



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

TÍTULO DE LA TESIS

DOCKING MOLECULAR EN DJ-1 COMO POSIBLE BLANCO
TERAPÉUTICO CONTRA LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

Tesis que para obtener el título de
LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:
Uriel Alejandro Contreras Rodríguez

DIRECTORAS DE TESIS:
Dra. Norma Angélica Caballero Concha
Dra. María Eugenia Castro Sánchez

Puebla, Puebla

Junio 2025



Resumen

La enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno neurodegenerativo progresivo de alta incidencia, pues se estima que al año se registran 50 casos nuevos por cada 100,000 habitantes, el cual está caracterizado por la pérdida de células dopaminérgicas y la acumulación de alfa-sinucleína. En este contexto, la proteína DJ-1 ha cobrado relevancia por su papel en la respuesta antioxidante y la regulación en las vías de señalización celular para proteger a las células dopaminérgicas y evitar la sobreacumulación de alfa-sinucleína, siendo el residuo Cys106 una región clave susceptible a oxidación y posterior pérdida de función.

En este trabajo de tesis se presenta un estudio teórico en el que se evalúa un grupo de compuestos conformado por 4 compuestos fitoquímicos y 3 compuestos sintéticos, mediante métodos de química cuántica y biología computacional (docking molecular covalente), con el objetivo de identificar las interacciones moleculares más relevantes, y su potencial como inhibidores de la oxidación de DJ-1. Se llevó a cabo la optimización de geometría de los ligantes mediante métodos basados en la teoría del funcional de la densidad (DFT), y se calcularon parámetros de reactividad química global, tales como el valor de la energía de los orbitales frontera HOMO y LUMO, el potencial electrostático molecular, la dureza, la blandura, la electronegatividad, la electrofilicidad y el potencial químico. Posteriormente, se realizaron cálculos de acoplamiento molecular de tipo covalente, empleando el método de cadena lateral flexible en el programa de acceso libre Autodock.

Los resultados mostraron que los compuestos quercetina, UCP-54278 y Comp-23 presentan características de reactividad química y energías de acoplamiento favorables para la obtención de un complejo específico y estable con DJ-1. Particularmente, el Comp-23 demostró similitudes en su patrón de interacción con respecto al compuesto control 1-etilindol-2,3-diona, destacándose como un candidato relevante.

Lo anterior establece una base teórica sólida para el diseño y evaluación de nuevos ligantes dirigidos a DJ-1, contribuyendo a la generación de estrategias terapéuticas más específicas para el tratamiento de la EP, que contribuyan a la disminución de sus signos y síntomas, así como a su inminente progreso.

ÍNDICE GENERAL

1. Introducción	8
1.1 Enfermedad de Parkinson (EP)	8
1.2 Vías de señalización afectadas en EP.....	9
1.3 Tratamientos actuales para la EP.....	10
2. Marco teórico.....	13
2.1 Estructura de la proteína deglicasa DJ-1	13
2.2 DJ-1 y las diferentes vías de señalización.....	14
2.3 DJ-1 como blanco terapéutico	16
2.4 Moléculas con efectos sobre DJ-1	20
3. Fundamentos teóricos.....	28
3.1 Teoría del funcional de la densidad (DFT)	28
3.2 Docking molecular.....	33
4. Hipótesis.....	35
5. Objetivos	35
6. Metodología.....	36
7. Resultados y Discusión.....	39
7.1 Estructura molecular y reactividad química global de los ligantes	39
7.2 Docking molecular entre los ligantes propuestos y la proteína DJ-1	60
8. Conclusiones.....	73
9. Bibliografía	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de rutas de señalización dopaminérgica y glutamatérgica implicadas en la fisiopatología de la EP.	10
Figura 2. Representación gráfica de la estructura cristalina de la proteína humana DJ-1(PDB ID: 1P5F).	14
Figura 3. Vías de señalización reguladas por la oxidación de DJ-1 en la enfermedad de Parkinson.DJ-1.	16
Figura 4. Monómero de DJ-1 donde se aprecian los residuos Cys46, Cys53 y Cys106 (azul) los cuales desempeñan una función importante en la estructura y función de DJ-1.	18
Figura 5. Actividad de DJ-1 dependiendo de sus estados de oxidación.	19
Figura 6. Representación de las modificaciones en DJ-1 como oxidación, S-nitrosilación y sumoilación que afectan la estructura y función de la proteína.	20
Figura 7. Estructura Benzoato de sodio visualizada en GaussView en donde se observa el anillo aromático con el grupo carboxilato (-COO ⁻)	21
Figura 8. Estructura de Kaempferol visualizada en GaussView.	22
Figura 9. Estructura del 6,8-dimetil kaempferol 3,4'-dimetil éster, derivado de kaempferol, visualizado en GaussView	23
Figura 10. Estructura de la quercetina visualizada en GaussView.	24
Figura 11. Estructura del compuesto de unión 0045037 (UCP-45037) visualizada en GaussView.	25
Figura 12. N- [4- (8-metil (4-hidroimidazo [1,2-a] piridin-2-il)) fenil] (3,4,5-trimetoxifenil) carboxamida, compuesto de unión a DJ-1 (comp-23) visualizado en GaussView.	26
Figura 13. Estructura de 2-[3-(benciloxi)-4-metoxifenil]-N-[2-(7-metoxi-1,3-benzodioxol-5-il) etil] acetamida (UCP-54278) visualizada en GaussView.	27
Figura 14. Comparación entre la perspectiva de NNN cuerpos y la teoría del funcional de la densidad (DFT).	29
Figura 15. Representación gráfica del proceso de docking molecular.	33
Figura 16. Representación gráfica del método de cadena flexible que muestra la superposición del ligante con el residuo de la proteína.	35
Figura 17. Diagrama de Flujo de la metodología de la descripción electrónica de los ligantes y su posterior interacción molecular con DJ-1.	38
Figura 18. Representación esquemática de la formación de enlaces covalentes entre compuestos electrofílicos y el residuo Cys106 de la proteína DJ-1.	39
Figura 19. Visualización de orbitales moleculares frontera (HOMO Y LUMO) de ligante Control (1-etilindol-2,3 diona).	48
Figura 20. Visualización de orbitales moleculares frontera (HOMO Y LUMO) del ion benzoato (control negativo)].	49
Figura 21. Visualización de los orbitales moleculares frontera (HOMO y LUMO) del kaempferol.	49
Figura 22. Visualización de orbitales moleculares frontera (HOMO Y LUMO) de derivado de kaempferol (6,8-dimetil kaempferol 3,4'-dimetil éster).	50
Figura 23. Visualización de orbitales moleculares frontera (HOMO Y LUMO) de Quercetina [84.	51
Figura 24. Visualización de orbitales moleculares frontera (HOMO Y LUMO) de Comp 23 [84].	51
Figura 25. Distribución de los orbitales frontera (HOMO y LUMO) de UCP-54278 [84].	51
Figura 26. Distribución de los orbitales frontera (HOMO y LUMO) de UCP-45037 [84].	52

- Figura 27.** Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) del compuesto control (1-etilindol-2,3 diona). 56
- Figura 28.** Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) del ion benzoato. 56
- Figura 29.** Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) de kaempferol. 57
- Figura 30.** Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) del derivado 6,8-dimetil kaempferol 3,4'-dimetil éster. 57
- Figura 31.** Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) de quercetina. 58
- Figura 32.** Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) del comp-23. 58
- Figura 33.** Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) del compuesto UCP-54278. 59
- Figura 34.** Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) del compuesto UCP-45037. 59
- Figura 35.** Selección de sitios reactivos para el acoplamiento covalente de compuestos fitoquímicos con el residuo Cys106 de la proteína DJ-1, utilizando el método de cadena lateral flexible en AutoDock 4. 62
- Figura 36.** Selección de sitios reactivos para el acoplamiento covalente de compuestos sintéticos con el residuo Cys106 de la proteína DJ-1, utilizando el método de cadena lateral flexible en AutoDock 4. 62
- Figura 37.** Comparación estructural de los complejos covalentes formados entre el ligante y el residuo Cys106 en el sitio 1 (izquierda) y sitio 2 (derecha). En el sitio 1 se observan disposiciones desfavorables dando lugar a conformaciones químicamente inviables, mientras que el sitio 2 la orientación espacial del grupo tiol permite una interacción directa y estable con el carbono objetivo, respetando la estructura del ligante. 63
- Figura 38.** Representación gráfica de las interacciones del compuesto control con la proteína DJ-1. Se observa el enlace covalente entre el ligante y Cys106 (Naranja), la formación de puentes de hidrógeno con Glu18 y Ala107 (líneas verdes), e interacciones de tipo π -alquilo con His126 y Ala107 (líneas moradas). 68
- Figura 39.** Interacciones del comp-23 con la proteína DJ-1. Se observa el enlace covalente entre el ligante y Cys106 (naranja) así como enlaces de hidrógeno con Asn76 y Leu128 (líneas verdes), e interacciones tipo π -alquilo con Ala107 y Leu128 (líneas moradas), lo que sugiere un acoplamiento estable en el sitio activo, similar al control. 69
- Figura 40.** Interacciones entre quercetina con la proteína DJ-1. Se observa el enlace covalente entre el ligante y Cys106 (naranja) así como enlaces de hidrógeno con Glu108 y Gly103 (líneas verdes), a diferencia que el control y comp-23 no presenta interacciones π -alquilo lo cual puede influir en su estabilidad. 70
- Figura 41.** Interacciones entre UCP-54278 con la proteína DJ-1. Se observa el enlace covalente entre el ligante y Cys106 (naranja) así como enlaces de hidrógeno con Gly 75 y Asn76 (líneas verdes). 70
- Figura 42.** Superposición estructural de los ligantes Comp-23 (verde), quercetina (rojo), UCP-54278 (magenta) y el ligante control (azul) en el sitio activo de la proteína DJ-1. Se observa la formación de enlaces covalentes (amarillo) con el residuo Cys106, representado junto con Gly18 e His106. Comp-23 y el control presentan una orientación coincidente en la formación del enlace covalente, mientras que quercetina y UCP-54278 muestran orientaciones divergentes respecto al control. 72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valores de los orbitales moleculares (en eV), energía gap (en eV) y momento dipolar (en Debye) de cada compuesto obtenidos en el nivel de teoría B3LYP/6-31G..... 40

Tabla 2. Valores de reactividad química global (en eV). 41

Tabla 3. Energías de afinidad en kcal·mol⁻¹ obtenidas de los cálculos de docking covalente. ... 66

Abreviaturas

<i>EP</i>	<i>Enfermedad de Parkinson</i>
<i>α-syn</i>	<i>Alfa sinucleína</i>
<i>L-dopa</i>	<i>Levodopa</i>
<i>AD</i>	<i>Agonistas dopaminérgicos</i>
<i>NMDA</i>	<i>N-metil-D-aspartato</i>
<i>SNpc</i>	<i>Sustancia negra pars compacta</i>
<i>ARs</i>	<i>Antagonistas del receptor de adenosina A2A</i>
<i>Cys</i>	<i>Cisteína</i>
<i>MPTP</i>	<i>1-metil-4-fenil-1,2,3,4-tetrahidropiridina</i>
<i>ROS</i>	<i>Especies reactivas de oxígeno</i>
<i>MCAO</i>	<i>Oclusión de la arteria cerebral media</i>
<i>Cul3</i>	<i>E3 de Cullin 3</i>
<i>MCAO</i>	<i>Oclusión intraluminal de arteria cerebral media</i>
<i>Glu</i>	<i>Glutamato</i>
<i>DA</i>	<i>Dopamina</i>
<i>DFT</i>	<i>Teoría del funcional de la densidad</i>
<i>HOMO</i>	<i>Orbital molecular ocupado de mayor energía</i>
<i>LUMO</i>	<i>Orbital molecular no ocupado de menor energía</i>
<i>PDB</i>	<i>Protein Data Bank</i>
<i>CMA</i>	<i>Autofagia mediada por chaperonas</i>
<i>Cdk5</i>	<i>Cinasa dependiente de ciclina 5</i>
<i>PKA</i>	<i>Proteína Cinasa A</i>
<i>LAMP2A</i>	<i>Proteína de membrana asociada al lisosoma tipo 2^a</i>
<i>Nrf2</i>	<i>Factor nuclear relacionado con el factor eritroide 2</i>
<i>MEP</i>	<i>Mapa de potencial electrostático</i>

1.Introducción

1.1 Enfermedad de Parkinson (EP)

La enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno neurodegenerativo caracterizado por la manifestación progresiva de temblores, pérdida de equilibrio, rigidez corporal y falta de coordinación. Estos síntomas surgen debido a la significativa muerte de células dopaminérgicas en la Sustancia Negra pars compacta (SNpc), acompañada de una gran acumulación de alfa sinucleína (α -syn) [1]. En los últimos 25 años, la prevalencia de la EP ha aumentado significativamente, con un aumento de más del 100% en su carga de morbilidad respecto a décadas anteriores [2]. Actualmente, es la segunda enfermedad neurodegenerativa más común (después de la enfermedad de Alzheimer), con tasas de incidencia anual estandarizadas por edad media en países de altos ingresos de 14 por 100,000 personas en la población total, y 160 por 100,000 personas de 65 años o más [3]. En México, se estima que 50 de cada 100,000 habitantes podrían padecerla [4].

Las causas de la EP no están completamente esclarecidas; sin embargo, se han identificado factores que pueden contribuir a su desarrollo, como la exposición a pesticidas (principalmente herbicidas como paraquat e insecticidas como rotenona, asociados con daño mitocondrial y estrés oxidativo), el alcoholismo y antecedentes de traumatismo craneoencefálico (el cual se ha relacionado con un aumento en el riesgo de EP debido a procesos como inflamación persistente, disfunción mitocondrial y acumulación de α -sinucleína) [3]. Además, se han encontrado factores genéticos implicados en el desarrollo de la EP, ya que una mutación puntual en el gen α -sinucleína se ha asociado con formas hereditarias de la enfermedad [5]. Se estima que solo entre el 5% y el 10% de los casos de EP están asociados a factores genéticos [6].

El primer cambio degenerativo en la EP involucra la pérdida de terminales nerviosas en el cuerpo estriado [6], y se estima que alrededor del 50% al 60% de las neuronas dopaminérgicas en la SNpc sufren muerte celular antes de que aparezcan los primeros síntomas [7]. Posteriormente, se forman los cuerpos

de Lewy que son inclusiones eosinófilas características compuestas por el plegamiento aberrante de la proteína alfa-sinucleína, junto con otras proteínas como la ubiquitina y tejido filamentoso que se localizan en el soma y las neuritas de las neuronas afectadas [8].

1.2 Vías de señalización afectadas en EP

Las neuronas de la SNpc sintetizan y liberan dopamina (DA), mientras que las neuronas corticales liberan glutamato (Glu). Ambos neurotransmisores interactúan con diferentes subtipos de receptores que están implicados en la fisiopatología de EP, entre ellos el receptor dopaminérgico D1 (D1R) y el receptor N-metil-D-aspartato (NMDAR).

En la Figura 1 se ilustran las principales rutas de señalización dopaminérgica y glutamatérgica. Se observa la activación del receptor D1R en presencia de DA activando la enzima adenilato ciclasa, la cual incrementa los niveles intracelulares de adenosín monofosfato cíclico (AMPc), iniciando una cascada de fosforilaciones a través de la proteína cinasa A (PKA), empezando por fosfoproteína regulada por dopamina y AMPc cíclico de 32 kDa (DARPP-32) la cual es clave en la modulación de señales intracelulares en las neuronas dopaminérgicas [9].

Simultáneamente, la entrada de iones de calcio (Ca^{+2}) a través de NMDAR (representado en color púrpura de la Figura 1), aumenta los niveles de la proteína cinasa II dependiente de calcio/calmodulina (CaMKII), la cual a su vez modula el factor liberador de nucleótidos de guanina 1 específico de la proteína RAS (RasGRP1) convergiendo con la señalización dopaminérgica en la activación de las cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK1/2) responsables de inducir la expresión de genes como cFos, FosB y Δ FosB, implicados en procesos de plasticidad sináptica y regulación de la función motora [9].

Las conductas motoras anormales características de la EP, surgen como consecuencia a una desregulación en estas rutas, causadas por un desequilibrio en las transmisiones de Glu y DA, en particular por la fosforilación de la fosfoproteína regulada por dopamina y AMPc cíclico de 32 kDa (DARPP-

32), lo cual reduce los niveles de DA y agudiza la pérdida de función del cuerpo estriado [10].

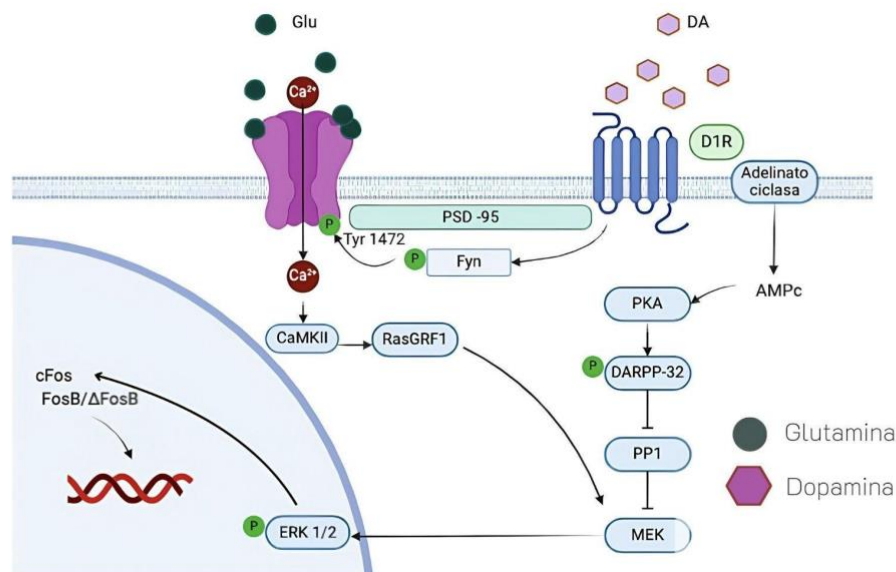


Figura 1. Esquema de rutas de señalización dopaminérgica y glutamatérgica implicadas en la fisiopatología de la EP. La entrada de iones calcio (Ca^{2+}) a través de receptores NMDA (color púrpura) incrementa la activación de la proteína cinasa II dependiente de calcio/calmodulina (CaMKII), la cual regula a RasGRF1 y culmina en la activación de las cinasas ERK1/2, induciendo la expresión de genes asociados a plasticidad sináptica (cFos, FosB, ΔFosB). Paralelamente, la señalización dopaminérgica mediada por receptores D1 (D1R) induce la activación de PKA, modulando la fosforilación de DARPP-32 y la actividad de PP1, convergiendo también en la vía de ERK1/2. La desregulación de estas rutas, por desequilibrio entre la transmisión de glutamato (Glu) y dopamina (DA), contribuye a la pérdida de función motora característica de la enfermedad. Elaboración propia en Biorender <https://BioRender.com>

1.3 Tratamientos actuales para la EP

En la actualidad, no existe una cura para la enfermedad de Parkinson, sin embargo, se disponen de fármacos que ayudan a controlar los síntomas y mejorar la calidad de vida de los pacientes. Estos tratamientos se clasifican en 3 categorías principales, según el blanco terapéutico hacia el cual están dirigidos: dopaminérgicos, no dopaminérgicos y quirúrgicos.

Tratamiento Dopaminérgico

El tratamiento dopaminérgico busca aumentar los niveles de dopamina en el tejido estriado, lo que ayuda a mitigar los efectos de la enfermedad. Entre los principales fármacos de este grupo se encuentran la levodopa, los agonistas dopaminérgicos y los inhibidores de la enzima Monoamino Oxidasa B (MAO-B).

La levodopa (L-dopa) es un precursor de la dopamina y constituye el fármaco más utilizado en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson. A diferencia de la dopamina, que se degrada rápidamente en el tracto gastrointestinal, la levodopa puede absorberse y cruzar la barrera hematoencefálica [11]. Este compuesto se descarboxila a dopamina en el cerebro, actuando sobre los receptores dopaminérgicos y compensando la cantidad reducida de dopamina en los pacientes con EP [11]. No obstante, los primeros ensayos con L-dopa presentaron limitaciones debido a su administración oral, ya que al administrarse, la enzima dopa-descarboxilasa convierte el fármaco en dopamina a nivel periférico, sin capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica, lo que requería dosis elevadas para obtener beneficios sintomáticos [12]. Desafortunadamente, el uso prolongado de levodopa se asocia con un aumento de complicaciones motoras en aproximadamente el 80% de los pacientes [11]. Estas complicaciones incluyen principalmente la discinesia inducida por levodopa y fluctuaciones motoras como el fenómeno “*wearing-off*” [13].

Agonistas dopaminérgicos (AD) como el ropinirol, pramipexol y la rotigotina, son compuestos que generan una estimulación directa sobre los receptores de dopamina, algunos en fases tempranas de la EP. Los AD pueden ser casi tan efectivos como la L-dopa; sin embargo, su eficacia disminuye conforme la enfermedad avanza [13]. Los AD también pueden presentar efectos adversos, tales como náuseas, mareos, somnolencia e hipotensión. [13].

Los inhibidores de la MAO-B son medicamentos que actúan bloqueando a la enzima monoaminoxidasa B (MAO-B), la cual es responsable de degradar la dopamina en el cerebro. Al inhibir esta enzima, se incrementa la cantidad de dopamina disponible, lo que ayuda a mejorar la comunicación entre las células

nerviosas (sinapsis) y puede aliviar los síntomas de EP [1]. Estos fármacos se dividen en inhibidores reversibles e irreversibles. Aunque los efectos adversos asociados son leves, su eficacia terapéutica disminuye con el tiempo, por lo que se recomienda su uso en combinación con otros medicamentos como la levodopa, agonistas dopaminérgicos, anticolinérgicos entre otros [14]. Actualmente, los principales inhibidores disponibles son la selegilina y la rasagilina, que además de mejorar síntomas motores, parecen tener beneficios en aspectos no mediados por la vía dopaminérgica, como el congelamiento de la marcha, la apatía y la fatiga [12].

Tratamientos no dopaminérgicos

Los tratamientos no dopaminérgicos son más comunes en etapas avanzadas de la EP, cuando los pacientes responden de forma limitada a la terapia dopaminérgica [15].

Antagonistas de receptores de adenosina tipo A2A (A2A): Estos fármacos bloquean los receptores A2A de adenosina, los cuales inhiben la señalización de los receptores dopaminérgicos D2. Al bloquear estos receptores, se potencia la función de la dopamina, mejorando así los síntomas motores en la enfermedad de Parkinson [16]. En modelos animales, los antagonistas de A2A han mostrado mejorar los síntomas motores al inhibir los efectos postsinápticos y aumentar la liberación de dopamina [16].

Amantadina: Este compuesto bloquea los receptores N-Metil-D-Aspartato (NMDA), modulando la actividad glutamatérgica y ayudando a reducir las discinesias inducidas por levodopa. Su efecto sobre los síntomas motores de la enfermedad de Parkinson es limitado, ya que ofrece una mejoría moderada que suele disminuir con el tiempo [17].

Inhibidores de tirosina cinasa: Inicialmente empleados en el tratamiento de leucemia, estos inhibidores han mostrado potencial en enfermedades neurodegenerativas. En el contexto de la EP, la activación de la tirosina cinasa c-Abl afecta negativamente la señalización dopaminérgica al fosforilar la cinasa dependiente de ciclina 5 (Cdk5) y la proteína DARPP-32, inhibiendo la proteína

cinasa A dependiente de cAMP (PKA), un regulador clave de las señales mediadas por el receptor de dopamina D1 [10],[18].

Tratamientos quirúrgicos

Otra opción que se presenta para el tratamiento de esta enfermedad son los tratamientos quirúrgicos, los cuales principalmente se utilizan para tratar los síntomas no motores de la enfermedad. Dentro de los tratamientos más utilizados se encuentra la estimulación cerebral profunda del núcleo subtalámico, una región que forma parte del circuito de los ganglios basales y cuya hiperactividad en la enfermedad de Parkinson contribuye a la inhibición excesiva del movimiento. La estimulación de esta estructura permite modular su actividad, mejorando así los síntomas motores. Este tipo de tratamiento generalmente se utiliza cuando los síntomas se vuelven incapacitantes a pesar de llevar un tratamiento dopaminérgico [19].

2. Marco teórico

2.1 Estructura de la proteína deglicasa DJ-1

La proteína deglicasa DJ-1 es una proteína multifuncional con actividad chaperona y antioxidante de 189 aminoácidos que se localiza en el citoplasma, mitocondrias y núcleo celular. Se encuentra en forma de homodímero y es codificada por el gen PARK7, asociado al parkinsonismo [20].

La estructura cristalina de DJ-1 se resolvió mediante el método de reemplazo isomorfo múltiple, revelando que la proteína forma un homodímero cara a cara con un eje doble de simetría (Figura 2) [21]. Cada monómero está compuesto por 11 láminas β y 9 hélices α , lo que contribuye a su estabilidad estructural [21],[22], su sitio activo está formado por 3 residuos clave Glu18, Cys106 e His126 cuya disposición espacial es compatible con la formación de una tríada catalítica [22].

