



Síntesis de nuevos análogos del Haloperidol antagonistas a los receptores D2 dopaminérgicos con actividad promisorio antipsicótica evaluada mediante el uso de modelos *In silico*

**Jhoseph Mateo Gómez Morales
Paula Alejandra Herrera Salinas**

**Universidad El Bosque
Facultad de Ciencias - Programa de Química Farmacéutica
Bogotá DC. – Abril del 2022**

Síntesis de nuevos análogos del Haloperidol antagonistas a los receptores D2 dopaminérgicos con actividad promisoriosa antipsicótica evaluada mediante el uso de modelos *In silico*.

Jhoseph Mateo Gómez Morales
Paula Alejandra Herrera Salinas

**Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de:
Químico Farmacéutico**

**Modalidad de trabajo de grado
Investigación**

Director(a)

Drug Discovery

Universidad El Bosque

Facultad de Ciencias - Programa de Química Farmacéutica

Bogotá DC. – Abril de 2022

Hoja de identificación

Título:	Síntesis de nuevos análogos del Haloperidol antagonistas a los receptores D2 dopaminérgicos con actividad promisorio antipsicótica evaluada mediante el uso de modelos <i>In silico</i> .
Grupo de investigación:	INQA (Grupo de Investigación en Química Aplicada)
Línea de Investigación:	Drug discovery
Institución (es) Participante (s):	Universidad El Bosque
Tipo de Investigación:	Investigación aplicada
Estudiantes:	Jhoseph Mateo Gomez Morales Paula Alejandra Herrera Salinas
Director:	Jhon Alex González Amaya
Asesor:	James Guevara Pulido

A nuestras familias, docentes y compañeros

“La educación es el arma más poderosa

Que puede cambiar al Mundo”

Nelson Mandela

Agradecimientos

A nuestros padres Miguel Herrera y Amanda Salinas y Jimmy Gómez y Yanneth Morales, por su amor, su dedicación, sus consejos y su apoyo incondicional durante estos años de estudio, por darnos sabiduría y fortaleza para alcanzar nuestros objetivos y motivarnos a ser mejores personas y mejores profesionales. Este logro no habría sido posible sin el apoyo de ustedes.

A nuestro tutor de trabajo de grado, el profesor Jhon González, por su paciencia, dedicación y compromiso para finalizar esta investigación, así como su disposición para compartir sus conocimientos.

Al profesor James Guevara y a todo el grupo de investigación INQA de la Universidad El Bosque, que nos asesoraron y brindaron las herramientas necesarias para concluir la investigación

Finalmente, agradecemos a todos los profesores, amigos y compañeros que nos ayudaron y nos acompañaron durante nuestra formación académica.

Tabla de contenido

1. Introducción	1
2. Marco teórico	2
2.1 Receptores dopaminérgicos	2
2.2 La esquizofrenia	3
2.3 El tratamiento	4
2.3.1 Antipsicóticos típicos o de primera generación	4
2.3.2 Antipsicóticos atípicos o de segunda generación	5
2.4 Haloperidol	5
2.5 Receptores Sigma	6
2.6 Dolor neuropático	7
2.7 Modelos QSAR	7
2.8 Descriptor molecular	8
3. Planteamiento del problema	9
4. Pregunta de investigación	9
5. Objetivos	10
5.1 Objetivo general	10
5.2 Objetivos específicos	10
6. Metodología	11
6.1 Cribado virtual basado en Estructura	11
6.3 Planteamiento de las Modificaciones	16
6.4 Predicción de la Toxicidad	16
6.6 Extracción del haloperidol	17
6.7 Síntesis de los análogos	17
6.7.1 Síntesis del primer análogo	17
6.7.2 Síntesis del segundo análogo	18
6.7.3 Síntesis del tercer análogo	18
7. Resultados y análisis de resultados	19
7.1 Docking molecular	19
7.2 Modelo QSAR	23
7.2.1 Elección de los descriptores	25
7.2.2 Elección del modelo	26
7.2.3 Predicción del K_i	27

7.3 Determinación de la toxicidad	27
7.4 Elección de los análogos	29
7.5 Planteamiento de la ruta sintética	30
8. Parte experimental	32
8.1 Extracción del Haloperidol	32
8.2 Primer análogo	33
8.2.1 Espectroscopia IR	33
8.2.2 Resonancia Magnética Nuclear	34
8.3 Segundo análogo	36
8.3.1 Espectroscopia IR	36
8.3.2 Resonancia magnética nuclear	36
8.4 Tercer análogo	37
8.4.1 Espectroscopia IR	37
8.4.2 Resonancia Magnética Nuclear	38
9. Conclusiones	40
10. Recomendaciones	41
11. Referencias bibliográficas	42

Listado de tablas

# Tabla	Nombre	Pág.
Tabla 1	Resultados del docking molecular y criterios para la selección de la mejor pose	20
Tabla 2	Interacciones entre los antipsicóticos y los aminoácidos de interés de los receptores D2 y sigma 1	21
Tabla 3	Modificaciones realizadas con sus respectivos sustituyentes	22
Tabla 4	Resultados del docking molecular de las modificaciones y criterios para la selección de la mejor pose	23
Tabla 5	Interacciones calculadas en Pymol entre las modificaciones y los aminoácidos de interés de los receptores D2 y sigma 1	24
Tabla 6	Antipsicóticos comerciales utilizados en el estudio con su respectivo K_i y fuente	25
Tabla 7	Modificaciones planteadas y su respectivo valor de K_i predicho por el modelo QSAR	28
Tabla 8	Resultados de pruebas de toxicidad para cada antipsicótico	28
Tabla 9	Resultados de pruebas de toxicidad para cada modificación planteada	29

Listado de figuras

# de Figura	Nombre	Pág.
Figura 1	Familia de Receptores Dopaminérgicos D1 y D2	2
Figura 2	Diagrama General de la metodología empleada en el desarrollo del proyecto	11
Figura 3	Parámetros generales utilizados en el docking molecular	12
Figura 4	Secuencia de pasos para llevar a cabo el docking molecular y los respectivos softwares	13
Figura 5	Estructura general de la red neuronal utilizada en el modelamiento QSAR	14
Figura 6	Filtros aplicados para la elección de descriptores moleculares en el desarrollo del modelo QSAR	15
Figura 7	Modificaciones planteadas	16
Figura 8	Distancia de los aminoácidos de interés frente a los receptores D2	21
Figura 9	Gráfico de Boxplot obtenido en Matlab para la determinación de outliers de los antipsicóticos.	24
Figura 10	Mapas de color	26
Figura 11	R ² del modelo seleccionado simulado en Matlab	27
Figura 12	Ruta sintética del primer análogo	31
Figura 13	Ruta sintética del segundo y tercer análogo	32
Figura 14	Espectro IR experimental del Haloperidol tomado por ATR	33
Figura 15	Espectro IR teórico del Haloperidol tomado por transformada de Fourier	34
Figura 16	Espectro IR del primer análogo del Haloperidol tomado por ATR	35
Figura 17	Espectro RMN H1 del primer análogo del Haloperidol en cloroformo	36
Figura 18	Espectro IR del segundo análogo del Haloperidol tomado por ATR	37
Figura 19	Espectro RMN H1 del segundo análogo del Haloperidol en cloroformo	38
Figura 20	Espectro IR del tercer análogo del Haloperidol tomado por ATR	39
Figura 21	Espectro RMN H1 del tercer análogo del Haloperidol en cloroformo	40

Lista de Símbolos y abreviaturas

- CCF: Cromatografía en capa fina
- CC: Cromatografía en columna
- TEA: Trietilamina
- DCM: Diclorometano
- RMN: Resonancia Magnética Nuclear
- PF: Punto de Fusión
- K_i : Constante inhibitoria
- NaBH_4 : Borohidruro de sodio
- LiAlH_4 : Hidruro de litio y aluminio
- AMPc: Adenosin Monofosfato Ciclico
- PKA: Proteína Quinasa A
- ATP: Adenosin Trifosfato
- SE: Síntomas Extrapiramidales
- BH: Barrera Hematoencefálica
- THF: TetraHidrofurano
- AMPc: Adenosin Monofosfato Ciclico
- PKA: Proteína Quinasa A

Resumen

Los medicamentos antipsicóticos son fármacos utilizados en el tratamiento de trastornos relacionados con la salud mental, entre los cuales destacan la psicosis y la esquizofrenia y estos afectan a grandes cantidades de personas a nivel mundial.

El enfoque de la presente investigación se basa en la búsqueda de dos análogos del Haloperidol, por lo que se desarrolló un modelo *In silico*. Primeramente, se llevó a cabo el cribado virtual basado en estructura, en donde se determinó la afinidad de los antipsicóticos hacia los receptores D2 y los receptores Sigma-1, se hallaron los aminoácidos con los cuales había más interacción y se estimaron las distancias utilizando softwares como Avogadro, Pymol, Autodocktools y Autodock vina, y se realizó la predicción de la afinidad de los análogos hacia los receptores D2. De manera paralela, se llevó a cabo un cribado virtual basado en ligando a partir de un modelo QSAR por redes neuronales, en donde se obtuvo que el mejor modelo para predecir adecuadamente el K_i de los análogos está compuesto por los descriptores ALOGP², AMR y Topo PSA y cuenta con un R^2 de 0,733 con 550 nodos. Teniendo el modelo plenamente establecido se procedió a realizar la predicción de la actividad biológica de los análogos y la toxicidad mediante PreADMET.

La elección de los dos análogos permitió plantear la ruta sintética y elegir la mejor para llevar a cabo la síntesis. En primer lugar, se realizó la extracción del haloperidol mediante una extracción sólido-líquido y se caracterizó con CCF, Espectroscopia IR y PF, para asegurarnos de obtener el compuesto lo más puro posible. Después, el compuesto se sometió a una reacción con $LiAlH_4$ y THF para reducir el grupo carbonilo, con el fin de sintetizar el primer análogo. A partir del primer análogo, se llevaron a cabo 2 esterificaciones, la primera se realizó con ácido fórmico y se purificó mediante una extracción líquido-líquido, mientras que la segunda se realizó con ácido acético y se purificó con una CC. Se obtuvieron rendimientos de reacción de 80 %, 28 % y 60% respectivamente, los compuestos obtenidos se caracterizaron mediante Espectroscopia IR, CCF y RMN; confirmando la presencia de los análogos 1 y 3, mientras que el análogo 2 no termino de reaccionar, razón por la cual se recomienda establecer mejores metodologías de extracción y purificación.

Palabras Clave: Antipsicóticos, Red Neuronal, Docking Molecular, Síntesis Orgánica, Receptores D2

Abstract

Antipsychotic medications are drugs used in the treatment of disorders related to mental health, among which psychosis and schizophrenia stand out and will arise to large numbers of people globally.

The focus of this research is based on the search for two analogs of haloperidol, for which an In silico model was developed. Firstly, structure-based virtual screening was carried out, where the affinity of antipsychotics towards D2 receptors and Sigma-1 receptors was determined, the amino acids with which there were more interactions were found and the distances were estimated using softwares like Avogadro, Pymol, Autodocktools and Autodock vina, and the prediction of the affinity of the analogs towards D2 receptors was performed. In parallel, a ligand-based virtual screening was carried out from a QSAR model by neural networks, where it was obtained that the best model to adequately predict the K_i of the analogs is composed of the ALOGP2, AMR and Topo PSA descriptors. And has an R^2 of 0.733 with 550 nodes. Having the model fully established, the prediction of the biological activity of the analogs and their toxicity was carried out using PreADMET.

The choice of the two analogs allowed the synthesis approach to be carried out. Haloperidol was then extracted by solid-liquid extraction; Subsequently, it was characterized with CCF, IR Spectroscopy and PF, to ensure that we obtain the purest possible compound. The compound was then subjected to a reaction with $LiAlH_4$ and THF to reduce the carbonyl group, in order to synthesize the first analog. From this, 2 esterifications were carried out with formic acid and purified by liquid-liquid extraction, while the second was carried out with acetic acid and purified with CC. Reaction yields of 80%, 28% and 60% respectively were obtained. Finally, the compounds obtained were characterized by IR Spectroscopy, CCF and NMR; confirming the presence of analogs 1 and 3, while analog 2 is not confirmed, since the compound didn't finish the reaction. It is recommended to establish better purification and extraction methodologies.

Keywords: Antipsychotics, Neural network, Docking Molecular, Organic synthesis, D2 receptors

1. Introducción

La esquizofrenia es una patología afecta al menos a 24 millones de personas a nivel mundial (WHO, 2022); mientras que en Colombia se estima que al menos 1 % de la población la padece y al menos 10 % de ellos han estado relacionados en prácticas suicidas (Bahena-Trujillo et al., 2016) Teniendo en cuenta que la base del tratamiento de la esquizofrenia son los medicamentos, surge la necesidad de buscar otras alternativas que permitan mejorar la calidad de vida de los pacientes, eligiendo un modelo *in silico* como la alternativa más viable en la obtención de nuevos fármacos para el tratamiento de esta patología.

Un modelo *In silico* es una herramienta que permite modelar propiedades farmacocinéticas de nuevos candidatos a fármacos mediante bases de datos y análisis informáticos mediante la utilización de técnicas como modelamientos QSAR y docking molecular (Martinez et al., 2007). El primero permite estimar la relación cuantitativa estructura-actividad mediante el uso de descriptores moleculares y la actividad biológica de los fármacos, lo cual permite obtener un modelo capaz de predecir de manera óptima la actividad biológica de las moléculas a evaluar (Lozano & Scior, 2012).

Por otro lado, el docking molecular describe el comportamiento de las moléculas en el sitio de unión de las proteínas diana, lo cual permite obtener información sobre energías y modos de interacción del complejo ligando-receptor (Velásquez et al., 2013). Por último, el software PreADMET permite predecir la toxicidad de las moléculas evaluando 4 pruebas: Carcino mouse y carcino rat, que evalúa la capacidad de un compuesto para causar cáncer en roedores; hERG inhibition, que evalúa los efectos cardiotoxicos y Ames test, que evalúa la mutagenicidad de los compuestos.

La presente investigación comprende la combinación de un cribado virtual basado en ligando (Modelo QSAR), cribado virtual basado en estructura (docking molecular) y la predicción de la toxicidad; teniendo en cuenta este modelo *In silico*, se pretende hallar y sintetizar 2 análogos al haloperidol que presenten mejores características (predichas y calculadas) a la de los fármacos conocidos, permitiendo reducir la problemática relacionada a la variedad de efectos adversos que pueden presentar los antipsicóticos comerciales, tales como efectos extrapiramidales, efectos cardiacos, efectos proconvulsivantes, aumento de peso, parkinsonismo, entre otros, los cuales afectan gravemente a los pacientes que padecen de esquizofrenia.

2. Marco teórico

2.1 Receptores dopaminérgicos

Los receptores dopaminérgicos pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G y se encuentran ampliamente distribuidos en el Sistema Nervioso Central, además se caracterizan por presentar de 20 a 25 residuos hidrofóbicos cada uno (Bahena et al., 2000). Estos receptores son de gran interés, ya que están implicados en varios procesos neurológicos tales como la memoria, el aprendizaje, la cognición, entre otros (Bahena et al., 2000), lo cual se relaciona a trastornos severos como la enfermedad de Parkinson y la esquizofrenia. Según sus características bioquímicas y farmacológicas se dividen en 2 familias, los receptores D1 y D2 (Moreno, 2017) (Figura 1).

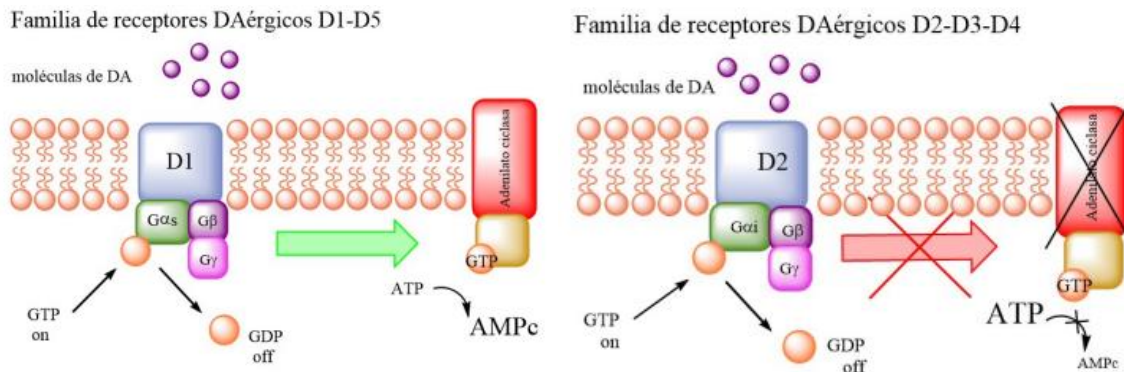


Figura 1. Familias de receptores dopaminérgicos D1 y D2: a) Representación gráfica de la familia de receptores D1 (D1 y D5) y su mecanismo de acción para llevar a cabo la producción de AMPc. b) Representación gráfica de la familia de receptores D2 (D2, D3 Y D4) y su mecanismo de acción para inhibir el AMPc (Moreno, 2017).

Los receptores D1 se dividen en los subtipos D1 y D5, los cuales producen la formación de Adenosín monofosfato cíclico (AMPc) a través de la estimulación de la enzima Adenilil ciclasa y están localizados principalmente en los terminales postsinápticos (González, 2012). En el caso del receptor D5, se encuentra distribuido en regiones como el hipocampo o el tálamo y se caracteriza por presentar gran afinidad por la dopamina, siendo esta 10 veces mayor que para los receptores D1, los cuales localizan su expresión en las neuronas GABAérgicas estriatales (González, 2012).

