

REPOSICIONAMIENTO IN SILICO Y DISEÑO ESTRUCTURAL DE NUEVAS MOLÉCULAS PARA EL TRATAMIENTO DE LA ESQUIZOFRENIA

Vásquez-Paz, Bryan^a; Mejía-Gutiérrez, Melissa; Fierro, Leonardo.

Grupo de Investigación Farmacología Univalle, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Sede San Fernando, Cali, Colombia.

^aCorreo: bryan.vasquez@correounivalle.edu.co

RESUMEN: Se realizó un estudio de reposicionamiento *in silico* utilizando diferentes herramientas computacionales: Acoplamiento Molecular y Modelado del Farmacóforo. Se realizó acoplamiento molecular con tres dianas ampliamente estudiadas en el diseño de fármacos contra la Esquizofrenia, los receptores de dopamina: D2, D3 y D4. Se calculó la afinidad de setenta y siete fármacos que en estudios previos fueron reportados como prototipos a reposicionamiento para la esquizofrenia y se determinó que los fármacos que presentaron mayor acoplamiento y estabilidad a las dianas fueron: el Raloxifeno, la Linagliptina y la Flunarizina. Se analizaron las interacciones involucradas en el acoplamiento, donde se destacaron interacciones de tipo hidrofóbico. A partir de los resultados obtenidos se diseñaron cuatro nuevas subestructuras (R-06, L-09, R-52 y F-10), que presentaron mayor estabilidad. Las nuevas subestructuras tienen un radar de biodisponibilidad en los rangos aceptados para ser prototipos a fármacos. Finalmente, se propuso una síntesis química para las nuevas moléculas.

PALABRAS CLAVE: *Reposicionamiento, Acoplamiento Molecular, Sinapsis dopaminérgica, Farmacóforo, Radar de Biodisponibilidad, Diseño Molecular.*

INTRODUCCIÓN

El reposicionamiento de fármacos es la implementación de nuevos usos terapéuticos para medicamentos que inicialmente fueron aprobados para otra enfermedad. Con esto, se disminuyen los tiempos y costos de producción de nuevos fármacos y se reducen las etapas de desarrollo (**Figura 1**). Se estima que el proceso de elaboración de un fármaco puede durar entre 10-15 años con un costo de alrededor de 800 millones de dólares².

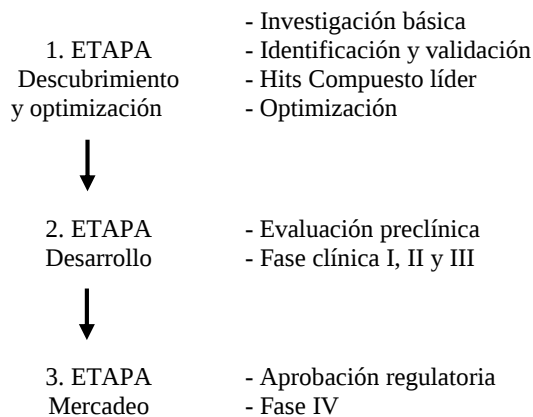


Figura 1. Etapas de desarrollo de un fármaco.

La esquizofrenia es un trastorno mental del neurodesarrollo que tiene una prevalencia a lo largo de la vida del 1% y anual del 1,4 al 4,6 por 1.000 habitantes y una incidencia entre 0,16 a 0,42 casos por 1.000 habitantes³. El tratamiento que se utiliza actualmente está basado en la administración de fármacos antipsicóticos como la Risperidona, el Aripiprazol o la Clozapina, sin embargo, estos fármacos poseen poca especificidad y tienen múltiples efectos secundarios además de que promueven una disminución progresiva

en la producción de glóbulos blancos, lo que conlleva a la aparición de otras enfermedades⁴. Se hace

necesario la implementación de nuevos fármacos que disminuyan los problemas anteriormente mencionados.

El acoplamiento molecular⁵ es una herramienta útil en la búsqueda de moléculas que inhiban o modulen diferentes blancos moleculares diferenciales en una enfermedad. El acoplamiento molecular (Docking Molecular) se basa en la simulación *in silico* de las interacciones a nivel energético de dos moléculas de cualquier tipo, el *score* o energía de acoplamiento (Kcal/mol) se encuentra en función de múltiples parámetros como: Grado de interacción entre el ligando y el receptor, los grados de libertad de la molécula, su capacidad de formar puentes de hidrógeno, entre otros.

Se ha reportado el uso de acoplamiento molecular en una gran cantidad de estudios de reposicionamiento de fármacos. Kumar et al.⁶ lo utilizaron para analizar las interacciones proteína-ligando y el reposicionamiento *in silico* de fármacos antipsicóticos para tratar el Alzheimer. Dilly et al.⁷ realizaron estudios *in silico* del Naproxeno y sus análogos para demostrar que podrían tener actividad antiviral contra el virus de la influenza A. Teli y Rajanikant⁸ realizaron un reposicionamiento *in silico* utilizando fármacos aprobados por la FDA como inhibidores de las PHDs (una familia de enzimas dioxigenasas, llamadas HIF proil-4-hidroxilasas).

En este estudio, para complementar los resultados de acoplamiento molecular se utilizó el modelado del farmacóforo, con el objeto de analizar con detalle el ligando acoplado al receptor y monitorear el conjunto de características estéricas y electrónicas que garantizan una óptima interacción supramolecular y que probablemente desencadenarán o bloquearán una respuesta biológica⁹.

Algunos parámetros de la química médica fueron optimizados utilizando la plataforma web <http://www.swissadme.ch/>¹⁰. Se calcularon propiedades fisicoquímicas y con modelos predictivos se pronosticó el comportamiento que tendría el fármaco dentro del cuerpo humano, esto con el fin de conocer acerca de los efectos secundarios y la metabolización de los compuestos ensayados. La plataforma permite además graficar los radares de biodisponibilidad, los cuales son una representación gráfica de seis propiedades estructurales que debería cumplir todo nuevo fármaco: (1) la liofilia; XLOGP3 [-0.7, +5.0], (2) peso molecular [150 - 500] (g/mol), (3) polaridad o área superficial polar topológica (TPSA) [20, 130] Å², (4) solubilidad (log S) < 6, (5) la saturación (carbonos en hibridación sp³) > 0.25 y (6) la flexibilidad < 9 enlaces con rotación. Los compuestos que se encuentren en los rangos anteriormente mencionados probablemente tendrán una buena biodisponibilidad oral, es decir, que por su configuración estructural se les facilitará alcanzar su diana terapéutica (canales, transportadores, receptores u otra macromolécula proteica) en su forma activa.

Recientemente se ha reportado un estudio cualitativo de reposicionamiento de fármacos para la esquizofrenia donde se postuló un aproximado de 200 fármacos², el objetivo de este trabajo es complementar dicho estudio realizando acoplamiento molecular a setenta y siete fármacos (elegidos por ser de tipo no proteicos ni anticuerpos), acoplándolos a tres receptores de Dopamina D2, D3 y D4, analizando el tipo de interacciones para los complejos de mayor afinidad mediante el modelado del farmacóforo. Con base en esto se proponen derivados estructurales de los compuestos de mayor afinidad que mejoren las interacciones originalmente presentadas, sin alterar sus radares de biodisponibilidad⁹ y dejando establecidas sus síntesis químicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los compuestos propuestos para este estudio fueron seleccionados utilizando los siguientes criterios de inclusión²: (1) haber sido probados en estudios clínicos (ClinicalTrials.gov) con un blanco farmacológico aprobado para la esquizofrenia ante la FDA, pero que aún no hubiesen sido aprobados para tratar la esquizofrenia, (2) que no presentaran efectos secundarios reportados, de forma aislada ni en combinación con otros fármacos. Así, se seleccionaron setenta y siete (de un grupo de doscientos) que fueron los únicos de tipo no proteico ni anticuerpos² (Ver lista completa en Material Suplementario). Los compuestos fueron modelados en su estructura 3D y se descargaron de la base de datos Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) en formato “.sdf”, luego se optimizaron con modelos de química cuántica, como cálculos ab-initio utilizando el método de la teoría de funcional de la densidad “DFT” (“Density functional theory”) con el funcional multiparamétrico B3LYP y un conjunto de bases gaussianas del tipo 6-31G, utilizando el programa Gaussian 09¹⁰. La geometría optimizada resultante fue convertida a formato “.mol2” y posteriormente a formato “.pdbqt” con el programa Open Babel 2.4.1 e incorporando a la molécula hidrógenos polares y rotación libre de enlaces.