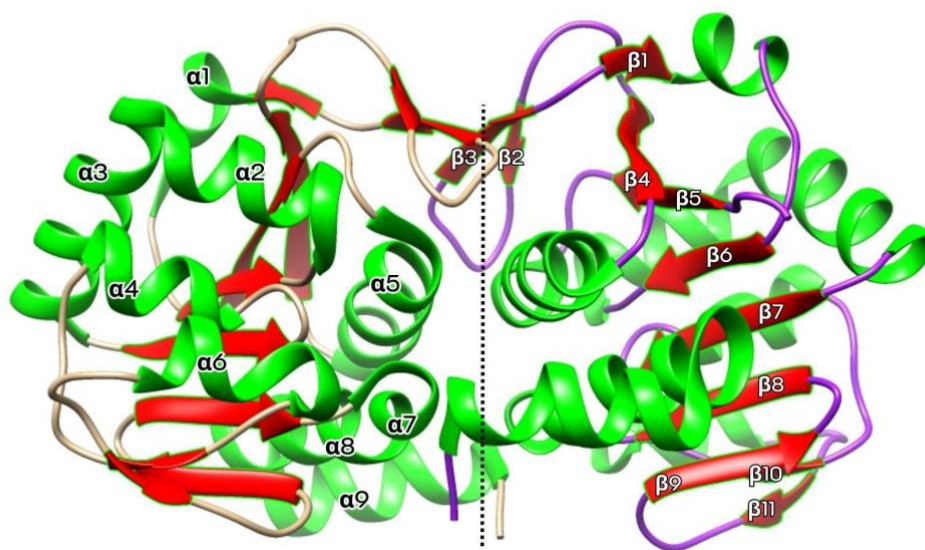


Figura 2. Representación gráfica de la estructura cristalina de la proteína humana DJ-1 (PDB ID: 1P5F) en disposición simétrica cara a cara, donde se aprecian los monómeros que conforman el homodímero de la proteína respecto al eje de simetría (línea punteada) y las 9 hélices α (color verde) y las 11 láminas β (color rojo).

2.2 DJ-1 y las diferentes vías de señalización

DJ-1 participa en varias vías de señalización, incluyendo la respuesta al estrés oxidativo, que es un estado de desequilibrio entre especies reactivas de oxígeno y mecanismos antioxidantes, lo que conduce al daño celular. Además, interviene en la regulación transcripcional y en el mantenimiento de la calidad mitocondrial, protegiendo la función mitocondrial [23].

Esta proteína se expresa en casi todas las células del cuerpo humano incluyendo neuronas y células gliales [24-25], y por su participación en varias rutas de señalización se ha estudiado su capacidad para inducir vías de supervivencia y replegamiento de proteínas [26].

La pérdida de función de la mitocondria en células dopaminérgicas tiene un papel importante en el mecanismo de neurodegeneración de la EP, pues a consecuencia de sufrir una respiración mitocondrial deteriorada se genera una mayor producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) generando un

estrés oxidativo [27]. Se ha observado que DJ-1 actúa de forma similar a Parkina y Cinasa 1 inducida por PTEN (PINK1), pues limita la fragmentación mitocondrial en respuesta a la toxina rotenona [28]. Igualmente, se ha observado que DJ-1 funciona en paralelo a la vía PINK1/parkina para mantener la función mitocondrial en presencia de un entorno oxidativo [28]. La translocación nuclear de DJ-1 en condiciones de estrés puede proteger a las neuronas de la muerte celular después de sufrir estrés oxidativo [29].

DJ-1 y su papel en la regulación de vías de señalización relacionadas a EP

DJ-1 está estrechamente relacionada con la autofagia mediada por chaperonas (CMA), principal vía de degradación de α -sinucleína, ya que se ha observado que puede inhibir la acumulación y agregación de dicha proteína [30]. Se ha demostrado que esta función se debe a su participación en la CMA, una forma selectiva de la vía autofágica responsable de la degradación lisosomal de proteínas citosólicas con un motivo de orientación específico [31]. En este proceso, DJ-1 regula positivamente la proteína de membrana asociada al lisosoma tipo 2A (LAMP2A), un componente clave en la CMA [32]. Estudios han demostrado que la deficiencia de DJ-1 provoca una reducción en los niveles de LAMP2A, lo que acelera la acumulación y agregación de α -sinucleína debido a la alteración en su degradación lisosomal [33]. Además de su papel en CMA, DJ-1 participa activamente en la regulación del factor nuclear relacionado con el factor eritroide 2 (Nrf2), el cual estimula la producción de enzimas antioxidantes, DJ-1 estabiliza a Nrf2 al evitar la asociación con su proteína inhibidora, Keap1, favoreciendo la respuesta antioxidante un mecanismo esencial en la protección contra el estrés oxidativo en la enfermedad de Parkinson. Estas vías de señalización están representadas en la Figura 3 [34].

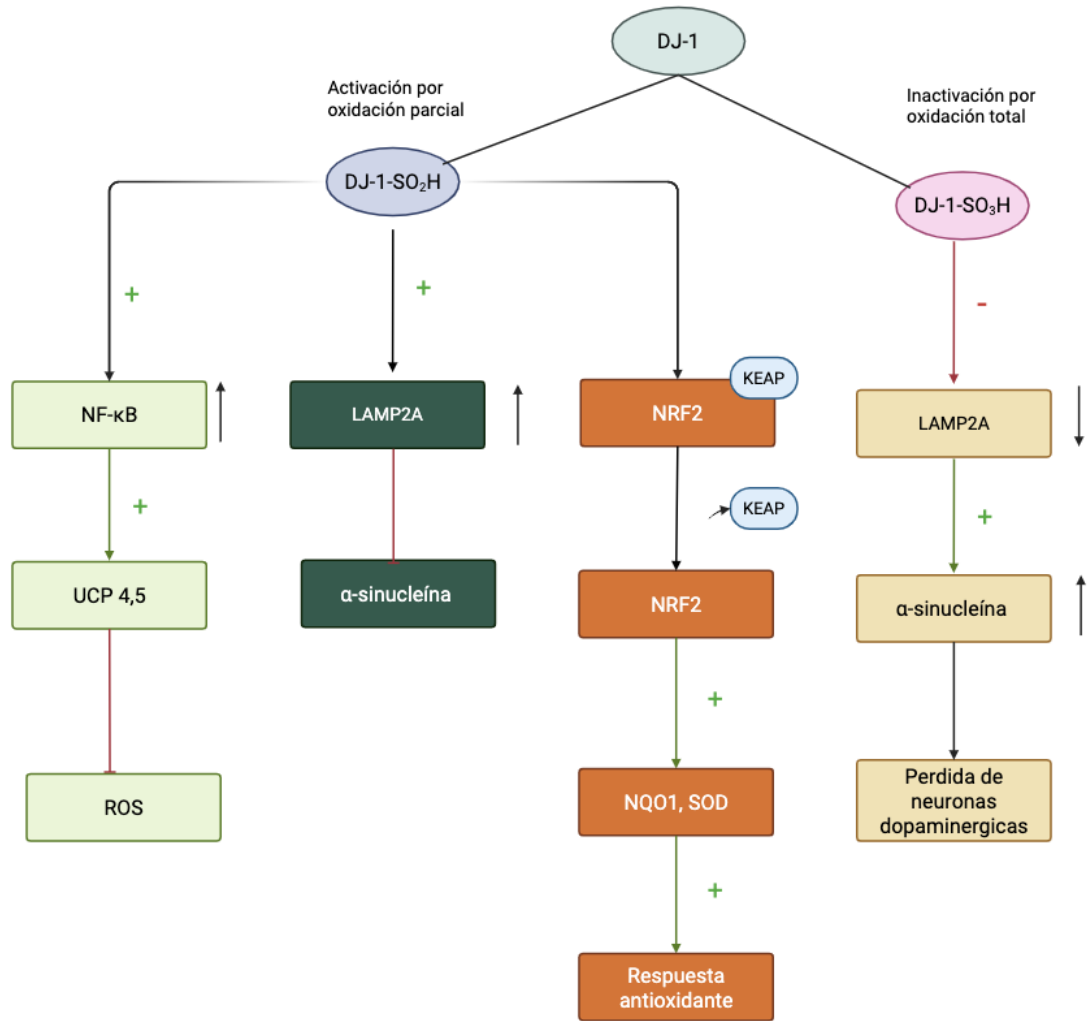


Figura 3. Vías de señalización reguladas por la oxidación de DJ-1 en la enfermedad de Parkinson. DJ-1 modula diferentes rutas celulares, incluyendo NF-κB, LAMP2A y NRF2, lo que impacta en la respuesta antioxidante, la acumulación de α-sinucleína y la supervivencia de neuronas dopaminérgicas. Los óvalos representan proteínas en diferentes estados de oxidación, mientras que los rectángulos indican procesos celulares o respuestas biológicas. Las flechas verdes señalan activaciones, las flechas rojas inhibiciones, y las flechas negras un aumento o disminución en la expresión de proteínas. El signo "+" indica regulación positiva y el signo "-" regulación negativa. La línea curva representa una interacción, como la que ocurre entre KEAP y NRF2 [32,33,34]. Elaboración propia en Biorender <https://BioRender.com>

2.3 DJ-1 como blanco terapéutico

Las mutaciones en el gen PARK7 son una causa rara de parkinsonismo de inicio temprano autosómico recesivo. Estas mutaciones generalmente dan como resultado una pérdida de función de la proteína [35], esta pérdida de función está relacionada con la reducción de la actividad lisosómica y

mitocondrial [36]. En cuanto a los casos esporádicos de Parkinson rara vez se han encontrado mutaciones, pero se han encontrado niveles más bajos de DJ-1, lo cual indica que un nivel bajo de esta proteína puede contribuir a la patogénesis de la EP esporádica y no solo ser partícipe de casos hereditarios [37].

Igualmente, se ha demostrado que DJ-1 tiene un papel importante en la protección antioxidante de las neuronas en respuesta a el estrés oxidativo, esto actuando como un sensor del estrés oxidativo, mediante la interacción con otras enzimas que actúan como antioxidantes y elevando la expresión de los genes correspondientes para evitar que se genere el estrés oxidativo [38],[39]. El punto isoeléctrico de DJ-1 muestra un cambio ácido después de que las células se tratan con peróxido de hidrógeno. Esto sugiere, como se mencionó en el apartado anterior, que DJ-1 se modifica en respuesta al estrés oxidativo [40].

El análisis de la estructura cristalina de DJ-1 llevó a la especulación de que Cys106 podría ser un residuo importante para la función de respuesta al estrés oxidativo y su actividad neuroprotectora. Este residuo es altamente conservado, se encuentra en el giro brusco entre una cadena β y una hélice α llamada “nucleophile elbow” (Figura 4) [41]. Cys106 tiene ángulos de torsión energéticamente tensos y es particularmente sensible al daño por radiación de rayos X, lo que sugiere una mayor reactividad. Se ha observado que la mutación de este residuo a alanina, serina y ácido aspártico elimina la capacidad de DJ-1 de responder al estrés oxidativo en varios sistemas modelo [41].

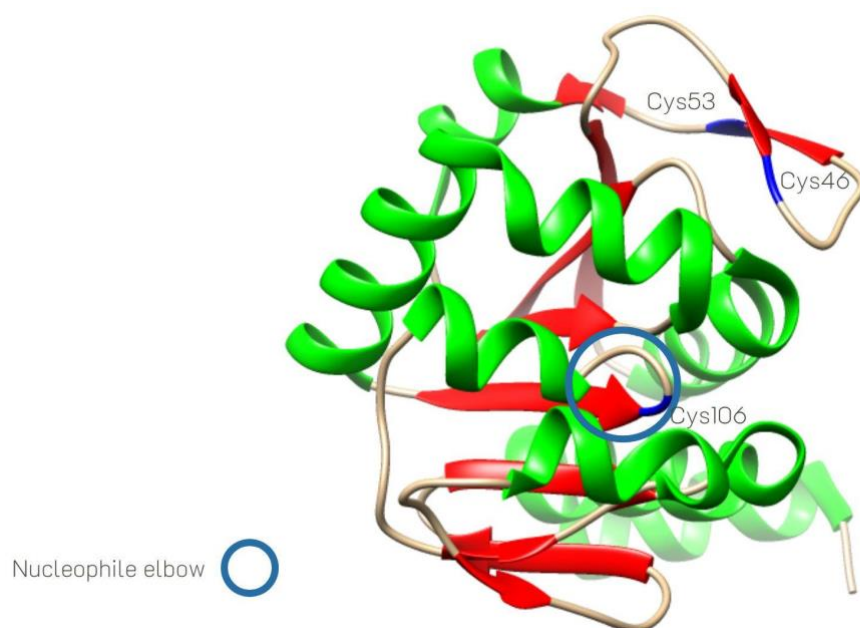


Figura 4. Monómero de DJ-1 donde se aprecian los residuos Cys46, Cys53 y Cys106 (azul) los cuales desempeñan una función importante en la estructura y función de DJ-1, así como el giro brusco entre una lámina β (rojo) y una hélice α (verde) llamado “nucleophile elbow” mostrado dentro de un círculo azul.

DJ-1 cuenta con 3 residuos de cisteína (Cys46, Cys56 y Cys106), los cuales desempeñan un papel importante dentro de su estructura y función (Figura 5). El residuo Cys106 ha demostrado ser altamente susceptible al estrés oxidativo y se oxida como SOH, SO₂H, y SO₃H [42], además se cree que en su estado oxidado SO₃H es la forma inactiva de la proteína (Figura 5) [43].

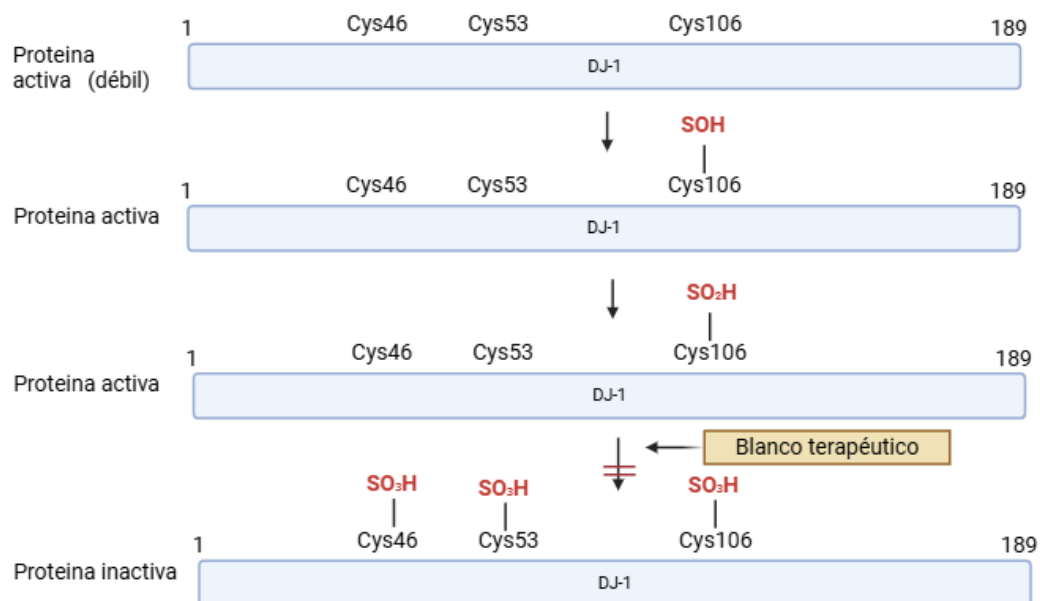


Figura 5. Actividad de DJ-1 dependiendo de sus estados de oxidación. La proteína se representa con un rectángulo de color azul y se destacan los residuos clave de cisteína con sus respectivos estados de oxidación. La oxidación parcial del azufre de la Cys106 a ácido sulfénico (-SOH) o a ácido sulfinico (-SO₂H), permite que la proteína conserve su actividad. Sin embargo, la oxidación total a ácido sulfónico (-SO₃H) provoca una pérdida irreversible de su función. Esta característica resalta la relevancia de DJ-1 como blanco terapéutico, ya que prevenir su oxidación total podría ser clave en el tratamiento para la EP [43]. Elaboración propia en Biorender <https://BioRender.com>

La proteína, además de sufrir distintas oxidaciones en los tres residuos de Cys, puede sufrir procesos de sumoilación y S-nitrosilación incluyendo a un residuo de Lys (Figura 6) [44].

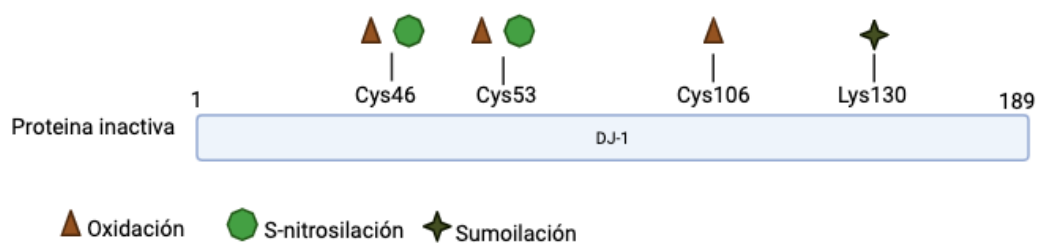


Figura 6. Representación de las modificaciones en DJ-1 como oxidación, S-nitrosilación y sumoilación que afectan la estructura y función de la proteína. En particular, la S-nitrosilación de Cys46 y la sumoilación de Lys130, comprometen la formación del dímero funcional de DJ-1, mientras que la oxidación de Cys106 está relacionada con su actividad [21,43,44]. Elaboración propia en Biorender <https://BioRender.com>.

2.4 Moléculas con efectos sobre DJ-1

Debido a las funciones y características que posee DJ-1, se ha posicionado como una proteína blanco sobre la cual se busca el diseño o búsqueda de biomoléculas que protejan al residuo de Cys106 de su oxidación completa con el propósito de preservar sus funciones protectoras.

A continuación, se presentan las moléculas tanto naturales como sintéticas que pueden tener el efecto deseado sobre DJ-1.

Fitoquímicos

El benzoato de sodio es un metabolito de la canela y un aditivo alimentario ampliamente utilizado (Figura 7). Se ha estudiado su efecto en la regulación positiva de la proteína DJ-1, lo que sugiere su potencial en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson (EP) [45].

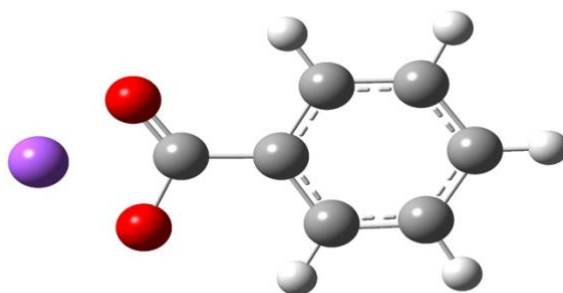


Figura 7. Estructura Benzoato de sodio visualizada en GaussView en donde se observa el anillo aromático con el grupo carboxilato ($-\text{COO}^-$) el cual tiene una carga negativa y el ion sodio (Na^+) representado en color morado, el cual estabiliza la carga del anión [85].

Diversos estudios han demostrado que el benzoato de sodio ejerce un efecto beneficioso sobre los niveles de DJ-1 en modelos preclínicos. En un modelo murino de hemorragia intracerebral, se observó que el compuesto atenuaba el daño secundario al inhibir la apoptosis neuronal y reducir el estrés oxidativo mitocondrial, posiblemente a través de la activación de la vía DJ-1/Akt/IKK/NF- κ B. En esta ruta, la proteína DJ-1 favorece la activación de la proteína cinasa B (Akt), la cual a su vez promueve la activación del complejo cinasa inhibidora de kappa B (IKK). Este complejo es crucial en la señalización celular, ya que regula al factor nuclear kappa B (NF- κ B), el cual modula la expresión de las proteínas desacoplantes mitocondriales UCP4 y UCP5 (Uncoupling Proteins), las cuales reducen la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), contribuyendo así a mitigar el daño oxidativo [46]. Asimismo, se ha reportado que el benzoato de sodio aumenta la expresión de esta proteína al regular positivamente la ruta del mevalonato en astrocitos primarios de ratón y humanos, así como en células neuronales humanas [45], reforzando su potencial como candidato terapéutico contra la EP.

El kaempferol (Figura 8) es un flavonoide presente en el té, brócoli, toronja y cártamo, con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias [47]. Además, tiene la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica y reducir el daño

neuronal [48], lo cual lo hace un candidato ideal para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.

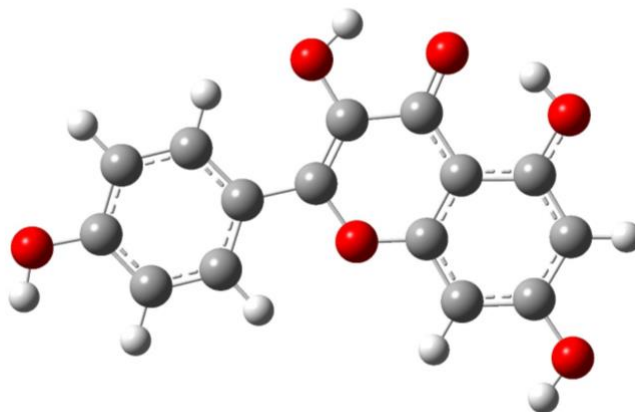


Figura 8. Estructura de Kaempferol visualizada en GaussView. Se observa su sistema de anillos aromáticos y los átomos de oxígeno (rojo), característicos de los flavonoides, los cuales pueden influir en su reactividad y en las posibles interacciones con la proteína DJ-1 [85].

Estudios han demostrado que las propiedades antioxidantes del kaempferol están asociadas a DJ-1, observándose que prevenía la muerte de células neuronales inducidas por el estrés oxidativo de una manera dependiente de DJ-1 [49], igualmente se ha demostrado que algunos derivados del kaempferol (Figura 9) se unen a la región C106 de DJ-1 promoviendo su función antioxidante, protegiendo de muerte celular inducida por ROS en células PC12 un modelo de células derivadas de feocromocitoma de glándula suprarrenal de rata utilizado para estudiar procesos neuronales [49].

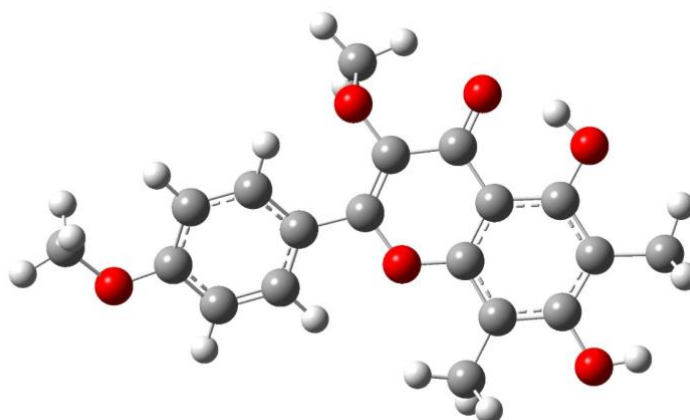


Figura 9. Estructura del 6,8-dimetil kaempferol 3,4'-dimetil éster, derivado de kaempferol, visualizado en GaussView, se observa la conservación de los anillos aromáticos y la incorporación de dos grupos éster en las posiciones 3 (anillo C) y 4' (anillo B), así como de grupos metilo en las posiciones 6 y 8 (anillo A). Estas modificaciones estructurales pueden alterar su distribución electrónica y reactividad, afectando su capacidad de interacción molecular [85].

La quercetina (Figura 10) es un flavonoide con propiedades antioxidantes y neuroprotectoras, presente en diversas verduras y plantas. Sus efectos neuroprotectores han sido demostrados en experimentos *in vitro* e *in vivo* [50]. En relación con DJ-1, se ha demostrado en un modelo de isquemia-reperfusión cerebral en ratas que la quercetina aumenta significativamente la expresión de DJ-1 y Nrf2, disminuyendo el estrés oxidativo y mejorando la función neurológica [51]. Su capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica ha sido reportada como moderada, aunque suficiente para ejercer efectos directos en el sistema nervioso central [52].

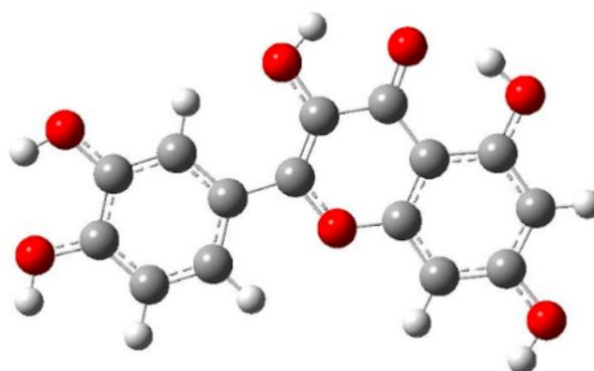


Figura 10. Estructura de la quercetina visualizada en GaussView. Se observan sus anillos aromáticos característicos junto con los átomos de oxígeno (rojo), los cuales influyen en su reactividad [85].

Moléculas sintéticas

El compuesto de unión 0045037 (UCP-45037) se une a la forma reducida de DJ-1 mediante la detección virtual *in silico* [53]. Igualmente, se han determinado los efectos neuroprotectores de este compuesto contra la neurodegeneración focal inducida por isquemia cerebral en ratas [53]. Para ello se utilizó la estructura cristalina de DJ-1 con el residuo Cys106 en su forma no oxidada y los datos de coordenadas tridimensionales de aproximadamente 30,000 compuestos químicos en el *University Compound Project* (UCP) de la Fundación para la Educación de la ciencia y la tecnología en Japón, para así realizar un estudio *in silico* y buscar compuestos de unión a DJ-1. UCP-45037 (Figura 11) obtuvo la mayor constante de unión y exhibió efectos neuroprotectores en un modelo de la EP en ratas, las cuales fueron inyectadas con 6-hidroxidopamina en la sustancia negra [53].

