

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica



EVALUACIÓN *IN- SILICO* DE LA INTERACCIÓN FÁRMACO RECEPTOR ENTRE LA QUINURENINA AMINO TRANSFERASA II (KAT II) Y FÁRMACOS DERIVADOS DE LA (3S) -3-AMINO-1-HIDROXI-3,4- DIHIDROQUINOLIN-2 (1H) –ONA USADO EN EL TRATAMIENTO DE LA ESQUIZOFRENIA

*Tesis presentada por la Bachiller:
Justiniani Romero, Liliana Isabel
Para optar el Título Profesional de
Ingeniera Biotecnóloga*

Asesor: Dr. Gómez Valdez Badhin

**Arequipa-Perú
2018**

UNIVERSIDAD CATOLICA SANTA MARIA
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas
y Biotecnológicas
Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica

Expediente N°. 16002328
N° Trámite en Fac. 271-2016
Fecha Recep. Fac. 14-01-2016

FORMATO UNICO PARA TRAMITACIÓN DE TÍTULO PROFESIONAL

DE: **JUSTINIANI ROMERO, Liliana Isabel**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO BIOTECNOLOGO

"EVALUACION DE LAS PROPIEDADES TERMODINAMICAS INTRINSECAS DE LA INTERACCION FARMACO-RECEPTOR ENTRE LA QUINURENINA AMINO TRANSFERASA II (KAT II) Y EL INHIBIDOR (3S) -3- AMINO-1-HIDROXI-3,4-DIHIIDROQUINOLIN-2 (1H)-ONA Y SUS DERIVADOS EN EL TRATAMIENTO DE LA ESQUIZOFRENIA"

DICTAMINADORES: 1) **Dr. Jaime Cárdenas García** 2) **Dr. José Villanueva Salas**

DICTAMEN DE PLAN: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, el Jurado Dictaminador del Plan de Tesis informa que, hechas las observaciones y subsanadas las correcciones, consideramos se encuentra APTO para continuar con el trámite de acuerdo al Reglamento de Grados y Titulos de la Facultad

Atentamente

FIRMAS:

(Devolver antes de 8 días hábiles)

FECHA 25/1/16

ASESOR: **Dr. Badhin Gómez Valdez**

DICTAMEN ASESORÍA: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación se ha asesorado el presente Trabajo de Investigación y después de efectuadas las observaciones, considero que el título debe cambiar a: **"EVALUACION DE LAS PROPIEDADES INTRINSECAS DE LA INTERACCION FARMACO RECEPTOR ENTRE LA QUINURENINA AMINO TRANSFERASA II (KAT II) Y EL INHIBIDOR (3S)-3 AMINO-1-HIDROXI-3,4-DIHIIDROQUINOLIN-2 (1H)-ONA Y SUS DERIVADOS EN EL TRATAMIENTO DE LA ESQUIZOFRENIA"** y luego de verificado el cumplimiento de los objetivos y la redacción del informe con los resultados, discusión y conclusiones correspondientes considero se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Titulos de nuestra Facultad.

Atentamente

FIRMA

FECHA 20-12-17

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

- 1) **Dr. José Villanueva Salas** 3) **Mgter. Jaime Barreda del Carpio**
2) **Dr. Jaime Cárdenas García**

DICTAMEN FINAL: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación como Dictaminadores del Borrador de Tesis le manifestamos que: habiéndose concluido con el trabajo de investigación presentado por el recurrente, intitulado: **"EVALUACION in-silico DE LA INTERACCION FARMACO RECEPTOR ENTRE LA QUINURENINA AMINO TRANSFERASA II (KAT II) Y FARMACOS DERIVADOS DE LA (3S)-3 AMINO-1-HIDROXI-3,4-DIHIIDROQUINOLIN-2 (1H)-ONA USADO EN EL TRATAMIENTO DE LA ESQUIZOFRENIA"**; verificado el cumplimiento de los objetivos y la redacción del informe correspondiente, consideramos que se encuentra APTO para continuar con los tramites de acuerdo a lo estipulado en el Reglamento de Grados y Titulos de la Facultad.

Atentamente

FIRMA

(Devolver antes de 15 días hábiles) FECHA 12-03-2018

JURADOS: PRESIDENTE **Dr. José Villanueva Salas**
VOCAL **Dr. Jaime Cárdenas García**
SECRETARIO **Mgter. Jaime Barreda del Carpio**

FECHA

04/04/18

HORA

19.00

LOCAL

SUM C-402

FIRMA DEL DECANO

FECHA

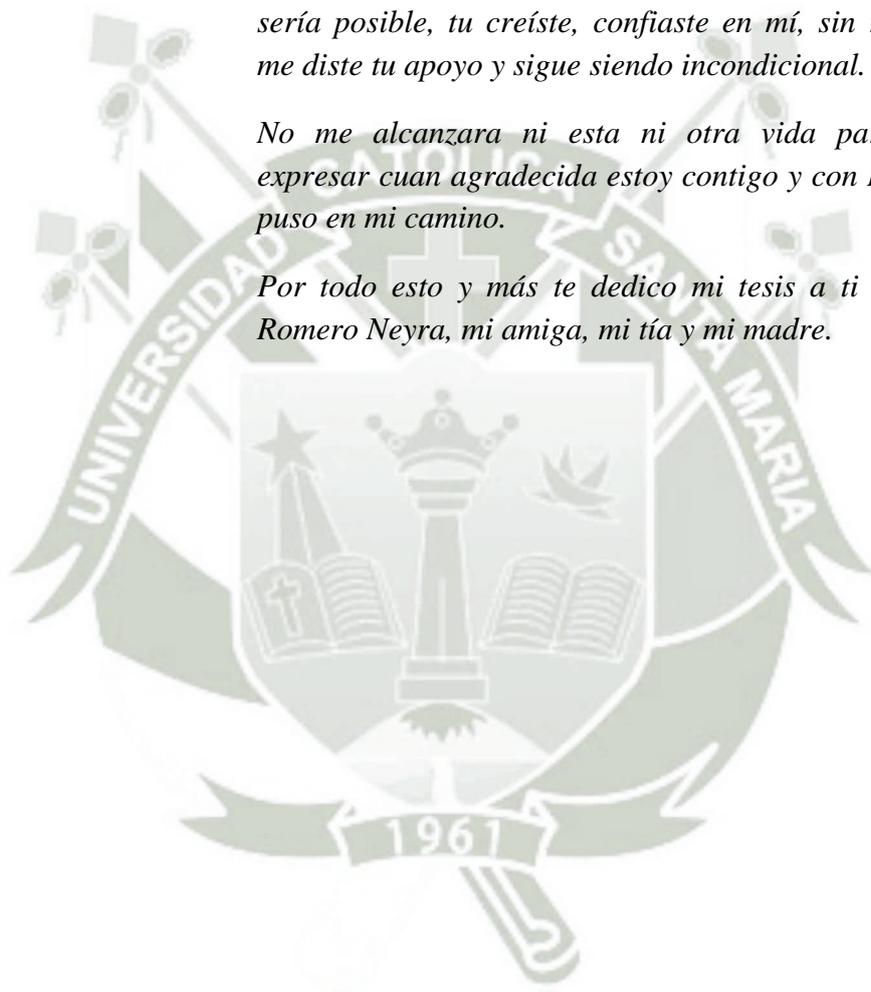
26/03/18

DEDICATORIA

Como hace algunos años lo prometí, sin ti nada de esto sería posible, tu creíste, confiaste en mí, sin recriminar, me diste tu apoyo y sigue siendo incondicional.

No me alcanzara ni esta ni otra vida para poderte expresar cuan agradecida estoy contigo y con Dios que te puso en mi camino.

Por todo esto y más te dedico mi tesis a ti Luz Mabel Romero Neyra, mi amiga, mi tía y mi madre.



AGRADECIMIENTOS

A Dios, ante todo, a la virgencita por guiar mi camino, a mi madre por estar siempre conmigo.

Quiero expresar mi inmensa gratitud y agradecimiento hacia Ph.D. Badhin, Ing. Haruna, Diego.V.

Y a todos ustedes por ser parte de esta travesía, por su apoyo incondicional, Maby, Jenny, Mama Edelmira, Rebeca, Juan, Jimmy, Richard, Sergio.D., Miriam.B. , y Ximena.R, Christian.Z, Rosana.R.

Quiero culminar esto diciendo que no encuentro palabras para expresarles mi eterno agradecimiento porque las palabras nunca alcanzan cuando lo que hay que decir viene del alma.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades mentales son poco estudiadas, aunque es innegable reconocer que hay avances médicos de gran magnitud en su estudio, la ignorancia de estas enfermedades en el común de la gente, hace que se aún más difícil diagnosticarlas y a esto se suma el prejuicio.

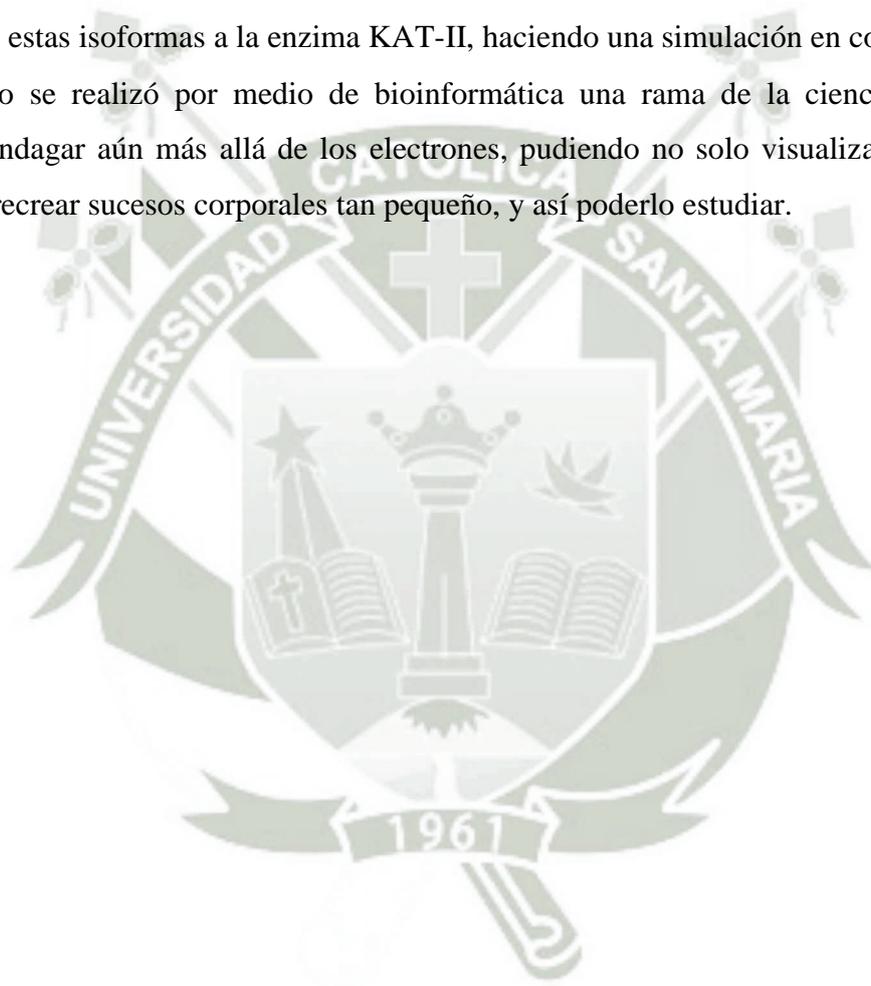
Una de estas enfermedades es la Esquizofrenia la cual es materia de estudio de la presente tesis, que si bien se conoce algo de ella, es sobre todo por los síntomas negativos que presenta, para aclarar es el comportamiento desorganizado de la persona y claro por lo que se les denomina coloquialmente como locos; pero tristemente es en esta etapa cuando recién y con suerte del que lo padece se les lleva al médico para su tardío diagnóstico, esto hace a la esquizofrenia aún más paradigmática por el hecho de que es en la edad temprana de la persona cuando ya padece de esquizofrenia, pero como aparentemente no presenta síntomas visuales no la diagnostican y esta avanza.

Si bien es cierto hay medicamentos para la enfermedad, pero hay que recalcar que solo tapan los síntomas visuales o negativos; no es hasta el siglo pasado que aparecen los medicamentos para la esquizofrenia, tras un duro camino de búsqueda y pruebas inhumanas se llega al primer medicamento, basado en un antihistamínico. La ruta bioquímica propuesta y que aún trasciende es la de la Vía dopaminérgica, los medicamentos hecho hasta el día de hoy son basados y modificados para esta vía.

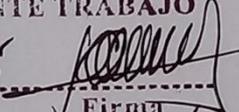
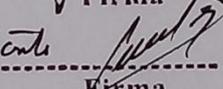
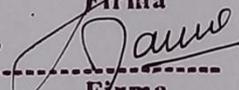
Siguiendo la línea de la historia, una de las corporaciones más grandes de diseño y creación de nuevos fármacos como es Pfizer , presto bastante interés en la Esquizofrenia tanto así que el Director crea una guía para la esquizofrenia en España ; no solo eso sino que diseña los primeros fármacos hace pocos años evocados a una ruta bioquímica diferente a la ya conocida, esta ruta es la Vía Glutamatérgica, esta vía al comienzo era prometedora, pero Pfizer no imaginaba cuan cerca estaba de hallar un fármaco que realmente sea eficaz en curar la esquizofrenia, ya que uno de los mayores desafíos son los efectos secundarios causados por los fármacos.

Pfizer crea la primera patente que inhibe a la enzima quinurenina aminotransferasa II (KAT-II) siendo esta la enzima que desencadena los estragos que causan la esquizofrenia, esta teoría de la Vía Glutamatérgica y KAT-II, toma más fuerza y sentido en los últimos años cuando descubren que varios genes de la esquizofrenia se encuentran presentes en esta vía; hasta este año Pfizer ya tiene la tercera generación de fármacos para esta vía en prueba.

Por esto el Centro de Investigación en Ingeniería Molecular (CIIM) diseña nuevas isoformas de este fármaco con distintos sustituyentes en mecánica cuántica, los cuales se trabajarán para adaptarlos en mecánica molecular, para evaluar la energética al acoplarse estas isoformas a la enzima KAT-II, haciendo una simulación en computador. Todo esto se realizó por medio de bioinformática una rama de la ciencia que nos permite indagar aún más allá de los electrones, pudiendo no solo visualizar, sino que también recrear sucesos corporales tan pequeño, y así poderlo estudiar.



**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
BIOTECNOLÓGICA****JURADO QUE APROBÓ EL PRESENTE TRABAJO**

1. Villanueva Salas, José 
Apellidos y Nombres Firma
2. Lardenas García, Jaime Dante 
Apellidos y Nombres Firma
3. Barreda Del Carpio, Jaime 
Apellidos y Nombres Firma

RESUMEN

En el presente estudio se pudo analizar la naturaleza de la interacción entre la quinurenina amino transferasa II (KAT-II) y 16 potenciales fármacos, logrando en primer término la generación de campos de fuerza necesarios para el inicio del estudio en fármacos, mediante adaptación al potencial tipo OPLSAA. Así mismo, tanto la proteína como los fármacos, fueron estabilizados mediante simulaciones de dinámica molecular, logrando determinar sus estructuras promedio en las zonas de equilibrio de las dinámicas moleculares en un ensamble canónico (NVT). El acoplamiento entre la KAT-II y los 16 fármacos y su posterior simulación de dinámica molecular, nos mostró que el fármaco, aunque reacciona directamente con el PLP, requiere de un ambiente adecuado para que la reacción se produzca, y ese ambiente en mayor o menor grado dependerá de los aminoácidos más cercanos, luego de evaluar los aminoácidos más cercanos se puede presumir que tienen comportamiento de enlaces reversibles, aunque los hallazgos se prestan para futuros estudios.

Palabras clave: Quinurenina aminotransferasa dos (KAT-II), Piridoxal-5-fosfato (PLP), Potencial optimizado para simulaciones líquidas (OPLS).

ABSTRACT

In the present study it was possible to analyze the nature of the interaction between kinurenine amino transferase II (KAT-II) and 16 potential drugs, achieving in the first place the generation of force fields necessary for the initiation of the study in drugs, by adapting to the Potential type OPLSAA. Likewise, both the protein and the drugs were stabilized by means of simulations of molecular dynamics, being able to determine their average structures in the equilibrium zones of the molecular dynamics in a canonical assembly (NVT). The coupling between the KAT-II and the 16 drugs and their subsequent simulation of molecular dynamics, showed us that the drug, although it reacts directly with the PLP, requires an adequate environment for the reaction to occur, and that environment in greater or lesser degree will depend on the nearest amino acids, after evaluating the closest amino acids it can be presumed that they have reversible linkage behavior, although the findings lend themselves to future studies.

Keywords: Kinurenine aminotransferase two (KAT-II), Pyridoxal-5-phosphate (PLP), Potential optimized for liquid simulations (OPLS).

CONTENIDO

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
INTRODUCCIÓN	IV
RESUMEN.....	VI
ABSTRACT	VII
CONTENIDO	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ÍNDICE DE TABLAS	XV
GLOSARIO	XVI
OBJETIVOS	XVIII
OBJETIVO GENERAL	XVIII
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	XVIII
HIPÓTESIS	XIX
CAPÍTULO I	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1 Enfermedades Mentales.....	1
1.2 Esquizofrenia	1
1.3 Incidencia de esquizofrenia en el mundo, Perú y Arequipa.....	2
1.4 Antecedentes Históricos de la Esquizofrenia.....	3
1.5 Epidemiología	4
1.6 Etiopatogenia	5
1.7 Etiología y Fisiopatología	7
1.7.1. Factores genéticos.....	8
1.7.2. Factores ambientales.....	9
1.7.3. Factores familiares y sociales	9
1. 8 Sintomatología de la Esquizofrenia	10

1.8.1 Síntomas positivos	10
1.8.2 Síntomas negativos	11
1.8.3 Síntomas cognitivos	11
1.9 Teoría de las Vías Involucradas en la Esquizofrenia	11
1.9.1 Vía Dopaminérgica	11
1.9.1.1 Dopamina	13
1.9.2 Vía Glutamatérgica	14
1.9.2.1 Glutamina	15
1.9.2.2 Enzima Quinurenina Amino Transferasa II	19
1.10 Psicofarmacología de la Esquizofrenia	26
1.11 Manejo Farmacológico de la Esquizofrenia	28
1.11.1 Fármacos aún en estudio para la vía glutamatérgica	29
1.11.2 Patente de Pfizer	29
1.11.3 PF-04859989	30
1.11.4 Diseño de fármacos y bioinformática	31
1.12 Mecanismo de Acción de los Agentes Antipsicóticos	32
1.12.1 Bloqueo de receptores dopaminérgicos (DA)	32
1.12.2 Bloqueo de receptores serotoninérgicos (5-HT)	34
1.12.3 Bloqueo de receptores colinérgicos (M)	34
1.12.4 Bloqueo de receptores α -adrenérgicos	34
1.12.5 Bloqueo de receptores histaminérgicos (H1)	34
1.12.6 Inhibidor de la KAT II:	35
1.13 Tratamiento	35
1.14 Abordaje Psicoterapéutico de la Esquizofrenia	36
1.15 Hospitalización	37
1.16 Métodos de la Química computacional	37
1.17 Mecánica molecular o Mecánica Clásica	38
1.17.1 Elementos de Mecánica Molecular	39
1.18 Campos de fuerza	41
1.18.1 El campo de fuerza opls-AA	42
1.19 Optimización de geometrías	42
1.20 Método del Descenso por Etapas	43
1.21 Método del Gradiente Conjugado	44
1.22 Ramachandran	44
1.22.1 Ángulo ψ (psi)	44
1.22.2 Ángulo ϕ (phi)	45
1.23 Minimización	45
1.24 Dinámica Molecular	46
1.25 Docking	46
1.26 RMSD	47
1.27 Condiciones Periódicas de Contorno	48

1.28 Modelamiento Estructural	48
CAPÍTULO II.....	49
MÉTODOS Y DETALLES COMPUTACIONALES	49
2.1 Detalles Computacionales.....	49
2.1.1 Equipo Computacional	49
2.2 Software.....	49
2.3 Modelamiento estructural de la enzima quinurenina aminotransferasa II (KAT-II)	51
2.4 Diseño estructural del fármaco y sus derivados	52
2.5 Simulación de Dinámica Molecular	58
2.6 Ensamblaje o “Docking”	59
CAPÍTULO III	61
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
3.1 Modelo estructural de KAT II	61
3.2 Modelo estructural para los 17 derivados del fármaco	68
3.3 Sistemas interactuantes.....	76
RECOMENDACIONES.....	100
BIBLIOGRAFÍAS	101
APÉNDICE A.....	111
APÉNDICE B.....	115

