

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
COLEGIO DE INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA
FACULTAD DE INGENIERÍA MOCHIS**

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA



**Estudio Teórico de Compuestos Naturales como Agentes Inhibidores del Receptor
TGF- β Tipo 2**

TESIS

que como requisito para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA

Presenta:

Lic. Alejandro Ibarra Vega

Directores de tesis:

Dr. Rody Abraham Soto Rojo

Dra. Linda Lucila Lucero Landeros Martínez

Los Mochis Sinaloa, México

Agosto de 2023



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial
Compartir Igual, 4.0 Internacional



AGRADECIMIENTOS

Agradezco la invaluable contribución de este maravilloso país en la realización de este proyecto de investigación. Que a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), se me otorgó una beca con el número de identificación (CVU) 1076541 de dicho consejo, lo cual hizo posible llevar a cabo esta investigación.

Quiero expresar mi profundo agradecimiento al equipo de laboratorio de simulación de la Facultad de Ingeniería Mochis de la Universidad Autónoma de Sinaloa. En particular, deseo destacar al Dr. Rody Abraham Soto Rojo, quien ha sido un apoyo incondicional en la culminación de mi proyecto. También quiero mencionar al Dr. Jesús Adrián Baldenebro López y al Dr. Daniel Glossman Mitnik por su colaboración al proporcionar las licencias computacionales Gaussian09 y GausView 5.0. Además, quiero reconocer al ejército de colaboradores del laboratorio de simulación, Manuel Luque, Carlos Peñuelas, Tomás Delgado, Samuel Soto y Mijael Millán, quienes me ayudaron con su experiencia en todo momento.

Asimismo, deseo expresar mi agradecimiento a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua (FCQ-UACH) y a su grupo de investigación por abrirme las puertas de sus instalaciones. Quiero destacar de manera especial a la Dra. Linda Lucila Lucero Landeros Martínez y a la M.C. Alejandra Borrego por todo el apoyo brindado durante mi estancia académica en la ciudad de Chihuahua.

Por último, deseo agradecer a todas aquellas personas que siempre me animaron a culminar este proyecto. A mis compañeros de generación, Teresa Guadalupe Navarro y Enoch Robles Díaz, así como al Dr. Francisco Ramos Brito y Dr. Felipe Peraza Garay, les agradezco profundamente su constante apoyo y estímulo.

DEDICATORIA

*Dedico este trabajo a quienes estuvieron apóyame en todo momento,
a mis padres y hermanos Diana Jazmín, Gustavo Andrés y Samuel Humberto Ibarra Vega.
Asimismo, a Valeria Núñez por sus buenos deseos y ánimos de seguir.
Gracias a ellos que me motivan a que mis metas se cumplan.*

RESUMEN

El cáncer es una enfermedad autoinmune que representa una amenaza para la población mundial, generando la necesidad imperante de realizar investigaciones con el fin de abordar esta problemática global con opciones terapéuticas menos invasivas. Gracias a la medicina ayurveda, se han encontrado compuestos bioactivos asociados con propiedades antineoplásicas, como la *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona*. Estas tres moléculas de origen natural comparten propiedades antineoplásicas en líneas celulares de mama, próstata, pulmón, ovario, pancreático, renal, gástrico y colorrectal.

Las propiedades de la *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona* han sido puestas a prueba en el desarrollo tecnológico de la farmacología mediante el uso de la química computacional. El análisis de estas tres moléculas de origen natural se realizó de manera *In Silico*, combinando principios teóricos fisicoquímicos y métodos matemáticos que conforman la Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT) y el acoplamiento molecular (Docking). En esta investigación, se determinó el modelo químico más cercano a los datos experimentales a través de cálculos con distintos niveles de energía utilizando los funcionales de la densidad B3LYP, PBE0, M06 y M06-2X, en combinación con el conjunto base 6-31G(d), tanto en fase gas como en solvatación en fase agua y etano, bajo el Modelo del Continuo Polarizable de la variante de Formalismo de Ecuación Integral (IEF-PCM).

A partir de estos cálculos a nivel DFT, se llevó a cabo una simulación de las interacciones de la *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona* con la citocina TGF- β 2 a través del Docking, obteniendo como resultado la afinidad de unión de todas las conformaciones de las moléculas de origen natural en el sitio activo de la macromolécula. Como resultado de esto, se estudiaron los parámetros de reactividad, el descriptor de transferencia de carga y los enlaces de hidrógeno, lo que permitió determinar cuál de las tres moléculas de origen natural tienen las mejores interacciones con la citocina TGF- β 2.

Palabras Clave: *curcumina*, *piperlongumina*, *timoquinona*, DFT, Docking molecular.

ABSTRACT

Cancer is an autoimmune disease that represents a threat to the world population, generating the prevailing need for research to address this global problem with less invasive therapeutic options. Thanks to Ayurvedic medicine, bioactive compounds associated with antineoplastic properties have been found, such as *curcumin*, *piperlongumin*, and *thymoquinone*. These three naturally occurring molecules share antineoplastic properties in breast, prostate, lung, ovarian, pancreatic, renal, gastric, and colorectal cell lines.

The properties of *curcumin*, *piperlongumin*, and *thymoquinone* have been tested in the technological development of pharmacology through the use of computational chemistry. The analysis of these three molecules of natural origin was carried out *In Silico*, combining theoretical physicochemical principles and mathematical methods that make up the Density Functional Theory (DFT) and molecular docking (Docking). In this research, the closest chemical model to the experimental data was determined through calculations with different energy levels using the density functionals B3LYP, PBE0, M06, and M06-2X, in combination with the base set 6-31G(d), both in the gas phase and in solvation in the water and ethane phase, under the Polarizable Continuum Model of the Integral Equation Formalism variant (IEF-PCM).

From these calculations at the DFT level, a simulation of the interactions of *curcumin*, *piperlongumin*, and *thymoquinone* with the cytokine TGF- β 2 through Docking was carried out, obtaining as a result the binding affinity of all the conformations of the molecules naturally occurring in the active site of the macromolecule. As a result of this, the reactivity parameters, the charge transfer descriptor, and the hydrogen bonds were studied, allowing us to determine which of the three naturally occurring molecules have the best interactions with the TGF- β 2 cytokine.

Keywords: *curcumin*, *piperlongumine*, *thymoquinone*, DFT, molecular Docking.

OBJETIVOS

General

Estudiar la estructura electrónica de las moléculas de origen natural (*curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona*) y su afinidad de unión con el Factor de Crecimiento Transformante Beta tipo 2 (TGF – β 2).

Específicos

- Realizar validación de la química modelo para seleccionar el nivel de cálculo más apropiado al grupo de moléculas de origen natural (*curcumina*, *piperlongumina* y la *timoquinona*), para su posterior uso en el acoplamiento molecular.
- Analizar los parámetros de reactividad química (afinidad electrónica, potencial de ionización, dureza química, potencial químico e Índice de electrofilicidad) de la *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona*.
- Determinar el farmacóforo de las moléculas de origen natural con los orbitales HOMO y LUMO.
- Analizar el mapa de potencial electrostático (MEP) para determinar los sitios aceptores y donadores de hidrógeno en las moléculas de origen natural.
- Realizar el acoplamiento molecular de las moléculas de origen natural con el Factor de Crecimiento Transformante beta (TGF – β 2) para determinar cuál molécula de origen natural es la mejor opción como tratamiento coadyuvante y determinar el ΔN .
- Determinar el proceso oxido-reducción que se genera entre las moléculas de origen natural y los aminoácidos del sitio activo mediante la transferencia de carga (ΔN).

HIPOTESIS

- El estudio de estructura electrónica y el acoplamiento molecular permitirán determinar si las moléculas de origen natural, *curcumina*, *piperlongumina* y la *timoquinona*, presentan propiedades químicas y una afinidad de unión de con el TGF- β 2 positivas para su posible uso farmacéutico en inmunoterapia contra el cáncer de colon.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Generalidades	1
1.2	Antecedentes y estado del arte	3
1.3	Planteamiento y soluciones del problema	7
2	ASPECTOS TEÓRICOS.....	8
2.1	Cáncer de colon.....	8
2.2	Moléculas de origen natural	9
2.2.1	Curcumina	9
2.2.2	Piperlongumina.....	11
2.2.3	Timoquinona.....	11
2.3	Factor de crecimiento transformante beta (TGF- β)	12
2.4	Química computacional	13
2.5	Teoría Funcionales de la Densidad (DFT)	14
2.5.1	Funcionales de la densidad	15
2.5.2	Conjunto base	16
2.6	Propiedades 18	
2.6.1	Optimización de geometrías moleculares.....	18
2.6.2	Frecuencias moleculares.....	18
2.6.3	Parámetros de reactividad química.....	18
2.7	Descriptor de transferencia de carga	20
2.8	Docking molecular	20
2.8.1	Docking ciego.....	22
2.8.2	Docking dirigido.....	23

3	METODOLOGÍA.....	26
3.1	Metodología del cálculo químico-cuántico.....	26
3.2	Metodología de Docking molecular.....	28
3.2.1	Preparación de macromolécula y ligandos.....	29
3.2.2	Definición de parámetros de caja.....	32
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
4.1	Moléculas de origen natural.....	34
4.1.1	Análisis estructural de moléculas de origen natural.....	34
4.1.2	Niveles de energía y Densidades de orbitales HOMO y LUMO.....	41
4.1.3	Parámetros de reactividad química.....	48
4.1.4	Mapa de potencial electrostático.....	49
4.2	Análisis conformacional de la macromolécula TGF- β 2 y los ligandos.....	52
4.2.1	Docking molecular.....	52
4.2.2	Descripción del sitio activo.....	56
4.2.3	Reactividad química y descriptor de transferencia de carga del sitio activo	57
4.2.4	Descriptor de la transferencia de carga.....	58
4.2.5	Enlaces de hidrógeno.....	59
5	CONCLUSIONES.....	63
6	BIBLIOGRAFÍA.....	65
7	ANEXO A.....	72
8	ANEXO B.....	76

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Comparativo de distancias de enlace teórico en fase gas contra parámetros experimentales en análisis estructural molecular de la <i>curcumina</i>	35
Tabla 2. Comparativo de ángulos de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en fase gas contra parámetros experimentales de la <i>curcumina</i>	36
Tabla 3. Comparativo de distancias de enlace teórico en fase gas contra parámetros experimentales en análisis estructural molecular de la <i>piperlongumina</i>	37
Tabla 4. Comparativo de ángulos de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en fase gas contra parámetros experimentales de la <i>piperlongumina</i>	38
Tabla 5. Comparativo de distancias de enlace teórico en fase gas contra parámetros experimentales en análisis estructural molecular de la <i>timoquinona</i>	39
Tabla 6. Comparativo de ángulos de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en fase gas contra parámetros experimentales de la <i>timoquinona</i>	40
Tabla 7. Parámetros de densidad orbitales HOMO y LUMO de las moléculas de origen natural.....	47
Tabla 8. Descriptores globales de reactividad de las moléculas de origen natural de la <i>curcumina</i> , <i>piperlongumina</i> y <i>timoquinona</i>	48
Tabla 9. Energías de las conformaciones obtenidas a través del cálculo de Docking ciego entre TGF- β 2 y <i>curcumina</i>	53
Tabla 10. Aminoácidos del sitio activo de menor energía del caculo de Docking ciego de TGF- β 2 y <i>curcumina</i>	53
Tabla 11. Energías de afinidad de unión de las conformaciones calculada a partir de un Docking rígido.....	55

Tabla 12. Comparación del sitio activo del Docking molecular de la <i>curcumina</i> , <i>piperlongumina</i> y <i>timoquinona</i> con el sitio activo del Docking ciego.	56
Tabla 13. Aminoácidos y metabolitos que componen el sitio activo de la macromolécula TGF- β 2.	57
Tabla 14. Parámetros de reactividad química del sitio activo del receptor de la macromolécula TGF- β 2 con los ligandos <i>curcumina</i> , <i>piperlongumina</i> y <i>timoquinona</i>	58
Tabla 15. Valores de transferencia de carga (ΔN) calculados en el Docking molecular entre los ligandos <i>curcumina</i> , <i>piperlongumina</i> y <i>timoquinona</i> con la macromolécula TGF- β 2.	59
Tabla 16. Distancias de enlace de los parámetros geométricos de la curcumina obtenidos teóricamente en fase agua con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales.	72
Tabla 17. Ángulos de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en fase agua con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros de la <i>curcumina</i>	72
Tabla 18. Comparación de distancias de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en fase agua con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales de la <i>piperlongumina</i>	73
Tabla 19. Comparación de ángulos de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en fase agua con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales de la <i>piperlongumina</i>	74
Tabla 20. Comparación de distancias de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en fase agua con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros geométricos experimentales de la <i>timoquinona</i>	75

Tabla 21. Comparación de distancias de enlace obtenidos teóricamente en fase agua con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales de la <i>timoquinona</i>	75
Tabla 22. Distancias de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en solvente etanol con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales de la <i>curcumina</i>	76
Tabla 23. Comparación de ángulos de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en solvente etanol con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros de la <i>curcumina</i>	76
Tabla 24. Comparación de distancias de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en solvente etanol con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales de la <i>piperlongumina</i>	77
Tabla 25. Comparación de ángulos de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en solvente etanol con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales de la <i>piperlongumina</i>	78
Tabla 26. Comparación de distancias de enlace obtenidos teóricamente en etanol con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales de la <i>timoquinona</i>	79
Tabla 27. Comparación de ángulos de enlace obtenidos teóricamente en etanol con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales de la <i>timoquinona</i>	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Anatomía del intestino grueso: Conducto del ciego, colon ascendente, colon transverso, colon descendente, sigmoides y recto.	8
Figura 2.2. La cúrcuma es una raíz rica en carbohidratos compuestos por múltiples curcuminoides.	10
Figura 2.3. Pimienta de la planta <i>Piper Longum Linn</i> tiene en abundancia un polifenol al que se le atribuye funciones antineoplásicas.	11
Figura 2.4. Pimienta de la India proveniente de la planta <i>Nigella Sativa Linn</i> contiene polifenoles en abundancia a los que se le atribuyen actividades antineoplásicas.	12
Figura 2.5. Esquema del modelo enzimático “llave y cerradura”.	21
Figura 2.6. Esquema representativo de la técnica del Docking ciego.	23
Figura 2.7. Esquema representativo de la técnica del Docking rígido.	24
Figura 3.1. Descripción de los procesos en la metodología de los cálculos químico-cuánticos.	27
Figura 3.2. Diagrama de metodología del Docking molecular.	29
Figura 3.3. Representación 3D y características experimentales de la macromolécula TGF- β tipo 2 en humano con el PDB-ID: 1M9Z.	30
Figura 3.4. Diagrama de procedimiento de preparación de la macromolécula.	31
Figura 3.5. A) Definición de parámetro de caja para el método de Docking ciego. B) Definición de parámetros de caja en sitio activo identificado en la macromolécula.	33
Figura 4.1. Molécula optimizada con M06/6-31G(d) en fase gas de la <i>curcumina</i> , resultado del análisis estructural molecular.	34

Figura 4.2. Molécula optimizada con M06/6-31G(d) en fase gas de la <i>piperlongumina</i> , resultado del análisis estructural molecular.	36
Figura 4.3. Estructura molecular optimizada de la <i>timoquinona</i> calculada con el nivel de cálculo M06/6-31G(d) en fase gas.	39
Figura 4.4. Gráfico de energías HOMO-LUMO de la <i>curcumina</i> en solvente de agua con el modelo de solvatación IEF-PCM con el funcional M06/6-31G(d).	42
Figura 4.5. Gráfico de energías HOMO-LUMO de la <i>piperlongumina</i> en solvente de agua con el modelo de solvatación IEF-PCM y el funcional M06/6-31G(d).	43
Figura 4.6. Gráfico de energías HOMO-LUMO <i>timoquinona</i> en solvente de agua con el modelo de solvatación IEF-PCM con el funcional M06/6-31G(d).	44
Figura 4.7. Orbitales moleculares de frontera HOMO y LUMO de la <i>curcumina</i> . Resultados obtenidos del cálculo de optimización donde se utilizó agua como solvente con el modelo de solvatación IEF-PCM con el nivel de cálculo M06/6-31G(d).	45
Figura 4.8. Orbitales moleculares de frontera HOMO y LUMO de la <i>piperlongumina</i> . Resultados obtenidos del cálculo de optimización donde se utilizó agua como solvente con el modelo de solvatación IEF-PCM con el nivel de cálculo M06/6-31G(d).	46
Figura 4.9. Orbitales moleculares de frontera HOMO y LUMO de la <i>timoquinona</i> . Resultados obtenidos del cálculo de optimización donde se utilizó agua como solvente con el modelo de solvatación IEF-PCM con el nivel de cálculo M06/6-31G(d).	47
Figura 4.10. Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) de la <i>curcumina</i> calculado en agua con el modelo de solvatación IEF-PCM con el nivel de cálculo M06/6-31G(d).	50

Figura 4.11. Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) de la <i>piperlongumina</i> calculado en agua con el modelo de solvatación IEF-PCM con el nivel de cálculo M06/6-31G(d).....	51
Figura 4.12. Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) de la <i>timoquinona</i> calculado en agua con el modelo de solvatación IEF-PCM con el nivel de cálculo M06/6-31G(d).....	52
Figura 4.13. Superposición entre glicerol co-cristalizado y la <i>curcumina</i> que nos permite corroborar que nuestro ligando se dirige al sitio activo de la macromolécula TGF- β 2.....	54
Figura 4.14. Enlaces de hidrógeno de sitio activo de la macromolécula al ligando. Sitio activo de TGF- β 2 – <i>Curcumina</i>	60
Figura 4.15. Enlaces de hidrógeno de sitio activo de la macromolécula al ligando. Sitio activo de TGF- β 2 – <i>piperlongumina</i>	61
Figura 4.16. Enlaces de hidrógeno de sitio activo de la macromolécula al ligando. Sitio activo de TGF- β 2 – <i>timoquinona</i>	62

Lista de abreviaciones

NAP-1	Proteína activadora 1
COX-2	Ciclooxigenasa-2
Cur	Curcumina
DFT	Teoría de Funcionales de la Densidad
EGFR	Factor de Crecimiento Epidérmico
EMT	Transición Epitelio Mesenquimal
GGA	Aproximación de Gradiente Generalizado
GTO	Guassian Type Orbitals
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital
IEF-PCM Integral	Modelo Continuo Polarizable de la variante de Formalismo de Ecuación Integral
IL-6	Interleucina-6
LDA	Aproximación de Densidad Local
LGA	Algoritmo Genético Lamarckiano
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
NF-kB	Factor Nuclear kappa B
OMS	Organización Mundial de la Salud
PL	Piperlongumina
STO	Slater Type Orbitals
TGF- β	Factor de Crecimiento Transformante tipo beta
TNF	Factor de Necrosis Tumoral

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Generalidades

En los últimos años, se ha presenciado un avance acelerado en el campo científico gracias a los esfuerzos conjuntos de la ciencia y la ingeniería de materiales. Esta disciplina se enfoca en la búsqueda de nuevas alternativas y mejoras en el diseño molecular mediante el estudio de estructuras y propiedades moleculares. La ciencia de los materiales desempeña un papel crucial en diversos aspectos de nuestra vida diaria, contribuyendo tanto al desarrollo de materiales e ingeniería aeroespacial como en el campo de la farmacología.

En el ámbito de la ciencia e ingeniería de materiales, ha surgido un método que ha ganado popularidad debido a su capacidad para realizar investigaciones de manera eficiente, reduciendo significativamente el tiempo y los recursos involucrados. Este enfoque se le conoce como “*In Silico*” y se basa en la simulación computacional, cuyo propósito principal es predecir el comportamiento molecular de los materiales. Este método resulta particularmente valioso en el campo de la farmacología, ya que permite llevar a cabo estudios y predicciones que contribuyen al avance en la creación de nuevos medicamentos al emplear la simulación computacional. Con esta metodología es posible evaluar las interacciones moleculares y optimizar el diseño de compuestos farmacológicos, agilizando así el proceso de descubrimiento y desarrollo de fármacos[1].

De modo que, muchas de las nuevas alternativas farmacológicas están basadas en los resultados de la medicina tradicional, donde los diversos usos terapéuticos que le han atribuido a las plantas a través de los años llaman la atención para un estudio más exhaustivo. Así mismo, estos estudios buscan poder emplear los compuestos bioactivos con una mayor capacidad de actuar en sistemas biológicos. Algunas investigaciones señalan particularmente los potenciales usos terapéuticos de moléculas de origen natural como la *curcumina*, la *piperlongumina* y la *timoquinona*, a los cuales se les atribuyen capacidades eficientes en tratamientos ante algunos tipos de cánceres, por ejemplo, en el cáncer colorrectal. A estas moléculas de origen natural se les asocia con propiedades antineoplásicas debido a su

capacidad de inhibir la sobreexpresión de factores de crecimiento y factores de transcripción que provocan un desequilibrio en la homeostasis celular [2–4].

El cáncer colorrectal es una enfermedad que anualmente cobra millones de vidas en el mundo, siendo uno de los tipos de cáncer cada vez más comunes en la población registrando una alta peligrosidad por tener una rápida progresión a metástasis. Esta problemática mundial da como resultado la necesidad de desarrollar nuevas opciones coadyuvantes a su tratamiento, así como la mejora de los tratamientos que existen actualmente. El origen de esta enfermedad se da a partir de las sobreexpresiones de citocinas, particularmente de la superfamilia del Factor de Crecimiento Transformante beta (TGF- β), el cual permite la proliferación descontrolada de las células [5].

Recientemente, se ha recomendado considerablemente el uso de moléculas de origen natural como componentes bioactivos ante los tratamientos contra el cáncer colorrectal, debido a que son una buena alternativa como auxiliares para un tratamiento coadyuvante en inmunoterapia debido a su baja toxicidad en el cuerpo. Existe evidencia que, dentro de la cúrcuma, la pimienta larga y la pimienta negra de la india existen compuestos bioactivos capaces de inhibir la sobreexpresión de citocinas a causa de las células tumorales. Los compuestos bioactivos presentes en estas plantas se les asocia con actividades proapoptóticas en el cáncer colorrectal. De tal manera que esto puede demostrarse mediante un estudio *In Silico*, donde se tiene como objetivo determinar la mejor opción para un tratamiento coadyuvante en inmunoterapia por medio de un análisis de propiedades moleculares. La predicción de las interacciones moleculares se sustenta a través de modelos matemáticos basados en las teorías de la mecánica molecular y la mecánica cuántica dentro de la química computacional [6].

El análisis de las propiedades moleculares de estas moléculas de origen natural abre la posibilidad de realizarles un estudio conformacional con la citocina de TGF- β 2, perteneciente a la superfamilia del TGF- β , este procedimiento muestra todas las posibles interacciones que existen entre la molécula y la citocina, lo cual permite obtener una predicción de la interacción más estable que pudiera inhibir la sobreexpresión de esta

citocina, a fin de que las células del sistema linfático puedan reducir el crecimiento de tejido canceroso.

1.2 Antecedentes y estado del arte

La incidencia del cáncer está en aumento y representa una amenaza significativa para la población mundial, ya que en términos de morbilidad y mortalidad es alarmante, según la organización mundial de la salud se reportan 10 millones de muertes ocurridas en el año 2020. La magnitud de esta problemática a nivel mundial ha generado la necesidad imperante de llevar a cabo investigaciones exhaustivas con el fin de abordarla adecuadamente; cada año ha habido un incremento de casos debido a los cambios en los hábitos de vida a nivel global, esto a su vez favorecen el daño celular o el desarrollo de esta enfermedad.

Esta problemática se ha convertido en un desafío global, mencionando que es una de las principales causas de muerte en la humanidad, según la organización mundial de la salud son cinco principales tipos de cáncer con mayor incidencia y rápida progresión a metástasis; el cáncer en mama, pulmón, colorrectal, próstata y piel. Se tienen registros que en el año 2002 hubo 580,000 muertes a causa del cáncer de colon [7], teniendo un incremento impresionante hasta llegar a la cifra de 916,000 muertes en el año 2020.

Como una medida ante este creciente número de casos, se ha dado origen a investigaciones cada vez más rigurosas que dan como resultado el desarrollo nuevas tecnologías y enfoques terapéuticos que buscan mejorar la calidad de vida de los pacientes con cáncer al aumentar las tasas de supervivencia y reducir los efectos secundarios asociados a los tratamientos. En este sentido, los avances tecnológicos recientes están enfocados en optimizar las opciones de tratamiento disponibles para combatir esta enfermedad, buscando mejorar la eficacia de estos tratamientos con opciones terapéuticas más efectivas y menos invasivas, ya sea en el ámbito de la cirugía, quimioterapia, radioterapia o en la inmunoterapia [8].