Por otro lado, los receptores D2 se dividen en los subtipos D2, D3 y D4, los cuales por el contrario inhiben la formación de AMPc, activan canales de K^+ , reducen la entrada de iones de Ca^{+2} a

través de canales dependientes de voltaje y pueden localizarse tanto en terminales presinápticas como postsinápticas (González, 2012). El receptor D3 presenta una gran afinidad por la dopamina y se localiza principalmente en regiones límbicas del núcleo accumbens, mientras que el receptor D4 es el que presenta menor afinidad por la dopamina y se expresa en interneuronas GABAérgicas piramidales y no piramidales de la corteza prefrontal e hipocampo (González, 2012). Finalmente, los receptores D2 presentan una baja afinidad por la dopamina y se distribuyen ampliamente en zonas como la corteza cerebral, el globo pálido, el tálamo, el hipotálamo y el neostriado (Bahena et al., 2000).

El mecanismo por el cual los receptores D2 regulan la síntesis de dopamina es a través del AMPc, un nucleótido derivado de adenosin trifosfato (ATP), el cual es convertido a AMPc gracias a la acción de la enzima adenil ciclasa (Moreno, 2017). Posteriormente, el AMPc activa la proteína Quinasa A (PKA), la cual se encarga de fosforilar la proteína blanco, en este caso, la proteína a-quinasa de anclaje (AKAP), generando una respuesta celular. Teniendo en cuenta esto, es posible afirmar que la inhibición de PKA ocurre como consecuencia de la inhibición de AMPc, y la inhibición de la síntesis y liberación de neurotransmisores, en este caso, la dopamina (Peral et al., 2013).

2.2 La esquizofrenia

Una de las enfermedades que está estrechamente ligada a la dopamina es la esquizofrenia, un trastorno caracterizado por la presencia de síntomas como delirios, amnesia, confusión, ansiedad y depresión (Servicio Mauriciano de Salud, 2009). Estos síntomas se clasifican en positivos y negativos, los primeros se caracterizan por presentar comportamientos visibles que no son normales en una persona sana, tales como alucinaciones, delirios, trastornos del pensamiento y trastornos del movimiento, mientras que los síntomas negativos están relacionados con problemas para funcionar normalmente y son más difíciles de reconocer, encontrando entre ellos dificultad para relacionarse o para demostrar emociones (NIH, 2021).

La sintomatología de la esquizofrenia está involucrada con las vías dopaminérgicas, las cuales se encargan de transmitir la dopamina entre zonas del cerebro; en primera instancia, tenemos la vía nigroestriada, la cual está involucrada en la actividad motora y contiene aproximadamente un 80% de la dopamina cerebral (Guzmán, n.d.). Por otro lado, tenemos la vía tuberoinfundibular, la cual va desde el hipotálamo hasta la glándula pituitaria e inhibe la síntesis de prolactina, una hormona que estimula la producción de leche en las glándulas mamarias (Carrillo, 2013). Por último, tenemos la vía mesolímbica-mesocortical que juega un papel fundamental en la

esquizofrenia gracias a su participación en procesos de memoria y control emocional; la hiperactividad dopaminérgica de la vía mesolímbica es la responsable de los síntomas positivos de la esquizofrenia, mientras que en la vía mesocortical las células del área tegmental ventral envían proyecciones hacia la corteza frontal, la cual está implicada en la motivación, la planificación y la conducta social, asociándose a los síntomas negativos (Saiz et al., 2010).

La etiología de este trastorno aún no se encuentra bien definida, sin embargo, la hipótesis más común gira en torno a una alteración bioquímica en donde persiste un problema de comunicación entre las neuronas y se postula que los síntomas psicóticos son consecuencia de un exceso de actividad dopaminérgica, lo que conlleva a anomalías anatómicas en el cerebro, estas incluyen dilatación de los ventrículos, disminución del tamaño del cerebro y disminución en la función de la corteza prefrontal, la cual está involucrada en la habilidad de razonamiento (Arroyo & Alcázar, 2018).

2.3 El tratamiento

El tratamiento para los pacientes que padecen de esquizofrenia es de por vida, incluso si los síntomas han desaparecido; en algunos casos puede ser necesario internar al paciente, aplicar terapia electroconvulsiva o llevar a cabo una terapia psicosocial. Sin embargo, la base del tratamiento son los medicamentos, los cuales controlan los síntomas al disminuir la síntesis y liberación de dopamina (Hall et al., 2021)

Existen diferentes tipos de medicamentos para tratar esta enfermedad, entre ellos se encuentran los antipsicóticos o también llamados neurolepticos; estos son fármacos utilizados para el tratamiento de diferentes trastornos mentales como la psicosis, la esquizofrenia y el trastorno bipolar; sin embargo, es importante aclarar que los antipsicóticos no curan los trastornos mentales, sino que permiten una disminución de síntomas graves, mejorando el estado de salud y la calidad de vida de los pacientes afectados (Hall et al., 2021).

2.3.1 Antipsicóticos típicos o de primera generación

Los medicamentos antipsicóticos de primera generación son fármacos utilizados en el tratamiento de enfermedades mentales como la esquizofrenia, bipolaridad y trastornos psicóticos; también puede presentar acción en otras patologías como manía, hiperactividad, enfermedad de Tourette, entre otros (Ameer & Saadabadi, 2021). El principal mecanismo de acción de estos antipsicóticos consiste en la inhibición antagónica de la dopamina con los receptores Dopaminérgicos D2 en la vía mesolímbica del sistema nervioso central, lo que genera un alivio o disminución de los

síntomas positivos de la esquizofrenia, sin embargo, estos no son eficaces para el tratamiento de los síntomas negativos (Ameer & Saadabadi, 2021; Ceruelo & Garcia, 2007).

Los antipsicóticos típicos se pueden clasificar en familias de acuerdo a su estructura química o el núcleo que estos presenten; las más comunes se encuentran las fenotiazinas y tioxantenos que comparten un núcleo tricíclico variando el halógeno del heteroátomo de su estructura, entre los fármacos más comunes encontramos la clorpromazina y el tiotixeno (Jaszczyszyn et al., 2012; Karimi & Vahabzadeh, 2014). Por otro lado, podemos encontrar también antipsicóticos típicos clasificados como butirofenonas, son fármacos derivados de la 1-fenil-2-butanona, siendo el más común el Haloperidol.

2.3.2 Antipsicóticos atípicos o de segunda generación

Los antipsicóticos de segunda generación tienen un mecanismo de acción similar a los de primera generación, ya que actúan sobre los receptores dopaminérgicos D2. Sin embargo, se presenta un menor efecto dopaminérgico en comparación con los antipsicóticos típicos y en cambio, hay una mayor afinidad hacia los receptores serotoninérgicos (5-HT_{2A}, D₂, 5-HT_{1A}, 5-HT_{2C}, y α 1) (Meltzer, 2012). Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado, los antipsicóticos atípicos pueden tener efectos adversos como los SE (temblores, espasmos musculares, distonía, discinesia, etc.) como consecuencia de su afinidad por los receptores D₂; a su vez, la afinidad hacia los receptores serotoninérgicos puede causar otro tipo de efectos adversos, tales como aumento de peso, síndrome metabólico, hipotensión ortostática, efecto proconvulsivante y problemas de eyaculación (Ceruelo & Garcia, 2007).

2.4 Haloperidol

El haloperidol es un medicamento antipsicótico antagonista de los receptores dopaminérgicos D₂ que hace parte de la familia de las butirofenonas; este medicamento ha sido de gran interés gracias a su similitud con la clorpromazina, pero su diferencia radica en que el haloperidol es más potente, ya que requiere concentraciones más bajas para lograr la misma actividad farmacológica. El haloperidol puede ser administrado por vía oral o intramuscular, es eliminado a través de reacciones de oxidación, reducción y glucuronidación y se caracteriza por presentar actividad contra delirios y alucinaciones, por lo que es altamente utilizado en el tratamiento contra la esquizofrenia logrando disminuir los síntomas positivos y en la psicosis aguda o crónica (Melo, 2018). Recientemente se ha demostrado que este medicamento también presenta afinidad por

los receptores sigma 1, en donde posee propiedades anti hiperalgesias y antialodínicas (Melo, 2018).

Como se mencionó anteriormente el Haloperidol es un antagonista de los receptores D2 gracias a su alta afinidad que presenta a estos, uno de los factores claves por el cual se presenta esta actividad se debe al N del anillo piperidínico, este Nitrógeno interactúa con residuos de aminoácidos de la proteína, más específicamente con el ácido aspártico (ASP) 114 del receptor, formando allí un puente salino, lo cual se debe a que el grupo carboxilo terminal del ASP114 se ancla al grupo amino protonado (Kalani et al., 2004); además diversos estudios demostraron que otros antipsicóticos con el núcleo butirofenona tienen como principal sitio de unión el anillo piperidínico con el ASP 114, por lo que esta interacción entre la macromolécula y el ligando es considerada la parte fundamental de la unión; adicionalmente, tiene un contacto hidrofóbico con PHE 110 y ILE 184 (Kalani et al., 2004) e interactúa con otros residuos de aminoácidos como PHE 410.

Por otro lado, cabe resaltar que el anillo piperidínico del haloperidol también es el principal sitio por el cual ocurre la unión de los residuos de aminoácidos de los receptores Sigma 1, un ejemplo de ello es el aminoácido GLU-172, el cual tiene una interacción polar con el átomo ionizable del heterociclo, la PHE-107, que tiene una interacción pi-cación con el grupo amino del anillo piperidina y la ASP-126, la cual también interactúa con el grupo amino mediante un puente salino con el grupo COO⁻; por otro lado, la SER-117 presenta una interacción polar con el grupo hidroxilo que se encuentra unido al anillo piperidínico (Melo, 2018)

2.5 Receptores Sigma

Los receptores sigma se componen de los subtipos sigma 1 y sigma 2. El receptor sigma 2 interactúa con canales de Ca⁺² y K⁺ y juega un papel importante en la diferenciación celular; mientras que el receptor sigma 1 es una proteína transmembranal compuesta por 223 aminoácidos y que contiene 2 residuos de arginina en la posición N-terminal (Beltran et al., 2004). Este receptor se encuentra localizado en la membrana plasmática y en las membranas subcelulares, en donde se ha relacionado a funciones cerebrales tales como la memoria, el aprendizaje, la depresión y la dependencia a drogas (Hayashi & Su, 2005). El mecanismo de acción por el cual dichos receptores actúan es mediante una neurotransmisión glutamatérgica, en donde se lleva a cabo la regulación de la actividad de glutamato, un neurotransmisor del sistema nervioso central que influye en la regulación de sistemas motores, sensitivos y cognitivos; esta neurotransmisión glutamatérgica es atribuida a los receptores NMDA; estos receptores han

sido de gran interés en los últimos años gracias a sus implicaciones en la plasticidad sináptica y en la excitotoxicidad. La plasticidad sináptica hace referencia a la capacidad del sistema nervioso para modificar estructuras moleculares, cambios en la expresión genética y comportamientos, estas propiedades permiten establecer conexiones sinápticas y contribuyen a las lesiones producidas por algunas enfermedades neurológicas como Alzheimer, Parkinson, Deterioro cognitivo, entre otras (Martínez et al., 2020); mientras que la excitotoxicidad se refiere a una apoptosis celular gracias a la hiperactivación de los receptores NMDA, lo cual puede resultar en trastornos neurodegenerativos y epilepsias (Medina & Escobar, 2002)

2.6 Dolor neuropático

El dolor neuropático es una enfermedad que se origina en el sistema nervioso (SN) como consecuencia de una lesión primaria o un funcionamiento anómalo del mismo. Los síntomas de esta enfermedad han sido descritos como un *dolor* quemante, continuo y punzante, hormigueo y calambres; estas sensaciones normalmente se dan en una parte específica del cuerpo y tiene una mayor incidencia en personas de 45 a 65 años de edad (Kern Pharma, 2021). El mecanismo de acción de esta enfermedad gira en torno a los nociceptores, receptores sensoriales que son capaces de emitir señales de dolor al sistema nervioso central y se localizan al final del axón de una neurona sensorial. Lo que sucede en torno al dolor neuropático es que el propio sistema nervioso confunde los estímulos normales (tales como temperatura y tacto) y los hace pasar por estímulos dolorosos, el origen de este suceso en algunos casos puede no tener causa aparente mientras que en otros casos puede ser producto de herpes zoster, diabetes, tumores, trastornos hereditarios o una lesión en la médula espinal (Kern Pharma, 2021).

2.7 Modelos QSAR

El modelamiento QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationships) es una metodología ampliamente utilizada en la industria farmacéutica ya que permite predecir la actividad física, química o biológica de nuevas moléculas, mediante un modelo matemático (Ospino et al., 2005). Los modelos QSAR son una técnica computacional basada principalmente en la actividad biológica que pueda tener una molécula al interactuar con el receptor de interés, de acuerdo a las características estructurales que presente dicha molécula. Para esto es necesario construir el modelo mediante la evaluación de moléculas ya existentes que tengan una actividad biológica conocida (K_i , IC_{50} , DL_{50} , etc.), la cual va actuar como la variable dependiente en el modelo, mientras que se utilizan descriptores moleculares los cuales son diferentes características que

pueden presentar las moléculas, tales como fisicoquímicas, topológicas, constitucionales, entre otras, que se presentan como un dato numérico, y serán las variables independientes del modelo. Teniendo en cuenta la información obtenida en el modelo, es posible plantear modificaciones o ajustes de moléculas ya existentes, y realizar una predicción de su actividad (Das et al., 2015).

2.8 Descriptor molecular

Un descriptor molecular puede ser definido como una representación matemática de las propiedades de las moléculas, lo cual permite describir cuantitativamente información fisicoquímica de las moléculas, a partir de valores numéricos. Algunos descriptores moleculares son utilizados en modelos predictivos ADMET, los cuales permiten correlacionar la estructura-propiedad de las moléculas en función de los valores numéricos de los descriptores. (Chandrasekaran et al., 2018). Los descriptores moleculares se pueden clasificar según su dimensionalidad, por ende, se encuentran los no conformacionales y los descriptores basados en conformación, cabe resaltar que mientras mayor sea el descriptor, mayor información nos brinda y tendrá mayor complejidad en su cálculo (Saavedra, 2020).

Los no conformacionales se dividen en 0D, 1D Y 2D; los 0D permiten identificar las características estructurales más simples de una molécula, los 1D o permiten conocer las características estructurales basadas en grupos funcionales, mientras que los 2D son más complejos, ya que brindan información acerca de la presencia y naturaleza de los enlaces químicos (Saavedra, 2020). Por otro lado, encontramos los descriptores conformacionales, los cuales también se dividen en 3D o 4D; los 3D contienen información geométrica tridimensional de una molécula, mientras que los 4D presentan el mayor nivel de complejidad y permiten caracterizar numéricamente las interacciones presentes entre las moléculas y uno o varios sitios activos de un receptor (Saavedra, 2020).

3. Planteamiento del problema

Los medicamentos antipsicóticos son el principal tratamiento para la esquizofrenia. Aunque estos medicamentos no están diseñados para curar la enfermedad, son de gran utilidad para disminuir los efectos adversos y mejorar la calidad de vida del paciente; estos medicamentos se dividen en antipsicóticos típicos y antipsicóticos atípicos. Los primeros, tienen su principal acción en los receptores dopaminérgicos, donde inhiben antagónicamente la unión entre la dopamina y su ligando natural, mientras que los medicamentos antipsicóticos atípicos pueden inhibir los receptores D2, pero su principal mecanismo de acción se debe a la interacción con receptores serotoninérgicos, colinérgicos, α -adrenérgicos e histaminérgicos (Fernandez et al., 2018). El principal problema de los fármacos antipsicóticos, es que pueden producir efectos adversos graves, en los antipsicóticos atípicos se ha demostrado que presentan efectos cardiacos, alteraciones en el metabolismo lipídico y de la glucosa, aumento de peso, efectos proconvulsivantes y en menor medida, síntomas extrapiramidales (Rivera, 2015). Algunos de ellos, pueden estar relacionados con su afinidad por otro tipo de receptores. Mientras que los antipsicóticos típicos, presentan síntomas relacionados a los efectos extrapiramidales, los cuales incluyen acatisia, parkinsonismo, reacciones distónicas agudas, discinesia tardía, entre otros (Rivera,2015).

En vista de esta problemática, ha surgido la necesidad de buscar otro tipo de moléculas, que si bien no son capaces de eliminar por completo los efectos adversos, pueden ser más afines a los receptores D2 y tener igual o mejor actividad biológica. Esto puede contribuir a una posible minimización de efectos adversos gracias al uso de dosis más bajas, pero con actividad similar a los fármacos más eficaces. Relacionado a ello, al evaluar la afinidad de dichos antipsicóticos por los receptores sigma, es posible evidenciar también una actividad neuromoduladora, la cual actúa en el dolor neuropático, una enfermedad causada por un mal funcionamiento del sistema nervioso central (Hernández, 2018). Otra de las actividades atribuidas a los receptores sigma está relacionada a procesos de memoria, aprendizaje, analgesia y dependencia a drogas (Hayashi & Su, 2005).

4. Pregunta de investigación

¿Tendrán las nuevas moléculas análogas al Haloperidol (diseñadas *In silico*) igual o mayor actividad promisoría y afinidad a los receptores D2 dopaminérgicos en comparación a los antipsicóticos que se encuentran disponibles actualmente?

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Sintetizar nuevos análogos del haloperidol antagonistas a los receptores D2 dopaminérgicos que tengan actividad promisorio antipsicótica evaluada mediante el uso de modelos *In silico*.

5.2 Objetivos específicos

- Diseñar nuevos análogos al haloperidol antagonistas a los receptores D2 dopaminérgicos mediante el uso de herramientas *In silico*, como docking molecular, QSAR y PreADMET que presenten mejores características (predichas y calculadas) a la de los fármacos conocidos.
- Diseñar las metodologías de síntesis de obtención de los análogos propuestos.
- Sintetizar los análogos promisorios, siguiendo los planteamientos anteriormente propuestos.
- Caracterizar los compuestos obtenidos mediante técnicas de elucidación de estructuras moleculares como RMN y espectroscopia infrarroja.