Los blancos farmacológicos seleccionados para la esquizofrenia fueron los receptores de dopamina D2, D3 y D4^{12(a-b)}. Las estructuras cristalográficas de estas proteínas se descargaron de la base de datos del PDB (<https://www.rcsb.org/>) cuyos códigos son 6CM4 (receptor D2), 3PBL (receptor D3) y 5WIU (receptor D4).

La optimización de las estructuras se realizó con el programa UCSF Chimera¹³, para ello se removieron las moléculas de agua y otros ligandos no proteicos, se adicionaron cargas bajo el campo de fuerza AMBER y cargas Gasteiger para otros residuos. Las estructuras se llevaron a su conformación de mínima energía y se guardaron en formato “.pdbqt”.

Con los ligandos y proteínas en formato “.pdbqt” y una vez fueron optimizados, se realizó el acoplamiento molecular automatizado por triplicado utilizando el programa AutoDock Vina¹. Se realizó un “Acoplamiento Flexible” de manera simultánea de los setenta y siete compuestos con cada uno de los blancos moleculares (D2, D3 y D4), el acoplamiento en serie se realizó mediante el diseño de script automatizado que se corrió en un equipo Work Station Precision 7920 utilizando una terminal de Linux Ubuntu 18.04. Se seleccionó como sitio de acoplamiento las coordenadas de los inhibidores reportadas en el PDB. Las coordenadas x, y, z para 6CM4 fueron 9.9, 5.8 y 9.5 Å, para para 3PBL fueron 0.08, -14.8 y 10.4 Å y para 5WIU -17.4, 15.2, -16.7 Å. Para cada acoplamiento se construyó una caja “Grid Box” (Es decir una cuadrícula o espacio definido lo suficientemente grande como para permitir que el ligando acoplado girara libremente) de x 25, y 25, z 25 Å, con un número de modos de unión igual a 20 y una exhaustividad de 25. Se realizaron tres operaciones de acoplamiento para cada ligando, y se guardó la pose con el valor más negativo de afinidad (Kcal / mol). Para cada diana molecular, se seleccionaron los complejos con menor energía de acoplamiento y se modelaron los farmacóforos que se establecieron utilizando el programa “LigandScout”. Con base en estas interacciones se propusieron derivados estructurales que mejoraran y reforzaran las interacciones encontradas en cada uno de los complejos. Las interacciones que se tuvieron en cuenta fueron: interacciones hidrofóbicas, donantes de enlace de hidrógeno (HBD), un aceptor de enlace de hidrógeno (HBA), anillo aromático hidrófobo, entre otros¹⁴. Se utilizó el servidor web gratuito SWISSADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>) para comprobar diferentes parámetros ADME, propiedades fisicoquímicas y radares de biodisponibilidad (Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la primera parte de esta investigación se calcularon las energías de acoplamiento de los setenta y siete fármacos candidatos a reposición con las tres dianas moleculares. En la **Tabla 1** se exponen los diez fármacos con menor energía de acoplamiento, posteriormente para tener un punto de comparación de estas energías, se calculó la energía de acoplamiento con fármacos reportados como moduladores de las dianas moleculares (**Tabla 2**) y con fármacos utilizados en el tratamiento de la esquizofrenia (**Tabla 3**). Entre más negativa sea la energía de acoplamiento más estable es la interacción y por tanto tendrá mayor probabilidad de acoplamiento con dicha molécula en comparación con los demás fármacos, así; los fármacos de reposicionamiento que se acoplaron con mayor estabilidad fueron el Raloxifeno, la Linagliptina y la Flunarizina (**Tabla 1**).

La Bromocriptina¹⁵ es un fármaco agonista de la dopamina en el receptor D2, la Blonanserina¹⁵ es un antagonista de dopamina y la Oxiperomida es un antagonista de dopamina en el receptor D4¹⁵. Con estos fármacos se realizó acoplamiento molecular siguiendo el mismo protocolo utilizado con los fármacos de reposición. Los resultados obtenidos se presentan en la **Tabla 2**. La Bromocriptina,

la Lurasidona y el Bifeprunox se acoplaron al receptor D2 con energías de -10.8; -10.5 y -10.3 Kcal/mol,

Tabla 1. Resultados de acoplamiento molecular de los diez fármacos con menor energía de acoplamiento con las proteínas D2, D3 y D4.

D2 (6CM4)		D3 (3PBL)		D4 (5WIU)	
Fármaco	Afinidad (Kcal/mol ^a)	Fármaco	Afinidad (Kcal/mol ^a)	Fármaco	Afinidad (Kcal/mol ^a)
Raloxifeno	-10.9	Raloxifeno	-9.7	Flunarizina	-10.8
Linagliptina	-10.5	Oxcarbazepine	-9.5	Metotrexato	-10.4
Flunarizina	-10.1	Progesterona	-9.5	Celecoxib	-10.3
Donepezilo	-10.0	Metotrexato	-9.4	Donepezilo	-10.2
Oxcarbazepina	-10.0	Linagliptina	-9.3	Esomeprazol	-10.1
Estradiol	-9.7	Prednisolona	-9.3	Linagliptina	-10.0
Losartán	-9.7	Estradiol	-9.2	Raloxifeno	-9.8
Sildenafil	-9.6	Donepezilo	-9.0	Lorazepam	-9.7
Ceftriaxona	-9.5	Flunarizina	-8.9	Progesterona	-9.7
Esomeprazol	-9.4	Sildenafil	-8.9	Sildenafil	-9.6

^aEnergía de acoplamiento (Kcal / mol) calculada utilizando AutoDock Vina.

Tabla 2. Resultados de acoplamiento molecular de los fármacos reportados como modulares de D2, D3 y D4.

D2 (6CM4)		D3 (3PBL)		D4 (5WIU)	
Fármaco	Afinidad (Kcal/mol ^a)	Fármaco	Afinidad (Kcal/mol ^a)	Fármaco	Afinidad (Kcal/mol ^a)
Bromocriptina	-10.8	Pimozide	-9.0	Oxiperomida	-5.6
Lurasidona	-10.5	Blonanserina	-8.8	Pramipexola	-5.3
Bifeprunox	-10.3	Piribedil	-7.7		

^aEnergía de acoplamiento (Kcal / mol) calculada utilizando AutoDock Vina.

Tabla 3. Resultados de acoplamiento molecular de los fármacos antipsicóticos usados en el tratamiento de la esquizofrenia.

	D2 (6CM4)	D3 (3PBL)	D4 (5WIU)
Fármacos Esquizofrenia	Afinidad (Kcal/mol ^a)		
Risperidona	-11.4	-10.0	-11.0
Aripiprazol	-9.6	-9.2	-11.0
Clozapina	-8.8	-8.1	-9.8
Olanzapina	-8.5	-7.3	-10.0

^aEnergía de acoplamiento (Kcal / mol) calculada utilizando AutoDock Vina.

respectivamente. Se aprecia que las energías fueron cercanas a las obtenidas para el Raloxifeno, la Linagliptina y la Flunarizina en el mismo receptor D2, lo cual permite sugerir que estos tres fármacos podrían modificarse estructuralmente en pro de que el acoplamiento a los receptores sea más fuerte y estable.