Este tipo de enfermedad autoinmune ha existido desde tiempos inmemorables, lo que ha orillado a la humanidad en buscar alguna alternativa en las plantas, debido a que les había funcionado como remedio ante una amplia gama de condiciones de salud. El nacimiento de la medicina ayurveda data del año 1500 a. de c., gracias a ella se pudo estudiar los efectos

que pueden llegar a tener las plantas en el cuerpo humano [9]. La medicina tradicional permitió el desarrollo de conocimientos sobre las plantas que cuentan con propiedades que ayudan a promover la circulación; incluso, se ha utilizado para tratar condiciones como dolor menstrual, inflamación, problemas digestivos, trastornos hepáticos y muchos otros problemas más complejos como el cáncer. Existen registros en medicina tradicional sobre agentes quimiopreventivos presentes en extractos de plantas. Por ejemplo, se ha encontrado en la literatura científica que diferentes plantas contienen compuestos bioactivos asociados con propiedades antineoplásicas, como la cúrcuma [10], la pimienta de la planta *Piper Longum Linn* [11] y la pimienta de la India [12].

La cúrcuma fue utilizada ampliamente en la medicina tradicional, ya que tiene una larga historia de uso en diferentes culturas debido a sus propiedades medicinales. La medicina moderna la ha llevado a estudios más sofisticados, en la que se le descubrieron sus principales compuestos bioactivos que le han conferido propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antitumorales y neuro protectoras. Estos compuestos bioactivos son llamados polifenoles, que en algunos casos se han asociado con actividades antineoplásicas de distintos tipos de cáncer, siendo la *curcumina* un polifenol con efectos en el cáncer de mama, próstata, pulmón, ovario, pancreático, renal, gástrico y colorrectal [13].

La pimienta de la planta *Piper Longum Linn* fue muy importante en la india, debido a que se creía que tenía propiedades digestivas. Fue ampliamente utilizada en la medicina tradicional, debido a que tenía mucha efectividad en tratamientos ante trastornos digestivos, tos, asma y hasta problemas menstruales. Posteriormente, fue sometida a estudios donde fueron aislados los polifenoles que lo componen, siendo la *piperlongumina*, uno de los más importantes ya que ejerce efectos antineoplásicos en cáncer de pulmón, mama, renal, pancreático y colorrectal [14].

Mientras que la pimienta de la India proviene de la planta *Nigella Sativa*, también es muy popular en la medicina tradicional, el cual durante siglos ha sido utilizada ante síntomas de enfermedades inflamatorias intestinales. Con la medicina moderna, se han hecho descubrimientos importantes de esta planta, en ella existe una serie de polifenoles como la *timoquinona* que fue aislada en 1963 y se le asocia con actividades antineoplásicas en la

vejiga, mama, útero y colon [15,16]. Partiendo de la premisa en la que estas tres moléculas de origen natural tienen actividades antineoplásicas ante el cáncer colorrectal, existen investigaciones, ahora en la medicina tradicional, donde se pone a prueba la eficacia de estas moléculas de origen natural. Con las moléculas de la *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona* se realizaron análisis en ratones con cáncer colorrectal, en ellas reportaron efectos inhibitorios de la proliferación de células tumorales del colon [9-11].

Actualmente, se pueden explorar nuevas alternativas en el desarrollo tecnológico de la farmacología, en el que por medio de las investigaciones *In Silico* es viable explorar todas las opciones posibles. Por ejemplo, en la medicina tradicional existen compuestos bioactivos relacionados a una cura efectiva de algunas enfermedades, muchas veces con compuestos bioactivos poco comprendidos o no muy reconocidos que pueden ser auspiciadores en tratamientos de inmunoterapia [18].

La química computacional es un pilar fundamental para las investigaciones *In Silico*, ya que combina los principios teóricos y métodos matemáticos que permiten la simulación por computadora capaces de predecir comportamientos de sistemas químicos. Este enfoque proporciona ahorro de recursos y tiempo al reducir el número de ensayos experimentales. Gracias a esta herramienta tecnológica que se desarrolló en el siglo XXI se han realizado numerosos estudios que fortalecen a la farmacología. Hoy en día, se puede visualizar que estas metodologías revolucionaron la medicina moderna al permitir análisis exhaustivos tanto de moléculas de origen natural como a las moléculas sintéticas.

Existen numerosas investigaciones de estos compuestos bioactivos de la *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona* donde, a través de cálculos computacionales con el uso de la teoría de funcionales de la densidad (DFT) y del Docking molecular (Acoplamiento molecular) se plantea demostrar su posible efectividad ante enfermedades neoplásicas, que facilitan los avances de la farmacología a través de simulaciones cada vez más precisas. Estas moléculas de origen natural actúan a través de interacciones con macromoléculas del sistema inmunológico, la fuerza de estas interacciones constituye su mecanismo de acción [19]. La *curcumina* ha sido objeto de estudios tanto experimentales como computacionales que respaldan su eficacia en el tratamiento del cáncer de colon como un potencial inhibidor de

distintas citocinas sobreexpresadas [20]. Un estudio publicado por Alok C. Bharti y colaboradores en 2003 reportaron experimentalmente los efectos inhibitorios de la *curcumina* sobre la interleucina-6 (IL-6) [21].

Asimismo, un estudio computacional realizado en la Universidad de Pattimura en 2017 indicó que la *curcumina* inhibe la ciclooxigenasa-2 (COX-2) [22]. Los resultados de estas dos investigaciones son respaldadas por una investigación de Vasanthkumar y colaboradores de la universidad de Kuvempu de la India publicado en el 2019, en ella se demuestra teóricamente las interacciones *curcumina*-IL-6, *curcumina*-COX-2 y *curcumina*-TGF- β [23]. En 2022, Jawed Hasan y colaboradores, demostró que esta molécula de origen natural suprime la actividad del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) [24]. Además, un estudio publicado a principios de 2023 por Abida Ejaz y colaboradores la identificó como un potencial inhibidor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF2), la cual es responsable de la vasculogénesis y angiogénesis [25].

En el caso de la *piperlongumina*, que también es una molécula de origen natural prometedora cuenta con numerosos estudios que la relacionan como un potente inhibidor de proteínas sobreexpresadas en presencia de líneas celulares tumorales en colon, útero, pulmón, mama e hígado. Esta molécula de origen natural cuenta con resultados muy interesantes, un estudio experimental realizado en el 2021 reveló que es una molécula capaz de inhibir la transición epitelio-mesenquimal (EMT, por sus siglas en inglés), la cual se induce por la citocina TGF- β producidas a raíz de las líneas celulares cancerígenas de mama y pulmón [26]. En los últimos años, se han llevado a cabo estudios computacionales de esta molécula para distintas líneas celulares cancerígenas; por ejemplo, se realizó una simulación de Docking molecular con las proteínas EGFR y VEGF2 sobreexpresadas en cáncer hepático, en ella se encontró como resultado que es un potente anticancerígeno [27]. En el 2023, se publicó un estudio de Docking molecular con la citocina TGF- β tipo 1 producida en fibrosis renal, demostrando la eficacia que tiene la *piperlongumina* ante esta familia de citocinas de factor de crecimiento [28].

Por otro lado, se ha demostrado la eficacia de la *timoquinona* como un agente anticáncer de manera teórica y experimental. Por ejemplo, en el 2017 se encontró de manera experimental que esta molécula de origen natural puede revertir parcialmente la sobreexpresión del TGF- β en células tumorales de la próstata [29]. En el 2021, se demostró que tiene efectos proapoptóticos en distintos tipos de cáncer tales como: próstata, colon, ovario y riñón; ya que tiene potencial efecto inhibitorio en proteínas como COX-2, VEGF, TGF- β y otras [30]. Esta molécula se ha sometido a diversos estudios a partir de modelos computacionales, por ejemplo, un artículo publicado en el 2021 el cual muestra los resultados de un análisis teórico de la *timoquinona*, a través de la Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT) utilizando el software Gaussian 09 con el nivel de cálculo B3LYP/6-311+G(d,p) tanto en fase gas como en agua reportando valiosos resultados teóricos [31].

1.3 Planteamiento y soluciones del problema

Como se ha señalado, estos tres polifenoles tienen en común la capacidad de inhibir la sobreexpresión del TGF- β , siendo esta la citocina que influye en el crecimiento tumoral. En este trabajo, se propone hacer un estudio computacional de las moléculas de origen natural con distintos funcionales en combinación del conjunto base 6-31G(d), así mismo, realizar una simulación de Docking molecular entre la citocina TGF- β tipo 2 y los ligandos (moléculas de origen natural propuestas), siendo esta citocina una variante de la familia del TGF- β . Se pretende determinar cuál de las moléculas estudiadas puede ser el mejor inhibidor a la sobreexpresión de dicha citocina, partiendo de la necesidad de reducir la exposición de tratamientos como la quimioterapia y la radioterapia que pueden ocasionar efectos adversos [21].

2 ASPECTOS TEÓRICOS

2.1 Cáncer de colon

El cáncer de colon es una neoplasia que aparece en el sistema digestivo, justamente en el intestino grueso. En la **Figura 2.1** se muestra un esquema representativo de la anatomía del intestino grueso, este órgano se divide en 6 partes: Conducto del ciego, colon ascendente, colon transverso, colon descendente, sigmoides y recto. A su vez, se compone de cuatro capas características: la mucosa, submucosa, muscular y serosa, en ellas inicia la aparición de adenomas o pólipos adenomatosos del colon, estos pueden degenerar a carcinoma de colon e invadir tejidos adyacentes [33].

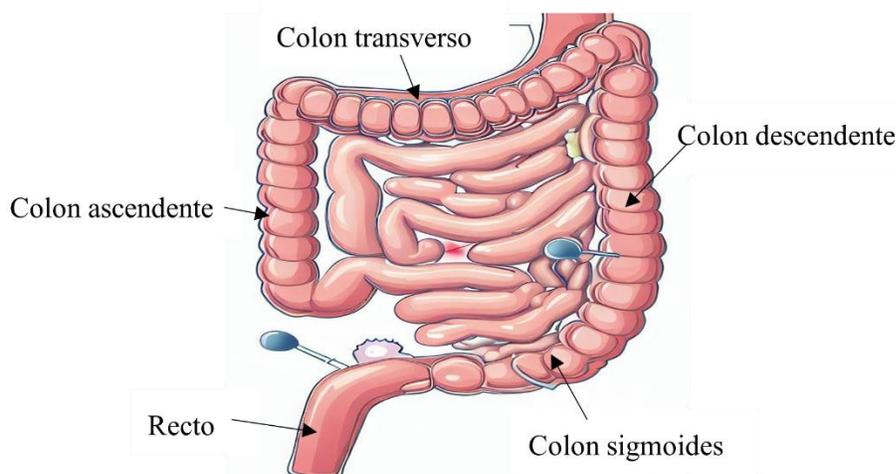


Figura 2.1. Anatomía del intestino grueso: Conducto del ciego, colon ascendente, colon transverso, colon descendente, sigmoides y recto.

De acuerdo con la Organización Mundial (OMS), en el 2020 el cáncer de colon era el tercer lugar más frecuente en el mundo, después del cáncer de pulmón y cáncer de mama. Mientras que en México se reportó como el tercer tipo de cáncer más común y la sexta causa de muerte en pacientes oncológicos, registrando una mortalidad de 4.8 pacientes por cada 100,000 habitantes en el año 2015 [34]. Este tipo de padecimiento suele afectar a adultos mayores, aunque puede ocurrir en individuos a muy temprana edad debido a la exposición de distintos factores que aumentan la posibilidad de desarrollar esta neoplasia, tales como: la poliposis

adenomatosa familiar [35] la exposición a agentes químicos, el tabaquismo, la falta de actividad física y aspectos dietéticos como el consumo excesivo del alcohol y carnes rojas [36,37].

2.2 Moléculas de origen natural

Habitualmente, las moléculas de origen natural tienen una gran importancia en el desarrollo de nuevos fármacos. La medicina tradicional, a través de la herbolaria ha demostrado diversos usos terapéuticos ante distintas enfermedades, incluso complejas como el cáncer [38].

Rigurosos estudios señalan la existencia y eficiencia de compuestos bioactivos en las plantas, contribuyendo directa e indirectamente en la industria farmacológica con numerosos tratamientos de enfermedades. Algunas moléculas de origen natural demuestran tener una alta eficiencia en el tratamiento contra diversos tipos de cáncer, los cuales son capaces de inducir la apoptosis celular selectivamente en células tumorales a través de interacciones con factores de crecimiento y citocinas sin presentar toxicidad en el cuerpo. Dentro de las moléculas de origen natural más populares con propiedades antitumorales esta la *curcumina*, la *piperlongumina* y la *timoquinona* [39–41].

2.2.1 Curcumina

La cúrcuma o bien *Cúrcuma longa* es una planta perteneciente a la familia Cingiberácea originaria del sur del continente asiático, esta planta es muy común en la gastronomía asiática como una especia y es utilizada como un colorante natural en la industria cosmética. Además, es utilizada en la medicina tradicional por sus propiedades biológicas ya que se le atribuyen propiedades quimiopreventivas [42].

Comúnmente, se le distingue como curcuminoides a los principales compuestos polifenólicos que integran esta planta, mostrada en **Figura 2.2**, siendo la *curcumina* (Cur) el curcuminóide de mayor presencia, entre el 60 y 70 % en la composición del rizoma; cuyo nombre sistemático es 1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadien-3,5-diona [43], a la cual se le asocia tanto el color amarillo como las propiedades medicinales de la planta, como un agente biológico contra distintos tipos de cáncer.

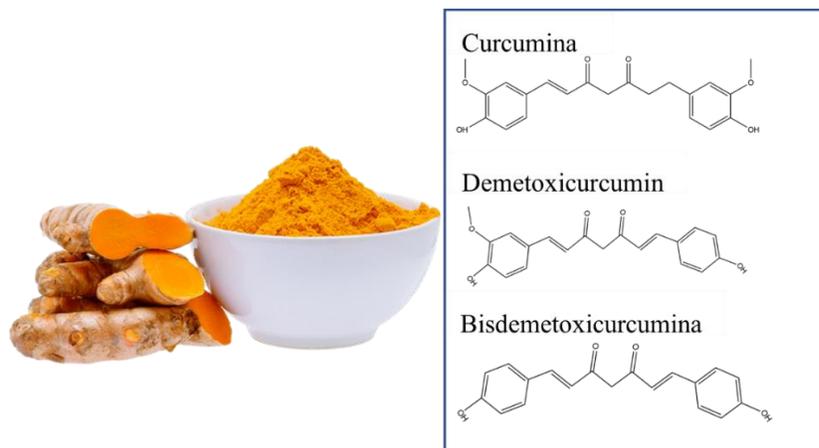


Figura 2.2. La cúrcuma es una raíz rica en carbohidratos compuestos por múltiples curcuminoides.

La *demetoxicurcumina* es el segundo curcuminóide con mayor presencia entre 20 y 27 %, su nombre sistemático es (1E,6E)-1-(3,4-dimetoxifenil)-7-(4-hidroxi-3-metoxifenil)hepta-1,6-dieno-3,5-diona, que al igual que la *curcumina*, se ha asociado con actividades antiinflamatorias en el intestino demostrando que también puede inhibir la generación del Factor de Necrosis Tumoral (TNF) [44]. Mientras que el tercer curcuminóide con presencia del 10-15% es la *bisdemetoxicurcumina*, relacionado con el tratamiento de fibrosis renal [45,46].

La *curcumina* ha presentado eficacia en tratamientos antitumorales, ya que tiene la capacidad de inhibir proteínas que son responsables de la progresión tumoral que facilitan la proliferación de células tumorales [47]. Así mismo, se ha mostrado su eficiencia en tratamientos contra el cáncer de colon, incluyendo el cáncer de hígado, mama y próstata, ya que algunos estudios demuestran la capacidad de la *curcumina* en la modulación de la expresión del Factores de Crecimiento Endotelial Vascular (VGEF) [48]. Además, es capaz de modular numerosos factores de transcripción como el NF-κB, Stat-3 y AP-1, así como, el TGF-β que son indispensables para la comunicación intercelular que controla la apoptosis celular, la supresión de la angiogénesis y la migración celular (relacionada a metástasis) [49].

2.2.2 Piperlongumina

La *piperlongumina* o *piplartine*, cuyo nombre sistemático es 5,6-dihidro-1-[(2 E)-1-oxo-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-propenil]-2(1H)-piridinona, es un compuesto bioactivo asilado de la planta *Piper Longum Linn* se muestra en **Figura 2.3**. Esta planta crece en abundancia en la India y tiene un amplio uso en la medicina tradicional [50]. Además de utilizarla en la medicina tradicional para enfermedades gastrointestinales, ha sido estudiada de manera exhaustiva gracias a su potencial uso como un agente antitumoral, al ser un polifenol capaz de inducir la autofagia celular en células cancerígenas, siendo un agente antiinvasivo y antiangiogénico muy efectivo [51].

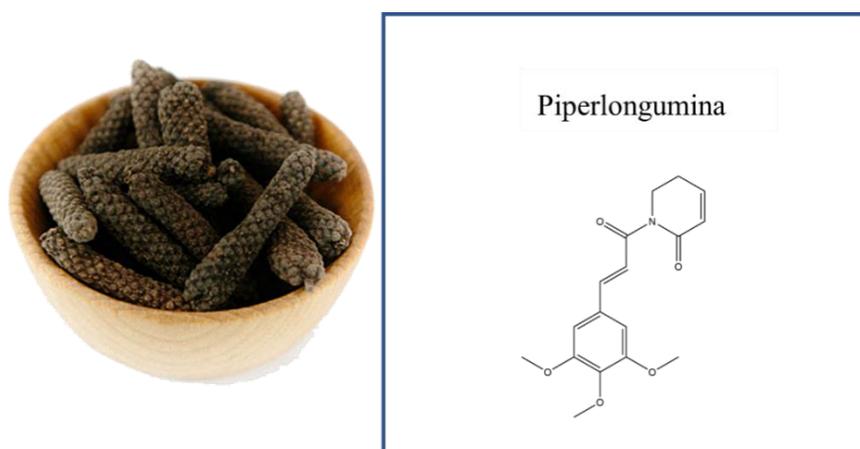


Figura 2.3. Pimienta de la planta *Piper Longum Linn* tiene en abundancia un polifenol al que se le atribuye funciones antineoplásicas.

2.2.3 Timoquinona

La pimienta de la India proveniente de la planta *Nigella Sativa Linn* se muestra en la Figura 2.4, catalogada a través de los años como una planta medicinal, gozando de una alta popularidad en las regiones del sudeste asiático. Se han reportado beneficios contra enfermedades cardiovasculares, asma, diabetes e incluso como coadyuvante en el tratamiento de diversos tipos de cáncer, principalmente en el carcinoma de colon [52].

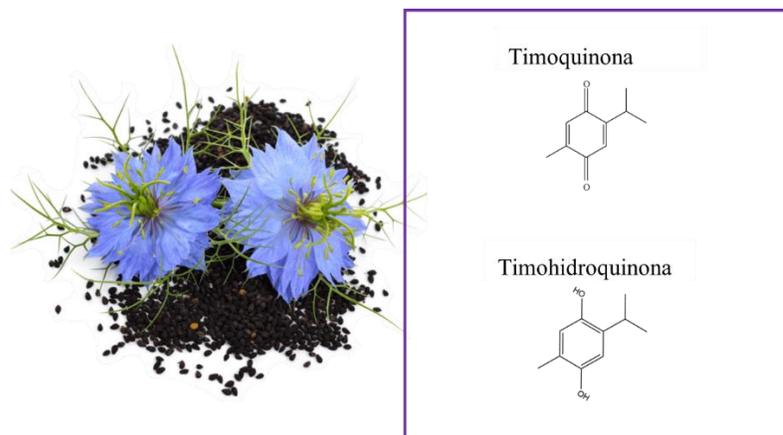


Figura 2.4. Pimienta de la India proveniente de la planta *Nigella Sativa Linn* contiene polifenoles en abundancia a los que se le atribuyen actividades antineoplásicas.

Los compuestos bioactivos más importantes de la planta *Nigella Sativa* son *timoquinona*, *carvacrol*, *timohidroquinona*, *ditimoquinona*, *p-cimeno*. La *timoquinona* es el compuesto bioactivo más importante de esta planta, ya que se le asocia con actividades antineoplásicas por su capacidad de inducir la apoptosis celular y reducir la metástasis en varios tipos de cáncer como el carcinoma de colon, de páncreas y de próstata [53], el nombre sistemático es 2-isopropil-5-metilbenzo-1,4-quinona y se encuentra presente en la semilla con un 30%-48%, mientras que la presencia del resto de los polifenoles que la componen son: *carvacrol* (6%-12%) y la *timohidroquinona*, *ditimoquinona*, *p-cimeno* que entre ellas componen entre el 7% y 15% del total de los polifenoles [13]. Numerosos estudios revelan que la *timoquinona* tiene una gran eficiencia por su capacidad de inhibición en la activación de NF- κ B, además, por reducir la sobreexpresión de la citocina TGF- β y del Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF) [29,54].

2.3 Factor de crecimiento transformante beta (TGF- β)

El Factor de Crecimiento Transformante tipo beta o bien TGF- β es una familia de citocinas cuya principal actividad biológica es controlar los procesos fisiológicos y patológicos por parte del sistema inmunitario. Las citocinas tienen las características de ser pleiotrópicas, redundantes y sinérgicas, que permita realizar funciones muy importantes tanto en la cicatrización de heridas como en el desarrollo de neoplasias [55]. En presencia de los tejidos

tumorales, esta familia de citocinas ejerce funciones que permiten regular la angiogénesis, la proliferación, la diferenciación y la apoptosis celular [56].

La función del TGF- β es fundamental en el cuerpo humano, sin embargo, algunas enfermedades autoinmunes, como el cáncer, son capaces de producir esta familia de citocinas contribuyendo a la formación de neoplasias. La familia del TGF- β engloba tres isoformas principales en mamíferos (TGF- β 1, TGF- β 2 y TGF- β 3) [57].

El TGF- β 1 es una de las isoformas más predominantes de esta citocina, está involucrada en la inmunosupresión, el crecimiento celular e induce a la síntesis de tejido conectivo [58]. La isoforma TGF- β 2 tiene como tarea principal la proliferación celular al inhibir la proliferación de linfocitos. La isoforma TGF- β 3 particularmente tiene una expresión en tejidos epiteliales pulmonares contribuyendo a su proceso de desarrollo [59,60]. Sin embargo, el TGF- β 2 es esencial en enfermedades autoinmunes, permitiendo regular las actividades de las células del sistema inmune y asistir en el desarrollo de tejidos tumorales. Por ejemplo, debido a su sobreexpresión puede cooperar en el desarrollo de tejido cancerígeno en el colon formando parte de la inmunomodulación tumoral, lo que favorece tanto en latencia como progresiones tumorales [61,62].

2.4 Química computacional

En cuanto los grandes avances tecnológicos, la química computacional se ha ido desarrollando rápidamente a partir de los fundamentos de la química. Su crecimiento permite simulaciones de interacciones moleculares, convirtiéndose en una herramienta muy importante en la biología, la medicina y la ciencia de los materiales. La química computacional se vale de la simulación computacional que realiza cálculos complejos que hacen posible predecir de manera acertada tanto las estructuras e interacciones entre moléculas como las propiedades moleculares.

En la química computacional existen métodos basados en modelos matemáticos fuertemente relacionados con teorías y conceptos químicos. Estos métodos pueden estar basados en los conceptos de la mecánica molecular o en la mecánica cuántica. La aplicación de la mecánica molecular en la química computacional se deriva de la aplicación de los conceptos de la física

clásica, donde las moléculas son tratadas como si fueran esferas y resortes en el cálculo de energía potencial [63]. Dentro de la mecánica cuántica los métodos se fundamentan con ecuación de Schrödinger y la función de onda. Este método engloba el método *ab initio* y el semiempírico, donde el método *ab initio* obtiene la energía y la función de onda bajo el concepto “desde el inicio” sustentado en aproximaciones al desarrollo de la ecuación de Schrödinger sin información externa [64]. Mientras que el método semiempírico está basado en la teoría Hartree-Fock y en datos teóricos o experimentales para determinar energía y orbitales moleculares [65].

Por otro lado, la Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT) es otro de los métodos basados en la mecánica cuántica, solo que ella se basa en la densidad electrónica en lugar de la función de onda. Este método tiene su fundamento en el teorema de Khon-Sham, en el que describe un método práctico para obtener la densidad del estado fundamental [66].

2.5 Teoría Funcionales de la Densidad (DFT)

Históricamente, la Teoría de Funcionales de la Densidad tiene sus orígenes en la mecánica cuántica, gracias a los trabajos realizados por Erwin Schrödinger, Werner Heisenberg y Paul Dirac entre los años de 1925 y 1926 que permitieron establecer los principios básicos de este campo de estudio que permite el estudio de estructuras electrónicas de la materia [67]. En el año de 1964 Pierre Hohenberg y Kohn publicaron un trabajo que tiene por título “El gas de electrones no homogéneo” en el que se establecen los cimientos de lo que hoy se conoce en la Teoría de Funcionales de la Densidad; el trabajo Hohenberg-Kohn establece dos teoremas, el primero hace la descripción de la densidad como una variable básica por medio de la ecuación:

$$E[\rho] = T[\rho] + V_{ne}[\rho] + V_{ee}[\rho] \quad (1)$$

Donde la $T[\rho]$ es la energía cinética del electrón, $V_{ne}[\rho]$ la energía potencial con la interacción núcleo-electrón y $V_{ee}[\rho]$ la energía potencial electrón- electrón corresponde la ecuación (1). El segundo teorema describe el principio variacional para encontrar la densidad del estado fundamental del sistema, la cual se describe con la ecuación (2) como:

$$E_v[N] = \int v(r)n(r)dr + F[N] \quad (2)$$

En donde $E_v[N]$ es igual es estado basal de la energía E y $F[N]$ un funcional universal para cualquier número de partículas o potenciales externos [68]. El método que dio origen a lo que ahora se le conoce como Teoría de Funcionales de la Densidad fue presentado en 1965 por Walter Kohn y Lu Sham; en ese trabajo se expone un método más práctico para obtener la densidad del estado basal.

$$F[\rho] = T_s[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (3)$$

En esta ecuación (3), se describe como la función universal $F[\rho]$ es igual a la energía cinética de un sistema como un conjunto de electrones no interactuantes $T_s[\rho]$, más la aproximación a la interacción electrón-electrón $J[\rho]$, más la energía de intercambio y correlación interactuando con la densidad del sistema $E_{xc}[\rho]$ [66].

