. 4, pp. 345–387, 2014.
- [51] L. E. Roy, E. Jakubikova, M. G. Guthrie, and E. R. Batista, “Calculation of one-electron redox potentials revisited. is it possible to calculate accurate potentials with density functional methods?,” *Journal of Physical Chemistry A*, vol. 113, pp. 6745–6750, 2009.
- [52] M. A. Rizvi, M. Mane, M. A. Khuroo, and G. M. Peerzada, “Computational survey of ligand properties on iron(III)–iron(II) redox potential: exploring natural attenuation of nitroaromatic compounds,” *Monatshefte für Chemie*, vol. 148, pp. 655–668, 2017.
- [53] M. Horch, “Rational redox tuning of transition metal sites: Learning from superoxide reductase,” *Chemical Communications*, vol. 55, pp. 9148–9151, 2019.
- [54] K. M. Saravanan, H. Zhang, H. Zhang, W. Xi, and Y. Wei, “On the conformational dynamics of -amyloid forming peptides: A computational perspective,” *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol. 8, pp. 1–19, 2020.

- [55] K. Teilum, J. G. Olsen, and B. B. Kragelund, "Protein stability, flexibility and function," *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*, vol. 1814, pp. 969–976, 2011.
- [56] E. Schrödinger, "Quantisierung als eigenwertproblem," *Annalen der Physik*, vol. 385, no. 13, pp. 437–490, 1926.
- [57] A. Szabo and N. S. Ostlund, *Modern Quantum Chemistry: : Introduction to Advanced Electronic Structure Theory*. Dover Publications, 1 ed., 1996.
- [58] W. J. Hehre, "Ab initio molecular orbital theory," *Accounts of Chemical Research*, vol. 9, pp. 399–406, 1976.
- [59] B. Nagy and F. Jensen, *Basis Sets in Quantum Chemistry*, ch. 3, pp. 93–149. John Wiley Sons, Ltd, 2017.
- [60] M. Dolg, U. Wedig, H. Stoll, and H. Preuss, "Energy-adjusted abinitio pseudopotentials for the first row transition elements," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 86, no. 2, pp. 866–872, 1987.
- [61] P. J. Hay and W. R. Wadt, "Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for the transition metal atoms Sc to Hg," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 82, no. 1, pp. 270–283, 1985.
- [62] P. Hohenberg and W. Kohn, "Inhomogeneous electron gas," *Phys. Rev.*, vol. 136, pp. B864–B871, 1964.
- [63] W. Kohn and L. J. Sham, "Self-consistent equations including exchange and correlation effects," *Phys. Rev.*, vol. 140, pp. A1133–A1138, 1965.
- [64] J. P. Perdew and A. Zunger, "Self-interaction correction to density-functional approximations for many-electron systems," *Phys. Rev. B*, vol. 23, pp. 5048–5079, May 1981.
- [65] J. P. Perdew and Y. Wang, "Accurate and simple analytic representation of the electron-gas correlation energy," *Phys. Rev. B*, vol. 45, pp. 13244–13249, Jun 1992.
- [66] J. P. Perdew, K. Burke, and M. Ernzerhof, "Generalized gradient approximation made simple," *physical review letters*, vol. 77, pp. 3865–3868, 1996.
- [67] J. Tao, J. P. Perdew, V. N. Staroverov, and G. E. Scuseria, "Climbing the density functional ladder: Nonempirical meta-generalized gradient approximation designed for molecules and solids," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 91, p. 146401, Sep 2003.
- [68] A. V. Arbuznikov, "Hybrid exchange correlation functionals and potentials: Concept elaboration," *Journal of Structural Chemistry*, vol. 48, pp. S1–S21, 2007.

- [69] J. M. L. Martin and G. Santra, "Empirical double-hybrid density functional theory: A 'third way' in between wft and dft," *Israel Journal of Chemistry*, vol. 60, no. 8-9, pp. 787–804, 2020.
- [70] D. Frenkel and B. Smit, *Statistical Mechanics*. Academic Press, 2 ed., 2002.
- [71] C. J. Cramer and D. G. Truhlar, "Implicit solvation models: equilibria, structure, spectra, and dynamics," *Chemical Reviews*, vol. 99, pp. 2161–2200, 1999.
- [72] I. N. Levine, D. H. Busch, and H. Shull, *Quantum chemistry*. Pearson Prentice Hall Upper Saddle River, NJ, 6 ed., 2009.
- [73] J. Tomasi, B. Mennucci, and R. Cammi, "Quantum mechanical continuum solvation models," *Chemical Reviews*, vol. 105, pp. 2999–3093, 2005.
- [74] H. M. Senn and W. Thiel, "Qm/mm methods for biomolecular systems," *Angewandte Chemie - International Edition*, vol. 48, pp. 1198–1229, 2009.
- [75] B. Mennucci, J. Tomasi, R. Cammi, J. R. Cheeseman, M. J. Frisch, F. J. Devlin, S. Gabriel, and P. J. Stephens, "Polarizable continuum model (PCM) calculations of solvent effects on optical rotations of chiral molecules," *The Journal of Physical Chemistry A*, vol. 106, pp. 6102–6113, 5 2002.
- [76] A. V. Marenich, C. J. Cramer, and D. G. Truhlar, "Universal solvation model based on solute electron density and a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions," *J. Phys. Chem. B.*, vol. 113, pp. 6378–6396, 2009.
- [77] M. Karplus and J. A. McCammon, "Molecular dynamics simulations of biomolecules," *Nature Structural Biology*, vol. 9, pp. 646–652, 2002.
- [78] R. O. Dror, R. M. Dirks, J. P. Grossman, H. Xu, and D. E. Shaw, "Biomolecular simulation: A computational microscope for molecular biology," *Annual Review of Biophysics*, vol. 41, pp. 429–452, 2012.
- [79] D. Frenkel and B. Smit, *Statistical Mechanics*. Academic Press, 2 ed., 2002.
- [80] A. R. Leach, B. K. Shoichet, and C. E. Peishoff, "Prediction of proteinligand interactions. docking and scoring: successes and gaps," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 49, pp. 5851–5855, 2006.
- [81] D. B. Kitchen, H. Decornez, J. R. Furr, and J. Bajorath, "Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications," *Nature Reviews Drug Discovery*, vol. 3, pp. 935–949, 2004.

- [82] R. A. Friesner, J. L. Banks, R. B. Murphy, T. A. Halgren, J. J. Klicic, D. T. Mainz, M. P. Repasky, E. H. Knoll, M. Shelley, J. K. Perry, D. E. Shaw, P. Francis, and P. S. Shenkin, "Glide: A new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. method and assessment of docking accuracy," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 47, pp. 1739–1749, 2004.
- [83] G. M. Morris, D. S. Goodsell, R. S. Halliday, R. Huey, W. E. Hart, R. K. Belew, and A. J. Olson, "Automated docking using a lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function," *Journal of Computational Chemistry*, vol. 19, pp. 1639–1662, 1998.
- [84] G. Jones, P. Willett, R. C. Glen, A. R. Leach, and R. Taylor, "Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking," *Journal of Molecular Biology*, vol. 267, pp. 727–748, 1997.
- [85] M. L. Hegde, P. M. Hegde, K. S. Rao, and S. Mitra, "Oxidative genome damage and its repair in neurodegenerative diseases: Function of transition metals as a double-edged sword," *Journal of Alzheimer's Disease*, vol. 24, pp. 183–198, 2011.
- [86] B. J. Tabner, S. Turnbull, R. O. M. El-Agnaf, and D. Allsop, "Production of reactive oxygen species from aggregating proteins implicated in alzheimers disease, parkinsons disease and other neurodegenerative diseases," *Current Topics in Medicinal Chemistry*, vol. 1, pp. 507–517, 2005.
- [87] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. M. Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. J. Bearpark, J. J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, "Gaussian 16 revision D.01," 2016. Gaussian Inc. Wallingford CT.
- [88] V. A. Rassolov, J. A. Pople, M. A. Ratner, and T. L. Windus, "6-31G* basis set for atoms K through Zn," *Journal of Chemical Physics*, vol. 109, pp. 1223–1229, 1998.
- [89] F. Weigend and R. Ahlrichs, "Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence

- and quadruple zeta valence quality for H to Rn: Design and assessment of accuracy,” *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 7, pp. 3297–3305, 2005.
- [90] T. H. Dunning, “Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. i. the atoms boron through neon and hydrogen,” *The Journal of Chemical Physics*, vol. 90, pp. 1007–1023, 1989.
- [91] W. J. Stevens, M. Krauss, H. Basch, and P. G. Jasien, “Relativistic compact effective potentials and efficient, shared-exponent basis sets for the third-, fourth-, and fifth-row atoms,” *Canadian Journal of Chemistry*, vol. 70, pp. 612–630, 1990.
- [92] N. E. Schultz, Y. Zhao, and D. G. Truhlar, “Density functional for inorganometallic and organometallic chemistry,” *Journal of Physical Chemistry A*, vol. 109, pp. 11127–11143, 2005.
- [93] J. Tomasi and M. Persico, “Molecular interactions in solution: An overview of methods based on continuous distributions of the solvent,” *Chemical Reviews*, vol. 94, pp. 2027–2094, 1994.
- [94] K. Hyungjun, P. Joungwon, and L. Y. Sup, “A protocol to evaluate one electron redox potential for iron complexes,” *Journal of Computational Chemistry*, vol. 34, pp. 2233–2241, 2013.
- [95] S. G. Bratsch, “Standard electrode potentials and temperature coefficients in water at 298.15 k,” *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, vol. 18, pp. 1–21, 1989.
- [96] M. Cossi, N. Rega, G. Scalmani, and V. Barone, “Energies, structures, and electronic properties of molecules in solution with the C-PCM solvation model,” *Journal of Computational Chemistry*, vol. 24, pp. 669–681, 2003.
- [97] A. N. Masliy, T. N. Grishaeva, and A. M. Kuznetsov, “Standard redox potentials of Fe(III) aqua complexes included into the cavities of cucurbit[n]urils (n = 6-8): A DFT forecast,” *Journal of Physical Chemistry A*, vol. 123, pp. 1341–1346, 2019.
- [98] M. D. Tissandier, K. A. Cowen, W. Y. Feng, E. Gundlach, M. H. Cohen, A. D. Earhart, J. V. Coe, and T. R. Tuttle, “The proton’s absolute aqueous enthalpy and gibbs free energy of solvation from cluster-ion solvation data,” vol. 102, pp. 7787–7794, 1998.
- [99] B. H. Solis and S. Hammes-Schiffer, “Substituent effects on cobalt diglyoxime catalysts for hydrogen evolution,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 133, pp. 19036–19039, 2011.
- [100] L. E. Fernandez, S. Horvath, and S. Hammes-Schiffer, “Theoretical analysis of the sequential proton-coupled electron transfer mechanisms for h₂ oxidation and production

- pathways catalyzed by nickel molecular electrocatalysts,” *Journal of Physical Chemistry C*, vol. 116, pp. 3171–3180, 2012.
- [101] D. Chaparro and J. Alí-Torres, “Assessment of theisodesmic method in the calculation of standard reduction potential of copper complexes,” *Journal of Molecular Modeling*, vol. 23, p. 283, 2017.
- [102] A. Galstyan and E. W. Knapp, “Accurate redox potentials of mononuclear iron, manganese, and nickel model complexes,” *Journal of Computational Chemistry*, vol. 30, pp. 203–211, 2009.
- [103] T. Miura, K. Suzuki, and H. Takeuchi, “Binding of iron(III) to the single tyrosine residue of amyloid beta-peptide probed by raman spectroscopy,” *Journal of Molecular Structure*, vol. 598, pp. 79–84, 2001.
- [104] T. Miura, K. Suzuki, N. Kohata, and H. Takeuchi, “Metal binding modes of Alzheimer’s amyloid beta-peptide in insoluble aggregates and soluble complexes,” *Biochemistry*, vol. 39, pp. 7024–7031, 2000.
- [105] D. L. Nelson and M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*. W. H Freeman, 2005.
- [106] E. J. Shin, Y. H. Chung, N. Sharma, B. T. Nguyen, S. H. Lee, S. W. Kang, S. Y. Nah, M. B. Wie, T. Nabeshima, J. H. Jeong, and H. C. Kim, “Glutathione peroxidase-1 knockout facilitates memory impairment induced by β -amyloid (1–42) in mice via inhibition of p38-mediated erk signaling; application with glutathione peroxidase-1 gene-encoded adenovirus vector,” *Neurochemical Research*, vol. 45, pp. 2991–3002, 12 2020.
- [107] C. Behl, *Oxidative stress in Alzheimer’s Disease: Implications for Prevention and Therapy*, pp. 65–78. Boston, MA: Springer US, 2005.
- [108] M. N. Glukhovtsev, R. D. Bach, and C. J. Nagel, “Performance of the B3LYP/ECP DFT calculations of iron-containing compounds,” *Journal of Physical Chemistry A*, 1997.
- [109] P. Pracht, F. Bohle, and S. Grimme, “Automated exploration of the low-energy chemical space with fast quantum chemical methods,” *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 22, pp. 7169–7192, 2020.
- [110] K. A. Wollen, “Alzheimer’s disease: The pros and cons of pharmaceutical, nutritional, botanical, and stimulatory therapies, with a discussion of treatment strategies from the perspective of patients and practitioners,” *Alternative Medicine Review*, vol. 15, pp. 223–244, 2010.

- [111] E. L. Cooper and M. J. Ma, “Alzheimer disease: Clues from traditional and complementary medicine,” *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, vol. 7, pp. 380–385, 2017.
- [112] A. A. Starkov and F. M. Beal, “Portal to Alzheimer’s disease,” *Nature Medicine*, vol. 14, pp. 1020–1021, 2008.
- [113] V. Calsolaro and P. Edison, “Neuroinflammation in Alzheimer’s disease: Current evidence and future directions,” *Alzheimer’s and Dementia*, vol. 12, pp. 719–732, 2016.
- [114] H. Sticht, P. Bayer, D. Willbold, S. Dames, C. Hilbich, K. Beyreuther, R. W. Frank, and P. Rosch, “Structure of amyloid A4-(1-40)-peptide of Alzheimer’s disease,” *Eur. J. Biochem*, vol. 233, pp. 293–298, 1995.
- [115] M. Coles, W. Bicknell, a a Watson, D. P. Fairlie, and D. J. Craik, “Solution structure of amyloid beta-peptide(1-40) in a water-micelle environment.,” *Biochemistry*, vol. 37, pp. 11064–77, 1998.
- [116] T. Darden, D. Case, I. Ben-Shalom, S. Brozell, D. Cerutti, I. T.E. Cheatham, V. Cruzeiro, Y. Huang, R. Duke, D. Ghoreishi, M. Gilson, H. Gohlke, A. Goetz, D. Greene, R. Harris, N. Homeyer, D. S. Izadi, A. Kovalenko, T. Kurtzman, T. Lee, S. LeGrand, P. Li, C. Lin, J. Liu, T. L. amd R. Luo, R. Mermelstein, K. Merz, Y. Miao, G. Monard, C. Nguyen, H. Nguyen, I. Omelyan, A. Onufriev, F. Pan, D. York, P. K. Qi, D. Roe, A. Roitberg, C. Sagui, S. Schott-Verdugo, J. Shen, C. Simmerling, J. Smith, R. SalomonFerrer, J. Swails, R. Walker, J. Wang, H. Wei, R. Wolf, X. Wu, and L. Xiao, “Amber 18,” 2018.
- [117] C. Simmerling, “ff 14sb: Improving the accuracy of protein side chain and backbone parameters from ff 99sb,” *J. Chem. Theory Comput*, vol. 11, p. 3696–3713, 2015.
- [118] W. Humphrey, A. Dalke, and K. Schulten, “Vmd: visual molecular dynamics,” *Journal of molecular graphics*, vol. 14, pp. 33–38, 1996.
- [119] D. R. Roe and T. E. C. III, “Ptraj and cpptraj: software for processing and analysis of molecular dynamics trajectory data,” *J Chem Theory Com*, vol. 9, pp. 3084–3095, 2013.
- [120] X. Jin and J. Han, “K-medoids clustering,” *Encyclopedia of Machine Learning and Data Mining*, pp. 697–700, 2017.
- [121] L. Schrödinger, “The PyMol molecular graphics system,” 2015.
- [122] G. Morris and R. Huey, “Autodock4 and autodocktools4: Automated docking with selective receptor flexibility,” *Journal of computational chemistry*, vol. 30, pp. 2785–2791, 2009.