6. Metodología

Para llevar a cabo el modelamiento *In silico*, los procedimientos se realizaron acorde a los objetivos planteados. Por lo cual, para el cumplimiento del primer objetivo se realizó un cribado virtual basado en estructura y un cribado virtual basado en ligando, con el fin de obtener 2 análogos del Haloperidol con actividad promisorio. Posteriormente, para el cumplimiento del segundo y tercer objetivo, se realizó el planteamiento de la síntesis de obtención de los análogos propuestos y se llevó a cabo el procedimiento en el laboratorio. Finalmente, para el cumplimiento del cuarto objetivo se caracterizaron los compuestos mediante técnicas de elucidación como RMN y espectroscopia IR. A continuación, se evidencia un diagrama general de la metodología empleada (Figura 2).

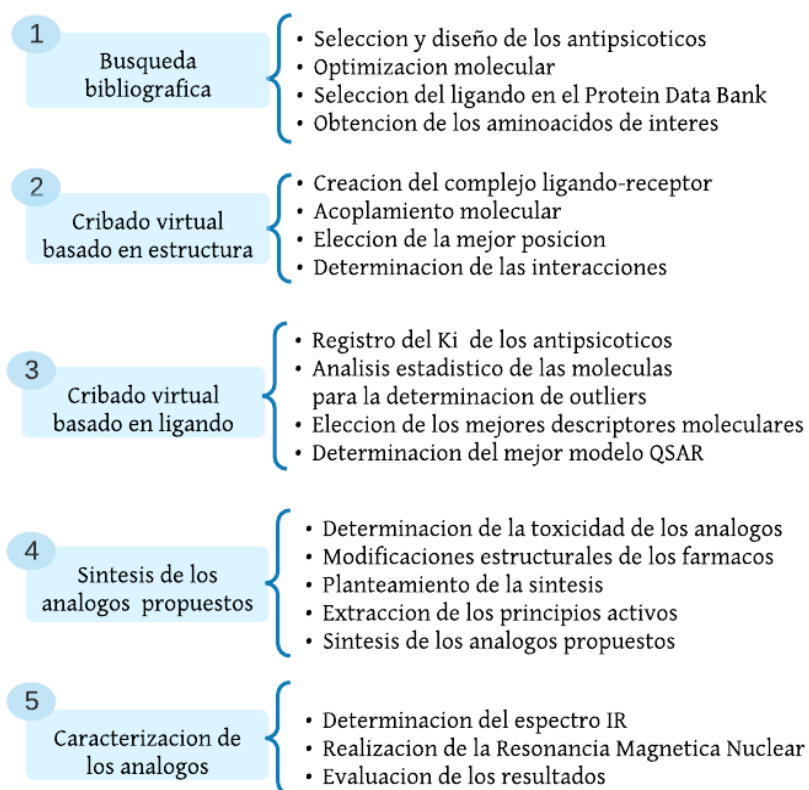


Figura 2: Diagrama general de la metodología empleada en el desarrollo del proyecto

6.1 Cribado virtual basado en Estructura

El docking o cribado virtual basado en estructura es una técnica ampliamente usada en el descubrimiento de fármacos, ya que describe el comportamiento de las moléculas en el sitio de unión de las proteínas diana, lo cual permite predecir energías y modos de interacción entre ligandos y proteínas (Velásquez et al., 2013).

El proceso de acoplamiento consta de dos pasos: el primero permite describir el modo de interacción, es decir, la conformación del ligando, su posición y orientación dentro del sitio. El segundo, evalúa la afinidad de unión entre ambas moléculas (Meng et al., 2011). Cabe resaltar que lo que se espera al realizar un docking molecular es lograr un complejo ligando- receptor con una conformación optimizada y una menor energía libre de unión (Mir & Mahmood, 2017). Teniendo en cuenta que existen gran cantidad de modos de unión entre el ligando y el receptor, es importante mencionar que el algoritmo utilizado para llevar a cabo el docking es capaz de muestrear las conformaciones del ligando en el sitio activo, clasificándolas por medio de una función de puntuación (Meng et al., 2011).

Paso 1: Inicialmente se realizó una búsqueda bibliográfica sobre los diferentes tipos de antipsicóticos comerciales y no comerciales con actividad biológica conocida, asegurándonos de que tuvieran el grupo farmacóforo que caracteriza a las butirofenonas.

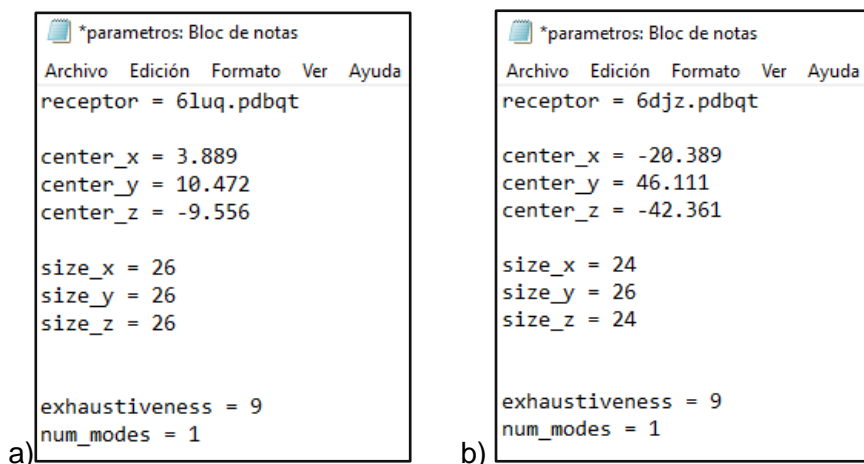


Figura 3: *Parámetros generales utilizados en el docking molecular a) Parámetros empleados para llevar a cabo el Docking correspondiente a los receptores D2. b) Parámetros empleados para llevar a cabo el Docking correspondiente a los receptores Sigma 1*

Paso 2: Posteriormente se diseñaron las estructuras en el software Avogadro, en donde también se optimizaron usando el campo de fuerza MMFF 94s, ya que este está parametrizado para ser utilizado en compuestos orgánicos (Avogadro, 2018). Y finalmente se almacenaron en formato pdb; estas estructuras fueron los ligandos, los cuales posteriormente se unieron al receptor D2 (macromolécula).

Paso 3: En el Protein Data Bank se identificó la macromolécula a la cual se unirían los ligandos, se utilizó el código "6LUQ: Haloperidol bound D2 dopamine receptor structure inspired discovery of subtype selective ligands" (Fan et al., 2020)

Paso 4: Este archivo se subió al software Autodocktools, en donde se establecieron los aminoácidos y las coordenadas del Grid Box y se modificó la enzima, eliminando las moléculas de agua y cualquier otro factor que pueda interferir con el proceso.

Paso 5: Teniendo en cuenta el paso 4, se realizó el acoplamiento, generando un archivo en formato pdbqt que contenía el complejo ligando-receptor; este archivo se agrupó en una carpeta junto con las coordenadas del Grid Box (Figura 3) y un documento de la página oficial de Cygwin, identificado como "vina_screen_local.sh".

Paso 6: Se digitó el link de la carpeta y determinados comandos en el software Cygwin, que permitieron llevar a cabo clustering 25 veces, ya que en este punto los resultados dejaron de variar y empezaron a ser más constantes, lo cual permitió obtener un promedio de la interacción del ligando con la macromolécula.

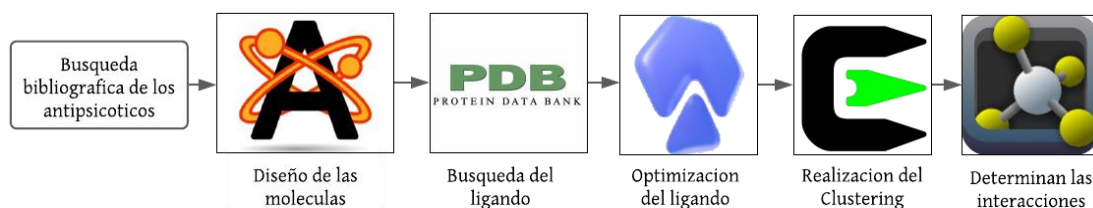


Figura 4: Secuencia de pasos para llevar a cabo el docking molecular junto los respectivos programas utilizados.

Paso 7: Con los resultados anteriormente obtenidos se identificaron las interacciones con el ligando utilizando softwares como Autodock Vina y Pymol, los cuales nos indicaron los aminoácidos del sitio activo y la distancia con el ligando (en Ångström), mientras que Cygwin nos brindó información como la energía de enlace (kcal/mol) y la desviación cuadrática media (RMSD); destacando que todo el proceso nos permitió conocer cuál es la mejor posición del ligando. En la figura 4 se explica de manera general la secuencia de pasos y los programas que se tuvieron en cuenta para realizar el docking molecular.

Cabe resaltar que este procedimiento se llevó a cabo nuevamente con receptores Sigma 1, teniendo en cuenta que este receptor se identifica en el PDB como "6DJZ: Human sigma-1 receptor bound to Haloperidol" (Kruse & Schmidt, 2018) y que se utilizaron estructuras de la familia de las butirofenonas (por su gran similitud con el Haloperidol).

6.2 Cribado virtual basado en ligando

Posteriormente, para la realización del Cribado Virtual Basado en ligando se realizó el modelamiento QSAR el cual se utilizó para la predicción de la actividad biológica de las nuevas moléculas mediante el uso de una Red Neuronal Artificial.

Una Red Neuronal o Red Artificial, es un sistema de procesamiento de información basado en la predicción de valores estadísticos mediante el aprendizaje de patrones mediante el uso de algoritmos (Morales, 2019).

Las capas hacen referencia a una cantidad determinada de nodos interconectadas entre ellas, y pueden dividirse en capas de entrada, ocultas y de salida, siendo la primera donde se recibe la información externa para el inicio del funcionamiento; las capas ocultas por su parte están interconectadas de manera interna sin tener contacto con datos exteriores, y finalmente la capa de salida permite que se pueda realizar una extracción de los datos (Menacho, 2014). En la figura 5 se presenta un diagrama de la estructura general de la red neuronal utilizada (Guevara et al., 2022), en donde la capa de entrada hace referencia a los descriptores, la capa oculta el coeficiente de determinación R^2 y la capa de salida la actividad biológica, que en este caso es el K_i (Morales, 2019).

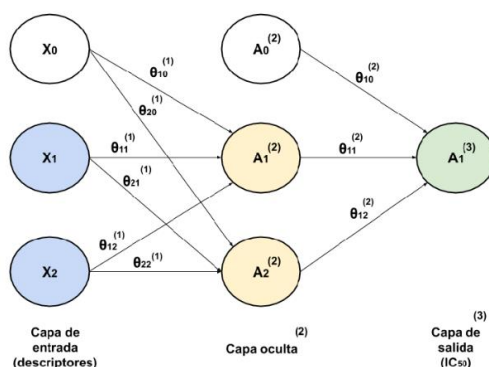


Figura 5: Estructura general de la red neuronal utilizada en el modelamiento QSAR (Morales 2019)

Cabe resaltar que el K_i es una constante que permite conocer la afinidad de unión existente entre un inhibidor y su enzima; de manera que puede predecir qué tan potente es dicha inhibición y analizar la concentración necesaria del inhibidor para reducir la actividad que presente la enzima (Busti, 2015). Es por ello que la constante de inhibición es ampliamente utilizada en la industria farmacéutica para evaluar la probabilidad que puede presentar un fármaco para inhibir la enzima de interés, y la concentración necesaria del medicamento para que esto suceda; además el K_i es un valor independiente de la concentración de la enzima, por lo que es ampliamente utilizada en el desarrollo de modelos *In silico* (Darras & Ping Pang, 2017). A continuación, presentamos los pasos generales en el desarrollo del cribado virtual basado en ligando:

Paso 1: Se realizó una búsqueda bibliográfica del K_i de 19 antipsicóticos pertenecientes a la familia de las butirofenonas.

Paso 2: Se determinaron posibles “*outliers*” en los fármacos elegidos mediante el desarrollo de un *boxplot* y cálculos estadísticos, logrando así retirar aquellas moléculas que por sus valores alejadas del valor media pudieran afectar la predicción del modelo que se estaba planteando.

Paso 3: Teniendo en cuenta los valores de K_i de las moléculas seleccionadas, se utilizó el software PaDEL-Descriptor, de manera que se pudiera calcular los descriptores moleculares para los antipsicóticos con actividad biológica conocida.

Paso 4: Se obtuvieron 3 descriptores moleculares; para esto, fue necesario descartar varios descriptores moleculares hasta llegar a los más óptimos, de manera que pudieran predecir adecuadamente el K_i , sin sobre ajustar el modelo. A continuación, se muestra un diagrama general (Figura 6) en donde se indican los filtros aplicados para la elección de los descriptores moleculares:

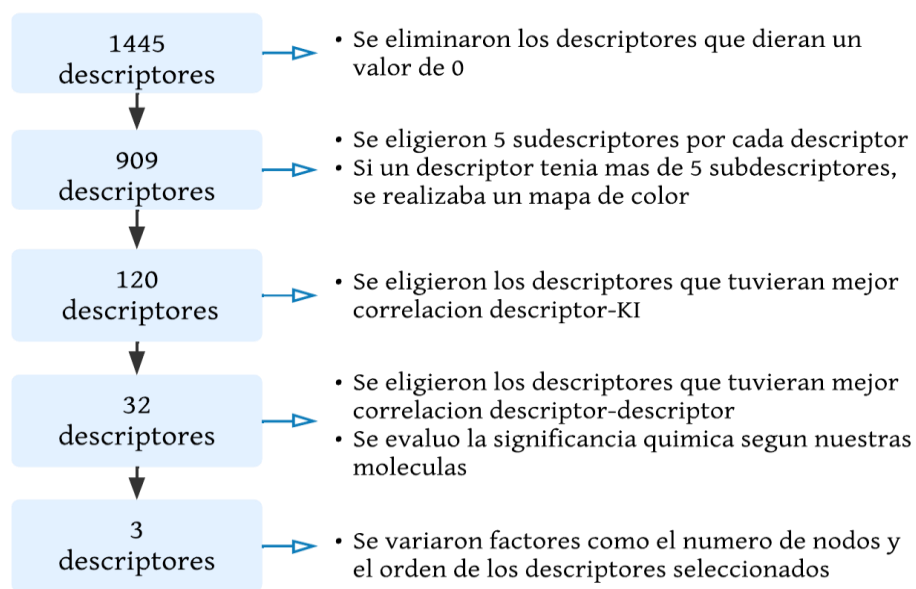


Figura 6: Filtros aplicados para la elección de descriptores moleculares en el desarrollo del modelo QSAR

Teniendo en cuenta que por cada 5 moléculas se elige 1 descriptor, se eligieron 3 descriptores para evaluar las 15 moléculas seleccionadas, con el fin de elegir un modelo que sea capaz de predecir de manera óptima la actividad biológica de las moléculas modificadas.

6.3 Planteamiento de las Modificaciones

Las modificaciones se plantearon a partir del Haloperidol, ya que luego de evaluar las diferentes moléculas comerciales y no comerciales, el Haloperidol cumple con el núcleo de butirofenona buscado, además de que es comúnmente usado y con un bajo precio (Dold et al., 2015; Rahman & Marwaha, 2022), lo cual hace que este sea más asequible.

Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, se plantearon algunas posibles modificaciones que se le pueden realizar al Haloperidol, conservando su núcleo o farmacóforo, para ello se planteó inicialmente realizar una reducción al grupo carbonilo presente en la molécula, obteniendo así la formación de un grupo hidroxilo. Adicionalmente se planteó reaccionar el producto anterior con el fin de formar nuevas modificaciones, de manera tal que se evaluó la posibilidad de obtener éteres o ésteres a partir del grupo hidroxilo obtenido anteriormente.

Por otro lado, se plantearon otras posibles modificaciones de acuerdo a la estructura del Haloperidol, tales como la formación de iminas y enaminas en el grupo carboxilo (Figura 7a), reacciones de sustitución en el carbono α del grupo carbonilo (Figura 7b) y sustituciones electrofílicas en los grupos aromáticos (Figura 7c).

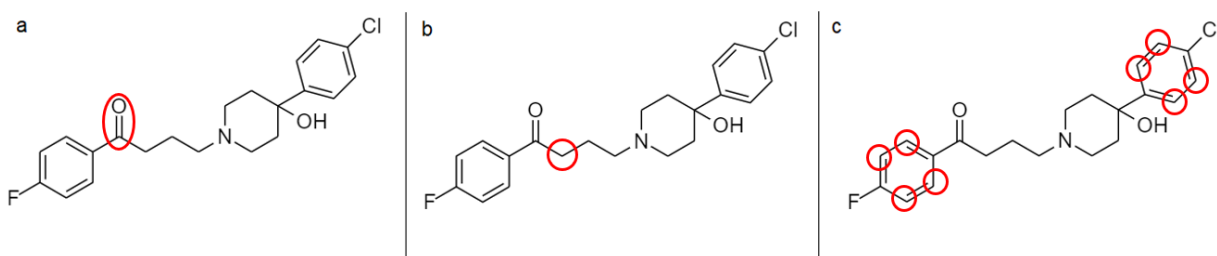


Figura 7: Modificaciones planteadas a) Modificaciones iminas y enaminas. b) Modificación de Reacciones de Sustitución c) Modificaciones Sustitución Electrofílica

6.4 Predicción de la Toxicidad

Otro factor clave para la elección de los análogos promisorios fue la evaluación de toxicidad que estos puedan presentar, por lo que fue necesario realizar la predicción de dicha toxicidad mediante el software de preADMET. De manera que se evaluaron las moléculas con mayor potencial para ser sintetizadas y se realizó una comparación de las mismas evaluando 4 pruebas predichas por PreADMET: Carcino mouse, carcino rat, hERG inhibition y Ames test.

Finalmente, para seleccionar los 2 análogos a sintetizar, tuvieron en cuenta los resultados obtenidos en el cribado virtual basado en ligando (predicción del K_i), el cribado virtual basado en estructura (las energías de enlace y las interacciones con los aminoácidos seleccionados) y la predicción de la toxicidad realizada en PreADMET.