La Teoría de Funcionales de la Densidad tiene grandes aplicaciones dentro del campo de la farmacología, ya que es utilizada en el cálculo de estructura electrónica con ayuda de la mecánica cuántica a partir de la hipótesis de que la energía de una molécula se puede determinar a partir de la densidad electrónica en lugar de la función de onda [69].

2.5.1 Funcionales de la densidad

Un funcional de la densidad es una función matemática que describe densidades electrónicas en una molécula. Existen diversos funcionales dentro de la teoría de funcionales de la densidad, en donde los funcionales se clasifican a partir de la energía de intercambio y correlación. Los funcionales de Aproximación de Densidad Local o LDA Local Density Approximation por sus siglas en inglés, son un conjunto de funcionales derivados del modelo de la energía de intercambio y correlación del gas de electrones homogéneo [63]. Otro conjunto de funcionales es el de la Aproximación de Gradiente Generalizado (GGA), este es un conjunto de funcionales de aproximación más desarrollado y está basado en el uso de gradientes de la densidad, el cual permite mejorar la descripción de las densidades locales de átomos y moléculas [70]. Mientras que el conjunto de funcionales Meta-GGA depende de la

densidad de la energía cinética o el laplaciano de la densidad junto con el gradiente de la densidad electrónica [71].

Por otro lado, el conjunto de los funcionales híbridos Meta-GGA son aquellos que incluyen una parte de intercambio exacto de energía con la teoría de Khon-Sham. Entre los funcionales híbridos Meta-GGA se encuentran los funcionales B3LYP y el PBE0 y los funcionales de la familia Minnesota, como el M06 con un intercambio Hartree-Fock del 27% y el funcional M06-2X con un intercambio Hartree-Fock de un 54%.

2.5.2 Conjunto base

Un conjunto base o funciones de base se puede definir como una expresión matemática que describe las propiedades y comportamiento de una estructura electrónica en un sistema. Estas expresiones matemáticas tienen dos modelos teóricos muy aceptados dentro de la química computacional. Por ejemplo, el conjunto base de Slater (STO, *Slater Type Orbitals*) y conjunto base tipo gaussiana (GTO, *Gaussian Type Orbitals*).

El conjunto base *Slater Type Orbitals* es un modelo matemático desarrollado en la década de 1930 por J. Slater; su modelo permite la descripción de manera aproximada de los orbitales atómicos en un sistema molecular a través de funciones de onda exponenciales que satisfacen la ecuación de Schrödinger [72].

$$r^{n^*-1}e^{-((Z-s)/n^*r)} \quad (4)$$

El modelo matemático de J. Slater está descrita por la ecuación (4), donde r es la distancia del electrón al núcleo, n^* está representado por el número cuántico efectivo y la expresión $Z - s$ por la regla de Slater. Esta ecuación da pie a la representación de los orbitales moleculares, siendo de tal manera que esta sea descrita como una combinación lineal de uno o varios orbitales tipo Slater por la ecuación (5) donde la sumatoria de i funciones de base χ_r por una constante c_{ri} es igual al orbital molecular ϕ_i [73].

$$\phi_i = \sum_i c_{ri} \chi_r \quad (5)$$

El conjunto base *Gaussian Type Orbitals* es un modelo matemático desarrollado por S. F. Boys en el año de 1950, en el establece la ecuación (6) que describe un método cuantitativo para evaluar las funciones de onda del estado estacionario y los niveles de energía de todos los átomos.

$$Nx^l y^m z^n e^{-\alpha r^2} \quad (6)$$

Esta ecuación describe una gaussiana cartesiana con origen en el núcleo del átomo, donde α es un exponente orbital positivo, $x^l y^m z^n$ son coordenadas cartesianas y N es la constante de normalización gaussiana cartesiana [74].

2.5.2.1 Tipos de conjunto base

Existen diferentes series de conjunto de base tipo gaussiana como los de base mínima, de valencia dividida y extendida. Estas series se utilizan para realizar cálculos con diferentes niveles de precisión. Un conjunto de base mínima es aquel que consta de un orbital tipo Slater para cada orbital atómico en un sistema molecular. Este tipo de conjunto base utiliza una única función de onda tipo exponencial para describir cada orbital atómico. El conjunto de valencia dividida es común encontrarlos con la notación tipo Pople, donde los conjuntos base 3-21G y 6-31G son considerados doble zeta y el conjunto base 6-311G como triple zeta, este tipo de conjunto base describe los orbitales de valencia internos y externos de un sistema molecular, permitiendo la descripción más precisa entre las interacciones electrónicas. Dentro de este tipo, existen la forma polarizada, por ejemplo, el conjunto base 6-31G(d). Este conjunto base utiliza seis funciones polarizadas gaussianas del tipo d, diez funciones polarizadas gaussianas del tipo f, adicionándole una (d) la cual significa que se le adiciona una función gaussiana tipo difusa para capturar la difusión electrónica externa del átomo. Mientras que el conjunto base extendido es aquel grupo de conjuntos base a las que se le adicionan funciones polarizables o funciones difusas. [75].

2.6 Propiedades

2.6.1 Optimización de geometrías moleculares

Como punto de partida, se puede definir a la optimización de geometrías moleculares como un método que permite determinar la estructura de una molécula, teniendo como interés principal la longitud de enlace entre átomos, ángulos de enlace y ángulos de torsión. Donde la información obtenida por la cristalografía es fundamental para realizar comparaciones de las conformaciones moleculares teóricas y experimentales [76].

2.6.2 Frecuencias moleculares

La frecuencia molecular es un fenómeno natural de todas las moléculas, ya que todos los sistemas moleculares se encuentran en continua vibración aun estando en posición de equilibrio. El estudio de las frecuencias moleculares es fundamental tanto en la física como en la química, siendo utilizada como un tipo de técnica de caracterización donde el movimiento periódico de los átomos en una molécula permite la identificación y determinación particular de las estructuras en las moléculas. Con las frecuencias moleculares se pueden identificar los grupos funcionales en las moléculas a partir de dos tipos de vibración molecular, la vibración de estiramiento y vibración de flexión [77].

2.6.3 Parámetros de reactividad química

A partir de la Teoría de los Funcionales de la Densidad se ha logrado definir los parámetros de reactividad química los cuales se emplean para lograr comprender el comportamiento químico general de una molécula. Estos parámetros son: afinidad electrónica (**A**), el potencial de ionización (**I**), electronegatividad (χ), el potencial químico electrónico (μ), la dureza química (η) y el índice de electrofilicidad global (ω).

2.6.3.1 Afinidad electrónica

La afinidad electrónica (**A**) es la capacidad de aceptar exactamente un electrón en forma de iones de un donante. La afinidad electrónica se encuentra a partir de la ecuación (7) que la describe como la diferencia de la energía neutra con la energía positiva. La cual se calcula con la siguiente expresión:

$$A = E_0 - E_+ \quad (7)$$

2.6.3.2 Potencial de Ionización

El potencial de ionización (**I**) es la energía necesaria para separar un electrón del estado fundamental de un átomo a una distancia a la que no exista interacción electrostática entre el ion y el electrón. Pueden existir varios niveles de potencial energías de ionización, donde el primer nivel representa la energía necesaria para separar un electrón de su orbital más alejado del núcleo. Este parámetro es descrito por la ecuación (8), donde el potencial de ionización es igual a la energía positiva menos la energía neutra:

$$I = E_+ - E_0 \quad (8)$$

2.6.3.3 Electronegatividad

La electronegatividad (χ) es la tendencia a la atracción de un átomo a un electrón del exterior; dentro de la química computacional para un sistema atómico o molecular de N electrones, viene dada a partir de la ecuación (9) donde se expresa como la primera derivada de la energía, dando como resultado a la electronegatividad de una manera aproximada como el promedio aritmético de la afinidad electrónica y el potencial de ionización [78].

$$\chi = -\left(\frac{\partial E}{\partial N}\right) = \frac{I + A}{2} \quad (9)$$

2.6.3.4 Potencial químico

El potencial químico (μ) se define como la tendencia de escape del electrón de un sistema molecular en estado de equilibrio, definida por la ecuación (10) donde $-\chi$ es la electronegatividad de Mulliken [79].

$$\mu = \left(\frac{\partial E}{\partial N}\right) = -\chi \quad (10)$$

2.6.3.5 Dureza química

La dureza química (η) es el resultado de la segunda derivada de la energía del sistema. Este parámetro de reactividad es la resistencia a la deformación o al cambio de distribución electrónica en la estructura molecular. La dureza química se describe matemáticamente por

la ecuación (11) como un medio de la diferencia del potencial de ionización y la afinidad electrónica como se muestra en la ecuación [80].

$$\eta = \left(\frac{\partial^2 E}{\partial N^2} \right) = \frac{I - A}{2} \quad (11)$$

2.6.3.6 Electrofilicidad

La electrofilicidad (ω) es cuando un sistema adquiere una carga adicional proveniente del ambiente ocurre una estabilidad energética, para medirla se utiliza el término de índice de electrofilicidad (ω), este parámetro se describe en la ecuación (12) a partir de la ecuación donde μ y η son el potencial y la dureza química de los ligandos, respectivamente [81].

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (12)$$

2.7 Descriptor de transferencia de carga

El término de descriptor de transferencia de carga (ΔN) es a partir del potencial químico y la dureza química, este parámetro define el número de electrones transferido de un sistema A hacia un sistema B. Donde, matemáticamente se expresa con la ecuación (13), en el cual el descriptor de transferencia de carga igual a la diferencia del potencial químico de un sistema A hacia un sistema B entre dos veces la suma de la dureza química de un sistema A hacia un sistema B.

$$\Delta N = \frac{\mu_B - \mu_A}{2(\eta_A + \eta_B)} \quad (13)$$

Estableciéndose la condición si $\Delta N < 0$ el flujo de las cargas será del sistema A al sistema B, donde A actuaría como un donador de electrones. Mientras que si $\Delta N > 0$, el flujo de las cargas será del sistema B hacia el sistema A, actuando B como un donador de electrones [82].

2.8 Docking molecular

El Docking molecular, también conocido como acoplamiento molecular, es un método ampliamente utilizado en el campo de la química computacional. Se trata de una herramienta fundamental para comprender los procesos moleculares involucrados en el desarrollo de

nuevos fármacos, basada en el concepto de “llave y cerradura” como se muestra en la **Figura 2.5** [83].



Figura 2.5. Esquema del modelo enzimático “llave y cerradura”.

Esta técnica permite predecir los acoplamientos e interacciones entre dos moléculas de interés, una de gran tamaño conocida como macromolécula y una de menor tamaño denominada ligando, a través de la ejecución de algoritmos para encontrar las mejores conformaciones de mínima energía de unión macromolécula-ligando [84]. De tal manera que, este enfoque es crucial para comprender la afinidad de un fármaco con su blanco terapéutico conocido como diana y para diseñar compuestos que se ajusten de manera óptima a la estructura y función del receptor; esta metodología puede derivar al uso de estrategias como el Docking ciego, rígido o flexible que facilitan la búsqueda de interacciones entre un ligando y una macromolécula.

Existe una variación de softwares que facilitan el cálculo de acoplamientos moleculares, cada uno de ellos se basa en diferentes metodologías efectivas para el diseño de fármacos. Algunos ejemplos son AutoDock 4.2, AutoDock Vina, GOLD y FlexX, entre otros, los cuales están basados en diferentes algoritmos. El AutoDock Vina mejora la velocidad de cálculo y precisión de las predicciones, ya que está diseñada para calcular la suma de todos los pares de átomos que puedan moverse entre sí. Sin embargo, AutoDock 4.2 es preferible ante una mayor flexibilidad en la configuración del Docking molecular [85]. El software FlexX se basa en el algoritmo de construcción incremental, el cual consiste en la fragmentación del ligando, donde se coloca, optimiza los fragmentos y evalúa la energía en el sitio de interacción [86]. Mientras que el AutoDock 4.2, AutoDock Vina y GOLD son softwares que utilizan una combinación de un algoritmo genético Lamarckiano (LGA) y un campo de fuerza de energía libre empírico. Esta combinación permite realizar predicciones rápidas de conformaciones de unión y energías libres de asociación. El campo de fuerza de energía libre

empírico es una metodología que utiliza información experimental para calcular la energía asociada a las interacciones moleculares [87].

Por otro lado, el algoritmo genético Lamarckiano es un enfoque evolutivo que busca optimizar la conformación y la energía de unión de las moléculas mediante iteraciones sucesivas. Gracias a esta combinación, se puede realizar una predicción de manera eficiente las conformaciones moleculares que se unen con mayor afinidad y las energías libres de asociación correspondientes. Esto es especialmente valioso en el campo del diseño de fármacos, ya que permite identificar las interacciones clave entre un ligando y su objetivo terapéutico, ayudando así en el proceso de descubrimiento y optimización de nuevos compuestos farmacológicos [88].

Con base a esta metodología, se realiza la búsqueda conformacional del ligando en la proteína, en la cual se busca reproducir la unión experimenta de manera computacional, funcionando mediante métodos de búsqueda estocástica y sistemática. Mientras que el método de búsqueda sistemática parte de la suposición de la rigidez de los ligandos, donde ligeramente tiene variaciones en los parámetros estructurales cambiando la conformación de manera gradual [66].

En resumen, el Docking molecular es una valiosa herramienta de la química computacional que desempeña un papel crucial en el desarrollo de nuevos fármacos, al permitirnos comprender y predecir las interacciones moleculares clave en el proceso de diseño de fármacos.

2.8.1 Docking ciego

El Docking ciego o acoplamiento ciego, es una estrategia muy eficiente dentro de la metodología del Docking molecular, esta técnica se utiliza cuando no se conoce o no se tiene información precisa del sitio de interacción macromolécula-ligando o cuando se desea explorar diferentes regiones de la macromolécula, es decir, si cuenta con sitios alostéricos. Siendo de esta manera, resulta ser útil en el diseño y descubrimiento de nuevos fármacos cuando se requiere hacer un estudio inicial [90].

Esta técnica se basa en la localización del sitio activo a partir de un algoritmo de acoplamiento donde el ligando “no puede ver” el sitio de interacción de la molécula objetivo, es decir, consiste en generar un conjunto de posiciones iniciales donde el ligando se coloca de manera aleatoria en la superficie de la macromolécula y se exploran diferentes posiciones y orientaciones que se encuentran alejadas del sitio activo. A través de cálculos de energía y evaluaciones de conformaciones donde predice las interacciones y afinidad de unión [91]. La **Figura 2.6** representa un esquema detallado de lo antes mencionado. A la derecha de la imagen se muestra el ligando y la macromolécula. En el centro de la imagen, el ligando se coloca aleatoriamente en la superficie de la macromolécula en una celda que define a todo el sitio como punto de interés. A la derecha, la localización de del sitio activo a través de cálculos de energía, en el cual se predicen las interacciones y afinidad de unión.

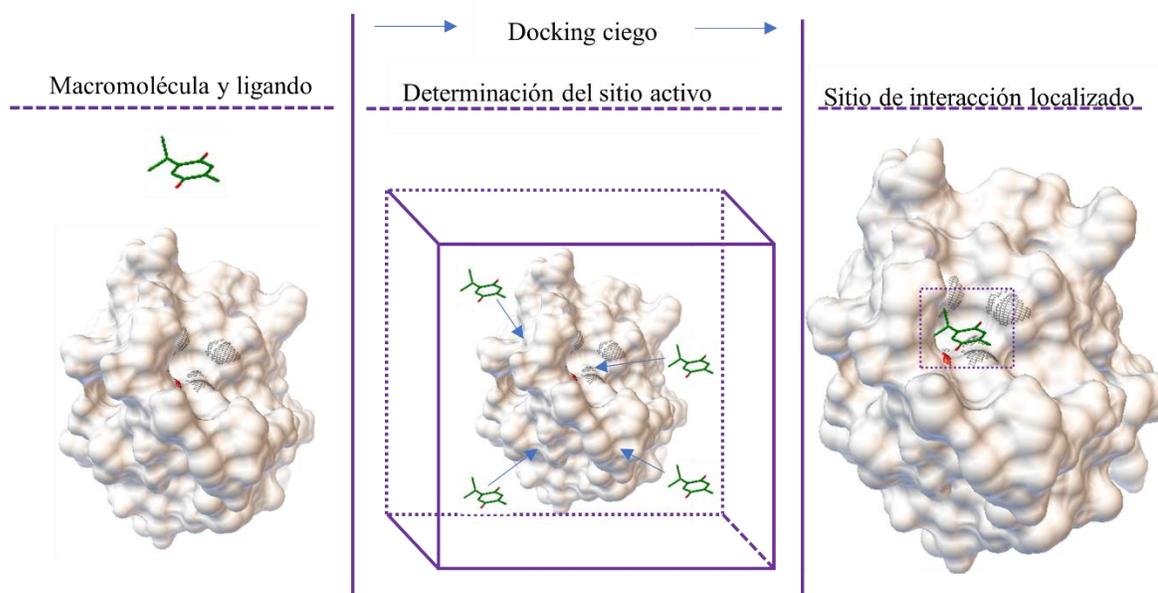


Figura 2.6. Esquema representativo de la técnica del Docking ciego.

2.8.2 Docking dirigido

El Docking dirigido consiste en generar una celda o grilla localizada en una cavidad específica en la macromolécula o diana. Para comprender los diferentes tipos de Docking

(rígido o flexible) es necesario conocer las metodologías de unión entre la macromolécula y el ligando como:

En el Docking rígido se consideran tanto a la macromolécula como al ligando como cuerpos rígidos durante el proceso de acoplamiento. Es decir, la macromolécula se mantiene fija en su conformación original, mientras que el ligando se coloca en diferentes orientaciones y posiciones alrededor de la macromolécula como se puede ver en la **Figura 2.7**. Esta técnica resulta ser más rápida y menos costosa a comparación del Docking flexible, ya que el cálculo que realiza no modifica los ángulos de torsión, los ángulos de enlace y las longitudes de enlace de las moléculas ni reduce el número de grados de libertad en donde se define el tamaño de caja [92]. A la derecha de la imagen se muestra el ligando y la macromolécula. En el centro de la imagen, el ligando se coloca dentro de una celda, en ella la macromolécula permanece fija, colocándose al ligando en diferentes orientaciones. A la derecha, la localización de del sitio activo.

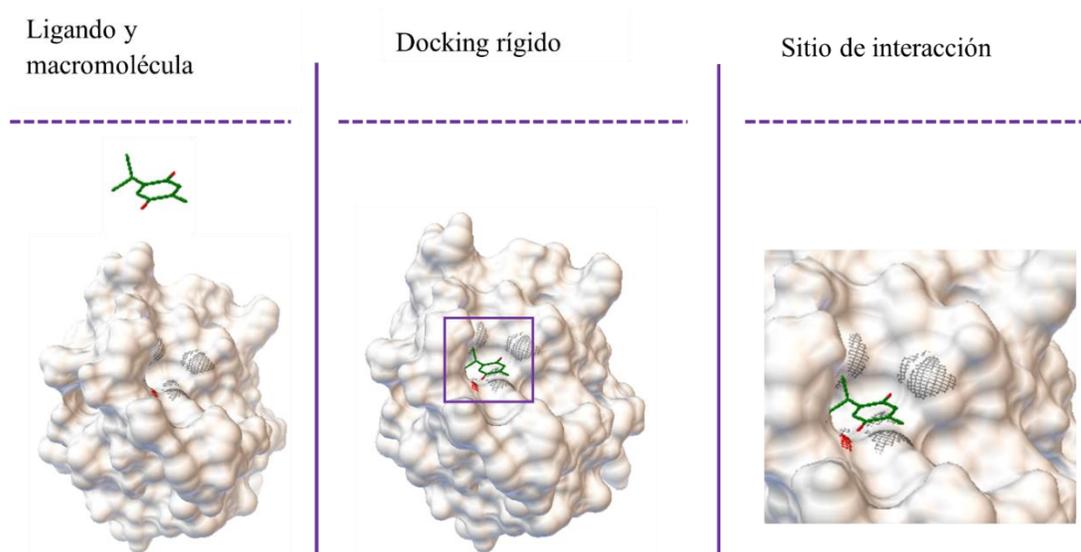


Figura 2.7. Esquema representativo de la técnica del Docking rígido.

Sin embargo, la técnica del Docking rígido no puede capturar los efectos de la flexibilidad y las adaptaciones conformacionales del ligando ni de la macromolécula, la cual limita la precisión de cálculo. A pesar de esto, es capaz de predecir eficientemente los sitios de unión

en la macromolécula a partir de una evaluación de la energía de las interacciones entre el ligando y la macromolécula en cada orientación y posición [93].

Por otro lado, el Docking flexible es otra técnica de acoplamiento molecular utilizada para predecir y estudiar la interacción entre una macromolécula y un ligando. El principio de su funcionamiento la hace tener un costo computacional más alto a comparación de las técnicas mencionadas anteriormente, ya que se basa en la flexibilidad tanto del ligando como de la macromolécula durante el proceso de Docking molecular. Esta técnica permite ajustar las conformaciones del ligando y la macromolécula para optimizar las interacciones y lograr un mejor acoplamiento en el sitio de unión. El Docking flexible ha demostrado ser una técnica precisa en la interacción entre la macromolécula y el ligando, dando resultados más fiables y relevantes en términos de diseño de fármacos, comprensión de mecanismos de acción y predicción de afinidades de unión [94].

3 METODOLOGÍA

3.1 Metodología del cálculo químico-cuántico

En esta sección se explica el procedimiento del trabajo teórico para obtener información sobre las propiedades químicas y la reactividad de las moléculas de origen natural *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona*. Se obtuvieron estructuras de mínima energía y frecuencia de las moléculas propuestas, los niveles de energía y la densidad de orbitales HOMO y LUMO a través del cálculo computacional. Se realizó una validación de la química modelo como parte fundamental de la investigación para seleccionar el funcional más adecuado, con el cual se llevó a cabo el resto del estudio. Este procedimiento se muestra en la **Figura 3.1**. Se utilizó el software Gaussian09 para realizar los cálculos con la DFT y GaussView 5 para preparar los cálculos y procesar los resultados.

En el proceso de validación, como una primera propuesta, se utilizaron los funcionales de la densidad híbridos B3LYP, PBE0, M06 y M06-2X en combinación con el conjunto base 6-31G(d). El objetivo es seleccionar el funcional de la densidad con mayor correlación con el grupo de moléculas de origen natural. Esta selección se realizó comparando los datos de geometría molecular obtenidos por cálculos teóricos con los reportados experimentalmente. Se obtuvo la geometría de mínima energía, primeramente, en fase gas y posteriormente en solvente utilizando agua y etanol, en un modelo de solvatación implícito bajo el Modelo Continuo Polarizable de la variante de Formalismo de Ecuación Integral (IEF-PCM). Los parámetros de geometría, tal como longitudes de enlace y ángulos de la *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona* en fase gas, se compararon con los datos de geometría experimental. A través de cálculos de correlación se demostró que las geometrías de las tres moléculas son muy cercanas a las geometrías reportadas experimentalmente, las cuales fueron calculadas por la ecuación de correlación:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n ((x_i - \bar{x})(y - \bar{y}))}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}}$$

Las geometrías de mínima energía en fase solvente utilizando agua y etanol se obtuvieron a partir de las geometrías en fase gas, utilizando el mismo grupo de funcionales de la densidad B3LYP, PBE0, M06 y M06-2X con el conjunto base 6-31G(d).