En la **Tabla 3** se presentan los resultados de acoplamiento molecular de algunos fármacos utilizados en el tratamiento de la esquizofrenia⁴; la Risperidona, el Aripiprazol, la Clozapina y la Olanzapina. En general estos fármacos, a excepción de la Risperidona, se acoplaron con menor estabilidad en comparación a los fármacos estudiados por reposición (**Tabla 1**). La Clozapina que es uno de los fármacos más utilizados en la primera fase del tratamiento de la esquizofrenia se enlazó con menor afinidad en comparación a las energías de acoplamiento del Raloxifeno a los tres receptores.

En la **Figura 2** se muestran las estructuras de los fármacos que se modificaron con el fin de aumentar la interacción a las dianas moleculares. Para saber específicamente qué regiones de las moléculas y qué grupos funcionales se deberán incluir se deben modelar las interacciones que se presentaron en los complejos

ligando-proteína, lo cual se realizó usando el modelado del farmacóforo.

Figura 2. Estructuras de los fármacos: Raloxifeno (R), Linagliptina (L) y Flunarizina (F)

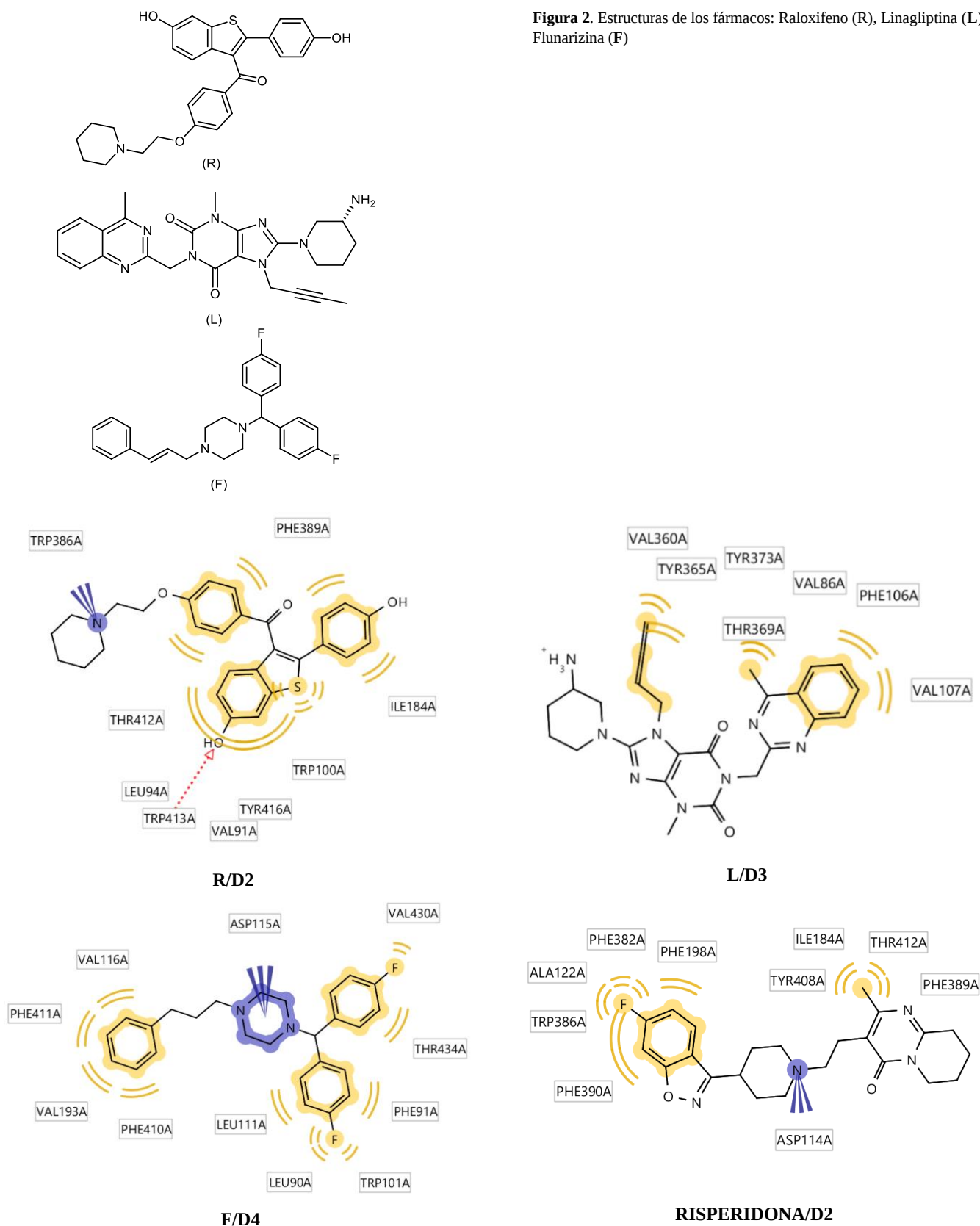


Figura 3. Farmacóforos de los complejos D2/R, D3/L, D4/F y Risperidona/D2 de las interacciones Hidrofóbicas, grupos ionizables y HBA; HBD.

Tabla 4. Tipo de interacción y aminoácidos participantes (cadena A) en los farmacóforos del Raloxifeno, Linagliptina y Flunarizina y de algunos fármacos utilizados en la esquizofrenia: Aripiprazol y Risperidona con Receptores de Dopamina D2, D3 y D4

Ligando	D2	D3	D4
---------	----	----	----

Raloxifeno (R)	<u>Hidrofóbico:</u> PHE389; THR412; LEU94; VAL91; TYR416; TRP100; ILE 184 <u>HBA:</u> TRP413 <u>Ionizable Positivo:</u> TRP386	<u>Hidrofóbico:</u> LEU89; VAL180; THR369; TYR365 <u>Anillo aromático:</u> TYR365 <u>HBA:</u> CYS181; TYR373 <u>Ionizable Positivo:</u> ASP110	<u>Hidrofóbico:</u> LEU187; THR434; VAL193; VAL430 <u>HBA:</u> SER94 <u>HBD:</u> ASP115; GLN417
Linagliptina (L)	<u>Hidrofóbico:</u> VAL190; PHE389; PHE390; THR412; TYR408; TRP386; VAL115 <u>HBD:</u> SER409	<u>Hidrofóbico:</u> PHE106; VAL107; TYR373; VAL86; TYR365; VAL360	<u>Hidrofóbico:</u> LEU111; TRP101; VAL184; VAL87 <u>HBD:</u> GLN417
Flunarizina (F)	<u>Hidrofóbico:</u> PHE110; LEU94; VAL91; TRP100; THR412; ILE184; TYR408; TRP386; PHE390 <u>Ionizable Positivo:</u> SER409	<u>Hidrofóbico:</u> VAL180; TYR365; VAL107; PHE106; VAL108; VAL360 <u>Anillo aromático:</u> PHE106 <u>Ionizable Positivo:</u> GLU90	<u>Hidrofóbico:</u> THR434; LEU111; PHE91; VAL116; PHE411; VAL193; PHE410; VAL430; TRP101; LEU90 <u>Ionizable Positivo:</u> GLU90
Aripiprazol	<u>Hidrofóbico:</u> PHE110; TRP100; VAL91; LEU94; THR412; PHE389; PHE189 <u>Ionizable Positivo:</u> TYR408	<u>Hidrofóbico:</u> PHE345; VAL111; ILE183; TYR365; THR369; LEU89; VAL86 <u>Ionizable Positivo:</u> ASP110	<u>Hidrofóbico:</u> PHE410; LEU187; VAL193; PHE91; VAL87; TRP101; LEU111; LEU90 <u>HBA:</u> LEU187; SER197
Risperidona	<u>Hidrofóbico:</u> PHE198 ; TRP386; PHE390; ALA122; PHE382; PHE198; TYR408; ILE184; THR412; PHE389 <u>Ionizable Positivo:</u> ASP114	<u>Hidrofóbico:</u> ILE183; PHE346; VAL111; PHE345; PHE106; LEU89 <u>Ionizable Positivo:</u> ASP110	<u>Hidrofóbico:</u> LEU187; PHE410; VAL116; VAL193; TRP101; LEU111; PHE411 <u>Ionizable Positivo:</u> ASP115 <u>HBA:</u> SER94; LEU187

HBA: Aceptor de enlace de hidrógeno, HBD: Donador de enlace de hidrógeno.