6.5 Planteamiento de síntesis

Para el cumplimiento del segundo y tercer objetivo era necesario el planteamiento de la síntesis de acuerdo a los resultados que se obtuvieron en el desarrollo *In silico*. El primer análisis seleccionado consiste en la reducción del grupo carbonilo del haloperidol, mientras que el segundo y tercer análogo consisten en la esterificación del grupo OH obtenido en la primera síntesis, por lo cual se evaluaron diferentes rutas para llegar al resultado.

6.6 Extracción del haloperidol

Se trituraron 60 tabletas de haloperidol marca Huma de 10 mg y se agregó agua en un beaker para disolver aquellos excipientes solubles en agua (Ya que el principio activo no es soluble en agua). Posteriormente se calentó la muestra 40 °C, con el fin de que se disolvieran dichos excipientes más fácilmente. Pasada media hora, se llevó a cabo una filtración al vacío y se obtuvo el sólido (Principio activo), el cual se secó en una estufa a 70°C, posteriormente se raspó el sólido y se disolvió en 20 mL de diclorometano. A esta mezcla se le agregó sulfato de sodio anhidro hasta garantizar la ausencia de agua y posterior a ello se llevó a cabo una filtración para eliminar los residuos sólidos. El sólido restante se concentró en el rotaevaporador y se caracterizó mediante espectroscopia IR y PF; mientras que se le realizó seguimiento a la extracción mediante CCF.

6.7 Síntesis de los análogos

6.7.1 Síntesis del primer análogo

El primer análogo consiste en la reducción del grupo carbonilo del haloperidol. Para la síntesis se agregó tetrahidrofurano (THF), Hidruro de Litio y Aluminio (LiAlH_4) y 375 mg del API a un balón, se agitaron y se dejaron reaccionar durante hora y media, posteriormente el balón se puso en un cristizador con hielo ya que la reacción es exotérmica; para culminar la reacción mediante una hidrólisis ácida se añadió cuidadosamente HCl y agua, y se agregó acetato de etilo con el fin de eliminar los restos de LiAlH_4 en la reacción. Se decantó la muestra conservando la fase orgánica y se adicionaron 20 mL de brine o salmuera para eliminar los restos de ácido del producto. Se decantó nuevamente para retirar el brine y se agregó sulfato de sodio anhidro para eliminar los restos de agua. Finalmente se filtró el sulfato de sodio anhidro y se concentró el producto en el rotaevaporador para obtener la primera modificación. Finalmente se obtuvieron 300 mg del producto, lo cual indica que la reacción tuvo un rendimiento del 80%, a pesar de que el rendimiento fue óptimo, cabe destacar que

6.7.2 Síntesis del segundo análogo

El segundo análisis consistió en la esterificación del grupo hidroxilo del primer análogo. En primera instancia, se agregaron 2 mL de Diclorometano (DCM), 110 µL de Trietilamina (TEA), 37 µL de Cloroformiato de etilo y 13 µL de ácido fórmico a un frasco Wheaton y se mantuvieron en agitación constante por 40 minutos aproximadamente, luego se procedió a agregar 100 mg de la derivatización previamente pesados. La reacción es exotérmica, por lo cual se dejó en un baño de hielo durante aproximadamente 3 horas. Finalmente se realizó la purificación del compuesto mediante una extracción líquido-líquido.

En primera instancia, al sólido se le agregó una mezcla de agua destilada y acetato de etilo con el fin de disolver las sales formadas. Posteriormente dicha mezcla se decantó (realizando varios lavados con agua y acetato de etilo) obteniendo la fase orgánica, a la cual se le agregó sulfato de sodio anhidro para eliminar y garantizar la ausencia de agua. Finalmente se descartó el sulfato de sodio anhidro y se concentró la fase orgánica en el rotaevaporador para analizar nuevamente mediante espectroscopia IR y RMN.

6.7.3 Síntesis del tercer análogo

El tercer análisis también consistió en una esterificación, por cual se utilizaron las mismas condiciones usadas para sintetizar el segundo análogo, con la diferencia de que se utilizaron 19 µL de ácido acético a un frasco Wheaton y se mantuvieron en agitación constante por 40 minutos aproximadamente, luego se procedió a agregar 100 mg de la derivatización previamente pesados. La reacción permaneció en un baño de hielo durante toda la noche a una velocidad de agitación de 1500 RPM; cabe resaltar que se le hizo seguimiento a la reacción mediante CCF utilizando como fase móvil Acetato de etilo- metanol 9:1.

Luego de finalizar la reacción, se procedió a realizar la purificación del compuesto mediante una CC utilizando como fase móvil Acetato de etilo- Hexano 20:1. Se determinó que 6 fracciones tenían el compuesto, por lo cual se agregó más disolvente a la columna y se recogieron otras 5 fracciones para obtener el compuesto retenido. En total, 11 tubos de ensayo tenían el compuesto de interés, por ende, se mezclaron y se concentraron en el rotaevaporador. Finalmente se obtuvo un total de 60 mg de derivación, los cuales se caracterizaron mediante espectroscopia IR y RMN.

7. Resultados y análisis de resultados

7.1 Docking molecular

En la tabla 1 se presentan los resultados obtenidos del docking molecular para los receptores sigma y los receptores D2, cuyas condiciones se especifican en el inciso 6.2. Cabe resaltar que para establecer la mejor pose se tuvieron en cuenta parámetros como la energía de afinidad, la interacción con los aminoácidos de interés (Tabla 2) y los valores de RMSD. A este último se le estableció un límite de tolerancia de 2 Å +/- 0,3 (Rabal, 2007), ya que este permite elegir la pose con mayor semejanza a la conformación nativa posterior al acoplamiento (Velásquez et al., 2013). Es importante recalcar como se mencionó anteriormente, que este docking se realizó 25 veces para tener una mayor robustez de los datos y se esperan resultados bajos, que indiquen una interacción más efectiva.

Tabla 1: Resultados del docking molecular y criterios para la selección de la mejor pose.

#	Ligando	Receptores D2			Receptores Sigma 1		
		Energía de unión promedio (kcal/mol)	Mejor pose	rmsd l.b (Å)	Energía de unión promedio (kcal/mol)	Mejor pose	rmsd l.b (Å)
1	Azaperona	-9,08	1	0,000	-10,48	1	0,000
2	Benperidol	-10,19	1	0,000	-11,95	1	0,000
3	Bromperidol	-9,92	5	1,490	-11,40	2	1,229
4	Butropipazona	-9,20	1	0,000	-10,95	1	0,000
5	Domperidona	-10,58	1	0,000	-12,15	3	1,366
6	Droperidol	-10,34	1	0,000	-11,86	1	0,000
7	Espiperona	-10,76	1	0,000	-10,21	4	1,376
8	Fluanisona	-9,29	3	2,290	-10,07	1	0,000
9	Fluspirileno	-9,90	3	2,070	-9,60	1	0,000
10	Fluspiperona	-9,90	1	0,000	-9,94	1	0,000
11	Haloperidol	-9,60	1	0,000	-10,74	2	2,017
12	Haloperidida	-10,80	2	1,640	-9,08	2	1,369
13	Melperona	-8,77	1	0,000	-8,40	1	0,000

14	Moperona	-10,24	1	0,000	-11,50	3	1,400
15	Penfluridol	-10,46	1	0,000	-11,01	3	1,355
16	Pimozida	-11,41	2	1,140	-12,00	2	0,625
17	Pipamperona	-9,42	1	0,000	-10,21	3	1,997
18	Timiperona	-7,34	1	0,000	-11,17	1	0,000
19	Trifluperidol	-10,34	1	0,000	-11,82	1	0,000

En la tabla 1 y la tabla 2 se presentan los aminoácidos y sus respectivas distancias calculadas o estimadas mediante el software Pymol en la interacción de los fármacos antipsicóticos con los receptores D2 y con los receptores Sigma. En la tabla 2 es posible identificar 4 aminoácidos de los receptores D2, en donde consideramos que las interacciones más importantes son con el ASP 114 y con la PHE 110, ya que estas son las principales interacciones del Haloperidol, mientras que para los receptores Sigma 1, los aminoácidos más importantes son GLU 172 y PHE 107, ya que presentan interacciones directas con el grupo amino de la estructura del haloperidol.

Tabla 2: Distancia de las interacciones entre los antipsicóticos y los aminoácidos de interés de los receptores D2 y sigma 1

Antipsicóticos Literatura	RECEPTORES D2				RECEPTORES SIGMA 1			
	PHE 110 (Å)	ASP 114 (Å)	PHE 410 (Å)	ILE184 (Å)	GLU 172 (Å)	ASP 126 (Å)	SER 117 (Å)	PHE 107 (Å)
1	3,5	NA	3,6	NA	3,1	3,0	2,8	3,8
2	NA	NA	3,5	3,7	2,8	NA	3,2	3,9
3	3,6	3,4	3,7	NA	3,1	NA	3,7	3,0
4	3,5	NA	3,6	NA	NA	NA	NA	NA
5	3,7	NA	3,4	3,7	3,2	NA	3,8	NA
6	3,7	NA	3,2	3,5	NA	NA	3,8	NA
7	3,5	3,3	3,7	3,8	NA	NA	NA	NA
8	3,4	3,3	3,8	3,8	3,2	NA	3,6	3,0
9	3,4	NA	3,7	3,6	NA	NA	3,5	3,6
10	3,4	2,9	3,3	3,7	3,7	NA	3,3	3,6
11	2,3	3,2	3,5	NA	2,9	NA	2,9	2,9
12	3,7	NA	3,6	3,7	3,1	NA	3,0	2,3
13	NA	NA	3,5	3,7	3,0	NA	3,6	3,4
14	3,8	NA	3,7	3,4	3,7	NA	NA	3,1

15	NA	NA	3,6	NA	3,5	NA	3,1	NA
16	3,9	3,5	3,4	3,5	3,0	NA	3,2	3,2
17	NA	3,5	3,5	3,7	2,2	3,5	3,6	NA
18	3,7	3,1	3,6	3,8	3,5	NA	NA	3,7
19	3,6	NA	3,5	3,3	2,7	NA	3,6	NA

En la figura 8 se presenta un esquema general en Pymol sobre la distancia de los aminoácidos de la macromolécula (Receptores D2 en este caso) y el ligando; de esta manera se determinaron la distancia entre los aminoácidos de interés: ASP114, ILE184, PHE110 y PHE410, y las moléculas a evaluar presentados en la Tabla 2; las líneas amarillas presentes en la imagen indican la distancia en Amstrong, que fue uno de los parámetros claves para evaluar en el modelo.

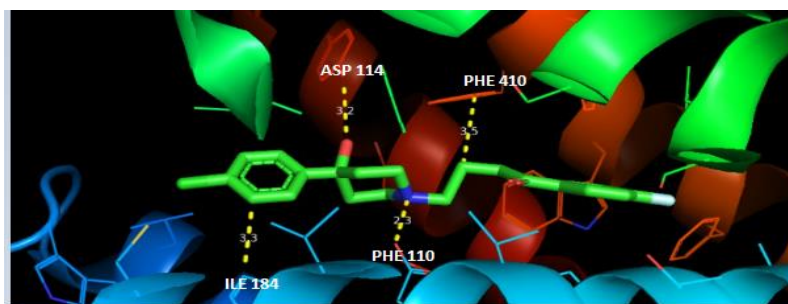


Figura 8: Distancia de los aminoácidos de interés frente a los receptores D2

En la tabla 3 se muestran algunas de las modificaciones planteadas, los sustituyentes y el principal cambio a realizar. Estas, fueron las modificaciones más representativas, pues mostraron mejores resultados en el docking molecular y del modelamiento QSAR.

Tabla 3: Modificaciones realizadas con sus respectivos sustituyentes

Reducción		Eterificación		Esterificación	
# Mod.	Sustituyente (R)	# Mod.	Sustituyente (R)	# Mod.	Sustituyente (R)
Mod 1	Hidroxilo	Mod 2	Metilo	Mod 9	H

		Mod 3	Etilo	Mod 10	Metilo
		Mod 4	Propil	Mod 11	Etilo
		Mod 5	Butilo	Mod 12	Propilo
		Mod 6	Pentilo		
		Mod 7	Fenilo		
		Mod 8	Bencilo		

Posterior al planteamiento de las modificaciones indicadas en la tabla 3, se procedió a evaluar mediante docking molecular la afinidad que estas moléculas tendrían con los receptores D2 y con los receptores Sigma 1. Como se presenta en la tabla 4 donde se presentan las modificaciones junto su mejor pose, energía de unión y el valor de rmsd l.b, que como se indicó en el inciso 7.1 se esperaba que no superará los 2,0 Å+/- 0,3 Å.

Tabla 4: Resultados del docking molecular de las modificaciones y criterios para la selección de la mejor pose

Modificación	RECEPTORES D2			RECEPTORES SIGMA 1		
	Energía de unión promedio (kcal/mol)	Mejor pose	rmsd l.b (Å)	Energía de unión promedio (kcal/mol)	Mejor pose	rmsd l.b (Å)
Mod 1	-10,10	1	0,000	-11,38	1	0,000
Mod 2	-9,70	1	0,000	-10,90	1	0,000
Mod 3	-10,10	1	0,000	-10,65	1	0,000
Mod 4	-9,90	1	0,000	-11,00	1	0,000
Mod 5	-9,70	1	0,000	-10,46	1	0,000
Mod 6	-9,70	2	1,145	-10,26	1	0,000
Mod 7	-11,00	1	0,000	-9,90	1	0,000
Mod 8	-10,90	1	0,000	-10,81	1	0,000
Mod 9	-10,10	1	0,000	-10,49	1	0,000
Mod 10	-10,20	1	0,000	-11,02	2	1,481

Mod 11	-10,10	1	0,000	-10,79	1	0,000
Mod 12	-10,00	1	0,000	-10,80	1	0,000
Halop.	-9,60	1	0,000	-10,74	2	2,017

En la tabla 4 se presenta una comparación entre las modificaciones realizadas y el ligando de referencia (Haloperidol), en donde es posible observar que todas las modificaciones presentaron valores menores en comparación con el valor de referencia, lo que indica una mejor energía de unión a los receptores D2. Adicionalmente, es posible observar que las modificaciones 1 y 10 son las que presentan una mejor energía de unión a los receptores Sigma 1, con una energía de -11,39 kcal/mol y -11,02 kcal/mol respectivamente. De igual manera, tienen excelentes energías de unión por lo receptores D2 (10,10 kcal/mol y 10,20 kcal/mol) por lo cual se estima que podrían ser buenos candidatos, sin embargo, también es necesario identificar las interacciones con los aminoácidos elegidos, la toxicidad de los ligandos y la actividad biológica con el fin de determinar cuáles son las modificaciones más promisorias para sintetizar. Se puede observar en la tabla 5 que todas las modificaciones presentan interacción con al menos un aminoácido de interés, lo cual soporta los bajos valores de afinidad obtenidos en el docking molecular. Aquellos aminoácidos en los que el valor se encuentra NA, indica que el aminoácido no presenta interacción, o se presenta una alta distancia, lo que indica que no presenta interacciones con el ligando.

En la figura 8 se presenta un esquema general utilizando el programa de Pymol, donde se determina las distancias que presentan los aminoácidos de interés de los Receptores D2 con el ligando a evaluar; donde se pretende det

Tabla 5: Interacciones calculadas usando Pymol entre las modificaciones y los aminoácidos de interés de los receptores D2 y sigma 1

#	RECEPTORES D2				RECEPTORES SIGMA 1			
	PHE 110 (Å)	ASP 114 (Å)	PHE 410 (Å)	ILE 184(Å)	GLU 172 (Å)	ASP 126 (Å)	SER 117 (Å)	PHE 107 (Å)
Mod 1	3,6	2,3	3,6	3,6	NA	NA	2,4	3,7
Mod 2	3,7	NA	3,6	3,6	NA	NA	NA	3,5
Mod 3	3,6	NA	3,7	3,5	NA	3,4	2,8	NA
Mod 4	3,5	NA	3,5	3,4	2,6	NA	3,7	2,9
Mod 5	3,3	NA	3,4	3,5	2,7	NA	NA	NA

Mod 6	3,5	3,3	2,4	3,4	3,3	NA	NA	3,7
Mod 7	3,4	NA	3,4	3,3	2,7	NA	NA	3,5
Mod 8	3,6	NA	3,4	3,3	NA	NA	3,3	2,6
Mod 9	3,5	NA	3,4	3,7	NA	NA	NA	3,9
Mod 10	3,4	NA	3,4	3,7	NA	2,7	2,2	NA
Mod 11	3,6	NA	3,3	3,5	NA	NA	3,6	NA
Mod 12	3,6	NA	3,3	3,5	3,0	2,7	NA	3,7

7.2 Modelo QSAR

Para realizar el modelo QSAR se recopilaron los valores de K_i para cada análogo y se llevó a cabo un análisis estadístico para identificar posibles *outliers*, con el fin de que dichas moléculas no afectarán la precisión del estudio. En la figura 9 se evidencia un boxplot, en donde los percentiles 25% y 75% corresponden a los valores 0,26 y 3,6, mientras que el valor adyacente más bajo es 0,084 y el valor adyacente más alto es 4,0, lo cual indica que cualquier dato que esté por fuera de dichas especificaciones se puede considerar como un outlier. También es posible observar que la parte derecha de la caja es mayor que la izquierda, lo cual indica que los valores mayores a 0,8 (mediana) se encuentran más dispersos que los valores menores a 0,8. Teniendo en cuenta lo anterior, se infiere que hay 3 *outliers* presentes en las moléculas seleccionadas, los cuales corresponden a la azaperona, la butropipazona y la pipamperona, cuyos valores de K_i son 52 nM, 44 nM y 93 nM, respectivamente. Razón por la cual, dichas moléculas fueron eliminadas para llevar a cabo el modelo QSAR, ya que podrían brindar un valor de R^2 poco confiable.