Metodología de cálculo computacional

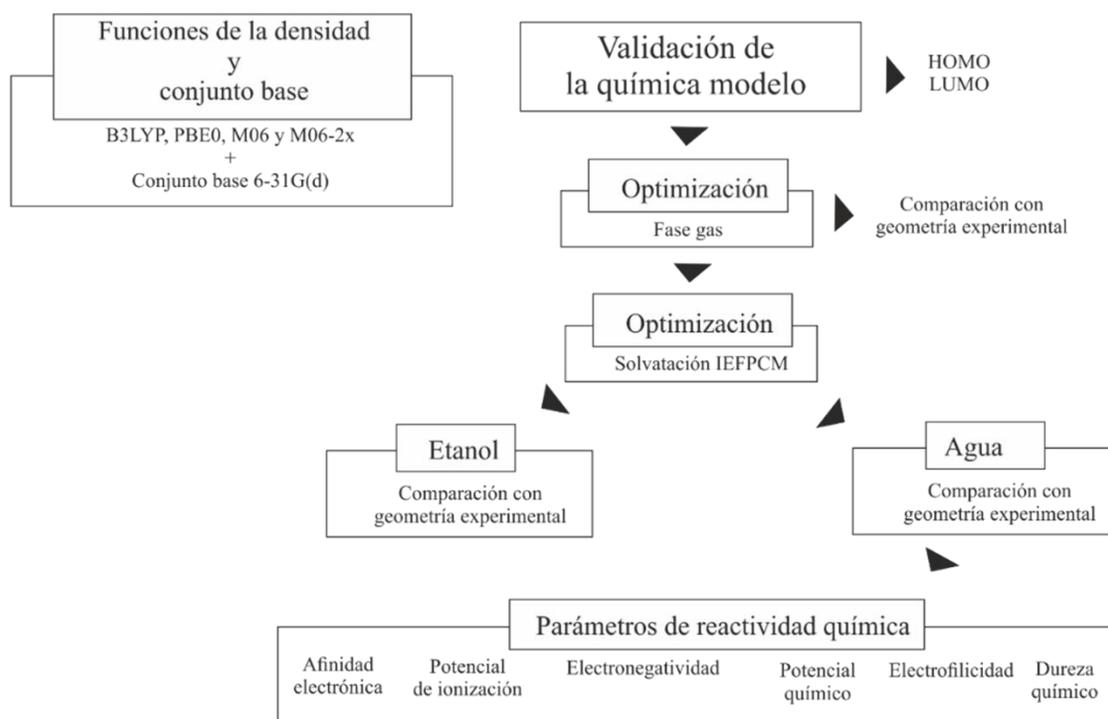


Figura 3.1. Descripción de los procesos en la metodología de los cálculos químico-cuánticos.

El análisis estructural de moléculas de origen natural se dividen en 3; el primer caso es en la molécula de la *curcumina*, en ella se tomó como referencia los datos experimentales de la estructura molecular del curcuminoide con el nombre sistémico 5-hidroxi-1,7-bis-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-hepta-1,6-dien-3-ona; el cual tiene la misma base estructural de la *curcumina*, cambiando solamente un grupo funcional dentro de su estructura [95]. El segundo caso para este análisis estructural corresponde a la molécula de la *piperlongumina*, cuyo nombre sistémico es 5,6-dihidro-1-[(2E)-1-oxo-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-propenil]-2(1H)-piridinona y el tercer caso es para la molécula de la *timoquinona* con el nombre sistémico de la *timoquinona* es 2-isopropil-5-metilbenzo-1,4-quinona.

Una vez seleccionado el funcional de la densidad, se procedió a realizar la obtención de los parámetros de reactividad química, densidad de los orbitales HOMO y LUMO y mapas de potencial electrostático. Durante el desarrollo de la investigación, se requirió del uso de computadoras de alto rendimiento, con el cual se facilita el estudio químico cuántico de los fármacos requirió del uso de computadoras de alto rendimiento para el cálculo computacional. Las especificaciones de este equipo de alto rendimiento se enlistan enseguida:

- Una estación de trabajo con dos procesadores Intel Xeon Quad Core E5-2603 1.8 GHz (16 enlaces), 24 GB de memoria RAM ECC y disco duro de estado sólido de 128 GB.

3.2 Metodología de Docking molecular

El Docking molecular consta de una serie de pasos rigurosos que permite realizar una simulación computacional de interacción entre una macromolécula y un ligando. Esta compleja metodología se describe detalladamente en la **Figura 3.2** con la ayuda del programa AutoDock 4.2; siendo un programa cuyo método principal está basado en la búsqueda conformacional a través de un algoritmo genético Lamarckiano. Además, es conocido por utilizar un método semiempírico que estima la energía libre que vincula a un ligando con una macromolécula.

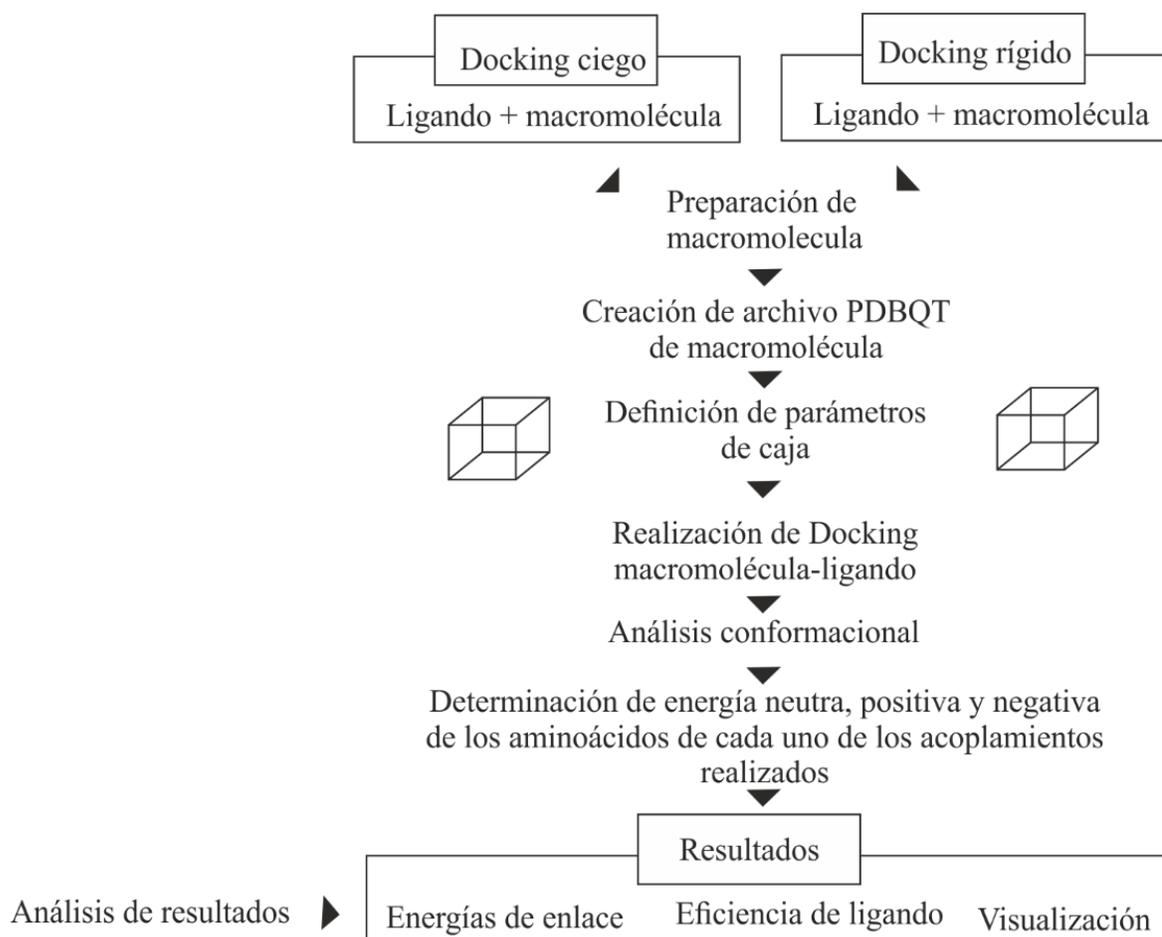


Figura 3.2. Diagrama de metodología del Docking molecular.

Durante este procedimiento, fue sumamente importante realizar un Docking molecular ciego, lo que permitió determinar las interacciones inesperadas entre la macromolécula- ligando. A su vez, el Docking molecular rígido fue realizado con parámetros de *grid* o malla en el glicerol, siendo este el ligando co-cristalizado en la macromolécula seleccionada para el desarrollo de la investigación.

3.2.1 Preparación de macromolécula y ligandos

La preparación de la macromolécula es imprescindible, la cual consistió en obtener la estructura cristalina PDB-ID: 1M9Z correspondiente al Factor de Crecimiento Transformante tipo 2 humano (TGF- β 2) en la base de datos Protein Data Bank

(<https://www.rcsb.org/>) Ver **Figura 3.3**. Esta base de datos reporta que la estructura cristalina seleccionada cuenta con las características experimentales y fue obtenida por el método de difracción de rayos X con una resolución de 1.05 Å [96].

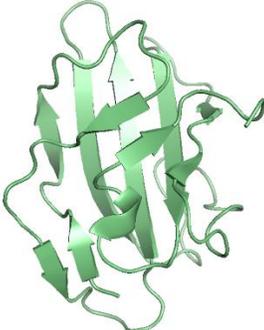
Macromolécula	Representación 3D de la macromolécula	Características
TGF-β2: Factor de Crecimiento Transformante β tipo 2 humano.		<ul style="list-style-type: none">• Clasificación: Hormona/factor de crecimiento.• Organismo: Homo Sapiens.• Método: Difracción de rayos X.• Resolución: 1.05 Å

Figura 3.3. Representación 3D y características experimentales de la macromolécula TGF-β tipo 2 en humano con el PDB-ID: 1M9Z.

La base del Docking molecular es la preparación de la macromolécula TGF-β2 y los ligandos; es por ello que es necesario dejar limpia la macromolécula de los ligandos propios de la co-cristalización, cofactores y moléculas de agua debido que estos pueden interferir con el procedimiento de Docking molecular y esto se llevó a cabo con la ayuda del software de AutoDock 4.2.

El diagrama de procedimiento para la preparación de la macromolécula se muestra en la **Figura 3.4**. La descarga de la macromolécula debe ser en formato PDB, el cual, es un archivo

textual que describe las estructuras tridimensionales de las moléculas contenidas en el Banco de Datos de Proteínas.

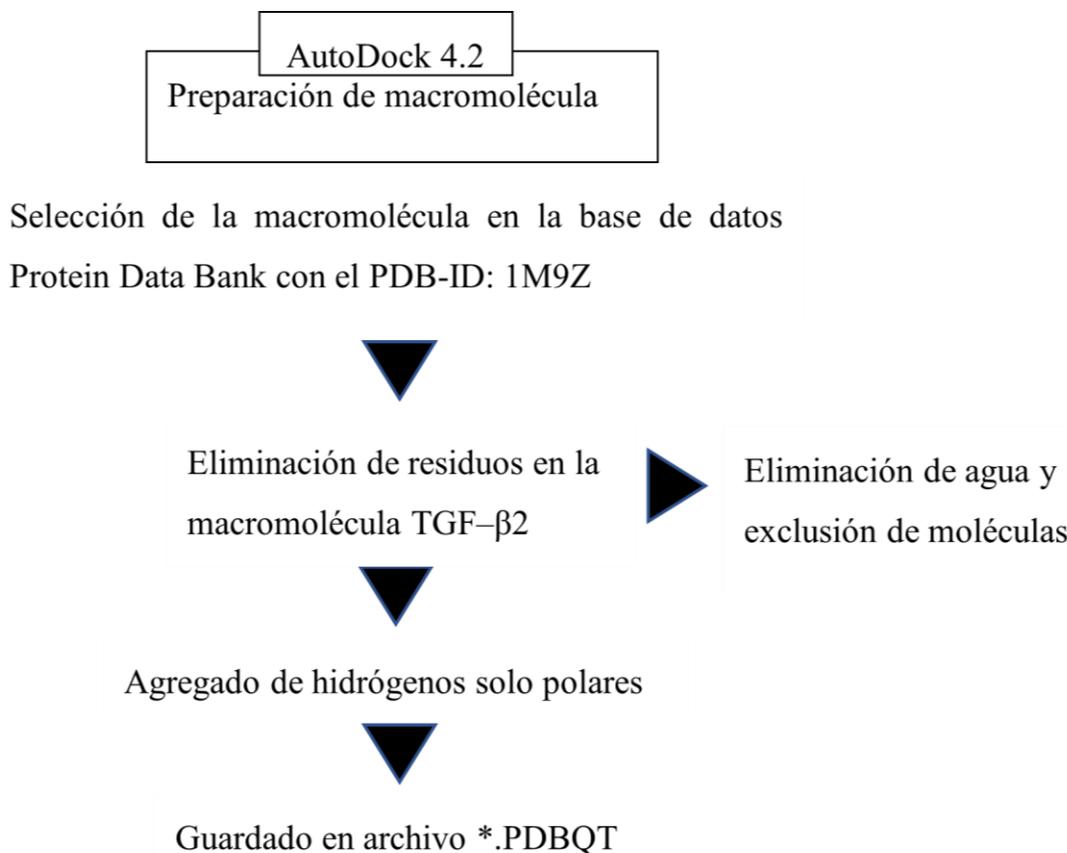


Figura 3.4. Diagrama de procedimiento de preparación de la macromolécula.

Otro paso relevante en la preparación de la macromolécula es la adhesión de hidrógenos solo polares, la razón principal es que estos permiten que se formen enlaces de hidrógeno con los residuos polares en el sitio activo de la macromolécula durante la simulación. Los enlaces de hidrógeno muestran las interacciones cruciales en los acoplamiento macromolécula-ligando, ya que especifican la afinidad de unión de la simulación. Una vez completos estos pasos, el archivo que originalmente se encontraban en formato PDB quedara guardado en formato

PDBQT. Este formato permite continuar con la preparación del Docking molecular y la definición de parámetro del *grid*, malla o caja en AutoDock 4.2.

Los ligandos o moléculas de origen natural seleccionados en este trabajo de investigación al igual que la macromolécula, también se someten a preparación en AutoDock 4.2, en el caso de ellos es distinto debido a que no presentan moléculas no deseadas, en ellas solo se deben añadir hidrógenos para facilitar los enlaces de hidrógeno. Es importante destacar que todos los ligandos analizados fueron optimizados con el software Gaussian 09 por medio del funcional de la densidad M06 en combinación con el conjunto base 6-31G(d) en solvatación de agua bajo el Modelo del Continuo Polarizable de la variante de Formalismo de Ecuación Integral (IEF-PCM).

3.2.2 Definición de parámetros de caja

Dentro de esta metodología, se toma al ligando *curcumina* (Cur) para definir los parámetros de la caja del sitio activo; a través de un Docking ciego la molécula de origen natural se encontrará situada inicialmente en la superficie de la macromolécula, donde se generan un conjunto de posiciones iniciales alejadas del sitio activo. Este procedimiento es fundamental para generar posiciones que permiten determinar su estado de mínima energía y así obtener el sitio activo de la macromolécula.

Los parámetros de la caja del Docking ciego pueden verse representados en **Figura 3.5**. En esta se definen los posibles sitios de unión de la macromolécula en una caja con las siguientes coordenadas $x = 18.108$, $y = 35.19$ y $z = 5.798$, con dimensiones de caja de $84 \times 100 \times 90$ con una resolución o espaciamiento de la cuadrícula (*grid*) de 0.392 \AA . En el caso del Docking rígido se muestra en la **Figura 3.5 B)** siendo el resultado del Docking ciego, el cual permitió las condiciones de análisis de caja con las dimensiones $x = 50$, $y = 40$ y $z = 48$, coordenadas $x = 22.231$, $y = 45.786$ y $z = 5.128$ con una resolución o espaciamiento de la cuadrícula (*grid*) de 0.392 \AA .

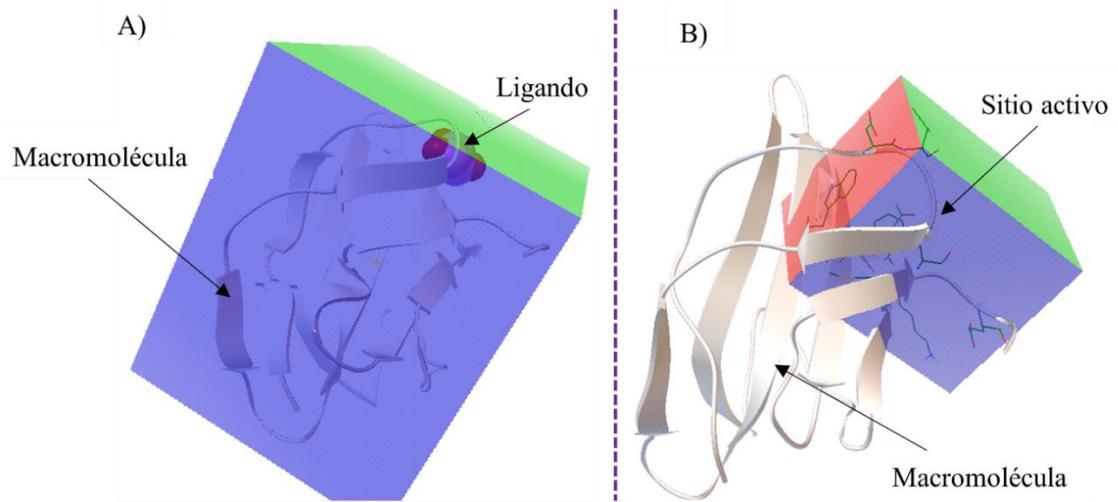


Figura 3.5. A) Definición de parámetro de caja para el método de Docking ciego. B) Definición de parámetros de caja en sitio activo identificado en la macromolécula.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Moléculas de origen natural

4.1.1 Análisis estructural de moléculas de origen natural

Los parámetros de optimización de geometrías de la *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona* permiten realizar validación de la química modelo que más se aproxima a los datos experimentales. Durante la validación de la química modelo de las moléculas propuestas, se realizó el cálculo computacional donde se obtuvieron parámetros geométricos en fase gas con las metodologías de los funcionales B3LYP, PBE0, M06 y M06-2X; con el conjunto base 6-31G(d). Este cálculo dio como resultado los datos para realizar un comparativo entre las distancias de enlace obtenidos en los modelos teóricos con las distancias de enlace obtenidos experimentalmente mostradas en las **Tabla 1**, **Tabla 3** y **Tabla 5**. Mientras que en la **Tabla 2**, **Tabla 4** y **Tabla 6** se muestran los comparativos de los ángulos de enlace de modelos teóricos contra los ángulos de enlace de modelos experimentales.

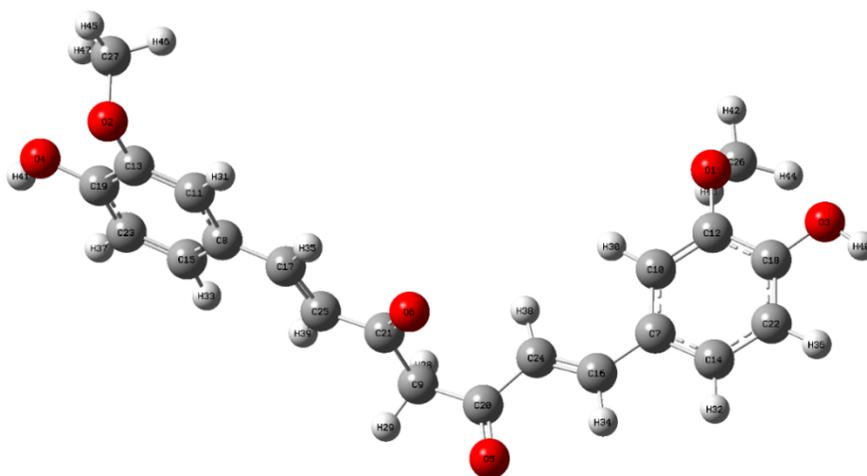


Figura 4.1. Molécula optimizada con M06/6-31G(d) en fase gas de la *curcumina*, resultado del análisis estructural molecular.

El resultado del cálculo computacional de la *curcumina* permitió el análisis estructural molecular donde las distancias de enlace se muestran en la **Tabla 1** y los ángulos resultantes se muestran en la **Tabla 2**.

Tabla 1. Comparativo de distancias de enlace teórico en fase gas contra parámetros experimentales en análisis estructural molecular de la *curcumina*.

Distancia de enlace	Funcional/conjunto base 6-31G(d)				Referencia experimental
	Fase gas				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
C21-C25	1.477	1.464	1.462	1.472	1.445
C24-C20	1.476	1.464	1.463	1.472	1.464
C17-C25	1.351	1.351	1.350	1.346	1.342
C24-C16	1.351	1.352	1.350	1.346	1.341
C21-C9	1.537	1.525	1.522	1.521	1.376
C9-C20	1.533	1.519	1.518	1.521	1.419
C20-O5	1.226	1.249	1.247	1.242	1.277
C8-C17	1.457	1.454	1.452	1.461	1.459
C16-C7	1.456	1.453	1.451	1.461	1.456
C17-C25	1.351	1.351	1.350	1.346	1.342
C16-C24	1.351	1.352	1.350	1.346	1.341
C24-C20	1.476	1.464	1.463	1.472	1.464
C21-O6	1.224	1.247	1.245	1.242	1.335
Correlación (r)	0.797	0.797	0.798	0.824	

Las tablas de comparativas muestran las correlaciones de distancias de enlace entre la referencia experimental contra los modelos teóricos en fase gas, siendo la metodología M06-2X/6-31G(d) la más cercana a la referencia experimental con una correlación de 0.824, mientras que las metodologías B3LYP/6-31G(d), M06/6-31G(d) y PBE0/6-31G(d) presentan la misma correlación de 0.797. Además, esta metodología reporta una correlación de -0.320 en la **Tabla 2** de comparativos de ángulos de enlace [95].

Tabla 2. Comparativo de ángulos de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en fase gas contra parámetros experimentales de la *curcumina*.

Ángulos de enlace	Funcional/conjunto base 6-31G(d)				Referencia experimental
	Fase gas				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
C13-O2-C27	116.13	118.61	120.13	118.93	116.10
C12-O1-C26	116.15	118.72	119.72	119.27	115.80
O6-C21-C9	120.67	120.41	120.73	120.73	121.70
O6-C21-C25	123.65	123.53	123.81	123.17	116.80
O5-C20-C24	123.43	123.12	123.61	123.24	120.30
O5-C20-C9	120.61	120.35	120.67	120.76	120.80
C21-C9-C20	110.44	110.67	109.05	109.18	121.60
Correlación (r)	-0.024	-0.264	-0.359	-0.289	

El segundo caso corresponde al análisis estructural de la *piperlongumina*, donde se muestran los resultados de los cálculos con las mismas condiciones del primer caso.

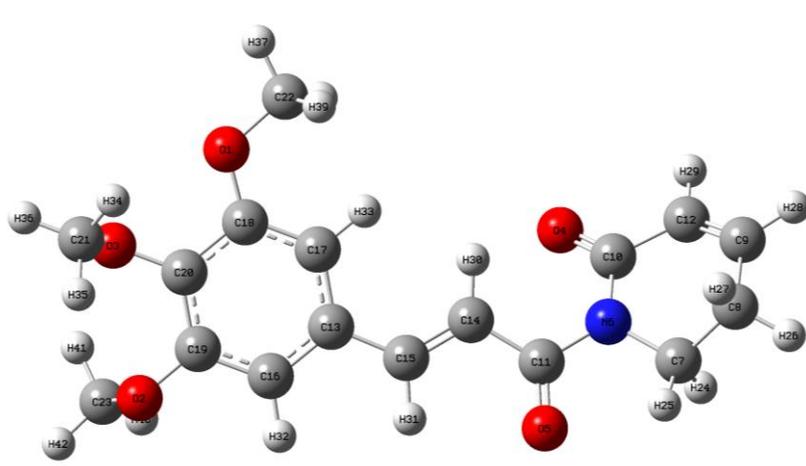


Figura 4.2. Molécula optimizada con M06/6-31G(d) en fase gas de la *piperlongumina*, resultado del análisis estructural molecular.

La Tabla 3 muestra que la mejor correlación la tiene la metodología M06-2X/6-31G(d), el cual tiene 0.982 contra las metodologías B3LYP/6-31G(d) que tiene una correlación de 0.974, M06/6-31G(d) con 0.980 y PBE0/6-31G(d) con 0.977 con referencia a los datos experimentales [97].

Tabla 3. Comparativo de distancias de enlace teórico en fase gas contra parámetros experimentales en análisis estructural molecular de la *piperlongumina*.

Distancias de enlace	Funcional/conjunto base 6-31G(d)				Referencia experimental
	Fase gas				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
N6-C10	1.408	1.400	1.404	1.400	1.401
N6-C7	1.493	1.480	1.484	1.483	1.486
C10-C12	1.481	1.475	1.475	1.481	1.454
C10-O4	1.253	1.248	1.245	1.242	1.216
C12-C9	1.343	1.341	1.340	1.337	1.324
C9-C8	1.505	1.498	1.497	1.503	1.481
N6-C11	1.430	1.420	1.425	1.417	1.398
C11-O5	1.255	1.251	1.248	1.245	1.218
C11-C14	1.467	1.462	1.461	1.472	1.476
C14-C15	1.354	1.351	1.349	1.345	1.306
C15-C13	1.461	1.456	1.454	1.464	1.472
C13-C17	1.414	1.409	1.408	1.408	1.397
C17-C18	1.392	1.388	1.388	1.388	1.376
C18-O1	1.391	1.381	1.380	1.382	1.370
O1-C22	1.454	1.443	1.439	1.442	1.425
C18-C20	1.416	1.411	1.412	1.408	1.387
C20-C19	1.404	1.400	1.401	1.395	1.396
C20-O3	1.391	1.382	1.378	1.384	1.381
O3-C21	1.471	1.459	1.452	1.459	1.420
C19-O2	1.394	1.385	1.381	1.386	1.365
O2-C23	1.469	1.458	1.452	1.458	1.418
C19-C16	1.398	1.394	1.393	1.394	1.383
C16-C13	1.405	1.400	1.399	1.397	1.376
Correlación (r)	0.974	0.977	0.980	0.982	

Los resultados de los ángulos de enlace, puede verse en la comparativa de la **Tabla 4**, la que demuestra que la metodología M06-2X/6-31G(d) tiene la mejor correlación con 0.982.