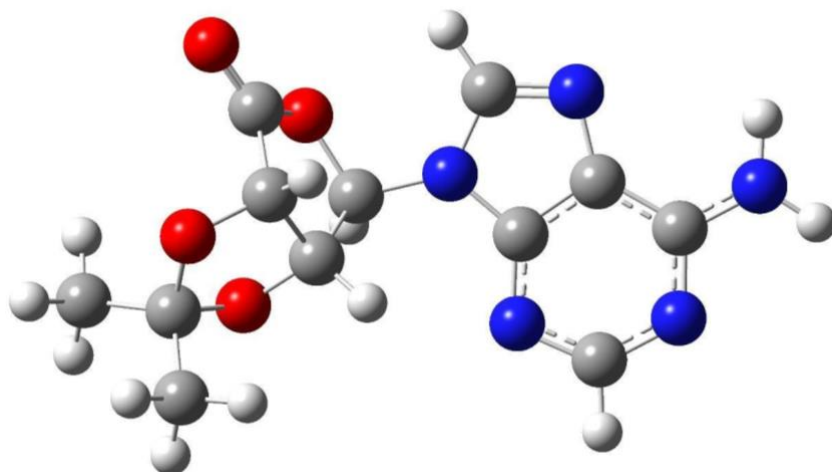


Figura 11. Estructura del compuesto de unión 0045037 (UCP-45037) visualizada en GaussView. Se muestran sus anillos aromáticos y la disposición de átomos de oxígeno (en rojo) y nitrógeno (en azul), cuya distribución podría influir en su reactividad electrónica y en su potencial de interacción con residuos del sitio activo de la proteína DJ-1. [85].

UCP-45037 puede unirse a Cys106 reducida a DJ-1 y mantener una respuesta neuroprotectora inducida por ésta. Se sugiere que los moduladores alostéricos para la proteína pueden ser útiles para el tratamiento neuroprotector y para el tratamiento de diversos trastornos mediados por el estrés oxidativo como la EP [53].

El compuesto N- [4- (8-metil(4-hidroimidazo[1,2-a]piridin-2-il)) fenil](3,4,5-trimetoxifenil) carboxamida, compuesto de unión a DJ-1 (Comp-23) [54], Figura 12, el cual protegió de la muerte celular inducida por el estrés oxidativo en células cultivadas [54].

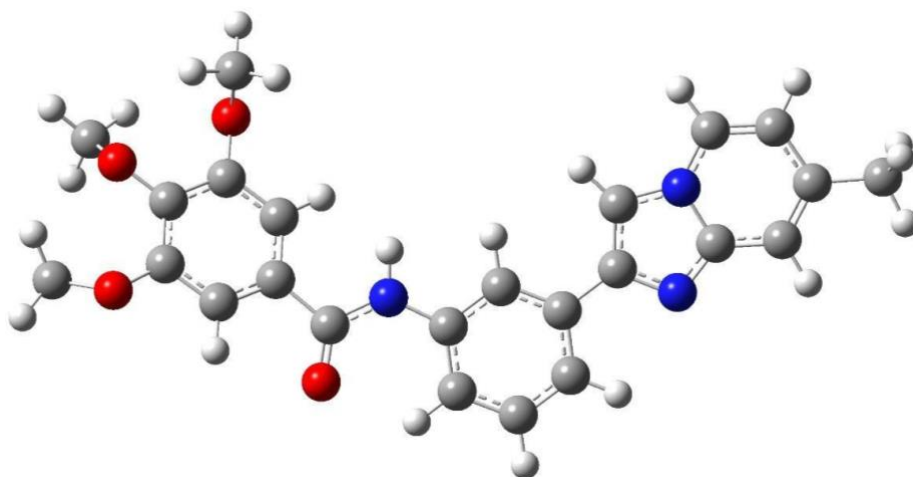


Figura 12. N- [4- (8-metil (4-hidroimidazo [1,2-a] piridin-2-il)) fenil] (3,4,5-trimetoxifenil) carboxamida, compuesto de unión a DJ-1 (comp-23) visualizado en GaussView. La estructura presenta un esqueleto central aromático con grupos funcionales, átomos de oxígeno (rojo) y nitrógeno (azul), que podrían estar involucrados en interacciones clave con la proteína DJ-1 [85].

Este compuesto evitó la muerte inducida por el estrés oxidativo de células SH-SY5Y y de células neuronales primarias del encéfalo ventral. Sin embargo, este efecto no se presentó en células SH-SY5Y a las que se les realizó un silenciamiento de DJ-1, indicando que la acción del compuesto depende de la presencia de ella [54].

Se examinó el efecto del Comp-23 en un sistema de dopamina comprometido con la neurotoxina 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP), usando ratones con la proteína DJ-1 silenciada [55]. Se demostró que el Comp-23 inhibe la muerte de las células neuronales en la sustancia negra y preservó el nivel de dopamina en ratones de tipo salvaje, pero no en ratones en los cuales se silenció la proteína, indicando un efecto dependiente de DJ-1 [55].

El 2-[3-(benciloxi)-4-metoxifenil]-N-[2-(7-metoxi-1,3-benzodioxol-5-il)etil] acetamida (UCP-54278) (Figura 13) es un compuesto que se encontró mediante un estudio *in silico* en donde utilizaron la estructura cristalina de DJ-1 oxidada en Cys106 con su forma SO₂H y los datos de 30,000 compuestos químicos del UPC (*University Compound Project*) de la Fundación para la

Educación de la ciencia y la tecnología en Japón, para buscar moléculas que se unieran al residuo oxidado como posibles candidatos terapéuticos en donde UCP-54278 mostró un *docking score* más alto $-103.362 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ [56].

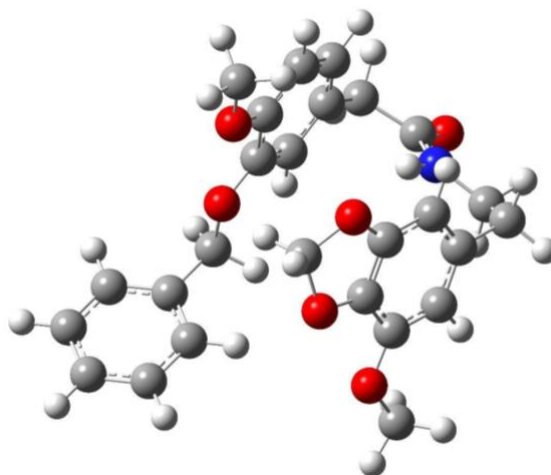


Figura 13. Estructura de 2-[3-(benciloxi)-4-metoxifenil]-N-[2-(7-metoxi-1,3-benzodioxol-5-il) etil] acetamida (UCP-54278) visualizada en GaussView, donde se observan sus anillos aromáticos junto a sus átomos de oxígeno (rojo) y nitrógeno (azul), los cuales pueden influir en su reactividad. La presencia de estos grupos funcionales sugiere posibles interacciones electrostáticas y de donación-aceptación de electrones [85].

Se han reportado los efectos de UCP-54278 en tres modelos diferentes de daño oxidativo: isquemia focal inducida por reperfusión, daño cerebral oxidativo en un modelo de rata *in vivo*, y muerte celular mediada por ROS en células normales y células SH-SY5Y. Se demostró que UCP-54278 inhibe la neurodegeneración inducida por oclusión intraluminal de arteria cerebral media (MCAO) y reperfusión en ratas. Asimismo, en células SH-SY5Y, se redujo la producción de ROS y la muerte celular inducida por ellas. Estos estudios demostraron que la proteína es necesaria para el efecto antioxidante y neuroprotector ya que este compuesto se une a DJ-1 como modulador estimulante [57].

3. Fundamentos teóricos

En la actualidad gracias a la química computacional es posible realizar simulaciones de estructuras moleculares y de reacciones químicas, basándose en las leyes fundamentales de la física.

Esta disciplina se divide en dos grandes áreas, centradas en la estructura y reactividad de las moléculas. Estas son la mecánica molecular (basada en la mecánica clásica) y los métodos de estructura electrónica (basada en la aplicación de la mecánica cuántica a los sistemas atómicos y moleculares), estas herramientas permiten calcular diversas propiedades moleculares como, la energía de un conjunto de átomos, la geometría óptima de un sistema molecular, el momento dipolar y las frecuencias vibracionales.

Los métodos de estructura electrónica tratan a los núcleos como partículas puntuales con carga y masa fijas, que interaccionan con los electrones según la ley de Coulomb. A su vez estos están basados en el planteamiento y la solución aproximada de la ecuación de Schrödinger [58].

3.1 Teoría del funcional de la densidad (DFT)

La teoría del funcional de la densidad describe sistemas de “N” cuerpos correlacionados, en donde se considera un sistema de N electrones como un problema de solo un electrón, el cual se busca resolver mediante el uso de aproximaciones de la ecuación de Schrödinger, en donde se describe la interacción entre los electrones (Figura 14) [59].

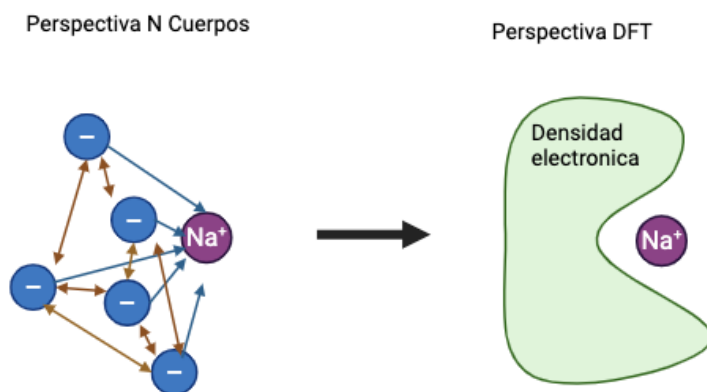


Figura 14. Comparación entre la perspectiva de NNN cuerpos y la teoría del funcional de la densidad (DFT). Elaboración propia en Biorender <https://BioRender.com>

Funcional B3LYP

Uno de los métodos más utilizados al nivel DFT debido a su bajo costo computacional y su asertividad con los datos obtenidos es B3LYP (Becke, 3-parameter, Lee-Yang-Parr), el cual es un funcional híbrido [60].

Este funcional se compone de tres parámetros de intercambio de Becke (B3), los cuales introducen una combinación lineal de intercambio de Hartree-Fock y funcionales de intercambio DFT [61], optimizando coeficientes empíricos para mejorar la precisión de la energía total del sistema y los funcionales de correlación de Lee, Yang y Parr (LYP), los cuales proporcionan una mejor descripción de la correlación electrónica, mejorando la predicción de propiedades energéticas y geométricas de los sistemas moleculares [62].

La expresión general del funcional B3LYP se define como [63]:

$$E_{xc}^{B3LYP} = (1 - a)E_{xc}^{LDA} + aE_{xc}^{HF} + b\Delta E_x^{B88} + c\Delta E_c^{lyp} + (1 - c)E_c^{vwn}$$

donde:

- E_{xc}^{LDA} Funcional de intercambio-corrección de la Aproximación de Densidad Local (LDA).
- aE_{xc}^{HF} Contribución de Hartree-Fock.
- $b\Delta E_x^{B88}$ Corrección al intercambio de Becke de 1988.

- $c\Delta E_c^{lyp}$ *Término de correlación de Lee-Yang-Parr.*
- E_c^{vwn} *Correlación de Vosko-Wilk-Nusair (VWN) a,b,c Coeficientes empíricos ajustados para mejorar el desempeño del funcional.*

Éste es ampliamente utilizado en la química cuántica para diferentes procesos como lo son la optimización de geometría molecular, el cálculo de energías de enlace, la estimación de propiedades espectroscópicas (IR, UV-Vis, RMN), estudios de reactividad química y mecanismos de reacción [64].

Su popularidad radica en que, en muchos casos, ofrece resultados comparables a métodos más precisos, pero con un menor costo computacional. Sin embargo, presenta limitaciones en sistemas con interacciones fuertemente correlacionadas, donde otros funcionales pueden ser más adecuados [65].

Conjuntos de Funciones de Base

Un conjunto de funciones de base es un conjunto de funciones matemáticas que se combinan para la conformación de orbitales moleculares, los cuales son utilizados para realizar cálculos de estructura electrónica [66]. Éstas asignan un conjunto de funciones matemáticas a cada átomo dentro de una molécula para aproximar sus orbitales. Entre los tipos de funciones base más utilizados se encuentran los orbitales de tipo Slater (STO) y los de tipo Gaussiano (GTO).

La función base 6-31G, es una de las más utilizadas debido a su equilibrio entre precisión y costo computacional [67]. Su nombre se debe a su estructura la cual cuenta con seis funciones gaussianas para describir los orbitales internos, un conjunto de tres funciones gaussianas compactas y un conjunto de una función gaussiana más difusa para capturar mejor la distribución electrónica (6-31), la G indica que se utilizan funciones gaussianas en lugar de funciones de tipo Slater (STO), facilitando los cálculos computacionales [68].

En combinación con el funcional B3LYP, que es ampliamente utilizado para la optimización de geometría molecular y cálculos de energía electrónica, 6-31G

proporciona una buena descripción de sistemas moleculares con un costo computacional moderado [69]. Además, este tipo de función base permite extensiones como 6-31G(d) con funciones de polarización las cuales permiten modelar la forma del orbital debido a efectos de excitación electrónica y 6-31+G con funciones difusas para describir sistemas en donde los electrones se encuentran más deslocalizados [70].

Momento dipolar

El momento dipolar es una propiedad relacionada directamente con la distribución electrónica de la molécula, por lo que permite estimar su polaridad global y su potencial de interacción con regiones cargadas o polares del entorno biológico. Estudios previos han demostrado que esta magnitud es altamente sensible a la calidad de la densidad electrónica, lo que la convierte en un descriptor confiable para caracterizar sistemas moleculares y su comportamiento en soluciones biológicas o en el sitio activo de una enzima [71].

Orbitales moleculares frontera

Los orbitales moleculares frontera HOMO (Orbital molecular ocupado de mayor energía) y LUMO (orbital molecular desocupado de menor energía) son parámetros de gran importancia para comprender la reactividad y la estabilidad de las moléculas [72]. HOMO representa la capacidad de donar electrones, mientras que LUMO indica la tendencia a aceptar electrones [73].

Según el teorema de Koopmans y el formalismo de Kohn-Sham dentro de la DFT, es posible relacionar la energía de estos orbitales con el potencial de ionización y la afinidad electrónica lo que permite estimar características clave de la reactividad química [74].

$$I = -E_{HOMO} \quad \text{Ec. 1}$$

$$A = -E_{LUMO} \quad \text{Ec. 2}$$

Parámetros de reactividad química global

Los parámetros de reactividad química global están basados en la teoría conceptual del funcional de la densidad (c-DFT) y se han convertido en una poderosa herramienta para el estudio semicuantitativo de la reactividad química orgánica. Estos parámetros buscan extraer los conceptos y principios relevantes de la densidad electrónica que permitan comprender y predecir el comportamiento químico de una molécula [74].

A partir de los valores de la energía de los orbitales frontera HOMO y LUMO se pueden obtener los parámetros de reactividad global, dentro de los que se encuentran: el potencial químico (μ) el cual se encuentra definido en la ecuación 3 y se define como el cambio de energía que existe en un sistema respecto al número de electrones N a un potencial externo fijo. Está asociado con la capacidad del sistema para intercambiar la densidad de electrones con el medio ambiente en su estado fundamental, la dureza química (η) la cual indica que tan resistente es un átomo a la transferencia de carga se muestra definida en la ecuación 4, la electronegatividad (χ) la cual describe la tendencia de un átomo o grupo funcional a atraer electrones hacia su campo se define en la ecuación 5, la blandura química (σ), la cual es el inverso de la dureza química describe la estabilidad y reactividad se muestra en la ecuación 6 y la electrofilicidad (ω) que describe la capacidad de una molécula para adquirir una carga electrónica adicional del entorno y se muestra en la ecuación 7 [72-77].

$$\mu \approx \frac{E_{HOMO} + E_{LUMO}}{2} \quad Ec. 3$$

$$\eta \approx \frac{E_{LUMO} - E_{HOMO}}{2} \quad Ec. 4$$

$$\chi \approx -\frac{E_{HOMO} + E_{LUMO}}{2} \quad Ec. 5$$

$$\sigma \approx \frac{1}{\eta} \quad Ec. 6$$

$$\omega \approx \frac{\chi^2}{2\eta} \quad Ec. 7$$

3.2 Docking molecular

Gracias a los avances en biología molecular, en años recientes se han identificado un gran número de dianas terapéuticas para el desarrollo de fármacos [78], de igual manera se han logrado desarrollar técnicas, que han ayudado a dilucidar las cualidades estructurales de diferentes proteínas, así como de complejos proteína-ligante. Estos avances han permitido el desarrollo de técnicas *in silico* para el diseño de fármacos basado en la estructura. Uno de los métodos más populares es el *docking* molecular el cual tiene su origen desde principios de la década de los ochenta [79].

El acoplamiento molecular consiste en la predicción de la conformación y orientación de un ligante, dentro de un sitio de unión dirigido (Figura 15) [80].

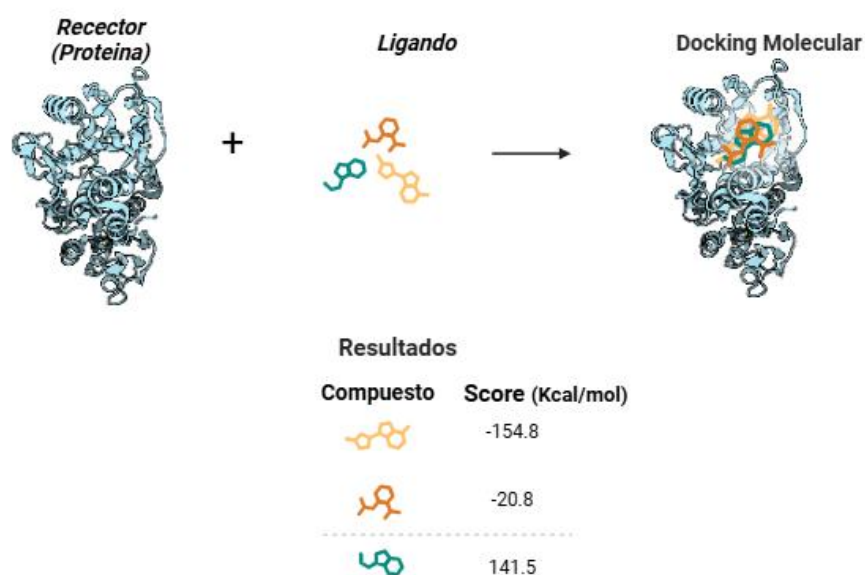


Figura 15. Representación gráfica del proceso de docking molecular. Se muestra la interacción entre un receptor proteico y diferentes ligantes, evaluando su acoplamiento mediante docking. En la Tabla de resultados, los valores de Score representan la energía de acoplamiento, donde valores más negativos indican una mayor afinidad del ligante por la proteína. Elaboración propia en Biorender <https://BioRender.com>

Generalmente los estudios de acoplamiento molecular cuentan con 2 objetivos principales, los cuales son el modelado estructural preciso y la predicción

correcta de la actividad que existe entre el ligante y el receptor. Sin embargo, cuando los ligantes se unen covalentemente al receptor el proceso de análisis de interacciones se complica debido a que en estos casos la reacción entre ligante y el receptor se tiene que tomar en cuenta. Esto llevó al desarrollo de la técnica del *docking* covalente [81-83].

Docking covalente.

El *docking* covalente permite predecir la interacción entre un ligante y un receptor a través de la formación de enlaces covalentes. Este se da cuando se cuenta con un receptor nucleofílico y un ligante electrófilo, para realizar el *docking* covalente en el programa AutoDock [81], normalmente se utilizan dos métodos los cuales consisten en un "método basado en cuadrícula" y un enfoque de "modificación de la cadena lateral flexible" [82].

El método basado en cuadrícula utiliza una función de polarización gaussiana centrada en el átomo de unión de la proteína y también la energía basada en la cuadrícula para sesgar la posición del ligante de enlace covalente. Sin embargo, la aplicación de una función de acoplamiento covalente requiere la definición manual de los átomos reactivos y el tipo de reacción, así como la preparación manual de los archivos de estructura del ligante y la proteína, lo que genera dificultades para ampliar el proceso con fines de detección.

En el método de cadena lateral flexible, el ligante unido covalentemente y la unión a la proteína se tratan como una única cadena lateral flexible y se muestran como parte del receptor [83]. Esto se logra mediante la modificación de las coordenadas del ligante conectando los dos átomos del residuo objetivo en el sitio de alquilación con una geometría química ideal. Posteriormente, estos dos átomos se superponen con los átomos correspondientes en la estructura del receptor para establecer el enlace covalente con el residuo antes de realizar el *docking* (Figura 16) [83].

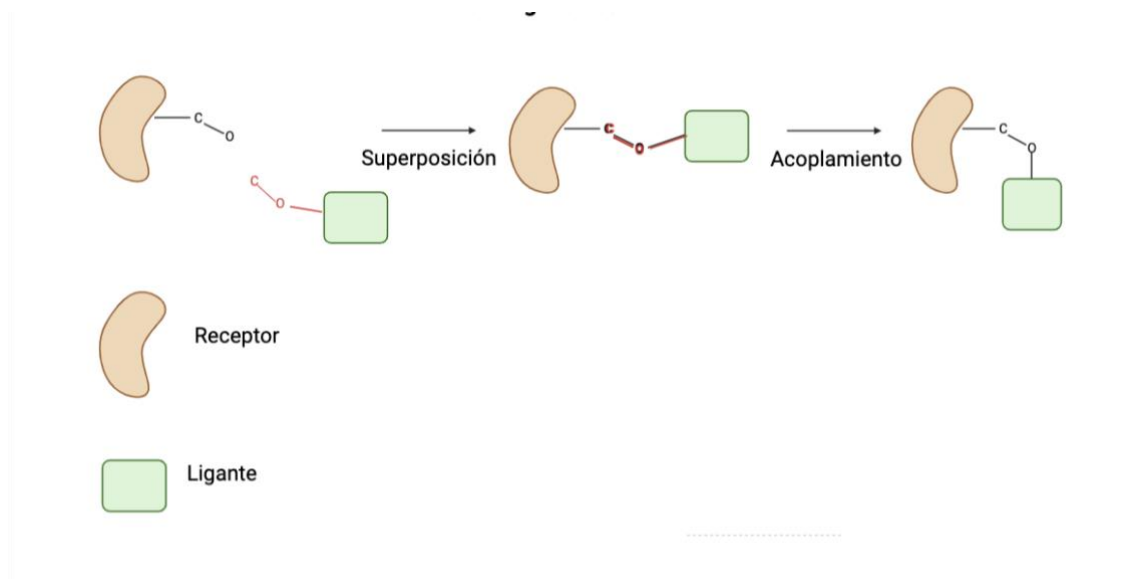


Figura 16. Representación gráfica del método de cadena flexible que muestra la superposición del ligante con el residuo de la proteína, seguido de la optimización de su conformación utilizando AutoDock4 [81-83] Elaboración propia en Biorender <https://BioRender.com>

4. Hipótesis

Algunos compuestos naturales o sintéticos forman un enlace covalente con el residuo Cys106 de la proteína DJ-1 para inhibir su oxidación y este proceso puede ser descrito de manera adecuada mediante herramientas de biología y química computacional.

5. Objetivos

Objetivo General:

Estudiar las propiedades estructurales y de reactividad química de un grupo de compuestos con posible actividad antiparkinsoniana y su interacción con la proteína DJ-1 involucrada en la EP.

Objetivos particulares:

Realizar cálculos de estructura molecular y de reactividad química global para caracterizar teóricamente un grupo de compuestos propuestos (benzoato de

sodio, kaempferol, derivado de kaempferol, quercetina, UCP-54278, UCP-45037 y Comp-23) para el tratamiento de la EP.

Realizar estudios de acoplamiento molecular de la proteína DJ-1 con el grupo de compuestos antiparkinsonianos caracterizados previamente para identificar las interacciones moleculares más relevantes.

6. Metodología

El presente trabajo de tesis está dividido en dos partes (Figura 17).

1. Optimización de la estructura molecular y cálculo de los índices de reactividad global de los compuestos con probable actividad en DJ-1.

Selección y preparación de los compuestos.

En primer lugar, se realizó la búsqueda de compuestos, tanto fitoquímicos como sintéticos, con potencial actividad sobre la proteína DJ-1. Para ello, se consultaron bases de datos químicas como PubChem y la base de datos, software y conocimientos sobre química estructural (CCDC) para la obtención de los ligantes. Las estructuras de los compuestos se descargaron en los formatos CIF y .mol2. Posteriormente, se validaron en Avogadro para confirmar que correspondían a los compuestos esperados y que su geometría era correcta.

Optimización de la estructura molecular y cálculo de los índices de reactividad global

Una vez validadas las estructuras, se procedió a la optimización y cálculo de los índices de reactividad global, mediante el software Gaussian09 [84], utilizando el método B3LYP/6-31G. Para cada compuesto, se determinaron las energías de los orbitales moleculares frontera (HOMO y LUMO), el GAP entre éstos, las frecuencias vibracionales y el momento dipolar.