ÍNDICE DE FIGURAS

1.1. El mecanismo de acción de la dopamina es el mismo en casi todas las enfermedades mentales, sobre todo es igual de semejante con el Parkinson.....	13
1.2. Se observa la acción de un antipsicótico convencional el cual actúa sobre D2, mitigando síntomas positivos y la fase aguda, aunque tiene considerables efectos secundario.	14
1.3. La vía de quinurenina (KP) en la periferia y el sistema nervioso central (SNC). ⁶⁷	23
1.4. El mecanismo del ciclo catalítico KAT-2 humano. (I) PLP se une covalentemente a LYS263	25
1.5. La acetilcolina desempeña un papel positivo importante en la mediación de los efectos extrapiramidales de los antipsicóticos	34
1.6. Pasos para hacer una dinámica molecular los cuales están dados por número de átomos en una configuración inicial en condiciones de equilibrio, usando un esquema canónico NVT	41
2.1: Preparación de los formatos fasta en un editor de texto de las secuencias encontradas.	52
2.2: PF-04859989 en la estructura de rayos X del aducto KAT II-PLP con 7	53
2.3: Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-metil-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	54
2.4: Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-metoxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.	54
2.5: Fármaco (3S)-3,7-diamino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.	54
2.6: Fármaco (3S)-3-amino-1,7-dihidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona ..	54
2.7: Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-nitro-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.	55
2.8 Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-nitrilo-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.	
2.9: Fármaco (3S)-7-acetoxi-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.	55
2.10: Fármaco (3S)-3-amino-7-cloro-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.	55
2.11 Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-metil-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.	
2.12: Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-metoxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.	56
2.13 Fármaco (3S)-3,6-diamino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona	
2.14: Fármaco (3S)-3-amino-1,6-dihidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.	56
2.15 Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-nitro-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.	
2.16: Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-nitrilo-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.	57
2.17: Fármaco (3S)-6-acetoxi-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.	57
2.18: Fármaco (3S)-3-amino-6-cloro-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.	57
2.19 Comandos del programa Hex.	60
3.1: Búsqueda de la Enzima KAT-II en fuentes confiables como son PDB y NCBI. ...	62
3.2: Se hizo un alineamiento de los formatos fasta con el fin de conseguir la secuencia aminoacídica más completa.	63
3.3 Modificación de los aminoácidos en el visualizador Molden.....	64

3.4: Se visualizó en el programa Chimera 1.10.1 que la enzima no este fragmentada como inicialmente lo estaba.....	65
3.5: a) Enzima promedio después de la simulación en dinámica molecular. b) Grafica de la razón media cuadrática (RMSD) en la que se evaluó en un trayecto de tiempo de 200ns.....	66
3.6: La grafica de la energía de la enzima se mantiene en fluctuaciones constantes durante un rango de tiempo de 200ns.....	67
3.7: Mapeo de Ramachandran.....	67
3.8: Se debe declarar correctamente cada átomo, para que al momento de la dinámica el fármaco no se rompa como se ve en la imagen de la izquierda.....	69
3.9:a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Está constituido por 23 átomos, presenta estabilidad y equilibrio de acuerdo a su grafica de RMSD.....	70
3.10: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-7metil-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Fármaco con sustituyente metil en la posición 7 y su diagrama de RMSD.....	70
3.11: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-metoxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Fármaco con sustituyente metóxido en la posición 7, y su diagrama de RMSD.....	71
3.12: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3,7-diamino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	71
3.13Derivado del fármaco con sustituyente hidroxilo en la posición 7, y su diagrama de RMSD	
3.14: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-nitro-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	72
3.15: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-nitrilo-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Derivado del fármaco con sustituyente nitrilo en la posición 7, y su diagrama de RMSD.....	72
3.16:Derivado del fármaco con sustituyente acetoxilo en la posición 7, y su diagrama de RMSD	
3.17: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-7-cloro-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Derivado del fármaco con sustituyente cloro en la posición 7, y su diagrama de RMSD.....	73
3.18: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-metil-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Fármaco con sustituyente metil en la posición 6, y su diagrama de RMSD.....	73
3.19: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-metoxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Derivado del fármaco con sustituyente metoxilo en la posición 6, y su diagrama de RMSD.....	74
3.20: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3,6-diamino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Derivado del fármaco con sustituyente amino en la posición 6, y su diagrama de RMSD.....	74
3.21: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1,6-dihidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	74
3.22: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-nitro-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Fármaco con sustituyente nitro en la posición 6, y su diagrama de RMSD.....	75
3.23: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-nitrilo-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Fármaco con sustituyente nitrilo en la posición 6, y su diagrama de RMSD.....	75

3.24:	a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-6-acetoxi-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Fármaco con sustituyente acetoxilo en la posición 6, y su diagrama de RMSD.	75
3.25:	a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-6-cloro-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Fármaco con sustituyente cloro en la posición 6, y su diagrama de RMSD.	76
3.26	Imagen que muestra la superficie hidrofóbica (naranja) e hidrofílica (azul) de la enzima KATII acoplada a los fármacos.	77
3.27	Imagen que muestra la superficie de potencial electrostático, de color azul la región cargada positivamente y de color naranja región negativa, así mismo los ligandos que se ubican en los sitios activos.	77
3.28	Imagen del homodimero KATII en acoplamiento con los 17 fármacos.	78
3.29	Superficie del potencial electrostático del acoplamiento de los fármacos con el homodímero KATII.	79
3.30:	Acoplamiento del fármaco con la enzima KAT-II, estructura y RMSD.	81
3.31:	Acoplamiento del fármaco con el sustituyente metilo en posición 7 con la enzima KAT-II, su RMSD.	81
3.32:	Acoplamiento del fármaco con el sustituyente metoxilo en posición 7 con la enzima KAT-II y su RMSD.	82
3.33	Acoplamiento del fármaco con el sustituyente de amina en posición 7, su RMSD.	82
3.34:	Acoplamiento del fármaco con el sustituyente hidroxilo en posición 7 con la enzima KAT-II, su RMSD.	83
3.35:	Acoplamiento del fármaco con el sustituyente nitro en posición 7 con la enzima KAT-II, su RMSD.	83
3.36:	Acoplamiento del fármaco con el sustituyente ciano o nitrilo en posición 7 con la enzima KAT-II, su RMSD.	84
3.37:	Acoplamiento del fármaco con el sustituyente acetoxilo en posición 7 con la enzima KAT-II, su RMSD.	84
3.38:	Acoplamiento del fármaco con el sustituyente cloro en posición 7 con la enzima KAT-II, su RMSD.	85
3.39:	Acoplamiento del fármaco con el sustituyente metil en posición 6 con la enzima KAT-II, su RMSD.	85
3.40:	Acoplamiento del fármaco con el sustituyente metoxilo en posición 6 con la enzima KAT-II, su RMSD.	86
3.41:	Acoplamiento del fármaco con la sustituyente amina en posición 6 con la enzima KAT-II, su RMSD.	86
3.42:	Acoplamiento del fármaco con el sustituyente hidroxilo en posición 6 con la enzima KAT-II, su RMSD.	87
3.43:	Acoplamiento del fármaco con el sustituyente nitro en posición 6 con la enzima KAT-II, su RMSD.	87
3.44:	Acoplamiento del fármaco con el sustituyente ciano o nitrilo en posición 6 con la enzima KAT-II, su RMSD.	88
3.45:	Acoplamiento del fármaco con el sustituyente acetoxilo en posición 6 con la enzima KAT-II, su RMSD.	88
3.46:	Acoplamiento del fármaco con el sustituyente cloro en posición 6 con la enzima KAT-II, su RMSD.	89
3.47:	a) Potencial electrostático del sistema 1. b) Aminoácidos cercanos al ((3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona).	90

3.48: a) Potencial electrostático del sistema 2. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1-hidroxi-7metil-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	91
3.49: a) Potencial electrostático del sistema 3. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-metoxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	91
3.50: a) Potencial electrostático del sistema 4. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3,7-diamino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	92
3.51: a) Potencial electrostático del sistema 5. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1,7-dihidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	92
3.52: a) Potencial electrostático del sistema 6. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-nitro-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	93
3.53: a) Potencial electrostático del sistema 7. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-nitrilo-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	93
3.54: a) Potencial electrostático del sistema 8. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-7-acetoxi-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	94
3.55: a) Potencial electrostático del sistema 9. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-7-cloro-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	94
3.56: a) Potencial electrostático del sistema 10. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-metil-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	95
3.57: a) Potencial electrostático del sistema 11. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-metoxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	95
3.58: a) Potencial electrostático del sistema 12. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3,6-diamino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	96
3.59: a) Potencial electrostático del sistema 13. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1,6-dihidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	96
3.60: a) Potencial electrostático del sistema 14. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-nitro-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	97
3.61: a) Potencial electrostático del sistema 15. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-nitrilo-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	97
3.62: a) Potencial electrostático del sistema 16. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-6-acetoxi-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	98
3.63: a) Potencial electrostático del sistema 17. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-6-cloro-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.....	98
A.1: Archivo corriendo con los comandos necesarios para la simulación molecular..	111
A.2: Caja de simulación respectiva en el programa Molden, para ello se tomó en cuenta el tamaño de cada derivado del fármaco y de la enzima.....	112
A.3: Caja de simulación con el solvente explícito o interactuante moléculas de agua.....	113
A.3: Minimización de la energía con el archivo mínima el que contiene los datos necesarios como el tiempo de cálculo, para los grados de libertad del sistema y la topología.....	113
A.4: Archivo para realizar el NVT.....	114
B.1: Comandos para convertir de .xyz al .pdb.....	115
B.2: .pdb inicial sin modificación.....	115
B.3: .pdb inicial modificado.....	116
B.4: .Distancias entre cada átomo.....	117
B.5: .Declaración de cada enlace en el archivo ffbonded.....	118
B.6: Declaración de las cargas y masas en el archivo ffnobonded.....	119
B.7: Declaración de los ángulos en el archivo ffbonded.....	121
B.7: Declaración de los pesos atómicos en el archivo atomtype.....	120
B.8: Declaración de los diedros en el archivo ffbonded.....	122

ÍNDICE DE TABLAS

3.1. Energía para los diferentes sistemas acoplados, donde podemos observar que el mejor acoplamiento lo hacen los fármacos 3, 4 y 16-----	79
3.2. Energías de acoplamiento de la primera interacción del homodímero frente a 17 Fármacos-----	80
3.3. Distancias de los diferentes acoplamientos-----	89



GLOSARIO

1. OMS. *Organización Mundial De La Salud.*
2. NMDAR. *Receptor Acido-N-Metil-D-Aspartato.*
3. GABA. *Acido Gamma Aminobutírico.*
4. DA. *Dopamina.*
5. LCR. *Líquido Cefalorraquídeo.*
6. HVA. *Ácido Homovanílico.*
7. EPS. *Síntomas Extra Piramidales.*
8. SNC. *Sistema Nervioso Central.*
9. AMPA. *α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico.*
10. EAATs. *Transportadores De Aminoácidos Excitatorios.*
11. KAT. *Kinurenina Aminotransferasa.*
12. KYNA. *Ácido Quinurénico.*
13. PLP. *Piridoxal-5-Fosfato.*
14. KAT-II. *Kinurenina Aminotransferasa II.*
15. KP. *Vía De La Quinurenina.*
16. TDO. *Triptófano 2, 3-Dioxigenasa.*
17. IDO. *Indoleamine 2, 3-Dioxigenasa.*
18. HPA. *Glándula Suprarrenal Pituitario Hipotalámico.*
19. GR. *Glucocorticoides Intracelulares.*
20. KMO. *Quinurenina Monooxigenasa.*
21. KYNasa. *Quinureninasa.*
22. 3-HAO. *Ácido 3-Hidroxiantranílico 3, 4-Dioxigenasa.*
23. SAM. *Simpático Suprarrenal Medular.*
24. IFN. *Interferón.*
25. PMP. *Fosfato De Piridoxamina.*
26. LAAP. *Inyectable De Acción Prolongada.*
27. OAP. *Antipsicóticos Orales.*
28. PFC. *Corteza Prefrontal.*
29. FSI. *Parvalbúmina + Interneuronas.*
30. PYR. *Neuronas Piramidales.*
31. STR. *Neuronas Espinosas Medulares.*
32. SN. *Núcleo Cerebral.*
33. APD. *Neurolépticos.*
34. MD. *Dinámica Molecular.*
35. NVT. *Número De Átomos y Volumen Constante.*

36. PDB. *Protein Data Banck.*
37. NCBI. *Centro Nacional para la Información Biotecnológica.*
38. GROMACS. *Máquina de Groningen para Simulaciones Químicas.*
39. SAR. *Estructura-Actividad.*
40. NAD⁺. *nicotinamida adenina dinucleótido.*
41. OPLS. *Potencial optimizado para simulaciones líquidas.*



OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar las propiedades relacionadas a la interacción fármaco receptor KAT-II y 3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroxiquinolin-2-(1H)-ona y sus 17 derivados.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Buscar la estructura de la quinurenina aminotransferasa II (KAT-II) más completa, adaptar los 16 derivados de la 3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroxiquinolin-2-(1H)-ona de mecánica cuántica a mecánica molecular.
2. Optimizar la geometría de la estructura (KAT-II) y los 16 derivados de la 3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroxiquinolin-2-(1H)-ona en un formato *.pdb*.
3. Llevar al equilibrio cada sistema haciendo una minimización de sus energías y realizando una dinámica molecular.
4. Realizar un acoplamiento del receptor (KAT-II) y los 16 derivados de la 3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroxiquinolin-2-(1H)-ona, cada sistema en estado de equilibrio.

HIPÓTESIS

Mediante el uso de la Mecánica Molecular aplicado a sistemas biológicos es factible determinar las propiedades intrínsecas de la interacción fármaco - ligando entre la quinurenina aminotransferasa II (KAT-II) y el fármaco 3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroxiquinolin-2-(1H)-ona y sus 16 derivados.



CAPÍTULO I

Marco Teórico

1.1 Enfermedades Mentales

Según los datos estadísticos que nos brinda la OMS (Organización Mundial De La Salud) que son cifras alarmantes, nos dice que el 25% de la población mundial sufre de enfermedades mentales las cuales se presentan en cualquier etapa de la vida sean niños, jóvenes o adultos.¹ Las enfermedades mentales más frecuentes son la psicosis, el autismo, el estrés, la depresión, trastornos de desarrollo, bipolaridad, esquizofrenia.²

El trastorno bipolar y la esquizofrenia son enfermedades mentales consideradas de gravedad, por su compleja sintomatología y aparición, hace que sea de difícil diagnóstico y aun peor es difícil su control farmacológico que dificulta aún más su cura.³

1.2 Esquizofrenia

En un intento de responder a la simple pregunta ¿qué es la esquizofrenia? Nos damos cuenta de que, a pesar de ser un concepto de casi cien años de antigüedad, estamos todavía lejos de poder dar una definición concreta, precisa y unánime; se sabe que apenas ha habido, hasta años muy recientes, abordajes de otro tipo: bioquímico, neuroanatómico, neurofisiológico, etc.⁴

Sin duda, la teoría bioquímica actual más sólida para explicar la esquizofrenia es la teoría Glutamatérgica, a sabiendas que hace unos años fue la teoría Dopaminérgica para la cual fueron creados los fármacos aun usados.⁵

Se conoce que el inicio de la enfermedad con frecuencia no se reconoce como tal, y se denomina fase prodrómica, antes de la manifestación del primer episodio psicótico, la cual consiste en una disminución del funcionamiento cognitivo y social que

generalmente comienza en la adolescencia temprana, precediendo al inicio de los síntomas psicóticos por más de 10 años.

Sin embargo, los pacientes no suelen ir a consulta hasta que la psicosis se presente en la adolescencia tardía o edad adulta temprana. El resultado de la esquizofrenia puede ir desde la recuperación completa, hasta volverse crónica y en promedio, la esperanza de vida de las personas con el trastorno se reduce en 20 años en comparación con la población en general.⁶

1.3 Incidencia de esquizofrenia en el mundo, Perú y Arequipa

Tiene una gran repercusión tanto a nivel individual como familiar, produciendo un importante coste económico a la sociedad. Se estima que un 1% de la población mundial padece la enfermedad de este, 50% recibe tratamiento.³ Dentro del 2005 al 2016 se ha evaluado que los casos de esquizofrenia han incrementado en un 18% dato que nos brinda la Organización Mundial de la Salud (OMS).⁷

En nuestro país estudios realizados por el Instituto Especializado de Salud Mental Honorio Delgado - Hideyo Noguchi confirman que en Lima Metropolitana el 18,2% padece de enfermedades mentales, en la Sierra peruana es de 16,2% y en la Selva de 21,4%; estudios realizados por la Organización Mundial De La Salud (OMS) revelan que el Cuzco es el segundo lugar en el mundo en el que hay mayor violencia a la mujer luego de Etiopia, esto se atribuye a costumbres y a su cultura; en Ayacucho se evaluó que el 50% de la población sufre de enfermedades mentales y esto debido al terrorismo que fue muy marcado en esta zona.⁸

En Arequipa hay pocos estudios hechos a pacientes con esquizofrenia, pero uno de ellos es un Estudio clínico-descriptivo que se realizó en el Centro de Salud Mental Moisés Heresi, el cual dio como resultado que un 43% de los pacientes padece de trastorno de humor afectivo y un 11.2% padecen de la esquizofrenia, el trastorno esquizotípico y el trastorno de ideas delirantes.⁹

En un lenguaje clásico el término “esquizofrénico” se da con una intención ofensiva, despectiva del apelativo igualmente descalificador de “loco”.¹⁰ Es tan deplorable este estereotipo que tiene una relación muy estrecha con la evolución de los enfermos más graves o de aquellos que no tienen las posibilidades económicas de recibir el tratamiento, siendo también de difícil adaptación y trastornos de conducta que en excepcionales casos tienen una gran repercusión mediática y alarma social, las cuales

conforman un típico prejuicio compuesto por la incurabilidad, impredecibilidad, peligrosidad, etc., llevando a las actitudes de exclusión y rechazo.¹¹

1.4 Antecedentes Históricos de la Esquizofrenia

Habitualmente se solía conocer como locura, y data desde el año 1400 a.C., se tiene conocimiento que en la Grecia antigua tiene antecedentes de enfermos con esquizofrenia; también hay antecedentes en la India donde según sus creencias sugerían como esquizofrenia meditar y hacer uso de hechicería.¹²

Finalizando la Edad Antigua dejaron de creer que la esquizofrenia era cosa de brujería, siendo así que las alteraciones mentales pasaron a ser tomadas como enfermedades, considerándolo un gran progreso. Posteriormente, en la edad media a los enfermos mentales se les quemaba porque creían que su padecimiento era cosa de brujería; se maltrataba a los enfermos mentales y se les encerraba en prisiones.¹³ Durante la ilustración, forzosamente recluían a los que les daban como apelativo de locos sin razón, luego se crean las famosas casas de retiro, siendo sus creadores Pinel, siguiendo la línea de la historia crean como tratamiento las terapias de corte biológico. Otro tratamiento que dieron fue la electroconvulsiva o también llamado los comas insulínicos.¹⁴

Recién hasta mediados del siglo pasado aparecen los psicofármacos²⁷. Pero no es hasta el siglo XVIII cuando se la empieza a considerar como una enfermedad médica con entidad propia. En 1850 el psiquiatra francés Morel utiliza el término *démence précoce* para describir la aparición de síntomas de deterioro mental en un joven que no mostraba signos de perturbación.¹⁵

En la actualidad nos surge una pregunta que perdura aun sobre el origen y la sintomatología de la psiquiatría, se dice que en el inicio de la historia de la enfermedad dentro del siglo XIX y dentro de las corrientes somáticas y psíquicas se generan sucesivos avatares; hoy a nosotros nos mueve una situación en concreto ,que es comprender si en el transcurso del tiempo siempre existieron sintomatologías iguales o si es que han ido cambiando, o bien si su aparición es causada en la modernidad o difiere cualitativamente a como se había dado antes. Junto a esta teoría, se vinculará el surgimiento de la esquizofrenia con la modernidad.¹⁶

Hasta hace algún tiempo los pueblos occidentales compartían la idea de que, además de los dioses y los humanos, existían seres mitológicos ángeles o diablos, espíritus,

demonios (genios), que poseían a las personas, siendo que fueron considerados como reales y normales, no obstante, las comunidades científicas los fueron desplazando y creando otro concepto, considerándolos una fantasía y ficción.

En un sentido elocuente, Montaigne a partir de 1533-1592, fue elegido para la ocasión como exponente de una nueva forma de pensar expresando su apoyo a las doctrinas socráticas, exceptuando en lo que hace referencia a su relación con los “demonios”, que son generados por una creencia supersticiosa y superficial: «*Nada dijeron con tan gran trabajo en la vida de Sócrates como sus Éxtasis y diablurías*».

Una opinión más temprana es la expresada por Descartes dentro de los años 1596-1650, quien como se sabe genera un cambio revolucionario en nuestra racionalidad. Años después se sabe, según data su primera Meditación, que se encontraba preocupado por la presencia de genios malignos que por su astucia y artes oscuras se interponen en el curso del pensamiento.¹⁷

Ya en el siglo XX, Posner en 1982 propone dos tipos de conciencia, de tal forma que en la primera etapa de la enfermedad se presenta una conciencia de la actividad realizada realmente, mientras que la segunda estaría asociada a un proceso general inhibitorio o ficticio.¹⁸

Eugene Bleuler, da el nombre de la enfermedad acuñándolo como *Esquizofrenia*, haciendo una referencia que describe en términos generales como una enfermedad de “mente separada”, haciendo referencia a las funciones psíquicas que incluyen coordinación del pensamiento, afectos y comportamiento. Bleuler empleó la expresión «*trastorno básico*», no en sentido estricto, sino en el sentido de «*síntomas frecuentes característicos*», a diferencia de Kraepelin, quien usa un término distinto para esta patología, que es “demencia precoz”. Bleuler decía que las esquizofrenias podían ser diversas, siendo distintas entre ellas. Lo dicho por Bleuler guarda mucho sentido, porque los estudios de genética revelan la predisposición y susceptibilidad de los pacientes, agravándose su situación debido a estos factores ambientales.¹⁹

1.5 Epidemiología

La psicosis es parte del síndrome esquizofrénico, conocido como tal desde hace un siglo de antigüedad; aún hoy en día no deja de ser un problema. Existen equipos de científicos que se están encargando del estudio y la revisión de cada tipo de esquizofrenia para poder obtener una metodología global, grupos que hacen estas

investigaciones como los de Faris y Dunham; Roger Bastide o Raymond Cochrane, ya pasan del medio siglo de antigüedad en descifrar cada tipo complejo de esquizofrenia.²⁰

El Banco Mundial calcula que los trastornos neurológicos y psiquiátricos en el ámbito epidemiológico y psiquiátrico presenta un costo dentro del 12% de las enfermedades médicas, generando el 20% de gasto según la OMS.²¹

Los padecimientos neurológicos mediados por cada año de vida junto con la discapacidad representan el 13% de la carga de la enfermedad. El peor pronóstico de los trastornos psicóticos es el de la Esquizofrenia; por ocasionar en la disfunción en la mayoría de las funciones psicológicas a esto se le suma el hecho de que hay muy pocas formas de tratamiento de la enfermedad, por estos motivos se han dado 5 requisitos para el diagnóstico dados por Zubin un pionero en epidemiología de la Esquizofrenia, estos son:

- El Primero es la necesidad de un sistema de clasificación fiable y válida.
- El Segundo es la importancia de obtener muestras representativas.
- El Tercero es papel de los grupos de control.
- El Cuarto es la especificación de una serie exhaustiva de factores de riesgo.
- El quinto son las variables mediadoras se deben priorizar los estudios y así comprender la historia natural de la enfermedad.