Tabla 4. Comparativo de ángulos de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en fase gas contra parámetros experimentales de la *pipperlongumina*.

Ángulos de enlace	Funcional/conjunto base 6-31G(d)				Referencia experimental
	Fase gas				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
C10-N6-C7	117.54	117.50	117.36	117.60	117.60
C10-N6-C11	126.65	126.67	126.68	126.01	124.00
C7-N6-C11	115.55	115.62	115.70	116.01	116.30
N6-C10-C12	116.39	116.23	116.05	116.22	116.10
N6-C10-O4	124.30	124.39	124.43	124.12	124.03
C12-C10-O4	119.27	119.33	119.48	119.63	121.50
C10-C12-C9	123.17	122.97	123.00	122.82	123.50
C12-C9-C8	120.31	120.17	120.24	120.33	120.30
C9-C8-C7	110.09	109.80	109.75	109.78	111.90
C8-C7-N6	111.86	111.74	111.43	111.27	111.90
N6-C11-O5	117.83	117.97	118.06	118.20	119.00
N6-C11-C14	119.88	119.81	119.60	119.94	118.90
O5-C11-C14	122.27	122.21	122.32	121.82	121.90
C11-C14-C15	119.48	119.07	119.29	118.64	120.80
C14-C15-C13	126.57	126.46	126.01	125.89	128.50
C15-C13-C17	122.53	122.44	122.19	122.06	120.90
C15-C13-C16	118.66	118.64	118.86	118.68	119.20
C17-C13-C16	118.80	118.92	118.95	119.26	119.80
C13-C17-C18	120.36	120.28	120.33	120.04	120.90
C17-C18-O1	123.88	123.88	123.58	124.01	124.20
C20-C18-O1	115.45	115.46	115.76	115.39	114.90
C18-C20-C19	118.90	118.95	118.80	119.17	121.60
C18-C20-O3	122.30	122.22	122.92	121.68	118.60
C20-C19-O2	122.11	121.96	122.24	121.38	116.10
C20-C19-C16	120.32	120.29	120.34	120.34	118.10
C16-C19-O2	117.47	117.65	117.35	118.23	124.90
C19-C16-C13	120.93	120.86	120.87	120.56	121.30
C18-O1-C22	118.60	118.32	118.30	118.15	117.00
C20-O3-C21	117.79	117.45	118.64	116.46	113.90
C19-O2-C23	117.79	117.47	117.61	116.71	117.10
Correlación (r)	0.80	0.81	0.78	0.84	

El análisis estructural de la molécula de la *timoquinona* esta reportado en la **Tabla 5** y **Tabla 6** de comparaciones de distancias y ángulos de enlace, en ellas se muestra que las distancias moleculares en fase gas de los niveles de cálculo B3LYP/6-31G(d), M06-2X/6-31G(d), M06/6-31G(d) y PBE0/6-31G(d), los cuales da como resultado una correlación de 0.980 tomando como referencia los datos obtenidos experimentalmente [98].

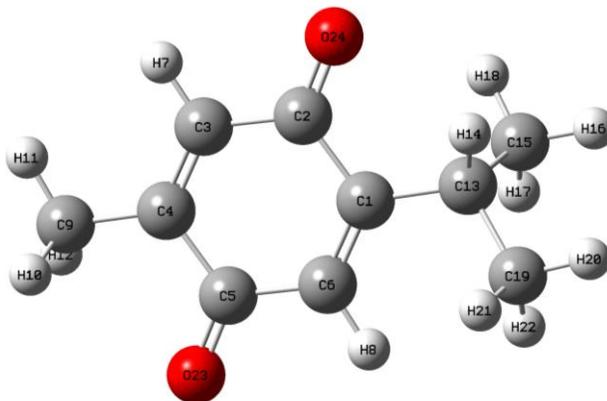


Figura 4.3. Estructura molecular optimizada de la *timoquinona* calculada con el nivel de cálculo M06/6-31G(d) en fase gas.

Tabla 5. Comparativo de distancias de enlace teórico en fase gas contra parámetros experimentales en análisis estructural molecular de la *timoquinona*.

Distancias de enlace	Funcional/conjunto base 6-31G(d) Fase gas				Referencia experimental
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
C2-O24	1.254	1.250	1.247	1.243	1.225
C5-O23	1.254	1.249	1.247	1.242	1.237
C4-C5	1.494	1.488	1.489	1.493	1.449
C3-C4	1.352	1.349	1.348	1.344	1.362
C5=C6	1.472	1.467	1.467	1.474	1.487
C1=C6	1.353	1.350	1.349	1.345	1.333
Correlación (r)	0.98	0.98	0.98	0.98	

Los ángulos de enlace fueron reportados en la **Tabla 5**, donde las correlaciones se dieron de un 0.86 a 0.97. Siendo la estructura geométrica teórica con el nivel de cálculo M06/6-31G(d) con mayor similitud a la estructura geométrica de la molécula experimental.

Tabla 6. Comparativo de ángulos de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en fase gas contra parámetros experimentales de la *timoquinona*.

Ángulos de enlace	Funcional/conjunto base 6-31G(d)				Referencia experimental
	Fase gas				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
C4-C5-C6	118.76	118.81	118.59	118.76	119.64
C4-C5-O23	120.53	120.40	120.53	120.32	121.86
C6-C5-O23	120.72	120.79	120.88	120.92	118.48
C5-C4-C9	117.39	117.15	117.24	116.64	118.37
C3-C4-C5	118.48	118.56	118.70	118.81	118.53
C3-C4-C9	124.13	124.29	124.06	124.55	123.09
C4-C3-C2	112.76	122.64	122.73	122.45	121.56
C3-C2-C1	118.88	118.90	118.67	118.82	118.98
C3-C2-O24	120.22	120.30	120.44	120.45	119.34
C1-C2-O24	120.90	120.79	120.89	120.72	121.68
C2-C1-C13	117.02	116.89	116.90	116.55	117.57
C6-C1-C13	124.85	124.85	124.66	124.91	125.30
C1-C6-C5	122.99	122.83	122.89	122.61	123.48
C1-C13-C15	110.27	110.04	109.52	109.80	109.38
C1-C13-C19	113.55	113.40	113.31	113.01	112.59
C19-C13-C15	110.77	110.77	110.19	110.53	110.62
Correlación (r)	0.86	0.97	0.97	0.97	

Los resultados obtenidos en las optimizaciones de la *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona* con las metodologías B3LYP/6-31G(d), M06-2X/6-31G(d), M06/6-31G(d) y PBE0/6-31G(d) permitieron determinar bajo que química modelo es más acertada para el análisis computacional. Estos modelos se calcularon en fase gas y en solvatación IEF-PCM con solvente en agua y etanol, estos resultados pueden consultarse en las tablas de la sección de Anexo A y Anexo B.

A pesar de que las correlaciones de las metodologías señalan como la mejor a M06-2X/6-31G(d) en los tres casos, se tomó la decisión de realizar el análisis de los resultados de los cálculos con la química modelo M06/6-31G(d) debido a que esta metodología presentó mucha similitud con M06-2X/6-31G(d) y requiere un menor costo computacional. Se verificaron las ausencias de frecuencias imaginarias, las cuales confirmaron los mínimos globales en la superficie de energía potencial.

Es importante destacar que la diferencia de correlación en la distancia de enlace es muy baja con 0.002 y en ángulos de enlace con 0.060 entre las metodologías M06-2X/6-31G(d) y M06/6-31G(d). Además, el funcional M06-2X tiene un 54% de intercambio de HF y el M06 un 27% de intercambio HF, ambos funcionales tienen un buen desempeño en termoquímica de interacciones no covalentes, en termoquímica de metales de transición y organometálicos; a diferencia que el M06 ha tenido mayor aplicación en el análisis y diseño de fármacos.

4.1.2 Niveles de energía y Densidades de orbitales HOMO y LUMO

El análisis de los orbitales moleculares de frontera, también conocidos como el orbital molecular ocupado más alto (HOMO) y el orbital molecular ocupado más bajo (LUMO), desempeña un papel crucial en el análisis de la reactividad química de las moléculas. Proporcionan información sobre los sitios más propensos a ataques nucleofílicos y electrofílicos. Físicamente, el HOMO se define como el último orbital molecular ocupado por un electrón y se caracteriza por su capacidad de donar electrones. Por otro lado, el LUMO se refiere al orbital molecular desocupado de menor energía y está asociado con la capacidad de aceptar electrones. Además, la diferencia de energía entre el HOMO y el LUMO, conocida como brecha energética, se relaciona directamente con la polarizabilidad de la molécula.

Estos cálculos se realizaron con los funcionales B3LYP, PBE0, M06 y M06-2X en combinación con el conjunto base 6-31G(d), utilizando el agua como solvente con el modelo de solvatación IEF-PCM. En la **Figura 4.4** se muestran los comparativos de los valores HOMO-LUMO de la *curcumina* con los distintos niveles de cálculo. Ha de notarse la diferencia que existe entre los resultados de niveles de energía entre los cálculos de los

funcionales M06 y M06-2X, teniendo el B3LYP, PBE0 y M06 valores cercanos entre ellos a pesar de que el M06-2X obtuvo mejores resultados con la geometría molecular.

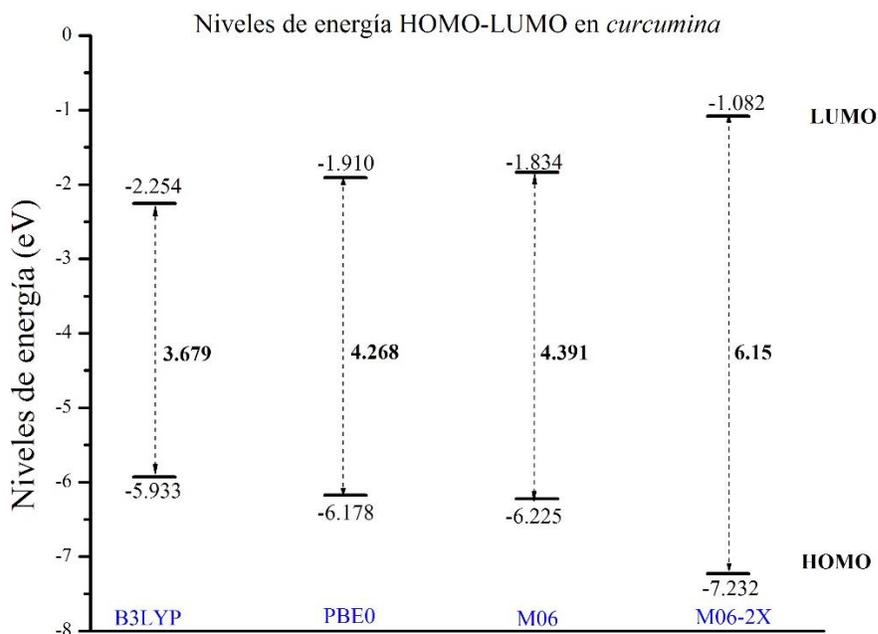


Figura 4.4. Gráfico de energías HOMO-LUMO de la *curcumina* en solvente de agua con el modelo de solvatación IEF-PCM con el funcional M06/6-31G(d).

El gráfico de energías HOMO-LUMO de la molécula *piperlongumina* tiene sus valores representados en la **Figura 4.5**, en ella se puede corroborar los resultados de los niveles de energía de los distintos funcionales.

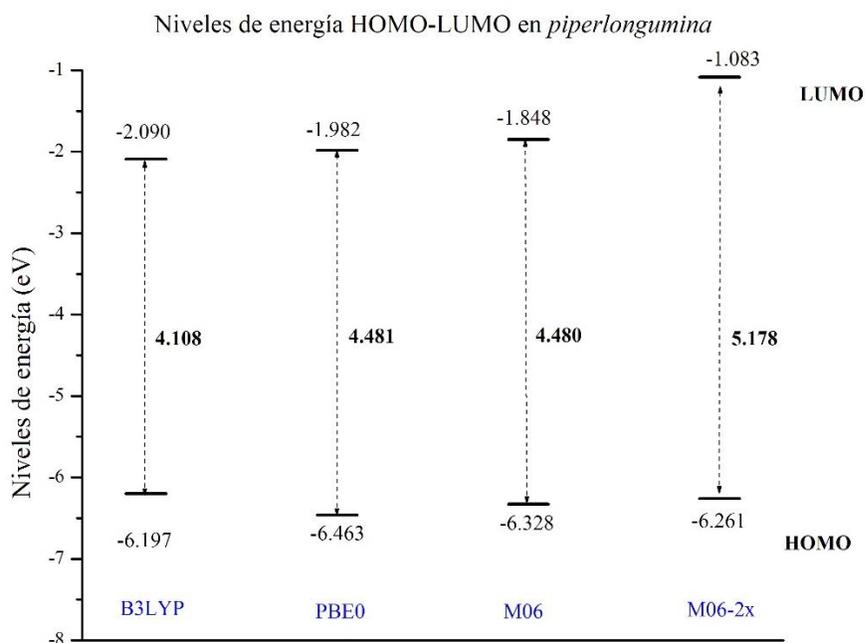


Figura 4.5. Gráfico de energías HOMO-LUMO de la *piperlongumina* en solvente de agua con el modelo de solvatación IEF-PCM y el funcional M06/6-31G(d).

Mientras que en la Figura 4.6, el gráfico de energías HOMO-LUMO de la timoquinona reporta energías similares entre los funcionales B3LYP, PBE0 y M06. El resultado obtenido del funcional M06-2X es mucho mayor que las anteriores, es por ello por lo que se descartaría en su proceso de selección de la química modelo a pesar de que con ella se obtuvo mejores resultados en la optimización de geometrías.

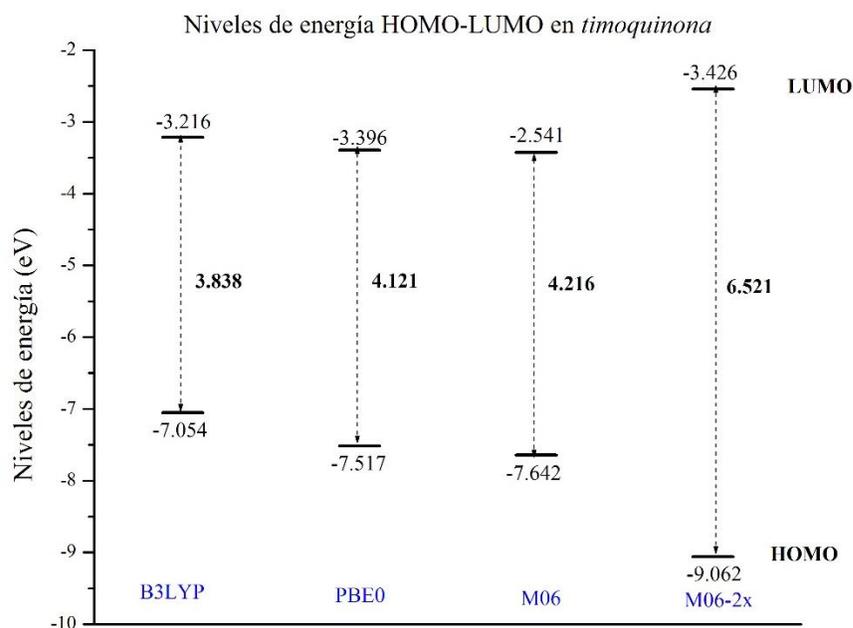


Figura 4.6. Gráfico de energías HOMO-LUMO *timoquinona* en solvente de agua con el modelo de solvatación IEF-PCM con el funcional M06/6-31G(d).

La distribución de densidad electrónica HOMO y LUMO de la *curcumina* está representada en la Figura 4.7, donde la energía HOMO es igual a -6.225 eV y está distribuida principalmente en un anillo aromático y el grupo funcional metoxilo, mientras que la energía LUMO es igual a -1.834 eV y está distribuida principalmente en los enlaces $C - C$ a lo largo de toda la molécula; la energía de la banda gap de la *curcumina* se estima que sea de 4.391 eV .

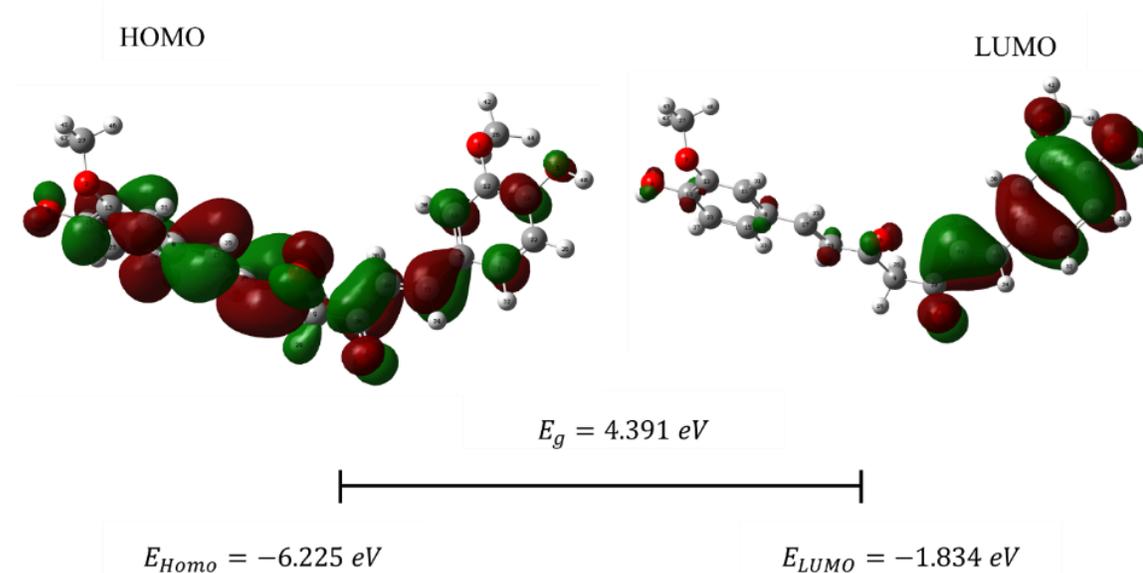


Figura 4.7. Orbitales moleculares de frontera HOMO y LUMO de la *curcumina*. Resultados obtenidos del cálculo de optimización donde se utilizó agua como solvente con el modelo de solvatación IEF-PCM con el nivel de cálculo M06/6-31G(d).

En la *piperlongumina*, la distribución de densidad electrónica HOMO y LUMO está representada en la Figura 4.8, donde la energía HOMO es igual a $-6.328 eV$. Se observa que la energía HOMO está distribuida principalmente en el anillo aromático y en los enlaces moleculares $C - C$. La energía LUMO es igual a $-1.834 eV$, además se aprecia que no hay interacciones en los grupos funcionales metoxilo.

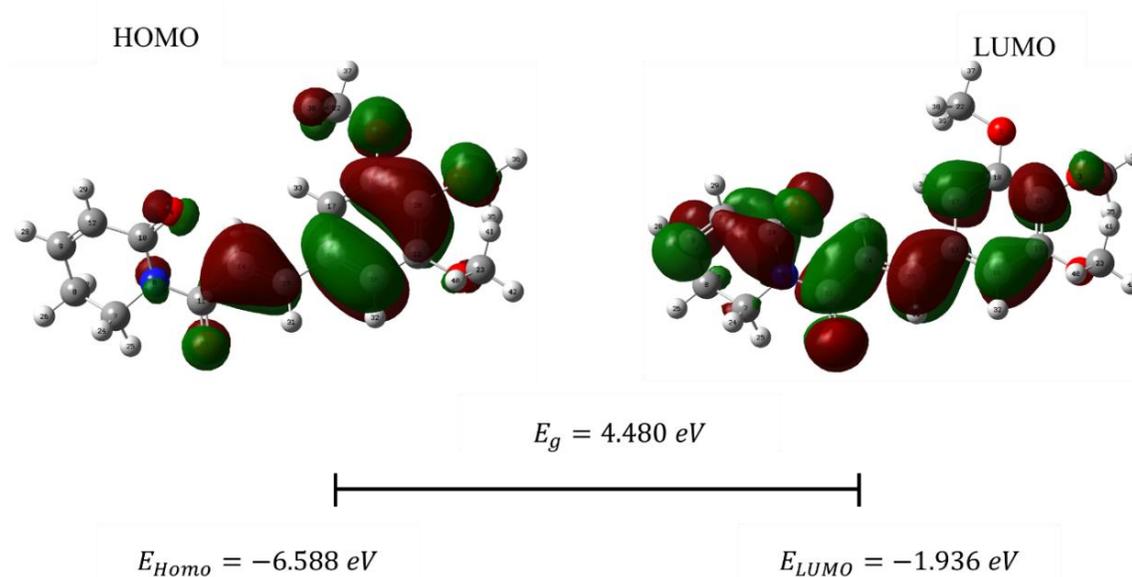


Figura 4.8. Orbitales moleculares de frontera HOMO y LUMO de la *piperlongumina*. Resultados obtenidos del cálculo de optimización donde se utilizó agua como solvente con el modelo de solvatación IEF-PCM con el nivel de cálculo M06/6-31G(d).

En la **Figura 4.9** se muestran los orbitales moleculares HOMO y LUMO de la *timoquinona*, la energía HOMO tiene valores de -7.462 eV y tiene su distribución a lo largo de toda la molécula, principalmente en todos los enlaces del anillo aromático. Mientras que la energía LUMO tiene valor de -3.426 eV , donde se encuentra distribuida principalmente en los enlaces $C - C$ del anillo aromático, seguido de los dobles enlaces de oxígeno distribuida sobre el anillo aromático con los dobles enlaces de oxígeno. En la **Tabla 7** puede verse todos los parámetros de densidad orbitales HOMO y LUMO de las moléculas de origen natural, reportando que la *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona* tienen valores de 4.391 eV , 4.480 eV y 4.216 eV respectivamente.

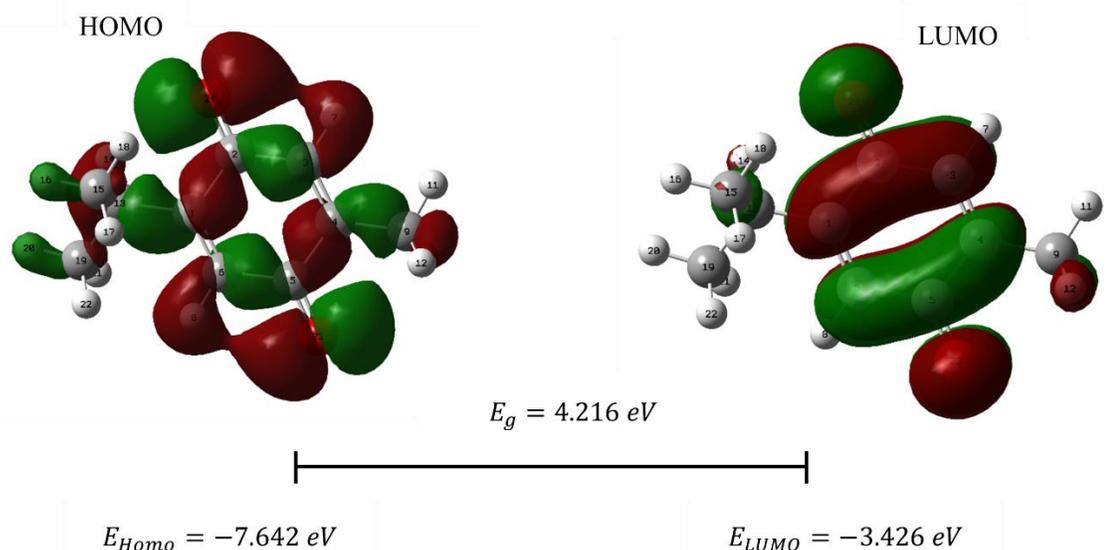


Figura 4.9. Orbitales moleculares de frontera HOMO y LUMO de la *timoquinona*. Resultados obtenidos del cálculo de optimización donde se utilizó agua como solvente con el modelo de solvatación IEF-PCM con el nivel de cálculo M06/6-31G(d).

Tabla 7. Parámetros de densidad orbitales HOMO y LUMO de las moléculas de origen natural.

Propiedades	Parámetros Símbolo y fórmula	Nivel de calculo M06/6-31G(d) con el modelo de solvatacion IEFPCM en agua		
		<i>Curcumina</i>	<i>Piperlongumina</i>	<i>Timoquinona</i>
Energía LUMO	E_{LUMO}	-1.834	-1.848	-3.426
Energía HOMO	E_{HOMO}	-6.225	-6.328	-7.642
Energía GAP	$E_{HOMO} - E_{LUMO}$	4.391	4.480	4.216

Unidades en eV

Por otro lado, los orbitales moleculares HOMO y LUMO permitieron definir el farmacóforo en cada una de las moléculas de origen natural, es decir la parte de la estructura de las moléculas de origen natural ejercen su efecto fisiológico específico en el sitio activo de la TGF – $\beta 2$. En el caso de la *curcumina* en donde la energía HOMO está distribuida principalmente en un anillo aromático y el grupo funcional metoxilo, mientras que la energía LUMO está distribuida principalmente en los enlaces de carbono a lo largo de toda la molécula, en *piperlongumina* la energía HOMO está distribuida principalmente en el anillo aromático y en los enlaces moleculares entre carbonos y la energía LUMO no tiene

interacciones en los grupos funcionales metoxilo. Finalmente, *timoquinona* en la energía HOMO tiene su distribución principalmente en todos los enlaces del anillo aromático, mientras que la energía LUMO está distribuida principalmente en los enlaces carbono del anillo aromático.