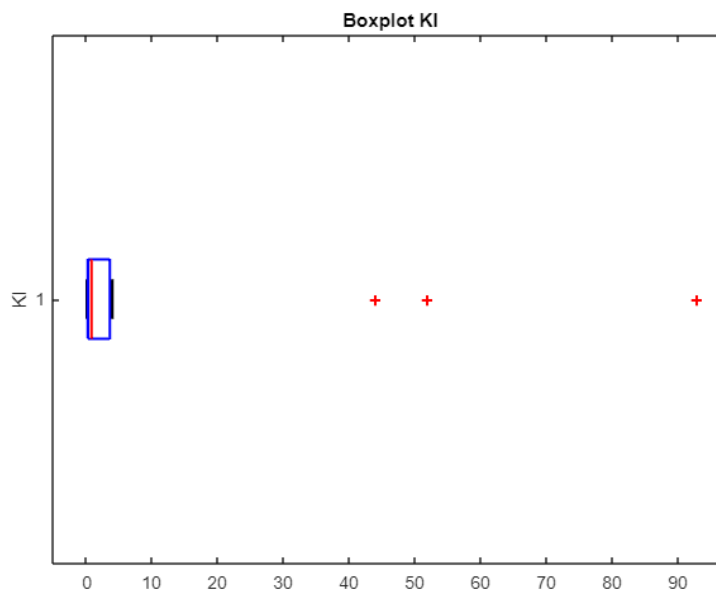


Figura 9: Gráfico de *Boxplot* obtenido en *Matlab* para la determinación de *outliers* de los antipsicóticos.

Según lo anteriormente mencionado, se eligieron 15 moléculas pertenecientes a la familia de las butirofenonas, que además contaban con datos bibliográficos existentes sobre la actividad biológica en K_i con el receptor Dopaminérgico D2, estos son presentados en la tabla 6 que se muestra a continuación., en donde se resalta el K_i del Haloperidol, ya que en base a este se realizarán las modificaciones a los análogos promisorios. Es importante destacar que un bajo valor de K_i indica una alta afinidad de unión entre el inhibidor y la enzima, por lo cual se puede inferir que moléculas como la timiperona (K_i : 0,084) y el haloperidol (K_i : 0,12) tienen una alta afinidad de unión a los receptores D2, mientras que moléculas como la melperona (K_i : 3,6) o la fluanisona (K_i 4,0) presentan valores más bajos, factor que podría influir en la dosis, ya que se espera que al tener un menor valor de K_i , se requiera menos dosis para lograr un efecto terapéutico.

Tabla 6: Antipsicóticos comerciales utilizados en el estudio con su respectivo K_i y fuente.

Molécula	K_i (nM)	Fuente	Molécula	K_i (nM)	Fuente
Benperidol	0,300	(Benperidol $C_{22}H_{24}FN_3O_2$, n.d.)	Haloperidida	0,800	(Megens & Kennis, 1996)
Bromperidol	1,000	(Burstein et al., 2005)	Haloperidol	0,120	(Haloperidol $C_{21}H_{23}ClFNO_2$, n.d.)
Domperidona	0,880	(Domperidone $C_{22}H_{24}ClN_5O_2$, n.d.)	Melperona	3,600	(Burstein et al., 2005)
Droperidol	0,800	(Droperidol $C_{22}H_{22}FN_3O_2$, n.d.)	Moperona	0,700	(Burstein et al., 2005)
Espiperona	0,260	(Spiperone $C_{23}H_{26}FN_3O_2$, n.d.)	Pimozida	1,200	(Megens & Kennis, 1996)
Fluanisona	4,000	(Megens & Kennis, 1996)	Timiperona	0,084	(Machiyama et al., 1998)
Fluspiperona	0,260	(Megens & Kennis, 1996)	Trifluperidol	0,400	(Burstein et al., 2005)
Fluspirileno	0,200	(Burstein et al., 2005)			

Luego de recopilar la información sobre la actividad biológica de las estructuras, se procedió a realizar los ensayos para elegir un modelo que permita predecir de manera óptima el K_i de los ligandos modificados. Los parámetros que se tuvieron en cuenta fueron el número de nodos, que tuviera un $R^2 > 0.7$ y una correlación descriptor vs descriptor $< 0,4$ (Nettleton, 2014).

7.2.1 Elección de los descriptores

Tal y como se explica en la metodología, para la elección de descriptores se realizaron varios ensayos y se halló la correlación descriptor vs descriptor probando diferentes descriptores, determinando que los más adecuados son ALogp2, AMR y topoPSA, ya que como se evidencia en la figura 10a, estos presentan una correlación < 0.4 , lo cual indica que no hay una alta colinealidad entre los descriptores y se evita sobreestimar el modelo usando dos descriptores similares. Por otro lado, la figura 10b representa la correlación descriptor vs K_i , en donde es posible observar que el descriptor TopoPSA tiene la correlación más alta, lo cual contribuye a la obtención de un buen R^2 .

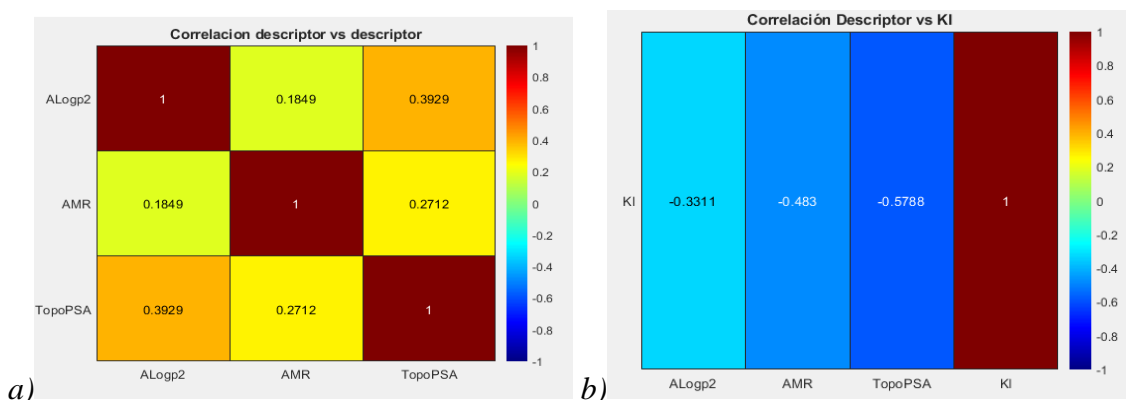


Figura 10: Mapas de color. a) Correlación descriptor vs descriptor. b) Correlación descriptor vs K_i

- **ALOGP2:** Este descriptor hace referencia al coeficiente de Agua/Octanol de Ghose Crippen elevado al cuadrado (Environmental Protection Agency, 2008) y puede estar relacionado al comportamiento hidrofóbico que presenta la molécula evaluada (Önlü et al., 2013). Este descriptor tiene relevancia química para el desarrollo del modelo gracias a su propiedad de evaluar la hidrofobicidad de la molécula, pues como se mencionó en un apartado anterior (4,4) entre los factores claves para la unión del haloperidol a los receptores D2 son los contactos hidrofóbicos con los residuos de aminoácidos.
- **AMR:** Este descriptor hace referencia a la Refractividad Molar de Ghose Crippen y puede indicar o medir la polarizabilidad que presentan los electrones en una molécula; además puede tener un papel importante en el análisis de la unión ligando receptor, gracias a que puede relacionar también dicho volumen con las fuerzas de dispersión de London que se presenten en la unión (Padron et al., 2001).
- **TopoPSA:** Es un descriptor topológico, el cual hace referencia al Área Superficial Topológica. Este representa el área polar que tiene una molécula, lo cual sirve para la predicción de su comportamiento frente al transporte hacia la BH, de manera que un alto valor del área superficial

indica un comportamiento desfavorable, mientras que un bajo valor indica un transporte favorable (Ertl et al., 2000).

7.2.2 Elección del modelo

Luego de elegir los descriptores, se procedió a elegir el modelo adecuado, obteniendo un R^2 ajustado de 0,733 utilizando 550 nodos (Figura 11). Cabe destacar que en el proceso se descubrió que, al cambiar el orden de los descriptores, variaba el valor de R^2 , por lo cual se determinó que la combinación que daba un mejor coeficiente de determinación es ALogp2- AMR -TopoPSA, por lo que sería un modelo más predictivo.

Adicionalmente se realizó una búsqueda bibliográfica para evaluar si se han presentado estudios o investigaciones sobre modelos estadísticos para el desarrollo de medicamentos antipsicóticos, aunque no se obtuvieron resultados que nos guiaran o sirvieran en el desarrollo de nuestro proyecto, se encontró uno relevante el cual hace referencia a la realización de un modelamiento QSAR donde se utilizan diferentes familias de fármacos antipsicóticos para su construcción, con la utilización de 179 estructuras para su desarrollo y logrando así un modelo predictivo para nuevos compuestos (Zieba et al., 2019); sin embargo al tener diferentes familias de estructuras en el desarrollo, podría no ser del todo confiable las variables predichos para los nuevos análogos, de esta manera consideramos nuestro proyecto innovador con potencial para el desarrollo de nuevos fármacos antipsicóticos.

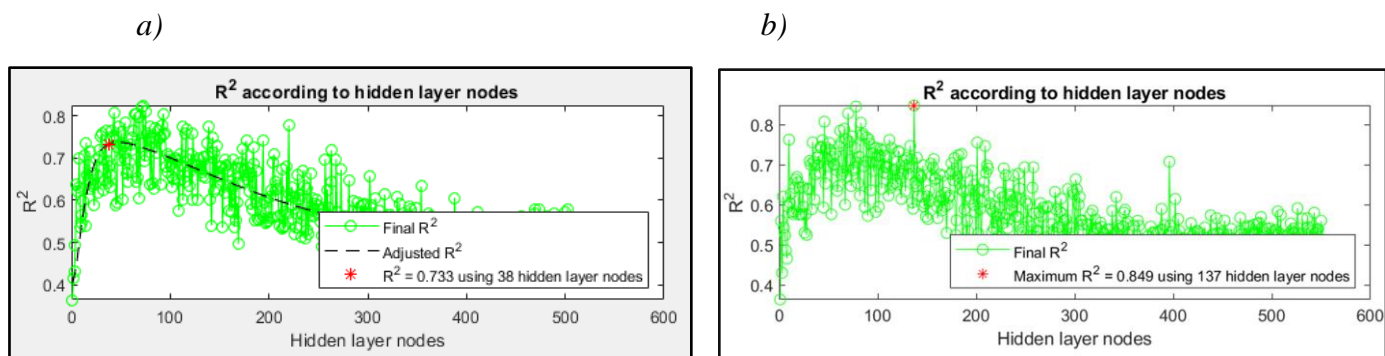


Figura 11: R^2 del modelo seleccionado simulado en Matlab. a) R^2 Ajustado. b) R^2 Máximo

El R^2 nos permite conocer que tan bien se ajusta el modelo a los datos, por ende, este va a incrementar siempre que se le agregue un descriptor, incluso si las variables no tienen relevancia estadística en el modelo, lo cual no nos brindará un resultado verídico (Soporte Mintab18, n.d.). Es por ello que el R^2 ajustado brinda un resultado más confiable, ya que este está construido para ajustar la inclusión de descriptores y por ende, solo toma en cuenta aquellas variables que tienen

relevancia, lo cual evita un sobreajuste del modelo (Dominguez et al., 2019). Este valor también indica la capacidad predictiva del modelo, ya que cuanto mayor sea el valor de R^2 , mayor va a ser la capacidad predictiva (Soporte Mintab18, n.d.). La confiabilidad de los datos no solo se ve expresada en el valor del R^2 ajustado (0,733), también se ve expresada en el la varianza que hay entre el k_i teórico y el k_i predicho. Por ejemplo, el Bromoperidol tiene un k_i de 1,0, mientras que el k_i predicho dio 1,31; el haloperidol tiene un k_i de 0,12, mientras que el k_i predicho dio un resultado de 0,17, lo cual indica que la capacidad predictiva y confiabilidad del modelo es bastante alta.

7.2.3 Predicción del K_i

Luego de elegir el modelo adecuado, se calculó el valor de actividad biológica (K_i) de las moléculas modificadas utilizando como base los valores de las moléculas comerciales, para ello se tuvo en cuenta la red neuronal y el software Matlab, obteniendo los valores que podemos observar en la tabla 7. Por otro lado, las moléculas utilizadas para el modelo QSAR tienen un K_i que varía desde 0,084 hasta 4,0 nM, y al observar los valores predichos es posible identificar que todos se encuentran en ese rango, lo cual indica que pueden ser potenciales antipsicóticos y de manera general, cumple con los objetivos planteados.

Tabla 7: Modificaciones planteadas y su respectivo valor de K_i predicho por el modelo QSAR

<i>Modificación</i>	<i>K_i (nM)</i>	<i>Modificación</i>	<i>K_i (nM)</i>	<i>Modificación</i>	<i>K_i (nM)</i>
Mod 1	1,7	Mod 5	1,86	Mod 9	0,91
Mod 2	2,31	Mod 6	1,81	Mod 10	1,03
Mod 3	2,30	Mod 7	1,54	Mod 11	0,98
Mod 4	1,97	Mod 8	1,91	Mod 12	1,03

7.3 Determinación de la toxicidad

En primera instancia, fue necesario realizar la predicción de la toxicidad utilizando el software PreAdmet y evaluando 4 diferentes pruebas que ya fueron descritas anteriormente. En la tabla 8 es posible observar los resultados de la toxicidad de 19 antipsicóticos comerciales, en donde se encontró que la mayoría de los fármacos son mutágenos, dan negativo para las pruebas de Carcino Mouse y Carcino Rat y presentan un riesgo medio en la prueba de hERG inhibition, lo cual permitió establecer cuáles son los límites para evaluar las modificaciones planteadas, ya

que las moléculas que presentaran un resultado positivo en Carcino Mouse y Carcino Rat y un riesgo alto en hERG inhibition, se descartaron inmediatamente.

Tabla 8: Resultados de pruebas de toxicidad para cada antipsicótico

Antipsicótico	Amest_test	Carcino Mouse	Carcino Rat	hERG_inhibition
Azaperona	Mutágeno	Negative	Negative	Medium Risk
Benperidol	Mutágeno	Positive	Negative	Medium Risk
Bromperidol	Mutágeno	Negativo	Positivo	Medium Risk
Butropipazona	No mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Domperidona	Mutágeno	Positivo	Negativo	Medium Risk
Droperidol	Mutágeno	Positivo	Negativo	Medium Risk
Espiperona	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Fluanisona	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Fluspirileno	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Fluspiperona	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Haloperidol	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Haloperidida	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Melperona	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Moperona	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Penfluridol	No-mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Pimozida	Mutágeno	Positivo	Negativo	Medium Risk
Pipamperona	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Timiperona	Mutágeno	Negativo	Positivo	Medium Risk
Trifluoperidol	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk

En la tabla 9 es posible observar los resultados de las 4 pruebas de toxicidad realizadas a las 13 modificaciones planteadas. Los resultados indican que todas las modificaciones cumplen con los criterios establecidos anteriormente y son similares a los resultados obtenidos por el haloperidol, por lo cual podrían ser buenos candidatos. En el caso de la modificación 7, se observa que dio un resultado no mutágeno a Ames test, lo cual indica que este sería el candidato menos tóxico.

Tabla 9: Resultados de pruebas de toxicidad para cada modificación planteada

Modificación	Amest_test	Carcino_mouse	Carcino_rat	hERG_inhibition
Mod 1	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Mod 2	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Mod 3	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Mod 4	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Mod 5	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Mod 6	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Mod 7	No mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Mod 8	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Mod 9	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Mod 10	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Mod 11	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk
Mod 12	Mutágeno	Negativo	Negativo	Medium Risk

7.4 Elección de los análogos

La primera modificación elegida fue la reducción del grupo carbonilo, ya que presenta una buena energía de unión tanto para los receptores D2 como para los receptores Sigma 1, adicional a ello, el análogo presenta una muy buena afinidad con el aminoácido ASP 114 y con casi todos los aminoácidos de interés. En cuanto a los resultados de la toxicidad y del modelo QSAR, estos se encuentran dentro del límite establecido, por lo cual se procedió a realizar el planteamiento general de la síntesis, encontrando que es una síntesis económica, cuyos reactivos están disponibles en el laboratorio.

Por otro lado, se eligió como segundo análogo la modificación 9 la cual está determinada por la esterificación del análogo 1 elegido previamente; esta se eligió por diversas razones, entre ellas se encuentra que presenta una alta afinidad por los receptores D2 y para los receptores sigma, como se observa en la tabla 4, además tiene una buena interacción con los aminoácidos de interés, como es el caso en los receptores D2 con PHE 110 y ILE 184. Adicionalmente tiene un bajo valor de K_i en comparación de las otras modificaciones planteadas, siendo esta de 0,91 nM y por tanto presenta una mejor actividad biológica; mientras que en las pruebas de toxicidad se presentaron resultados dentro de los límites especificados, por lo que se eligió como segundo análogo a sintetizar.

Finalmente, y teniendo en cuenta que no se realizó la síntesis del segundo análogo de manera adecuada, se eligió una tercera modificación la cual cumpliera con los criterios analizados; para esta se eligió la modificación 10, la cual de manera similar a la modificación anterior presenta adecuados valores de energía de unión para los receptores sigma y receptores D2 (-11,20 kcal/mol y -10,20 kcal/mol respectivamente). También cuenta con interacción con aminoácidos del sitio activo de la macromolécula como PHE 110, ILE 184 y PHE 410.

En cuanto a la actividad biológica, esta modificación presenta un K_i predicho de 1,03 nM, siendo de los valores más bajos, y por tanto con mejor actividad de las modificaciones planteadas. Su toxicidad se encuentra entre los límites establecidos, por lo que se realizó el planteamiento de su síntesis, y se consideró como ventaja la disponibilidad en el laboratorio de los reactivos necesarios para la síntesis planteada, por lo que se eligió como tercer análogo.