- [123] O. Trott and A. J. Olson, “Autodock vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading,” *Journal of computational chemistry*, vol. 31, pp. 455–461, 2010.
- [124] D. R. Koes, M. P. Baumgartner, and C. J. Camacho, “Lessons learned in empirical scoring with smina from the csar 2011 benchmarking exercise,” *Journal of Chemical Information and Modeling*, vol. 53, pp. 1893–1904, 2013.
- [125] L. Schrödinger, “Maestro,” 2023.
- [126] C. N. Cavasotto and R. A. Abagyan, “Protein flexibility in ligand docking and virtual screening to protein kinases,” *Journal of Molecular Biology*, vol. 337, pp. 209–225, 2004.
- [127] K. Palacio-Rodríguez, I. Lans, C. N. Cavasotto, and P. Cossio, “Exponential consensus ranking improves the outcome in docking and receptor ensemble docking,” *Scientific Reports*, vol. 9, pp. 1–14, 2019.
- [128] C. Ritter, M. Adrian, D. Riek-loher, B. Bohrmann, H. Do, D. Schubert, and R. Riek, “3D structure of Alzheimer’s amyloid-beta(1–42) fibrils,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 102, pp. 17342–17347, 2005.
- [129] I. Lans, K. Palacio-Rodríguez, C. N. Cavasotto, and P. Cossio, “Flexi-pharma: a molecule-ranking strategy for virtual screening using pharmacophores from ligand-free conformational ensembles,” *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, vol. 34, pp. 1063–1077, 2020.
- [130] I. Lans, E. Anoz-Carbonell, K. Palacio-Rodríguez, J. A. Aínsa, M. Medina, and P. Cossio, “In silico discovery and biological validation of ligands of fad synthase, a promising new antimicrobial target,” *PLOS Computational Biology*, vol. 16, p. e1007898, 2020.
- [131] M. Wieder, A. Garon, U. Perricone, S. Boresch, T. Seidel, A. M. Almerico, and T. Langer, “Common hits approach: Combining pharmacophore modeling and molecular dynamics simulations,” *Journal of Chemical Information and Modeling*, vol. 57, pp. 365–385, 2017.
- [132] P. H. Reddy, M. Manczak, X. Yin, M. C. Grady, A. Mitchell, R. Kandimalla, and C. S. Kuruva, “Protective effects of a natural product, curcumin, against amyloid induced mitochondrial and synaptic toxicities in alzheimer’s disease,” *Journal of Investigative Medicine*, vol. 64, pp. 1220–1234, 2016.
- [133] L. O. Tjernberg, J. Näslundt, F. Lindqvist, J. Johansson, A. R. Karlström, J. Thyberg, L. Terenius, and C. Nordstedt, “Arrest of -amyloid fibril formation by a pentapeptide ligand,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 271, pp. 8545–8548, 1996.

- [134] J. Lakey-Beitia, A. M. Burillo, G. L. Penna, M. L. Hegde, and K. Rao, "Polyphenols as potential metal chelation compounds against alzheimer's disease," *Journal of Alzheimer's Disease*, pp. 1–23, 2020.
- [135] A. Orjuela, J. Lakey-Beitia, R. Mojica-Flores, M. L. Hegde, I. Lans, J. Alí-Torres, and K. Rao, "Computational evaluation of interaction between curcumin derivatives and amyloid- monomers and fibrils: Relevance to alzheimer's disease," *Journal of Alzheimer's Disease*, pp. 1–13, 2020.
- [136] J. Lakey-Beitia, A. A. Durant-Archibold, D. Doens, P. L. Fernandez, and E. Murillo, "Anti-amyloid aggregation activity of novel carotenoids: Implications for alzheimer's drug discovery," *Clinical Interventions in Aging*, vol. 12, pp. 815–822, 2017.
- [137] J. Lakey-Beitia, J. K. D, and M. L. Hegde, "Carotenoids as novel therapeutic molecules against neurodegenerative disorders : Chemistry and molecular docking analysis," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, pp. 1–22, 2019.
- [138] S. Katayama, H. Ogawa, and S. Nakamura, "Apricot carotenoids possess potent anti-amyloidogenic activity in vitro," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 59, pp. 12691–12696, 2011.
- [139] D. Hornero-Méndez, R. G.-L. de Guevara, and M. I. Mínguez-Mosquera, "Carotenoid biosynthesis changes in five red pepper (*capsicum annum* l.) cultivars during ripening. cultivar selection for breeding," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 48, pp. 3857–3864, 2000.
- [140] G. Maiani, M. J. Periago Castón, G. Catasta, E. Toti, I. G. Cambrodón, A. Bysted, F. Granada-Lorencio, B. Olmedilla-Alonso, P. Knuthsen, M. Valoti, V. Böhm, E. Mayer-Miebach, D. Behnlian, and U. Schlemmer, "Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans," *Molecular Nutrition & Food Research*, vol. 53, no. S2, pp. S194–S218, 2009.
- [141] E. Murillo, D. Giuffrida, D. Menchaca, P. Dugo, G. Torre, A. J. Meléndez-Martinez, and L. Mondello, "Native carotenoids composition of some tropical fruits," *Food Chemistry*, vol. 140, pp. 825–836, 2013.
- [142] J. Lakey-Beitia, V. Vasquez, A. L. F. C. Randy Mojica-Flores and, E. Murillo, M. L. Hegde, and K. S. Rao, "Pouteria sapota (red mamey fruit): Chemistry and biological activity of carotenoids," *Comb Chem High Throughput Screen*, vol. 25, pp. 1134–1147, 2022.
- [143] E. Murillo, R. McLean, G. Britton, A. Agócs, V. Nagy, and J. Deli, "Sapotexanthin, an A-provitamin carotenoid from red mamey (*Pouteria sapota*),," *J Nat Prod*, vol. 74, p. 283–285.

- [144] M. W. Chang, C. Ayeni, S. Breuer, and B. E. Torbett, "Virtual screening for HIV protease inhibitors : A comparison of AutoDock4 and Vina," *PLoS One*, pp. 1–9.
- [145] A. Alhossary, S. D. Handoko, Y. Mu, and C.-K. Kwoh, "Fast, accurate, and reliable molecular docking with quickvina 2," *Bioinformatics*, vol. 31, pp. 2214–2216, 2015.
- [146] N. M. Hassan, A. A. Alhossary, Y. Mu, and C. K. Kwoh, "Protein-ligand blind docking using quickvina-w with inter-process spatio-temporal integration," *Scientific Reports*, vol. 7, pp. 15451–15464, 2017.
- [147] H. K. Tai, S. A. Jusoh, and S. W. Siu, "Chaos-embedded particle swarm optimization approach for protein-ligand docking and virtual screening," *Journal of Cheminformatics*, vol. 10, pp. 1–13, 2018.
- [148] D. R. Lide, G. Baysinger, L. I. Berger, R. N. Goldberg, H. V. Kehiaian, K. Kuchitsu, D. L. Roth, and D. Zwillinger, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. CRC Press Inc., 1992.
- [149] A. Cabort, A. Michel, B. Therrien, H. Stoeckli-Evans, K. Bernauer, G. Süß-Fink, A. F. Williams, and G. Stupka, "Iron, cobalt, nickel and ruthenium complexes of 2,6-bis(3,4-dihydro-2H-pyrrol-5-yl)pyridine, a pybox analogue," *Inorganica Chimica Acta*, vol. 350, pp. 193–200, 2003.
- [150] X. Tao, D. W. Stephan, and P. K. Mascharak, "Synthetic analogue approach to metallobleomycins. 2. synthesis, structure, and properties of the low-spin iron(III) complex of N-(2-(4-imidazolyl)ethyl)pyridine-2-carboxamide," *J. Inorg. Chem.*, vol. 26, pp. 755–759, 1986.
- [151] S. J. Brown, M. M. Olmstead, and P. K. Mascharak, "Iron(II) and iron(III) complexes of N-(2-(4-imidazolyl)ethyl)pyrimidine-4-carboxamide, a ligand resembling part of the metal-binding domain of bleomycin," *Inorg. Chem.*, vol. 29, pp. 3229–3234, 1990.
- [152] D. S. Marlin, M. M. Olmstead, and P. K. Mascharak, "Spin states and stability of Fe(III) complexes of ligands with carboxamido nitrogen and phenolato oxygen donors," *European Journal of inorganic chemistry*, pp. 859–865, 2002.
- [153] R. F. Carina, L. Verzeqnessi, G. Bernardinelli, and A. F. Williams, "Modulation of iron reduction potential by deprotonation at a remote site," *Chemical Communications*, pp. 2681–2682, 1998.
- [154] P. V. Bernhardt, P. Comba, T. W. Hamble, and G. A. Lawrance, "Coordination of the sexidentate macrocycle 6,13-dimethyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane-6,13-diamine to iron(III)," *J inorg Chem*, vol. 30, pp. 942–946, 1991.