Bromet genera una línea con principios básicos para la investigación epidemiológica de la esquizofrenia,⁴¹ siendo las siguientes:

Dar criterios operacionales que tengan inclusión y exclusión y que sean utilizados en estudios comparativos mejorando el panorama actual, gran cantidad de investigadores informa de sus resultados con esquemas diferentes. Por ser variado el diagnóstico algunos se centran más en los síntomas positivos y otros destacan en los síntomas negativos o también denominados nucleares, también se dedica un gran esfuerzo considerable al estudio para dar un diagnóstico más certero.²²

1.6 Etiopatogenia

La forma de comportarse y los trastornos se están volviendo en un problema en la salud del público cada vez más fuerte lo que ocasiona un alto costo a la sociedad y económicamente directa o indirecta al enfermo y a las familias en general.

La esquizofrenia es la enfermedad con el trastorno mental más fuerte que incapacita en el mundo, teniendo un porcentaje del 40 al 50% de las hospitalizaciones psiquiátricas, la

OMS en el año 2000 detalló que 45 millones de personas entre 15 años de edad a más edad, presentaron en algunas oportunidades cuadros esquizofrénicos y en el año 2002 se redujo esta cantidad a 25 millones de personas debido a que recibieron tratamiento.

El tratamiento en personas que padecen la enfermedad, genera cierta mejoría y reduce el deterioro personal y psicológico del que lo padece; teniendo en cuenta que el 40% de los enfermos no reciben ningún tipo de atención, siendo la esquizofrenia la segunda enfermedad con mayor uso del servicio de salud mental.

En América Latina los casos de esquizofrenia son menos abundantes que en otros continentes; el desarrollo de su investigación fue muy bajo a nivel de recursos materiales y financieros; que a diferencia de otras enfermedades cuentan con más presupuestos en los lugares donde se investiga sobre ellas, uno de los lugares donde estudian más sobre la esquizofrenia es México teniendo ventajas sobre la rehabilitación y tratamiento psicosocial también tienen acceso a los estudios neuropsicológico, además de exámenes biológicos como neurofisiológicos, neuropatológicos, genéticos y moleculares.²³

La esquizofrenia está relacionada con enfermedades neuropsiquiátricas que son omnipresentes de etiología incierta. Los estudios familiares y de adopción han indicado que los factores genéticos son determinantes en la susceptibilidad a la enfermedad y que estas enfermedades tienen un alto grado de heredabilidad. Por esta razón, se han realizado grandes esfuerzos dirigidos a la identificación de factores genéticos que estén asociados con estas enfermedades.

Mucho de estos esfuerzos se han centrado en las mutaciones con los receptores de dopamina y otros neurotransmisores, demostrando que son anormales en muchos individuos con estos trastornos. Los esfuerzos para identificar anomalías genéticas asociadas con la esquizofrenia se intensificaron con la finalización del proyecto de genoma humano en el año 2001. Desde entonces, numerosos estudios de ligamiento en todo el genoma se han realizado en un intento de identificar todos los genes asociados con este trastorno. Estos estudios han conducido a la identificación de un gran número de regiones cromosómicas con algún grado de asociación con susceptibilidad a la enfermedad. Sin embargo, ha habido diferencias y cierto grado de no replicación entre los estudios. La meta-análisis y estudios de replicación han identificado una serie de polimorfismos genéticos que tienen una asociación significativa con las enfermedades objeto de múltiples poblaciones.²⁴

La identificación de estos genes de interés ha sido importante para el desarrollo de nuevas hipótesis sobre la etiopatogenia de la esquizofrenia y ha abierto áreas fértiles para la investigación de estos trastornos, sin embargo, las razones de probabilidad asociados con estos polimorfismos son generalmente bajas y tienen escaso valor predictivo para los sujetos individuales, también, en este punto en el tiempo, estos hallazgos no han dado lugar a nuevas modalidades terapéuticas para la prevención y el tratamiento de estos trastornos. Existen más limitaciones al concepto de que los factores genéticos son los únicos determinantes de susceptibilidad a los trastornos psiquiátricos graves. Del mismo modo, los estudios indican un aumento de la frecuencia de la enfermedad esquizofrenia asociada con la temporada de los neonatales en zonas urbanas, hacinamiento, la inmigración, el hambre, las complicaciones obstétricas y la exposición a los gatos son difíciles de explicar por los efectos aislados de los genes individuales o vías genéticas.

Se han propuesto cambios epigenéticos tales como alteraciones en la metilación del ADN, y al azar o eventos 'estocásticos' relacionados con la expresión de genes para explicar la discordancia gemela monocigóticos y otros aspectos de la epidemiología de estas enfermedades, que son difíciles de explicar por factores genéticos mendelianos tradicionales. Sin embargo, hasta la fecha, la evidencia experimental para apoyar el papel de estos procesos ha sido deficiente. Debido a las limitaciones de los estudios genéticos, se ha renovado el interés en el estudio de los factores ambientales en la etiopatogenia de la esquizofrenia y trastornos relacionados. Este interés ha sido estimulado por un mayor reconocimiento que el efecto de diversos factores ambientales los cuales son modulados por los determinantes genéticos de susceptibilidad y que las interacciones entre genes y medio ambiente son operantes en muchas enfermedades humanas complejas.²⁵

1.7 Etiología y Fisiopatología

Los resultados de la investigación clínica y post mortem en la fisiología de la esquizofrenia junto con los avances en la neurociencia molecular y sistemas, cada vez más apuntan a una etiología compleja del desarrollo neurológico. Por ejemplo, ahora se estima que entre 6.000 y 12.000 polimorfismos de nucleótido único pueden contribuir al riesgo para la esquizofrenia. Luego de un estudio realizado a las moléculas, vías y circuitos, comprometidos en anomalías GABAérgicas implicadas en inhibir la interacción intraneuronal, siendo una de las teorías de mayor credibilidad y para las

cuales fueron creados los fármacos para la esquizofrenia, se tuvo mayor conocimiento de la existencia de otras vías como la glutamatérgica la cual nos habla de la interrupción de la señalización del glutamato a través de los antagonistas de NMDAR (receptor ácido-N-metil-D-aspartato) los que han dominado los recientes esfuerzos en el descubrimiento de nuevos fármacos.²⁶

Los recientes avances en nuestra comprensión de las vías intracelulares que vinculan la activación NMDAR con la expresión génica dependiente del uso y la neuroplasticidad de interneuronas, así como los estudios que relacionan NMDAR en las interneuronas a la conectividad funcional prometen proporcionar nuevos puntos de vista con respecto a las funciones cognitivas que están comprometidos en la esquizofrenia. Además de las hipótesis de neurotransmisores en la etiología de la esquizofrenia.

Una hipótesis vascular se ha elevado desde principios de los años noventa, Bleuler en su libro *demencia precoz o el Grupo de esquizofrenias* declaró que *"La fragilidad de los vasos sanguíneos que aparece en muchos esquizofrénicos, agudos y crónicos, parece indicar una verdadera patología vascular.* "Curiosamente, varias anomalías micro y macro vasculares con la participación de la vasculatura periférica y cerebral, han sido recientemente identificada por tener implicaciones directas en la fisiopatología de la esquizofrenia. La investigación reciente sugiere anomalías vasculares como marcadores específicos para el rastreo de la enfermedad, haciendo hincapié en la importancia de la participación vascular en etiopatogenia de la esquizofrenia.²⁷

1.7.1. Factores genéticos

La esquizofrenia es un trastorno mental compleja y fuertemente heredable, que también se asocia con disparadores de desarrollo-ambiental. A diferencia de la mayoría de las enfermedades diagnosticables similares a otros trastornos mentales, el diagnóstico se basa comúnmente en las evaluaciones psiquiátricas.²⁸ Recientemente, los enfoques genéticos y exigenticos a gran escala se han aplicado a la investigación con el objetivo de mejorar potencialmente el diagnóstico. El aumento de análisis computacional y algoritmos estadísticos aplicados pueden arrojar alguna luz sobre los mecanismos genéticos y epigenéticos complejas que contribuyen a la patogénesis. Teniendo conocimiento de los últimos avances en los factores de riesgo y diagnóstico moleculares. Enfoques como estos pueden llevar a una definición más precisa para ayudar en la creación de diagnósticos clínicos extensos y fiables con el potencial para el tratamiento personalizado. La esquizofrenia es un trastorno heterogéneo genético y

clínico. Factores de riesgo genético para la enfermedad pueden diferir entre los sexos o entre las familias con afectación múltiple en comparación con los casos sin antecedentes familiares. Además, los datos limitados apoyan una base genética para la variación en el inicio y la gravedad, pero los locis específicos no han sido identificados aún.²⁹

1.7.2. Factores ambientales

La evidencia implica factores ambientales en la patogénesis de diversos trastornos complejos del neurodesarrollo. A pesar de haberse identificado los productos químicos específicos ambientales que confieren riesgo para estos trastornos y los mecanismos por los cuales las sustancias químicas ambientales interactúan con las susceptibilidades genéticas para influir en los resultados adversos del desarrollo neurológico, aún existen vacíos significativos en nuestra comprensión de la etiología de la mayoría de los trastornos de neurodesarrollo.³⁰ Es probable que muchos productos químicos ambientales contribuyan a la etiología de los trastornos del neurodesarrollo, pero su influencia depende del sustrato genético del individuo. La investigación sobre la fisiopatología y genética de los trastornos del desarrollo neurológico puede informar a la identificación de factores de susceptibilidad ambiental que promueven los resultados adversos en el desarrollo del cerebro. Por el contrario, la comprensión de cómo la exposición a químicos de bajo nivel influye en los resultados moleculares, celulares y de comportamiento relacionados con los trastornos del neurodesarrollo proporcionará información sobre las interacciones gen-ambiente y posiblemente producir nuevas estrategias de intervención.³¹

1.7.3. Factores familiares y sociales

Muchos estudios han encontrado relaciones entre el funcionamiento social y el riesgo de suicidio en la esquizofrenia, sin embargo, los síntomas negativos y la falta de deseo de cercanía social pueden proporcionar una explicación para otros estudios que no han identificado relaciones entre el riesgo de suicidio y los indicadores de apoyo social, por ejemplo, el apoyo social, la pérdida reciente, etc. Podría ser que las diferencias individuales en los síntomas negativos y el deseo de afiliación social expliquen los resultados inconsistentes previos sobre el funcionamiento social y la ideación suicida entre los individuos con esquizofrenia. Los individuos con esquizofrenia que no desean la cercanía social o que han elevado los síntomas negativos pueden no experimentar el apoyo social como factor protector contra la ideación suicida, a pesar de ello las

personas con esquizofrenia que desean cercanía social o tienen pocos síntomas negativos pueden encontrar apoyo social para protegerse contra la ideación suicida (similar a los individuos sin esquizofrenia); estas interacciones aún no han sido investigadas.³² Como es evidente a partir de la literatura, el apoyo social y el funcionamiento se pueden definir de muchas maneras. De particular importancia para los individuos con esquizofrenia, el papel del funcionamiento social, se puede utilizar para capturar diversos aspectos de apoyo social, incluyendo la frecuencia de interacciones, tamaño de la red, y la proximidad de las relaciones, etc.³³

1. 8 Sintomatología de la Esquizofrenia

Se caracteriza principalmente por malestar, decaimiento, tristeza, sentimiento de culpa, su energía disminuye, soledad, pensamiento de muerte y de suicidio, constantes olvidos, tendencia a fracasar, tiene mentalidad desordenada, dificultad para concentrarse en las labores cotidianas. Afecta el funcionamiento social, laboral e interpersonal. A veces los síntomas depresivos van acompañados de delirios o alucinaciones coherentes con el estado de ánimo siendo el caso de “depresión psicótica”.⁴⁶

1.8.1 Síntomas positivos

Generalmente los pacientes pierden totalmente contacto con la realidad, esto no se podría dar en personas sanas, debido a que son comportamientos psicóticos.

Pueden presentar sintomatología y asintomatología ambos en el transcurso de la enfermedad, esto dependerá si el individuo está recibiendo o no tratamiento. Los síntomas positivos incluyen creer que ve, siente, huele, o escucha, algo que solo él puede percibir. El oír voces presenta el tipo de alucinación más común en la esquizofrenia. Escuchan voces las personas que padecen este trastorno, pudiendo oír que les advierten de un peligro, les hablan a cerca de su comportamiento, les puede ordenar hacer algo, también varias voces pueden hablarles a la misma vez, esto puede ocurrir mucho antes de que su familia, amigos o entorno lo note. El hecho de sentir que los tocan sin que nadie lo haga, oler aromas que nadie puede oler, ver personas u objetos irreales.⁴⁷ Los delirios se presentan como creencias falsas que no forman parte de la cultura de la persona y se mantienen firmes. Los enfermos creen que sus delirios son reales aún les digan y comprueben que no es así, también presentan comportamientos extraños como creer que sus vecinos los controlan por ondas magnéticas.⁶¹ Otro ejemplo

es que creen que las emisiones de radio transmiten su nombre en grande, que la gente de la televisión les envía mensajes, que son otra persona, como una figura histórica famosa, creen que todos tienen una conspiración contra ellos, que los espían, los acosan, y los confunden. Estas creencias se denominan “delirios de persecución”, experimentan nuevas situaciones añadiendo algo novedoso a su vida psicológica. Hay evidencia científica sobre las alucinaciones auditivas que serían alteraciones auditivas en el circuito neuronal del lóbulo temporal, la cual es una región del cerebro dedicada a la memoria, aprendizaje, y elaboración del lenguaje.⁴⁸

1.8.2 Síntomas negativos

Los síntomas negativos de la esquizofrenia se refieren a una pérdida o reducción de ciertos comportamientos u operaciones que usualmente se tienen, a menudo se agrupan en cinco áreas: aplanamiento afectivo, elogio, anteponía, aislamiento social y la abulia. En lugar de los síntomas negativos es muy baja dentro de los sistemas de diagnóstico para la esquizofrenia.⁴⁹

1.8.3 Síntomas cognitivos

Los síntomas cognitivos de la esquizofrenia son en gran medida resistentes al tratamiento actual, por lo tanto, son una carga de por vida de la enfermedad. Los estudios de los síntomas cognitivos se han centrado generalmente en la corteza pre frontal, debido a su importancia demostrada para la función ejecutiva y la memoria, se ha vuelto en un componente clave del déficit. El papel de los circuitos estriato-corticales y el propio estriado ha recibido mucha menos atención. Hoy en día se ha obtenido evidencia de larga data de que el estriado y sus conexiones corticales son críticos para la cognición compleja y discuten la evidencia emergente de la participación potencial del estriado en los síntomas cognitivos.⁵⁰

1.9 Teoría de las Vías Involucradas en la Esquizofrenia

1.9.1 Vía Dopaminérgica

La teoría dopaminérgica ha sido la más extendida durante muchos años, postulando la existencia de una hiperfunción del sistema de neurotransmisión mediado por la dopamina (DA). La acción común de todos los neurolépticos antagonizando los receptores dopamina D2 y la exacerbación e incluso inducción de síntomas psicóticos

con agonistas de la dopamina fueron los pilares fundamentales donde se asentó esta hipótesis.⁵¹

La búsqueda de una evidencia de ello se centró en un primer momento en la determinación de las concentraciones de dopamina y sus metabolitos en orina, plasma, líquido céfalo-raquídeo (LCR) o tejido cerebral. La mayoría de los estudios que han determinado en plasma ácido homovanílico (HVA), que es el principal metabolito de la dopamina, han encontrado niveles elevados en enfermos con esquizofrenia no medicados, produciéndose una disminución con la mejoría clínica. Sin embargo, es bastante dudoso que las concentraciones de plasma ácido homovanílico (HVA) en plasma reflejen la actividad en áreas como el sistema límbico, sino más bien de regiones subcorticales.⁴⁵ La determinación de en plasma ácido homovanílico (HVA) en líquido céfalo-raquídeo (LCR) no ha aportado evidencia de un aumento de la dopamina en la esquizofrenia, algunos estudios realizados con enfermos no medicados han encontrado una correlación negativa entre estos niveles y los síntomas negativos y la dilatación ventricular, sugiriendo la existencia de una hipoactividad dopaminérgica pre frontal e hiperactividad subcortical. Además, los estudios postmortem han encontrado aumentos de dopamina sin observar diferencias en plasma ácido homovanílico (HVA) con respecto a los controles hechos. Es posible que las elevaciones del plasma ácido homovanílico (HVA) encontradas en algunos estudios sean consecuencia de la exposición crónica a neurolépticos ya que en pacientes no medicados no se han podido observar. El hallazgo de un aumento en la densidad de receptores dopaminaD2 en el estriado es también uno de los más contrastados en la esquizofrenia, sin embargo, permanece por aclarar si lo es enteramente debido al tratamiento neuroléptico o puede que esté relacionado con el proceso de la enfermedad.⁵⁷

Las modernas técnicas de neuroimagen permiten evaluar el estado de estos receptores *in vivo*, si bien los resultados han sido contradictorios; una de las posibles razones puede estar en la utilización de diferentes ligados que presentan una afinidad distinta por los subtipos de receptores de la dopamina. Un estudio postmortem realizado por Seeman y Cols, confirma esta posibilidad al utilizar dos ligados distintos con afinidad por las distintas dopaminas D2, D3 y D4 con baja afinidad por el D4. Los resultados fueron muy distintos, deduciendo la existencia de un aumento de la densidad de los receptores D4 en la esquizofrenia. Así, el receptor D4, presente en abundancia en el neocórtex y regiones límbicas, puede jugar un importante papel en la fisiopatología de la esquizofrenia, sobre todo teniendo en cuenta la alta afinidad que presenta por este

receptor la clozapina. Por el contrario, los antagonistas del receptor D4 no han podido demostrar su eficacia.⁵²

Otro candidato es el receptor D3, el cual se ha relacionado con los síntomas negativos al observarse una cierta estimulación de la conducta con fármacos antagonistas.