A partir de estos datos, se calcularon los siguientes índices de reactividad química global: potencial químico, dureza, blandura, electronegatividad e índice de electrofilicidad.

Una vez obtenidos y validados estos resultados, se procedió con la siguiente etapa del estudio.

2. *Docking* molecular entre los compuestos optimizados y la proteína DJ-1.

Selección y preparación de la proteína

Las estructuras cristalográficas de la proteína DJ-1 se obtuvieron del *Protein Data Bank* (PDB). Se seleccionaron dos estructuras proteicas, DJ-1 sin modificación en Cys106 (PDB ID: 6E5Z) y DJ-1 unido a 1-etilindol-2,3 diona un inhibidor de DJ-1 (PDB ID: 6AFI) como control [85].

Cálculos de acoplamiento

Para evaluar la interacción de los compuestos optimizados con la proteína DJ-1 (PDB ID: 6E5Z), se utilizó el método de *docking* covalente con cadena lateral flexible, implementado en AutoDock4 [81], en donde primero se procedió con la preparación de los ligantes y control, utilizando el *software* Marvin [86], para generar la alineación inicial, asegurando que la estructura del ligante fuera modelada correctamente para la interacción covalente con la proteína. En este proceso, se incluyó la cadena lateral del residuo Cys106 como parte flexible, permitiendo orientar correctamente el grupo nucleofílico en el sitio de unión para facilitar la formación del enlace covalente con el ligante.

Por su parte, la proteína DJ-1 fue preprocesada con PyMol [87] para eliminar moléculas de agua, agregar hidrógenos polares y asignar cargas parciales.

Para la preparación final del *docking*, se generaron los archivos PDBQT del receptor y del ligante. Este procedimiento permitió definir la cadena lateral flexible del residuo Cys106, asegurando un modelado más preciso de la interacción covalente.

Se definió la caja de *docking* centrada en la región Cys106 de la proteína DJ-1, asegurando que el espacio de búsqueda incluyera los residuos clave para la interacción. Se establecieron los parámetros de *docking* según las recomendaciones del protocolo de AutoDock4 [83], generando los archivos GPF (*Grid Parameter File*) y DPF (*Docking Parameter File*) para ejecutar el *docking* en AutoDock 4 [81].

Análisis de los resultados

Los complejos proteína-ligante obtenidos fueron analizados con AutoDockTools, BIOVIA Discovery Studio y UCSF Chimera [81,88,89] identificando las interacciones clave como puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y fuerzas de van der Waals.

Se compararon las energías de interacción para seleccionar los mejores candidatos, priorizando aquellos que mostraron mayor estabilidad y afinidad por el residuo Cys106.

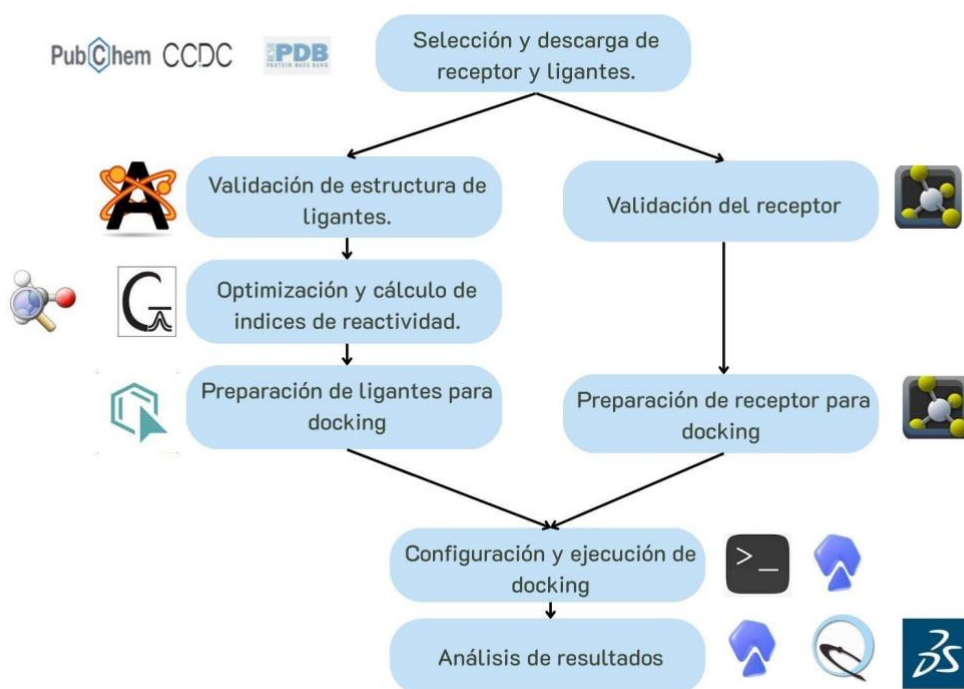


Figura 17. Diagrama de Flujo de la metodología de la descripción electrónica de los ligantes y su posterior interacción molecular con DJ-1. Elaboración propia en Biorender <https://BioRender.com>

7. Resultados y Discusión

7.1 Estructura molecular y reactividad química global de los ligantes

Se realizó la optimización de geometría y el cálculo de los índices de reactividad global de los compuestos seleccionados y el control, utilizando el método B3LYP/6-31G en el programa Gaussian09 [84]. A partir de estos cálculos, se obtuvo información fundamental sobre las propiedades electrónicas de los ligantes, incluyendo los valores de los orbitales moleculares frontera (HOMO y LUMO), los índices de reactividad global y los mapas de potencial electrostático molecular (MEP). Estos parámetros son determinantes para predecir la capacidad de los compuestos de interactuar con el residuo Cys106 de la proteína DJ-1.

Este residuo actúa como nucleófilo, debido a su grupo tiol (-SH) el cual se desprotona fácilmente a pH fisiológico formando un ion tiolato ($-S^-$) con alta reactividad hacia centros electrofílicos, especialmente en medios fisiológicos [90]. Por ello resulta importante evaluar el potencial electrofílico de los ligantes seleccionados y su potencial para reaccionar covalentemente con Cys106 (Figura 18).

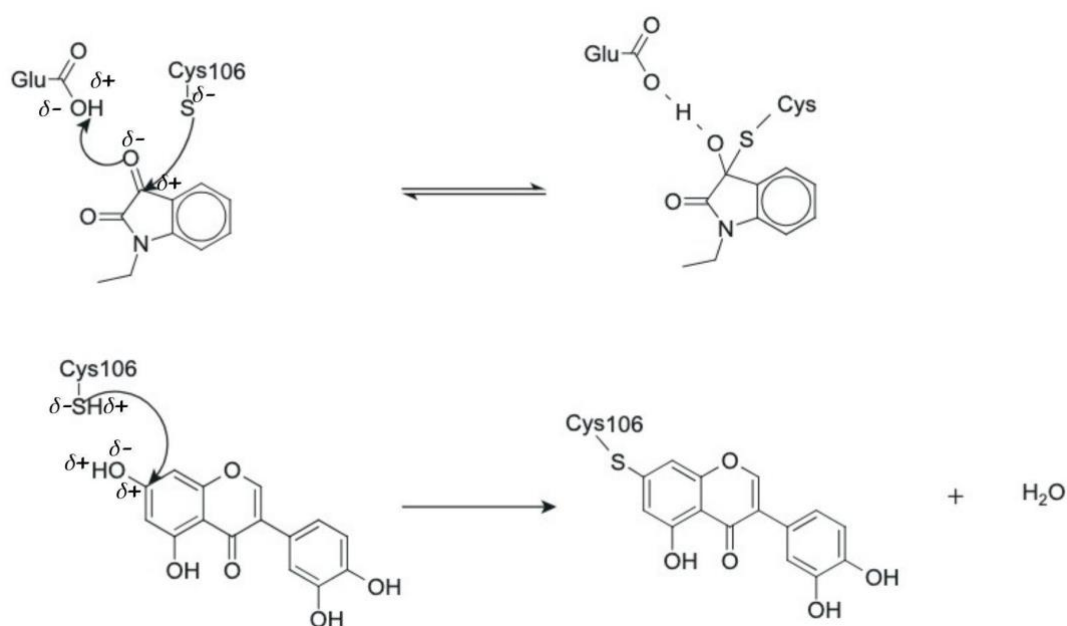


Figura 18. Representación esquemática de la formación de enlaces covalentes entre compuestos electrofílicos y el residuo Cys106 de la proteína DJ-1. En la parte superior se

muestra una interacción reversible entre Cys106 y la 1-etilindol-2,3-diona. El grupo tiolato ($-S^-$) ataca un carbono parcialmente positivo del anillo indol, cuya reactividad se ve aumentada por la interacción del oxígeno carbonílico con el residuo Glu18, que estabiliza la densidad electrónica mediante un puente de hidrógeno. En la parte inferior, se representa la formación de un enlace covalente irreversible entre Cys106 y la quercetina, un flavonoide con grupos hidroxilo activados, con la liberación de una molécula de agua. Estas reacciones ejemplifican los posibles mecanismos de interacción covalente de los ligantes evaluados con el residuo Cys106.

Se analizaron todos los ligantes con efecto potencial sobre la proteína DJ-1, así como el ligante control (1-etilindol-2,3-diona), con el objetivo de evaluar su capacidad para interactuar covalentemente con el residuo nucleofílico Cys106. En el caso del benzoato de sodio, se consideró únicamente la especie activa en solución, ya que, en condiciones fisiológicas, esta sal se disocia completamente, liberando el ion benzoato ($-C_6H_5COO^-$) como forma reactiva, mientras que el ion sodio (Na^+) permanece libre en disolución y no participa directamente en interacciones específicas con la proteína [91].

Los valores obtenidos de los parámetros electrónicos para todos los compuestos se presentan en la Tabla 1 y Tabla 2

Tabla 1. Valores de los orbitales moleculares (en eV), energía gap (en eV) y momento dipolar (en Debye) de cada compuesto obtenidos en el nivel de teoría B3LYP/6-31G.

Compuesto	LUMO	HOMO	ΔE_{Gap} Energía orbital LUMO - HOMO)	Momento dipolar
<i>Benzoato de sodio</i>	3.982	-1.117	4.099	7.9
<i>Quercetina</i>	-2.237	-5.954	3.718	7.375
<i>Kaempferol</i>	-2.244	-5.979	3.735	6.042
<i>Derivado kaempferol</i>	-1.935	-5.799	3.864	3.415
<i>UCP-54278</i>	-0.688	-5.814	5.126	3.573
<i>UCP-45037</i>	-1.230	-6.536	5.305	2.532
<i>Comp-23</i>	-1.419	-5.767	4.348	7.804
<i>Control</i>	-2.841	-6.434	3.593	6.545

Tabla 2. Valores de reactividad química global (en eV).

Compuesto	Potencial químico (μ)	Dureza (η)	Blandura (σ)	Electronegatividad (χ)	Índice de electrofilicidad (ω)
Benzoato de sodio	1.932	4.099	0.243	-1.932	.911
Quercetina	-4.095	1.859	0.538	4.095	4.511
Kaempferol	-4.111	1.868	0.535	4.111	4.525
Derivado kaempferol	-3.867	1.932	0.518	3.867	3.869
UCP-54278	-3.251	2.563	0.390	3.251	2.061
UCP-45037	-3.883	2.653	0.377	3.883	2.842
Comp-23	-3.593	2.174	0.460	3.593	2.969
Control	-4.638	1.796	0.557	4.337	5.236

En la Tabla 1 se presentan los valores de los orbitales moleculares frontera (HOMO y LUMO) de los compuestos analizados. En cuanto al orbital LUMO, el ligante control presenta el valor más bajo de todos (-2.841 eV), lo que indica una alta afinidad electrónica, favoreciendo su potencial para interactuar con el residuo nucleofílico Cys106 de la proteína DJ-1. Los ligantes fitoquímicos muestran valores cercanos al control (entre -2.237 eV y -2.243 eV), mientras que los ligantes sintéticos exhiben valores más altos (entre -0.688 eV y -1.418 eV), lo que indica una menor tendencia a aceptar electrones.

El valor del LUMO está directamente relacionado con la electrofilicidad de un compuesto: cuanto más bajo es este valor, más favorable es la aceptación de electrones desde un nucleófilo [74]. Por lo tanto, se puede inferir que estos compuestos podrían participar en mecanismos de interacción mediados por transferencia electrónica o formación de enlaces covalentes reversibles,

particularmente con el residuo Cys106 de DJ-1. En contraste, el ion benzoato presenta un valor de LUMO de 3.982 eV el más alto de todos los ligantes evaluados, o cual refleja su escasa o nula capacidad electrofílica. Esto se debe a su naturaleza aniónica, ya que, al tratarse de un ion con electrones disponibles, actúa como un nucleófilo, en lugar de un aceptor de electrones. Esta propiedad lo posiciona como un candidato adecuado para ser utilizado como control negativo, permitiendo así evaluar comparativamente la capacidad electrofílica de los demás ligantes frente al residuo Cys106.

Por otro lado, el gap de energía HOMO-LUMO (ΔE) permite estimar la reactividad química y estabilidad electrónica de los compuestos en términos de estabilidad termodinámica [73,74]. En los estudios realizados se observa que el compuesto control (1-etilindol-2,3-diona) presentó un valor de ΔE de 3.592 eV, lo que sugiere una reactividad moderada, compatible con la posibilidad de participar en interacciones redox o de tipo covalente reversible con el residuo Cys106 de la proteína DJ-1. En este contexto, los ligantes fitoquímicos, con valores de ΔE entre 3.718 eV y 3.864 eV, se encuentran muy próximos al valor del control, lo que sugiere que podrían presentar un comportamiento electrónico similar a este. Por otro lado, los ligantes sintéticos mostraron valores de ΔE más elevados, en un rango de 4.347 eV a 5.305 eV, lo que indica una mayor estabilidad electrónica y, por tanto, menor reactividad química. Esta característica podría favorecer interacciones más específicas y menos reactivas con la proteína, como puentes de hidrógeno o interacciones de van der Waals, especialmente si el entorno del sitio activo favorece un reconocimiento más selectivo que reactivo. El ion benzoato por su parte presenta un valor de ΔE 4.099 ubicado entre los fitoquímicos y los compuestos sintéticos. Este valor refleja una estabilidad electrónica moderada; sin embargo, debido a su alta densidad electrónica, su comportamiento se asocia más con la donación de electrones que con la aceptación, diferenciándolo del resto de los ligantes evaluados.

En cuanto al momento dipolar, se observa una variabilidad considerable en ambos grupos de compuestos. El ligante control presenta un valor de 6.545 D, en relación con este valor de referencia se identifican compuestos con mayor

polaridad, como el benzoato de sodio (7.9 D) y la quercetina (7.374 D), los cuales podrían tener una mayor capacidad para establecer interacciones dipolo-dipolo y puentes de hidrógeno con la proteína.

Por otro lado, compuestos con momentos dipolares menores al del control, como el derivado de kaempferol (3.410 D) o comp-23 (4.804 D), presentan una polaridad reducida, lo cual sugiere que podrían preferir establecer interacciones hidrofóbicas dentro del entorno del sitio activo de DJ-1. Esta diferencia en polaridad podría influir directamente en la orientación del ligante dentro del bolsillo activo y en la naturaleza de la unión, adicionalmente se observa que todas las estructuras optimizadas presentan únicamente frecuencias vibracionales positivas, lo que confirma que se encuentran en un mínimo de energía en la superficie de energía potencial y, por lo tanto, son estables para su posterior análisis en estudios de *docking* molecular.

De acuerdo con los resultados obtenidos en la Tabla 2, la mayoría de los compuestos analizados presentan valores de potencial químico (μ) menos negativos que el control (-4.638 eV), lo que sugiere que podrían tener una mayor tendencia a comportarse como electrófilos en comparación con dicho ligante de referencia. Este comportamiento es particularmente evidente en los compuestos sintéticos, los cuales muestran los valores de μ más cercanos a cero, en un intervalo que va de -3.882 a -3.250 eV. Esta característica indica una menor capacidad para donar electrones, es decir, una baja nucleofilicidad y una predisposición más marcada a aceptar electrones, lo cual resulta deseable si se considera que el residuo Cys106 de la proteína DJ-1 actúa como nucleófilo.

En cambio, los compuestos fitoquímicos presentan valores de μ más negativos, dentro de un intervalo de (-4.111 a -3.867 eV). Aunque esto indica que poseen una nucleofilicidad ligeramente mayor en comparación con los sintéticos, sus valores siguen siendo menos negativos que el del control, por lo que no se descarta su posible carácter electrofílico. Esta dualidad sugiere que, dependiendo del entorno molecular, algunos de estos compuestos podrían actuar como aceptores de electrones en la interacción con Cys106. En

contraste, el ion benzoato presenta un valor positivo (1.932 eV) lo que refuerza su carácter nucleofílico como donador de electrones.

En cuanto a la dureza (η), se observa que los ligantes sintéticos presentan los valores más altos, en un intervalo que va de 2.173 a 2.652 eV, superando al control (1.796 eV) y a los compuestos fitoquímicos, cuyo intervalo se sitúa entre 1.859 y 1.932 eV. Este comportamiento sugiere que los compuestos sintéticos poseen una mayor estabilidad electrónica y menor reactividad. Sin embargo, la diferencia con respecto al control no es lo suficientemente marcada como para descartar su potencial como ligantes activos, especialmente si se consideran otros factores como las interacciones específicas con el sitio nucleofílico de la proteína.

Por otro lado, los ligantes fitoquímicos muestran valores de dureza dentro de un intervalo que abarca el valor del control, lo cual sugiere que podrían tener una resistencia al intercambio electrónico comparable. Esta dureza moderada, junto con sus otras propiedades electrónicas, indica que podrían mantener una buena capacidad de respuesta frente al residuo Cys106, facilitando interacciones como la formación de enlaces covalentes, puentes de hidrógeno, interacciones tipo π -alquilo, entre otras. Por su parte, el ion benzoato presenta el valor de dureza más elevado (4.099 eV) entre todos los compuestos analizados, lo cual indica una alta estabilidad electrónica y, por lo tanto, una baja tendencia a participar en procesos de intercambio de carga. Esta propiedad refuerza su comportamiento poco reactivo frente a interacciones electrofílicas, en coherencia con su naturaleza nucleofílica.

Respecto a la blandura (σ), que representa la facilidad con la que una molécula puede adaptarse al intercambio de carga electrónica, se observa que los compuestos sintéticos presentan los valores más bajos, en un intervalo de 0.390 a 0.460 eV⁻¹, lo que indica que son menos reactivos en comparación con el control (0.556 eV⁻¹). Este comportamiento sugiere una menor flexibilidad electrónica para formar enlaces covalentes con el residuo Cys106, mientras que los ligantes fitoquímicos muestran valores de blandura que oscilan entre 0.535 y 0.518 eV⁻¹, ubicándose en un valor muy cercano e incluso superior al del control. Esto indica que poseen una reactividad comparable o incluso mayor

que el ligante de referencia, lo cual puede favorecer procesos de transferencia electrónica en el sitio activo de la proteína. Esta propiedad los posiciona como candidatos con buena adaptabilidad electrónica frente al carácter nucleofílico de Cys106. El ion benzoato presenta el valor más bajo de blandura química (0.243 eV^{-1}), lo que indica una muy baja capacidad para adaptarse al intercambio de electrones, coherente con su comportamiento poco reactivo frente a especies electrófilas.

En cuanto a la electronegatividad (χ), se observa que la mayoría los ligantes analizados presentan valores inferiores al del control ($\chi = 4.337 \text{ eV}$). En particular, los ligantes sintéticos muestran valores en un intervalo de 3.250 a 3.882 eV, mientras que los compuestos fitoquímicos presentan valores ligeramente superiores, en el intervalo de 3.867 a 4.111 eV. Si bien estos valores indican que ambos grupos de compuestos son menos electronegativos que el control, aún se encuentran en un intervalo considerable que refleja una buena capacidad para atraer electrones, especialmente en un contexto donde se espera que interactúen con un sitio nucleofílico como el residuo Cys106, esta capacidad moderada de atracción electrónica refuerza su potencial electrofílico, especialmente en combinación con otras propiedades como la blandura y el índice de electrofilicidad. Por otro lado, el ion benzoato destaca por su comportamiento opuesto. Presenta un potencial químico positivo (1.932 eV), lo que en consecuencia le confiere una electronegatividad negativa (-1.932 eV) bajo la definición $\chi = -\mu$. Este valor indica una nula capacidad para atraer electrones, lo cual es coherente con su carácter fuertemente nucleofílico. Esta propiedad refuerza su rol como control negativo, ya que difícilmente podrá aceptar densidad electrónica desde el grupo tiol de Cys106, en contraste con los demás ligantes estudiados.

Cabe señalar que si bien el análisis individual de los parámetros de reactividad química global de los ligantes proporciona información útil sobre la tendencia de los ligantes a aceptar y donar electrones, es importante mencionar que estos parámetros no actúan de forma aislada. En este sentido el índice de electrofilicidad al ser un parámetro que integra los valores del potencial químico y la dureza [78], presenta una visión más clara del carácter electrofílico de los

ligantes, los controles tanto positivo como negativo y su interacción con sitios nucleofílicos como el residuo Cys106.

Al analizar el índice de electrofilicidad (ω), se confirma que el ligante control presenta el valor más alto ($\omega = 5.235$ eV), lo que valida su uso como referencia, ya que es conocido por interactuar eficazmente con el residuo Cys106. Este valor tan elevado indica una gran capacidad de aceptar electrones, característica esencial para establecer una interacción con un nucleófilo, como lo es el tiol de la cisteína.

En comparación, los compuestos fitoquímicos muestran valores relativamente cercanos al control, en un intervalo de 3,869 a 4.525 eV, lo que los posiciona como los ligantes con mayor potencial de interacción electrofílica. En este grupo, destacan claramente la quercetina y el kaempferol, cuyos índices de electrofilicidad (4.511 y 4.524 eV, respectivamente) son los más altos, lo cual sugiere una alta afinidad potencial por el sitio activo de DJ-1.

Por otro lado, los ligantes sintéticos presentan valores de ω considerablemente menores, en un intervalo de 2.968 a 2.061 eV, lo que indica una menor capacidad para aceptar densidad electrónica. Este perfil podría limitar su eficacia en interacciones con Cys106, a menos que actúen mediante mecanismos alternativos como interacciones no covalentes. Aun así, dentro de este grupo, el Comp-23 destaca por tener el valor más alto de ω (2.968 eV), lo que lo posiciona como el más prometedor entre los compuestos sintéticos estudiados, aunque aún por debajo de los valores observados en los fitoquímicos. Finalmente, el ion benzoato presenta el índice de electrofilicidad más bajo de todos los compuestos analizados $\omega = 0.911$ eV, lo que indica una capacidad nula para aceptar electrones. Esta característica confirma su carácter nucleofílico y refuerza su uso como control negativo, ya que no se espera que participe en interacciones covalentes con el residuo Cys106, sino únicamente en interacciones débiles del tipo electrostático o por puentes de hidrógeno.

Con base en el análisis de los parámetros de reactividad química global, particularmente los ligantes que se presentan como mejores candidatos para

interactuar con Cys106 son el kaempferol y la quercetina del lado de los ligantes fitoquímicos y Comp-23 del lado de los ligantes sintéticos, pues por sus valores de reactividad química global podrían tanto donar como aceptar electrones en la interacción con la proteína.

En la Figura 19 se muestra la distribución de los orbitales HOMO y LUMO del ligante control (1-etilindol-2,3-diona). Ambos orbitales se encuentran distribuidos en el anillo indol, lo que indica una alta densidad electrónica en esa región. El orbital HOMO predomina sobre la región central del anillo indol y el grupo etilo, mientras que el orbital LUMO se extiende en la región exterior del anillo indol donde se encuentra el grupo carbonilo, esta separación indica que regiones bien definidas para donar y aceptar electrones, lo cual favorece las posibles interacciones electrónicas con el residuo Cys106, que actúa como nucleófilo. La complementación en la disposición de los orbitales, junto con su deslocalización sobre grupos funcionales activos, respalda el alto índice de electrofilicidad ($\omega = 5.235$ eV) y su capacidad para aceptar densidad electrónica desde grupo tiol de la cisteína. En las Figuras 20-23 se observa la distribución de los orbitales HOMO y LUMO del control negativo y los ligantes fitoquímicos. En el caso del ion benzoato, el análisis de sus orbitales frontera revela que el orbital HOMO se localiza principalmente sobre el grupo carboxilato, indicando una región con alta densidad electrónica. El orbital LUMO se distribuye ligeramente sobre el mismo grupo funcional y zonas del anillo aromático, reflejando una capacidad limitada para aceptar electrones. Esta disposición, junto con su bajo índice de electrofilicidad ($\omega = 0.911$ eV), alta dureza y baja blandura, confirma su naturaleza nucleofílica. Por ello, se considera un control negativo adecuado, ya que su interacción con la proteína DJ-1 estaría mediada principalmente por enlaces no covalentes como puentes de hidrógeno o interacciones electrostáticas, y no por enlaces covalentes con el residuo Cys106. Por su parte la quercetina, el kaempferol y su derivado, al compartir una estructura flavonoide con múltiples anillos aromáticos y grupos con átomos de oxígeno como carbonilo e hidroxilo, ambos orbitales se encuentran distribuidos principalmente sobre estas regiones. Sin embargo, en el derivado de kaempferol, se nota una mayor deslocalización electrónica en comparación con la quercetina y el kaempferol, lo que podría influir en su

estabilidad y reactividad química. En cuanto a los compuestos sintéticos (Figuras 24-26) se observa que el comp-23 muestra una mayor deslocalización electrónica en su orbital HOMO, lo que sugiere una alta capacidad de donación electrónica, mientras que su orbital LUMO se encuentra distribuido en zonas específicas, indicando posibles sitios de interacción con DJ-1. Por su parte, UCP-54278 presenta un orbital HOMO con densidad electrónica localizada en los anillos aromáticos y grupos carbonilo, lo que sugiere estabilidad en su estructura electrónica. Su orbital LUMO se encuentra concentrado en regiones definidas, lo que puede influir en su capacidad de aceptar electrones y, por ende, en su posible efecto inhibitor sobre la oxidación de Cys106. En UCP-45037, se observa un orbital HOMO distribuido en los anillos aromáticos y grupos funcionales con átomos de nitrógeno, mientras que su orbital LUMO presenta una mayor polarización en comparación con los otros compuestos. Esta característica podría influir en su afinidad por la proteína y en su posible mecanismo de interacción con el residuo Cys106. Estos resultados sugieren que los compuestos analizados poseen regiones con alta reactividad química que podrían facilitar su acoplamiento con DJ-1 y potencialmente inhibir la oxidación de Cys106.