En la **Figura 3** se muestran algunos farmacóforos que se establecieron en los acoplamientos realizados. Se observa que el complejo entre el Raloxifeno y el receptor D2 (**R/D2, Figura 3**) está apoyado en su mayoría por interacciones de tipo hidrofóbico, lo cual se puede explicar por la presencia de grupos fenólicos y el grado de insaturación presente en la molécula, al tener enlazado al sistema benzo[b]thiophen-6-ol un grupo fenol (**Figura 2**). Este grupo le permite interactuar de manera hidrofóbica con los aminoácidos PHE389 y ILE184. Así mismo, la piperidina le permite interactuar de manera iónica con el aminoácido TRP 386. En la **Tabla 4** se detallan específicamente los aminoácidos implicados en la interacción. La alta flexibilidad que posee el Raloxifeno es consecuencia de los siete enlaces rotables, lo cual le permite interactuar con múltiples aminoácidos. El grupo hidroxilo del tiofeno facilitó la interacción vía enlace de hidrogeno al igual que el grupo éter en el caso de receptores D3 y D4 (**Ver Información Suplementaria**). El Raloxifeno es un modulador selectivo del receptor de estrógenos (SERM) utilizado para prevenir la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas, se comporta como un antagonista de estrógenos y fue introducido en el año 2000¹⁶.

El farmacóforo que se estableció entre la Linagliptina y el receptor D3 se muestra en la Figura 3 (**L/D3**). La Linagliptina se acopló con los receptores D2, D3 y D4 en su mayoría por interacciones de tipo hidrofóbico, lo cual puede deberse al alto grado de insaturación de la molécula, como ocurre en el grupo quinazolina (**Figura 2**) y en el sustituyente de tipo alquino. La Linagliptina presentó interacciones de tipo HBD: donador de puente de hidrógeno, debido a la presencia del grupo amina -NH₃ sustituido de la estructura piperidina a los receptores D2 y D4 (**Ver Información Suplementaria**). La Linagliptina es un inhibidor de la dipetidilpeptidasa-4, y fue aprobado por la FDA en el año 2011

como tratamiento complementario para la mejora y control glucémico en adultos con diabetes mellitus tipo (DM2)¹⁷.

La Flunarizina presentó la energía de afinidad de mayor estabilidad al receptor D4 de todos los fármacos de reposición, con una energía de -10.8 Kcal/mol (Tabla 1). La interacción predominante de la Flunarizina con todos los receptores estudiados fue de tipo hidrofóbico, esto se puede explicar por los dos grupos fenilo enlazados a la piperazina (**Figura 2**) y a la resonancia que se crea entre el fenilo y el doble enlace que existe en un extremo de la molécula. Los átomos de flúor también interactuaron y estabilizaron la interacción de tipo hidrofóbica apoyados por su alta electronegatividad (**Figura 3**). La Flunarizina es un fármaco catalogado como bloqueador de canales de calcio y se emplea en el tratamiento de vértigo y prevención de migraña.

Como se puede apreciar en la **Tabla 4** en su mayoría los fármacos interactuaron con las dianas farmacológicas vía interacción hidrofóbica. Los fármacos Aripiprazol y Risperidona además de presentar interacciones hidrofóbicas, también presentaron interacciones de tipo ionizable. Con el fin de diseñar derivados estructurales de fármacos de reposicionamiento, analizamos algunas propiedades estructurales de los fármacos mediante la inspección de su radar de biodisponibilidad, en la **Figura 4** se muestran los radares de biodisponibilidad del Raloxifeno, Linagliptina, Flunarizina y Risperidona.

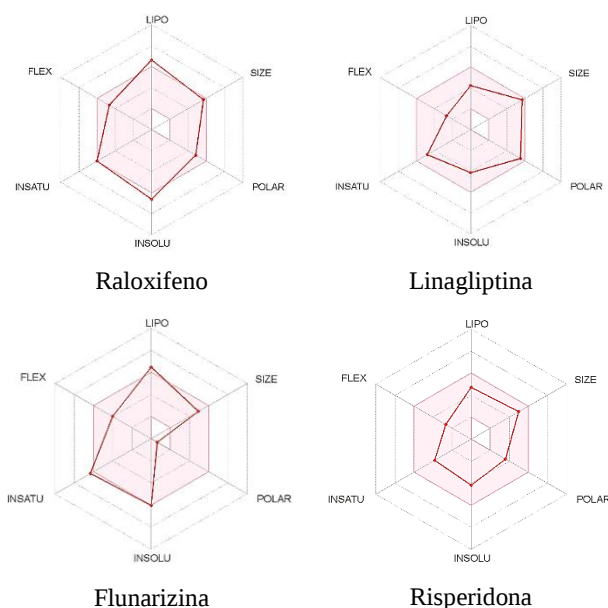


Figura 4. Radar de biodisponibilidad para Raloxifeno, Linagliptina, Flunarizina y Risperidona.

El radar de biodisponibilidad fue obtenido de manera gratuita en la web (<http://www.swissadme.ch/index.php>), se puede apreciar que los radares estuvieron dentro del rango aceptado. Todos los fármacos tuvieron una adecuada flexibilidad, destacándose la Linagliptina que se encontró exactamente en el rango medio, con cuatro enlaces rotables, pero con un TPSA alto. Esto a nivel farmacológico se correlaciona directamente con el transporte molecular pasivo a través de las membranas y se utiliza para medir la capacidad que tendría un medicamento para permear las células²².

Con base en lo anterior, se propuso una serie de estructuras que mejoraran la interacción que presentaron originalmente el Raloxifeno, la Linagliptina y la Flunarizina (Ver todas las modificaciones propuestas y su energía de afinidad en Material Suplementario). Para proponer estas estructuras (**Figura 5**) se tuvieron en cuenta las interacciones que presentaron los farmacóforos establecidos con las dianas de estudio, se analizaron las distintas regiones de la molécula que participaron en el farmacóforo y se adicionaron grupos de polaridad similar. Finalmente, el proceso fue inspeccionado con los distintos radares de biodisponibilidad.

En la **Tabla 5** se presentan las energías de afinidad obtenidas para las modificaciones estructurales que presentaron mayor acoplamiento con las 3 dianas farmacológicas. Para el Raloxifeno se diseñaron un total de cincuenta y tres modificaciones estructurales que estuvieron dentro del radar de biodisponibilidad. Para la Linagliptina y la Flunarizina se propusieron diez nuevas subestructuras. Esto último, se debe a la variabilidad que presentaban los precursores de la síntesis.