Se puede concluir diciendo que la teoría dopaminérgica hoy en día no puede ser sostenida de la misma forma en que fue formulada hace años. Un nuevo enfoque sobre la misma teoría, establecería una hipoactividad de la dopamina (DA) en la corteza pre frontal, responsable de los síntomas negativos, y una hiperactividad dopaminérgica mesolímbica que provocaría los síntomas positivos.⁵³ Se observa en la Figura 1.1

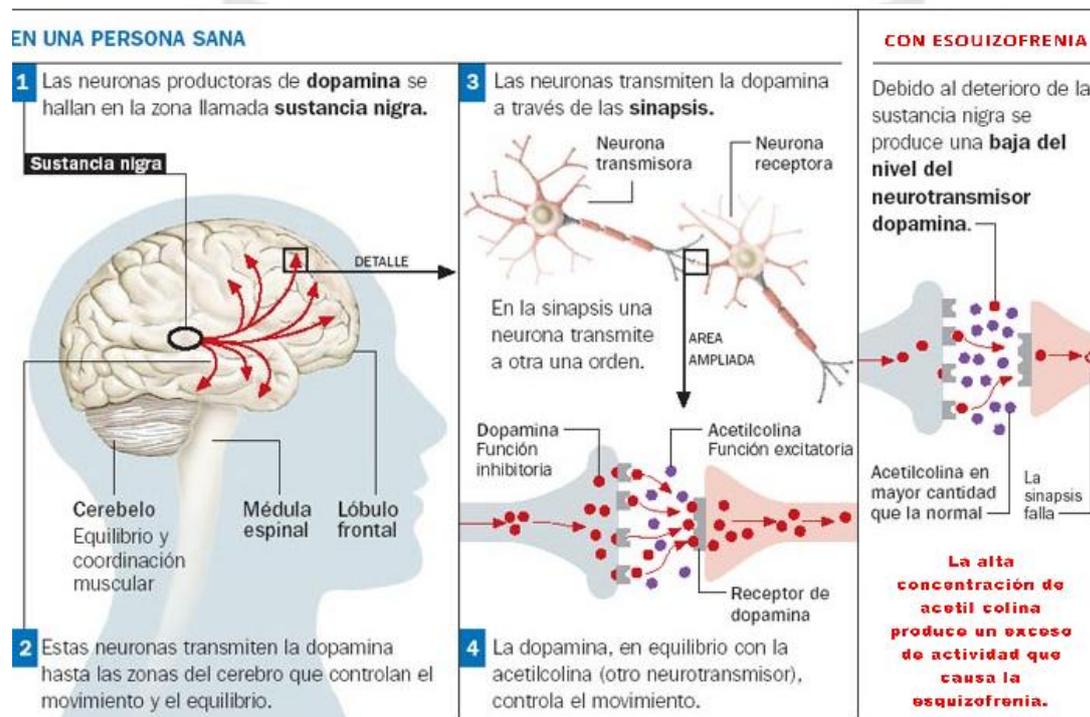


Figura 1.1. El mecanismo de acción de la dopamina es el mismo en casi todas las enfermedades mentales, sobre todo es igual de semejante con el Parkinson porque al haber un desequilibrio entre dopamina y acetilcolina, se generan los síntomas positivos como paranoia, y alucinaciones, a los que se denominan síntomas esquizofrénicos.⁵⁴

1.9.1.1 Dopamina

Los antipsicóticos ejercen sus efectos, principalmente, mediante el bloqueo de la dopamina, entre los receptores D2 y 3R. El envejecimiento se asocia con el aumento de los efectos adversos de los antipsicóticos, incluyendo síntomas extra piramidales (EPS). La disminución en el cuerpo estriado de D2 y 3R se encuentra ligado con la edad, que puede ser también influenciada por la vida, por el medio ambiente o la historia médica, varios de los estudios de imagen cerebral in vivo sugieren que la disponibilidad de D2 y

3R disminuye con la edad en los seres humanos sanos.⁴⁴ No está claro cuánto es necesario para mantener este umbral de la dopamina el bloqueo del receptor D2, a fin de mantener la respuesta clínica. De hecho, los datos clínicos recientes han cuestionado el umbral convencional de la dopamina, sin embargo, cabe señalar que estas observaciones se derivan de los datos transversales y un ensayo clínico prospectivo sin ninguna medición o estimación de la dopamina D2 que es el bloqueo del receptor. Hasta la fecha, esto todavía no ha sido probado de forma prospectiva, teniendo en cuenta la dopamina D2 y la ocupación del receptor, dado que las técnicas de imagen cerebral no están ampliamente disponibles, se han establecido modelos para estimar los niveles de dopamina D2.⁵⁵ Existen fármacos dirigidos a receptores de dopamina (DA) que han sido la piedra angular del tratamiento farmacológico en la esquizofrenia desde hace más de medio siglo, hasta la fecha, todos los fármacos antipsicóticos aprobados se dirigen a los receptores D2 (D2R) y aunque estos agentes pueden reducir los síntomas positivos, la mejora de la función cognitiva, si existe es modesta y difícil de disociar de otros efectos de los medicamentos.

La esquizofrenia implica una disfunción profunda de la reciente evolución implicando la corteza pre frontal, dorso lateral (córtex pre frontal dorso lateral). En la siguiente Figura 1.2 se aprecia el mecanismo de acción de un antipsicótico convencional.

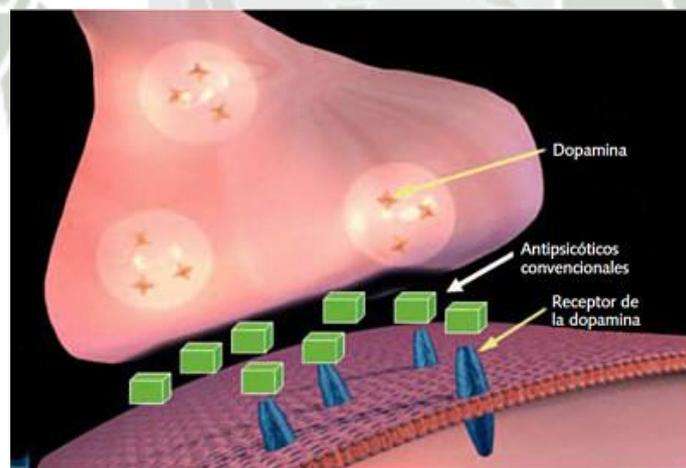


Figura 1.2. Se observa la acción de un antipsicótico convencional el cual actúa sobre D2, mitigando síntomas positivos y la fase aguda, aunque tiene considerables efectos secundario.⁵⁶

1.9.2 Vía Glutamatérgica

En la actualidad, la hipótesis dopaminérgica de la esquizofrenia se encuentra compitiendo fuertemente con la idea de que la esquizofrenia es una consecuencia de la disminución del glutamato, ligada a la función del receptor NMDA. Esta hipofunción

podría ser el evento inicial responsable de los cambios en la actividad de las vías dopaminérgica, que están implicadas en síntomas negativos.

Debe tenerse en cuenta que la teoría dopaminérgica desde hace décadas ha sido la principal hipótesis que explica la fisiopatología de los síntomas de la esquizofrenia.

No está claro si el exceso de actividad dopaminérgica es la causa primaria en la fisiopatología de la psicosis o la dopamina se debe a un desarrollo neurológico anterior o Alteraciones.

Ahora se postula que la teoría glutamatérgica puede estar implicada en la patogénesis de la esquizofrenia, y que la disfunción del sistema puede resultar en un aumento de la actividad dopaminérgica mesolímbica y disminuye la actividad meso cortical.⁵⁸

1.9.2.1 Glutamina

El ácido glutámico o glutamato junto con el aspartato, constituyen los dos aminoácidos excitatorios del sistema nervioso central (SNC); los cuales se oponen a las acciones de GABA (Ácido gamma-aminobutírico) el cual es un neurotransmisor ampliamente distribuido en neuronas de la corteza cerebral. El glutamato se encuentra en tres compartimentos: neuronas presinápticas, neuronas postsinápticas, y glía, que han servido para caracterizar los llamados "Sinapsis tripartita de glutamato", resaltando la glándula neuronal-glial que integra la sinapsis y libera el glutamato, y es desactivado por diferentes receptores de glutamato y transportadores de aminoácidos. El glutamato se sintetiza por desaminación de glutamina glutaminasa, o por transamina-alfa cetoácidos en el ciclo de Krebs, como cetoglutarato alfa, que es producido por la aminación de aspartato antes de que se convierta en glutamato. El esqueleto de carbono del aspartato desaminado es convertido en oxalacetato medio mediado por la reacción de la transaminasa. Una tercera vía de producción de glutamato se debe a la aminación directa de alfa-cetoglutarato, siendo una reacción catalizada por glutamato deshidrogenasa. El ácido glutámico se almacena en las vesículas que se liberan posteriormente en el espacio intercelular, donde actúan sobre receptores específicos, hay dos tipos de receptores de glutamato:

Receptores metabotrópicos (mGluR) y receptores ionotrópicos; los (mGluR) se subdividen en tres grupos (I, II y III) que se distinguen por homología de secuencia farmacología, y sistemas de segundo mensajero.

El grupo metabotrópico I tiene Receptores (mGluR1 y mGluR5) que son predominantemente postsinápticos en las zonas somatodendríticas, y se unen a Gq / G11 a fosfolipasa C, mientras que el grupo II (mGluR2 y mGluR3) y el grupo III (mGluR4, mGluR6, mGluR7 y mGluR8) son los receptores metabotrópicos que se unen a través de Gi / G0, inhibiendo la adenilato ciclasa, y son principalmente presinápticos en Terminales y axones, donde modulan y liberan el neurotransmisor.

Ha habido mucha especulación acerca de las posibles funciones de los receptores metabotrópicos, que pueden ser siguiendo:

- mGluR2 modula preferentemente el tálamo-cortical que se encuentra relacionado con la atención y la activación.
- mGluR2 y mGluR3, que se encuentran en la corteza prefrontal y el hipocampo, pueden desempeñar un papel importante en la plasticidad subyacente en los procesos de aprendizaje y memoria.
- mGluR5 modula las corrientes iónicas acopladas a los receptores de NMDA.

Los receptores ionotrópicos también se dividen en tres grupos: AMPA, kainato y NMDA, correspondientes a iones heterómeros formados por múltiples subunidades proteicas, cuando se activan los receptores ionotrópicos producen conductividad y permeabilidad diferencial a Na^+ y Ca^{2+} dependiendo del tipo de receptor y de la composición de la subunidad. La activación de los receptores NMDA en el cerebro adulto generalmente conduce a un aumento de la conductancia de Ca^{2+} , mientras que la activación de kainato produce un aumento de la conductancia de Na^+ .

Los receptores AMPA expresados como GABAérgicos en las interneuronas del hipocampo y la amígdala parecen carecer de la subunidad GluR2 y muestran preferencia por la conductividad de Ca^{2+} mientras que los receptores AMPA (α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico) en las neuronas no son permeables a Ca^{2+} , después de actuar sobre los receptores específicos, el glutamato sirve como distintos tipos de transportadores, incluso transportadores situados en neuronas no glutamatérgicas, y puede ser liberado por las neuronas monoaminérgicas.

Dos tipos de Recaptación se han identificado:

- Como resultado de la reabsorción glial, la glutamina se forma en glía y se almacena como una reserva en las mitocondrias de la primera neurona, a partir de ahí, el ácido alfa-cetoglutarico atraviesa la membrana mitocondrial y se vuelve parte del ciclo de glutamina, que tiene función de producir energía neuronal.

El glutamato se metaboliza en las células gliales de la glutamina, mediada por glutamina sintetasa; el aspartato está formado por una transaminasa que actúa como aminato oxalacetato por transaminación del grupo amino de Glutamato (otra forma de descomposición del glutamato). El carbono del glutamato se convierte en α -cetoglutarato.

- Mediante la recaptura presináptica, el glutamato vuelve a entrar a través de una bomba Na / K, pero una porción de lo que es capturado regresa a través de la hendidura por un proceso de la recaptación inversa y la acción de una bomba K / Na, con liberación sustancial de radicales libres.⁵⁹

Los transportadores de aminoácidos excitatorios (EAATs) son de alta afinidad transportadores de glutamato, que regulan la concentración extracelular de glutamato en el cerebro de los vertebrados y en la retina. El transporte de glutamato es un proceso electrógeno impulsado por el co-transporte de un hidrógeno y el co-transporte de un ion potasio, además de la conductancia de un cloruro desacoplado, cuya magnitud difiere entre EAATs, y se asocia con el transporte de glutamato. Esta conductancia del cloruro puede modular el potencial de membrana celular en la foto receptores que poseen sinapsis altamente especializada, donde las vesículas están atadas para proporcionar la liberación de glutamato.

En contraste con las sinapsis de nonribbon, donde la despolarización del terminal presináptico induce la liberación de unas pocas vesículas de neurotransmisor, sinapsis de cinta cónica permite la liberación simultánea de cientos de vesículas. Esto puede resultar en concentraciones excepcionalmente altas de glutamato dentro de la sinapsis, haciendo una absorción eficiente de glutamato, las capacidades esenciales para garantizar una relación señal / ruido óptimo además de finalizar con precisión una señal, y prevenir la neurotoxicidad.

Como consecuencia, los EAATs están altamente expresados en la retina, en mamíferos, se realiza la captación principal de glutamato retiniano por células de glía de Müller a través de EAAT1.⁶⁰

Disfunción del receptor de NMDA como punto de convergencia para la esquizofrenia los NMDAR son un tipo de receptor para el neurotransmisor glutamato, que es el principal neurotransmisor excitador en el cerebro.

El glutamato representa el 100% de las neuronas piramidales, virtualmente toda la neurotransmisión cortico-cortical y aproximadamente el 60% del total del cerebro y las

Neuronas, el glutamato media sus efectos neurofisiológicos tanto a través de canales ionotrópicos como Metabotrópicos.

Los receptores ionotrópicos, que están ligados a estos canales, incluyen receptores de tipo NMDA-, AMPA- y kainato de acuerdo con la sensibilidad diferencial a estos análogos de glutamato sintéticos. Los receptores metabotrópicos son divididos en grupos de acuerdo con sistemas de segundo mensajero, con receptores del Grupo I (mGluR) positivamente unidos a la fosfolipasa C, y el Grupo II (mGluR2/3) y el Grupo III (mGluR4) negativamente ligado a la adenilciclase.

En general, los receptores del Grupo I potencian la función del glutamato, particularmente en NMDAR, mientras que el Grupo II /III inhiben la liberación y función presináptica del glutamato aunque la disfunción NMDAR puede deberse, en parte, a alteraciones de la función glutamatérgica en general, no todas las perturbaciones glutamatérgicas dan lugar a síntomas clínicos similares a la esquizofrenia.

Por ejemplo, las reducciones de los niveles totales de glutamato en el cerebro, como ocurre en la insuficiencia hepática, conduce a un estado encefalopático que no se asemeja a los trastornos psiquiátrico estándar, del mismo modo, el síndrome de X frágil se asocia con un péptido que modula los receptores mGluR5, este proceso fisiopatológico produce un estado clínico caracterizado por retraso mental y características autistas, pero no psicosis que es una cuestión crítica con respecto a los modelos glutamatérgicas de la esquizofrenia, por lo tanto, es cómo y por qué la especificidad en los síndromes clínicos, dada la relativa falta de especificidad de muchos de los factores genéticos y ambientales que actualmente se consideran factores de riesgo para el trastorno.

Especificidad del síndrome clínico una característica atractiva del modelo DA de la esquizofrenia fue que ofrecía un potencial de especificidad anatómica para explicar la especificidad de las características del déficit neuropsicológico en la esquizofrenia. Los sistemas dopaminérgicos se proyectan Striatal, frontal y límbico, lo que conduce al concepto general de que la especificidad puede ser relacionados con la disfunción localizada dentro de esas regiones, y la función preservada en otros lugares. En General el modelo de DA no ha sido capaz de tener en cuenta déficit cognitivo visto en la esquizofrenia. El modelo NMDA ofrece una forma alternativa de especificidad basada en el procesamiento neural, aunque NMDAR se distribuyen difusamente a través del cerebro, dentro de cada región del cerebro, los receptores de NMDAR participan en sólo un subconjunto de los procesos neuronales, lo específico es el acoplamiento de

NMDAR en un subconjunto de procesamiento que es transmitido por características únicas del receptor, de los cuales cuatro son los más destacados: la dependencia de voltaje, permeabilidad al calcio, cinética y complejos procesos moduladores, estas propiedades de NMDAR sugieren así que, a nivel molecular, los procesos que dependen de estos aspectos de la función NMDAR se deterioran, mientras que los procesos que no dependen de estos tipos quedan intactos. A nivel etiológico, se han encontrado vínculos con la esquizofrenia para los genes NMDAR (GRIN1 y GRIN2B), con apoyo limitado para los polimorfismos que afectan a otras subunidades.⁶¹

1.9.2.2 Enzima Quinurenina Amino Transferasa II

Las isoenzimas de kinurenina aminotransferasa (KAT), son biológicamente activas como homodímeros, pertenecen a la familia de enzimas dependientes de PLP (piridoxal-5'-fosfato).

El PLP está unida covalentemente al residuo de lisina de la enzima a través del enlace trans-aldimina de la base de Schiff, estas enzimas producen un compuesto neuroactivo crucial, el ácido quinurénico (KYNA), a través de una transaminación irreversible de un metabolito a lo largo de la vía catabólica de triptófano, llamado kinurenina (KYN).⁶²

Las enzimas realizan su función en sus sitios activos, que está en la hendidura de la interfaz del dímero, también requieren un α - cetoácido como co - sustrato (que proporciona el aceptor del grupo amino en la etapa de regeneración de PLP) y PLP como un cofactor. La conversión de KYN a KYNA consiste en dos pasos distintos. En el primer paso KATs catalizar KYN a un intermedio inestable, y en la siguiente etapa, el producto intermedio forma KYNA a través de una rápida reacción de ciclación.

La causa de los déficits cognitivos observados en los pacientes con esquizofrenia sigue siendo desconocida, pero podría estar relacionado con niveles anormalmente altos del ácido quinurénico (KYNA), un metabolito neuroinhibidor de la vía de kinurenina en la degradación del triptófano.

KYNA es un potente modulador negativo de la $\alpha 7$ el receptor nicotínico de acetilcolina y un antagonista del sitio co-agonista de glicina del receptor de N-metil-D-aspartato (NMDAR), y sus niveles están elevados en el tejido cerebral post mortem e independientemente de la medicación antipsicótica practicada en roedores, incluso relativamente modesta, incrementa agudamente a KYNA reduciendo notablemente los niveles extracelulares basales de glutamato y dopamina en la corteza prefrontal (PFC).

En línea con estos procesos neuroquímicos y efectos electrofisiológicos la elevación aguda de los niveles de KYNA en adultos o las elevaciones de KYNA durante los períodos sensibles de desarrollo, causan déficits cognitivos que se asemejan a los vistos en las personas con esquizofrenia, incluida la disminución de la flexibilidad cognitiva, la memoria de trabajo espacial y la evitación condicionada.⁶³

En las últimas décadas, sin embargo, ha quedado claro que la dopamina es parte de la historia y que las principales anomalías se encuentran en el modelo de disfunción glutamatérgicas, que ha suscitado un creciente interés, y el origen de esta teoría radica en el descubrimiento de que los antagonistas del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) como la fenciclidina (PCP) y antagonistas en el sitio de glicina del receptor NMDA, producen tanto síntomas positivos como negativos así como los déficits cognitivos en el hombre.

La hipótesis del ácido quinurénico de la esquizofrenia se basa en el hecho de que el ácido quinurénico es un derivado natural derivado de los astrocitos que son antagonista en el cerebro humano NMDA- y alfa7 nicotínico-(A7nACh) está apoyada por estudios que muestran que los pacientes con esquizofrenia muestran niveles elevados de ácido quinurénico en el líquido cefalorraquídeo y en la corteza prefrontal postmortem.

El ácido quinurénico es un metabolito neuroprotector de la vía kinurenina y de la degradación del triptófano, sugiere que el aumento de la concentración de ácido quinurénico altera los sistemas glutamatérgicos y colinérgicos, e indirectamente, en la señalización dopaminérgica, dando lugar a los síntomas de la esquizofrenia.

En la otra, rama neurotóxica de la vía, se produce el ácido quinolínico, en gran parte sintetizado en la microglia, que es un agonista del receptor NMDA, los informes iniciales sobre el aumento del ácido quinurénico en 2001 que han sido confirmados por estudios cefalorraquídeos post mortem, mostrando niveles elevados de ácido quinurénico en pacientes tratados, así como en pacientes sin esquizofrenia, además, la kinurenina es el precursor del ácido quinurénico, es también elevado tanto en el líquido cefalorraquídeo como en las regiones cerebrales corticales.

La rama neurotóxica de la vía de la quinurenina parece no ser afectada desde el ácido quinurénico porque se encuentra a niveles normales en el líquido cefalorraquídeo y 3-Hidroxiquinurenina (3-HK) no se alteran en la autopsia del cerebro.⁶⁴

El ácido quinurénico (KYNA) es un metabolito del triptófano y un componente de la vía de la quinurenina que se libera de los astrocitos y actúa principalmente como un

antagonista no competitivo en el sitio de reconocimiento de la glicina insensible a la estricnina del receptor NMDA, adicionalmente, KYNA bloquea el receptor de acetilcolina nicotínico $\alpha 7$ (nAChR) a concentraciones micromolares igualmente bajas. Se han documentado niveles elevados de KYNA en el cerebro y en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con esquizofrenia y otros trastornos cerebrales y se supone que contribuyen a las alteraciones cognitivas, principalmente por interferir con la neurotransmisión del glutamato.

Los mecanismos patológicos que conducen a niveles elevados de KYNA en el cerebro no están claros, pero probablemente están asociados con procesos neuroinflamatorios centrales y periféricos, las consecuencias perjudiciales de los niveles elevados de KYNA en la neurotransmisión glutamatérgica y en los procesos cognitivos y de comportamiento han sido ampliamente demostrados en animales con niveles elevados de KYNA en el cerebro, producidos por la administración del precursor L-quinurenina. Estos hallazgos han sugerido que los fármacos que reducen los niveles de KYNA en el cerebro pueden beneficiar la función cognitiva en una amplia gama de grupos de pacientes, específicamente, la inhibición de la enzima principal de la producción de KYNA, quinurenina aminotransferasa II (KAT II), se ha considerado una prueba primaria de esta hipótesis.

Por desgracia, los inhibidores de KAT II sistemáticamente disponibles han permanecido raros y, por lo tanto, las pruebas de esta hipótesis en animales han permanecido en gran medida restringidas a la evaluación de los efectos de la administración intracerebral o intracerebroventricular de tales compuestos.⁶⁵

Las quinureninas también pueden estar involucradas en la fisiopatología de la esquizofrenia (SZ) y otras enfermedades neurológicas, los principales acontecimientos y descubrimientos en los últimos años, fueron la clasificación de glutamato ionotrópico como receptor de kainato, quisqualato y N-metil-D-aspartato (NMDA) evaluados en los niveles reducidos de glutamato en el líquido cefalorraquídeo de individuos con esquizofrenia, además de demostrar que los receptores NMDA desempeñan un papel crítico.

La reducción de la neurotransmisión glutamatérgica, y específicamente la hipoactividad del receptor NMDA, pueden estar causalmente relacionados con los 3 dominios principales de la psicopatología de la esquizofrenia, como son síntomas positivos, negativo y síntomas cognitivos. Se demostró que probablemente se deba a altas concentraciones nanomolares de KYNA en el cerebro.

Se han demostrado que el objetivo de la KINURENINA AMINOTRANSFERASA II en enfermedades psiquiátricas es inhibir preferentemente el receptor NMDA, y especialmente el sitio del coagón de la glicina del receptor.