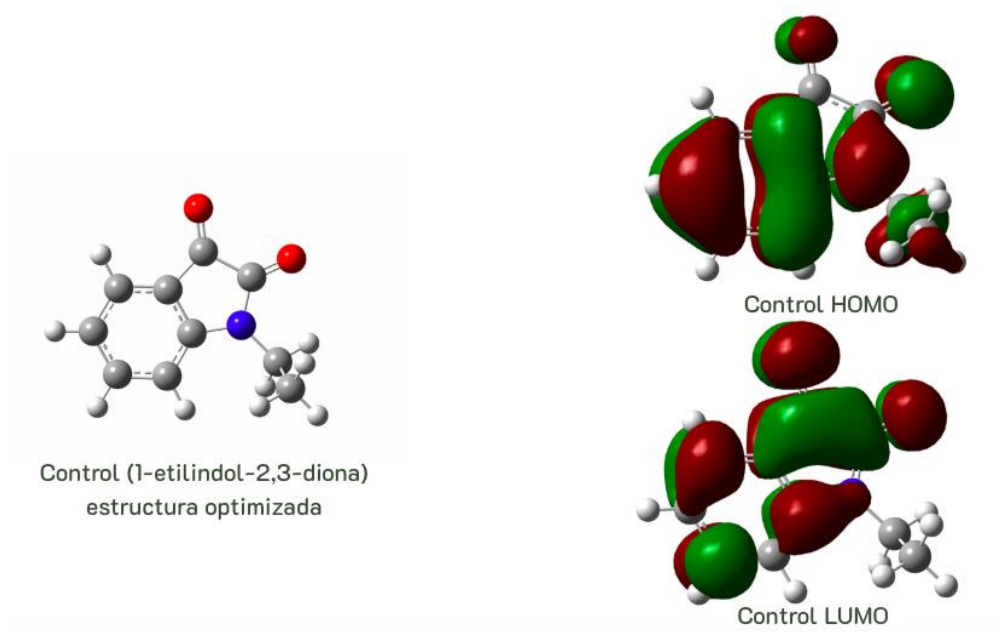


Figura 19. Visualización de orbitales moleculares frontera (HOMO Y LUMO) de ligante Control (1-etilindol-2,3 diona) [84,85].

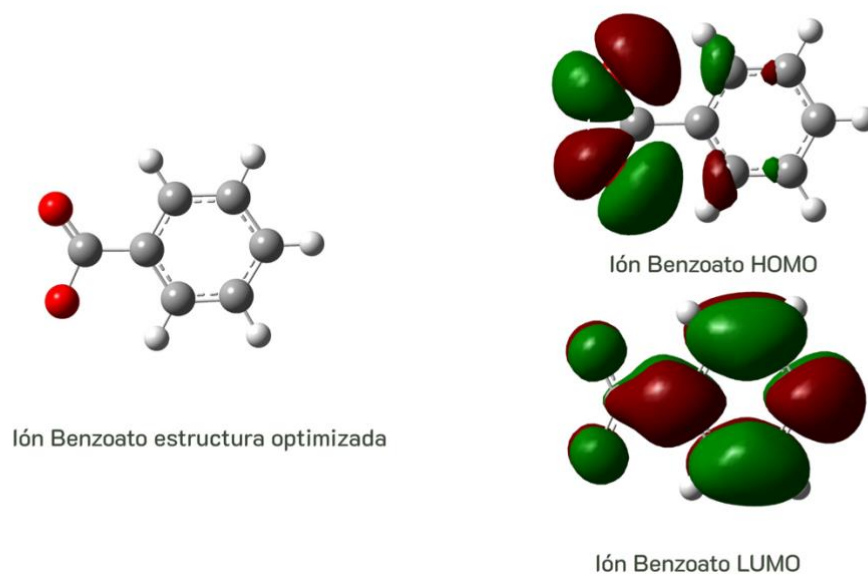


Figura 20. Visualización de orbitales moleculares frontera (HOMO Y LUMO) del ion benzoato (control negativo) [84,91].

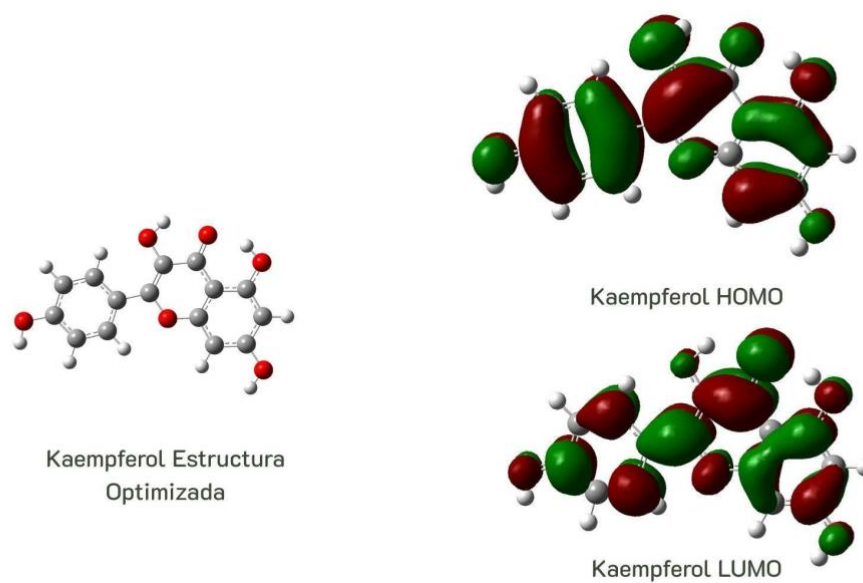
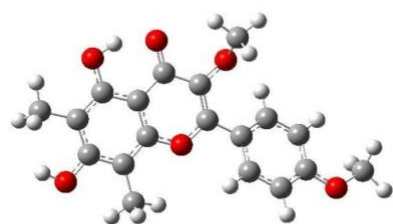
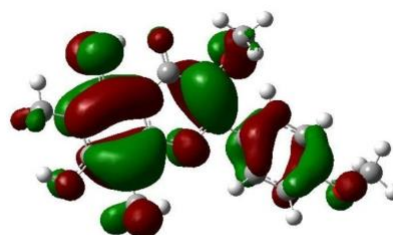


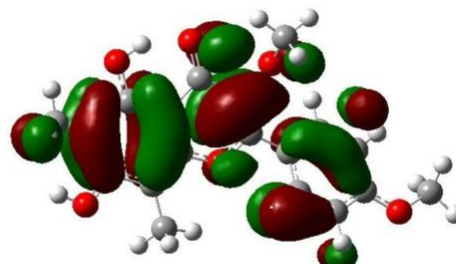
Figura 21. Visualización de los orbitales moleculares frontera (HOMO y LUMO) del kaempferol. [84].



Derivado Kaempferol
Optimizado

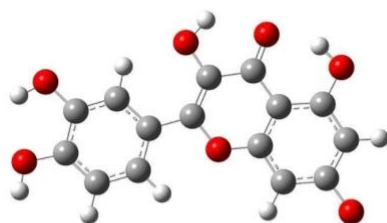


Derivado Kaempferol HOMO

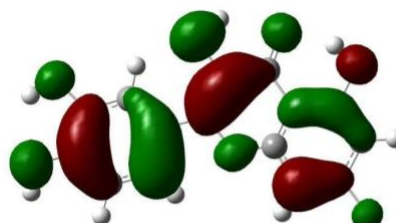


Derivado Kaempferol LUMO

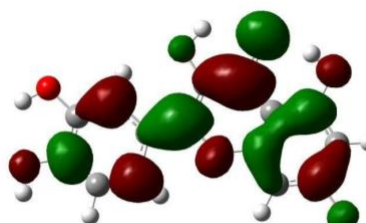
Figura 22. Visualización de orbitales moleculares frontera (HOMO Y LUMO) de derivado de kaempferol (6,8-dimetil kaempferol 3,4'-dimetil éster) [84].



Quercetina Optimizada



Quercetina HOMO



Quercetina LUMO

Figura 23. Visualización de orbitales moleculares frontera (HOMO Y LUMO) de Quercetina [84].

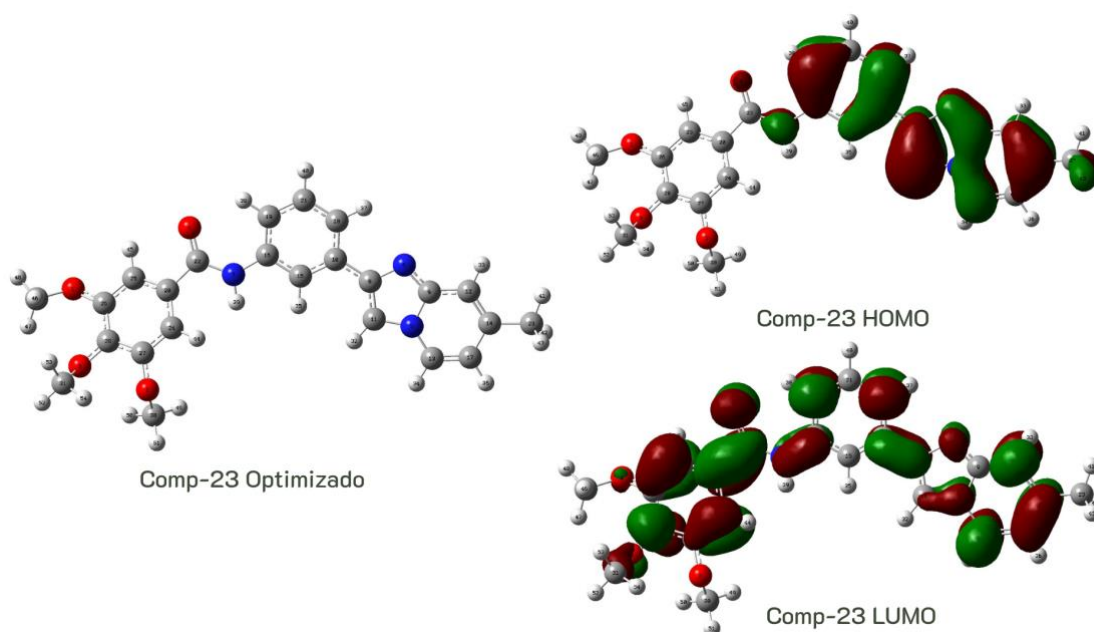


Figura 24. Visualización de orbitales moleculares frontera (HOMO Y LUMO) de Comp 23 [84].

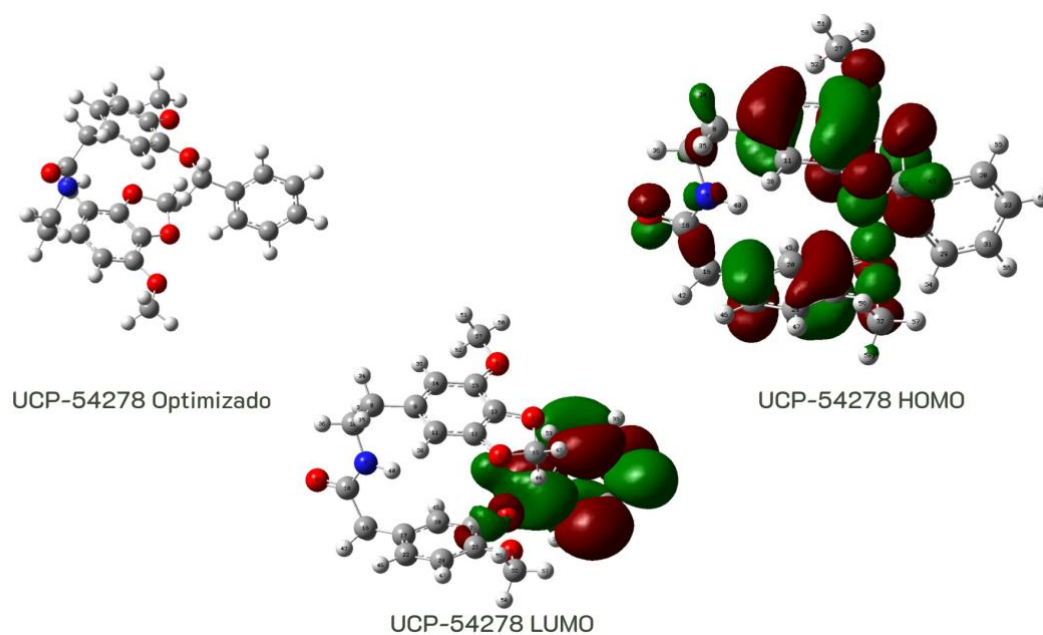


Figura 25. Distribución de los orbitales frontera (HOMO y LUMO) de UCP-54278 [84].

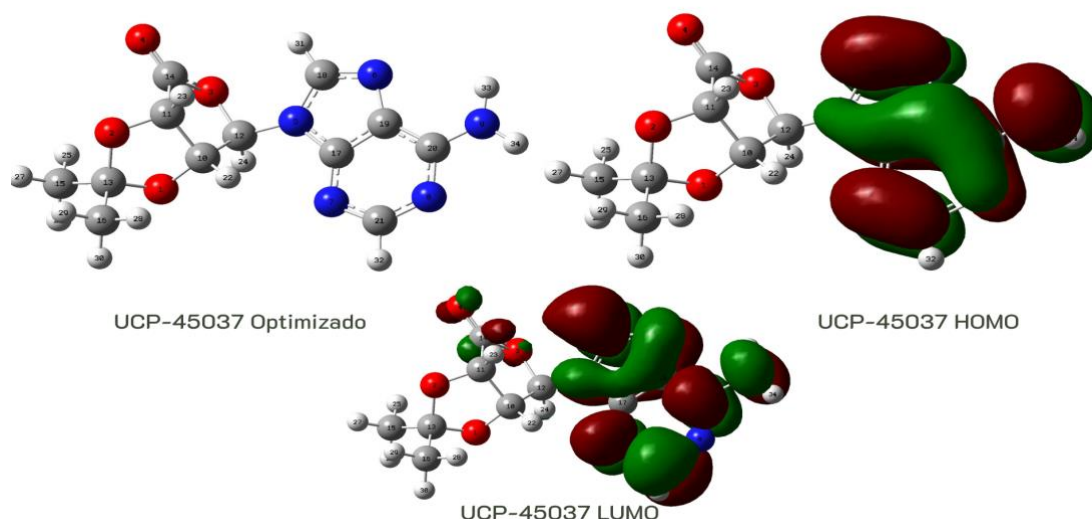


Figura 26. Distribución de los orbitales frontera (HOMO y LUMO) de UCP-45037 [84].

Para complementar la información se calcularon los mapas de potencial electrostático molecular (MEP), los cuales permiten visualizar las regiones de la molécula con mayor o menor densidad electrónica. Estas regiones reflejan la probabilidad de que un compuesto actúe como aceptor o donador de electrones, facilitando así su posible acoplamiento con sitios específicos de la proteína, como el residuo Cys106. En el caso del compuesto control (1-etilindol-2,3-diona) (Figura 27), el mapa de potencial electrostático molecular (MEP) muestra regiones de alta densidad electrónica localizadas sobre los átomos de oxígeno del grupo carbonilo (en rojo), lo cual indica que estos átomos son altamente nucleofílicos. Esta distribución genera que los átomos de carbono adyacentes presenten una carga parcial positiva, haciéndolos sitios electrofílicos potenciales para la formación de enlaces covalentes mediante el ataque nucleofílico del grupo tiolato ($-S^-$) [92], del residuo Cys106. Por otro lado, las zonas de menor densidad electrónica (en azul) se encuentran en el anillo indol, lo que sugiere que este fragmento podría participar en interacciones π -alquilo contribuyendo a la estabilización del complejo. Asimismo, el ion benzoato (Figura 28) presenta una distribución de densidad electrónica centrada en su grupo carboxilato, donde los oxígenos exhiben una alta densidad electrónica. Esta característica le permite actuar como nucleófilo, participando potencialmente en interacciones electrostáticas o en la formación de enlaces de hidrógeno con residuos cargados positivamente en la proteína

DJ-1. No obstante, debido a la ausencia de un sitio electrofílico adecuado, la capacidad del benzoato para reaccionar covalentemente con el grupo tiol de Cys106 sería nula.

El kaempferol (Figura 29) exhibe una distribución de densidad electrónica que se extiende a lo largo de toda la molécula. Las regiones de alta densidad electrónica se localizan principalmente sobre los átomos de oxígeno de los grupos carbonilo, mientras que los hidrógenos adyacentes a estos presentan zonas de menor densidad electrónica. Al igual que en el compuesto control, los átomos de carbono cercanos a los átomos de oxígeno muestran una carga parcialmente positiva, lo que los posiciona como centros electrofílicos potenciales susceptibles al ataque nucleofílico del grupo tiolato (S^-) de Cys106.

En cuanto al derivado de kaempferol (6,8-dimetil kaempferol 3,4'-dimetil éster) (Figura 30), se observa una distribución de densidad electrónica más homogénea respecto al kaempferol sin modificar, aunque aún existen zonas claramente diferenciadas. Las regiones en tonos rojos, localizadas principalmente sobre los átomos de oxígeno de los grupos carbonilo y metoxi, corresponden a áreas con alta densidad electrónica, lo que sugiere capacidad para aceptar enlaces de hidrógeno y establecer interacciones con residuos cargados positivamente. Por otro lado, los tonos azules y celestes, ubicados en regiones menos funcionalizadas, indican superficies con menor densidad electrónica.

Esta distribución de densidad electrónica, combinada con la rigidez del sistema aromático y la presencia de grupos funcionales polares y metilados, sugiere que este derivado podría mantener interacciones no covalentes con la proteína DJ-1. No obstante, la metilación de los grupos hidroxilo disminuye su capacidad para formar enlaces de hidrógeno, lo que podría reducir su afinidad en comparación con el kaempferol. Además, la presencia de grupos electrofílicos potenciales en los átomos de carbono adyacentes a los oxígenos con mayor densidad electrónica indica que este compuesto también podría participar en la formación de un enlace covalente mediante el ataque nucleofílico del grupo tiolato (S^-).

En contraste, la quercetina (Figura 31) exhibe una distribución de su densidad electrónica centrada en sus grupos carbonilo e hidroxilo, los cuales presentan regiones de alta densidad electrónica (en rojo). Estas zonas indican un marcado carácter aceptor de electrones, lo que sugiere una alta capacidad para establecer interacciones de tipo no covalente, como puentes de hidrógeno y atracciones electrostáticas con residuos cargados positivamente en la proteína DJ-1. Además, los carbonos adyacentes a los oxígenos en los grupos carbonilo, al actuar como centros electrófilos, podrían participar en reacciones de tipo covalente con residuos nucleofílicos como el tiol de Cys106, especialmente si existe una orientación favorable dentro del sitio activo. Esta posibilidad, junto con su sistema aromático conjugado, refuerza el potencial de la quercetina para interactuar de manera específica con DJ-1.

El comp-23 (Figura 32) presenta regiones de alta densidad electrónica, identificadas por los tonos rojos y anaranjados, localizadas principalmente sobre los átomos de oxígeno (grupos carbonilo y éter) y sobre el átomo de nitrógeno del anillo heterocíclico. Estos sitios contribuyen a la polaridad molecular y actúan como donadores de electrones, favoreciendo la formación de puentes de hidrógeno y otras interacciones no covalentes con residuos cercanos como Cys106. En contraste, se identifican regiones de menor densidad electrónica sobre los fragmentos hidrocarbonados y los átomos de carbono adyacentes a los átomos de oxígeno, los cuales presentan una carga parcialmente positiva, haciéndolos centros electrofílicos potenciales para el ataque nucleofílico del grupo tiolato ($-S^-$). La presencia simultánea de regiones nucleofílicas y electrofílicas a lo largo de la estructura del comp-23 sugiere que este ligante podría participar tanto en la formación de un enlace covalente estable con Cys106, como en el establecimiento de interacciones no covalentes clave dentro del sitio activo de DJ-1.

El compuesto UCP-54278 (Figura 33) muestra una distribución de densidad electrónica, con regiones claramente diferenciadas en el mapa de potencial electrostático molecular (MEP). Las zonas de alta densidad electrónica, representadas en tonos rojos y anaranjados, se localizan principalmente sobre los átomos de oxígeno de los grupos carbonilo, los cuales podrían actuar como

donadores de electrones y participar en la formación de puentes de hidrógeno con residuos polares o cargados positivamente en la proteína DJ-1, como Glu18. En contraste, los tonos azules y celestes se ubican sobre fragmentos hidrocarbonados y carbonos adyacentes a los átomos de oxígeno, indicando zonas de menor densidad electrónica con posible carácter electrofílico. Estos centros podrían ser susceptibles al ataque nucleofílico del grupo tiolato ($-S^-$) del residuo Cys106, permitiendo la formación de un enlace covalente. Esta combinación de zonas nucleofílicas y electrofílicas, junto con la conformación extendida del ligante, sugiere que este tiene potencial para establecer tanto interacciones covalentes como no covalentes dentro del sitio activo de DJ-1.

El compuesto UCP-45037 (Figura 34) presenta zonas de alta densidad electrónica (en rojo) las cuales se localizan sobre los átomos de oxígeno de los grupos carbonilo y en algunos átomos adyacentes al sistema heterocíclico, lo cual indica una alta nucleofilidad. Estas zonas podrían participar como aceptores de puentes de hidrógeno con residuos donadores de protones en la proteína. En contraste las zonas con menor densidad electrónica se encuentran localizadas sobre los carbonos e hidrógenos adyacentes a los oxígenos, no obstante, no presenta un carbono parcialmente positivo que facilite el ataque nucleofílico del grupo tiolato ($-S^-$) por lo cual su capacidad para reaccionar covalentemente sería limitada.

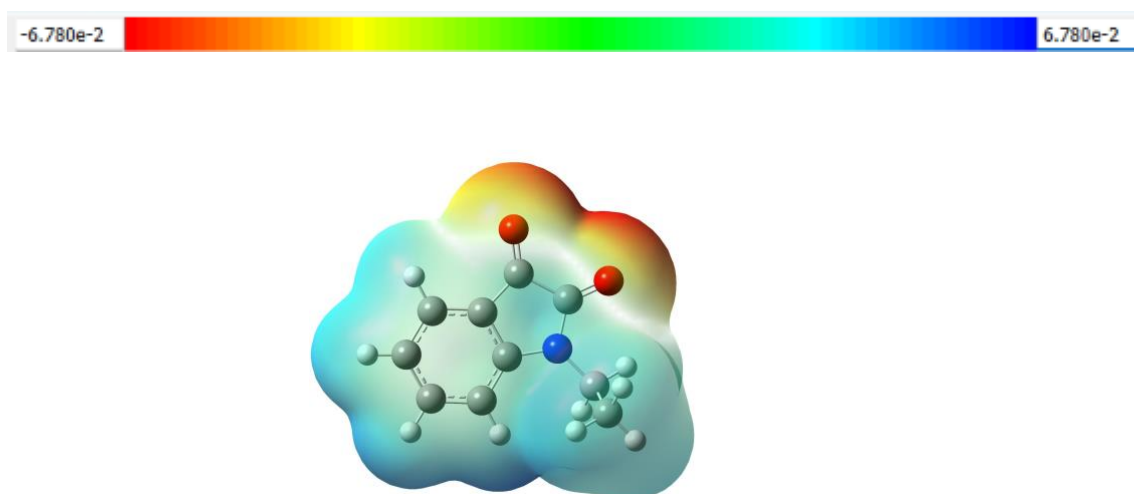


Figura 27. Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) del compuesto control (1-etilindol-2,3 diona). Las regiones en rojo representan zonas de alta densidad electrónica, principalmente sobre los átomos de oxígeno, que podrían favorecer las interacciones no covalentes con DJ-1. Las regiones en azul corresponden a zonas con baja densidad electrónica, asociadas al sistema indol. Igualmente se observan los carbonos adyacentes a los oxígenos los cuales cuentan con carga parcialmente positiva y pueden reaccionar ante el ataque nucleofílico del grupo tiolato ($-S^-$) [84].