- [155] K. Wieghardt, W. Schmidt, W. Herrmann, and H.-J. Kuppers, "Redox potentials of bis(1,4,7-triazacyclononane) complexes of some first transition series metals(II,III). preparation of bis(1,4,7-triazacyclononane)nickel(III) perchlorate," *J Inorg Chem*, vol. 22, pp. 2953–2956, 1983.
- [156] K. Wieghardt, E. Schoffmann, B. Nuber, and J. Weiss2, "Syntheses, properties, and electrochemistry of transition-metal complexes of the macrocycle 1,4,7-tris(2-pyridylmethyl)-1,4,7-triazacyclononane (L). crystal structures of [NiL](ClO₄)₂, [MnL](ClO₄)₂, and [PdL](PF₆)₂ containing a distorted-square-base-pyramidal pdIIN5 core," *Inorg. Chem*, vol. 25, pp. 4877–4883, 1986.
- [157] B. P. George, G. I. H. Hanania, and D. H. Irvine, "Potentiometric studies of some dipyridyl complexes," *Journal of chemical society*, pp. 2548–2554, 1959.
- [158] J. Shearer, H. L. Jackson, D. Schweitzer, D. K. Rittenberg, T. M. Leavy, W. Kaminsky, R. C. Scarrow, and J. A. Kovacs, "The first example of a nitrile hydratase model complex that reversibly binds nitriles," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 124, pp. 11417–11428, 2002.

A. Anexos

A.1. Datos suplementarios del capítulo 4

Información 3EI del hierro completa. https://github.com/alorjuelar/Support_Tesis/blob/main/Support3EI.pdf

Mapa de calor completo de la 3EI el hierro. https://github.com/alorjuelar/Support_Tesis/blob/main/heatmap.png

Geometría de complejos de calibración. https://github.com/alorjuelar/Support_Tesis/blob/main/Geometrias_complejos.pdf

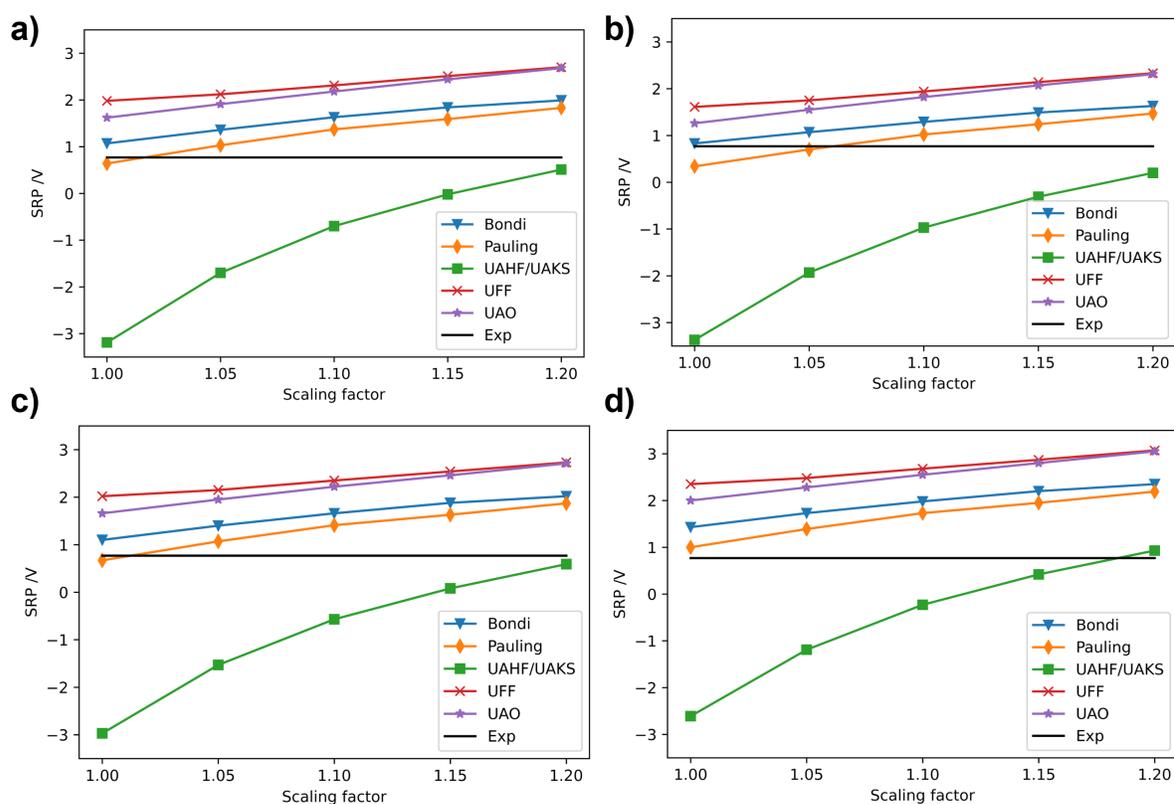


Figura A-1.: SRP calculado para el par $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+/2+}$ usando a) M06/cc-pVQZ(Fe)-6-31+G(d,p)(O,H); b) M06L/cc-pVDZ(Fe)-6-31+G(d,p)(O,H); c) M06/6-31+G(d,p); d) B3LYP/6-31+G(d,p). La SRP experimental para $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+/2+}$ es de 0.77 V (línea negra continua).

Tabla A-1.: SRP de complejos de hierro reportados experimentalmente del conjunto de entrenamiento

Complejo	Fórmula química	SRP (V)	Solvente	Ref
1	[Fe(phen) ₃]	1.15	Agua	[148]
2	[Fe(bpy) ₃]	1.03	Agua	[148]
3	[Fe(Py ₂ Py) ₂]	1.30	Acetonitrilo	[149]
4	[Fe(Py ₂ pep) ₂]	-0.04	Agua	[150]
5	[Fe(Prpep) ₂]	0.18	Agua	[151]
6	[Fe(Py ₂ pepO) ₂]	-0.84	DFM	[152]
7	[Fe(PyIm ₂ H ₂) ₂]	-0.46	Acetonitrilo	[153]
8	[Fe(sar)]	0.05	Agua	[154]
9	[Fe(diammac)]	-0.15	Agua	[154]
10	[Fe(tacn) ₂]	0.13	Agua	[155]
11	[Fe(EDTA)]	0.10	Agua	[95]
12	[Fe(PaPy ₂ O)(Cl)]	-0.27	DFM	[152]
13	[Fe(NTA)(H ₂ O) ₂]	0.37	Agua	[95]
14	[Fe(Py ₃ tacn)]	0.97	Acetonitrilo	[156]
15	[Fe(bpy)CN ₄]	0.54	Agua	[157]
16	[Fe(DITim) ₂]	-0.44	Acetonitrilo	[158]
17	[Fe(H ₂ O) ₆]	0.77	Agua	[95]