Por lo tanto se conjeturó que los niveles elevados de KYNA endógeno pueden contribuir a la hipofunción glutamatérgica, estudios posteriores revelaron que, en la medicación antipsicótica, los niveles de KYNA fueron anormalmente elevados en líquido cefalorraquídeo y en la en la corteza prefrontal para los individuos que murieron con la enfermedad, al mismo tiempo, se encontró que concentraciones bajas de KYNA también pueden antagonizar el gen nicotínico \ alfa-7 y receptor de acetilcolina ($\alpha 7nAChR$), que están críticamente involucrados en procesos cognitivos y en la formación de redes neuronales excitatorias, y pueden participar en el desarrollo y las manifestaciones clínicas de esquizofrenia, esto junto con datos más recientes de la administración sistémica aguda en la kinurenina, la vía quinurenica y el bioprecursor inmediato de KYNA, en el cerebro como en otras partes.

Varios tipos de Kinurenina Aminotransferasa pueden catalizar la transaminación de quinurenina a KYNA, de estos, KAT II, que se distingue de otros KATs por su especificidad de sustrato, controla preferentemente un grupo de KYNA que puede movilizarse rápidamente en el cerebro. KAT II, que está preferentemente localizado en los astrocitos, es por lo tanto un excelente objetivo de intervención farmacológica, en los últimos años, los inhibidores de KAT II han sido sintetizados y probados en ratas, estos compuestos no sólo causan una pronta reducción en KYNA extracelular, sino que también causan una mejora cognitiva, probablemente relacionada con el rápido aumento de los niveles extracelulares de glutamato, de acetilcolina, y de la dopamina que se encontró asociada con la inhibición de la síntesis de KYNA.

Se necesitan inhibidores de KAT II sistémicamente activos para avanzar en la investigación neurobiológicas de KYNA y evaluar la posible utilidad terapéutica de estos agentes.⁶⁶

En la Figura 1.3 Se observa la ruta biológica de la enzima KAT-II.

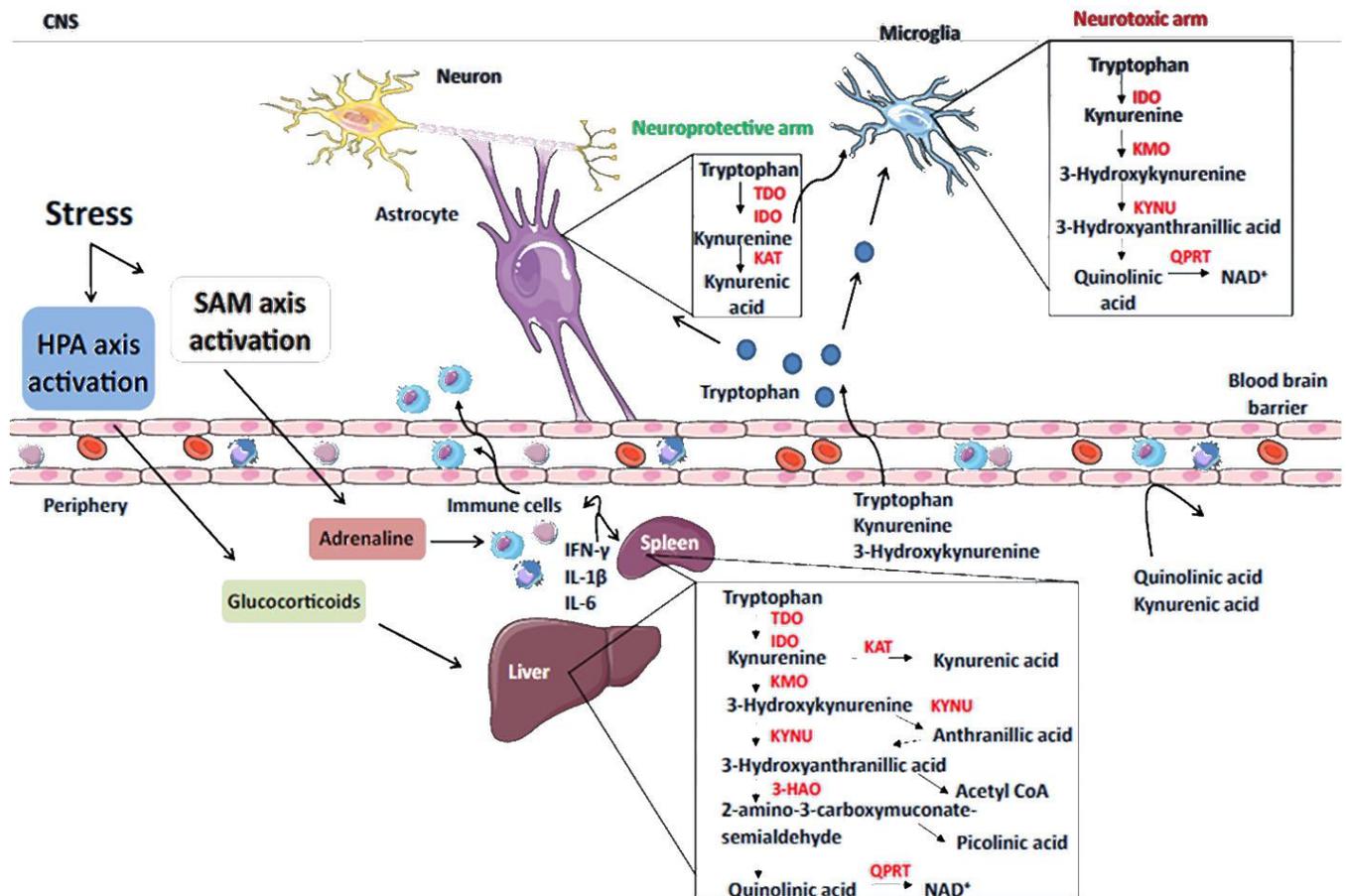


Figura 1.3. La vía de quinurenina (KP) en la periferia y el sistema nervioso central (SNC).⁶⁷

La conversión inicial de triptófano a quinurenina requiere de la inducción de cualquiera de las enzimas, aunque presenten limitación de velocidad, siendo triptófano 2, 3-dioxigenasa (TDO) o indoleamina 2, 3-dioxigenasa (IDO).

La activación inducida por el estrés de la glándula suprarrenal pituitario hipotalámico (HPA) del eje resulta en la liberación de glucocorticoides de las glándulas suprarrenales que pueden conducir a la inducción de (TDO) tras la activación de los receptores de glucocorticoides intracelulares (GR).

Posteriormente TDO metaboliza el triptófano en quinurenina, que luego se convierte a cualquiera del ácido quinurénico (KYNA) por acción de la aminotransferasa quinurenina (KAT) o 3-hidroxiquinurenina por monooxigenasa quinurenina (KMO).

3-Hidroxiquinurenina se metaboliza adicionalmente a cualquiera de los ácidos antranílicos o ácido 3-hidroxiantranílico por quinureninasa (KYNasa), que da lugar a acetyl CoA, o al intermedio inestable, 2-amino-3-carboxymucanato por el ácido 3-

hidroxiantranílico 3,4-dioxigenasa (3-HAO), este metabolito es enzimáticamente convertido en ácido picolínico, o no enzimáticamente transformado en ácido quinolínico, el precursor de la nicotinamida adenina dinucleótido.

Indoleamine 2, 3-dioxigenasa (IDO) puede ser también inducida en respuesta al estrés a través del simpaticosuprarrenal medular (SAM) asociado al sistema-b-adrenérgico, la activación de los receptores en las células inmunitarias que ocasiona la liberación de citoquinas pro inflamatorias incluyen IL-1b, IL-6 y el interferón (IFN) –g, las citoquinas pro-inflamatorias son a su vez capaces de inducir a indoleamine 2, 3-dioxigenasa (IDO) dentro del Sistema Nervioso Central (CNS), la vía de la Kinurenina está compartimentada diferencialmente dentro de astrocitos y microglia en el cerebro.

La absorción y el metabolismo del triptófano en astrocitos conduce a la producción de la KYNA que son las acciones neuroprotectoras en el SNC, el metabolismo de triptófano en microglia da lugar a metabolitos con propiedades oxidativas reactivas incluyendo 3-hidroxiquinurenina y el ácido 3-hidroxiantranílico y ácido quinolínico que también actúa como un agonista en el N metil D aspartato (NMDA) que es un subtipo de receptor de glutamato y puede contribuir a la excitotoxicidad y neurotoxicidad.⁶⁷

KYNA es un antagonista en el sitio coagónico de glicina insensible a la estricnina de receptores NMDA y un antagonista no competitivo a los receptores nicotínicos de acetilcolina, a concentraciones mucho más altas, KYNA es un antagonista en todos los receptores ionotrópicos del glutamato. Aparte de ser metabolizado en KYNA, el KYN intermedio clave, funciona como sustrato de quinureninasa (KYNasa) y quinurenina 3-hydroxylasa (kinurenina mono-oxygenasa, KMO), conduciendo finalmente al ácido quinolínico (QUIN). QUIN es un agonista del receptor NMDA y tiene propiedades neurotóxicas. Existe un delicado equilibrio entre el metabolismo de KYN en KYNA y el metabolismo en QUIN.⁶⁸ KAT-II consiste en 425 residuos de aminoácidos con un sitio catalítico en la interfaz homodimérico. Perteneció al subgrupo I y 1 de la piridoxal-5-fosfato aminotransferasas (PLP) dependientes con su actividad óptima a pH 7,0-7,5.

PLP actúa como una coenzima y está unido covalentemente a Lys263 por una reacción de "base de Schiff", dando como resultado un enlace aldimina. A medida que el paso inicial de la ruta de reacción enzimática, el sustrato L-KYN se une en el sitio activo de la aminotransferasa quinurenina y por consiguiente el enlace aldimina se rompe, y el C-PLP se une entonces con el grupo amino de la L-KYN. En las etapas siguientes, este grupo alfa-amino se transfiere a la Coenzima, convirtiendo el PLP a la forma de fosfato de piridoxamina (PMP). La regeneración del PLP se consigue mediante la transferencia

del grupo amino al ceto ácido, dejando el ceto ácido co-sustrato con L-KYN, que sufre espontáneamente un cierre de anillo al producir KYNA. ⁶⁹En la Figura 1.4 se observa el mecanismo del ciclo catalítico del PLP el cual es de carácter de interés en esta tesis, por ser en esta región donde los fármacos, buscando que solamente se acerquen, de forma competitiva al PLP en el Docking; este mecanismo se da en el bolsillo de la KAT-II en la Lisina263.

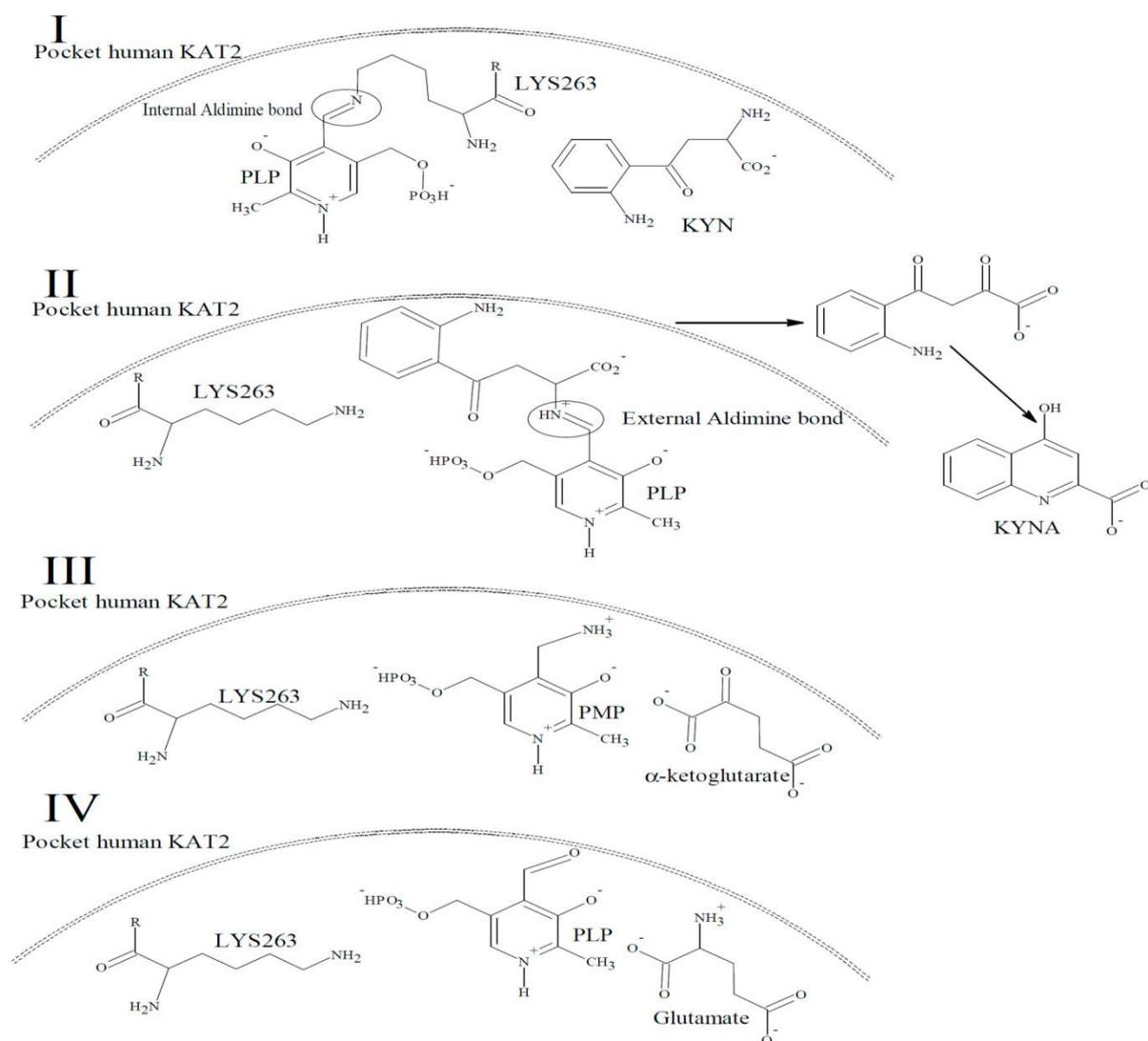


Figura 1.4. El mecanismo del ciclo catalítico KAT-2 humano. (I) PLP se une covalentemente a LYS263 en el bolsillo de reacción de KAT-2 humano mediante un enlace aldimina interno en la forma nativa de la enzima; (II) El grupo α-amino de KYN en el sitio activo se une a PLP a través de un enlace aldimina externo y rompe el enlace aldimina interno. El cierre de anillo espontáneo del análogo α-ceto produce KYNA. (III) El grupo α-amino del enlace aldimina externo de la etapa previa se transfiere al PLP, y la producción de KYNA permite simultáneamente la formación de fosfato de piridoxamina (PMP); (IV) La regeneración de PLP a partir de PMP se lleva a cabo convirtiendo el co-sustrato, α-cetoglutarato, en glutamato transfiriendo el grupo amino de PMP al α-cetoglutarato y, en consecuencia, se regenera la forma PLP de la enzima. ³⁵

1.10 Psicofarmacología de la Esquizofrenia

El Período de Pruebas se dio desde el siglo xx donde se daba el diagnóstico de demencia precoz / esquizofrenia, en el cual se hicieron innumerables intentos de desarrollo físico o farmacológico en el tratamiento de esta enfermedad, dado que la fisiopatología de la esquizofrenia era completamente desconocida, todos los esfuerzos terapéuticos fueron lanzados en un ensayo casi casual de prueba y error; estos ensayos iban desde la prescripción de cocaína, manganeso, aceite de ricino, o la inyección de sangre de animales.

La teoría de los procesos oxidativos deficientes se dio en la década de 1930, la hipótesis predominante era que la esquizofrenia se basó en "una tendencia generalizada inherente a "procesos oxidativos deficientes"; Loevenhart y otros habían informado, en 1929, de que la estimulación cerebral era sorprendente en pacientes catatónicos que estuvieron expuestos a inhalación de CO₂, cinco años más tarde, Hinsie y otros organizaron hicieron un estudio sistemático y amplio de los efectos del oxígeno y dióxido de carbono en los síntomas catatónicos, la prensa pública un informe sobre la "curación del gas" de los locos, cuando el tratamiento es administrado en combinación con fiebre y psicoterapia.

En la década de 1940, uno de los autores (HEL) inyectó petróleo De trementina en la pared abdominal de una mujer con esquizofrenia con el fin de producir un gran absceso acompañado de fiebre y leucocitosis; el absceso tenía que ser abierto, bajo condiciones estériles, en el quirófano; el paciente fue más racional durante 2 ó 3 días, mientras duró la fiebre. Las inyecciones de azufre en aceite, también causaron pirexia; fueron muy dolorosos, pero en algunos casos producían breves remisiones parciales. Algunos éxitos con la terapia del sueño el psiquiatra suizo Kläsi tuvo más éxito con un tratamiento prolongado del sueño que indujo a través de inyecciones de los barbitúricos, somníferos, el tratamiento implicaba riesgos importantes ya que no estaban disponibles antibióticos para la neumonía, aunque eran pocos frecuentes los casos.

En la segunda mitad del siglo XX en 1952 la clorpromazina fue el primer fármaco antipsicótico creado por los psiquiatras franceses Delay, Deniker y Harl, el cirujano, Laborit estaba experimentando con una forma de anestesia que llamó hibernación, que consistía en la administración de un "cóctel lítico" es decir, una mezcla de drogas narcóticas, sedantes e hipnóticas. Luego crearon un compuesto antihistamínico, la

clorpromazina, Laborit observó que este agente produjo efectos farmacodinámicos extraños que podría ser comparado con una "lobotomía química".

La clorpromazina, el primer fármaco antipsicótico, fue una fenotiazina, el término neuroléptico se utiliza a menudo en lugar de antipsicótico, otros términos, como ataractics o tranquilizantes principales, aún no están empleados; con la introducción de los primeros fármacos antipsicóticos, aparecieron los efectos extrapiramidales.

La clorpromazina fue sintetizada el 11 de diciembre de 1950, por Charpentier y sus colaboradores, publicado el 2 de mayo de 1951, una vez finalizada las investigaciones de Courvoisier y su equipo, y dado por primera vez a un paciente psiquiátrico el 19 de enero, de 1952, por Hamon, Paraire y Velluz en Val de Grace, el Famoso hospital militar en París; la clorpromazina debía administrarse en dosis adecuadas, es decir, al menos 500 mg al día, con el fin de lograr efectos terapéuticos.

En la séptima edición del *Index Psychopharmacorum* por los años 1990, se crearon más fármacos los cuales 12 eran derivados de las fenotiazinas: clorpromazina, Methotrimeprazina, promazina, flufenazina, perfenazina, proclorperazina, tioproperazina, Trifluoperazina, mesoridazina, pericicina, pipotiazina, y Tioridazina.

Ninguna de las fenotiazinas tuvo mayor eficacia que la clorpromazina. Se diferencian entre sí sólo en lo que se refiere a los efectos secundarios y la dosificación efectiva.⁷⁰

Según la literatura se sabe que en estos últimos años la respuesta de pacientes esquizofrénicos a fenotiazinas, estimulantes (anfetaminas) y fármacos psicóticos (por ejemplo, LSD), y las interacciones químicas de estos fármacos con neurotransmisores (catecolaminas, indolaminas y receptores de acetilcolina).

Las fenotiazinas parecen tener verdaderas acciones anti-esquizofrénicas, son más eficaces que los sedantes y actúan más eficazmente sobre los síntomas fundamentales (por ejemplo, agitación y trastornos del pensamiento). El bloqueo de los receptores de dopamina por fenotiazinas está estrechamente relacionado con su eficacia clínica y la imitación de la conformación de catecolamina preferida por las fenotiazinas predice su eficacia terapéutica. En pequeñas dosis, las anfetaminas parecen exacerbar los síntomas esquizofrénicos y en grandes dosis pueden evocar una psicosis esquizofrénica; Fenotiazinas y butirofenonas parecen ser los mejores antídotos para la psicosis anfetamínica. Los efectos conductuales de las anfetaminas están presumiblemente mediados por catecolaminas en el cerebro. Las cuestiones relacionadas con la comparación de los efectos de los medicamentos psicodélicos a la esquizofrenia se discuten, y las similitudes de los dos estados parece ser una ventaja prometedora. Se

examina la química de las enzimas relacionadas con las aminas y las enzimas aminosmetilantes que sintetizan fármacos psicotomiméticos.⁷¹

1.11 Manejo Farmacológico de la Esquizofrenia

Lograr una mayor continuación del tratamiento es un elemento clave para mejorar los resultados del tratamiento en pacientes con esquizofrenia. La interrupción del tratamiento se ha determinado como un predictor fiable y fuerte de la recaída; con cada recaída se tiene un impacto clínico perjudicial, así como una importante carga económica, teniendo en cuenta el alto costo de las hospitalizaciones. Si bien un tratamiento continuo con medicamentos antipsicóticos se ha relacionado con mejores resultados y menos riesgo de recaída, a menudo se notan diferencias importantes entre los diferentes tipos de drogas. El uso de medicación antipsicótica inyectable de acción prolongada (LAAP) ha demostrado en muchos estudios observacionales no intervencionistas que se asocian con menos recaídas y menores tasas de hospitalización después del inicio del tratamiento en comparación con los pacientes tratados con antipsicóticos orales (OAP), lo que resulta en un menor costo total de la atención sanitaria.⁷²

La mala adherencia a la medicación prescrita es ampliamente reconocida como un importante determinante de resultados en todas las categorías de enfermedades. Los pacientes con diagnósticos son particularmente propensos a la no adherencia a otras clases de medicación. El incumplimiento de la medicación se ha relacionado con un mayor uso de los servicios de salud, incluyendo hospitalizaciones y uso de emergencia, por lo tanto, la no adherencia a los servicios prescritos de la medicación es un factor de riesgo para empeorar el estado de la enfermedad, la disminución de la función y aumento del gasto en atención médica. Las razones por las que los pacientes no toman medicamentos prescritos incluyen la negación de la enfermedad, el costo de la medicación, relacionados con los prescriptores, las barreras físicas para los medicamentos, el uso de sustancias comórbidas y los efectos secundarios adversos, entre otros (por ejemplo, complejidad del régimen de medicación);

Las farmacias que operan dentro de las clínicas pueden ayudar a reducir estas barreras, sobre todo abordando las barreras físicas a la obtención de medicación potencialmente por otros medios, como la incorporación de un farmacéutico en el equipo de atención clínica.⁷³

1.11.1 Fármacos aún en estudio para la vía glutamatérgica

La inhibición de esta enzima proporciona un medio para regular la producción cerebral de KYNA y puede dar lugar a una atenuación de los déficits cognitivos.