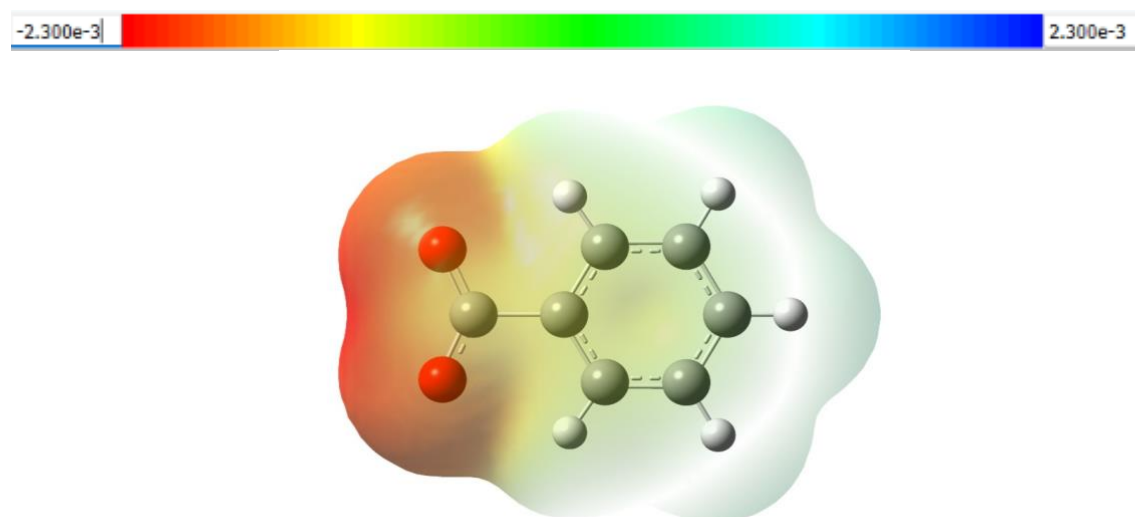


Figura 28. Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) del ion benzoato, en donde se observa la distribución de su densidad de cargas principalmente en el grupo carboxilato ($-COO^-$) a diferencia del compuesto control no se encuentra un carbono adyacente electrofílico adecuado, por ende, la capacidad para reaccionar covalentemente con el grupo tiol de Cys106 sería limitada [84].

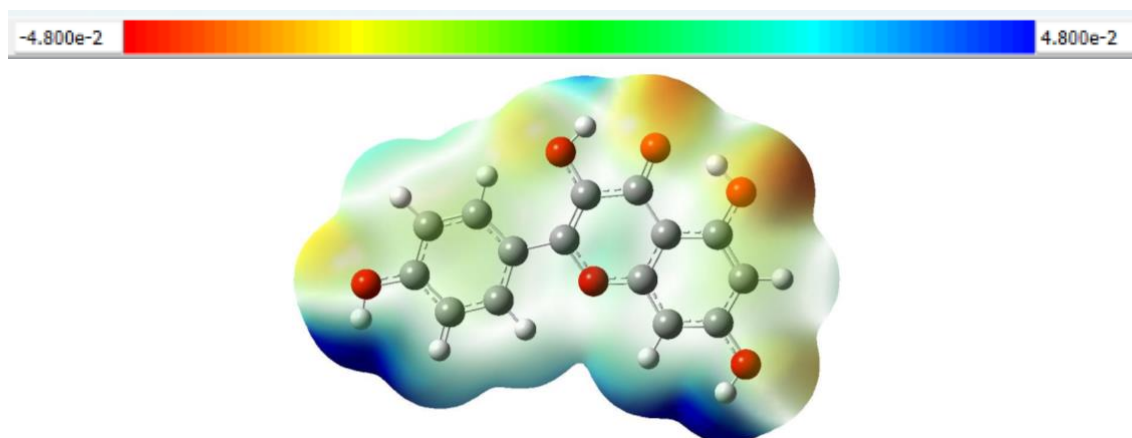


Figura 29. Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) de kaempferol, se observa como la densidad de carga se distribuye sobre los grupos carbonilo del kaempferol principalmente se observan zonas de alta densidad electrónica sobre los oxígenos de estos grupos (rojo) los átomos de carbono adyacentes a estos muestran cargas parcialmente positivas volviendolos ideales para el ataque nucleofílico del grupo tiolato ($-S^-$) 84].

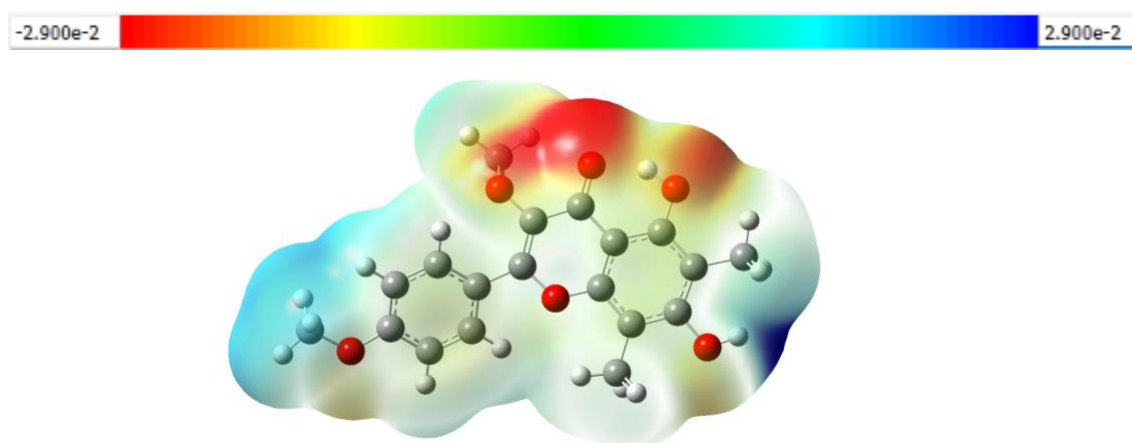


Figura 30. Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) del derivado 6,8-dimetil kaempferol 3,4'-dimetil éster, en donde se observa alta densidad electrónica sobre los átomos de oxígenos (rojo) de los grupos carbonilo y metoxilo. Los átomos de carbono adyacentes a estos presentan cargas parcialmente positivas, lo que los convierte en sitios electrofílicos potenciales para el ataque nucleofílico del grupo tiolato ($-S^-$) del residuo Cys106. Adicionalmente, en comparación con el kaempferol original, los grupos éster y metilo podrían

favorecer interacciones no covalentes con otros residuos del entorno del sitio activo, contribuyendo así a la estabilidad del complejo proteína-ligante [84].

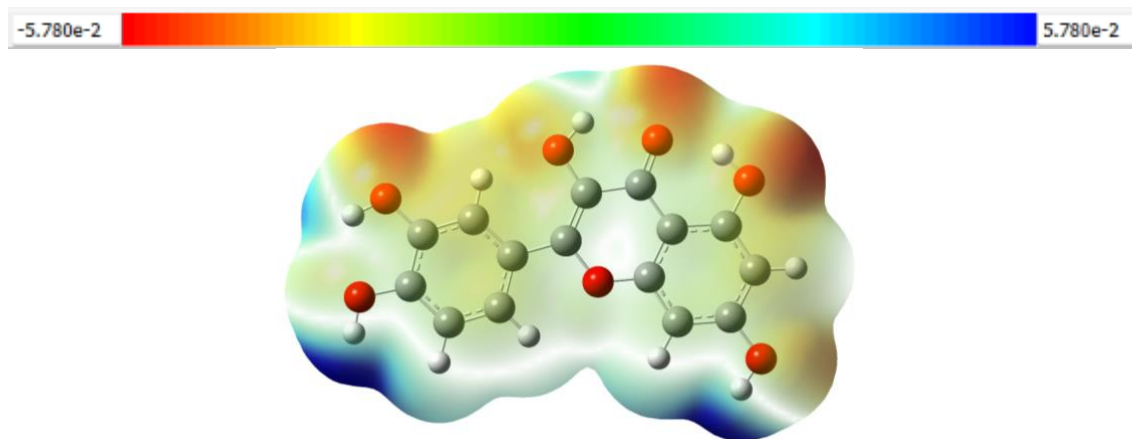


Figura 31. Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) de quercetina, en donde se observan regiones de alta densidad electrónica (tonos rojos) localizadas principalmente en los grupos carbonilo e hidroxilo, lo que indica un carácter aceptor de electrones. Estas zonas podrían favorecer la formación de puentes de hidrógeno y otras interacciones electrostáticas con residuos cargados positivamente, como también permitir la formación de enlaces covalentes con nucleófilos como el tiol de Cys106 en la proteína DJ-1 [84].

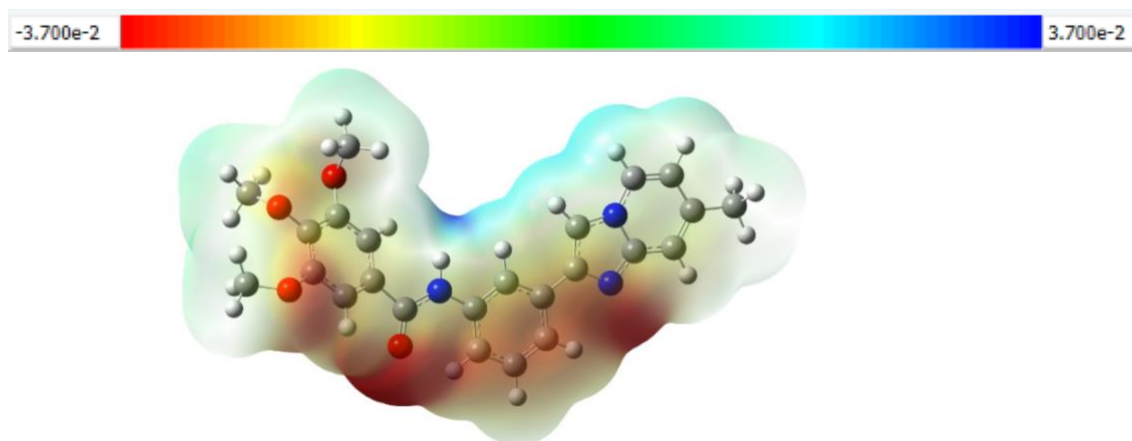


Figura 32. Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) del comp-23. Visualización de la distribución de densidad electrónica del comp-23. Las regiones en tonos rojos y anaranjados indican zonas de alta densidad electrónica, localizadas principalmente sobre los átomos de oxígeno (carbonilos y éteres) y el nitrógeno, que actúan como aceptores de electrones. Las áreas en tonos verdes y azulados reflejan regiones de baja densidad electrónica, asociadas a fragmentos hidrocarburos no polares. Esta distribución sugiere un potencial significativo para

establecer interacciones covalentes y no covalentes (como enlaces de hidrógeno) con residuos clave del sitio activo de DJ-1, en especial Cys106 [84].

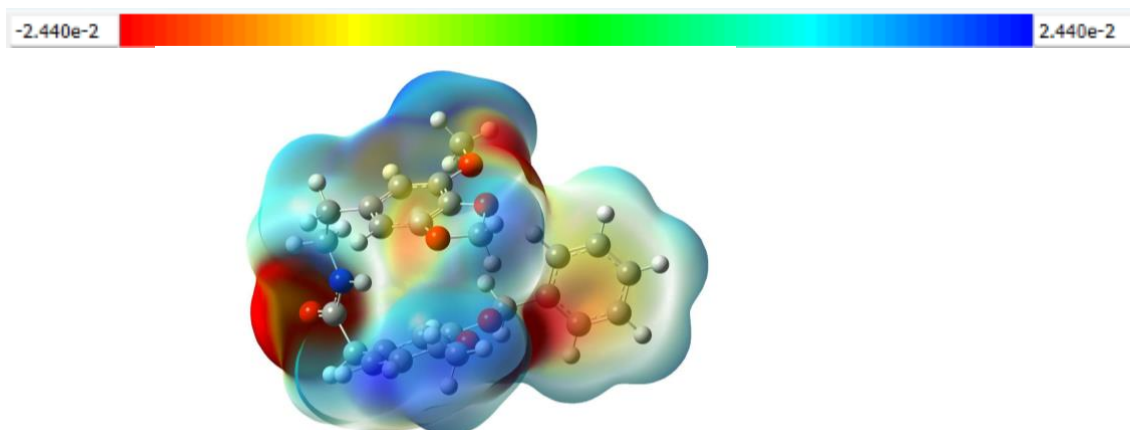


Figura 33. Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) del compuesto UCP-54278. La superficie muestra una distribución, con zonas nucleófilas localizadas (rojo) en los grupos cetona e hidroxilo. Se observan átomos de carbono adyacentes con carga parcial positiva ideales para reacción a el ataque nucleofílico del grupo tiolato ($-S^-$) Esta representación permite identificar las posibles regiones de interacción con DJ-1[85].

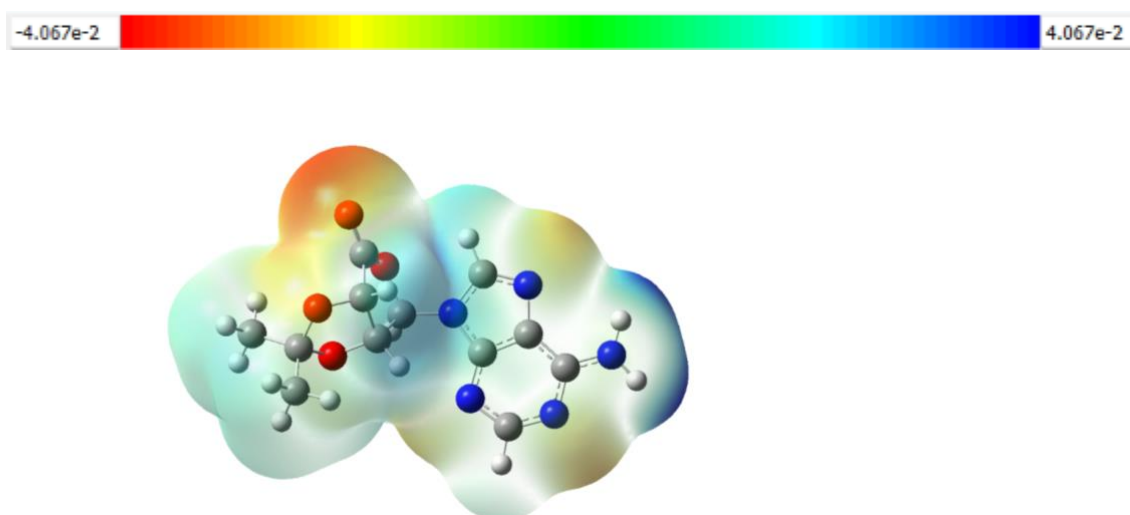


Figura 34. Mapa de potencial electrostático molecular (MEP) del compuesto UCP-45037. Las regiones en tonos rojos y anaranjados indican zonas de alta densidad electrónica, asociadas a los oxígenos de grupos carbonilo y éteres, con capacidad para aceptar electrones y formar enlaces de hidrógeno. Las áreas azuladas reflejan potencial positivo, principalmente sobre hidrógenos enlazados a nitrógeno, que podrían actuar como donadores. La diferenciación de

cargas sugiere un perfil favorable para establecer interacciones electrostáticas y no covalentes con residuos polares del sitio activo de DJ-1 sin embargo no se encuentra un carbono adyacente con carga parcialmente positiva por lo cual la capacidad para reaccionar covalentemente con el grupo tiolato ($-S^-$) sería limitada [85].

7.2 Docking molecular entre los ligantes propuestos y la proteína DJ-1

El *docking* o acoplamiento molecular ha tenido gran uso en los últimos tiempos, generalmente en su modo de moléculas pequeñas (ligantes) con una macromolécula (receptor) y ambas pueden encontrarse de manera rígida, o a uno de ellos se le permite ciertas libertades de movimiento, es decir, se indica libre giro en ciertos ángulos que, cabe mencionar, son limitados. Con esta técnica se busca describir las interacciones intramoleculares que mantengan unidas a estas moléculas, de tal manera que formen un complejo de mínima energía (estable). Una modalidad relativamente nueva es el acoplamiento entre estas dos moléculas unidas por un enlace covalente [85], además de las interacciones intermoleculares, lo cual no es tarea fácil, ya que se deben localizar sitios que contengan átomos iguales a los del residuo aminoácido participante cuyas posiciones y ángulos sean parecidos para que se logre la formación de este enlace. Se examinaron las estructuras y se propusieron dos sitios de acuerdo con el estudio previo de reactividad

Para cada uno de los ligantes seleccionados, se evaluaron dos posibles sitios para la formación de un enlace covalente con el residuo Cys106 de la proteína DJ-1, basándose en los estudios de reactividad química y el análisis de potencial electrostático que permitió identificar regiones adyacentes a átomos altamente electronegativos, como el oxígeno, en las que se genera un entorno favorable para el ataque nucleofílico. En particular, los átomos de carbono adyacentes a estos oxígenos, al estar con carga parcial positiva, se presentan como posibles sitios electrofílicos para la formación de enlaces covalentes con el grupo tiol del residuo Cys106. En las Figuras 35-36 se presentan las estructuras de los ligantes fitoquímicos y sintéticos, donde se señalan los sitios propuestos para el enlace covalente.

En el caso de los compuestos fitoquímicos Figura 35 el benzoato de sodio (A), el sitio 1 incluyó al átomo de oxígeno (O12) y al átomo de carbono adyacente (C11), mientras que el sitio 2 consideró al átomo de oxígeno (O13) y al mismo átomo de carbono (C11). Para la quercetina (B), el sitio 1 fue definido por el átomo de oxígeno (O10) y el átomo de carbono (C9), y el sitio 2 por el átomo de oxígeno (O22) y el átomo de carbono (C16). En el kaempferol (C), el sitio 1 correspondió al átomo de oxígeno (O7) y al átomo de carbono (C31), mientras que el sitio 2 incluyó al átomo de oxígeno (O1) y al átomo de carbono (C9). Finalmente, en el derivado de kaempferol (D), el sitio 1 fue definido por el átomo de oxígeno (O2) y el átomo de carbono (C10), y el sitio 2 por el átomo de oxígeno (O8) y el átomo de carbono (C23). Para los compuestos sintéticos Figura 36 el comp-23 (A) el sitio 1 incluyó el átomo de nitrógeno (N9) y el átomo de carbono adyacente (C11), mientras que el sitio 2 consideró al átomo de oxígeno (O2) y el átomo de carbono (C27). Para UCP-45037 (B) el sitio 1 se definió por el átomo de oxígeno (O2) y el átomo de carbono adyacente (C11), mientras que el sitio 2 por el átomo de oxígeno (O4) y el átomo de carbono adyacente (C14). Finalmente, UCP-54728 (C), el sitio 1 correspondió al átomo de oxígeno (O2) y al átomo de carbono (C19), mientras que el sitio 2 incluyó al átomo de oxígeno (O6) y al átomo de carbono (C23).

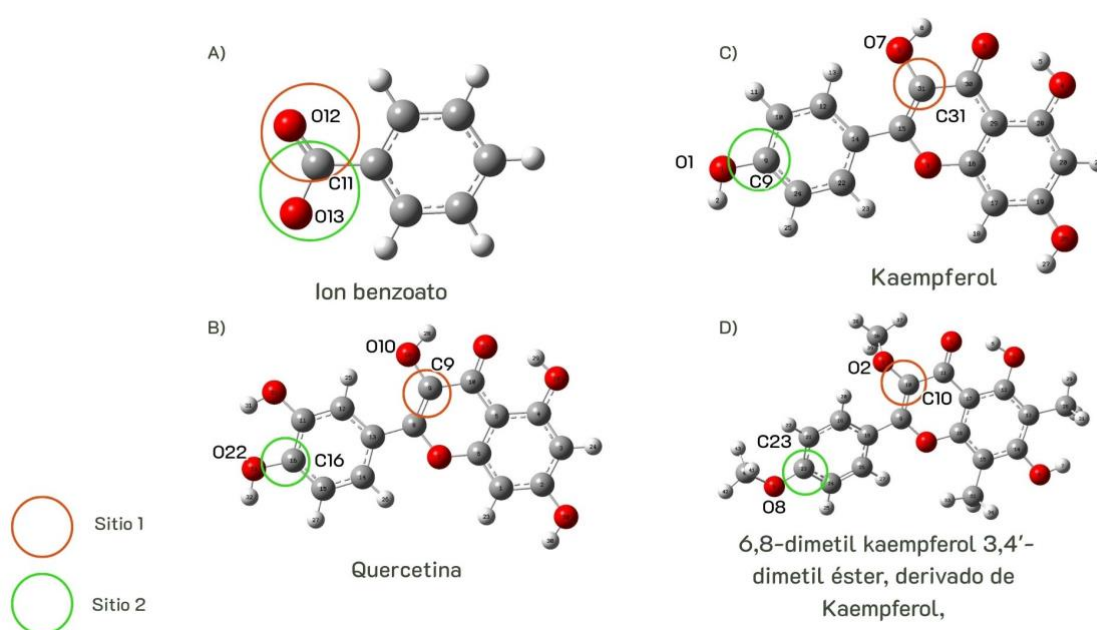


Figura 35. Selección de sitios reactivos para el acoplamiento covalente de ion benzoato (control negativo) compuestos fitoquímicos con el residuo Cys106 de la proteína DJ-1, utilizando el método de cadena lateral flexible en AutoDock 4.

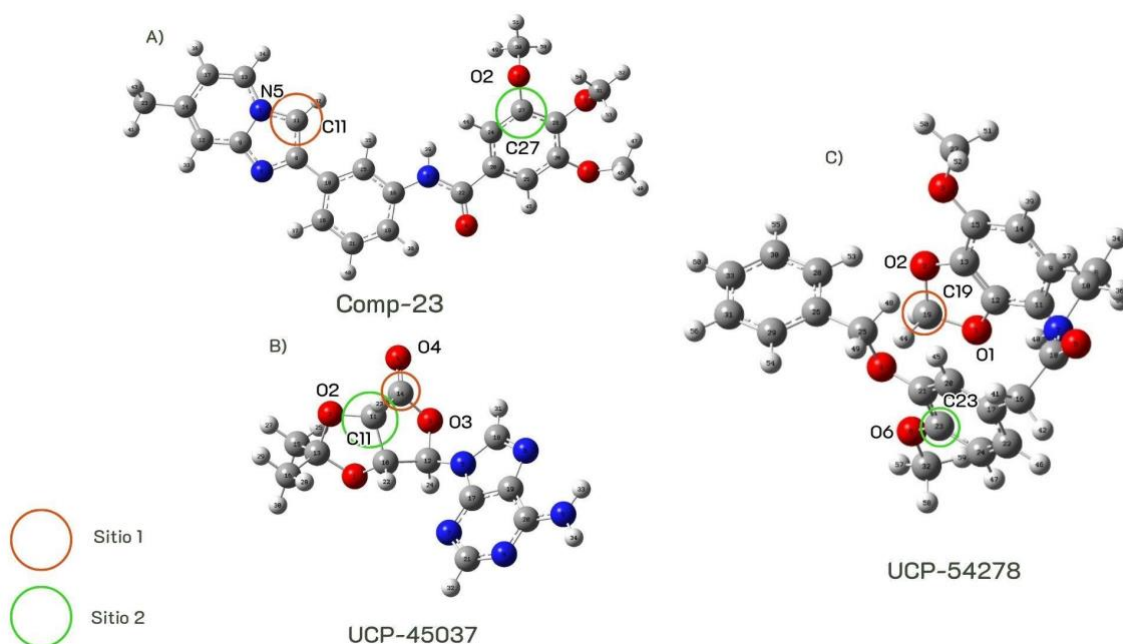


Figura 36. Selección de sitios reactivos para el acoplamiento covalente de compuestos sintéticos con el residuo Cys106 de la proteína DJ-1, utilizando el método de cadena lateral flexible en AutoDock 4.

La comparación estructural de los complejos formados por el enlace covalente en ambos sitios demostró que el análisis de reactividad química en cada uno de los ligantes es esencial para elegir el sitio de formación del enlace covalente. Sin embargo, también es importante seleccionar sitios donde la densidad electrónica y la accesibilidad del grupo tiol favorezcan no solo la formación del enlace covalente, sino también posibles interacciones no covalentes adicionales con la proteína.

Como se observa en la Figura 37, el sitio 2 presentó una orientación espacial más favorable, permitiendo una unión más estable. Por el contrario, el sitio 1 genera una disposición poco favorable, e incluso puede dar lugar a conformaciones químicamente inviables.