7.5 Planteamiento de la ruta sintética

En la figura 12 es posible observar la ruta sintética para el primer análogo. La primera opción consiste en una reducción con NaBH_4 , sin embargo, teniendo en cuenta la disponibilidad en el laboratorio y el precio del mismo, se determinó que no era viable. Por otro lado, se puede llevar a cabo una hidrogenación catalítica mediante H_2 y un metal noble como el Pt o el Pd, sin embargo, estos son metales raros y altamente costosos, lo cual los hace poco asequibles, además son poco reactivos, lo cual podría dificultar la reacción; adicional a ello, el hidrógeno gaseoso requiere de un manejo cuidadoso. Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado, se eligió el LiAlH_4 , ya que es más asequible gracias a su precio y disponibilidad en el laboratorio, además es un agente reductor más potente que el Borohidruro de sodio, por lo cual se determinó que es la opción más viable para llevar a cabo la reducción

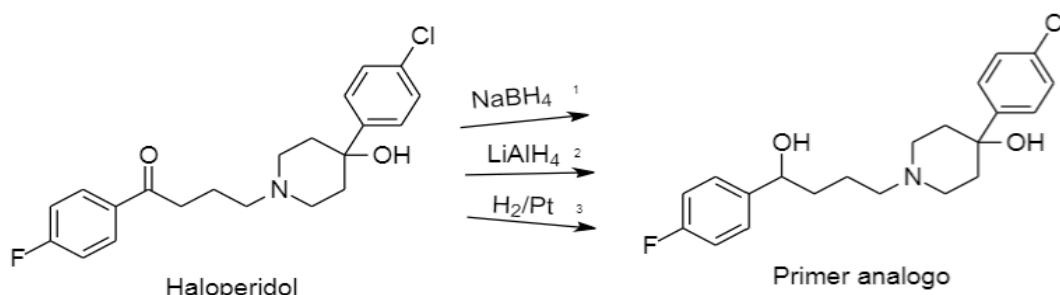


Figura 12: Ruta sintética planteada del primer análogo

Para el segundo y el tercer análogo se planteó una ruta sintética como se observa en la figura 13, donde se pretende realizar una esterificación con ácido acético a partir del análogo 1 ya sintetizado; la primera opción consiste en realizar una esterificación de Fischer, utilizando como agente catalizador el Ácido Sulfúrico. Sin embargo, esta síntesis puede presentar algunas

desventajas, una de ellas se debe al comportamiento cinético y termodinámico de la reacción, ya que esta reacción presenta reversibilidad termodinámica, por lo que sería necesario utilizar un exceso de reactivo o estar eliminando constantemente el agua producida y teniendo también una velocidad de reacción lenta (Khan et al., 2021) además el Ácido Sulfúrico es un reactivo controlado, por lo tanto puede complicarse la obtención o utilización del mismo. Teniendo en cuenta esto, se optó por realizar la esterificación mediante la segunda opción la cual se basa en la formación de anhídridos de ácido, mediante la reacción del cloroformiato de etilo y un ácido carboxílico. Este anhídrido activado reacciona con el grupo hidroxilo del compuesto, generando la esterificación y siendo una reacción irreversible, logrando ser una mejor alternativa para la síntesis (Chemistry LibreTexts, 2021).

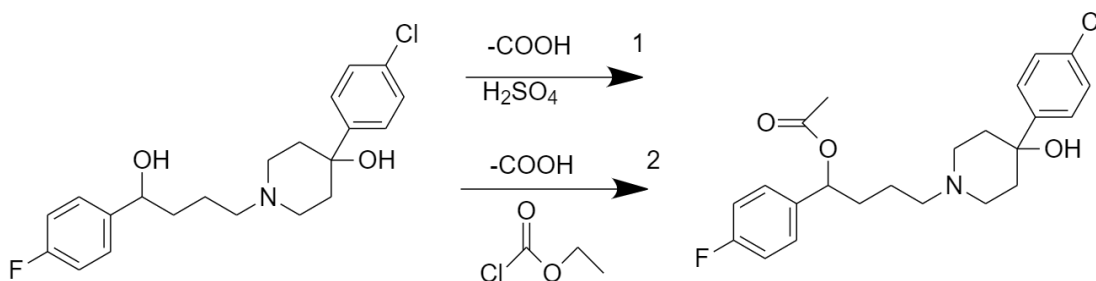


Figura 13: Ruta sintética del segundo y tercer análogo

8. Parte experimental

8.1 Extracción del Haloperidol

La extracción del API se siguió mediante CCF utilizando como fase móvil Acetato de etilo - metanol 1:1 y ácido molíbdico y UV como reveladores. Fue posible determinar que la muestra estaba pura, ya que no se evidencia la presencia de otros compuestos (manchas) además del producto de interés. Teniendo en cuenta que posiblemente el compuesto estaba puro, determinamos el punto de fusión. El punto de fusión del haloperidol se encuentra en un rango de 149 °C-155 °C (*HALOPERIDOL*, n.d.), mientras que el punto de fusión experimental dio un resultado de 153 °C, lo cual indica que el PF concuerda con el establecido en literatura. Por último, se realizó una espectroscopia IR (Figura 14) y lo comparamos con el registrado en literatura. Se identificaron bandas representativas del haloperidol que permiten confirmar la identidad del compuesto.

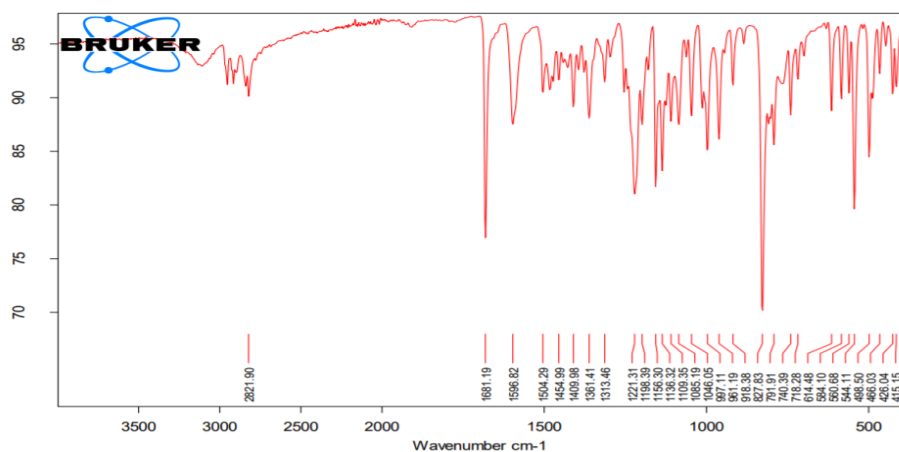


Figura 14: Espectro IR experimental del Haloperidol tomado por ATR

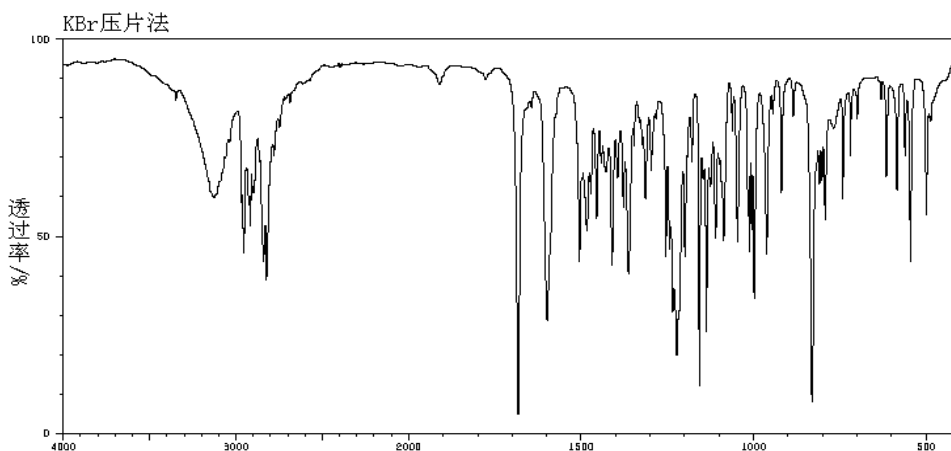


Figura 15: Espectro IR tomado de literatura del Haloperidol tomado por transformada de Fourier (GuieChem, n.d.)

Como podemos observar en la figura 15, se realiza una comparación entre el espectro IR experimental del haloperidol y el espectro IR tomado de la literatura (GuieChem, n.d.). Una de las bandas más representativas del espectro se encuentra en 1681 cm^{-1} , la cual es una banda con vibración de tensión asociada a la presencia del grupo carbonilo (C=O) presente en la molécula (Silverstein et al., 1998); por otro lado, la banda de tensión en 2821 hace referencia al enlace C-H aromático, mientras que la banda en 827 cm^{-1} hace referencia al =C-H para-sustituido (Silverstein et al., 1998). En cuanto a los halógenos, la banda de estiramiento en la región de 1221 cm^{-1} representa en enlace C-F, mientras que la banda en 740 cm^{-1} representa en enlace C-Cl (Silverstein et al., 1998). Por último, el N que hace parte del anillo piperidina se ve reflejado en la banda con vibración de flexión en 1500 cm^{-1} . Si se compara el espectro experimental con el obtenido en la literatura, es posible observar que los 2 espectros son muy similares y tienen las mismas bandas mencionadas anteriormente, mientras que las diferencias radican en que un espectro fue tomado por ATR y el otro con KBr, lo cual puede influir en la intensidad de las bandas. Para el cumplimiento del último objetivo, se procedió con la caracterización de cada uno de los análogos mediante diferentes técnicas de elucidación estructural tales como RMN H^1 y espectroscopia IR.

8.2 Primer análogo

8.2.1 Espectroscopia IR

La espectroscopia IR es una técnica analítica que se basa en la capacidad de las moléculas para absorber la luz en la región infrarroja del espectro electromagnético (Bruker, n.d.). El fenómeno inicia cuando una molécula absorbe la energía de un haz de luz infrarroja, cabe destacar que la absorción de luz es característica de la naturaleza de los enlaces químicos presentes en la muestra; en consecuencia, la molécula empieza a presentar un movimiento vibratorio, producto de la energía suministrada mediante luz infrarroja (Bruker, n.d.).

Para el desarrollo de los espectros se utilizó el Espectrofotómetro Bruker Alpha System; en la figura 16 se presenta el espectro obtenido del primer análogo, allí se observan diferentes bandas representativas de la molécula. Entre ellas se presenta la banda ubicada en $3285,03\text{ cm}^{-1}$ la cual corresponde a un grupo hidroxilo (Silverstein et al., 1998), que es la principal variante entre el compuesto base y el análogo elegido. Adicionalmente, presenta bandas importantes a la altura de 829 cm^{-1} y 1218 cm^{-1} , la primera indica la absorción de un grupo C-Cl, mientras que la segunda

hace referencia a la absorción que se presenta por el estiramiento de un enlace C-F (Silverstein et al., 1998).

La banda de flexión predominante en la zona 1504 cm^{-1} indica la presencia del anillo piperidínico gracias al enlace C-N. Finalmente, la banda predominante en la zona 2919 cm^{-1} hace referencia a la presencia de enlace C-H con vibración de tensión de anillos aromáticos (Silverstein et al., 1998). Si se compara el espectro obtenido del análogo 1 con el espectro obtenido del compuesto base, es decir el Haloperidol (sección 7,4), se evidencia que se presentan similitudes en algunas bandas presentes en ambas moléculas, mientras que la principal diferencia se basa en la aparición de la banda del grupo hidroxilo, la cual concuerda con la modificación realizada.

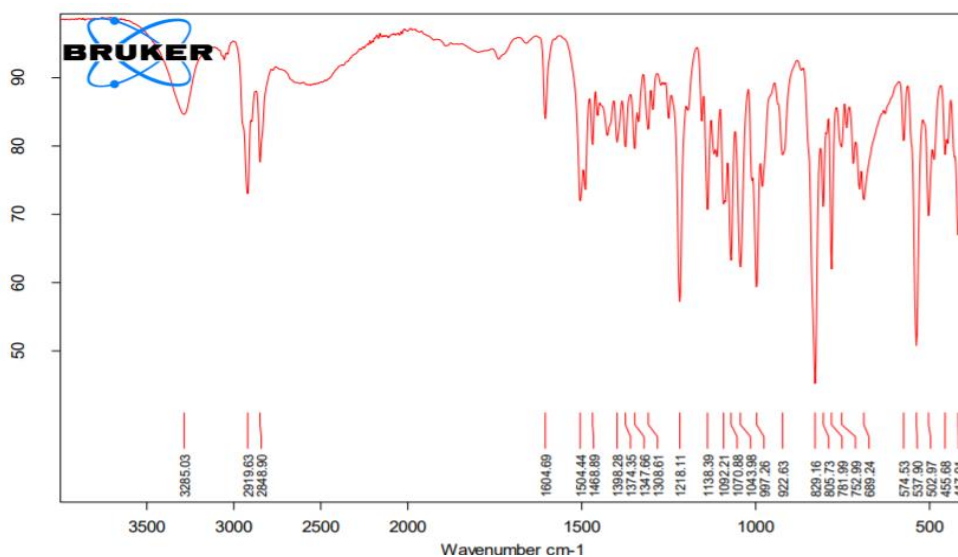


Figura 16: Espectro IR del primer análogo del Haloperidol tomado por ATR

8.2.2 Resonancia Magnética Nuclear

La espectroscopia de RMN es una técnica analítica que permite analizar el comportamiento de ciertos núcleos atómicos, específicamente aquellos que presenten un spin distinto de cero y que presenten un número impar de protones o neutrones, tales como ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F y ^{31}P , cabe aclarar que los dos primeros núcleos son los más utilizados, ya que son los principales componentes de las moléculas orgánicas (Gómez, n.d.).

En esta ocasión, trabajamos con RMN de ^1H con un espectrómetro Bruker III HD ascend 400 el cual trabaja a 400MHz; este espectro nos brinda información sobre el tipo y número de hidrógenos presentes en la molécula. Además, el entorno químico del núcleo se ve reflejado en los

desplazamientos químicos de las señales, es decir, que se pueden identificar los principales grupos funcionales de la molécula mediante la posición de las señales en el espectro.

En la figura 17 se observa el espectro RMN ^1H del primer análogo. El espectro fue analizado mediante el software MestRenova, en donde se tomó como pico base el singlete que se encuentra en 4.56 ppm, ya que este hace referencia al hidrógeno que está pegado al grupo hidroxilo, por lo cual integra para 1. Luego de establecer la base, se procedió a analizar los hidrógenos presentes en ambos anillos aromáticos, como podemos observar en la estructura, hay un total de 8 hidrógenos aromáticos, los cuales se encuentran en la región de 7 a 7,5 ppm, lo cual concuerda con la literatura, ya que este tipo de hidrógenos se encuentran entre 6,5 y 8 ppm (Laurella, n.d.). Por otro lado, en la estructura hay un total de 14 hidrógenos alifáticos los cuales se ven reflejados en la señales que van desde 1,5 a 3 ppm, lo cual concuerda con la literatura, ya que los alcanos cíclicos presentan valores de δ entre 1,5 y 2,0 (Fernández, n.d.); mientras que los protones cercanos a aminas pueden presentar valores δ entre 2 y 3,5 (Bruker, n.d.) y en general, las cadenas alifáticas pueden distribuirse en campo alto con un δ próximo a 1 (Fernández, n.d.), lo cual puede variar según la naturaleza

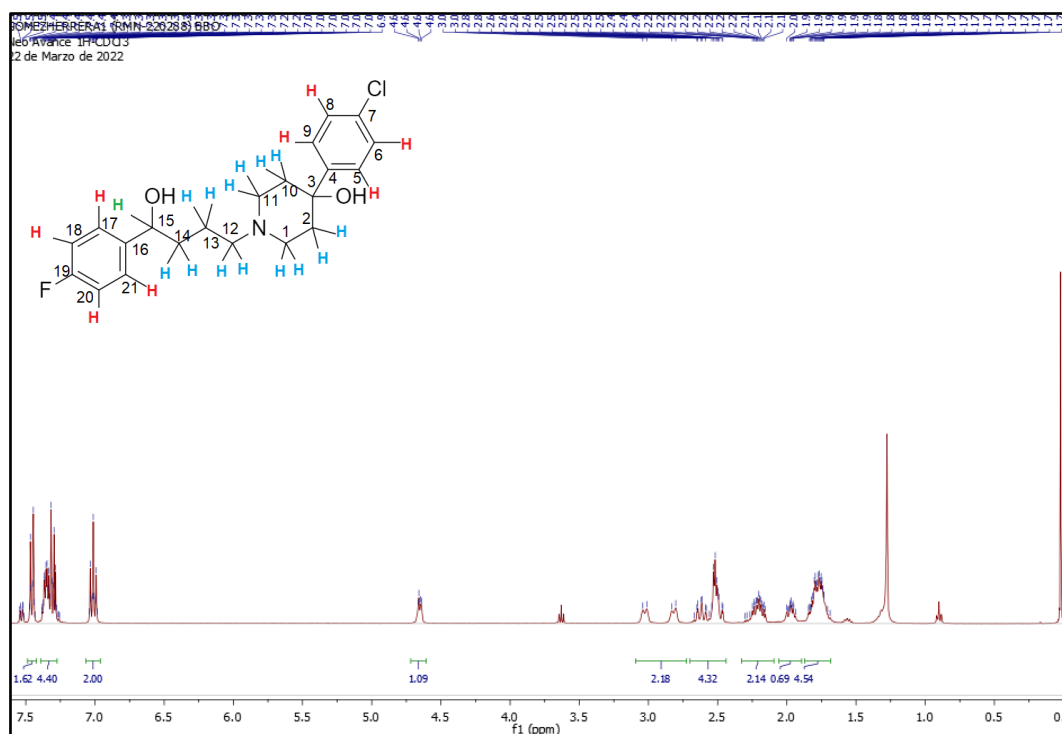


Figura 17: Espectro RMN ^1H del primer análogo del Haloperidol en cloroformo

Por último, es posible observar una señal en 7,26 ppm, lo cual hace referencia al cloroformo en el cual fue diluido la muestra, se presentan señales en 7,5 ppm, 3,59 ppm, 1,26 ppm y 0,87 ppm, las cuales son atribuidas a una impureza de naturaleza desconocida

8.3 Segundo análogo

8.3.1 Espectroscopia IR

En la figura 18 se encuentra el espectro IR obtenido de la segunda modificación sintetizada, se observa una banda con vibración de tensión alargada en la región de $1726,89\text{ cm}^{-1}$ que puede corresponder a la presencia de un enlace C=O de un éster alifático, ya que también se evidencia una banda en la zona de 1218 cm^{-1} correspondiente a vibraciones de tensión para el enlace C-O de ésteres (Silverstein et al., 1998). Adicionalmente se presenta una banda de flexión predominante en la región de 1504 cm^{-1} la cual corresponde al anillo piperidínico de la molécula. Se presentan enlaces de Carbono con Halógenos, como lo puede ser C-Cl gracias a la fuerte absorción en la región de 829 cm^{-1} y la banda media de 1070 cm^{-1} correspondiente a enlace C-F (Silverstein et al., 1998). Finalmente se presenta una banda con vibración de tensión predominante en 1219 cm^{-1} que se debe a enlaces C-H aromáticos (Silverstein et al., 1998).