Al estudiar a KAT II haciendo pruebas en ratones inducidos a la psicosis, se demostró un mejor rendimiento en tres áreas del cerebro relacionados con el hipocampo, el paradigma cognitivo y un aumento significativo de la potenciación hipocampal a largo plazo adicionalmente. El inhibidor de KAT II de primera generación el (S)-4-etilsulfonil benzoilalanin -Clorhidrato (S-ESBA) demuestra efectos pro-cognitivos después de la infusión intracerebral en ratas intactas.⁷⁴

Los inhibidores de KAT II de segunda generación se desarrollaron recientemente, son activos en el cerebro después de la administración sistémica ; uno de estos compuestos, BFF816, se encontró que reducía a KYNA extracelular y aumentaba el glutamato extracelular en el hipocampo de la rata, también se evaluó por primera vez el efecto del aumento de los niveles de KYNA para reducir la liberación de glutamato evocada en PFC (corteza pre frontal), que puede ser invertida inhibiendo la síntesis de KYNA (ácido quinurénico).⁷⁵

1.11.2 Patente de Pfizer

La Fundación Pfizer, desde su instauración en 1999, ha ido evolucionando conforme a las necesidades que la realidad social y el entorno han requerido.

Por ello Emilio Moraleda Presidente de la Fundación Pfizer no solo se encuentra en la búsqueda de nuevas curas para la esquizofrenia, sino que además hace una guía con ayuda de otras organizaciones en la cual en un pequeño fragmento de su prólogo nos señala:

Esta guía ve la luz en un momento clave, ya que recientemente el Ministerio de sanidad ha presentado una campaña de sensibilización, que con el lema de “Todos somos parte del tratamiento”, pone el acento en la necesidad de abordar sin estigmas ni prejuicios las enfermedades mentales, así como en el papel que cada uno de nosotros juega a la hora de contribuir a la integración de las personas que padecen alguna de estas patologías.

En este sentido, no cabe duda que el presente libro ayudará a conocer mejor la esquizofrenia y cómo enfrentarse a ella a todos los que de un modo u otro la sufren.⁷⁶

Pfizer en la búsqueda de dar soluciones al problema que acarrea esta enfermedad, envía esta solicitud la cual reivindica el beneficio de prioridad a la solicitud de patente provisional de Estados Unidos Ser. Nº 61 / 418.791 presentada el 1 de diciembre de 2010, y a la solicitud de patente provisional de EE.UU. No. 61 / 419.232 presentada el 02 de diciembre de 2010.

En la cual presenta al nuevo fármaco creado con los más recientes conocimientos obtenidos por la medicina moderna, en la cual postula que el fármaco 3-amino-1-hidroxi-2-oxo-1, 2, 3,4-tetrahydroquinolina-7-carbonitrilo, 3-amino-1-hidroxi-7- (2-metoxietoxi) -3, 4-dihidroquinolin-2 (1H) –ona cuya patente es US8487104.

Siendo este creado para inhibir KAT (kinurenina aminotransferasa II) que es una enzima primaria en el cerebro cuya función para catalizar la transaminación de quinurenina a KYNA (ácido quinurénico), como es un metabolito cerebral natural, KYNA probablemente sirve como un modulador endógeno negativo de la función glutamatérgica cerebral. El compuesto de la invención se administra por cualquier vía adecuada en forma de una composición farmacéutica adaptada a dicha ruta, y en una dosis eficaz para el tratamiento deseado. Las dosis terapéuticamente eficaces de los compuestos requeridos para tratar el progreso de la afección médica son fácilmente comprobadas por un experto en la técnica usando enfoques preclínicos y clínicos familiares para las artes medicinales. Los compuestos de la invención pueden administrarse por cualquier vía adecuada, preferiblemente en forma de una composición farmacéutica adaptada a dicha ruta, y en una dosis eficaz para el tratamiento deseado. Los compuestos y composiciones activos, por ejemplo, pueden administrarse por vía oral, rectal, parenteral o tópica.⁷⁷

1.11.3 PF-04859989

El equipo Pfizer informó en el año 2013 el descubrimiento de PF-04859989, un potente inhibidor de KAT II con penetración cerebral y actividad in vivo. La estructura cristalina de rayos X, RMN y los estudios del compuesto unido a KAT II han demostrado que este compuesto forma un aducto covalente con el cofactor, piridoxal fosfato (PLP), en el sitio activo de la enzima. Esta interacción covalente inhibe irreversiblemente a la enzima, pero sin la formación de un enlace covalente a la proteína, lo que alivia el riesgo de haptenemia o inmunotoxicidad.

Los estudios preliminares de relación estructura-actividad (SAR) en este andamio también demostraron que los sustituyentes en las posiciones C6 y C7 proporcionan las mejores oportunidades para mejorar la potencia.³⁴

En un esfuerzo por identificar nuevos inhibidores de KAT II, se realizó una pantalla de alto rendimiento del archivo compuesto de Pfizer. Amino dihidroquinolina inicialmente surgió como un éxito interesante, pero las pruebas de seguimiento de una muestra auténtica demostraron que este compuesto no tenía actividad inhibidora significativa hacia KAT II. La separación cromatografía, la caracterización, la resíntesis y el cribado de impurezas menores del lote de la muestra original condujeron a la identificación de (3S) -3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2 (1H) -ona (PF-04859989) como el constituyente activo (hKAT II IC₅₀= 23 nM). Debido a su alta potencia y bajo peso molecular (178 Da), el compuesto es un golpe atractivo desde el punto de vista de la eficacia del ligando (LE = 0,82). Además, otras propiedades fisicoquímicas combinadas con su perfil limpio en el panel CEREP estándar, lo coloco en un excelente espacio químico para un compuesto líder apuntando al CNS, aunque cabe resaltar que es un inhibidor irreversible.

El equipo de Pfizer observó que la presencia de un grupo hidroxilo en la posición 1 desempeña un papel clave en la actividad de esta serie de compuestos y confirmó que este resto hidroxilo libre es necesario porque puede desempeñar un papel como enlace de hidrógeno aceptante y un donante. Al observar los datos biológicos, se reveló la función estereoselectiva (conduce a un esteroisómero) del grupo amino en la posición 3. En la posición 3, el grupo amino libre (que apunta hacia arriba, configuración S) es el resto más adecuado, e indicó que no se pueden tolerar otros grupos pequeños cerca del resto amino en el bolsillo de unión debido al choque con el enlace aldimina externo situado entre el grupo amino libre y el PLP.⁶²

1.11.4 Diseño de fármacos y bioinformática

El descubrimiento de fármacos utiliza la biología química y los enfoques computacionales de diseño de fármacos.

La biología química está principalmente implicada en la elucidación de la función biológica de un objetivo y el mecanismo de acción de un modulador químico. Por otro lado, el diseño de fármacos en computadora utiliza el conocimiento estructural de los ligados objetivo (basados en la estructura) o conocidos con bioactividad (basados en el ligando) para facilitar la determinación de fármacos candidatos prometedores.

Actualmente, las compañías farmacéuticas y los grupos de investigación académica están utilizando varias técnicas de detección virtual para reducir el costo y el tiempo necesarios para el descubrimiento de un medicamento potente. A pesar de los rápidos avances en estos métodos, las mejoras continuas son fundamentales para las futuras herramientas de descubrimiento de fármacos.⁷⁸

1.12 Mecanismo de Acción de los Agentes Antipsicóticos

1.12.1 Bloqueo de receptores dopaminérgicos (DA)

Los neurolépticos de butirofenona como haloperidol, pimozida y espiroperidol, los más potentes fármacos antiesquizofrénicos, son inhibidores bastante débiles de esta dopamina ciclasa. Por el contrario, la eficacia es relativa en de todos los neurolépticos, incluidas las butinofenonas, se correlacionan bastante de cerca con sus afinidades por las recepciones de dopamina etiquetados por butirofenonas tituladas como espiroperidol y 3H-haloperidol (2-4). La actividad terapéutica no se correlaciona con el etiquetado de dopamina receptores por 3H-dopamina en sí o 3H-apomorfinina (2, 3), una droga imitadora de dopamina, ya que la eficacia de esta droga en estos sitios de unión se asemeja a los efectos en el enzima ciclasa.⁷⁹

De acuerdo a las secciones sagitales del cerebro de un ratón, en condiciones normales de DA (dopamina), en la corteza prefrontal (PFC) a través de receptores de dopamina DA (DAR) se observó el disparo de parvalbúmina + interneuronas (FSI) en el que agentes GABAérgicos rápidos regulan el disparo rítmico de glutamato (Glu) que es liberado hacia las neuronas piramidales (PYR).

Las neuronas PYR presumiblemente regulan la actividad neuronal de cualquiera de las neuronas espinosas medulares (STR) ,estriateles (STR), que expresan receptores NMDA (NMDAR) y DAR, o neuronas del núcleo cerebral (SN) de la parte media del cerebro que también liberan DA en MSN striatales. En condiciones similares a la esquizofrenia (SCZ) una pérdida de PFC DA (hipodopaminergia) o la inhibición de la actividad neuronal de los FSI conducen a una sobreexcitación de las PYR. La actividad potenciada de las PYR podría presumiblemente conducir a una mayor actividad estriatal de MSN directamente o a través de una mayor liberación de DA (hiperdopaminergia) en el cuerpo estriado por las neuronas del SN. Un agonista parcial sesgado es β -arrestin2 (β arr2) como UNC9994 que actúa como un agonista en el PFC, pero como un antagonista en el cuerpo estriado podría representar un compuesto ideal tipo APD o neurolépticos que podría revertir simultáneamente la situación de hipo e

hiperdopaminergia en la esquizofrenia. El mecanismo propuesto de dicho compuesto sería mejorar β arr2 / GRK2 para reducir la actividad de Gai en el PFC e inhibir simultáneamente la actividad de β arr2 / GRK2 en el cuerpo estriado.

De acuerdo a investigaciones más recientes se conoce que la señalización disfuncional del receptor DA que ha sido implicada en la esquizofrenia y después de la clasificación de los receptores DA como D1 y D2, se reveló que la mayoría de las APD (neurolépticos) se unían a D2R pero no a D1R y que el bloqueo de D2R era suficiente para inhibir la hiperdopaminergia. Más tarde se descubrió en la década de 1980, la clozapina, entonces un antipsicótico más nuevo, tenía una afinidad menor por D2R pero afinidades más altas por el receptor de serotonina 5-HT_{2A}. En base a las afinidades de unión relativas para los receptores D2 versus 5HT_{2A}, las APD clínicas se denominaron APD "típicas" o de "primera generación" (haloperidol y clorpromazina) o APD "atípicas" o "de segunda generación" (clozapina, risperidona y olanzapina). Para ambos tipos de APD, sin embargo la unión al D2R es una propiedad común y se demostró que estos APDs mediaban sus acciones predominantemente actuando como antagonistas o agonistas inversos en D2R. Aunque ambos tipos de APD son clínicamente efectivos, existen diferencias significativas en sus perfiles terapéuticos y de efectos secundarios. La esquizofrenia se caracteriza por síntomas positivos (alucinaciones, delirios), negativos (alogia, anhedonia, avolición) y cognitivos. Las típicas APD son efectivas para atacar los síntomas positivos de la esquizofrenia, pero tienen varios efectos secundarios relacionados con el motor denominados síntomas extrapiramidales (EPS). Aunque la EPS inducida por APD típicas es el resultado de una excesiva unión de D2R en las regiones estriatales, se cree que la eficacia terapéutica también requiere la unión de D2R estriatal con presumiblemente tasas de disociación más rápidas.

Las APD atípicas han superado algunos de los problemas con las APD típicas en la clínica y son relativamente mejores para atacar los síntomas de la esquizofrenia sin inducir la EPS. Sin embargo, las APD atípicas tienen su propio perfil de efectos secundarios, como el aumento de peso, la agranulocitosis y la hipotensión. Desafortunadamente, ninguna de las APD apunta eficientemente a la disfunción cognitiva observada en la esquizofrenia, que precede a los síntomas positivos y negativos.⁸⁰

En la Figura 1.5 se puede observar la relación dopamina – acetil colina.

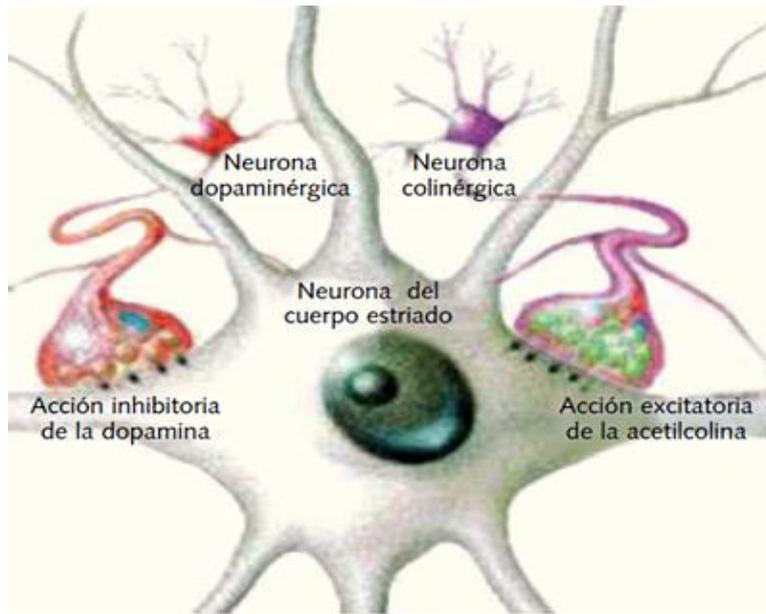


Figura 1.5. La acetilcolina desempeña un papel positivo importante en la mediación de los efectos extrapiramidales de los antipsicóticos y existe un balance entre dopamina y acetilcolina en los núcleos basales, clínicamente hay una base justificada, como es la alta eficacia que tienen los agentes anticolinérgicos para revertir o mitigar los efectos extrapiramidales de los antipsicóticos.⁵⁶

1.12.2 Bloqueo de receptores serotoninérgicos (5-HT)

Se encuentra ligado al receptor 5-HT_{2A} además de estar altamente involucrado con el tratamiento de los síntomas negativos y los efectos secundarios comprometidos con la vía dopaminérgica.⁸¹

1.12.3 Bloqueo de receptores colinérgicos (M)

Se conoce que si se bloquea esta vía aparecen una gran cantidad de efectos secundarios, pero también se sabe de agentes anticolinérgicos que evitan los efectos secundarios.⁸²

1.12.4 Bloqueo de receptores α -adrenérgicos

Se conoce la capacidad que tienes de bloquear los receptores alfa adrenérgicos, pero sin embargo también se sabe que una dosis mayor para enfermedades crónicas causa un retraso del sistema motor y aumenta la sintomatología negativa de la esquizofrenia.⁸³

1.12.5 Bloqueo de receptores histaminérgicos (H₁)

Involucrados en la ansiedad por comer, cansancio, aumento de peso, son algunos estragos que causa, pero no se puede negar sus efectos sedantes muy útiles para algunos pacientes.⁸⁴

1.12.6 Inhibidor de la KAT II:

En el cerebro como en otras partes, varias quinureninas Aminotransferasa (KATs) pueden catalizar la transaminación irreversible de quinurenina a KYNA.

De estos, KAT II, se distingue sobre otros KATs por su especificidad de sustrato, controla preferentemente un grupo de KYNA que puede movilizarse rápidamente en el cerebro. KAT II está preferentemente localizado en los astrocitos, es por lo tanto un excelente objetivo para la intervención farmacológica.

En los últimos años, los inhibidores de KAT II se han sintetizado y se han utilizado para la prueba de hipótesis en ratas. Estos compuestos, que debían aplicarse intracerebralmente a causa de la deficiencia, la penetración cerebral, no sólo provocó una pronta reducción del KYNA extracelular, sino que también mejoró las funciones cognitivas, probablemente relacionadas con los niveles extracelulares de glutamato, de acetilcolina, y dopamina que se encontró asociada con la inhibición de la síntesis de KYNA.

Se necesitan inhibidores KAT II sistémicamente activos para avanzar en la investigación en neurobiología KYNA y para evaluar la posible utilidad terapéutica de estos agentes para la intervención farmacológica.⁸⁵

Según Pfizer el compuesto 3,4-dihidroquinolin-2(1H)-ona tiene una acción antagonista hacia el subtipo de receptor NR2B del NMDA selectivamente y, por ende, son útiles en la terapéutica, particularmente, para el tratamiento del accidente cerebrovascular o lesión cerebral, enfermedad neurodegenerativa crónica, tal como la esquizofrenia.⁸⁶

1.13 Tratamiento

Lo primero que se debe hacer es recurrir a un especialista experto en la enfermedad, aquel debe ser prudente y responsable en encaminar por el camino adecuado la medicación y el tratamiento.

Mayormente la enfermedad se presenta en la adolescencia donde recién se está formando el “yo” de la persona, es ahí cuando surgen conflictos de identidad y comienzan a tener crisis mentales, que llevan a un mayor desequilibrio, influyendo mucho el contexto en donde el paciente se desarrolle, el entorno, el aspecto sociocultural, siendo factores ambientales muy relevantes para poder determinar la sintomatología y la raíz de donde inicia, también afecta el hecho de ser solitario y

meditabundo generando que la mente busque un “amigo” por el hecho de que los seres humanos somos netamente sociales se comienzan a crear por la mente seres imaginarios o el otro yo, siendo un síntoma severo de esquizofrenia. Aun surgen dudas de la mejor terapia, porque en la mayoría de los casos ayuda más una rehabilitación social que una psicológica, el uso excesivo de fármacos trae efectos secundarios que a la larga causan mayores complicaciones. En la actualidad se buscan los mejores tratamientos, sin tanto uso de fármaco y más trabajos con el aspecto social en la enfermedad, a diferencia de la antigüedad, donde hacían uso de la logoterapia lo cual dejaba a los pacientes como vegetales, por el hecho de que dañaban parte del cerebro y la parte pre frontal.

Recalcando que pocos médicos psiquiatras se enfocan más en el entorno que es lo que ayuda a superar la enfermedad y encaminar de nuevo a una vida normal, siendo el caso que algunos aún se ensañan contra el aspecto sintomatológico. Como ya se señaló lo mejor es el tratamiento de la aceptación y posteriormente confrontar este problema con ayuda de la familia y los amigos, a fin de poder superar satisfactoriamente la enfermedad. El tratamiento de la esquizofrenia se clasifica según los estados o fases del trastorno en fase pre-psicótica o prodrómica:

- El primer episodio psicótico es la esquizofrenia persistente o recurrente incluyendo prevención y tratamiento de las recaídas.
- Luego tenemos a la terapia de mantenimiento.
- Por último el tratamiento de la esquizofrenia refractaria.⁸⁷

1.14 Abordaje Psicoterapéutico de la Esquizofrenia

Todos los abordajes, independientemente de las diferencias en las estrategias y técnicas particulares empleadas, se centran más en la valoración directa y el cambio de relaciones entre individuos, que en los problemas “internos” del individuo portador de los síntomas. Esta es quizás la principal distinción de una orientación familiar sistémica refiriéndose a los modelos de tratamiento individual tradicionales.