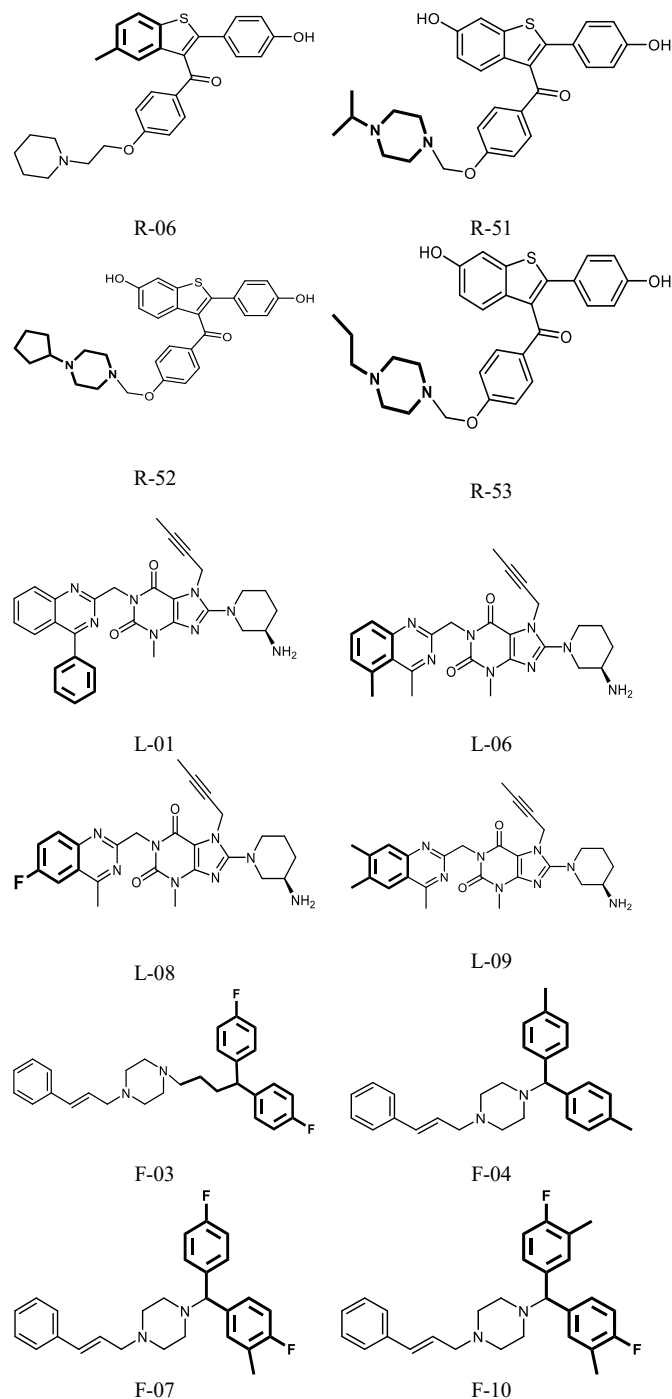


Figura 5. Modificaciones estructurales del Raloxifeno (R-06, R-51, R-52, R-53), Linagliptina (L-01, L-06, L-08, L-09), Flunarizina (F-03, F-04, F-07, F-10)

Algunos derivados estructurales obtuvieron una energía de afinidad de mayor estabilidad, comparada con las estructuras originales (**Tablas 1 y 2**). Entre los derivados se destacan: la estructura R-52 (**Figura 5**) acoplada con el receptor D2 que tuvo una energía de -12.2 Kcal/mol, la cual es la energía de mayor estabilidad presente en todos los compuestos estudiados (de reposicionamiento, de esquizofrenia y de los moduladores). Otras modificaciones destacadas fueron R-06, L-09, y F-10, pues todas presentaron energías de acoplamiento de -11.8 Kcal/mol con el receptor D4, mejorando así en gran medida la interacción que

presentaron los fármacos de reposicionamiento, los inhibidores de las dianas seleccionadas y los fármacos utilizados en la esquizofrenia.

Tabla 5. Datos de afinidad para las mejores cuatro moléculas de cada estudio de mejoramiento de afinidad.

Fármaco	ID	D2	D3	D4
		Afinidad (Kcal/mol ^a)		
Raloxifeno	R-06	-10.7	-10.0	-11.8
	R-51	-11.1	-11.1	-10.7
	R-52	-12.2	-9.6	-11.3
	R-53	-11.0	-11.0	-10.7
Linagliptina	L-01	-10.9	-9.7	-10.5
	L-06	-10.4	-9.7	-11.3
	L-08	-10.6	-9.7	-11.4
	L-09	-10.8	-9.6	-11.8
Flunarizina	F-03	-10.9	-9.1	-10.6
	F-04	-10.6	-9.0	-10.8
	F-07	-10.9	-9.1	-10.9
	F-10	-11.2	-9.5	-11.8

^aEnergía de acoplamiento (Kcal / mol) calculada utilizando AutoDock Vina.

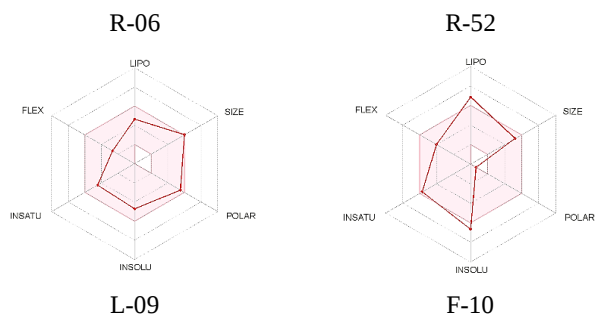
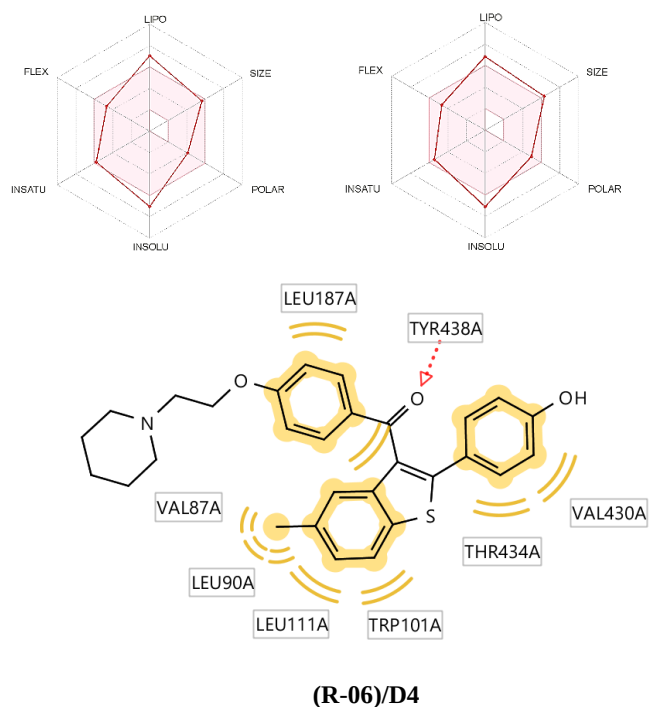
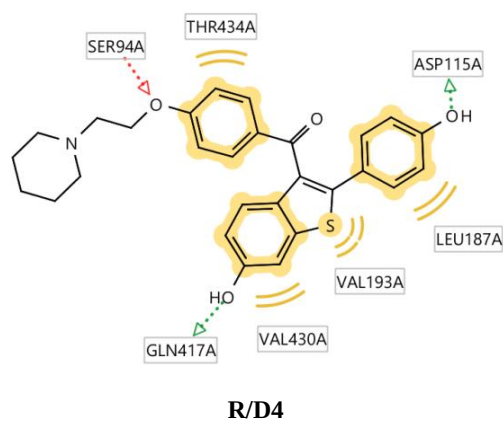


Figura 6. Radares de biodisponibilidad para las estructuras que tuvieron las mejores energías de afinidad.

Adicionalmente, la estructura L-09 se destaca por tener una de las energías de afinidad más altas al receptor D4 y haber aumentado su afinidad con los receptores D2 y D3, con respecto a la Linagliptina.

En la **Figura 6** se muestran los radares de biodisponibilidad de las estructuras R-06, R-52, L-09 y F-10. Se observa que los radares de biodisponibilidad de estas estructuras se mantuvieron en un rango aceptable, indicando que las modificaciones propuestas resultan en estructuras que no presentan problemas de biodisponibilidad. Cabe resaltar que la estructura R-52 presentó la energía más estable de todos los compuestos (-12.2 Kcal/mol) y un radar de biodisponibilidad adecuado, lo cual permite postularla como un líder estructural.