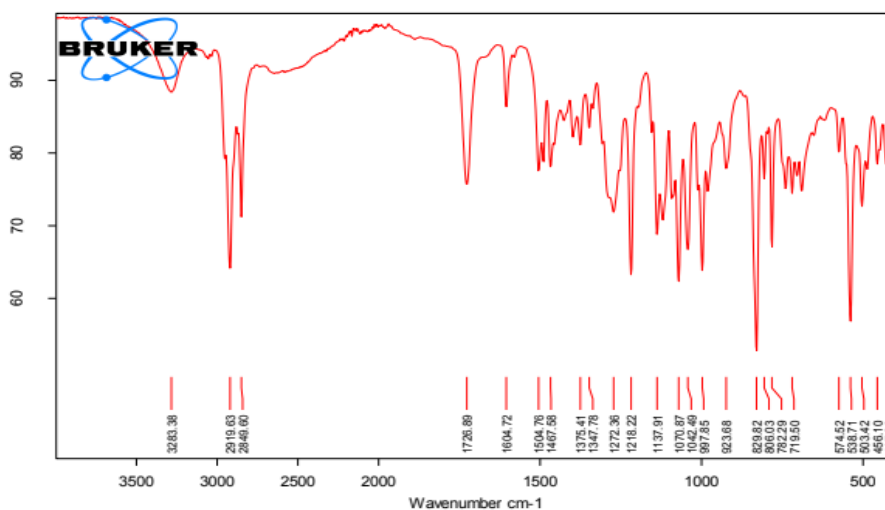


Figura 18: Espectro IR del segundo análogo del Haloperidol tomado por ATR

8.3.2 Resonancia magnética nuclear

Al analizar la figura 19, es posible afirmar que no se obtuvo la síntesis del segundo análogo, ya que este se caracteriza por presentar un éster cuyo hidrógeno aparece entre 8 y 9 ppm (Silverstein et al., 1998), sin embargo, no hay ninguna señal que se encuentre en este rango. Adicional a ello, se realizó una comparación con el primer espectro para verificar que el compuesto hubiera reaccionado, encontrando que hay un pico en 4,65 ppm, el cual concuerda con el grupo OH del primer análogo, el cual fue el compuesto de partida. Se debe tener en cuenta que la reacción se dejó por aproximadamente 3 horas, mientras que el tercer análogo se dejó

durante una noche, por lo cual se puede inferir que le faltó tiempo al compuesto para terminar de reaccionar.

Al analizar el resto de la molécula, se encuentran las señales en la región de 7 a 8 ppm que integran para 9 hidrógenos aromáticos, lo cual puede atribuirse a que el compuesto no terminó de reaccionar, mezclando los hidrógenos de los 2 análogos. Por otro lado, en el espectro se encuentran señales que corresponden a 10 hidrógenos alifáticos, lo cual indica que hay 4 hidrógenos que se encuentran detrás de las señales que corresponden a solventes o impurezas.

Finalmente, y teniendo en cuenta que el espectro RMN en conjunto con el IR no garantiza la presencia del compuesto de interés, se llevó a cabo la síntesis del siguiente análogo que cumpliera con los criterios de selección.

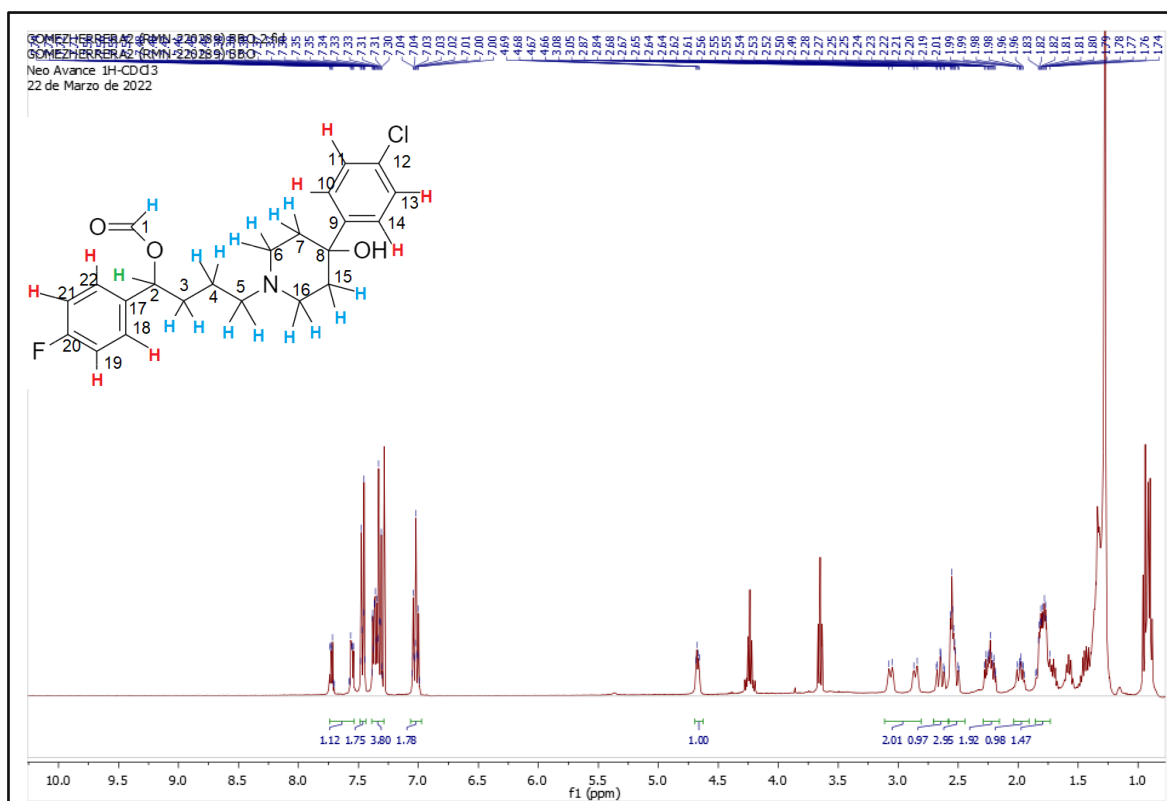


Figura 19: Espectro RMN H^1 del segundo análogo del Haloperidol en cloroformo

8.4 Tercer análogo

8.4.1 Espectroscopia IR

A Continuación encontramos la figura 20 la cual corresponde al espectro IR obtenido de la tercera modificación sintetizada, en este se pueden observar 2 bandas fuertes ubicadas en la región de

1726 cm^{-1} y 1225 cm^{-1} , la primera se presenta gracias a la absorción de un enlace de vibración de tensión C=O, mientras que la segunda se debe a la vibración de tensión del enlace C-O, lo cual indica la presencia de un grupo éster en la molécula; de igual manera que en el espectro anterior, se presenta una banda en la región de 2924 cm^{-1} la cual se debe a un enlace C-H aromático (Silverstein et al., 1998). En cuanto a la presencia de los halógenos Flúor y Cloro se puede evidenciar gracias a las bandas en 830 cm^{-1} y 1374 cm^{-1} que corresponden a enlaces C-Cl y C-CF₃ respectivamente (Silverstein et al., 1998); mientras que la banda de flexión en la región 1512 cm^{-1} se atribuye al N del anillo piperidínico de la molécula.

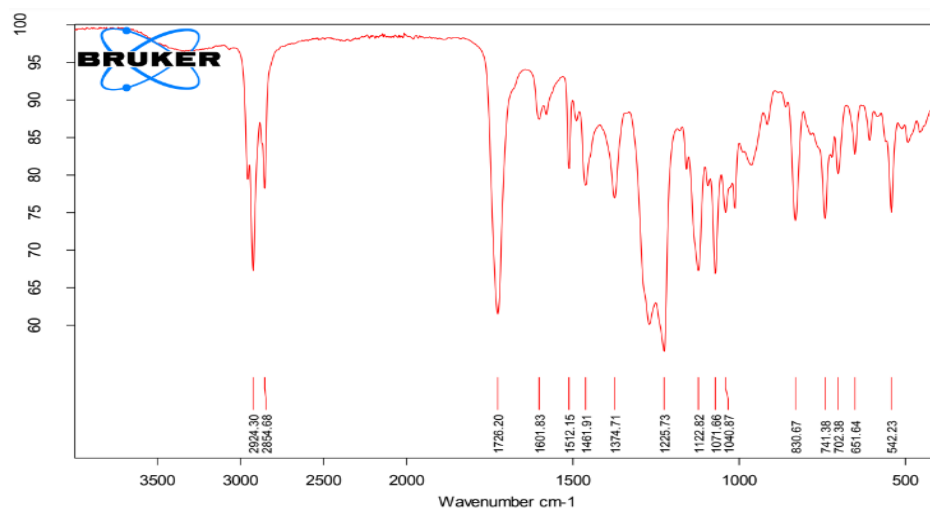


Figura 20: Espectro IR del tercer análogo del Haloperidol tomado por ATR

8.4.2 Resonancia Magnética Nuclear

Respecto a la figura 21, se presenta el espectro RMN de la tercera modificación sintetizada junto con la estructura del compuesto haciendo énfasis en los Hidrógenos presentes; y es analizada de igual manera mediante el software de MestRenova. En este caso se tomó como base el Hidrógeno que se encuentra unido al carbono seguido del grupo éster, el cual está ubicado en la región de 5,72 ppm por lo que integra para 1.

Por otro lado, en la zona de 6,9 ppm a 7,7 ppm se presentan las señales correspondientes a los Hidrógenos de grupos aromáticos. Como podemos observar en el espectro, hay 5 señales que integran para 12, pero en la estructura únicamente hay 8 hidrógenos aromáticos, lo cual indica que hay señales de más en el espectro, por lo cual se puede inferir que hay una mezcla del primer y el segundo análogo en el espectro y las señales de más corresponden a los hidrógenos aromáticos de la primera modificación

Es posible observar que hay 14 hidrógenos alifáticos presentes en la estructura del compuesto, los cuales se ven reflejados de manera general en la zona de campo alto entre 1,5 ppm a 3,0 ppm; sin embargo, en el espectro se identifican 3 señales que integran para 9 (la otra señal corresponde al grupo éster), lo cual indica que hacen falta 5 hidrógenos, los cuales se encuentran detrás de las señales entre 1 y 1,5 ppm. Se logró identificar que estas señales corresponden principalmente a acetato de etilo, un disolvente utilizado durante el proceso de síntesis y purificación de la muestra, este solvente se caracteriza por presentar en señales en 1,26 ppm (t), 4,12 ppm (q) y 2,05 ppm (s) (Fulmer et al., 2010), lo cual concuerda con el espectro.

Como se mencionó anteriormente, en la zona de campo alto hay una señal que integra para 3 y corresponde a los hidrógenos del grupo éster, esta señal se encuentra alrededor de 2,10 ppm y es la más relevante del espectro, ya que confirma la formación del grupo éster y por tanto confirma la reacción. Del mismo modo, es posible identificar que en el primer espectro hay una señal en 4.56 ppm que corresponde al grupo OH de la primera modificación, dicha señal no aparece en el espectro actual, lo cual apoya la afirmación anteriormente planteada.

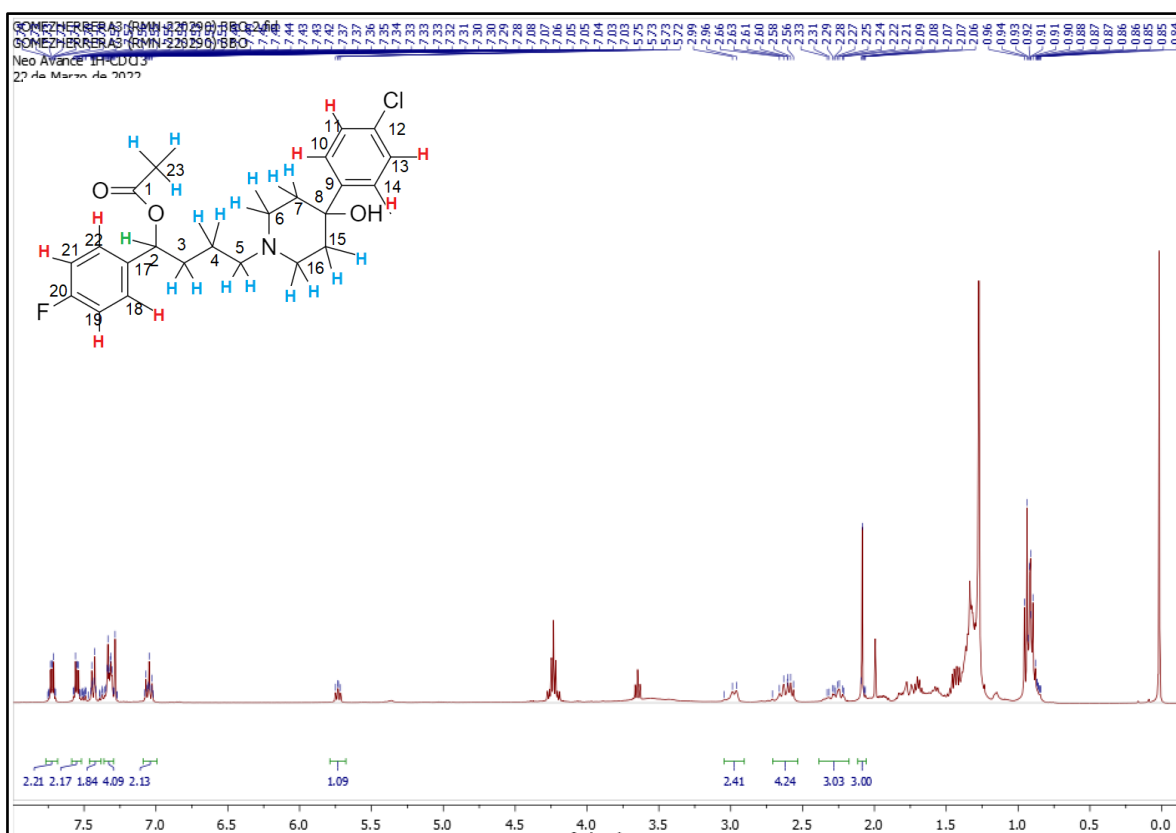


Figura 21: Espectro RMN ^1H del tercer análogo del Haloperidol en cloroformo

9. Conclusiones

Se obtuvieron 2 análogos con características mejores o iguales a la de los fármacos conocidos, tales como la energía de afinidad a los receptores D2 y Sigma 1 y las interacciones con los aminoácidos de interés. Por otro lado, el modelo QSAR nos permitió obtener análogos con valores de K_i (0,91nM y 1,03nM) y toxicidad similares a los antipsicóticos comerciales , lo cual consolida el cumplimiento del primer objetivo planteado.

De este modo, se planteó la ruta sintética y se estableció que el LiAlH_4 y el CH_3COOH son los reactivos más adecuados para llevar a cabo la primera y segunda síntesis, ya que son más asequibles y económicos. Mientras que la síntesis del otro análogo no fue eficaz, ya que el tiempo de reacción no fue suficiente.

Los espectros IR y RMN permitieron evidenciar que hay impurezas en los compuestos sintetizados previamente, algunos de los solventes que se lograron identificar fueron acetato de etilo y cloroformo, sin embargo, hay otras impurezas que no se lograron atribuir a ningún solvente en específico y pueden estar relacionadas con las prácticas empleadas para llevar a cabo las síntesis, por lo cual se recomienda optimizar las metodologías de síntesis y purificación.

En conclusión, se sintetizaron y caracterizaron 2 análogos del haloperidol con rendimientos del 80% y 60% con actividad promisorio antipsicótica y neuromoduladora evaluada mediante docking molecular y modelamiento QSAR por redes neuronales.

10. Recomendaciones

En primera instancia, se recomienda buscar otras metodologías para la extracción del haloperidol, las cuales permitan obtener un mayor porcentaje de pureza, así mismo, se recomienda purificar nuevamente cada uno de los análogos para retirar las posibles impurezas adquiridas durante el proceso de síntesis, ya sea buscando otros métodos más efectivos u optimizando los métodos ya mencionados en el proyecto. Adicionalmente, recomendamos experimentar otras técnicas de elucidación para la caracterización de los compuestos, lo cual permita complementar la información recopilada sobre los análogos sintetizados, tales técnicas incluyen RMN C¹³ y Espectroscopia de masas.