Se puede utilizar un punto de vista sistemático independientemente de la cantidad de gente que exista en una habitación, lo cual implica un estilo clínico que incluye el interrogatorio sobre el contexto de un problema; sobre los procesos interactivos, comunicativos y circulares que lo envuelven; en el momento del ciclo vital familiar; y sobre los patrones multigeneracionales, que pueden ser de mucha importancia dependiendo del motivo de consulta.⁸⁸

Algunas partes de este proceso de rastreo se pueden simplificar si están presentes otros miembros familiares, sin embargo, el interrogatorio con un solo individuo infunde a la entrevista clínica, un punto de vista sistémico que a su vez facilita la inclusión de la dinámica familiar en el cuadro clínico de una forma más sofisticada. Durante las últimas tres décadas, una generación de investigación ha mostrado los poderosos efectos de las intervenciones psicosociales para facilitar la recuperación en las personas con esquizofrenia. Empleado con apoyo o la educación con el apoyo, psicoeducación familiar, terapia cognitiva y tratamiento asertivo comunitario, han demostrado que mejora los resultados. Sin embargo, son escasos tanto en el desarrollo como en el desarrollado. A pesar de que la medicación antipsicótica es útil y resulta ser esencial para la reducción de delirios y alucinaciones, estos síntomas son sólo una parte de la enfermedad y podría no ser tan irrelevante como los aspectos cognitivos y motivacionales del desorden, aspectos que no son el objetivo de la corriente antipsicótica de medicamentos. Un enfoque holístico a este síndrome complejo, que combina la medicación y los tratamientos psicosociales basadas en la evidencia, puede mejorar sus resultados, sobre todo si el plan de tratamiento se acopla a la paciente como colaborador. Por lo tanto, aunque la predicción del futuro para la investigación de la esquizofrenia no es sencilla, no cabe duda de que podríamos avanzar en la inmediata solución si cerramos la brecha desmesurada entre lo que sabemos de la investigación y lo que ofrecemos en la práctica. Si hemos de mejorar los resultados en el futuro, cerrar esta brecha debe estar entre nuestras prioridades más altas.⁸⁹

1.15 Hospitalización

Es necesario en el caso de que existan efectos secundarios de la medicación que haya tenido estragos severos, también en el caso de que la enfermedad sea por drogadicción o alcoholismo, se necesita internar, añadiendo las ideas de suicidio, y otros efectos propios de la enfermedad cuando involucra partes físicas y orgánicas como es el hígado. También cuando el paciente está en rehabilitación por delirios que pueda presentar.⁹⁰

1.16 Métodos de la Química computacional

En las últimas décadas la química computacional y el diseño asistido por computador, han sido valiosas para la creación de nuevas terapias para enfermedades neurológicas; estas técnicas computacionales de modelado, también son una rama del diseño de fármacos que incorpora las ideas de la química teórica en programas de computadora,

que luego son capaces de simular estructuras químicas, sus propiedades químicas e interacciones moleculares. Los modelos computacionales pueden simular estas propiedades en dinámicas moleculares, siendo bastante útiles como herramientas predictivas.⁹¹

El campo está separado en dos categorías principales, bioinformática y la biofísica de las interacciones moleculares (modelado molecular), es decir, el primero trata de secuencias aminocídicas y la otra trata sobre biomoléculas y sus interacciones. Bioinformática combina computadora ciencia, estadística, matemáticas e ingeniería para estudiar datos biológicos. A menudo, la bioinformática se usa para comprender mejor la base cuántica y molecular de la enfermedad, hace uso del modelado molecular, por otro lado, es una serie de técnicas que utilizan matemáticas, física y química para simular el comportamiento de sistemas químicos complejos. Este tipo de modelado se enfoca principalmente en la naturaleza física de la química, mirando cosas como proteínas, interacciones de ligandos y propiedades biofísicas.⁹²

1.17 Mecánica molecular o Mecánica Clásica

Las simulaciones de dinámica molecular de sistemas biológicos se dan desde su primera aplicación en una pequeña proteína simulada al vacío hace más de tres décadas, los avances tecnológicos en las computadoras potencian los desarrollos algorítmicos y hacen mejoras en la precisión de las funciones de interacción utilizadas.

Estas herramientas han establecido a la dinámica molecular como una técnica importante y predictiva para estudiar procesos dinámicos en resolución atómica. En las funciones de interacción, los llamados campos de fuerza de la mecánica molecular, se utilizan para obtener conceptos químicos simples que describen la energía potencial del sistema.

Se realizan simulaciones por computadora con la esperanza de comprender las propiedades de los conjuntos de moléculas en términos de su estructura y las interacciones microscópicas entre ellas. Esto sirve como complemento a los experimentos convencionales, lo que nos permite aprender algo nuevo, algo que no se puede descubrir de otras maneras. Las dos familias principales de técnicas de simulación son la dinámica molecular (MD) y Monte Carlo (MC); adicionalmente, existe toda una gama de técnicas híbridas que combinan características de ambos. La ventaja obvia de MD sobre MC es que da una ruta a las propiedades dinámicas del sistema: coeficientes de transporte, respuestas dependientes del tiempo a las

perturbaciones, propiedades reológicas y espectros. Las simulaciones por ordenador actúan como un puente entre las escalas de longitud y tiempo microscópico y el mundo macroscópico del laboratorio: proporcionamos una estimación de las interacciones entre las moléculas y obtenemos predicciones "exactas" de las propiedades a granel. Las predicciones son "exactas" en el sentido de que se pueden hacer tan precisas como nos gusta, sujeto a las limitaciones impuestas por nuestro presupuesto informático. Al mismo tiempo, se puede revelar el detalle oculto detrás de las mediciones a granel. Un ejemplo es el vínculo entre el coeficiente de difusión y la función de auto correlación de velocidad (el primero fácil de medir experimentalmente, el último mucho más difícil). Las simulaciones actúan como un puente en otro sentido: entre la teoría y el experimento. Podemos probar una teoría realizando una simulación usando el mismo modelo. Podemos probar el modelo comparándolo con resultados experimentales. También podemos realizar simulaciones en la computadora que son difíciles o imposibles en el laboratorio (por ejemplo, trabajando a temperaturas o presiones extremas).

En última instancia, es posible que deseemos realizar comparaciones directas con mediciones experimentales realizadas en materiales específicos, en cuyo caso es esencial un buen modelo de interacciones moleculares. El objetivo de la llamada dinámica molecular ab initio es reducir la cantidad de cálculos y las conjeturas en este proceso a un mínimo local. Por otro lado, podemos estar interesados en fenómenos de naturaleza bastante genérica, o simplemente podemos querer discriminar entre teorías buenas y malas. Cuando se trata de objetivos de este tipo, no es necesario tener un modelo molecular perfectamente realista; para esto uno que contenga la física esencial puede ser bastante adecuado.⁹³

1.17.1 Elementos de Mecánica Molecular

Para efectuar un cálculo en Mecánica Molecular se requieren las coordenadas atómicas del sistema y las conectividades.

Además, es de vital interés los campos de fuerza que se quiera utilizar, el cual dictará los atom types a usar, así como el método de cálculo de cargas parciales para la molécula, están compuestos de:

- Atom types para cada uno de los átomos del sistema según el campo de fuerza empleado.

- Éstos permiten asignar a cada átomo sus características según su hibridación, carga y tipo de átomos a los que está unido.
- Ecuación de energía potencial, la cual calcula la energía de la molécula en una configuración determinada. Dicha energía se calcula como la suma de diferentes términos que indican la penalización por el alejamiento de un estado ideal de las distancias de enlace, ángulos de enlace, torsiones.
- Un conjunto de parámetros, los cuales permiten ajustar las ecuaciones a los diferentes tipos de átomos. Se suelen obtener a partir de datos experimentales o de resultados de cálculos de mecánica cuántica.

Un principio fundamental de la mecánica molecular es que las fuerzas físicas acumulativas se puede utilizar para describir geometrías moleculares y energías. El conformacional espacial obtenida en última instancia, es entonces un ajuste natural de la geometría para minimizar la energía interna total.

Una molécula se considera como una colección de masas cencados en los núcleos (átomos) conectados por resortes (enlaces); en respuesta a las fuerzas intramoleculares, la molécula se extiende, en las curvas, y gira alrededor de los enlaces. Esta sencilla descripción de un sistema molecular como un dispositivo mecánico como ejemplo el cuerpo se asocia generalmente con un sistema "clásico". Sorprendentemente, esta clásica descripción mecánica es una caracterización adecuada incluso cuando la cantidad de la información cuántico-mecánica que se utiliza para derivar campos de fuerzas, trabaja generalmente bien para la descripción de las estructuras y procesos moleculares, con la excepción de las pruebas de ruptura de enlace.

La mayoría de los programas de Mecánica Molecular modernos tienen una interfaz gráfica la cual permite al usuario introducir la estructura dibujándolo o leyendo sus coordenadas cartesianas; la energía de deformación de la molécula en esta conformación puede ser minimizada. Sin embargo, la resultante conformación no es necesariamente el más bajo de energía (o global de energía mínima) de la estructura. De hecho, es muy posible que la estructura minimizada poder ser significativamente más alto en energía que el mínimo global y por lo tanto puede ser de poca importancia práctica.

El objetivo de una búsqueda conformacional es encontrar el mayor número de mínimos como sea posible, incluyendo el mínimo global. Al hacer una búsqueda de este tipo, un gran número de alta energía pertenecientes a las conformaciones de partida son generados, reduce al mínimo, en comparación con confórmeros previamente que han

encontrado y almacenado si son únicos. Para una búsqueda exhaustiva, las estructuras de partida en crudo deben abarcar toda la superficie de energía potencial; si sólo una parte de la superficie está cubierta no se puede estar seguro de que todos los importantes mínimos de baja energía se encontrarán.⁹⁴

Idealmente una búsqueda conformacional, en la que las conformaciones de partida cubren todo el espacio conformacional, deben llevarse a cabo en todas las simulaciones moleculares. Sin embargo, para las moléculas grandes y / o muy flexibles, el tiempo de CPU necesario para explorar toda la superficie de energía es prohibitivo.

Es más común el uso de métodos estocásticos o Monte Carlo, que emplean un elemento aleatorio para generar geometrías de partida o de probar estructuras en una dinámica molecular desarrollada. Numerosos métodos de búsquedas conformacionales han sido presentados en la literatura. Algunos han sido diseñados para su uso en pequeñas peptidas cíclicas y acíclicas. Mientras que otros han sido concebidos para buscar el espacio conformacional disponible para las pequeñas proteínas, polímeros y los hidratos de carbono. Las comparaciones de los diferentes métodos de búsqueda se han publicado simulaciones de mecánica molecular que sólo pueden dar una descripción útil del comportamiento físico de un sistema si los campos de fuerza que son ocupadas son una aproximación bastante exacta de la variable real en la energía del sistema con coordenadas atómicas. Dentro de esta amplia declaración, algunas propiedades físicas son más sensibles que otras. Como se observa en la Figura 1.6.

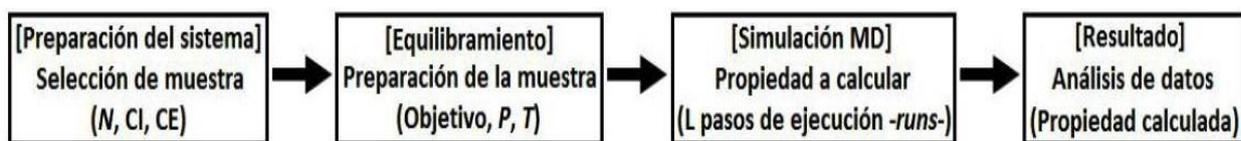


Figura 1.6. Pasos para hacer una dinámica molecular los cuales están dados por número de átomos en una configuración inicial en condiciones de equilibrio, usando un esquema canónico NVT, se hace una simulación en computador a un tiempo en picosegundos, finalmente se analiza la gráfica de lo obtenido.⁹⁵

1.18 Campos de fuerza

Se denomina force field al conjunto que forman las ecuaciones para calcular las contribuciones a la energía y los valores de los parámetros ajustables al equilibrio. Cada force field define una ecuación de energía potencial, de manera que la energía de una molécula en una conformación determinada se calcula a partir de la que tendrían idealmente las partes que la constituyen. La energía es relativa a un estado de referencia y se calcula como la suma de los diferentes términos que indican la penalización por el

alejamiento de la idealidad de las distancias de enlace, ángulos, ángulos diedros, torsiones.

Un campo de fuerza se construye a partir de dos componentes distintos como el conjunto de ecuaciones (llamado las funciones potenciales) que se utiliza para generar las energías potenciales y sus derivados, las fuerzas.⁹⁶

1.18.1 El campo de fuerza opls-AA

El campo de fuerza de OPLS-AA, en particular, cubre variedad de moléculas orgánicas. También se creó para hacer simulación con proteínas por esa razón es que se usa en este trabajo. Para configuraciones de átomos unidos y para todos los parámetros del átomo Gromacs recomienda OPLS-AA.

El campo de fuerza OPLS / AA no necesita ningún parámetro enlazado, ya que ambos los parámetros A y B están determinados por los tipos de átomos. Las interacciones no vinculadas que involucran a uno o dos átomos perturbados utilizan las formas funcionales de perturbación de energía libre. Interacciones no enlazadas entre dos átomos no perturbados utilizan las formas funcionales normales. Esto significa, por ejemplo, sólo la carga de una partícula es perturbada, sus interacciones de Lennard-Jones también serán afectadas.⁹⁷

1.19 Optimización de geometrías

Los elementos básicos que encontramos en una superficie en tres dimensiones se pueden aplicar a dimensiones superiores: encontraremos zonas de baja energía o mínimos, así como también máximos y puntos de bifurcación o de silla (saddle points). Los máximos corresponden a estructuras de transición entre dos o más mínimos y un mínimo corresponde a un estado estable del sistema (en ausencia de otras fuerzas externas). En la búsqueda de conformaciones de baja Energía son necesarios algoritmos de optimización que permitan encontrar estos mínimos.

Existen razones de tipo práctico que hacen necesarios los algoritmos de minimización. Sabemos que las coordenadas iniciales de nuestro sistema se derivan de una estructura cristalográfica o de la secuencia FASTA. De este modo, las posiciones de los átomos en archivo PDB no corresponden a una sola molécula, sino a un ajuste sobre una densidad electrónica. Tomando eso en cuenta, y que un campo de fuerza es una aproximación al comportamiento cuántico, se espera que la estructura no corresponda a una estructura de

baja energía. Si se tiene en cuenta el tipo de interacciones involucradas en el campo de fuerza, esto implica que habrá grandes fuerzas internas, que pueden hacer que el sistema se desestabilice en una simulación de dinámica molecular.⁹⁸

1.20 Método del Descenso por Etapas

Esta dirección de "descenso más empinado" define el descenso más pronunciado; los métodos SD generalmente conducen a mejoras rápidas, pero luego muestran lentos progresos hacia una solución. Aunque se ha acostumbrado a recomendar El uso de SD para iteraciones de minimización iniciales cuando la función de inicio y valores de la gradiente-norma son muy grandes, este enfoque no es necesario cuando está disponible un método de minimización robusta.

Conocida también por *Steepest Descent*, los puntos del vector gradiente en la dirección donde la función incrementa más, el valor de la función puede siempre ser disminuida por etapas en la dirección opuesta. En el método *Steepest Descent*, una serie de evaluaciones de la función son resueltas en la dirección negativa del gradiente a lo largo de una dirección de búsqueda definida.

Por naturaleza del método *Steepest Descent* puede solamente localizar mínimos en las funciones. La ventaja es que algoritmo es muy simple, y solamente requiere el almacenamiento del vector gradiente. El vector gradiente g apunta en la dirección en la que la función aumenta más, es decir, la i.e. El valor de la función siempre se puede bajar avanzando en la dirección opuesta. Se realizan una serie de evaluaciones de la función en la dirección del gradiente negativo, es decir, a lo largo de una dirección de búsqueda definida como $d = -g$. una vez la función comienza a aumentar, se puede determinar un mínimo aproximado por interpolación entre los puntos calculados. En este punto interpolado, un nuevo gradiente es calculado y utilizado para la búsqueda de la línea siguiente.

El algoritmo de descenso más pronunciado es sure-fire. Si se realiza la minimización de línea con suficiente precisión, siempre se reducirá el valor la función y, por lo tanto, se garantiza para acercarse a un mínimo, tiene, sin embargo, dos problemas principales.

Dos líneas posteriores a las búsquedas son necesariamente perpendiculares entre sí; si hubiera un componente de gradiente a lo largo de la dirección de búsqueda anterior, la energía podría bajarse más en este; por lo tanto, el algoritmo de descenso más

pronunciado tiene una tendencia para cada búsqueda de línea para estropear en parte el descenso de la función obtenido por la búsqueda anterior.⁹⁹

1.21 Método del Gradiente Conjugado

Algunos problemas no pueden ser resueltos por método *Steepest Descent*, por lo que una mejora a ello fue el método de *Conjugate Gradient*. Si la superficie es puramente cuadrática, cada Minimización sucesiva no generara componentes del gradiente a lo largo de alguna dirección previa, la primera etapa es equivalente a un *Steepest Descent*, pero subsecuentes búsquedas son resueltas a lo largo de una línea la cual es una mezcla del actual gradiente negativo y las previas direcciones de búsqueda.¹⁰⁰

1.22 Ramachandran

Un polipéptido se puede considerar como una sucesión de planos peptídicos. El giro alrededor del enlace que une el Alpha C con el N del plano anterior se mide con el ángulo phi. El giro alrededor del enlace que une la alfa C con la C del plano posterior se mide con el ángulo psi. La conformación global del polipéptido está definida por los ángulos phi y psi de cada carbono alfa. No todos los pares de valores phi y psi están permitidos ya que algunos causarían descargas estéricas. El diagrama de Ramachandran define los pares de valores de phi y psi que están permitidos. La gran mayoría de los aminoácidos en las proteínas se encuentran en las regiones permitidas. Solo las glicinas tienen regiones permitidas más extensas. Los elementos de la estructura secundaria de las proteínas (hélices, láminas, espiras) están constituidos por residuos de aminoácidos con ángulos phi y psi característicos.³⁶

1.22.1 Ángulo ψ (psi)

El enlace del grupo α -carbono al grupo carbonilo (en el extremo C-terminal) del residuo de aminoácido puede rotar y girar todo el plano del grupo amida, que incluye el carbono carbonilo, en un rango de 360° . Este ángulo se mide mirando a lo largo de esa unión con el carbono del grupo carbonilo en la parte trasera y el carbono α en la parte delantera. Medimos el ángulo aparente entre los dos enlaces al nitrógeno que se puede ver saliendo del eje del enlace $C_\alpha-C_{(C=O)}$. Este ángulo está etiquetado ψ (psi) y se mide desde -180° a $+180^\circ$ con la dirección positiva cuando gira el grupo trasero en el sentido de las agujas del reloj de modo que el enlace de nitrógeno posterior esté en el sentido de las agujas

del reloj del enlace de nitrógeno delantero (o cuando gira el grupo frontal en sentido contrario a las agujas del reloj para que el enlace de nitrógeno posterior esté en el sentido de las agujas del reloj del frente).³⁷

1.22.2 Ángulo ϕ (phi)

El enlace del nitrógeno (en el extremo N-terminal) al carbono- α del residuo de aminoácido puede rotar y girar todo el plano del otro grupo amida, que incluye el nitrógeno, en un rango de 360 grados. Este ángulo se mide mirando a lo largo de ese enlace con el átomo de nitrógeno en el frente y el carbono α en la parte posterior. Medimos el ángulo aparente entre los dos enlaces a los carbonos de carbonilo que puede ver saliendo del eje del enlace N-C α . Este ángulo está etiquetado como ϕ (phi) y se mide de -180° a $+180^\circ$ con la dirección positiva cuando gira el grupo trasero en el sentido de las agujas del reloj para que el enlace carbonilo posterior esté en sentido horario del enlace carbonilo frontal (o cuando gira el grupo frontal en sentido contrario al de las agujas del reloj, de modo que el enlace carbonílico posterior esté en el sentido de las agujas del reloj del frente).³⁷

1.23 Minimización

La mayoría de los programas de MM modernos tienen una interfaz gráfica que permite al usuario ingresar la estructura dibujándola o leyendo sus coordenadas cartesianas; la energía de deformación de la molécula en esta conformación dada puede minimizarse. Sin embargo, la conformación resultante no es necesariamente la estructura de menor energía (o mínimo de energía global). De hecho, es muy posible que la estructura minimizada pueda ser significativamente más alta en energía que el mínimo global y, por lo tanto, puede ser de poca importancia práctica.

El objetivo de una búsqueda conformacional es encontrar tantos mínimos como sea posible, incluido el mínimo global, y para calcular la población Boltzmann (calcula diferentes estados de energía). Al realizar dicha búsqueda, se minimizan un gran número de conformaciones de partida de alta energía en comparación con los conformeros encontrados previamente, y se almacenan si son únicos. Para una búsqueda exhaustiva, las estructuras de partida iniciales deben abarcar toda la superficie de energía potencial; si solo se cubre una parte de la superficie, no se puede asegurar que se encontrarán todos los mínimos de baja energía importantes. Idealmente, una

cuadrícula o búsqueda conformacional determinista, en la cual las conformaciones iniciales cubren todo el espacio conformacional, debe realizarse en todas las simulaciones moleculares. Sin embargo, para moléculas grandes y / o muy flexibles, el tiempo de CPU requerido para explorar toda la superficie de energía es prohibitivo. Es más común utilizar métodos estocásticos o de Monte Carlo, que emplean un elemento aleatorio para generar geometrías iniciales o para muestrear estructuras en una ejecución de dinámica molecular; aunque el defecto es que es inexacto.³⁸

1.24 Dinámica Molecular

Lo que se analiza es la evolución temporal del modelo considerado. Por tanto, la parte central de este método el algoritmo de integración de las ecuaciones de movimiento de Newton, que son ecuaciones diferenciales ordinarias acopladas, no lineales y de segundo orden, que deben ser resueltas numéricamente. Dadas las posiciones y velocidades iniciales a un tiempo inicial, la tarea del algoritmo es obtener las posiciones y velocidades en un tiempo t_0 .