Tabla A-2.: Energía relativa y termoquímica del conjunto de entrenamiento

Complejo	Fórmula química	Carga del hierro	Multiplicidad	ΔE_{SCF} (kcal/mol)	ΔG^{298} (kcal/mol)
1	[Fe(phen) ₃]	+3	6	9.6	5.0
			2	0.0	0.0
		+2	5	4.8	0.0
			1	0.0	1.6
2	[Fe(bpy) ₃]	+3	6	11.4	6.8
			2	0.0	0.0
		+2	5	6.3	0.0
			1	0.0	0.7
3	[Fe(Py _r ₂ Py) ₂]	+3	6	7.2	3.4
			2	0.0	0.0
		+2	5	5.9	0.0
			1	0.0	0.6
4	[Fe(Py _r ep) ₂]	+3	6	8.0	2.8
			2	0.0	0.0
		+2	5	0.0	0.0
			1	0.2	7.2
5	[Fe(Pr _r ep) ₂]	+3	6	5.0	0.0
			2	0.0	0.1
		+2	5	0.0	0.0
			1	0.5	7.5
6	[Fe(Py _r epO) ₂]	+3	6	0.0	0.0
			2	4.8	8.3
		2	5	0.0	0.0
			1	11.4	16.4
7	[Fe(PyIm ₂ H ₂) ₂]	+3	6	5.1	1.5
			2	0.0	0.0
		+2	5	0.0	0.0
			1	0.3	6.3
8	[Fe(sar)]	+3	6	7.5	4.5
			2	0.0	0.0
		+2	5	1.3	0.0
			1	0.0	3.7
9	[Fe(diammac)]	+3	6	20.3	15.1
			2	0.0	0.0
		+2	5	8.2	2.4
			1	0.0	0.0

Tabla A-3.: Energía relativa y termoquímica del conjunto de entrenamiento, continuación

Complejo	Fórmula química	Carga del hierro	Multiplicidad	ΔE_{SCF} (kcal/mol)	ΔG^{298} (kcal/mol)
10	[Fe(tacn) ₂]	+3	6	7.4	4.2
			2	0.0	0.0
		+2	5	2.4	0.0
			1	0.0	2.5
11	[Fe(EDTA)]	+3	6	0.0	0.0
			2	8.2	10.6
		+2	5	0.0	0.0
			1	19.1	24.3
12	[Fe(PaPy ₂ O)(Cl)]	+3	6	0.0	0.0
			2	6.4	10.3
		+2	5	0.0	0.0
			1	10.3	15.3
13	[Fe(NTA)(H ₂ O) ₂]	+3	6	0.0	0.0
			2	12.5	13.8
		+2	5	0.0	0.0
			1	39.1	41.9
14	[Fe(Py ₃ tacn)]	+3	6	6.4	2.2
			2	0.0	0.0
		+2	5	1.7	0.0
			1	0.0	4.0
15	[Fe(bpy)CN ₄]	+3	6	21.5	15.2
			2	0.0	0.0
		+2	5	18.9	9.2
			1	0.0	0.0
16	[Fe(DITim) ₂]	+3	6	7.5	3.4
			2	0.0	0.0
		+2	5	0.0	0.0
			1	9.2	15.1
17	[Fe(H ₂ O) ₆]	+3	6	0.0	0.0
			2	30.0	30.5
		+2	5	0.0	0.0
			1	29.9	36.5

Tabla A-4.: Energía relativa y termoquímica de los modelos Fe-A β

Complejo	Fórmula complejo	Multiplidad	ΔE_{SCF} (kcal/mol)	ΔG^{298} (kcal/mol)
18 ²⁺	[Fe(O-HisHis)(H ₂ O) ₃] ²⁺	1	24.4	30.8
		3	18.5	19.9
		5	0.0	0.0
18 ³⁺	[Fe(O-HisHis)(H ₂ O) ₃] ³⁺	2	18.2	22.9
		4	10.1	11.2
		6	0.0	0.0
19 ²⁺	[Fe(O-HisHis)(Im)(H ₂ O) ₂] ²⁺	1	19.8	26.9
		3	15.6	17.0
		5	0.0	0.0
19 ³⁺	[Fe(O-HisHis)(Im)(H ₂ O) ₂] ³⁺	2	11.6	17.7
		4	5.7	7.7
		6	0.0	0.0
20 ²⁺	[Fe(O-HisHis)(Ph)(H ₂ O)] ¹⁺	1	29.6	44.3
		3	2.9	13.9
		5	0.0	0.0
20 ³⁺	[Fe(N-HisHis)(Ph)(H ₂ O)] ¹⁺	2	19.0	19.9
		4	5.6	6.6
		6	0.0	0.0

Tabla A-5.: RMSD (Å) de las geometrías optimizadas en los niveles M06 y M06L para complejos de hierro representativos frente a B3LYP como referencia en fase gaseosa. Los estados de espín ($2S + 1$) de los complejos de hierro se muestran entre paréntesis.

Complejo	Carga	M06L	M06
2 (2)	3+	0.042	0.138
2 (1)	2+	0.055	0.067
17 (6)	3+	0.154	0.185
17 (5)	2+	0.145	0.158
13 (6)	3+	0.095	0.341
13 (5)	2+	0.182	0.215
11 (6)	3+	0.152	0.156
11 (5)	2+	0.265	0.314

Tabla A-6.: SRP (V) de complejos de hierro seleccionados utilizando geometrías optimizadas tanto en fase gaseosa como en disolución. Para esto, empleamos el modelo de solvente SMD y los métodos directo e isodésmico, al nivel teórico M06L/cc-pVDZ(Fe)-6-31+G(d,p)(O, H). Los estados de espín ($2S + 1$) de estos complejos de hierro se indican entre paréntesis.

Complejo	Exp	Optimización en fase gas		Optimización en solvente	
		Directo	Isodesmico	Directo	Isodesmico
9 (2/1)	-0.15	-0.33	-0.05	-0.23	-0.04
8 (2/1)	0.05	-0.23	-0.05	-0.14	-0.06

B. Anexos

B.1. Datos suplementarios del capítulo 5

Datos complejos de Fe-A β https://github.com/alorjuelar/Support_Tesis/blob/main/Geo.xyz

Datos de energía de los complejos de Fe-A β https://github.com/alorjuelar/Support_Tesis/blob/main/energia.pdf

Datos de la termodinámica de complejos Fe-A β https://github.com/alorjuelar/Support_Tesis/blob/main/termo.pdf

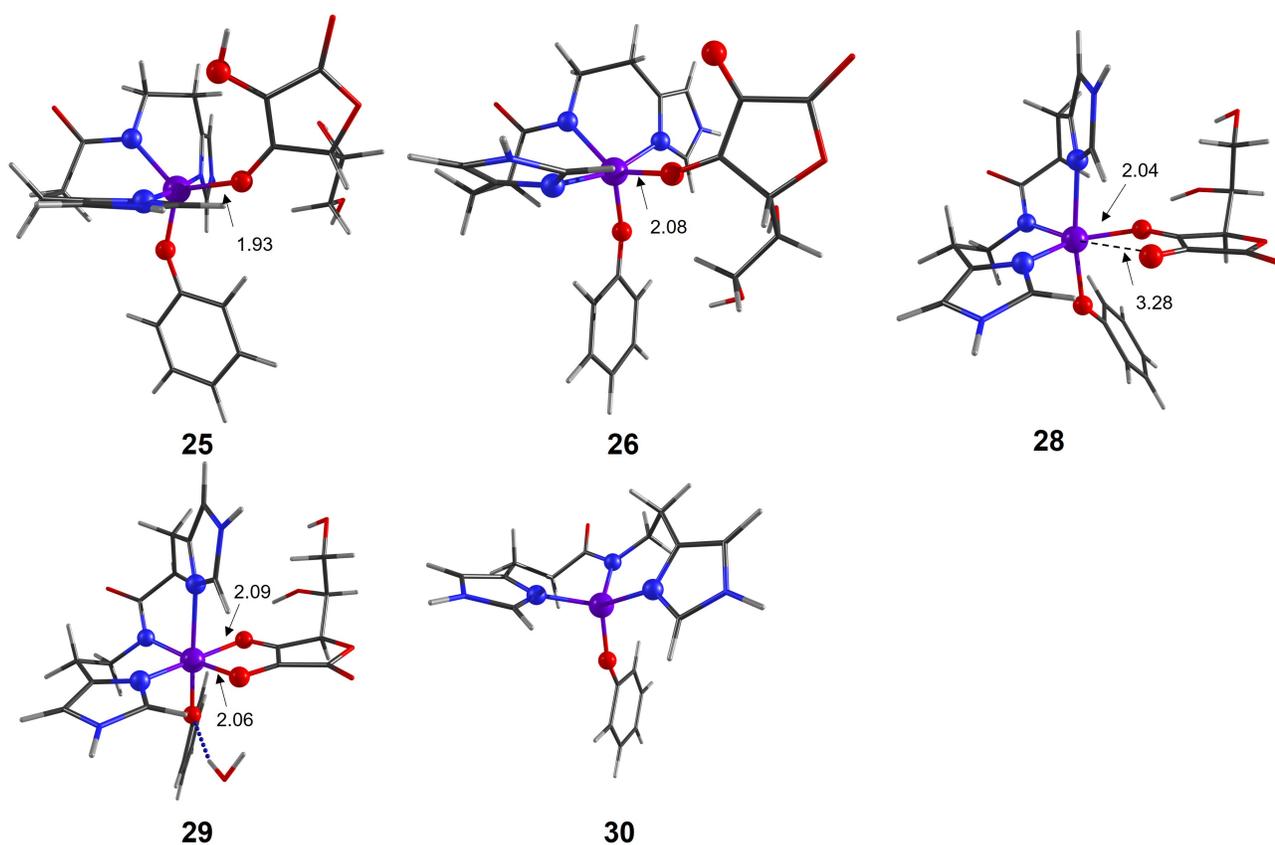


Figura B-1.: Geometrías optimizadas de los complejos de la interacción del Fe-A β con AscOH. Distancias en angstroms.