4.1.3 Parámetros de reactividad química

Los descriptores de reactividad global como el potencial de ionización, la afinidad electrónica, la electronegatividad, la dureza química, la electrofilicidad y el potencial químico se encuentran recopilados en la **Tabla 8**. Estos descriptores de reactividad química se obtuvieron a través de cálculos realizados con el funcional de la densidad M06 en combinación del conjunto base 6-31G(d) utilizando agua como medio de solvatación con el modelo IEF-PCM. Los cuales, son fundamentales para evaluar la reactividad química de la *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona*.

Tabla 8. Descriptores globales de reactividad de las moléculas de origen natural de la *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona*.

Parámetros de reactividad química	Nivel de cálculo M06/6-31G(d) con el modelo de solvatación IEF-PCM en agua		
	<i>Curcumina</i>	<i>Piperlongumina</i>	<i>Timoquinona</i>
Afinidad electrónica (A)	2.114	2.223	3.413
Potencial de ionización (I)	6.010	6.308	7.501
Electronegatividad (χ)	4.062	4.265	5.457
Potencial químico (μ)	-4.062	-4.265	-5.457
Dureza química (η)	1.948	2.042	2.044
Índice de electrofilicidad (ω)	4.235	4.454	7.286

Unidades en eV

La **Tabla 8** es un comparativo de los parámetros de reactividad química entre las tres moléculas de origen natural. En ella se muestra que la *timoquinona* tiene mayor afinidad electrónica que la *piperlongumina* y la *curcumina*, lo que significa que los átomos de la *timoquinona* tienden a retener sus electrones con mayor fuerza. A partir de los resultados del potencial de ionización, donde la *timoquinona* tiene una energía mayor, significa que requerirá mayor energía para perder electrones en el sistema. De igual manera, la

timoquinona tiene una electronegatividad mayor que la *curcumina* y la *piperlongumina*, este resultado tiene como significado que entre más electronegativa sea la molécula, mayor será su capacidad para atraer electrones que puedan generar desigualdades de cargas en la molécula. El potencial químico de la *timoquinona* es más negativo que el de la *piperlongumina* y un poco más negativo que la *curcumina*, esto significa que entre más negativo sea el potencial químico de una molécula esta será más estable. La dureza química de la *timoquinona* es de 2.044 eV, por lo que puede ser menos propensa a aceptar o donar electrones a comparación de la *piperlongumina* que tiene una energía de 2.041 eV y la *curcumina* con 1.948 eV, este parámetro también tiene como significado que entre mayor sea la dureza química de una molécula, mayor será la resistencia para deformarse ante una perturbación. Hasta el momento puede significar que posiblemente la *curcumina* sea más reactiva con la citocina TGF – β 2.

4.1.4 Mapa de potencial electrostático

Los mapas de potencial electrostático (MEP) fueron generados con el software Gaussian 09 con moléculas optimizadas por el funcional M06 en combinación del conjunto base 6-31G(d). Los MEP resultan ser de gran importancia para los estudios de las reactividades de las moléculas, ya que muestra las principales fuerzas de atracción y repulsión de los electrones a lo largo de la molécula basándose en la ley Coulomb [99]. El mapa de potencial electrostático marca la densidad de electrones a partir de una escala de colores desde el rojo intenso hasta el azul intenso; considerando el color rojo como potencial negativo, o bien, como una alta densidad de electrones donde se espera que ocurra un ataque nucleofílico, mientras que el color azul como una zona de poca densidad de electrones considerado como potencial positivo donde se espera que ocurra un ataque electrofílico [100].

El MEP de la **Figura 4.10** muestra los sitios de ataques nucleofílicos y electrofílicos de la molécula de la *curcumina* con una escala $-9.654 \times 10^{-2} eV$ a $9.654 \times 10^{-2} eV$. En esta imagen, los grupos funcionales con mayor ataque nucleofílico se puede apreciar los carbonilo, existiendo una mayor coloración a color rojo, siguiendo con los grupos funcionales metoxi a los que se le observa menor la coloración de color rojo. Mientras que los ataques electrofílicos ocurren en los enlaces O-H sobre ambos anillos aromáticos.

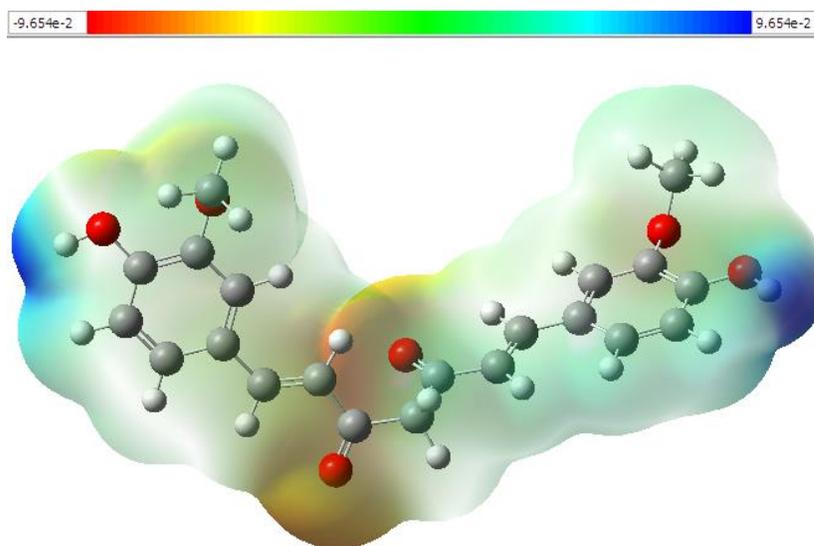


Figura 4.10. Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) de la *curcumina* calculado en agua con el modelo de solvatación IEF-PCM con el nivel de cálculo M06/6-31G(d).

El MEP de la *piperlongumina* se muestra en la **Figura 4.11**, la escala con la que se muestra es desde los $-6.117 \times 10^{-2} \text{ eV}$ hasta $6.117 \times 10^{-2} \text{ eV}$. Los principales sitios donde ocurren ataques nucleofílicos se pueden apreciar en el grupo funcional de los carbonilos de los enlaces ($C11 = O5$) y ($C10 = O4$). Otro sitio donde ocurren ataques nucleofílicos de menor intensidad ocurre en el grupo funcional metoxilo en los enlaces ($C18 - O1$), ($C19 - O2$) y ($C20 - O3$).

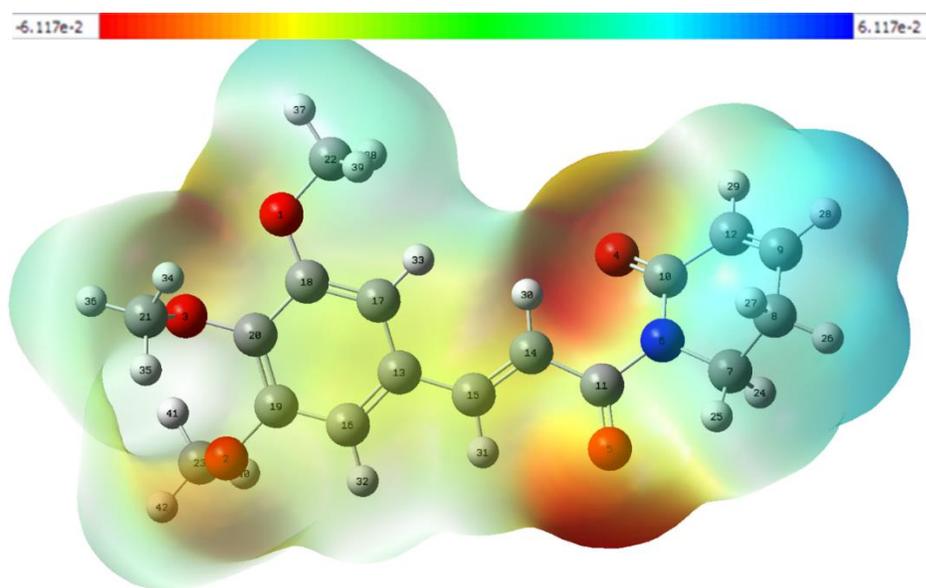


Figura 4.11. Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) de la *piperlongumina* calculado en agua con el modelo de solvatación IEF-PCM con el nivel de cálculo M06/6-31G(d).

El MEP que se muestra en la **Figura 4.12** muestra los ataques nucleofílicos y electrofílicos de la *timoquinona* con la escala desde los $-5.753 \times 10^{-2} eV$ hasta $5.753 \times 10^{-2} eV$. Solo en el grupo funcional del carbonilo, los cuales están en los enlaces ($C2 = O24$) y ($C5 = O23$) sobre el anillo aromático, mientras que la existencia de un ataque electrofílico se observa ligeramente en los enlaces metilos ($9CH_3$), ($15CH_3$) y ($19CH_3$).

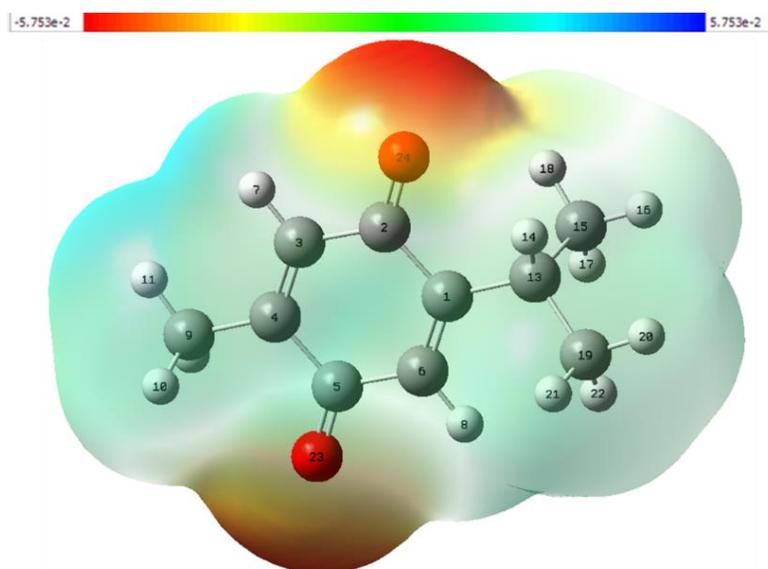


Figura 4.12. Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) de la *timoquinona* calculado en agua con el modelo de solvatación IEF-PCM con el nivel de cálculo M06/6-31G(d).

Por otro lado, el análisis de MEP nos indica las zonasceptoras y donadoras de hidrógeno en cada una de las moléculas naturales, en el caso de la curcumina tiene dos sitios aceptores y donadores de hidrógeno, en piperlongumina tres aceptores y cinco donadores de hidrógeno y finalmente la timoquinona tiene en su estructura dos donadores de hidrógeno. Permitiendo predecir cual sería la tendencia de la formación de enlaces de hidrógeno dentro del sitio activo TGF – β 2. Los cuales pueden verse afectados dependiendo del impedimento estérico que presenten las moléculas naturales en el sitio activo después del acoplamiento molecular.

4.2 Análisis conformacional de la macromolécula TGF- β 2 y los ligandos

4.2.1 Docking molecular

A partir de la metodología descrita en el apartado 3.2.2, el cálculo de un Docking molecular ciego fue fundamental para definir el sitio activo de la macromolécula. Este cálculo permitió conocer la energía de 10 conformaciones entre TGF- β 2-*curcumina*. mostradas en la Tabla 9.

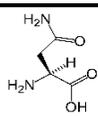
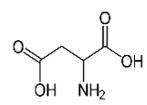
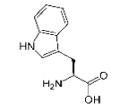
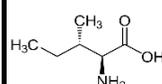
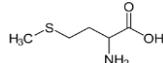
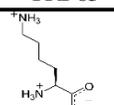
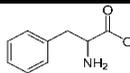
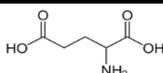
Tabla 9. Energías de las conformaciones obtenidas a través del cálculo de Docking ciego entre TGF- β 2 y *curcumina*.

Energía de afinidad de unión (Kcal/mol)	Conformación									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	-6.22	-5.96	-6.13	-5.36	-5.9	-5.88	-5.81	-5.81	-3.91	-3.85

AutoDock4.2

La conformación 1 es la de menor energía con -6.22 Kcal/mol. Esta conformación está compuesta por los aminoácidos del sitio activo ASN40, ASP39, LYS101, TRP65, MET100, LYS101, ILE99, PHE111, PHE126, GLU128. Estos pueden verse de forma ilustrativa en la **Tabla 10**.

Tabla 10. Aminoácidos del sitio activo de menor energía del caculo de Docking ciego de TGF- β 2 y *curcumina*.

Docking ciego			
Sitio activo			
ASN40, ASP39, LYS101,TRP65, MET100, ILE99, PHE126,GLU128	 ASN40	 ASP39	 TRP65
	 ILE99	 MET100	 LYS101
	 PHE126	 GLU128	

La superposición entre glicerol co-cristalizado y la *curcumina* se muestra en la **Figura 4.13**, la cual permite corroborar que el ligando se dirige al sitio activo de la macromolécula TGF- β 2. Por lo tanto, los aminoácidos del sitio activo del Docking ciego son considerados como los aminoácidos del sitio activo para el análisis del Docking rígido.

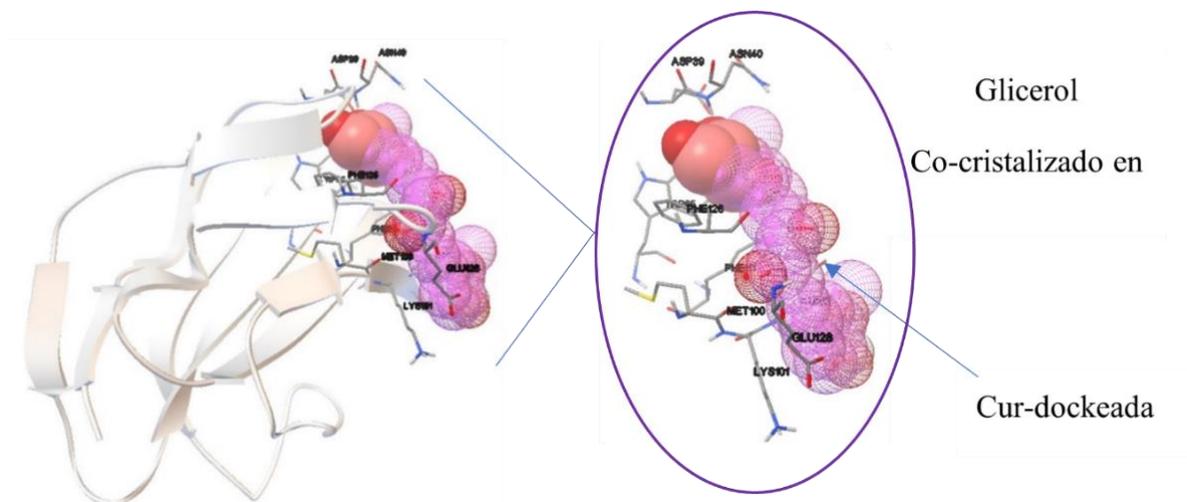


Figura 4.13. Superposición entre glicerol co-cristalizado y la *curcumina* que nos permite corroborar que nuestro ligando se dirige al sitio activo de la macromolécula TGF- β 2.

La determinación del sitio activo en el Docking ciego permitió definir, el grid (ver sección 3.2.2). que fue implementado para realizar los Docking rígidos con cada una de las moléculas naturales (*curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona*). El resultado de este cálculo se muestra en la **Tabla 11**, donde el valor de mínima energía de afinidad de unión en la *curcumina* es de 4.77 *Kcal/mol*. La *piperlongumina* de 5.1 *Kcal/mol* y de la *timoquinona* es de 5.03 *Kcal/mol*. Indicando este resultado que la afinidad de unión de las moléculas naturales decrece en el orden *piperlongumina* > *timoquinona* > *curcumina*.

Tabla 11. Energías de afinidad de unión de las conformaciones calculada a partir de un Docking rígido.

No. de conformación	Energía de afinidad de union (Kcal/mol)		
	<i>Curcumina</i>	<i>Piperlongumina</i>	<i>Timoquinona</i>
1	-4.77	-5.1	-5.03
2	-4.68	-5.1	-5
3	-4.59	-5.09	-4.97
4	-4.59	-4.98	-4.96
5	-4.18	-4.97	-5.03
6	-4.17	-4.87	-4.86
7	-3.5	-4.83	-4.88
8	-4.14	-4.81	-4.87
9	-4	-4.81	-4.86
10	-3.45	-4.78	-4.86

AutoDock4.2

Los aminoácidos que conforman el sitio activo de cada uno de los acoplamiento moleculares realizados se muestran en la **Tabla 12**. Se consideran a los aminoácidos del sitio activo en el Docking ciego como referencia para realizar un análisis comparativo con los resultados de los Docking rígidos realizados con cada molécula de origen natural. Se resaltan en negrita los aminoácidos de los sitios activos de los Docking rígidos que coinciden con los aminoácidos definidos en el sitio activo del Docking ciego, donde podemos observar que la *Curcumina*-TGF- β 2 tiene una coincidencia del 27% al igual que el *Piperlongumina*-TGF- β 2 y finalmente *Timoquinona*-TGF- β 2 con un 36%, cabe destacar que a pesar de tener un mayor porcentaje de aminoácidos del sitio activo que coinciden con el Docking ciego en el acoplamiento *Timoquinona*-TGF- β 2, este no tiene la mayor afinidad de unión, lo cual puede deberse al impedimento estérico que se generó dentro del sitio activo afectando así la afinidad de unión.

Tabla 12. Comparación del sitio activo del Docking molecular de la *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona* con el sitio activo del Docking ciego.

Aminoácidos del sitio activo en Docking ciego		Aminoácidos del sitio activo en Docking rígido	
<i>Curcumina</i> -TGF-β2	<i>Curcumina</i> -TGF-β2	<i>Piperlongumina</i> -TGF-β2	<i>Timoquinona</i> -TGF-β2
ASN40, ASP39, LYS101, TRP65, MET100, LYS101, ILE99, PHE111, PHE126, GLU128	GLU102, LYS101, MET100 , SER127, PHE126 , ASN40	GLU128 , SER127, MET100 , PHE126, GLN41, ASN40 , PHE111	ASP39 , ASN40 , GLN41, TRP65, PHE126 , PHE111

AutoDock4.2

4.2.2 Descripción del sitio activo

Los aminoácidos y los metabolitos que conforman el sitio activo de la macromolécula TGF-β2 con los ligandos *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona* están representados en la **Tabla 13**. En ella se puede observar que los aminoácidos que conforman el sitio activo del Docking molecular *curcumina*-TGF-β2 están conformados por 7 residuos, los cuales presentan uniones entre sí en una secuencia de proteínas (Met100-Lys101-Glu102) y (Phe126-Ser127-Glu128), la conformación del sitio activo en el Docking molecular *piperlongumina*-TGF-β2 se compone de 7 residuos y dos secuencias de proteínas (Phe126-Ser127-Glu128) y (Asn40-Gln41). El tercer Docking molecular *timoquinona*-TGF-β2 consta de 6 residuos y una secuencia de proteínas (Asp39-Asn40-Gln41).

Tabla 13. Aminoácidos y metabolitos que componen el sitio activo de la macromolécula TGF- β 2.

Aminoácidos del sitio activo en Docking rígido		
<i>Curcumina</i> -TGF- β 2	<i>Piperlongumina</i> -TGF- β 2	<i>Timoquinona</i> - TGF- β 2
Met100-Lys101-Glu102, Phe126-Ser127-Glu128, GLU102, LYS101, MET100 , SER127, PHE126 , ASN40	Phe126-Ser127-Glu128, Asn40-Gln41, GLU128 , SER127, MET100 , PHE126, GLN41, ASN40 , PHE111	Asp39-Asn40-Gln41, ASP39 , ASN40 , GLN41, TRP65, PHE126 , PHE111

AutoDock4.2

4.2.3 Reactividad química y descriptor de transferencia de carga del sitio activo

El cálculo de los parámetros de reactividad química de los acoplamientos moleculares en el sitio activo se muestra en la **Tabla 14**, en ella se puede ver que la energía de afinidad electrónica de los aminoácidos del sitio activo fluctúa de 0 – 1.76 eV, siendo el tripéptido Met100-Lys101-Glu102 presente en la *curcumina* quien tenga la mayor facilidad de formar una unión, en el caso del tripéptido Asp39-Asn40-Gln41 con 19.74 eV presente en la *Timoquinona* tiene la mayor facilidad de arrancar un electrón de su secuencia de aminoácidos. Los aminoácidos del sitio activo que tienen la mayor facilidad de modificar su estructura electrónica en presencia de las moléculas naturales son en el caso de la *curcumina* el Asn40 con 0.91 eV, en la *piperlongumina* el tripéptido Phe126-Ser127-Glu128 con 3.14eV y en la *Timoquinona* Trp65 con 7.43 eV. Mientras que en el tripéptido Asp39-Asn40-Gln41 presente en la *Timoquinona* con 10.33 eV en potencial químico y 5.66 eV en electrofilicidad tiene la mayor facilidad de aceptar o transferir electrones y la mejor estabilidad de aceptar electrones del entorno.

Tabla 14. Parámetros de reactividad química del sitio activo del receptor de la macromolécula TGF- β 2 con los ligandos *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona*.

Ligandos	Sitio activo	AE (eV)	I (eV)	η (eV)	$\mu=-\chi$ (eV)	ω (eV)
<i>Curcumina</i>	Met100-Lys101-Glu102	1.76	5.46	1.85	-3.61	3.53
	Phe126-Ser127-Glu128	0.56	6.45	2.95	3.5	3.53
	Asn40	0	1.81	0.91	-0.91	0.45
<i>Piperlongumina</i>	Met100	-1.13	6.33	3.73	2.6	0.91
	Phe111	-0.62	6.67	3.65	3.03	1.26
	Phe126-Ser127-Glu128	0.29	6.57	3.14	3.43	1.88
	Asn40-Gln41	-6.32	8.68	7.5	1.18	0.09
<i>Timoquinona</i>	Asp39-Asn40-Gln41	0.91	19.74	9.41	10.33	5.66
	Trp65	-0.51	14.35	7.43	6.92	3.22
	Phe126	-1.12	15.53	8.33	7.2	3.12
	Phe111	-1.02	16.2	8.61	7.59	3.35

Gaussian09

4.2.4 Descriptor de la transferencia de carga

Los descriptores de reactividad química mencionados anteriormente son parámetros intramoleculares, cuyos valores se calculan a partir de las propiedades electrónicas de la molécula. Para entender una reacción química a profundidad se debe también considerar un parámetro intermolecular que represente el número fraccionario de electrones transferidos de un sistema a otro. Este parámetro se llama transferencia de carga ΔN (Ecuación (13)). Este parámetro permite determinar el proceso oxido-reducción que se genera entre las moléculas de origen natural y los aminoácidos del sitio activo.

Estableciéndose la siguiente condición, si $\Delta N < 0$ el flujo de las cargas será del sistema A al sistema B, donde A actuaría como un donador de electrones. Mientras que si $\Delta N > 0$, el flujo de las cargas será del sistema B hacia el sistema A, actuando B como un donador de electrones, siendo el sistema A las moléculas naturales y el sistema B los aminoácidos del sitio activo.

El descriptor de transferencia de carga es una de las interacciones no covalentes que están presentes en los sistemas biológicos en un complejo macromolécula-ligando. En este caso, se puede observar en la **Tabla 15** que todos los valores de ΔN son positivos es decir que el flujo de electrones va de los aminoácidos del sitio activo hacia las moléculas de origen

natural. Como puede observarse en la Tabla 15, los valores de transferencia de carga (ΔN) son mayores para piperlongumina y menores para curcumina, por lo tanto, el proceso oxidativo decrece en el orden *piperlongumina*>*timoquinona*>*curcumina*. De acuerdo con este parámetro, se puede predecir un mejor funcionamiento de la piperlongumina como un agente inhibidor a la sobreexpresión de la citocina TGF- β 2.

Tabla 15. Valores de transferencia de carga (ΔN) calculados en el Docking molecular entre los ligandos *curcumina*, *piperlongumina* y *timoquinona* con la macromolécula TGF- β 2.