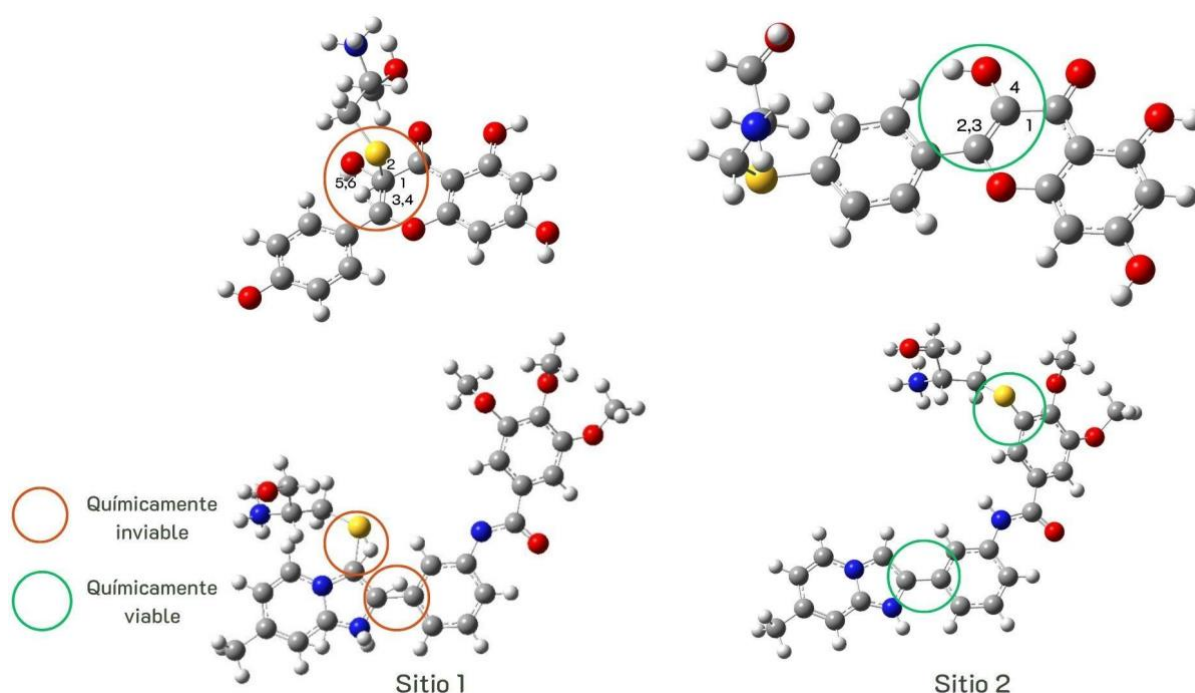


Figura 37. Comparación estructural de los complejos covalentes formados entre el ligante y el residuo Cys106 en el sitio 1 (izquierda) y sitio 2 (derecha). En el sitio 1 se observan disposiciones desfavorables dando lugar a conformaciones químicamente inviables, mientras que el sitio 2 la orientación espacial del grupo tiol permite una interacción directa y estable con el carbono objetivo, respetando la estructura del ligante.

A continuación, se describen los complejos formados para cada compuesto y las diferencias observadas entre el sitio 1 y el sitio 2.

El ion benzoato, aunque presenta el mismo carbono reactivo en ambos sitios analizados, muestra diferencias en la geometría que afectan negativamente la posibilidad de formar un enlace covalente con la cisteína. En el sitio 1, se observa que la cisteína adopta una conformación forzada, evidenciada por el ángulo O12–C11–S de 110.03°, lo cual genera una geometría poco favorable para una interacción estable. En el sitio 2, aunque el ángulo O13–C11–S es más abierto (116.63°), la orientación del grupo tiol no conduce a una reactividad nucleofílica efectiva, ya que no se permite la formación del enlace covalente. Estas características estructurales refuerzan el papel del ion benzoato como un control negativo, al no facilitar un ataque nucleofílico eficiente ni promover una interacción covalente con la cisteína.

En el caso de la quercetina, el kaempferol y su derivado, los sitios seleccionados para la formación del enlace covalente coinciden al tratarse de compuestos de la misma familia, cuya diferencia principal radica en la presencia de grupos funcionales adicionales, como metilos o ésteres en el derivado. Esta elección se realizó con el fin de observar cómo dichos grupos afectan la formación y estabilidad del enlace covalente. En los tres compuestos, ambos sitios analizados se encuentran en carbonos adyacentes a átomos de oxígeno, zonas con potencial electrofílico que pueden favorecer el ataque nucleofílico del residuo Cys106. Sin embargo, las condiciones estructurales influyen en la viabilidad del enlace.

En quercetina, kaempferol y su derivado, el sitio 1 presentó una conformación química inviable pues C9, C31 y C10 presentan 6 enlaces lo cual no es posible según la valencia máxima permitida para un átomo de carbono [92]. La aparición de estos enlaces extra se debe a una limitación del software, ya que durante el proceso de simulación del enlace covalente, AutoDock [81] no actualiza los enlaces del carbono en el sitio C9, C31 y C10, respectivamente, y al momento de añadir el nuevo enlace con el átomo de azufre del residuo Cys106, se conservan los enlaces originales del átomo de carbono y se superponen los nuevos enlaces, generando así una estructura químicamente inviable. En cambio, en el sitio 2 de los tres ligantes se obtuvo una conformación química viable, pero con diferencias en el ángulo de la orientación del grupo tiol del residuo Cys106 en el caso de la quercetina el ángulo fue de C–S–C de 110.97° , cercano a una geometría tetraédrica ideal permite una interacción más directa con el carbono, sin alterar la estructura de la Quercetina. Esta disposición más favorable facilita la formación del enlace covalente y reduce posibles tensiones en la conformación final del complejo. En el caso del kaempferol un ángulo C-S-C de 109.50° coincidiendo con el ángulo de una geometría tetraédrica ideal lo cual indica una interacción ideal y sin alterar la estructura del kaempferol y finalmente el derivado de kaempferol con un ángulo C-S-C de 118.75° , siendo el más alto entre los tres compuestos, lo que sugiere que la presencia de grupos metilos y éster en el ligante influye en el ángulo formado. Aun así, en este sitio no se presenta necesariamente una

inviabilidad química, pero sí puede influir en la estabilidad final del complejo formado.

En cuanto a los ligantes sintéticos Comp 23 el sitio 1 presentó una conformación química inviable pues el sitio C11 además de formar el enlace con el átomo de azufre de Cys106, mantuvo su enlace previo con H y este igualmente se enlazó con el átomo de azufre, por su parte el sitio 2 presentó una conformación química viable donde comp-23 conservó su estructura y formó el enlace covalente con Cys106, el ángulo formado entre C-S-C fue de 114.6° el cual puede influir en la estabilidad final del complejo. En el caso del ligante UCP-45037 ambos sitios presentaron geometrías químicamente viables tras la formación del enlace covalente. El sitio 1 presentó un ángulo C-S-C de 105.86° , ligeramente más cerrado que la geometría tetraédrica ideal, pero dentro de un rango aceptable, y un ángulo N-C-O de 109.5° , indicando buena estabilidad estructural. Por su parte, el sitio 2 mostró un ángulo C-S-C de 109.5° , coincidente con la geometría ideal, y un ángulo N-C-O de 108.29° , también dentro de lo esperado para una estructura estable. Además, la proximidad de dos átomos de oxígeno en la zona del carbono objetivo aumenta su carácter electrofílico, lo que favorece el ataque nucleofílico del grupo tiol. Finalmente, el ligante UCP-54278 presentó una diferencia clara entre los dos sitios evaluados. En el sitio 1, el ángulo C-S-C fue de 110.52° , cercano a la geometría tetraédrica ideal. No obstante, la estructura resultante fue químicamente inviable debido a no cumplir con las valencias en el carbono C19, que aparece formando cinco enlaces: uno con el azufre del residuo Cys106, un enlace doble con un oxígeno (O2), un enlace simple con el oxígeno (O3), uno con un hidrógeno. Esta conformación sobrepasa el número de enlaces permitidos para el carbono, volviéndose químicamente inviable [92].

En cambio, el sitio 2 presentó un ángulo C-S-C de 108.9° , dentro del rango geométrico aceptable, sin errores de conectividad ni distorsiones estructurales. Esto permite considerar al sitio 2 como la única opción válida para la formación del enlace covalente en este ligante.

Una vez descritos los posibles sitios de unión se evaluó la capacidad de Cys106 de DJ-1 de interactuar y formar el enlace covalente con dichos sitios.

Para ello se utilizó el método de cadena lateral flexible implementado en AutoDock 4 [82] en su versión de Linux. Los valores de la energía de afinidad que resultaron después de realizar los acoplamientos en cada uno de los sitios, se encuentran en la Tabla 3. Se observa que para el sitio 1 todos los valores son positivos, lo que lleva a suponer que no existe la formación favorable del enlace covalente entre los ligantes y la proteína en ese sitio. Por otra parte, los valores de las energías de afinidad calculadas en el sitio 2 tienen signo negativo indicando la formación de complejos estables, aún más que el formado con el ligante de referencia (control).

Tabla 3. Energías de afinidad en $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ obtenidas de los cálculos de docking covalente.

Compuesto	Sitio 1 $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$	Sitio 2 $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$
<i>Ion Benzoato</i>	3.400	-1.900
<i>Quercetina</i>	1,168.100	-6.200
<i>Kaempferol</i>	10.800	-4.900
<i>Derivado Kaempferol</i>	1,225.900	-5.700
<i>UCP-54278</i>	46.700	-8.200
<i>UCP-45037</i>	1,472.600	-2.900
<i>Comp-23</i>	997.800	-6.300
<i>Control</i>	-4.400	-4.400

En términos generales, se observó que la mayoría de los compuestos presentaron valores de energía de acoplamiento más negativos que el valor del control ($-4.4 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$), lo que indica la formación de complejos más estables con la proteína DJ-1. De manera particular, UCP-54278, Comp-23 y quercetina formaron los complejos más estables, lo que sugiere que podrían ser los mejores candidatos del grupo de compuestos evaluados en este estudio para la inhibición de la oxidación del residuo Cys106. Dentro de estos tres compuestos UCP-54278 mostró el valor de energía de afinidad más negativa ($-8.2 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$), lo que sugiere una interacción fuerte con la proteína. Comp-23

también presentó una energía de acoplamiento favorable ($-6.3 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$), con una estabilidad ligeramente menor que UCP-54278, pero aún superior al control. quercetina, destacando entre los compuestos fitoquímicos, obtuvo una energía de acoplamiento de ($-6.20 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$), lo que indica una interacción significativa con DJ-1. Cabe destacar que en todos los casos evaluados, la formación del enlace covalente se correlacionó con la presencia de átomos de carbono con carga parcialmente positiva, los cuales se identificaron como centros electrofílicos potenciales para el ataque nucleofílico del grupo tiolato (S^-) del residuo Cys106. Esta observación resalta la importancia de considerar tanto los mapas de potencial electrostático molecular (MEP) como los resultados del análisis de los orbitales HOMO y LUMO y los parámetros de reactividad química global, especialmente el índice de electrofilicidad.

En conjunto, estos parámetros permiten identificar con mayor precisión los sitios ideales para la formación del enlace covalente. Adicionalmente, los valores presentados en las Tablas 1 y 2 respaldan los resultados de energía obtenidos en los estudios de acoplamiento molecular con UCP-54278, Comp-23 y quercetina, lo cual refuerza su potencial como ligantes con capacidad para formar enlaces covalentes con la proteína DJ-1.

Para reforzar los datos obtenidos de los tres complejos más estables, se analizó con cuáles residuos tienen interacción y cómo participan en la estabilidad del complejo, comparándolas con el tipo de interacciones que forma el complejo con el ligante control (complejo control), así como las interacciones reportadas previamente [86].

Las interacciones del complejo control son de tipo puente de hidrógeno con Glu18 y π -alquilo con los residuos His126 y Ala107. Estas interacciones coinciden con los aminoácidos presentes en el sitio activo de la proteína [22], y contribuyen a la estabilidad del complejo, sirviendo como referencia para las interacciones presentadas en los ligantes evaluados [89] (Figura 38).

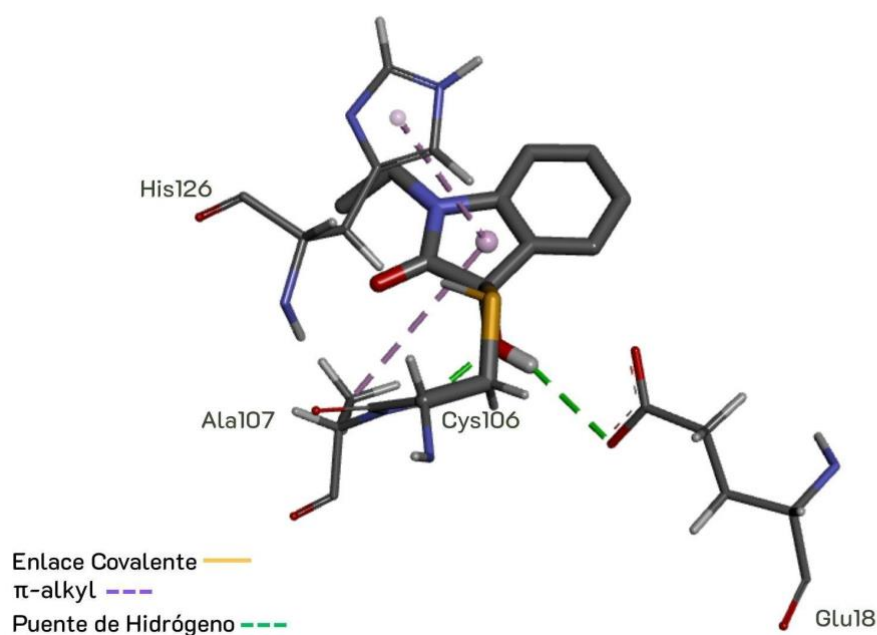


Figura 38. Representación gráfica de las interacciones del compuesto control con la proteína DJ-1. Se observa el enlace covalente entre el ligante y Cys106 (Naranja), la formación de puentes de hidrógeno con Glu18 y Ala107 (líneas verdes), e interacciones de tipo π -alquilo con His126 y Ala107 (líneas moradas).

Una vez analizadas las interacciones por las cuales el complejo control logra su estabilidad, se analizaron las interacciones de los tres compuestos con los valores de energía de afinidad más negativa (UCP-54278, Comp-23 y quercetina). Comenzaremos con el Comp-23 por tener el valor más alto negativo en esta energía (Figura 39), y el cual, al igual que el control, mostró interacciones tipo π -alquilo y puentes de hidrógeno. Este ligante, a diferencia del ligante control, establece interacciones de tipo π -alquilo con Ala107 y Leu128, lo que sugiere ser una interacción importante del aumento en la estabilidad por ser un residuo no polar.

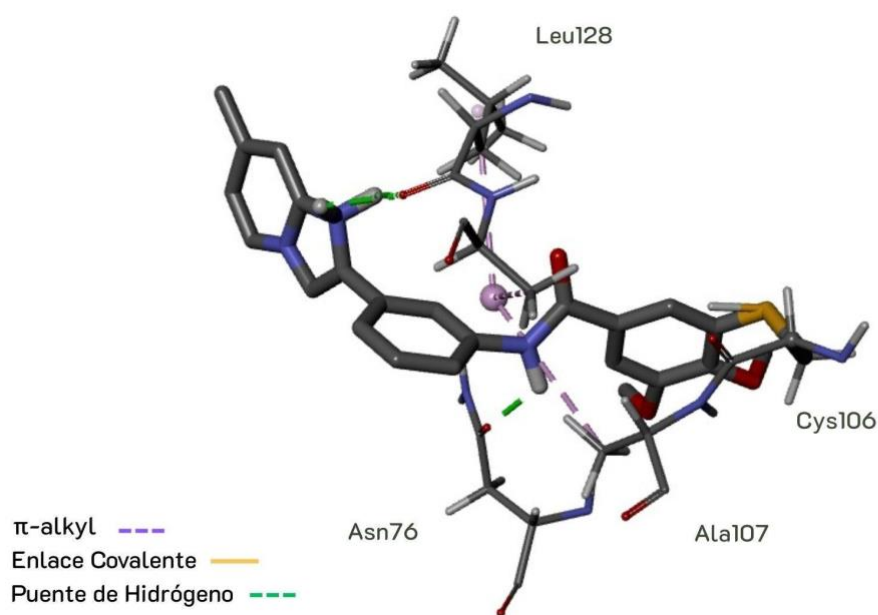


Figura 39. Interacciones del comp-23 con la proteína DJ-1. Se observa el enlace covalente entre el ligante y Cys106 (naranja) así como enlaces de hidrógeno con Asn76 y Leu128 (líneas verdes), e interacciones tipo π -alquilo con Ala107 y Leu128 (líneas moradas), lo que sugiere un acoplamiento estable en el sitio activo, similar al control [89].

Por otra parte, la quercetina (Figura 40) estableció tres interacciones de tipo puente de hidrógeno a comparación con uno que estableció el compuesto control, además de esta interacción con Glu18, se observa la participación de Gly13, que, si bien no es un residuo cargado, se alinea para lograr esta interacción. Es interesante resaltar que el tercer puente de hidrógeno es de tipo intramolecular. El complejo formado con el compuesto UCP-54278 (Figura 41) no presenta interacciones de tipo π -alquilo, no se encuentran en ninguno de estos dos compuestos, lo que sugiere que las encontradas tanto en el complejo control como con el Comp-23 son relevantes para la estabilización de los complejos proteína-ligante favoreciendo una disposición espacial más dirigida del ligante hacia Cys106 [93].

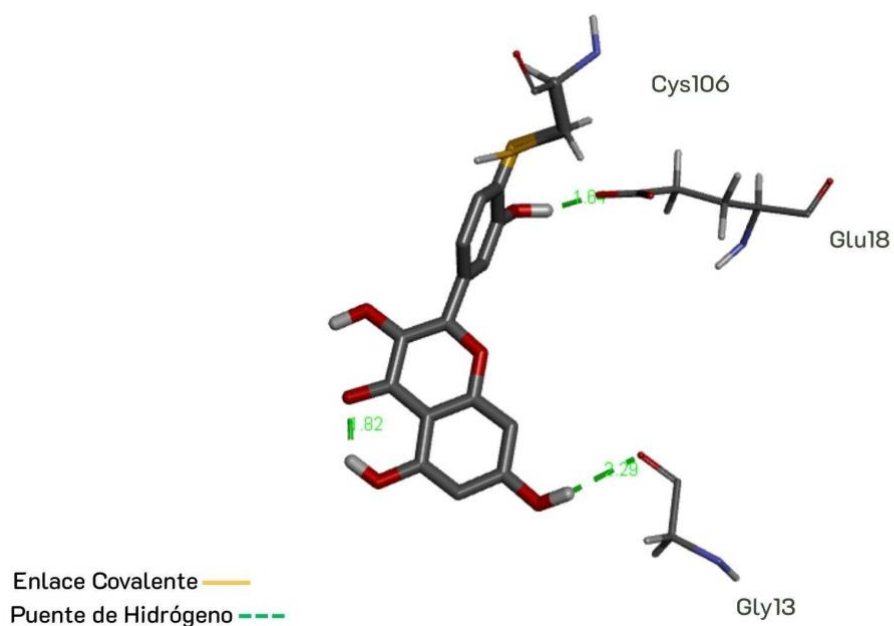


Figura 40. Interacciones entre quercetina con la proteína DJ-1. Se observa el enlace covalente entre el ligante y Cys106 (naranja) así como enlaces de hidrógeno con Glu108 y Gly103 (líneas verdes), a diferencia que el control y comp-23 no presenta interacciones π -alquilo lo cual puede influir en su estabilidad [89].

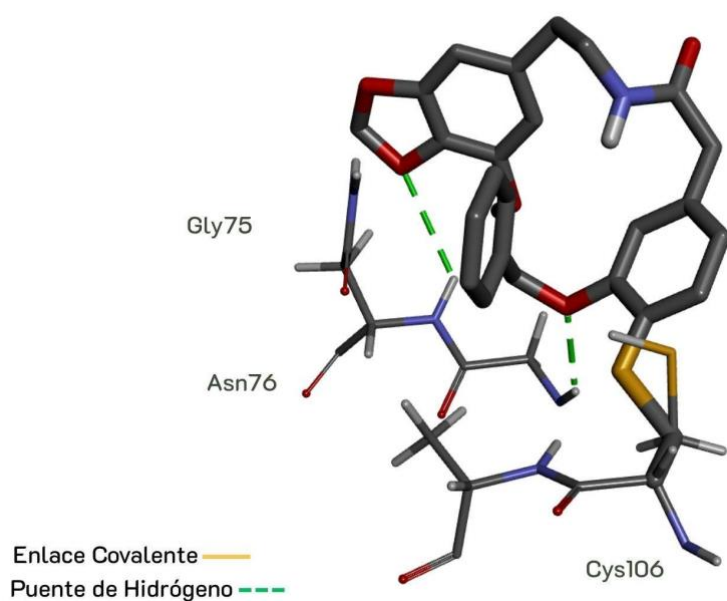


Figura 41. Interacciones entre UCP-54278 con la proteína DJ-1. Se observa el enlace covalente entre el ligante y Cys106 (naranja) así como enlaces de hidrógeno con Gly 75 y Asn76 (líneas verdes).

Los residuos Cys106 (enlace covalente), Glu18 (puente de hidrógeno) e His126 (π -alquilo) son clave para la estabilidad del complejo DJ-1 con ligante [22,85] al comparar esta información con los resultados obtenidos se observa que el control cuenta con las tres interacciones clave reportadas justo en los residuos mencionados, validando así los resultados del re-docking, por otra parte Comp-23 es el ligante con mejores resultados y con más estabilidad al interactuar con DJ-1 pues formó interacciones similares al control y a las reportadas [90], la diferencia radica en los residuos específicos donde se formaron los puentes de hidrógeno (Asn76) y las interacciones π -alquilo (Ala107 y Leu128).

Adicionalmente, se analizó la sobreposición estructural entre el ligante control y los tres ligantes con mejores resultados (Comp-23, quercetina y UCP-54278) para evaluar sus sitios de unión con el sitio activo de la proteína DJ-1, en la Figura 42 se observa que Comp-23 y el ligante control comparten una orientación similar en la región donde se forma el enlace covalente con el residuo Cys106, respaldando su potencial de interacción específica y dirigida. En contraste, UCP-54278 y Quercetina forman enlaces covalentes con éste, pero a diferencia de Comp-23 su disposición espacial no se alinea con el control. Esta diferencia puede implicar interacciones no covalentes distintas y menos estables, lo cual puede influir en su comportamiento.

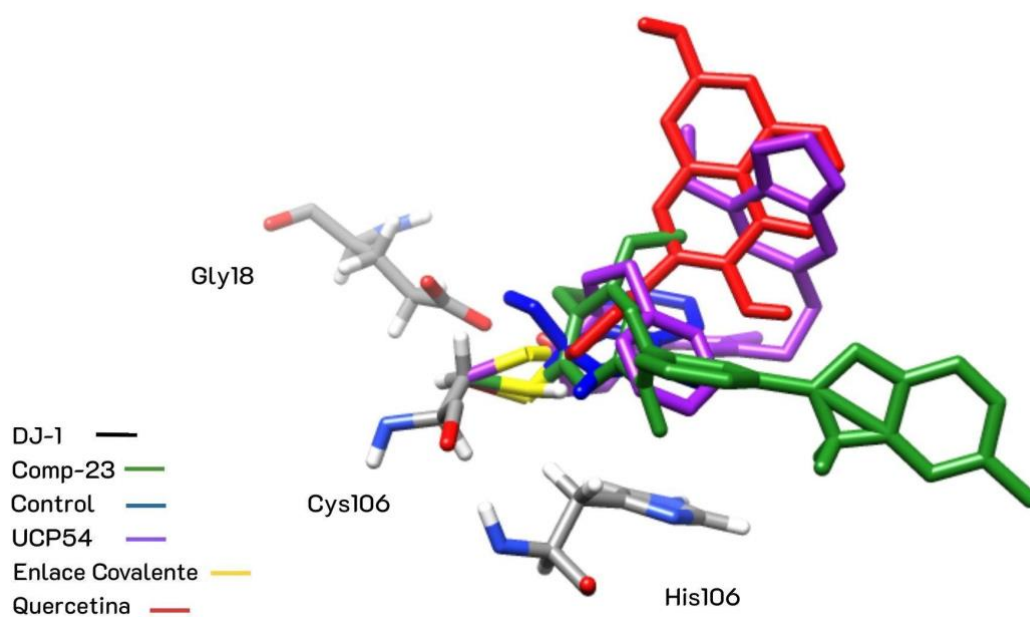


Figura 42. Superposición estructural de los ligantes Comp-23 (verde), quercetina (rojo), UCP-54278 (magenta) y el ligante control (azul) en el sitio activo de la proteína DJ-1. Se observa la formación de enlaces covalentes (amarillo) con el residuo Cys106, representado junto con Gly18 e His106. Comp-23 y el control presentan una orientación coincidente en la formación del enlace covalente, mientras que quercetina y UCP-54278 muestran orientaciones divergentes respecto al control [89].

8. Conclusiones

El presente trabajo de tesis se llegó a las siguientes conclusiones:

El uso en conjunto de métodos de la química cuántica y *docking* molecular covalente demostró ser una herramienta eficaz para la predicción de interacciones moleculares entre ligantes y blancos terapéuticos como DJ-1. Pues permitió identificar compuestos con capacidad inhibidora a la oxidación del residuo Cys106, el cual es clave en la actividad de la proteína

La optimización de los ligantes previo a la realización del *docking* covalente es de gran importancia para obtener resultados válidos, pues permitió una mejor predicción del sitio de interacción covalente entre los ligantes y el residuo Cys106, demostrando que la distribución electrónica influye en la interacción y la estabilidad del complejo proteína-ligante.

Los resultados obtenidos indican que tanto los ligantes fitoquímicos como los sintéticos cuentan con interacciones relevantes con la proteína DJ-1, mientras que los fitoquímicos destacan por su distribución de densidad electrónica (en toda la estructura), los compuestos sintéticos como el Comp-23 muestran una afinidad más específica y dirigida al sitio activo.