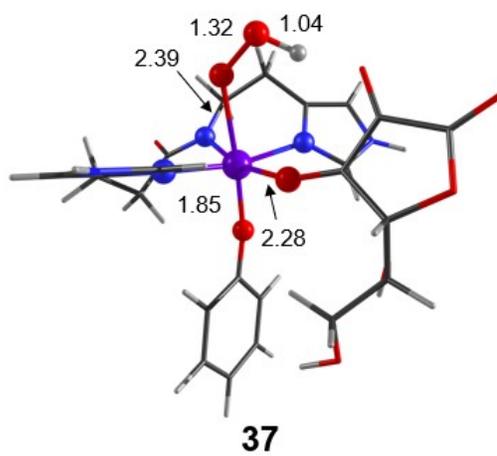


Figura B-2.: Geometrías optimizadas de la formación de peróxido de hidrógeno mediada por Fe-A β . Distancias en angstroms

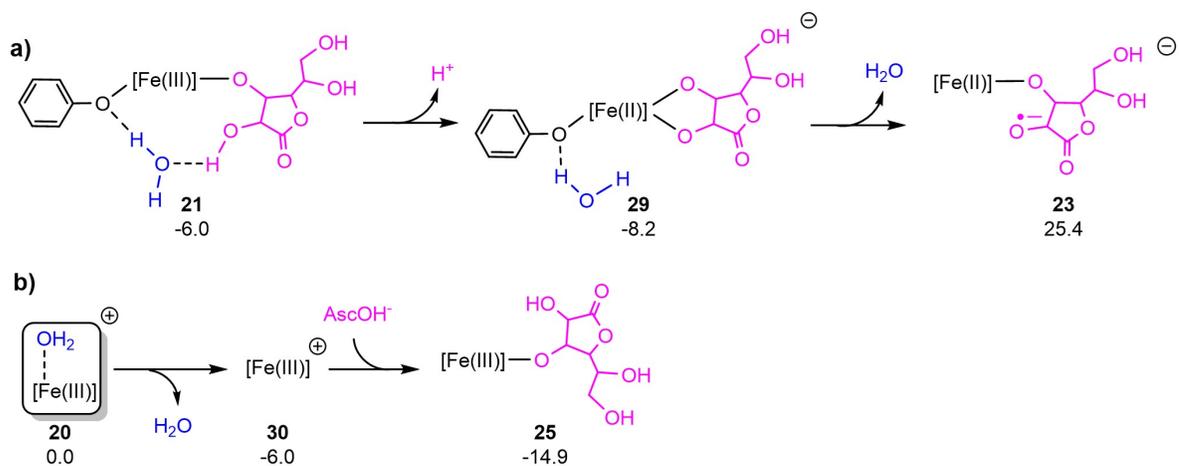


Figura B-3.: Rutas alternas del orden de salida del agua a) después de la desprotonación del AscOH^- b) desde el complejo inicial **20**. El $[\text{Fe}(n)]$ representa la coordinación del hierro en distintos estados de oxidación (n) con (N-HisHis) y $^- \text{OPh}$. Energías relativas a reactivos (**20** + AscOH^- + O_2) en kcal/mol

C. Anexos

C.1. Datos suplementarios del capítulo 6.1

Derivados de curcumina ordenados segun Figura 6-1 https://github.com/alorjuelar/Support_Tesis/blob/main/Derivados_curcuminas.pdb

Clusters modelo $A\beta_{40}$ 1AML https://github.com/alorjuelar/Support_Tesis/blob/main/1amlrep.pdb

Clusters modelo $A\beta_{40}$ 1BA4 https://github.com/alorjuelar/Support_Tesis/blob/main/1ba4rep.pdb

Clusters modelo $A\beta_{42}$ 1Z0Q https://github.com/alorjuelar/Support_Tesis/blob/main/1z0qrep.pdb

C.2. Datos suplementarios del capítulo 6.2

Estructura carotenoides en orden segun Figura 6-11 https://github.com/alorjuelar/Support_Tesis/blob/main/All_carotenos.pdb