Ligandos	Secuencia de aminoácidos	ΔN
<i>Curcumina</i>	Met100-Lys101-Glu102	0.060
	Phe126-Ser127-Glu128	0.772
	Asn40	0.551
<i>Piperlongumina</i>	Met100	0.595
	Phe111	0.641
	Phe126-Ser127-Glu128	0.742
	Asn40-Gln41	0.285
<i>Timoquinona</i>	Asp39-Asn40-Gln41	0.689
	Trp65	0.653
	Phe126	0.610
	Phe111	0.612

Gaussian09

4.2.5 Enlaces de hidrógeno

Adicionalmente se realizó el análisis de los enlaces de hidrógeno que se obtuvieron entre el sitio activo la macromolécula del TGF- β 2 y los ligandos. La *curcumina* es uno de los ligandos que tuvo mejores resultados. En la **Figura 4.14** se puede observar la interacción que ocurre en la simulación de acoplamiento *curcumina*-TGF- β 2, la cual parece acoplarse al sitio activo en una forma extendida. Esta molécula tiene dos anillos fenilos, donde en uno de ellos se presenta un enlace de hidrógeno (NH----O) entre el grupo donador -NH del residuo ASN40 y el grupo aceptor (-O-) de la Cur.

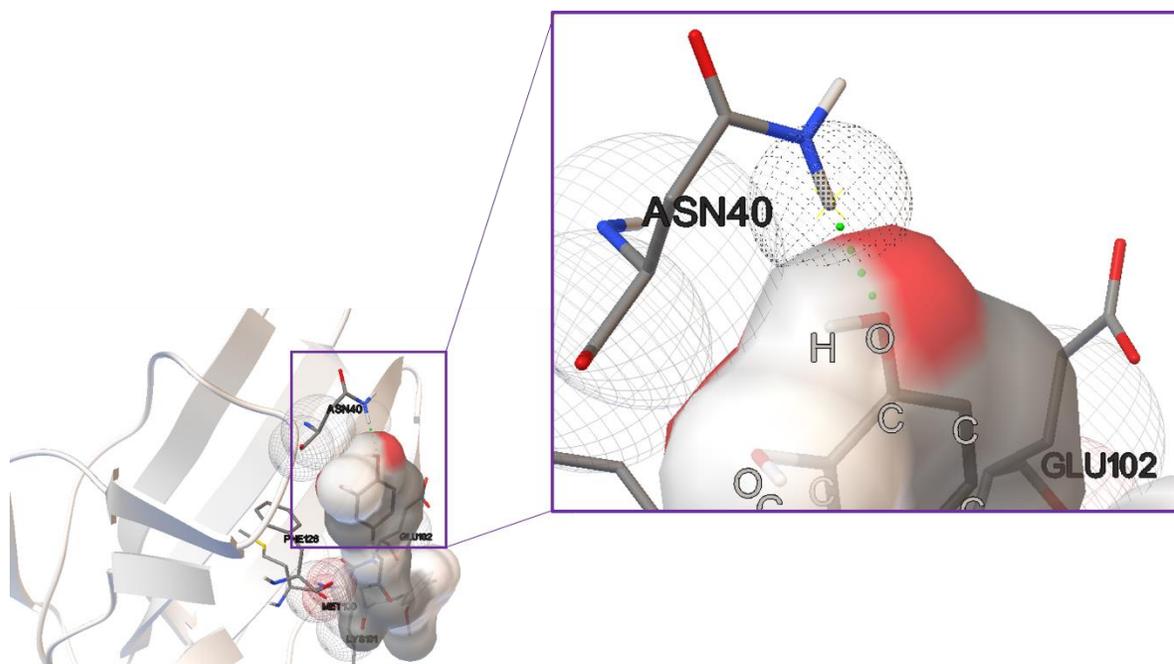


Figura 4.14. Enlaces de hidrógeno de sitio activo de la macromolécula al ligando. Sitio activo de TGF- β 2 – *Curcumina*.

En la **Figura 4.15** se puede observar la interacción que ocurre en la simulación de acoplamiento *piperlongumina*-TGF- β 2. Esta molécula tiene un anillo fenilo, donde se presenta un enlace de hidrógeno (NH----O) entre el grupo donador -NH del dipéptido LYS101-GLU102 y el grupo aceptor (-O-) de la *piperlongumina*.

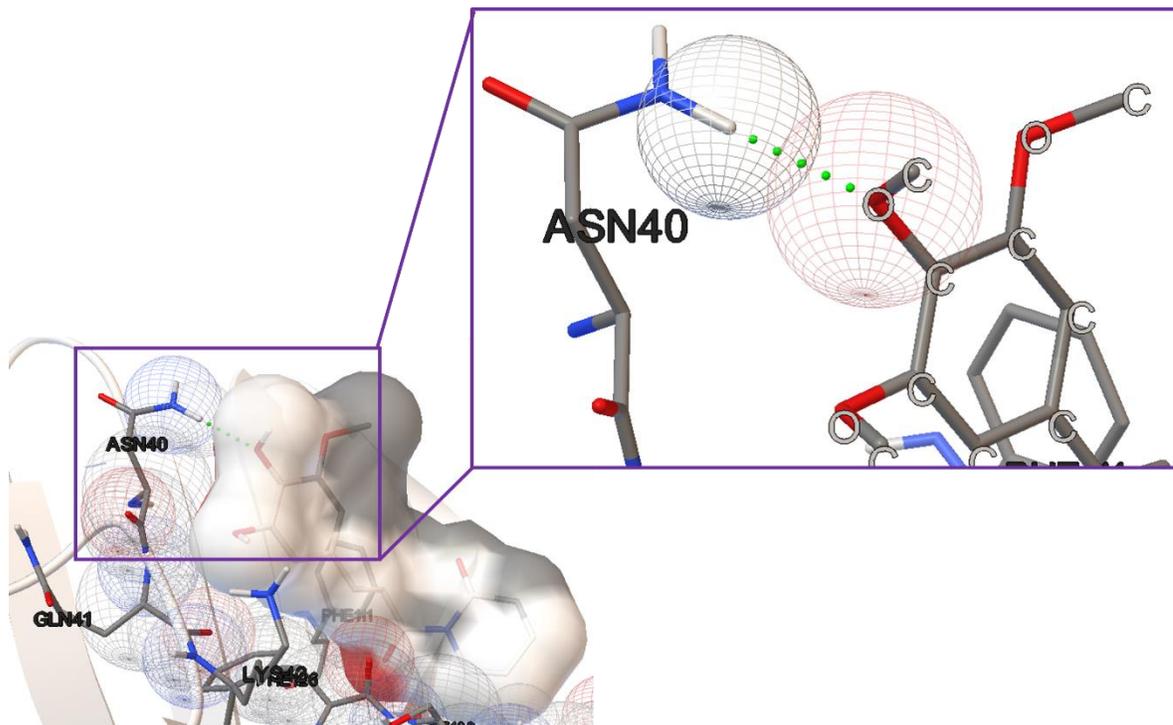


Figura 4.15. Enlaces de hidrógeno de sitio activo de la macromolécula al ligando. Sitio activo de TGF- β 2 – *piperlongumina*.

A diferencia del resultado de Docking molecular de TGF- β 2-*timoquinona* que se muestra en la **Figura 4.16**, en ella no se presenta ningún enlace de hidrógeno, pero se presentan dos enlaces hidrofóbicos en la cadena de enlaces ASP39-ASN40-GLN41 con un grupo funcional carbonilo, otro enlace hidrofóbico está en el enlace TRP65 con el segundo grupo funcional carbonilo.

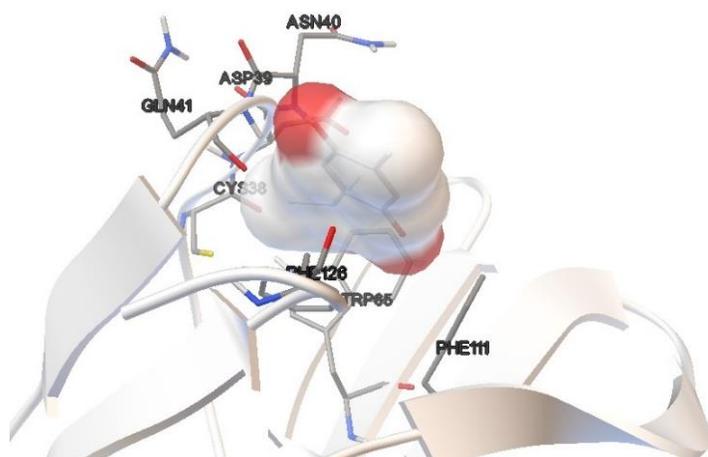


Figura 4.16. Enlaces de hidrógeno de sitio activo de la macromolécula al ligando. Sitio activo de TGF- β 2 – *timoquinona*.

La regla de cinco de Lipinsky [101] se cumple en las simulaciones de acoplamiento *curcumina*-TGF- β 2 y *piperlongumina*-TGF- β 2. Esta regla establece que un fármaco debe de tener cinco o menos enlaces de hidrógeno para ser fácilmente absorbido por el cuerpo, por lo tanto, la *curcumina* y la *piperlongumina* cumplen con su función farmacológica.

5 CONCLUSIONES

Los cuatro funcionales de la densidad, en combinación con el conjunto base 6-31G(d), presentaron buenos resultados de geometría molecular siendo muy cercanos a los valores experimentales reportados, teniendo una correlación mayor al 90%. Los resultados de mayor precisión fueron obtenidos con M06-2X, sin embargo, las diferencias de los datos obtenidos con los otros funcionales no son significativas. No obstante, se decidió seleccionar el funcional de la densidad M06, ya que es un funcional meta-GGA que contempla la cuantificación de la energía cinética y que ha sido reportado recientemente en los cálculos de farmacóforos.

El estudio de los parámetros de reactividad química tiene como objetivo hacer interpretaciones físicas en las moléculas. Con este parámetro, se observó que la *timoquinona* tiene mayor afinidad electrónica, potencial de ionización, electronegatividad, potencial químico, dureza química e índice de electrofilicidad. Lo que conlleva a ser una molécula con mayor dificultad aceptando y donando electrones en comparación con la *curcumina* y la *piperlongumina*. También se estudió el MEP que demostraba los posibles ataques nucleofílicos y electrofílicos a lo largo de cada una de las moléculas de origen natural, así como los orbitales moleculares HOMO y LUMO que permitieron conocer las regionesceptoras y donadoras de electrones en la molécula.

El Docking ciego permitió definir el sitio activo de la macromolécula TGF- β 2, el cual está conformado por 10 aminoácidos, con grupo R aromático (PHE111, PHE126, TRP65), grupo polar R sin carga (ASN40), grupos R con carga positiva (LYS101), grupos R con carga negativa (GLU128, ASP39), grupos R alifáticos no polares (MET100, ILE99).

Al verificar las interacciones de los ligandos estudiados se encontró que la conformación más estable en cada uno de los acoplamientos fue *curcumina*-TGF- β 2, *piperlongumina*-TGF- β 2 y *timoquinona*-TGF- β 2 son -4.77 kcal/mol, -5.1 kcal/mol y -5.03 kcal/mol, respectivamente. Reportándose las afinidades de unión ligando-macromolécula donde el acoplamiento molecular *curcumina*-TGF- β 2 tiene una coincidencia entre el Docking ciego y rígido es del 27% al igual que el Docking molecular *piperlongumina*-TGF- β 2. Finalmente, el

acoplamiento *timoquinona*-TGF- β 2 tiene una coincidencia de un 36% entre el Docking ciego y rígido.

Estos acoplamientos moleculares permitieron conocer el descriptor de transferencia de carga, estos valores fueron siempre positivos, por lo que el flujo de electrones va de los aminoácidos del sitio activo hacia las moléculas de origen natural. Determinando que el proceso oxidativo decrece en el orden *piperlongumina*>*timoquinona*>*curcumina*. Este parámetro permite predecir un mejor funcionamiento de la *piperlongumina* como un agente inhibidor a la sobreexpresión de la citocina TGF- β 2.

De los tres acoplamientos estudiados, solamente 2 de ellos formaron enlaces de puente de hidrógeno: *curcumina*-TGF- β 2 y *piperlongumina*-TGF- β 2, y de acuerdo con la regla de Lipinsky, la *curcumina* y la *piperlongumina* tendrán una buena absorción y permeabilidad. Por lo tanto, se puede sugerir que tanto *piperlongumina* como *curcumina* son una opción potencial para inhibir la sobreexpresión del TGF- β 2 como coadyuvantes al tratamiento del cáncer de colon.

6 BIBLIOGRAFÍA

- [1] A. Al Sheikh Ali *et al.* “Design, Synthesis, Molecular Modeling, Anticancer Studies, and Density Functional Theory Calculations of 4-(1,2,4-Triazol-3-ylsulfanylmethyl)-1,2,3-triazole Derivatives”. *ACS Omega*. 6(1) 301–316, 2021.
- [2] K. M. Nelson, J. L. Dahlin, J. Bisson, J. Graham, G. F. Pauli, y M. A. Walters. “The Essential Medicinal Chemistry of Curcumin”. *J. Med. Chem.* 60(5) 1620–1637, 2017.
- [3] S. K. Tripathi y B. K. Biswal. “Piperlongumine , a potent anticancer phytotherapeutic : Perspectives on contemporary status and future possibilities as an anticancer agent”. *Pharmacol. Res.* 156(March) 104772, 2020.
- [4] A. G. M. Mostofa, M. K. Hossain, D. Basak, y M. S. Bin Sayeed. “Thymoquinone as a potential adjuvant therapy for cancer treatment: Evidence from preclinical studies”. *Front. Pharmacol.* 8(JUN)2017.
- [5] Y. Itatani, K. Kawada, y Y. Sakai. “Transforming growth factor- β signaling pathway in colorectal cancer and its tumor microenvironment”. *Int. J. Mol. Sci.* 20(23)2019.
- [6] A. P. R. Povinelli, G. Zazeri, A. M. Jones, y M. L. Cornélio. “Unravelling the interaction of piperlongumine with the nucleotide-binding domain of hsp70: A spectroscopic and in silico study”. *Pharmaceuticals*. 14(12)2021.
- [7] D. G. Power, E. Gloglowski, y S. M. Lipkin. “Clinical genetics of hereditary colorectal cancer”. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* 24(5) 837–859, 2010.
- [8] S. Kumar y N. Agnihotri. “Piperlongumine, a piper alkaloid targets Ras/PI3K/Akt/mTOR signaling axis to inhibit tumor cell growth and proliferation in DMH/DSS induced experimental colon cancer”. *Biomed. Pharmacother.* 109(October 2018) 1462–1477, 2019.
- [9] B. Prasher, G. Gibson, y M. Mukerji. “Genomic insights into ayurvedic and western approaches to personalized medicine”. *J. Genet.* 95(1) 209–228, 2016.
- [10] R. Kuttan, P. Bhanumathy, K. Nirmala, y M. C. George. “Potential anticancer activity of turmeric (*Curcuma longa*)”. *Cancer Lett.* 29(2) 197–202, 1985.
- [11] E. S. Sunila y G. Kuttan. “Immunomodulatory and antitumor activity of Piper longum Linn. and piperine”. *J. Ethnopharmacol.* 90(2–3) 339–346, 2004.
- [12] S. Rajput y M. Mandal. “Antitumor promoting potential of selected phytochemicals derived from spices: A review”. *Eur. J. Cancer Prev.* 21(2) 205–215, 2012.
- [13] Z. Gholamnezhad, S. Havakhah, y M. H. Boskabady. “*Preclinical and clinical effects of Nigella sativa and its constituent, thymoquinone: A review*”. 190Elsevier. 372–386, 2016. doi: 10.1016/j.jep.2016.06.061.
- [14] F. Kung *et al.* “Piperlongumine, a Potent Anticancer Phytotherapeutic, Induces Cell

- Cycle Arrest and Apoptosis In Vitro and In Vivo through the ROS/Akt Pathway in Human Thyroid Cancer Cells”. *Cancers (Basel)*. 13(17) 4266, 2021.
- [15] M. A. Khan, M. Tania, S. Fu, y J. Fu. “Thymoquinone, as an anticancer molecule: From basic research to clinical investigation”. *Oncotarget*. 8(31) 51907–51919, 2017.
- [16] R. Schneider-Stock, I. H. Fakhoury, A. M. Zaki, C. O. El-Baba, y H. U. Gali-Muhtasib. “Thymoquinone: Fifty years of success in the battle against cancer models”. *Drug Discov. Today*. 19(1) 18–30, 2014.
- [17] X. Fan *et al.* “Curcumin may be a potential adjuvant treatment drug for colon cancer by targeting CD44”. *Int. Immunopharmacol.* 88(December 2019) 106991, 2020.
- [18] Y. Yi, B. Adrijan, J. Li, B. Hu, y S. Roszak. “NMR studies of daidzein and puerarin: active anti-oxidants in traditional Chinese medicine”. *J. Mol. Model.* 25(7)2019.
- [19] T. Henrique *et al.* “Biological and physical approaches on the role of piperlongumine (piperlongumine) in cancer”. *Sci. Rep.* 10(1) 1–14, 2020.
- [20] J. Gaedeke, N. A. Noble, y W. A. Border. “Curcumin blocks multiple sites of the TGF- β signaling cascade in renal cells”. *Kidney Int.* 66(1) 112–120, 2004.
- [21] A. C. Bharti, N. Donato, y B. B. Aggarwal. “Curcumin (Diferuloylmethane) Inhibits Constitutive and IL-6-Inducible STAT3 Phosphorylation in Human Multiple Myeloma Cells”. *J. Immunol.* 171(7) 3863–3871, 2003.
- [22] M. R. Sohilait, H. D. Pranowo, y W. Haryadi. “Molecular docking analysis of curcumin analogues with COX-2”. *Bioinformation.* 13(11) 356–359, 2017.
- [23] T. Vasanthkumar, M. Hanumanthappa, y R. Lakshminarayana. “Curcumin and capsaicin modulates LPS induced expression of COX-2, IL-6 and TGF- β in human peripheral blood mononuclear cells”. *Cytotechnology.* 71(5) 963–976, 2019.
- [24] M. J. Ahsan *et al.* “Synthesis, DFT Analyses, Antiproliferative Activity, and Molecular Docking Studies of Curcumin Analogues”. *Plants.* 11(21) 1–18, 2022.
- [25] S. A. Ejaz, M. Aziz, M. Fawzy Ramadan, A. Fayyaz, y M. S. Bilal. “Pharmacophore-Based Virtual Screening and In-Silico Explorations of Biomolecules (Curcumin Derivatives) of *Curcuma longa* as Potential Lead Inhibitors of ERBB and VEGFR-2 for the Treatment of Colorectal Cancer”. *Molecules.* 28(10)2023.
- [26] D. Parama *et al.* “The promising potential of piperlongumine as an emerging therapeutics for cancer”. *Explor. Target. Anti-tumor Ther.* 2(4) 323–354, 2021.
- [27] M. Naithani, K. Ashish, y S. Ambika. “Molecular docking analysis of piperlongumine with different apoptotic proteins involved in Hepatocellular Carcinoma”. *Bioinformation.* 17(9) 829–833, 2021.
- [28] L. Zhou *et al.* “Piperlonguminine attenuates renal fibrosis by inhibiting TRPC6”. *J. Ethnopharmacol.* 313(April) 116561, 2023.
- [29] B. Kou *et al.* “Thymoquinone inhibits epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer cells by negatively regulating the TGF- β /Smad2/3 signaling pathway”. *Oncol.*

- Rep.* 38(6) 3592–3598, 2017.
- [30] J. Ansary *et al.* “Nutritional value and preventive role of nigella sativa l. And its main component thymoquinone in cancer: An evidenced-based review of preclinical and clinical studies”. *Molecules*. 26(8) 1–27, 2021.
- [31] J. Hossen, T. K. Pal, y T. Hasan. “Theoretical investigations on the antioxidant potential of 2,4,5-trihydroxybutyrophenone in different solvents: A DFT approach”. *Results Chem.* 42022.
- [32] V. R. Silva, L. de S. Santos, R. B. Dias, C. A. Quadros, y D. P. Bezerra. “Emerging agents that target signaling pathways to eradicate colorectal cancer stem cells”. *Cancer Commun.* 41(12) 1275–1313, 2021.
- [33] M. R. Wojciech Pawlina. “*Histología: Texto Y Atlas*”. 7 ed. 1052, 2016.
- [34] L. Torrecillas-Torres *et al.* “Recommendations for diagnosis and treatment of colon and rectal cancer in Mexico”. *Gac. Mex. Oncol.* 18(4) 265–332, 2019.
- [35] D. Parés, M. Pera, S. González, M. Pascual Cruz, y I. Blanco. “Poliposis adenomatosa familiar”. *Gastroenterol. Hepatol.* 29(10) 625–635, 2006.
- [36] R. S. MacDonald y K. Wagner. “Influence of dietary phytochemicals and microbiota on colon cancer risk”. *J. Agric. Food Chem.* 60(27) 6728–6735, 2012.
- [37] J. Cheng *et al.* “Meta-analysis of prospective cohort studies of cigarette smoking and the incidence of colon and rectal cancers”. *Eur. J. Cancer Prev.* 24(1) 6–15, 2015.
- [38] A. G. Atanasov *et al.* “Natural products in drug discovery: advances and opportunities”. *Nat. Rev. Drug Discov.* 20(3) 200–216, 2021.
- [39] Y. K. Mahmoud y H. M. A. Abdelrazek. “Cancer: Thymoquinone antioxidant/pro-oxidant effect as potential anticancer remedy”. *Biomed. Pharmacother.* 115(November 2018)2019.
- [40] W. Ye, Q. Huang, T. Tang, y G. Qin. “Synergistic effects of piperlongumine and gemcitabine against KRAS mutant lung cancer”. *Tumori.* 107(2) 119–124, 2021.
- [41] T. Feng, Y. Wei, R. J. Lee, y L. Zhao. “Liposomal curcumin and its application in cancer Physical property”. *Int. J. Nanomedicine.* 12 6027–6044, 2017.
- [42] A. Unlu, E. Nayir, M. D. Kalenderoglu, O. Kirca, y M. Ozdogan. “Curcumin (Turmeric) and cancer”. 21(5) 1050–1060, 2016.
- [43] A. K. Panda, D. Chakraborty, I. Sarkar, T. Khan, y G. Sa. “New insights into therapeutic activity and anticancer properties of curcumin”. *J. Exp. Pharmacol.* 9 31–45, 2017.
- [44] M. Hatamipour, M. Ramezani, S. A. S. Tabassi, T. P. Johnston, y A. Sahebkar. “Demethoxycurcumin: A naturally occurring curcumin analogue for treating non-cancerous diseases”. *J. Cell. Physiol.* 234(11) 19320–19330, 2019.
- [45] J. Zhang, Y. Yang, H. Han, L. Zhang, y T. Wang. “Bisdemethoxycurcumin Protects

- Small Intestine from Lipopolysaccharide-Induced Mitochondrial Dysfunction via Activating Mitochondrial Antioxidant Systems and Mitochondrial Biogenesis in Broiler Chickens”. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2021/2021.
- [46] F. Jin *et al.* “Bisdemethoxycurcumin attenuates cisplatin-induced renal injury through anti-apoptosis, anti-oxidant and anti-inflammatory”. *Eur. J. Pharmacol.* 874(September 2019) 173026, 2020.
- [47] B. Xiao *et al.* “Hyaluronic acid-functionalized polymeric nanoparticles for colon cancer-targeted combination chemotherapy”. *Nanoscale.* 7(42) 17745–17755, 2015.
- [48] W. C. Chen *et al.* “Curcumin suppresses doxorubicin-induced epithelial-mesenchymal transition via the inhibition of TGF- β and PI3K/AKT signaling pathways in triple-negative breast cancer cells”. *J. Agric. Food Chem.* 61(48) 11817–11824, 2013.
- [49] C. S. Divya y M. R. Pillai. “Antitumor Action of Curcumin in Human Papillomavirus Associated Cells Involves Downregulation of Viral Oncogenes , Prevention of NF κ B and AP-1 Translocation , and Modulation of Apoptosis”. 332(April 2005) 320–332, 2006.
- [50] A. Chatterjee y C. P. Dutta. “Alkaloids of Piper longum Linn-I. Structure and synthesis of piperlongumine and piperlonguminine”. *Tetrahedron.* 23(4) 1769–1781, 1967.
- [51] K. Piska, A. Gunia-Krzyżak, P. Koczurkiewicz, K. Wójcik-Pszczola, y E. Pękala. “Piperlongumine (piplartine) as a lead compound for anticancer agents – Synthesis and properties of analogues: A mini-review”. *Eur. J. Med. Chem.* 156 13–20, 2018.
- [52] M. A. Khan, H. C. Chen, M. Tania, y D. Z. Zhang. “Anticancer activities of Nigella sativa (Black Cumin)”. *African J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 8(5 SUPPL.) 226–232, 2011.
- [53] M. Imran *et al.* “Thymoquinone: A novel strategy to combat cancer: A review”. *Biomed. Pharmacother.* 106(June) 390–402, 2018.
- [54] L. Zhang, Y. Bai, y Y. Yang. “Thymoquinone chemosensitizes colon cancer cells through inhibition of NF- κ B”. *Oncol. Lett.* 12(4) 2840–2845, 2016.
- [55] A. H. L. y S. P. Abul K. Abbas. “*Inmunología celular y molecular*”. 8 ed. Barcelona. 600, 2015.
- [56] S. E. Wilson. “TGF beta -1, -2 and -3 in the modulation of fibrosis in the cornea and other organs”. *Exp. Eye Res.* 207(April) 108594, 2021.
- [57] A. Chaudhury y P. H. Howe. “The tale of transforming growth factor-beta (TGF β) signaling: A soigné enigma”. *IUBMB Life.* 61(10) 929–939, 2009.
- [58] Y. Xiao, Li; Du. “TGF-beta 1 induced fibroblast proliferation is mediated by the FGF-2/ERK pathway”. *Front. Biosci.* 17(7) 2667, 2012.
- [59] J. Kaartinen, V., Voncken, J. W., Shuler, C., Warburton, D., Bu, D., Heisterkamp, N., & Groffen. “Abnormal lung development and cleft palate in mice lacking TGF- β 3 indicates defects of epithelial–mesenchymal interaction”. *Nat. Genet.* 11(4) 415–421,