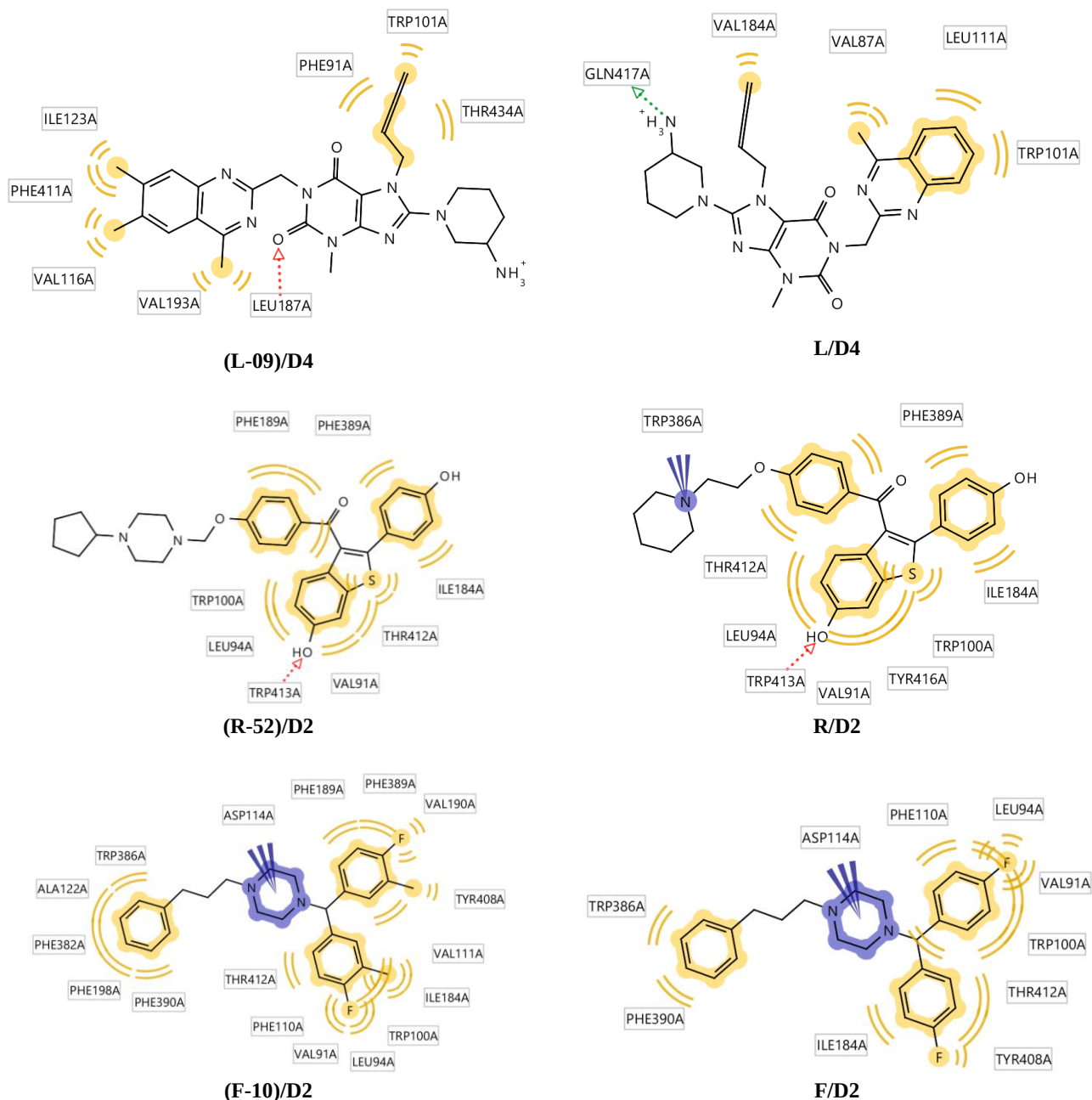


Figura 7. Farmacóforos de las modificaciones estructurales comparados con los fármacos originales.

En la **Figura 7** se presentan los farmacóforos de algunas de las modificaciones estructurales propuestas (**izquierda**) y el fármaco original (**derecha**). En el primer panel se observa cómo cambian las interacciones del Raloxifeno con el receptor D4, cuando se sustituye un grupo -OH por un grupo metilo en la estructura benzo[b]tiofeno; originando el compuesto R-06. Esta modificación se propuso con el fin de aumentar las interacciones de tipo hidrofóbico que ya se estaban presentando entre la estructura en el fenilo del benzo[b]tiofeno y el receptor D4. Como se observa, el grupo metilo favoreció interacciones previamente inexistentes con los aminoácidos VAL87; LEU90; LEU111. En la nueva conformación que tomó la estructura R-06 se observa que hay ausencia de interacciones de tipo HBD, lo cual se evidencia en que el nuevo compuesto ya no interactúa con el aminoácido LEU187 en el anillo fenólico, sino que lo hace con los aminoácidos THR434 y VAL430. Adicionalmente, la estructura R-06 interactúa vía

aceptor de puente de hidrógeno con el aminoácido TYR438, a diferencia del Raloxifeno original que lo hizo con el grupo éter enlazado a piperazina.

El farmacóforo que estableció la subestructura L-09 con el receptor D4 mostró una energía de interacción de -11.8 Kcal/mol, la cual es de mayor afinidad si se compara con los -10.0 Kcal/mol que se observaron con la Linagliptina. Esta mayor afinidad, se puede explicar debido a que los dos grupos metilo adicionados en la posición adyacente al anillo aromático del grupo quinazolina, permitieron interacciones de tipo hidrofóbico de la subestructura (L09) y tres nuevos aminoácidos (ILE123, PHE411 y VAL116) del receptor D4 (figura 7). Adicionalmente, el grupo alquino de la L09 interaccionó con una mayor cantidad de aminoácidos (PHE91; TRP101 y THR434) en comparación con la molécula original,

generándose una interacción adicional de tipo HBA con el aminoácido LEU187 (**figura 7**).

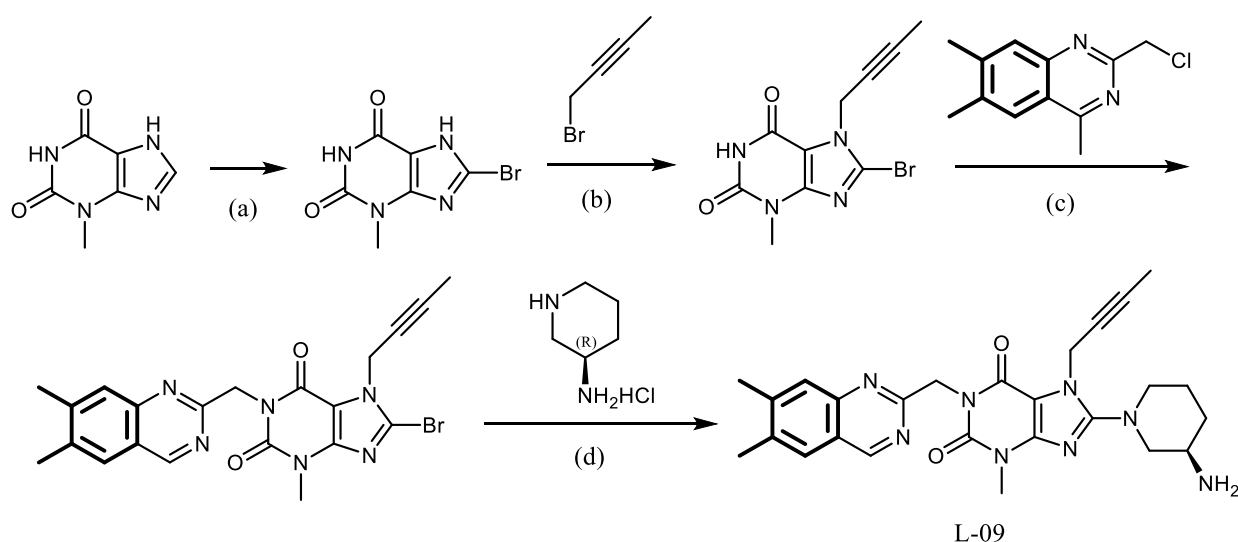
Al adicionar un ciclopentano en la piperidina del Raloxifeno, se obtuvo la subestructura R-52, la cual aumento su acoplamiento con el receptor D2 pasando de tener una energía de -10.9 Kcal/mol a -12.2 Kcal/mol. El R-52 muestra una interacción nueva con el aminoácido PHE189, lo que aumentó la energía de afinidad. Cabe resaltar que la interacción con este aminoácido solo se había observado con el fármaco Aripiprazol (ver **Tabla 4**).