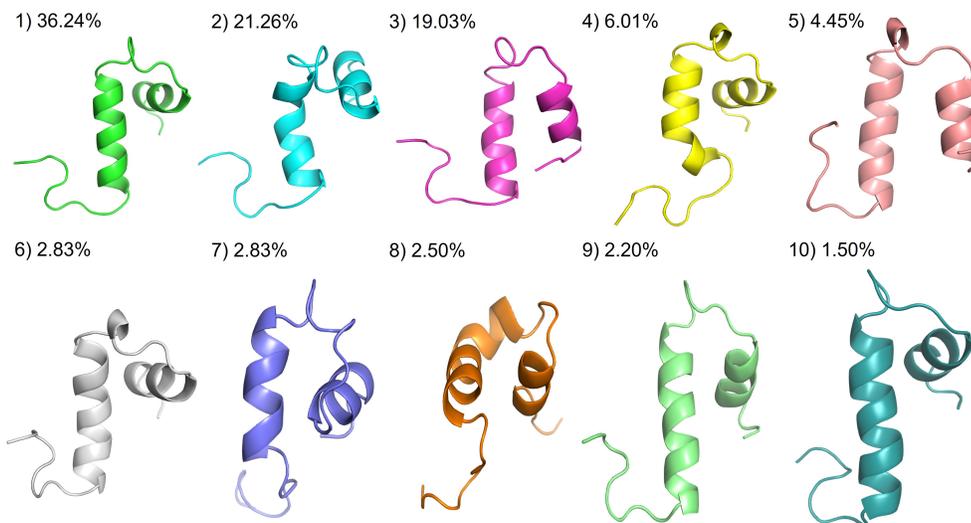


Figura C-1.: Clusters K-means modelo $A\beta_{40}$ 1AML

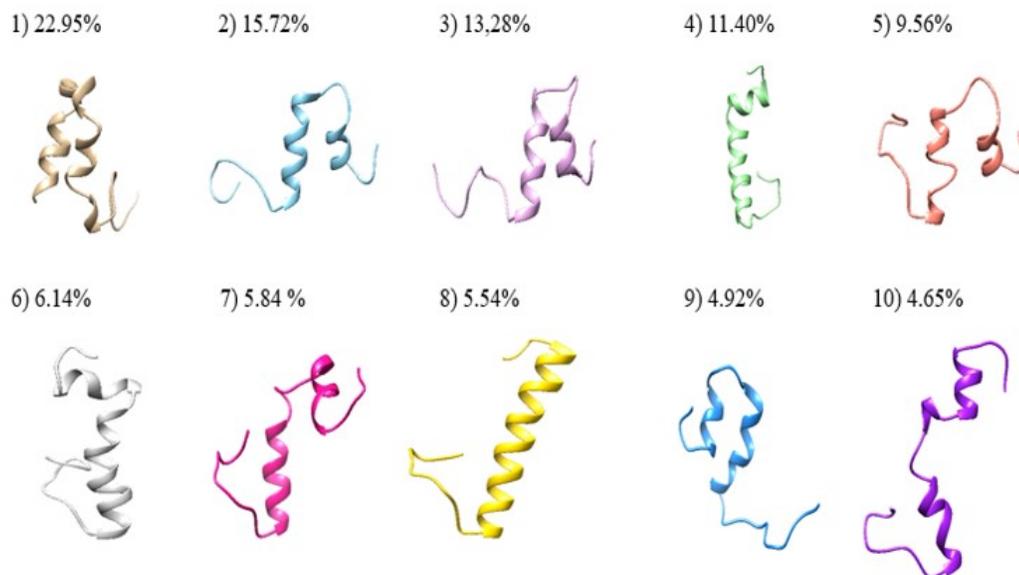


Figura C-2.: Clusters K-means modelo $A\beta_{40}$ 1BA4

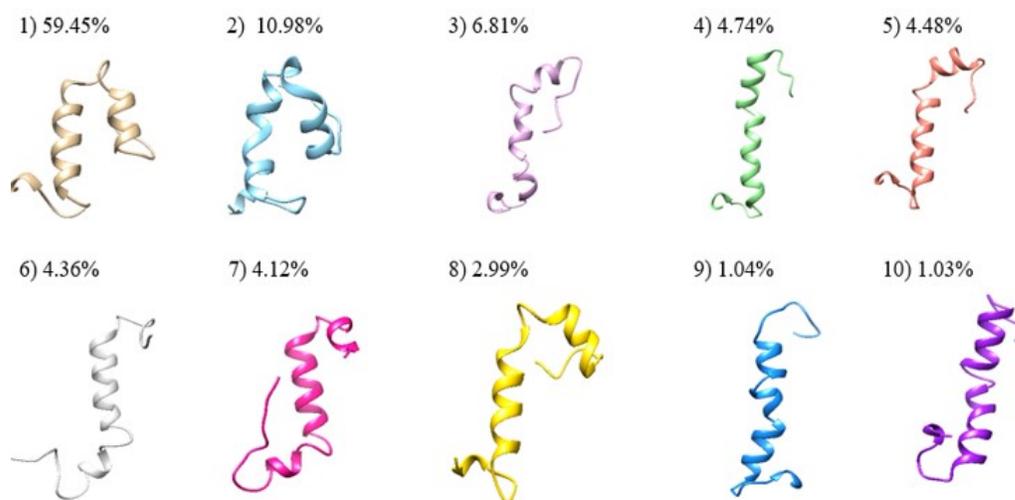


Figura C-3.: Clusters K-means modelo $A\beta_{42}$ 1Z0Q

Tabla C-1.: Datos de acoplamiento molecular usando ECR del modelo AML1 y los curcuminoides.

Curcuminas	1AML					
	Vina (kcal/mol)	ATD4 (kcal/mol)	Smina (kcal/mol)	Ensayo ThT (IC_{50}) μM	Rank	Posición
Cur-O-Ac	-7.00	-5.45	-7.40	$1,32 \pm 0,7$	0.583	2
Cur-O-Succ-Allyl	-7.10	-5.66	-7.00	$1,77 \pm 0,9$	0.581	3
Cur-O-Bn	-7.50	-5.89	-8.00	$2,05 \pm 0,1$	0.614	1
Cur-O-Succ-Cyp	-6.80	-6.64	-5.80	$2,04 \pm 0,7$	0.570	5
Cur-O-(Allyl)₂	-5.60	-6.95	-5.60	N/A	0.551	7
Cur-O-Succ-Bn	-6.20	-6.90	-6.50	N/A	0.577	4
Cur-O-Succ-(Allyl)₂	-6.90	-3.98	-6.80	$1,96 \pm 0,7$	0.546	8
Cur-O-Succ-(Bn)₂	-6.80	-4.75	-6.20	N/A	0.544	9
Cur-O-Succ-(Cyp)₂	-5.70	-5.16	-6.30	N/A	0.532	10
Curcumin	-6.40	-5.64	-7.10	$1,49 \pm 0,9$	0.569	6

Tabla C-2.: Datos de acoplamiento molecular usando ECR del modelo 1BA4 y los curcuminoides.

Curcuminas	1BA4					
	Ensayo ThT (IC ₅₀) μM	Vina (kcal/mol)	ATD4 (kcal/mol)	Smina (kcal/mol)	Rank	Posición
Cur-O-Ac	1,32 \pm 0,7	-6.30	-5.12	-7.00	0.583	2
Cur-O-Succ-Allyl	1,77 \pm 0,9	-5.70	-4.10	-6.90	0.581	3
Cur-O-Bn	2,05 \pm 0,1	-7.00	-4.07	-7.40	0.614	1
Cur-O-Succ-Cyp	2,04 \pm 0,7	-6.40	-4.12	-6.50	0.570	5
Cur-O-(Allyl)₂	N/A	-5.80	-4.67	-6.10	0.551	7
Cur-O-Succ-Bn	N/A	-5.40	-4.65	-6.00	0.577	4
Cur-O-Succ-(Allyl)₂	1,96 \pm 0,7	-6.30	-3.18	-6.00	0.546	8
Cur-O-Succ-(Bn)₂	N/A	-6.20	-3.85	-5.10	0.544	9
Cur-O-Succ-(Cyp)₂	N/A	-5.60	-3.48	-5.80	0.532	10
Curcumina	1,49 \pm 0,9	-6.30	-4.02	-6.30	0.569	6

Tabla C-3.: Datos de acoplamiento molecular usando ECR del modelo 1Z0Q y los curcuminoides.

Curcumina	1Z0Q					
	Ensayo ThT (IC ₅₀) μM	Vina (kcal/mol)	ATD4 (kcal/mol)	Smina (kcal/mol)	Rank	posición
Cur-O-Ac	1,32 \pm 0,7	-6.80	-4.37	-7.70	0.568	2
Cur-O-Succ-Allyl	1,77 \pm 0,9	-6.50	-4.52	-7.50	0.560	3
Cur-O-Bn	2,05 \pm 0,1	-7.40	-4.09	-7.80	0.578	1
Cur-O-Succ-Cyp	2,04 \pm 0,7	-7.30	-4.51	-6.50	0.556	2
Cur-O-(Allyl)₂	N/A	-5.50	-5.10	-7.30	0.547	6
Cur-O-Succ-Bn	N/A	-6.90	-5.23	-5.60	0.543	8
Cur-O-Succ-(Allyl)₂	1,96 \pm 0,7	-5.30	-2.86	-7.70	0.519	9
Cur-O-Succ-(Bn)₂	N/A	-5.30	-3.72	-5.80	0.494	10
Cur-O-Succ-(Cyp)₂	N/A	-5.70	-4.00	-7.80	0.544	7
Curcumina	1,49 \pm 0,9	-6.90	-4.32	-7.50	0.565	4

Tabla C-4.: Datos de acoplamiento molecular usando ECR del modelo de fibra 2BEG y los curcuminoides

Curcuminas	2BEG				Posición
	Ensayo ThT (IC ₅₀) μM	Vina (kcal/mol)	ATD4 (kcal/mol)	Smina (kcal/mol)	
Cur-O-Ac	1,32 \pm 0,7	-6.70	-1.59	-7.00	8
Cur-O-Succ-Allyl	1,77 \pm 0,9	-6.60	-2.92	-6.30	7
Cur-O-Bn	2,05 \pm 0,1	-8.00	-2.63	-8.40	1
Cur-O-Succ-Cyp	2,04 \pm 0,7	-7.00	-3.43	-7.90	4
Cur-O-(Allyl)₂	N/A	-6.80	-3.27	-5.60	9
Cur-O-Succ-Bn	N/A	-8.00	-3.05	-7.50	2
Cur-O-Succ-(Allyl)₂	1,96 \pm 0,7	-7.10	-1.77	-7.00	6
Cur-O-Succ-(Bn)₂	N/A	-7.00	-4.04	-7.50	3
Cur-O-Succ-(Cyp)₂	N/A	-6.90	-3.94	-6.70	5
Curcumina	1,49 \pm 0,9	-7.40	1.03	-7.00	10

Tabla C-5.: ECR del modelo 1AML y los carotenoides. Unidades en kcal/mol.