- 1995.
- [60] S. Haque y J. C. Morris. “Transforming growth factor- β : A therapeutic target for cancer”. *Hum. Vaccines Immunother.* 13(8) 1741–1750, 2017.
 - [61] J. S. O’Donnell, M. W. L. Teng, y M. J. Smyth. “Cancer immunoediting and resistance to T cell-based immunotherapy”. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 16(3) 151–167, 2019.
 - [62] B. Xu, Yanfei; Pasche. “TGF- β signaling alterations and susceptibility to colorectal cancer”. *Hum. Mol. Genet.* 16(2) 14–20, 2007.
 - [63] R. J. BOUDREAU y S. M. . EFANGE. “Computer-Aided Radiopharmaceutical Design”. *Invest. Radiol.* 27(8) 653–658, 1992.
 - [64] D. Pfau, J. S. Spencer, A. G. D. G. Matthews, y W. M. C. Foulkes. “Ab initio solution of the many-electron Schrödinger equation with deep neural networks”. *Phys. Rev. Res.* 2(3)2020.
 - [65] W. Thiel. “Semiempirical quantum-chemical methods”. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* 4(2) 145–157, 2014.
 - [66] L. J. Kohn, W., & Sham. “Equations, Self-consistent Effects, Correlation”. 385(1951)1965.
 - [67] A. Garritz. “History of quantum chemistry”. *Educ. Quim.* 25(E1) 170–175, 2014.
 - [68] P. Hohenberg y W. Kohn. “Inhomogeneous Electron Gas”. *Phys. Rev.* 136(3B) B864–B871, 1964.
 - [69] E. Shakerzadeh. “*Theoretical investigations of interactions between boron nitride nanotubes and drugs*”. Elsevier Inc. 59–77, 2016. doi: 10.1016/B978-0-323-38945-7.00004-3.
 - [70] J. P. Perdew, K. Burke, y M. Ernzerhof. “Generalized gradient approximation made simple”. *Phys. Rev. Lett.* 77(18) 3865–3868, 1996.
 - [71] J. P. Perdew y L. A. Constantin. “Laplacian-level density functionals for the kinetic energy density and exchange-correlation energy”. *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.* 75(15) 1–9, 2007.
 - [72] J. C. Slater. “Atomic shielding constants”. *Phys. Rev.* 36(1) 57–64, 1930.
 - [73] I. N. Levine. “*Química Cuántica*”. 5 ed. Prentice Hall. Brooklyn, Nueva York. 736, 2001.
 - [74] S. F. Boys y P. R. S. L. A. “Electronic wave functions - I. A general method of calculation for the stationary states of any molecular system”. *Proc. R. Soc. London. Ser. A. Math. Phys. Sci.* 200(1063) 542–554, 1950.
 - [75] K. I. Ramachandran, G. Deepa, y K. Namboori. “Computational chemistry and molecular modeling: Principles and applications”. *Comput. Chem. Mol. Model. Princ. Appl.* 1–397, 2008.
 - [76] I. J. Bruno *et al.* “Retrieval of crystallographically-derived molecular geometry

- information”. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 44(6) 2133–2144, 2004.
- [77] J. A. V. Donald L. Pavia, Gary M. Lampman, George S. Kriz. “*Introduction to spectroscopy*”. Bellingham, Washington. 752, 2008. doi: 10.1520/stp37187s.
- [78] T. K. Ghanty y S. K. Ghosh. “A new electronegativity based approach to the calculation of partial atomic charges and other related reactivity indices in molecules”. 2161992.
- [79] F. T. Said F. Figueredo, Manuel S. Páeza Torres. “Índices de poder electrofílico global y local para el estudio teórico de la reactividad química: Aplicación a derivados carbonilo α,β -insaturados”. *Quim. Nov.* XY(00) 1–10, 2017.
- [80] R. G. Parr y R. G. Pearson. “Absolute Hardness : Companion Parameter to Absolute Electronegativity”. 7512–7516, 1983.
- [81] R. G. Parr y S. L. Hill, Szentpály, Von László. “Electrophilicity Index”. (10) 1922–1924, 1999.
- [82] J. Padmanabhan, R. Parthasarathi, V. Subramanian, y P. K. Chattaraj. “Electrophilicity-based charge transfer descriptor”. *J. Phys. Chem. A.* 111(7) 1358–1361, 2007.
- [83] L. H. S. Santos, R. S. Ferreira, y E. R. Caffarena. “Integrating molecular docking and molecular dynamics simulations”. *Methods Mol. Biol.* 2053 13–34, 2019.
- [84] L. G. Ferreira, R. N. Dos Santos, G. Oliva, y A. D. Andricopulo. “*Molecular docking and structure-based drug design strategies*”. 20(7)13384–13421, 2015. doi: 10.3390/molecules200713384.
- [85] O. Trott y A. J. Olson. “AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading”. *J. Comput. Chem.* 31(2) NA-NA, 2009.
- [86] M. Rarey, B. Kramer, T. Lengauer, y G. Klebe. “A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm”. *J. Mol. Biol.* 261(3) 470–489, 1996.
- [87] A. Allouche. “Software News and Updates Gabedit — A Graphical User Interface for Computational Chemistry Softwares”. *J. Comput. Chem.* 32 174–182, 2012.
- [88] G. M. Morris *et al.* “Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function”. *J. Comput. Chem.* 19(14) 1639–1662, 1998.
- [89] M. Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., Cui. “Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. Current Computer-Aided Drug Design.” *Curr. Comput. Aid. Dru. Des.* 7(2) 146–157, 2011.
- [90] P. Jofily, P. G. Pascutti, y P. H. M. Torres. “Improving blind docking in DOCK6 through an automated preliminary fragment probing strategy”. *Molecules.* 26(5)2021.
- [91] D. Ghersi y R. Sanchez. “Improving accuracy and efficiency of blind protein-ligand docking by focusing on predicted binding sites”. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* 74(2) 417–424, 2009.

- [92] J. K. Gagnon, S. M. Law, y C. L. Brooks. “Flexible CDOCKER: Development and application of a pseudo-explicit structure-based docking method within CHARMM”. *J. Comput. Chem.* 37(8) 753–762, 2016.
- [93] R. Dias y W. de Azevedo Jr. “Molecular Docking Algorithms”. *Curr. Drug Targets.* 9(12) 1040–1047, 2008.
- [94] C. F. Wong. “Flexible receptor docking for drug discovery”. *Expert Opin. Drug Discov.* 10(11) 1189–1200, 2015.
- [95] A. R. Parameswari, B. Devipriya, S. J. Jenniefer, P. T. Muthiah, y P. Kumaradhas. “Low temperature crystal structure of 5-hydroxy-1,7-bis-(4-hydroxy-3-Methoxyphenyl)-hepta-1,6-dien-3-one”. *J. Chem. Crystallogr.* 42(3) 227–231, 2012.
- [96] C. C. Boesen, S. Radaev, S. A. Motyka, A. Patamawenu, y P. D. Sun. “The 1.1 Å crystal structure of human TGF-β type II receptor ligand binding domain”. *Structure.* 10(7) 913–919, 2002.
- [97] T. Banerjee y S. Chaudhuri. “The crystal and molecular structure of N -(3,4,5-trimethoxycinnamoyl)-Δ³-piperidine-2-one, an amide alkaloid (piperlongumine), C₁₇H₁₉NO₅”. *Can. J. Chem.* 64(5) 876–880, 1986.
- [98] S. Bhoshale, Mrinalini; Jamadar, Abeda; Padhye. ““X-Ray Crystal structure of Aminothymoquinone and its Interaction with Human Serum Albumin at physiological Conditions””. *Biomed. J. Sci. Tech. Res.* 38(3) 30288–30296, 2021.
- [99] J. C. Cruz, R. Hernández-Esparza, Á. Vázquez-Mayagoitia, R. Vargas, y J. Garza. “Implementation of the Molecular Electrostatic Potential over Graphics Processing Units”. *J. Chem. Inf. Model.* 59(7) 3120–3127, 2019.
- [100] P. Sjoberg y P. Politzer. “Use of the electrostatic potential at the molecular surface to interpret and predict nucleophilic processes”. *J. Phys. Chem.* 94(10) 3959–3961, 1990.
- [101] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, y P. J. Feeney. “Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings”. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64(SUPPL.) 4–17, 2012.

7 Anexo A

Parámetros geométricos de *curcumina* en solvente agua

Tabla 16. Distancias de enlace de los parámetros geométricos de la *curcumina* obtenidos teóricamente en fase agua con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales.

Distancia de enlace	Funcional/conjunto base 6-31 G(d)				Referencia experimental
	Fase agua				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
C21-C25	1.473	1.469	1.466	1.477	1.445
C24-C20	1.473	1.469	1.467	1.479	1.464
C17-C25	1.353	1.349	1.348	1.344	1.342
C24-C16	1.353	1.349	1.347	1.343	1.341
C21-C9	1.532	1.522	1.518	1.523	1.376
C9-C20	1.524	1.515	1.512	1.517	1.419
C20-O5	1.230	1.225	1.224	1.220	1.277
C8-C17	1.455	1.451	1.449	1.460	1.459
C16-C7	1.455	1.451	1.449	1.461	1.456
C17-C25	1.353	1.349	1.348	1.344	1.342
C16-C24	1.353	1.349	1.347	1.343	1.341
C24-C20	1.473	1.469	1.467	1.479	1.464
C21-O6	1.230	1.225	1.225	1.221	1.335
Correlación (r)	0.80	0.81	0.81	0.83	

Tabla 17. Ángulos de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en fase agua con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros de la *curcumina*.

Ángulos de enlace	Funcional/conjunto base 6-31 G(d)				Referencia experimental
	Fase agua				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
C13-O2-C27	115.10	114.49	113.69	113.47	116.10
C12-O1-C26	115.13	114.47	113.69	113.46	115.80
O6-C21-C9	120.90	121.19	121.28	121.06	121.70
O6-C21-C25	123.37	123.29	123.54	123.14	116.80
O5-C20-C24	123.13	123.05	123.22	122.87	120.30
O5-C20-C9	120.25	120.32	120.48	120.68	120.80
C21-C9-C20	112.68	112.92	112.78	111.97	121.60
Correlación(r)	0.15	0.23	0.27	0.26	

Parámetros geométricos de *piperlongumina* en solvente agua

Tabla 18. Comparación de distancias de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en fase agua con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales de la *piperlongumina*.

Distancias de enlace	Funcional/conjunto base 6-31 G(d)				Referencia experimental
	Solvente agua				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
N6-C10	1.406	1.398	1.402	1.400	1.401
N6-C7	1.482	1.470	1.473	1.474	1.486
C10-C12	1.479	1.475	1.472	1.481	1.454
C10-O4	1.229	1.224	1.222	1.220	1.216
C12-C9	1.340	1.338	1.337	1.335	1.324
C9-C8	1.499	1.492	1.490	1.499	1.481
N6-C11	1.415	1.406	1.409	1.406	1.398
C11-O5	1.231	1.226	1.223	1.221	1.218
C11-C14	1.476	1.472	1.470	1.482	1.476
C14-C15	1.349	1.346	1.344	1.341	1.306
C15-C13	1.462	1.457	1.456	1.466	1.472
C13-C17	1.411	1.406	1.405	1.405	1.397
C17-C18	1.393	1.390	1.389	1.391	1.376
C18-O1	1.361	1.351	1.351	1.354	1.370
O1-C22	1.427	1.416	1.414	1.418	1.425
C18-C20	1.416	1.412	1.410	1.410	1.387
C20-C19	1.400	1.398	1.394	1.394	1.396
C20-O3	1.372	1.363	1.363	1.366	1.381
O3-C21	1.437	1.427	1.422	1.429	1.420
C19-O2	1.375	1.367	1.366	1.370	1.365
O2-C23	1.436	1.426	1.421	1.429	1.418
C19-C16	1.396	1.392	1.391	1.393	1.383
C16-C13	1.402	1.398	1.397	1.396	1.376
Correlación (r)	0.98	0.98	0.98	0.98	

Tabla 19. Comparación de ángulos de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en fase agua con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales de la *piperlongumina*.

Ángulos de enlace	Funcional/conjunto base 6-31 G(d)				Referencia experimental
	Solvente agua				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
C10-N6-C7	117.76	117.72	117.80	118.03	117.60
C10-N6-C11	124.54	124.56	123.96	123.49	124.00
C7-N6-C11	116.50	116.60	116.64	116.79	116.30
N6-C10-C12	116.05	115.89	115.71	115.87	116.10
N6-C10-O4	123.24	123.29	123.15	123.06	124.03
C12-C10-O4	120.68	120.78	121.12	121.04	121.50
C10-C12-C9	122.95	122.73	122.79	122.52	123.50
C12-C9-C8	120.69	120.59	120.70	120.82	120.30
C9-C8-C7	110.46	110.21	110.34	110.26	111.90
C8-C7-N6	111.41	111.30	111.05	110.82	111.90
N6-C11-O5	118.81	118.93	119.18	119.27	119.00
N6-C11-C14	118.61	118.59	118.07	118.29	118.90
O5-C11-C14	122.43	122.34	122.59	122.28	121.90
C11-C14-C15	119.35	118.84	119.07	118.55	120.80
C14-C15-C13	127.41	127.29	127.16	126.83	128.50
C15-C13-C17	122.67	122.60	122.32	122.20	120.90
C15-C13-C16	118.19	118.13	118.25	118.18	119.20
C17-C13-C16	119.12	119.26	119.42	119.60	119.80
C13-C17-C18	120.44	120.41	120.38	120.20	120.90
C17-C18-O1	124.84	124.82	124.89	124.87	124.20
C20-C18-O1	115.07	115.14	115.23	115.15	114.90
C18-C20-C19	119.40	119.42	119.55	119.56	121.60
C18-C20-O3	120.43	118.89	119.95	119.12	118.60
C20-C19-O2	120.77	120.83	120.09	120.42	116.10
C20-C19-C16	120.25	120.26	120.38	120.35	118.10
C16-C19-O2	118.89	118.85	119.49	119.18	124.90
C19-C16-C13	120.68	120.60	120.35	120.29	121.30
C18-O1-C22	118.20	117.62	117.67	117.24	117.00
C20-O3-C21	114.56	114.06	113.21	113.26	113.90
C19-O2-C23	115.32	114.71	113.77	114.20	117.10
Correlación (r)	0.89	0.90	0.91	0.90	

Parámetros geométricos de *timoquinona* en solvente agua

Tabla 20. Comparación de distancias de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en fase agua con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros geométricos experimentales de la *timoquinona*.

Distancias de enlace	Funcional/conjunto base 6-31 G(d)				Referencia experimental
	Solvente agua				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
C2-O24	1.227	1.250	1.248	1.243	1.225
C5-O23	1.227	1.249	1.247	1.242	1.237
C4-C5	1.498	1.488	1.489	1.493	1.449
C3-C4	1.347	1.349	1.348	1.344	1.362
C5-C6	1.480	1.467	1.467	1.474	1.487
C1-C6	1.348	1.350	1.349	1.345	1.333
Correlación (r)	0.98	0.98	0.98	0.98	

Tabla 21. Comparación de distancias de enlace obtenidos teóricamente en fase agua con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales de la *timoquinona*.

Ángulos de enlace	Funcional/conjunto base 6-31 G(d)				Referencia experimental
	Solvente agua				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
4-C5-C6	118.50	118.81	118.59	118.76	119.64
C4-C5-O23	120.67	120.40	120.53	120.32	121.86
C6-C5-O23	120.83	120.79	120.88	120.92	118.48
C5-C4-C9	117.06	117.15	117.24	116.64	118.37
C3-C4-C5	118.51	118.56	118.70	118.81	118.53
C3-C4-C9	124.43	124.29	124.06	124.55	123.09
C4-C3-C2	123.01	122.64	122.73	122.45	121.56
C3-C2-C1	118.63	118.90	118.67	118.82	118.98
C3-C2-O24	120.27	120.30	120.44	120.45	119.34
C1-C2-O24	121.09	120.79	120.89	120.72	121.68
C2-C1-C13	116.74	116.89	116.90	116.55	117.57
C6-C1-C13	125.17	124.85	124.66	124.91	125.30
C1-C6-C5	123.26	122.83	122.89	122.61	123.48
C1-C13-C15	110.17	110.04	109.52	109.80	109.38
C1-C13-C19	113.69	113.40	113.31	113.01	112.59
C19-C13-C15	110.94	110.77	110.20	110.53	110.62
Correlación (r)	0.97	0.97	0.97	0.97	

8 Anexo B

Parámetros geométricos de *curcumina* en solvente etanol

Tabla 22. Distancias de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en solvente etanol con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales de la *curcumina*.

Distancia de enlace	Funcional/conjunto base 6-31 G(d)				Referencia experimental
	Solvente etanol				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
C21-C25	1.471	1.468	1.465	1.477	1.445
C24-C20	1.471	1.467	1.465	1.476	1.464
C17-C25	1.354	1.350	1.348	1.344	1.342
C24-C16	1.354	1.350	1.348	1.345	1.341
C21-C9	1.534	1.525	1.520	1.525	1.376
C9-C20	1.534	1.524	1.521	1.525	1.419
C20-O5	1.230	1.225	1.224	1.220	1.277
C8-C17	1.454	1.451	1.448	1.460	1.459
C16-C7	1.454	1.450	1.447	1.459	1.456
C16-C24	1.354	1.350	1.348	1.345	1.341
C24-C20	1.471	1.467	1.465	1.476	1.464
C21-O6	1.230	1.225	1.224	1.219	1.335
Correlación (r)	0.78	0.79	0.79	0.81	

Tabla 23. Comparación de ángulos de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en solvente etanol con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros de la *curcumina*.

Ángulos de enlace	Funcional/conjunto base 6-31 G(d)				Referencia experimental
	Solvente etanol				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
C13-O2-C27	115.19	144.46	113.80	113.51	116.10
C12-O1-C26	115.23	114.52	113.67	113.51	115.80
O6-C21-C9	120.40	120.70	120.86	120.94	121.70
O6-C21-C25	123.63	123.64	123.81	123.48	116.80
O5-C20-C24	123.68	123.61	123.89	123.47	120.30
O5-C20-C9	120.44	120.65	120.91	120.89	120.80
C21-C9-C20	110.41	109.91	109.06	108.67	121.60
Correlación (r)	0.04	-0.46	0.12	0.12	

Parámetros geométricos de *piperlongumina* en solvente etanol

Tabla 24. Comparación de distancias de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en solvente etanol con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales de la *piperlongumina*.

Distancia de enlace	Funcional/conjunto base 6-31 G(d)				Referencia experimental
	Solvente etanol				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
N6-C10	1.406	1.398	1.402	1.400	1.401
N6-C7	1.482	1.470	1.473	1.474	1.486
C10-C12	1.480	1.475	1.473	1.482	1.454
C10-O4	1.228	1.224	1.222	1.220	1.216
C12-C9	1.340	1.338	1.337	1.335	1.324
C9-C8	1.499	1.492	1.490	1.499	1.481
N6-C11	1.416	1.406	1.410	1.406	1.398
C11-O5	1.230	1.226	1.223	1.221	1.218
C11-C14	1.476	1.472	1.470	1.481	1.476
C14-C15	1.350	1.346	1.344	1.341	1.306
C15-C13	1.462	1.458	1.456	1.466	1.472
C13-C17	1.411	1.407	1.405	1.406	1.397
C17-C18	1.393	1.390	1.389	1.390	1.376
C18-O1	1.361	1.352	1.351	1.355	1.370
O1-C22	1.427	1.416	1.414	1.418	1.425
C18-C20	1.416	1.412	1.410	1.410	1.387
C20-C19	1.400	1.397	1.394	1.393	1.396
C20-O3	1.372	1.363	1.363	1.366	1.381
O3-C21	1.437	1.426	1.422	1.428	1.420
C19-O2	1.375	1.366	1.366	1.369	1.365
O2-C23	1.436	1.425	1.421	1.427	1.418
C19-C16	1.396	1.393	1.391	1.394	1.383
C16-C13	1.402	1.398	1.396	1.396	1.376
Correlación (r)	0.98	0.98	0.98	0.98	

Tabla 25. Comparación de ángulos de enlace de los parámetros geométricos obtenidos teóricamente en solvente etanol con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales de la *piperlongumina*.

Ángulos de enlace	Funcional/conjunto base 6-31 G(d)				Referencia experimental
	Solvente etanol				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
C10-N6-C7	117.73	117.70	117.79	118.02	117.60
C10-N6-C11	124.66	124.68	124.03	123.55	124.00
C7-N6-C11	116.43	116.53	116.57	116.75	116.30
N6-C10-C12	116.05	115.89	115.71	115.87	116.10
N6-C10-O4	123.32	123.37	123.21	123.12	124.03
C12-C10-O4	120.61	120.71	121.06	121.00	121.50
C10-C12-C9	122.97	122.75	122.82	122.54	123.50
C12-C9-C8	120.67	120.57	120.68	120.80	120.30
C9-C8-C7	110.44	110.19	110.33	110.25	111.90
C8-C7-N6	111.45	111.33	111.10	110.83	111.90
N6-C11-O5	118.76	118.90	119.14	119.25	119.00
N6-C11-C14	118.66	118.63	118.11	118.30	118.90
O5-C11-C14	122.44	122.34	122.61	122.30	121.90
C11-C14-C15	119.33	118.84	119.05	118.57	120.80
C14-C15-C13	127.41	127.25	127.17	126.78	128.50
C15-C13-C17	122.68	122.56	122.34	122.14	120.90
C15-C13-C16	118.20	118.15	118.25	118.21	119.20
C17-C13-C16	119.12	119.30	119.41	119.65	119.80
C13-C17-C18	120.44	120.35	120.39	120.13	120.90
C17-C18-O1	124.84	124.91	124.89	125.01	124.20
C20-C18-O1	115.08	115.04	115.23	115.00	114.90
C18-C20-C19	119.40	119.49	119.56	119.64	121.60
C18-C20-O3	120.43	120.32	119.95	120.11	118.60
C20-C19-O2	120.80	120.66	120.14	120.04	116.10
C20-C19-C16	120.25	120.20	120.38	120.32	118.10
C16-C19-O2	118.88	119.08	119.46	119.62	124.90
C19-C16-C13	120.69	120.60	120.37	120.26	121.30
C18-O1-C22	118.19	117.71	117.67	117.28	117.00
C20-O3-C21	114.57	113.86	113.21	112.82	113.90
C19-O2-C23	115.35	114.75	113.82	113.75	117.10
Correlación (r)	0.89	0.90	0.91	0.91	

Parámetros geométricos de *timoquinona* en solvente etanol

Tabla 26. Comparación de distancias de enlace obtenidos teóricamente en etanol con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales de la *timoquinona*.

Distancia de enlace	Funcional/conjunto base 6-31 G(d)				Referencia experimental
	Solvente etanol				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
C2-O24	1.257	1.252	1.251	1.245	1.225
C5-O23	1.257	1.252	1.250	1.245	1.237
C4-C5	1.493	1.488	1.488	1.492	1.449
C3-C4	1.353	1.350	1.348	1.344	1.362
C5-C6	1.471	1.466	1.465	1.473	1.487
C1-C6	1.353	1.350	1.349	1.345	1.333
Correlación (r)	0.98	0.98	0.98	0.98	

Tabla 27. Comparación de ángulos de enlace obtenidos teóricamente en etanol con el modelo de solvatación IEF-PCM contra parámetros experimentales de la *timoquinona*.

Ángulos de enlace	Funcional/conjunto base 6-31 G(d)				Referencia experimental
	Solvente etanol				
	B3LYP	PBE0	M06	M06-2X	
C4-C5-C6	118.98	119.03	118.86	118.99	119.64
C4-C5-O23	120.51	120.39	120.44	120.31	121.86
C6-C5-O23	120.51	120.58	120.70	120.70	118.48
C5-C4-C9	117.74	117.51	117.48	117.00	118.37
C3-C4-C5	118.32	118.39	118.54	118.65	118.53
C3-C4-C9	123.94	124.09	123.98	124.35	123.09
C4-C3-C2	122.71	122.59	112.64	122.40	121.56
C3-C2-C1	119.07	119.09	118.90	119.02	118.98
C3-C2-O24	120.07	120.15	120.28	120.30	119.34
C1-C2-O24	120.86	120.75	120.82	120.67	121.68
C2-C1-C13	117.36	117.22	117.26	116.85	117.57
C6-C1-C13	124.65	124.65	124.45	124.76	125.30
C1-C6-C5	122.93	122.76	122.79	122.54	123.48
C1-C13-C15	110.18	109.93	109.41	109.68	109.38
C1-C13-C19	113.58	113.44	113.39	113.04	112.59
C19-C13-C15	110.71	110.70	110.14	110.47	110.62
Correlación (r)	0.98	0.98	0.86	0.97	