Finalmente, al adicionar dos grupos metilo en la posición –meta de la Flunarizina y dar origen la subestructura F-10, se aumentaron las interacciones de tipo hidrofóbico de esta posición –meta con el receptor D2. Con este cambio, la posición –meta pasó de interactuar con seis a once aminoácidos. La energía de acoplamiento con el receptor D2 también mejoró, al pasar de -10,1

Kcal/mol con la Flunarizina a -11.2 Kcal/mol con la subestructura F-10.

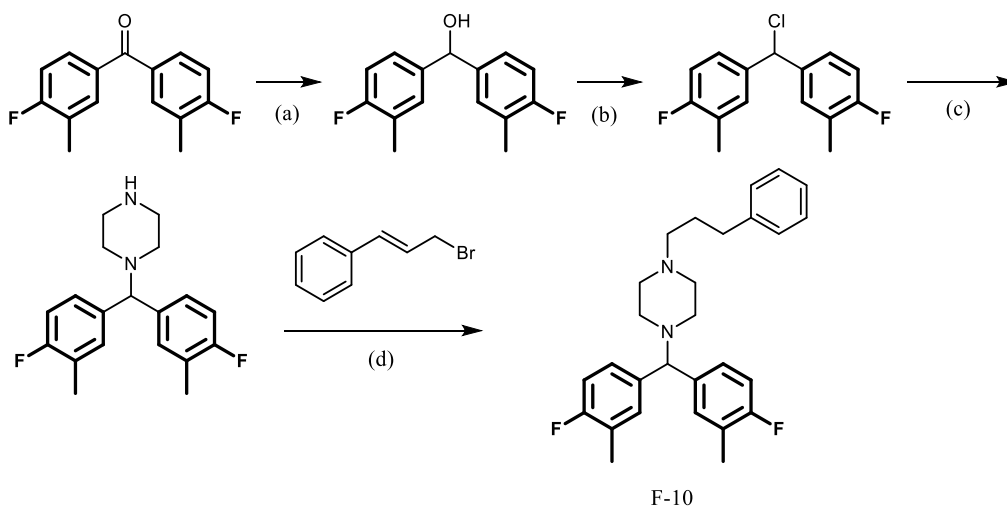
Los resultados muestran que algunas de las modificaciones estructurales que se hicieron a los fármacos, aumentaron su energía de interacción con los receptores de dopamina considerados. Se observó un aumento en la energía de afinidad, en comparación a la obtenida con la Clozapina y Olanzapina (**Tabla 3**). Finalmente, se presenta una posible ruta sintética de las modificaciones estructurales que mostraron mayor interacción (L-09, F-10 , R-06 y R-52) (**Esquema 1-3**).

Las rutas sintéticas expuestas en los **Esquemas 1-3** se proponen en base a condiciones experimentales reportadas en la síntesis de derivados del Raloxifeno, Linagliptina y Flunarizina reportadas en la literatura.²³⁻²⁶



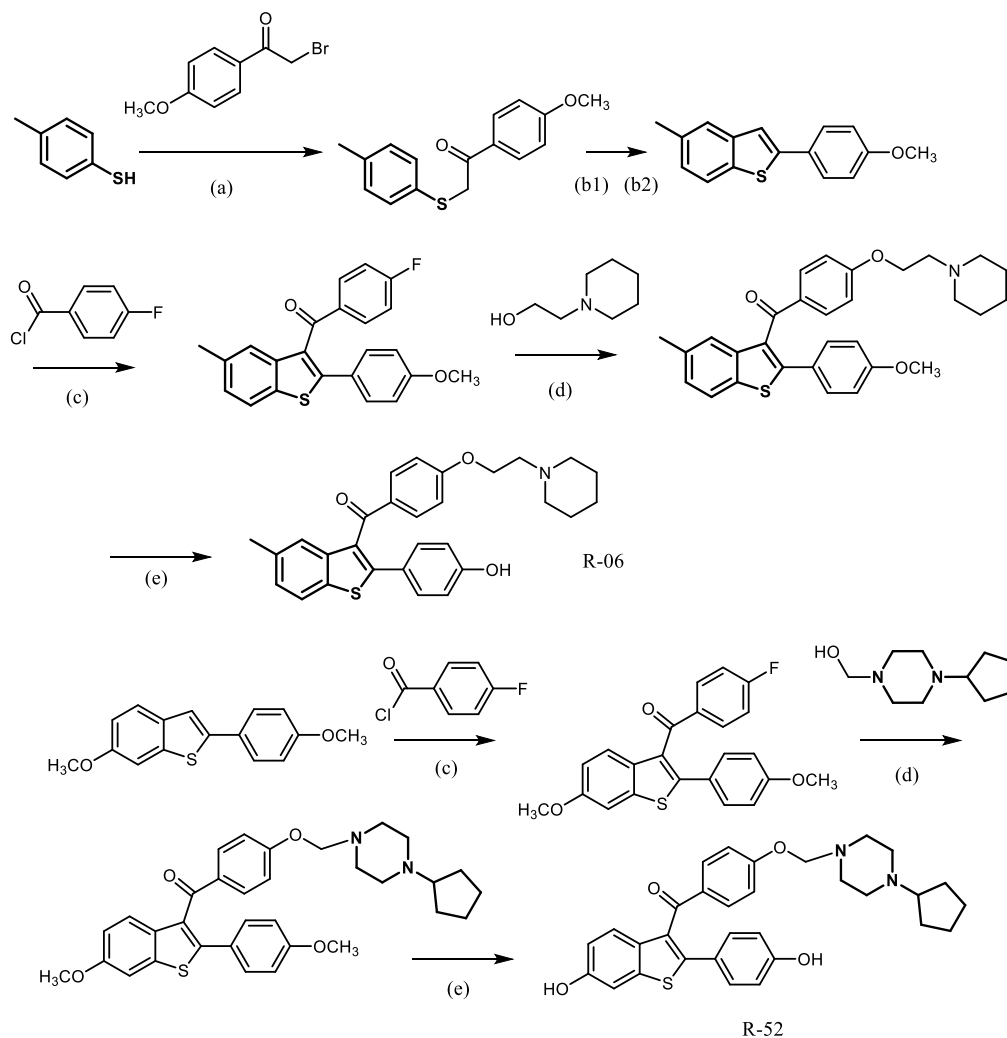
(a) Ácido acético glacial, Bromo líquido. (b) N,N-Dimetilformamida, N,N-Diisopropiletilamina K₂CO₃. (c) N,N-Dimetilformamida, K₂CO₃. (d) Metilisobutilcetona.²³

Esquema 1. Ruta de síntesis de compuesto L-09



(a) NaBH_4 , Metanol. (b) CaCl_2 , con HCl . (c) Piperazina, K_2CO_3 , THF. (d) Bromuro de cinamilo, acetonitrilo.²⁴

Esquema 2. Posible ruta sintética del compuesto F-10



(a) KOH , Etanol, Agua. (b1) AlCl_3 . (c) AlCl_3 / DCM. (b2) MSA, Tolueno, IPA. (d) NaH , DFM. (e) $\text{AlCl}_3/\text{PrSH}$, (or) BBr_3 .^{25, 26}

Esquema 3. Posible rutas sintéticas de compuestos R-06 y R-52.