Carotenoides	ATD	VINA	Smina	Qvina2	QvinaW	PSOVINA	Rank
19	-7.18	-7.13	-9.25	-7.14	-7.10	-6.39	1.26
28	-7.30	-7.06	-9.37	-7.08	-7.10	-6.22	1.26
26	-6.95	-7.11	-9.20	-7.13	-7.07	-6.22	1.25
20	-7.15	-6.96	-8.59	-6.95	-6.86	-6.14	1.22
14	-7.36	-6.80	-8.85	-6.65	-6.70	-5.86	1.22
21	-6.96	-6.83	-8.60	-6.86	-6.88	-6.10	1.22
27	-7.03	-6.90	-8.53	-6.88	-6.87	-6.02	1.22
23	-7.59	-6.62	-8.82	-6.61	-6.54	-5.87	1.21
29	-7.28	-6.75	-8.54	-6.82	-6.83	-5.91	1.21
4	-6.57	-6.76	-8.89	-6.85	-6.79	-6.22	1.21
30	-7.63	-6.61	-8.92	-6.62	-6.63	-5.54	1.21
1	-7.40	-6.75	-8.83	-6.69	-6.66	-5.67	1.21
25	-7.47	-6.68	-8.74	-6.61	-6.66	-5.83	1.21
22	-6.91	-6.73	-8.99	-6.75	-6.75	-5.73	1.21
3	-7.39	-6.60	-8.69	-6.66	-6.64	-5.86	1.21
2	-6.97	-6.72	-8.85	-6.63	-6.61	-5.99	1.21
10	-6.90	-6.65	-8.76	-6.76	-6.63	-6.02	1.21
16	-6.65	-6.76	-8.97	-6.67	-6.65	-5.92	1.21
18	-6.96	-6.66	-8.67	-6.61	-6.62	-6.08	1.20
24	-7.14	-6.64	-8.71	-6.65	-6.65	-5.65	1.20
6	-6.40	-6.65	-8.76	-6.67	-6.71	-6.04	1.20
5	-6.70	-6.59	-8.56	-6.67	-6.66	-6.03	1.20
17	-6.93	-6.56	-8.51	-6.61	-6.69	-5.83	1.20
9	-6.44	-6.64	-8.60	-6.67	-6.65	-5.96	1.19
15	-6.73	-6.53	-8.74	-6.57	-6.58	-5.75	1.19
8	-6.78	-6.64	-8.54	-6.53	-6.54	-5.80	1.19
7	-6.23	-6.58	-8.48	-6.64	-6.54	-5.95	1.18
11	-6.61	-6.54	-8.35	-6.53	-6.51	-5.84	1.18
12	-6.52	-6.47	-8.37	-6.49	-6.53	-5.85	1.18
13	-6.54	-6.43	-8.32	-6.45	-6.42	-5.83	1.17

Tabla C-6.: ECR del modelo 1BA4 y los carotenoides. Unidades en kcal/mol.

Carotenoides	ATD	VINA	Smina	Qvina2	QvinaW	PSOVINA	Rank
19	-7.34	-7.30	-9.21	-7.39	-7.44	-6.66	1.28
28	-7.64	-7.30	-9.02	-7.32	-7.36	-6.54	1.28
4	-7.17	-7.13	-8.94	-7.12	-7.16	-6.46	1.25
29	-6.85	-7.18	-8.94	-7.13	-7.19	-6.24	1.24
21	-7.25	-7.19	-8.64	-7.04	-7.12	-6.34	1.24
20	-6.88	-7.14	-8.59	-7.21	-7.23	-6.39	1.24
26	-7.30	-7.08	-8.48	-7.16	-7.10	-6.23	1.24
3	-7.44	-6.89	-8.97	-6.87	-6.93	-6.04	1.24
14	-7.54	-6.88	-8.90	-6.93	-6.91	-5.97	1.24
27	-7.21	-7.02	-8.54	-7.12	-7.17	-6.09	1.23
2	-7.08	-6.91	-9.02	-6.96	-6.96	-5.99	1.23
30	-7.65	-6.69	-8.83	-6.83	-6.88	-6.02	1.23
16	-6.95	-7.05	-8.74	-7.00	-7.04	-5.98	1.23
6	-6.41	-7.08	-8.95	-7.00	-7.00	-6.27	1.23
1	-7.46	-6.85	-8.67	-6.90	-6.87	-5.99	1.23
10	-6.95	-6.97	-8.68	-7.00	-6.97	-5.99	1.22
5	-6.71	-6.96	-8.68	-6.94	-6.93	-6.20	1.22
9	-6.59	-6.94	-8.78	-7.00	-6.90	-6.10	1.22
24	-7.10	-6.84	-8.62	-6.85	-6.87	-6.02	1.22
17	-6.81	-6.86	-8.68	-6.90	-6.88	-6.17	1.22
18	-7.09	-6.76	-8.61	-6.83	-6.98	-6.01	1.22
7	-6.79	-6.86	-8.75	-6.92	-6.94	-5.99	1.22
8	-6.53	-6.93	-8.73	-6.96	-7.03	-6.06	1.22
25	-6.91	-6.85	-8.68	-6.91	-6.86	-6.04	1.22
23	-7.24	-6.75	-8.68	-6.70	-6.84	-5.95	1.22
15	-6.86	-6.83	-8.75	-6.79	-6.86	-6.04	1.22
22	-6.72	-6.88	-8.75	-6.89	-6.86	-5.86	1.21
11	-6.78	-6.80	-8.51	-6.91	-6.86	-6.15	1.21
12	-6.10	-6.72	-8.64	-6.61	-6.64	-5.96	1.19
13	-6.32	-6.59	-8.53	-6.61	-6.65	-5.91	1.18

Tabla C-7.: ECR del modelo 1Z0Q y los carotenoides. Unidades en kcal/mol.

Carotenoides	ATD	VINA	Smina	Qvina2	QvinaW	PSOVINA	Rank
19	-7.18	-7.45	-9.52	-7.36	-7.35	-6.86	1.29
26	-7.16	-7.40	-9.44	-7.37	-7.35	-6.91	1.29
28	-7.23	-7.33	-9.25	-7.33	-7.28	-6.60	1.28
4	-6.74	-7.30	-9.28	-7.18	-7.21	-6.55	1.26
20	-7.25	-7.18	-8.61	-7.18	-7.33	-6.71	1.26
27	-6.91	-7.29	-9.01	-7.34	-7.33	-6.23	1.26
21	-7.12	-7.33	-8.90	-7.27	-7.30	-6.17	1.26
16	-7.08	-7.26	-8.97	-7.20	-7.11	-6.12	1.25
3	-6.84	-7.16	-9.03	-7.16	-7.21	-6.30	1.25
10	-6.83	-7.20	-8.98	-7.19	-7.18	-6.30	1.25
6	-6.72	-7.15	-9.11	-7.23	-7.22	-6.12	1.25
8	-6.87	-7.18	-8.78	-7.16	-7.21	-6.39	1.24
29	-7.00	-7.18	-8.81	-7.03	-7.29	-6.21	1.24
1	-7.03	-7.16	-9.07	-7.03	-7.08	-6.02	1.24
22	-7.07	-6.99	-9.17	-7.07	-7.02	-5.98	1.24
2	-6.39	-7.19	-9.19	-7.13	-7.17	-6.19	1.24
5	-6.38	-7.11	-9.22	-7.10	-7.10	-6.34	1.24
14	-7.17	-7.11	-8.82	-7.05	-7.19	-6.00	1.24
13	-7.16	-7.03	-8.89	-7.04	-7.08	-6.07	1.24
29	-7.10	-7.01	-9.04	-7.10	-7.08	-5.85	1.24
17	-6.64	-7.13	-9.12	-7.00	-7.09	-6.11	1.24
7	-6.28	-7.19	-9.07	-7.04	-7.18	-6.28	1.24
23	-7.11	-7.04	-9.05	-6.93	-7.03	-5.85	1.23
12	-6.82	-7.10	-8.88	-7.10	-7.02	-5.92	1.23
18	-6.78	-6.95	-8.98	-7.01	-6.98	-6.09	1.23
25	-6.82	-7.07	-8.75	-7.02	-7.05	-6.13	1.23
15	-6.63	-6.83	-9.11	-6.99	-7.14	-6.02	1.23
24	-6.46	-6.99	-9.02	-6.96	-7.00	-6.28	1.23
9	-6.17	-7.11	-8.94	-7.18	-7.10	-6.17	1.23
11	-6.40	-6.93	-8.64	-7.08	-6.99	-6.33	1.22