Dentro de los compuestos fitoquímicos, la quercetina fue el ligante más prometedor por su equilibrio entre afinidad y reactividad, mientras que en los compuestos sintéticos, el compuesto UCP-54278 presentó la energía de acoplamiento más favorable sugiriendo una interacción estable con la proteína, sin embargo, el Comp-23 es el ligante con mayor potencial para la interacción con DJ-1, ya que cuenta con la mayor cantidad de características favorables en cuanto estabilidad y afinidad del complejo.

Este estudio sienta las bases para la evaluación experimental *in vitro* e *in vivo* de los compuestos seleccionados. Los resultados obtenidos pueden guiar futuros trabajos orientados a validar la eficacia terapéutica y los mecanismos de acción de estos candidatos frente a la enfermedad de Parkinson.

9. Bibliografía

1. C. A. Davie, A review of Parkinson's disease, *British Medical Bulletin*, Volume 86, Issue 1, June 2008, Pages 109–127, <https://doi.org/10.1093/bmb/ldn013>
2. Organización Mundial de la Salud (2022). *Informe de Estadísticas de Salud Mundial*.
3. Ascherio A, Schwarzschild MA. The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention. *Lancet Neurol*. 2016 Nov;15(12):1257-1272. doi: [10.1016/S1474-4422\(16\)30230-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)30230-7)
4. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. (2017). *Enfermedad de Parkinson*. 2020, de INNN Sitio web: <http://www.innn.salud.gob.mx/interna/medica/padecimientos/parkinson.html>
5. Michel, P. P., Hirsch, E. C., & Hunot, S. (2016). Understanding Dopaminergic Cell Death Pathways in Parkinson Disease. *Neuron*, 90(4), 675–691. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.03.038>
6. Georgiou, A., Demetriou, C. A., Christou, Y. P., Heraclides, A., Leonidou, E., Loukaides, P., ... Zamba-Papanicolaou, E. (2019). Genetic and environmental factors contributing to parkinson's disease: A case-control study in the cypriot population. *Frontiers in Neurology*, 10(OCT), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.01047>
7. Lotharius, J., & Brundin, P. (2002). Pathogenesis of parkinson's disease: Dopamine, vesicles and α -synuclein. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(12), 932–942. <https://doi.org/10.1038/nrn983>
8. López-González del Rey N, Blesa J, Obeso JA. Factores determinantes de vulnerabilidad neuronal en enfermedad de Parkinson. *An RANM*. 2021;138(02): 114–123. DOI: <https://dx.doi.org/10.32440/ar.2021.138.02.rev01>
9. Sanz-Blasco, S., Bordone, M.P., Damianich, A. et al. The Kinase Fyn As a Novel Intermediate in L-DOPA-Induced Dyskinesia in Parkinson's Disease. *Mol Neurobiol* 55, 5125–5136 (2018). <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0748-3>
10. Greengard, P. (2001). The Neurobiology of Slow Synaptic Transmission. *Science*, 294(5544), 1024–1030. doi:[10.1126/ciencia.294.5544.1024](https://doi.org/10.1126/ciencia.294.5544.1024)
11. Hammond, C., Bergman, H., & Brown, P. (2007). Pathological synchronization in Parkinson's disease: networks, models, and treatments. *Trends in Neurosciences*, 30(7), 357–364. doi: [10.1016/j.tins.2007.05.004](https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.05.004)
12. Barinagarrementeria Aldatz, F., Dávila Maldonado, L., López Ruiz, M., & Marfil Rivera, A. (2014). *Neurología elemental* (pp. 310-329). Elsevier.

13. Marín D, Carmona H, Ibarra M, Gámez M. Enfermedad de Parkinson: fisiopatología, diagnóstico y tratamiento. *Rev Univ Ind Santander Salud*. 2018; 50(1): 79-92. doi: <http://dx.doi.org/10.18273/revsal.v50n1-2018008>
14. Connolly BS, Lang AE. Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. *JAMA*. 2014; 311(16): 1670-1683. DOI: 10.1001/jama.2014.3654
15. Kalia LV, Brotchie JM, Fox SH. Novel nondopaminergic targets for motor features of Parkinson's's disease: Review of recent trials. *Mov Disord* 2013; 28:131-44 .
16. Du, J. J., & Chen, S. Di. (2017). Current nondopaminergic therapeutic options for motor symptoms of parkinson's disease. *Chinese Medical Journal*, 130(15), 1856–1866. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.211555>
17. Mizoguchi K, Yokoo H, Yoshida M, Tanaka T, Tanaka M. Amantadine increases the extracellular dopamine levels in the striatum by re-uptake inhibition and by N-methyl--aspartate antagonism. *Brain Res*. 1994; 662(1-2): 255-258 DOI: 10.1016/0006-8993(94)90821-4
18. Tanabe, A., Yamamura, Y., Kasahara, J., Morigaki, R., Kaji, R., & Goto, S. (2014). A novel tyrosine kinase inhibitor amn107 (nilotinib) normalizes striatal motor behaviors in a mouse model of parkinson's disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 8(FEB), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00050>
19. Pandey S. When to do deep brain stimulation surgery in Parkinson disease? Early or late? *Neurol India*. 2016 Jan-Feb;64(1):8-9. doi: 10.4103/0028-3886.173621.
20. Taipa, R., Pereira, C., Reis, I., Alonso, I., Bastos-Lima, A., Melo-Pires, M., & Magalhães, M. (2016). DJ-1 linked parkinsonism (PARK7) is associated with Lewy body pathology. *Brain : a journal of neurology*, 139(Pt 6), 1680–1687. <https://doi.org/10.1093/brain/aww080>
21. Honbou, K., Suzuki, N. N., Horiuchi, M., Niki, T., Taira, T., Ariga, H., & Inagaki, F. (2003). The crystal structure of DJ-1, a protein related to male fertility and Parkinson's disease. *The Journal of biological chemistry*, 278(33), 31380–31384. <https://doi.org/10.1074/jbc.M305878200>
22. Tao, X., & Tong, L. (2003). Crystal structure of human DJ-1, a protein associated with early onset Parkinson's disease. *The Journal of biological chemistry*, 278(33), 31372–31379. <https://doi.org/10.1074/jbc.M304221200>
23. Dolgacheva, L. P., Berezhnov, A. V., Fedotova, E. I., Zinchenko, V. P., & Abramov, A. Y. (2019). Role of DJ-1 in the mechanism of pathogenesis of Parkinson's disease. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 51(3), 175–188. <https://doi.org/10.1007/s10863-019-09798-4>

24. Nagakubo, D., Taira, T., Kitaura, H., Ikeda, M., Tamai, K., Iguchi-Ariga, S. M., & Ariga, H. (1997). DJ-1, a novel oncogene which transforms mouse NIH3T3 cells in cooperation with ras. *Biochemical and biophysical research communications*, 231(2), 509–513. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.6132>
25. Yanagida, T., Tsushima, J., Kitamura, Y., Yanagisawa, D., Takata, K., Shibaike, T., Yamamoto, A., Taniguchi, T., Yasui, H., Taira, T., Morikawa, S., Inubushi, T., Tooyama, I., & Ariga, H. (2009). Oxidative stress induction of DJ-1 protein in reactive astrocytes scavenges free radicals and reduces cell injury. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(1), 36–42. <https://doi.org/10.4161/oxim.2.1.7985>
26. Raninga, P. V., Di Trapani, G., & Tonissen, K. F. (2017). The Multifaceted Roles of DJ-1 as an Antioxidant. *Advances in experimental medicine and biology*, 1037, 67–87. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6583-5_6
27. Perier, C., & Vila, M. (2012). Mitochondrial biology and Parkinson's disease. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2(2), a009332. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009332>
28. Thomas, K. J., McCoy, M. K., Blackinton, J., Beilina, A., van der Brug, M., Sandebring, A., Miller, D., Maric, D., Cedazo-Minguez, A., & Cookson, M. R. (2011). DJ-1 acts in parallel to the PINK1/parkin pathway to control mitochondrial function and autophagy. *Human molecular genetics*, 20(1), 40–50. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq430>
29. Gallinat, A., Rakovic, A., Klein, C., & Badimon, L. (2022). DJ-1 regulates mitochondrial gene expression during ischemia and reperfusion. *Free radical biology & medicine*, 193(Pt 1), 430–436. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.10.315>
30. Shendelman, S., Jonason, A., Martinat, C., Leete, T., & Abeliovich, A. (2004). DJ-1 is a redox-dependent molecular chaperone that inhibits alpha-synuclein aggregate formation. *PLoS biology*, 2(11), e362. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020362>
31. Kaushik, S., & Cuervo, A. M. (2009). Methods to monitor chaperone-mediated autophagy. *Methods in enzymology*, 452, 297–324. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(08\)03619-7](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(08)03619-7)
32. Cuervo, A. M., Dice, J. F., & Knecht, E. (1997). A population of rat liver lysosomes responsible for the selective uptake and degradation of cytosolic proteins. *The Journal of biological chemistry*, 272(9), 5606–5615. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.9.5606>
33. Xu, C.-Y., Kang, W.-Y., Chen, Y.-M., Jiang, T.-F., Zhang, J., Zhang, L.-N., Ding, J.-Q., Liu, J., & Chen, S.-D. (2017). DJ-1 inhibits α -synuclein aggregation by regulating chaperone-mediated autophagy. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 9, 308. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00308>

34. Clements, C. M., McNally, R. S., Conti, B. J., Mak, T. W., & Ting, J. P. (2006). DJ-1, a cancer- and Parkinson's disease-associated protein, stabilizes the antioxidant transcriptional master regulator Nrf2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(41), 15091–15096. <https://doi.org/10.1073/pnas.0607260103>
35. Piston, D., Alvarez-Erviti, L., Bansal, V., Gargano, D., Yao, Z., Szabadkai, G., Odell, M., Puno, M. R., Björklom, B., Maple-Grødem, J., Breuer, P., Kaut, O., Larsen, J. P., Bonn, S., Møller, S. G., Wüllner, U., Schapira, A. H. V., & Gegg, M. E. (2017). DJ-1 is a redox sensitive adapter protein for high molecular weight complexes involved in regulation of catecholamine homeostasis. *Human molecular genetics*, 26(20), 4028–4041. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx294>
36. Krebber, G., Ruckerbauer, S., Burbulla, L. F., Kieper, N., Maurer, B., Waak, J., Wolburg, H., Gizatullina, Z., Gellerich, F. N., Voitalla, D., Riess, O., Kahle, P. J., Proikas-Cezanne, T., & Krüger, R. (2010). Reduced basal autophagy and impaired mitochondrial dynamics due to loss of Parkinson's disease-associated protein DJ-1. *PloS one*, 5(2), e9367. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009367>
37. He, L., Lin, S., Pan, H., Shen, R., Wang, M., Liu, Z., Sun, S., Tan, Y., Wang, Y., Chen, S., & Ding, J. (2019). Lack of Association Between DJ-1 Gene Promoter Polymorphism and the Risk of Parkinson's Disease. *Frontiers in aging neuroscience*, 11, 24. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00024>
38. Taira, T., Saito, Y., Niki, T., Iguchi-Ariga, S. M., Takahashi, K., & Ariga, H. (2004). DJ-1 has a role in antioxidative stress to prevent cell death. *EMBO reports*, 5(2), 213–218. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400074>
39. Ariga, H., Takahashi-Niki, K., Kato, I., Maita, H., Niki, T., & Iguchi-Ariga, S. M. (2013). Neuroprotective function of DJ-1 in Parkinson's disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2013, 683920. <https://doi.org/10.1155/2013/683920>
40. Kinumi, T., Kimata, J., Taira, T., Ariga, H., & Niki, E. (2004). Cysteine-106 of DJ-1 is the most sensitive cysteine residue to hydrogen peroxide-mediated oxidation in vivo in human umbilical vein endothelial cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 317(3), 722–728. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.03.110>
41. Wilson, M. A. (2011). The role of cysteine oxidation in DJ-1 function and dysfunction. *Antioxidants and Redox Signaling*, 15(1), 111–122. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3481>
42. Canet-Avilés, R. M., Wilson, M. A., Miller, D. W., Ahmad, R., McLendon, C., Bandyopadhyay, S., Baptista, M. J., Ringe, D., Petsko, G. A., & Cookson, M. R. (2004). The Parkinson's disease protein DJ-1 is

- neuroprotective due to cysteine-sulfinic acid-driven mitochondrial localization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(24), 9103–9108. <https://doi.org/10.1073/pnas.0402959101>
43. Zhou, W., Zhu, M., Wilson, M. A., Petsko, G. A., & Fink, A. L. (2006). The oxidation state of DJ-1 regulates its chaperone activity toward alpha-synuclein. *Journal of molecular biology*, 356(4), 1036–1048. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.12.030>
 44. Ito, G., Ariga, H., Nakagawa, Y., & Iwatsubo, T. (2006). Roles of distinct cysteine residues in S-nitrosylation and dimerization of DJ-1. *Biochemical and biophysical research communications*, 339(2), 667–672. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.11.058>
 45. Khasnavis, S., & Pahan, K. (2012). Sodium benzoate, a metabolite of cinnamon and a food additive, upregulates neuroprotective Parkinson disease protein DJ-1 in astrocytes and neurons. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 7(2), 424–435. <https://doi.org/10.1007/s11481-011-9286-3>
 46. Xu, W., Li, T., Gao, L., Lenahan, C., Zheng, J., Yan, J., Shao, A., & Zhang, J. (2019). Sodium Benzoate Attenuates Secondary Brain Injury by Inhibiting Neuronal Apoptosis and Reducing Mitochondria-Mediated Oxidative Stress in a Rat Model of Intracerebral Hemorrhage: Possible Involvement of DJ-1/Akt/IKK/NFκB Pathway. *Frontiers in molecular neuroscience*, 12, 105. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00105>
 47. Li, S., & Pu, X. P. (2011). Neuroprotective effect of Kaempferol against a 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced mouse model of Parkinson's disease. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 34(8), 1291–1296. <https://doi.org/10.1248/bpb.34.1291>
 48. Heijnen, C. G., Haenen, G. R., van Acker, F. A., van der Vijgh, W. J., & Bast, A. (2001). Flavonoids as peroxynitrite scavengers: the role of the hydroxyl groups. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*, 15(1), 3–6. [https://doi.org/10.1016/s0887-2333\(00\)00053-9](https://doi.org/10.1016/s0887-2333(00)00053-9)
 49. Qu, W., Fan, L., Kim, Y. C., Ishikawa, S., Iguchi-Ariga, S. M., Pu, X. P., & Ariga, H. (2009). Kaempferol derivatives prevent oxidative stress-induced cell death in a DJ-1-dependent manner. *Journal of pharmacological sciences*, 110(2), 191–200. <https://doi.org/10.1254/jphs.09045fp>
 50. Suganthy, N., Devi, K. P., Nabavi, S. F., Braid, N., & Nabavi, S. M. (2016). Bioactive effects of quercetin in the central nervous system: Focusing on the mechanisms of actions. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 84, 892–908. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.10.011>

51. Xiao, C., Wang, J., Zhang, X., & Dai, G. (2019). Quercetin improves rat brain function after ischemia by regulating DJ-1 / Nrf2 <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:202717073>
52. Oliveira, A. I., Pinho, C., Sarmiento, B., & Dias, A. C. P. (2022). Quercetin-biapigenin nanoparticles are effective to penetrate the blood-brain barrier. *Drug delivery and translational research*, 12(1), 267–281. <https://doi.org/10.1007/s13346-021-00917-6>
53. Yamane, K., Kitamura, Y., Yanagida, T., Takata, K., Yanagisawa, D., Taniguchi, T., Taira, T., & Ariga, H. (2009). Oxidative Neurodegeneration Is Prevented by UCP0045037, an Allosteric Modulator for the Reduced Form of DJ-1, a Wild-Type of Familial Parkinson's Disease-Linked PARK7. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(11), 4789–4804. <https://doi.org/10.3390/ijms10114789>
54. Kitamura, Y., Watanabe, S., Taguchi, M. et al. Neuroprotective effect of a new DJ-1-binding compound against neurodegeneration in Parkinson's disease and stroke model rats. *Mol Neurodegeneration* 6, 48 (2011). <https://doi.org/10.1186/1750-1326-6-48>
55. Takahashi-Niki, K., Inafune, A., Michitani, N., Hatakeyama, Y., Suzuki, K., Sasaki, M., Kitamura, Y., Niki, T., Iguchi-Ariga, S. M., & Ariga, H. (2015). DJ-1-dependent protective activity of DJ-1-binding compound no. 23 against neuronal cell death in MPTP-treated mouse model of Parkinson's disease. *Journal of pharmacological sciences*, 127(3), 305–310. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2015.01.010>
56. Miyazaki, S., Yanagida, T., Nunome, K., Ishikawa, S., Inden, M., Kitamura, Y., Nakagawa, S., Taira, T., Hirota, K., Niwa, M., Iguchi-Ariga, S.M.M. and Ariga, H. (2008), DJ-1-binding compounds prevent oxidative stress-induced cell death and movement defect in Parkinson's disease model rats. *Journal of Neurochemistry*, 105: 2418–2434. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05327.x>
57. Yanagida, T., Kitamura, Y., Yamane, K., Takahashi, K., Takata, K., Yanagisawa, D., Yasui, H., Taniguchi, T., Taira, T., Honda, T., & Ariga, H. (2009). Protection against oxidative stress-induced neurodegeneration by a modulator for DJ-1, the wild-type of familial Parkinson's disease-linked PARK7. *Journal of pharmacological sciences*, 109(3), 463–468. <https://doi.org/10.1254/jphs.08323sc>
58. J. B. Foresman and Æ Frisch, *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*, 3rd ed., Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, 2015. ISBN: 978-1-935522-03-4
59. Parr, Robert G, and Yang Weitao, *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules* (New York, 1995; online edn, Oxford Academic, 12 Nov. 2020), <https://doi.org/10.1093/oso/9780195092769.001.0001>

60. Axel D. Becke; Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J. Chem. Phys.* 1 April 1993; 98 (7): 5648–5652. <https://doi.org/10.1063/1.464913>
61. Becke A. D. (1988). Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Physical review. A, General physics*, 38(6), 3098–3100. <https://doi.org/10.1103/physreva.38.3098>
62. Lee, C., Yang, W., & Parr, R. G. (1988). Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical review. B, Condensed matter*, 37(2), 785–789. <https://doi.org/10.1103/physrevb.37.785>
63. Stephens, P. J., Devlin, F. J., Chabalowski, C. F., & Frisch, M. J. (1994). *Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields*. *The Journal of Physical Chemistry*, 98(45), 11623–11627. doi:10.1021/j100096a001
64. Koch, W., & Holthausen, M. C. (2001). Molecular structures and vibrational frequencies (pp. 119-136). *En A Chemist's Guide to Density Functional Theory* (2nd ed.). Wiley-VCH. <https://doi.org/10.1002/3527600043.ch8>
65. Mardirossian, N., & Head-Gordon, M. (2017). Thirty years of density functional theory in computational chemistry: an overview and extensive assessment of 200 density functionals. *Molecular Physics*, 115(19), 2315–2372. <https://doi.org/10.1080/00268976.2017.1333644>
66. Wiberg, K. B. (1986). *Ab Initio Molecular Orbital Theory* by W. J. Hehre, L. Radom, P. v. R. Schleyer, and J. A. Pople, John Wiley, New York, 548pp. *Journal of Computational Chemistry*, 7(3), 379. <https://doi.org/10.1002/jcc.540070314>
67. Hehre, W. J., Stewart, R. F., & Pople, J. A. (1969). Self-Consistent Molecular-Orbital Methods. I. Use of Gaussian Expansions of Slater-Type Atomic Orbitals. *The Journal of Chemical Physics*, 51(6), 2657–2664. <https://doi.org/10.1063/1.1672392>
68. Hehre, W. J., Ditchfield, R., & Pople, J. A. (1972). Self-Consistent Molecular Orbital Methods. XII. Further Extensions of Gaussian-Type Basis Sets for Use in Molecular Orbital Studies of Organic Molecules. *The Journal of Chemical Physics*, 56(5), 2257–2261. <https://doi.org/10.1063/1.1677527>
69. Jensen, F. (2017). *Introduction to computational chemistry* (3rd ed.). Wiley.
70. Clark, T., Chandrasekhar, J., Spitznagel, G. W., & Schleyer, P. v. R. (1983). Efficient diffuse function-augmented basis sets for anion calculations. III. The 3-21+G basis set for first-row elements, Li–F.

- Journal of Computational Chemistry*, 4(3), 294-301.
<https://doi.org/10.1002/jcc.540040303>
71. Aihara, J. (1999). Reduced HOMO–LUMO gap as an index of kinetic stability for polycyclic aromatic hydrocarbons. *The Journal of Physical Chemistry A*, 103(37), 7487–7495. <https://doi.org/10.1021/jp990092i>
72. Rezvan, V. H. (2024). Molecular structure, HOMO–LUMO, and NLO studies of some quinoxaline 1,4-dioxide derivatives: Computational (HF and DFT) analysis. *Results in Chemistry*, 7, 101437.
<https://doi.org/10.1016/j.rechem.2024.101437>
73. Ayalew, M. (2022) DFT Studies on Molecular Structure, Thermodynamics Parameters, HOMO-LUMO and Spectral Analysis of Pharmaceuticals Compound Quinoline (Benzo[b]Pyridine). *Journal of Biophysical Chemistry*, 13, 29-42. doi: [10.4236/jbpc.2022.133003](https://doi.org/10.4236/jbpc.2022.133003).
74. Domingo, LR, Ríos-Gutiérrez, M. y Pérez, P. (2016). Aplicaciones de los índices de la teoría funcional de la densidad conceptual a la reactividad de la química orgánica. *Moléculas* (Basilea, Suiza) , 21 (6), 748.
<https://doi.org/10.3390/molecules21060748>
75. Gupta, V. P. (2016). Characterization of chemical reactions. En *Principles and applications of quantum chemistry* (pp. 385-433). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803478-1.00012-1>
76. Pearson, R. G. (1988). Absolute electronegativity and hardness: Application to inorganic chemistry. *Inorganic Chemistry*, 27(4), 734-740.
<https://doi.org/10.1021/ic00277a030>
77. Parr, R. G., Von Szentpály, L., & Liu, S. (1999). Electrophilicity index. *Journal of the American Chemical Society*, 121(9), 1922-1924.
<https://doi.org/10.1021/ja983494x>
78. Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design*, 7(2), 146–157.
<https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
79. Kuntz, I. D., Blaney, J. M., Oatley, S. J., Langridge, R., & Ferrin, T. E. (1982). A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *Journal of molecular biology*, 161(2), 269–288.
[https://doi.org/10.1016/0022-2836\(82\)90153-x](https://doi.org/10.1016/0022-2836(82)90153-x)
80. Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(11), 935–949.
doi:10.1038/nrd1549

81. Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D.S., Olson A.J. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *J. Comput. Chem.* 2009;30:2785–2791. doi: 10.1002/jcc.21256
82. Kumalo HM, Bhakat S, Soliman ME. Theory and applications of covalent docking in drug discovery: merits and pitfalls. *Molecules.* 2015 Jan 27;20(2):1984-2000. doi: 10.3390/molecules20021984. PMID: 25633330; PMCID: PMC6272664.
83. Bianco, G., Forli, S., Goodsell, D.S. and Olson, A.J. (2016), Covalent docking using autodock: Two-point attractor and flexible side chain methods. *Protein Science*, 25: 295-301. <https://doi.org/10.1002/pro.2733>
84. Gaussian 09, Revision A.02, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.
85. Tashiro, S., Caaveiro, J. M. M., Nakakido, M., Tanabe, A., Nagatoishi, S., Tamura, Y., Matsuda, N., Liu, D., Hoang, Q. Q., & Tsumoto, K. (2018). Discovery and Optimization of Inhibitors of the Parkinson's Disease Associated Protein DJ-1. *ACS chemical biology*, 13(9), 2783–2793. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.8b00701>
86. MarvinSketch (version 6.2.2 , calculation module developed by ChemAxon, <http://www.chemaxon.com/products/marvin/marvinsketch/>, 2014.
87. Schrödinger, L., & DeLano, W. (2020). PyMOL. Retrieved from <http://www.pymol.org/pymol> Schrödinger, L., & DeLano, W. (2020). PyMOL. Retrieved from <http://www.pymol.org/pymol>
88. Dassault Systèmes. (2025). BIOVIA Discovery Studio Visualizer (v25.1.0.24284) [Software]. Dassault Systèmes Biovia Corp

89. Pettersen, E.F., Goddard, T.D., Huang, C.C., Couch, G.S., Greenblatt, D.M., Meng, E.C., and Ferrin, T.E. "UCSF Chimera - A Visualization System for Exploratory Research and Analysis." *J. Comput. Chem.* 25:1605-1612 (2004).
90. Dos Santos, A. A. P., da Silva, J. K. P., Neri, J. M., Neves, A. C. O., de Lima, D. F., & Menezes, F. G. (2020). Nucleophilicity of cysteine and related biothiols and the development of fluorogenic probes and other applications. *Organic & Biomolecular Chemistry*.
<https://doi.org/10.1039/D0OB01754J>
91. Huo, C., Liu, G., Xu, M., Li, X., Zong, W., & Liu, R. (2021). Characterizing the binding interactions of sodium benzoate with lysozyme at the molecular level using multi-spectroscopy, ITC and modeling methods. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 263, 120213. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.120213>
92. McMurry, J. (2008). *Química orgánica* (7.^a ed., pp. 6–7). Cengage Learning.
93. Gallivan, J. P., & Dougherty, D. A. (1999). Cation– π interactions in structural biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(17), 9459–9464. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.17.9459>