CONCLUSIONES

Siguiendo la estrategia de reposicionamiento de fármacos y considerando que los receptores de dopamina D2, D3 y D4, se consideran blancos farmacológicos para tratar la esquizofrenia, se analizó la actividad sobre estos 3 receptores de varios fármacos usados en otras patologías diferentes a la esquizofrenia. Se encontró que el Raloxifeno (osteoporosis), la Linagliptina (diabetes) y la Flunarizina (vértigo, migraña) interactuaron con estos 3 receptores de dopamina y presentaron energías de acoplamiento muy similares a fármacos usados en el tratamiento de la esquizofrenia. Además, mostraron un radar de biodisponibilidad aceptable y por lo mismo se podrían postular para estudios experimentales. Se diseñaron algunas estructuras derivadas de estos 3 fármacos, tales como: R-06, L-09, R-52 y F-10, las cuales presentaron una interacción mayor con los 3 receptores de dopamina. Se deja planteada la ruta sintética de estas moléculas con el fin de que en estudios posteriores se puedan sintetizar y comprobar su actividad.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos a mis mentores y guías en este trabajo de grado, el Dr. Julio Maza y Melissa Mejía. A mi director de trabajo, el Dr. Leonardo Fierro y a la Universidad del Valle.

REFERENCIAS

- (1) Lago, S. G.; Bahn, S. Clinical Trials and Therapeutic Rationale for Drug Repurposing in Schizophrenia. *ACS Chem. Neurosci.* **2019**, *10* (1), 58–78. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.8b00205>.
- (2) Saldívar-González, F.; Prieto-Martínez, F. D.; Medina-Franco, J. L. Descubrimiento y Desarrollo de Fármacos: Un Enfoque Computacional. *Educ. Quím.* **2017**, *28* (1), 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.eq.2016.06.002>.
- (3) Gómez-Restrepo, C. Guía de Práctica Clínica Para El Diagnóstico, Tratamiento e Inicio de La Rehabilitación Psicosocial de Los Adultos Con Esquizofrenia: “Hacer Bien Las Cosas Que Hacen Bien.” *Rev. Colomb. Psiquiatr.* **2014**, *44* (S 1), 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.rcp.2015.05.014>.
- (4) Goto, A.; Mouri, A.; Nagai, T.; Yoshimi, A.; Ukigai, M.; Tsubai, T.; Hida, H.; Ozaki, N.; Noda, Y. Involvement of the Histamine H4 Receptor in Clozapine-Induced Hematopoietic Toxicity: Vulnerability under Granulocytic Differentiation of HL-60 Cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2016**, *306*, 8–16. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2016.06.028>.
- (5) Trott, O.; Olson, A. J. AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *J. Comput. Chem.* **2010**, *31* (2), 455–461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>.
- (6) Kumar, S.; Chowdhury, S.; Kumar, S. In Silico Repurposing of Antipsychotic Drugs for Alzheimer’s Disease. *BMC Neurosci.* **2017**, *18* (1), 76.

- <https://doi.org/10.1186/s12868-017-0394-8>.
- (7) Dilly, S.; Fotso Fotso, A.; Lejal, N.; Zedda, G.; Chebbo, M.; Rahman, F.; Companys, S.; Bertrand, H. C.; Vidic, J.; Noiray, M.; et al. From Naproxen Repurposing to Naproxen Analogues and Their Antiviral Activity against Influenza A Virus. *J. Med. Chem.* **2018**, *61* (16), 7202–7217. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00557>.
- (8) Teli, M. K.; Rajanikant, G. K. Computational Repositioning and Experimental Validation of Approved Drugs for HIF-Prolyl Hydroxylase Inhibition. *J. Chem. Inf. Model.* **2013**, *53* (7), 1818–1824. <https://doi.org/10.1021/ci400254a>.
- (9) Seidel, T.; Schuetz, D. A.; Garon, A.; Langer, T. The Pharmacophore Concept and Its Applications in Computer-Aided Drug Design. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **2019**, *110*, 99–141. https://doi.org/10.1007/978-3-030-14632-0_4.
- (10) Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Drug-Likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>.
- (11) Frisch MJ et al. Gaussian 09, Revision B.01, Gaussian, Inc. **2009**.
- (12a) Howes, O. D.; McCutcheon, R.; Owen, M. J.; Murray, R. M. The Role of Genes, Stress, and Dopamine in the Development of Schizophrenia. *Biol. Psychiatry* **2017**, *81* (1), 9–20. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.07.014>.
- (12b) Howes, O.; McCutcheon, R.; Stone, J. Glutamate and Dopamine in Schizophrenia: An Update for the 21st Century. *J. Psychopharmacol.* **2015**, *29* (2), 97–115. <https://doi.org/10.1177/0269881114563634>.
- (13) Pettersen, E. F.; Goddard, T. D.; Huang, C. C.; Couch, G. S.; Greenblatt, D. M.; Meng, E. C.; Ferrin, T. E. UCSF Chimera--a Visualization System for Exploratory Research and Analysis. *J. Comput. Chem.* **2004**, *25* (13), 1605–1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>.
- (14) Guner, O.; Clement, O.; Kurogi, Y. Pharmacophore Modeling and Three Dimensional Database Searching for Drug Design Using Catalyst: Recent Advances. *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 2991–3005. <https://doi.org/10.2174/0929867043364036>.
- (15) Laboratories, K. KEEG <https://www.genome.jp/kegg/> (accessed Jan 2, 2020).
- (16) Kellen, J. A. Raloxifene. *Current Drug Targets.* 2001, pp 423–425. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.2174/1389450013348263>.
- (17) Neumiller, J. J.; Setter, S. M. Review of Linagliptin for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Clin. Ther.* **2012**, *34* (5), 993–1005. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2012.02.029>.
- (18) Lovering, F.; Bikker, J.; Humblet, C. Escape from Flatland: Increasing Saturation as an Approach to Improving Clinical Success. *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (21), 6752–6756. <https://doi.org/10.1021/jm901241e>.
- (19) Ritchie, T. J.; Ertl, P.; Lewis, R. The Graphical Representation of ADME-Related Molecule Properties for

- Medicinal Chemists. *Drug Discov. Today* **2011**, 16 (1–2), 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.11.002>.
- (20) Delaney, J. S. ESOL: Estimating Aqueous Solubility Directly from Molecular Structure. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2004**, 44 (3), 1000–1005. <https://doi.org/10.1021/ci034243x>.
- (21) Cheng, T.; Zhao, Y.; Li, X.; Lin, F.; Xu, Y.; Zhang, X.; Li, Y.; Wang, R.; Lai, L. Computation of Octanol-Water Partition Coefficients by Guiding an Additive Model with Knowledge. *J. Chem. Inf. Model.* **2007**, 47 (6), 2140–2148. <https://doi.org/10.1021/ci700257y>.
- (22) Clark, D. E. What Has Polar Surface Area Ever Done for Drug Discovery? *Future Med. Chem.* **2011**, 3 (4), 469–484. <https://doi.org/10.4155/fmc.11.1>.
- (23) Nandi, S.; Naresh, A.; Bala, G.; Reddy, N.; Venkateswarlu, P.; Reddy, A. S. P. Process Related Impurities In Anti-Diabetic Drug Linagliptin. *J. Pharm. Res. Opin.* **2015**, 5 (5). <https://doi.org/10.15520/jpro.2015.vol5.iss5.15>.
- (24) Venkat, N.; Kranthi, K.; A Simple and Efficient Synthesis of Calcium Channel Blocker Flunarizine.; *int.J.Ind. Chem.*, Vol.2 ; **2011**, 154-157.
- (25) Umareddy, P.; Arava, V. Research Article Expeditious Synthesis of 3-Aryl Benzothiophene A Raloxifene Intermediate. **2017**, 9 (10), 106–110.
- (26) Dadiboyena, S. Recent Advances in the Synthesis of Raloxifene: A Selective Estrogen Receptor Modulator. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 51, 17–34. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.02.021>.