Por otro lado, es importante resaltar que, si se van a llevar a cabo las mismas síntesis de esterificación, es necesario dejarlas más de 24 horas, para asegurar que el compuesto reaccione por completo. Finalmente, para dar más veracidad a los resultados encontrados se recomienda llevar a cabo un estudio *In vitro*, el cual permita evaluar la citotoxicidad de los análogos en un cultivo de células. Relacionado a ello, también se recomienda buscar metodologías que permitan la separación de los enantiómeros R y S ya que los análogos se encuentran en forma de mezcla racémica.

11. Referencias bibliográficas

- Arroyo, M., & Alcazar, M. (2018). *Causas y factores de riesgo de la Esquizofrenia*. Clinic Barcelona. <https://www.clinicbarcelona.org/asistencia/enfermedades/esquizofrenia/causas-y-factores-de-riesgo>
- Avogadro. (2018, July 24). *Molecular Mechanics & Force Fields*. Avogadro. Retrieved April 17, 2022, from <https://avogadro.cc/docs/optimizing-geometry/molecular-mechanics/>
- Bahena, R., Flores, G., & Arias, J. (2000). Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. *Revista biomédica*, 11(1). <https://www.revistabiomedica.mx/index.php/revbiomed/article/view/218>
- Beltran, D., Cavas, M., & Navarro, J. (2004). Perfil farmacológico de los receptores Sigma. *Psiquiatria Biologica*, 11(2), 41-57. ResearchGate. https://www.researchgate.net/publication/235336517_Perfil_farmacologico_de_los_receptores_sigma
- *Benperidol* | C22H24FN3O2. (n.d.). PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Benperidol>
- Bruker. (n.d.). *Guía de espectroscopia infrarroja*. Bruker. <https://www.bruker.com/es/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-ir-routine-spectrometer/what-is-ft-ir-spectroscopy.html>
- Bruker. (n.d.). *RMN de Protón – Desplazamientos químicos*. Avance Beginners Guide - RMN de Protón – Desplazamientos químicos. <http://www2.chem.uic.edu/nmr/downloads/bruker/en-US/html/Avance%20Beginners%20Guide/es/18014398879165963.html>
- Burstein, S., Wong, J., Knapp, E., & Olsson, R. (2005). Intrinsic efficacy of antipsychotics at human D2, D3, and D4 dopamine receptors: identification of the clozapine metabolite N-desmethylclozapine as a D2/D3 partial agonist. *Pubmed*, 1(1). doi: 10.1124/jpet.105.092155.
- Busti, A. (2015). *What is an inhibitory constant (Ki) and how does it relate to understanding drug interactions?* EBM Consult. <https://www.ebmconsult.com/articles/inhibitory-constant-ki-drug-interactions>
- Carrillo, L. (2013). *Esquizofrenia, Dopamina y Antipsicóticos*. <https://ivanlerma.com/tag/via-tuberoinfundibular/>

- Ceruelo, J., & Garcia, S. (2007). Antipsicóticos típicos. Antipsicóticos atípicos. *FMC*, 14(10), 637-647. <https://www.fmc.es/es-antipsicoticos-tipicos-antipsicoticos-atipicos-articulo-13113800>
- Chandrasekaran, B., Nidal, S., Al-Attraqchi, O., Kuche, K., & Tekade, R. (2018). Computer-Aided Prediction of Pharmacokinetic (ADMET) Properties. *Science Direct*, 2. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814421-3.00021-X>
- Chemistry LibreTexts. (2021, May 22). *Acid Anhydrides for Ester Synthesis*. Chemistry LibreTexts. https://chem.libretexts.org/Courses/Brevard_College/CHE_202%3A_Organic_Chemistry_II/02%3A_Carboxylic_Acids_and_Esters/2.09%3A_Acid_Anhydrides_for_Ester_Synthesis
- Darras, F., & Ping Pang, Y. (2017). On the use of the experimentally determined enzyme inhibition constant as a measure of absolute binding affinity. *biorxiv*. <https://doi.org/10.1101/144204>
- Das, R. N., Roy, K., & Kar, S. (2015). *A Primer on QSAR/QSPR Modeling: Fundamental Concepts*. Springer International Publishing. 10.1007/978-3-319-17281-1
- Dold, M., Samara, M., & Tardy, M. (2015, January 16). *Haloperidol versus antipsicóticos de primera generación para el tratamiento de la esquizofrenia y otros trastornos psicóticos*. Cochrane. https://www.cochrane.org/es/CD009831/SCHIZ_haloperidol-versus-antipsicoticos-de-primera-generacion-para-el-tratamiento-de-la-esquizofrenia-y
- Dominguez, L., Romero, G., & Aguayo, R. (2019). RELACIONES CUANTITATIVAS ESTRUCTURA/ACTIVIDAD/PROPIEDAD EN DOS DIMENSIONES EMPLEANDO EL PROGRAMA R. *Revista UNAM*, 30(2). <http://www.revistas.unam.mx/index.php/req/article/view/67211>
- *Domperidone* | C22H24ClN5O2. (n.d.). PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Domperidone#section=Information-Source>
- *Droperidol* | C22H22FN3O2. (n.d.). PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Droperidol>
- Eberhardt, J., Santos-Martins, D., Tillack, A., & Forli, S. (2021). AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *ACS Publications*. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jcim.1c00203>
- Environmental Protection Agency. (2008). Description of the Molecular Descriptors Appearing in the Toxicity Estimation Software Tool. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-05/documents/moleculardescriptorsguide-v102.pdf>

- Ertl, P., Rohde, B., & Selzer, P. (2000). RETURN TO ISSUEPREVARTICLENEXT Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-Based Contributions and Its Application to the Prediction of Drug Transport Properties. *ACS Publications*. <https://doi.org/10.1021/jm000942e>
- Fernández, G. (n.d.). *Tabla de desplazamientos químicos*. Química Orgánica. <https://www.quimicaorganica.org/resonancia-magnetica-nuclear/800-rmn-tabla-de-desplazamientos-quimicos.html>
- Fernandez, M., Aiex, L., & Pineda, D. (2018). Fármacos antipsicóticos. *Medicina de familia*, 19(1). https://www.samfyc.es/wp-content/uploads/2018/10/v19n1_09_repasaFarmacos.pdf
- Fernández, M., Simão, A., & Tenor, P. (2018). Fármacos antipsicóticos. *Med Fam Andal*, 19(1). https://www.samfyc.es/wp-content/uploads/2018/10/v19n1_09_repasaFarmacos.pdf
- Fulmer, G., Miller, A., Sherden, N., Gottlieb, H., Nudelman, A., Stoltz, B., Bercaw, J., & Goldberg, K. (2010). NMR Chemical Shifts of Trace Impurities: Common Laboratory Solvents, Organics, and Gases in Deuterated Solvents Relevant to the Organometallic Chemist. *Organometallics*, 29(9). <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/om100106e>
- Gomez, A. (n.d.). *Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear*. Laboratorio de Técnicas Instrumentales. <https://laboratoriotecnicasinstrumentales.es/analisis-quimicos/espectroscopa-de-resonancia-magntica-nuclear>
- Gonzalez, S. (2012). *Receptores de dopamina y heterómeros de receptores de dopamina en la modulación de la neurotransmisión*. https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/83919/SGG_TESIS.pdf
- Guevara, J., Jimenez, R., Morantes, S., Jaramillo, D., & Guzman, P. (2022). Design, Synthesis, and Development of 4-[(7-Chloroquinoline-4-yl)amino]phenol as a Potential SARS-CoV-2 Mpro Inhibitor. <https://doi.org/10.1002/slct.202200125>
- GuieChem. (n.d.). *Haloperidol 52-86-8*. 52-86-8 Haloperidol C₂₁H₂₃ClFNO₂ Dichte, NMR, Molecular Structure, Molecular Formula, Boiling Point, Flash Point, Risiko-Codes, Schmelzpunkt. <https://www.guidechem.com/dictionary/es/52-86-8.html>
- Guzmán, F. (n.d.). *Vías dopaminérgicas y antipsicóticos*. Instituto de Psicofarmacología. Retrieved April 15, 2022, from <http://institutedepsicofarmacologia.com/antipsicoticos/vias-dopaminergicas-y-antipsicoticos>
- Hall, D., Klass, J., & Bower, J. (2021). *Esquizofrenia*. Mayo Clinic. <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/schizophrenia/diagnosis-treatment/drc-20354449>

- HALOPERIDOL. (n.d.). Opinion Publica. <https://opinionpublica.anmat.gob.ar/proyectos/83.pdf>
- Haloperidol | C₂₁H₂₃ClFNO₂. (n.d.). PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Haloperidol>
- Hayashi, T., & Su, T. (2005). The Sigma Receptor: Evolution of the Concept in Neuropsychopharmacology. *Current Neuropharmacology*, 3(4), 267–280. NCBI. 10.2174/157015905774322516
- Jaszczyszyn, A., Gąsiorowski, K., Świątek, P., Malinka, W., Petrus, J., Cieślik-Boczula, K., & Czarnik-Matuszewicz, B. (2012). Chemical structure of phenothiaz
- Kalani, Y., Vaidehi, N., Hall, S., Trabanino, R., Freddolino, P., Kalani, M., Floriano, W., Wai, V., & Goddard, W. (2004). The predicted 3D structure of the human D2 dopamine receptor and the binding site and binding affinities for agonists and antagonists. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(11), 3815-3820. PubMed. <https://doi.org/10.1073/pnas.0400100101> lines and their biological activity. *Science Direct*. [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(12\)70726-0](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(12)70726-0)
- Karimi, G., & Vahabzadeh, M. (2014). Thioxanthenes. *Science Direct*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00656-4>
- Kern Pharma. (2021). *El dolor neuropático*. Kern Pharma. <https://www.kernpharma.com/es/blog/el-dolor-neuropatico>
- Khan, Z., Javed, F., Javed, Z., Hafeez, A., Fazal, T., Aslam, A., & Zimmerman, W. (2021). Current developments in esterification reaction: A review on process and parameters. *Science Direct*, 1. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2021.07.018>
- Khatoon, A., Muslim, A., & Rahman, H. (2012). Studies on the development of spectrophotometric method for the determination of haloperidol in pharmaceutical preparations. *Quimica Nova*, 35(2), 392-397. 10.1590/S0100-40422012000200028
- Kruse, A., & Schmidt, R. (2018). 6DJZ: Human sigma-1 receptor bound to haloperidol. RCSB PDB. <https://www.rcsb.org/structure/6DJZ>
- Laurella, S. (n.d.). *Resonancia magnética nuclear, una herramienta para la elucidación de estructuras moleculares*. Universidad de la Plata. <https://libros.unlp.edu.ar/index.php/unlp/catalog/book/781>

- Lopez, J. (2016). *Vías dopaminérgicas en el Sistema Nervioso Central*. INFO-FARMACIA. <https://sites.google.com/a/info-farmacia.com/info-farmacia/bioquimica/vias-dopaminergicas-en-el-sistema-nervioso-central>
- Lozano, J., & Scior, T. (2012). ¿Qué sabe Ud. acerca de...QSAR? *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 43(2). <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v43n2/v43n2a10.pdf>
- Machiyama, Y., Miyanaga, K., & Yonemura, K. (1998). Profiles of the affinity of antipsychotic drugs for neurotransmitter receptors and their clinical implication. *J-Stage*, 42. <https://doi.org/10.2974/kmj.48.87>
- Martínez, A., Fernandez, A., & Zarza, M. (2020). Receptores NMDA: fundamentos e implicaciones terapéuticas en el manejo del dolor. *Revista chilena de anestesia*, 49(5). <https://revistachilenadeanestesia.cl/revchilanestv49n05-07/>
- Martinez, E., Salinas, E., & Scior, T. (2007). Un modelo in silico es una herramienta que permite modelar propiedades farmacocinéticas de nuevos candidatos a fármacos mediante bases de datos y análisis informático. *Elementos: ciencia y cultura*, 14(068). <https://www.redalyc.org/pdf/294/29406806.pdf>
- Medina, A., & Escobar, M. (2002). Sistema glutamatérgico, primera parte: Sinaptología, homeostasis y muerte celular. *Revista Colombiana de Psiquiatría*, 31(3). Scielo. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74502002000300002
- Megens, A., & Kennis, E. (1996). Risperidone and related 5HT₂/D₂ antagonists: a new type of antipsychotic agent? *Pubmed*, 1(1). 10.1016/s0079-6468(08)70306-0
- Melo, L. (2018). *Síntesis y evaluación del efecto antinociceptivo de benzamidas piperidínicas y morfolinicas*. <http://riaa.uaem.mx/xmlui/handle/20.500.12055/420>
- Meltzer, H. (2012). Update on Typical and Atypical Antipsychotic Drugs. *Annual Review of Medicine*, 64, 393-406. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23020880/>
- Menacho, C. (2014). Modelos de regresión lineal con redes neuronales. *Anales Científicos*, 75(2). Reaxys. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7025156>
- Meng, X., Zhang, H., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7(2). PubMed. 10.2174/157340911795677602.
- Mir, S., & Mahmood, A. (2017). Molecular Docking: Approaches, Types, Applications and Basic Challenges. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*, 8(8).

<https://www.omicsonline.org/open-access/molecular-docking-approaches-types-applications-and-basic-challenges-2155-9872-1000356.php?aid=88070>

- Morales, E. (2019). *Modelamiento in silico de nuevos antagonistas del receptor de la angiotensina II (ARA-II) como potenciales fármacos teóricos para el tratamiento de la hipertensión* [Tesis].
- Moreno, A. (2017). *Regulación del transportador de dopamina por autorreceptores*. <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/6796/Regulacion%20del%20Transportador%20de%20Dopamina%20por%20autoreceptores..pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Nettleton, D. (2014). Selection of Variables and Factor Derivation. *Research Gate*. 10.1016/B978-0-12-416602-8.00006-6
- NIH. (2021). *La esquizofrenia*. <https://www.nimh.nih.gov/sites/default/files/documents/health/publications/espanol/la-esquizofrenia/21-mh-8082s-la-esquizofrenia.pdf>
- Önlü, S., Tugcu, G., & Türker, M. (2013). A QSAR Model for the Prediction of Drug Binding Affinities to Human Serum Albumin. *Research Gate*. https://www.researchgate.net/publication/308785661_A_QSAR_Model_for_the_Prediction_of_Drug_Binding_Affinities_to_Human_Serum_Albumin
- Ospino, I., Lans, I., Olivero, J., & Vivas, R. (2005). Modelo qsar para la predicción de los tiempos de vida media de bifenilos policlorados en humanos. *Vitae*, 12(1), 1. <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169815869006.pdf>
- Padron, A., Carrasco, R., & Pellon, F. (2001). Molecular Descriptor based on a molar refractivityu partion using Randic-type graph Theoretical invariant. *J Pharm Pharmaceut Sci*. [https://sites.ualberta.ca/~csps/JPPS5\(3\)/R.Carrasco/molecular.pdf](https://sites.ualberta.ca/~csps/JPPS5(3)/R.Carrasco/molecular.pdf)
- Peral, M., Balazuc, A., & Arranz, C. (2013). *Hipertension Arterial, Epidemiología, Fisiología, Fisiopatología, Diagnóstico y Tratamiento*. Hernán Gómez. saha.org.ar/formacion/libro
- PreADMET. (2015). *Toxicity – PreADMET | Prediction of ADME/Tox*. PreADMET. <https://preadmet.webservice.bmdrc.org/toxicity/>
- Pymol. (2017). PyMOL | pymol.org. <https://pymol.org/2/>
- Rabal, O. (2007). *Herramientas de cribado virtual aplicadas a inhibidores de tirosina quinasas. Contribución al desarrollo del programa PRALINS para el diseño de quimioteclas combinatorias*. <https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/9303/Torg3de4.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

- Rahman, S., & Marwaha, R. (2022, February 7). *Haloperidol* - StatPearls. NCBI. Retrieved April 15, 2022, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560892/>
- Rivera, J. (2015). ANTIPSICÓTICOS ATÍPICOS: EFECTOS ADVERSOS, SUPERVIVENCIA NEURONAL Y NEUROGÉNESIS. *REVISTA MEDICA DE COSTA RICA Y CENTROAMÉRICA*. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc2015/rmc152t.pdf>
- Saavedra, L. (2020). *Aplicaciones biológicas de la teoría qsar en el control del mosquito Aedes aegypti* L. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/100837/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Saiz, J., Sanchez, D., & Sanchez, P. (2010). Bases Neurobiológicas de la Esquizofrenia. *Clínica y salud*, 21(3). Scielo. https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-52742010000300004
- Servicio Mauriciano de Salud. (2009). Guia Practica Clinica para el tratamiento de la esquizofrenia En centros de Salud Mental. *Servicio Mauriciano de Salud*, 1(1), 1. https://portal.guiasalud.es/wp-content/uploads/2018/12/GPC_443_Esquizofrenia_Murcia.pdf
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., & Webster, F. X. (1998). *Spectrometric identification of organic compounds*. Wiley.
- Soporte Minitab18. (n.d.). *Interpretar todos los estadísticos para Regresión de mejores subconjuntos - Minitab*. Support. <https://support.minitab.com/es-mx/minitab/18/help-and-how-to/modeling-statistics/regression/how-to/best-subsets-regression/interpret-the-results/all-statistics/#r-sq-adj>
- *Spiperone* | C23H26FN3O2. (n.d.). PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Spiperone>
- Torres, A. (2020). *Nociceptores (receptores del dolor): definición y tipos*. Psicología y mente. <https://psicologiyamente.com/neurociencias/nociceptores>
- Velásquez, M., Drosos, J., Gueto, C., Marquez, J., & Vivas, R. (2013). Método acoplado Autodock–PM6 para seleccionar la mejor pose en estudios de acoplamiento molecular. *Revista colombiana de química*, 42(1). <http://www.scielo.org.co/pdf/rcq/v42n1/v42n1a07.pdf>
- WHO. (2022, January 10). *Schizophrenia*. WHO | World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schizophrenia>
- Zieba, A., Zuk, J., Bartuzi, D., & Matosiuk, D. (2019). The Universal 3D QSAR Model for Dopamine D2 Receptor Antagonists. *International Journal of Molecular Science*. <https://doi.org/10.3390/ijms20184555>