En resumen, un programa de Dinámica Molecular trabaja de la siguiente forma:

1. Se leen los parámetros que especifican las condiciones de la simulación.
2. Se inicializa el sistema, esto es, se asignan las posiciones y las velocidades iniciales
3. Se calculan las fuerzas sobre todas las partículas.
4. Se integran las ecuaciones de movimiento de Newton. Este paso, junto con el anterior, conforman el núcleo de la simulación. Se repiten n veces hasta tener calculado la evolución temporal del sistema durante el tiempo total de simulación deseado. Se van guardando las posiciones, velocidades, fuerzas, etc., durante cada paso en un archivo para luego ser procesadas.
5. Se calculan e imprimen los diferentes promedios relevantes. Para ello, se descartan n_0 pasos iniciales, corresponde al periodo de equilibrio, y se estima el promedio termodinámico de una magnitud dinámica arbitraria.³⁹

1.25 Docking

Las técnicas experimentales para el reconocimiento molecular del estudio incluyen cristalografía de rayos X, RMN, microscopía electrónica, mutagénesis dirigida al sitio, co-inmuno-precipitación, etc.

El docking nos permiten resolver experimentalmente los detalles de las estructuras tridimensionales de biomoléculas en su conformación, forma que es un paso necesario en la identificación de residuos cruciales, estudiar las fuerzas de interacción, sus energías, entender cómo encajan las estructuras moleculares, e investigar los mecanismos de acción.⁴⁰

La tarea de acomodar una molécula orgánica en una cavidad proteica no es simple, como analogía, podrías pensar en estacionar un auto en un sitio estrecho orientándolo al azar en diferentes posiciones, solo que en el caso molecular es tridimensional y no hay información previa sobre cuál es la ubicación correcta, esta es precisamente la razón para desarrollar esquemas de puntuación numérica para cada orientación. En el más simple de estos esquemas, el número de contactos totales que se pueden establecer entre cada par de átomos en el sitio de unión y el ligando, es en una orientación particular del mismo, se le considera formado un contacto cuando un átomo del ligando y otro del sitio de unión se encuentran en una distancia inferior o igual a la de un valor umbral (por ejemplo, 5 Å). Si la forma geométrica del ligando es complementario al de la cavidad se dará una orientación adecuada que por ende generará una gran cantidad de contactos y se le asignará un puntaje alto; hay programas encargados de seleccionar y descartar la superposición de cualquier átomo de ligando con el de la proteína para evitar interacciones poco realistas.

Para un estudio de docking es indispensable que la estructura tridimensional del blanco haya sido previamente determinada, ya sea por difracción de rayos X (Figura 3) o por resonancia magnética nuclear. La fuente principal de estructuras tridimensionales de proteínas es el PDB (Protein Data Bank). Sin embargo, en la mayor parte de los casos los archivos depositados en esta base de datos de 196 no pueden ser utilizados directamente en estudios de diseño de fármacos, sino hasta realizar algunas adecuaciones ya explicados anteriormente en mecánica molecular.⁴¹

1.26 RMSD

El grado de similitud de dos estructuras tridimensionales proteicas se mide generalmente con la distancia raíz-media-cuadrado entre pares de átomos equivalentes. Tal medida de similitud depende de la dimensión de las proteínas, es decir, del número de pares de átomos equivalentes.

El rmsd es 0 para estructuras idénticas, y su valor aumenta a medida que las dos estructuras se vuelven más diferentes. Los valores Rmsd se consideran indicadores

confiables de variabilidad cuando se aplican a proteínas muy similares, como conformaciones alternativas de la misma proteína. Por otro lado, los datos rmsd calculados para pares de estructuras de diferentes tamaños no se pueden comparar directamente, porque el valor rmsd obviamente depende del número de átomos incluidos en la alineación estructural.⁴²

1.27 Condiciones Periódicas de Contorno

La metodología clásica para realizar una simulación de dinámica molecular, nos permite crear un sistema y añadir cantidades relativamente grandes de moléculas de agua para solvatar el sistema. Sin embargo, este número de moléculas de agua nunca será demasiado grande como para crear un solvente infinito, y de esta manera simular propiedades macroscópicas. Por lo tanto el conflicto que existe entre los límites del sistema, se solucionan de cierta manera con la inclusión de condiciones periódicas de contorno. Estas condiciones permiten crear replicas idénticas del sistema, en las tres dimensiones del espacio, dando la posibilidad a las moléculas de moverse infinitamente a través del solvente original y el de sus réplicas.⁴³

1.28 Modelamiento Estructural

Entendemos como modelamiento estructural, a la generación de estructuras secundarias “limpias”, que podrán ser usadas para el modelamiento molecular.

CAPÍTULO II

Métodos y Detalles Computacionales

2.1 Detalles Computacionales

2.1.1 Equipo Computacional

Workstation: Procesador E7 de 3.1GH, memoria RAM 64GB, dos discos duros de 04 y 06 TB, Acelerador de Video GTX 980 con 2GB de memoria dedicada, Acelerador de Video Tesla K80 de 24GB de memoria dedicada con 4990 cores de GPU.

2.2 Software

GROMACS 5.1.4 (*Hess, 2016*). Disponible en www.gromacs.org

Es un paquete versátil para realizar dinámicas moleculares, es decir, simular las ecuaciones newtonianas de movimiento para sistemas con cientos de millones de partículas. Está diseñado principalmente para moléculas bioquímicas como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos que tienen una gran cantidad de complicadas interacciones enlazadas y no enlazadas que suelen dominar las simulaciones.¹⁰¹⁻¹⁰⁴

Molden 5.4 (*Schaftenaar, 2000*). Disponible en www.cmbi.ru.nl/molden

Es un paquete que sirve para mostrar la densidad molecular de cualquier archivo creado a través del formato Molden, además de leer toda la información requerida del archivo de salida, puede escribir una variedad de instrucciones gráficas; tiene un poderoso editor Z-matrix que le da un control total sobre la geometría y le permite construir moléculas desde cero, incluyendo poli péptida.¹⁰⁵⁻¹⁰⁶

Chimera 1.11.1 (*Pettersen, 2004*). Disponible en www.cgl.ucsf.edu/chimera

Es un programa altamente extensible para la visualización interactiva y análisis de estructuras moleculares y datos relacionados, incluyendo mapas de densidad, montajes supramoleculares, alineaciones de secuencias, resultados de acoplamiento, trayectorias y conjuntos conformacionales. Se pueden generar imágenes y

animaciones de alta calidad.¹⁰⁷⁻¹⁰⁹

Ramachandran (*GN Ramachandran, 2016*). Disponible en www.rampage.php

Representa la distribución de las conformaciones del esqueleto de los aminoácidos en las estructuras de péptidos y proteínas. Muestra la distribución de los ángulos y diedros representados por ψ (*psi*) y muestra los residuos de los aminoácidos representados por ϕ (*phi*), del péptido en un mapeo de Ramachandran para cada modelo especificado y la gráfica para cada modelo contendrá ϕ , ψ del péptido independientemente de los átomos que se hayan especificado; mostrando a priori la estructura secundaria del péptido.¹¹⁰⁻¹¹⁴

Hex 8.0.0 (*Gary Mancidoe, 2006*) Disponible en www.hex.loria.fr

Es un programa interactivo de acoplamiento de proteínas y superposición molecular, reconoce las proteínas y las estructuras de ADN en formato PDB, y también puede leer los archivos SDF de moléculas pequeñas, los tiempos de acoplamiento oscilan entre unos pocos minutos o menos cuando la búsqueda está restringida a sitios de enlace conocidos, a aproximadamente media hora para una búsqueda global ciega (o sólo unos segundos con CUDA).¹¹⁵⁻¹²⁰

iGEMDOCKv2.1 (*BioXGEM Lab, 2006*) Disponible en ww.gemdock.life.nctu.edu.tw

Sirve para el acoplamiento, la detección virtual y el análisis posterior a la selección. Para el análisis posterior a la selección, iGEMDOCK puede enriquecer la tasa de aciertos y proporcionar conocimientos biológicos derivando las interacciones farmacológicas de los compuestos de cribado. Las interacciones farmacológicas representan restos de interacción conservados que a menudo forman bolsas de unión con propiedades físicoquímicas específicas para desempeñar las funciones esenciales de la proteína diana. Los resultados del experimento muestran que la tasa de éxito de iGEMDOCK es del 78% (derivaciones de la raíz cuadrada media por debajo de 2.0 angstrom) en 305 complejos de proteína y compuesto.¹²⁵⁻¹²⁷

PDB (*Protein Data Bank*) Disponible en www.rcsb.org/pdb

Es el único repositorio mundial de información sobre las estructuras tridimensionales de las moléculas biológicas grandes, incluidas las proteínas y los ácidos nucleicos. Actualmente, se utilizan varios métodos para determinar la estructura de una proteína, incluida la cristalografía de rayos X, la espectroscopía de RMN y el microscopio electrónico. Cada método tiene ventajas y desventajas. En cada uno de estos métodos, el científico usa muchos datos para crear el modelo

atómico final. Principalmente, el científico tiene algún tipo de datos experimentales sobre la estructura de la molécula. Para la cristalografía de rayos X, este es el patrón de difracción de rayos X. Para la espectroscopía de RMN, se trata de información sobre la conformación local y la distancia entre átomos que están cerca uno del otro. En microscopía electrónica, es una imagen de la forma general de la molécula.¹²¹⁻¹²³

NCBI (Centro Nacional para la Información Biotecnológica) Disponible en www.ncbi.nlm.nih.gov

Su objetivo es diseñar, desarrollar, implementar y administrar sistemas automatizados para la recopilación, el almacenamiento, la recuperación, el análisis y la diseminación de conocimientos sobre biología molecular humana, bioquímica y genética además de realizar investigación en métodos avanzados de procesamiento de información basado en computadoras capaces de representar y analizar la gran cantidad de moléculas y compuestos biológicamente importantes.¹²⁴

2.3 Modelamiento estructural de la enzima quinurenina aminotransferasa II (KAT-II)

Para ello inicialmente se usó la base de datos NCBI (National Center of Biotechnology Information) y el PDB (Protein Data Bank); estos contienen información de estructuras determinadas experimentalmente.

Luego se buscó la enzima KAT-II Human en el Banco de Datos de Proteínas (PDB), el cual nos brindó información acerca de la estructura tridimensional corroboradas por cristalografía de rayos X, espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) y microscopia crioelectrónica, además buscamos que tengan correlación con las estructuras que se encontraron en el Centro Nacional De Información De Biotecnologica (NCBI) en el formato Fasta de la secuencia aminoacídica real de cada estructura, el cual es un formato ubicuo de secuencias de proteínas.

Prontamente se hizo un modelado por homología para estudiar una proteína de estructura completa, debido a que en los procesos de difracción se suele perder información de algunos aminoácidos, para ello se hizo un alineamiento múltiple de las secuencias reportadas hasta la fecha mediante el programa UGENE bajo el algoritmo ClustalW, como se observa en la Figura 2.1.

```
>2qlrL.pdb (#0) chain A/1-425
MNYARFITAASAARNPSPIRTMTDILSRGPKSMISLAGGLPNPMMFPFKTAVITVENGKTIQFGEEMKRALQYSPSAGIPELLSWLKQLQIKLHNPTIHYPPSQGQMDLCVTSGSQQGLCKVFEMIIINPGDNVLLDEPAYSGTLQSLHPLGNCIINVASDESGIVPDSLRLDILSRWKPEDAKNPQKNTPKFLYTPNGNPTGNSLTSERKKEIYELARKYDFLIIEDDPYYFLQFNKFRVPTFLSMDVDGRVIRADSF5KIISSGLRIGFLTGPKPLIERVILHIQVSTLHPSTFNQLMISQLLHEWGEEGFMAHVDRVIDFYSNQKDAILAAADKWLTLGLAEWHVPAAGMFLWIKVKGINDVKELIEEKAVKMGVLMPLGNAFYVDSAPSPLYLRASFSSASPEQMDVAFQVLAQLIKESL

2vgzL.pdb (#0) chain A/-3-410
MLENYARFITAASAARNPSPSMISLAGGLPNPMMFPFKTAVITVENGKTIQFGEEMKRALQYSPSAGIPELLSWLKQLQIKLHNPTIHYPPSQGQMDLCVTSGSQQGLCKVFEMIIINPGDNVLLDEPAYSGTLQSLHPLGNCIINVASDESGIVPDSLRLDILSRWKPEDAKNPQKNTPKFLYTPNGNPTGNSLTSERKKEIYELARKYDFLIIEDDPYYFLQFNKFRVPTFLSMDVDGRVIRADSF5KIISSGLRIGFLTGPKPLIERVILHIQVSTLHPSTFNQLMISQLLHEWGEEGFMAHVDRVIDFYSNQKDAILAAADKWLTLGLAEWHVPAAGMFLWIKVKGINDVKELIEEKAVKMGVLMPLGNAFYVDSAPSPLYLRASFSSASPEQMDVAFQVLAQLIKESL

SEFSL.pdb (#0) chain A/1-425
MNYARFITAASAARNPSPIRTMTDILSRGPKSMISLAGGLPNPMMFPFKTAVITVENGKTIQFGEEMKRALQYSPSAGIPELLSWLKQLQIKLHNPTIHYPPSQGQMDLCVTSGSQQGLCKVFEMIIINPGDNVLLDEPAYSGTLQSLHPLGNCIINVASDESGIVPDSLRLDILSRWKPEDAKNPQKNTPKFLYTPNGNPTGNSLTSERKKEIYELARKYDFLIIEDDPYYFLQFNKFRVPTFLSMDVDGRVIRADSF5KIISSGLRIGFLTGPKPLIERVILHIQVSTLHPSTFNQLMISQLLHEWGEEGFMAHVDRVIDFYSNQKDAILAAADKWLTLGLAEWHVPAAGMFLWIKVKGINDVKELIEEKAVKMGVLMPLGNAFYVDSAPSPLYLRASFSSASPEQMDVAFQVLAQLIKESL

KATII.pdb (#0) chain A/1-425
MNYARFITAASAARNPSPIRTMTDILSRGPKSMISLAGGLPNPMMFPFKTAVITVENGKTIQFGEEMKRALQYSPSAGIPELLSWLKQLQIKLHNPTIHYPPSQGQMDLCVTSGSQQGLCKVFEMIIINPGDNVLLDEPAYSGTLQSLHPLGNCIINVASDESGIVPDSLRLDILSRWKPEDAKNPQKNTPKFLYTPNGNPTGNSLTSERKKEIYELARKYDFLIIEDDPYYFLQFNKFRVPTFLSMDVDGRVIRADSF5KIISSGLRIGFLTGPKPLIERVILHIQVSTLHPSTFNQLMISQLLHEWGEEGFMAHVDRVIDFYSNQKDAILAAADKWLTLGLAEWHVPAAGMFLWIKVKGINDVKELIEEKAVKMGVLMPLGNAFYVDSAPSPLYLRASFSSASPEQMDVAFQVLAQLIKESL

Chain A, Crystal Structure Of Human Kynurenine Aminotransferase Ii
PDB: 2VGZ_A
GenPept Identical Proteins Graphics
>gi|960515661|pdb|2VGZ|A Chain A, Crystal Structure Of Human Kynurenine Aminotransferase Ii
MLENYARFITAASAARNPSPIRTMTDILSRGPKSMISLAGGLPNPMMFPFKTAVITVENGKTIQFGEEMKRALQYSPSAGIPELLSWLKQLQIKLHNPTIHYPPSQGQMDLCVTSGSQQGLCKVFEMIIINPGDNVLLDEPAYSGTLQSLHPLGNCIINVASDESGIVPDSLRLDILSRWKPEDAKNPQKNTPKFLYTPNGNPTGNSLTSERKKEIYELARKYDFLIIEDDPYYFLQFNKFRVPTFLSMDVDGRVIRADSF5KIISSGLRIGFLTGPKPLIERVILHIQVSTLHPSTFNQLMISQLLHEWGEEGFMAHVDRVIDFYSNQKDAILAAADKWLTLGLAEWHVPAAGMFLWIKVKGINDVKELIEEKAVKMGVLMPLGNAFYVDSAPSPLYLRASFSSASPEQMDVAFQVLAQLIKESL

Chain B, Crystal Structure Of Human Kynurenine Aminotransferase Ii
PDB: 2VGZ_B
GenPept Identical Proteins Graphics
gi|960515662|pdb|2VGZ|B Chain B, Crystal Structure Of Human Kynurenine Aminotransferase Ii
MLENYARFITAASAARNPSPIRTMTDILSRGPKSMISLAGGLPNPMMFPFKTAVITVENGKTIQFGEEMKRALQYSPSAGIPELLSWLKQLQIKLHNPTIHYPPSQGQMDLCVTSGSQQGLCKVFEMIIINPGDNVLLDEPAYSGTLQSLHPLGNCIINVASDESGIVPDSLRLDILSRWKPEDAKNPQKNTPKFLYTPNGNPTGNSLTSERKKEIYELARKYDFLIIEDDPYYFLQFNKFRVPTFLSMDVDGRVIRADSF5KIISSGLRIGFLTGPKPLIERVILHIQVSTLHPSTFNQLMISQLLHEWGEEGFMAHVDRVIDFYSNQKDAILAAADKWLTLGLAEWHVPAAGMFLWIKVKGINDVKELIEEKAVKMGVLMPLGNAFYVDSAPSPLYLRASFSSASPEQMDVAFQVLAQLIKESL
```

Figura 2.1: Preparación de los formatos fasta en un editor de texto de las secuencias encontradas.

Debido a que se verificó que la KAT II es funcional cuando se encuentra unida al cofactor, se tuvo que incorporar ello en la proteína de estudio. Para ello se usó el visualizador Chimera para agregar el cofactor PLP (piridoxal fosfato). Prontamente se tuvo que incorporar los datos sobre las cargas, enlaces, ángulos y diedros al campo de fuerza OPLSA del programa Gromacs.

2.4 Diseño estructural del fármaco y sus derivados

De acuerdo al proyecto 140 correspondiente al Centro de Investigación en Ingeniería Molecular (CIIM) se procedió como parte inicial de este a construir fármacos con distintos sustituyentes creados apartir del ácido hidroxámico cíclico PF-04859989 ((3S)-

3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona), como un inhibidor potente y selectivo de KAT II humano y de rata siendo un compuesto de Pfizer combinado con su perfil limpio en el panel CEREP, se convierte en un compuesto atractivo de trabajo añadiendo que es un inhibidor irreversible.⁶² Por lo cual aún es de carácter de prueba; para ello el CIIM crea estos fármacos considerando distintos parámetros combinados con Mecánica Cuántica para hacerlos aún más estables a nivel electrónico usando el programa Gaussian y Gauss View. En la Figura 2.2 se observa el fármaco de Pfizer a la izquierda y a la derecha se observa el fármaco unido al PLP en el docking con la enzima KAT-II.

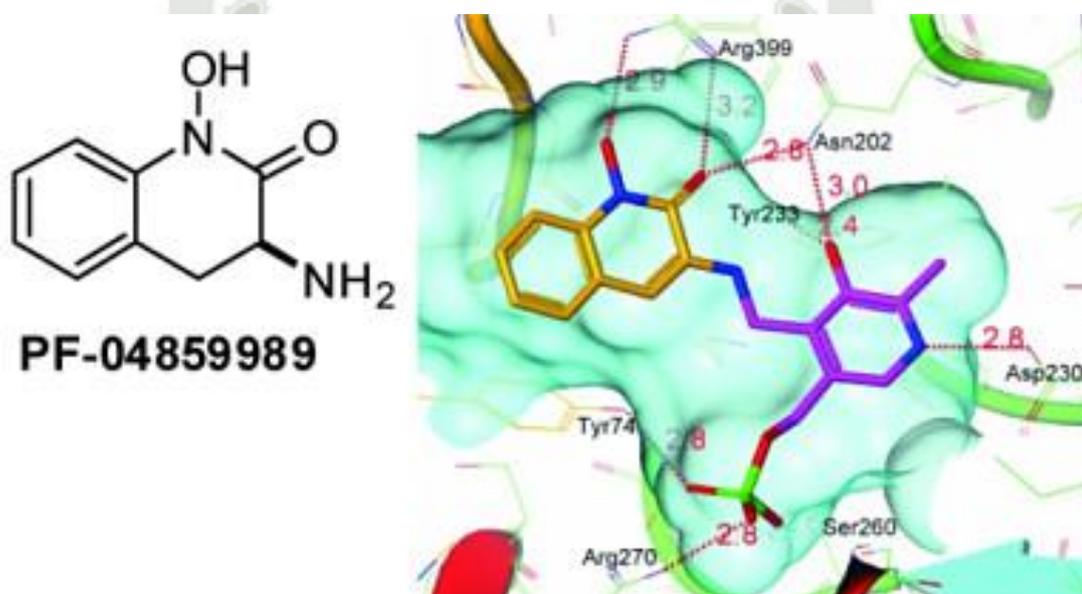


Figura 2.2: PF-04859989 en la estructura de rayos X del aducto KAT II-PLP con **7** (andamio de carbono de **7** en naranja y PLP en magenta). Una sección seccionada de la superficie molecular que forma el sitio catalítico de KAT II se muestra en azul pálido. El bolsillo de unión al sustrato está formado por residuos de ambas subunidades del dímero KAT II, uno coloreado en verde y el otro en naranja. Las interacciones del enlace de hidrógeno entre el ligando y la proteína se indican como líneas de puntos, con las distancias indicadas en Å.⁶²

Los fármacos que se crearon en el CIIM fueron seleccionados de acuerdo a los componentes donantes de electrones desde el más fuerte dador de electrones al más débil dador (CH_3 , CH_3O , NH_2 , OH) y receptores de electrones del más fuerte al más débil receptor (CH_3CO , NO_2 , CN , Cl) para esto fueron colocados en la posición 7 y 6 del anillo no sustituido del fármaco, bajo este concepto se escogieron para evaluar los efectos de estos nuevos fármacos.

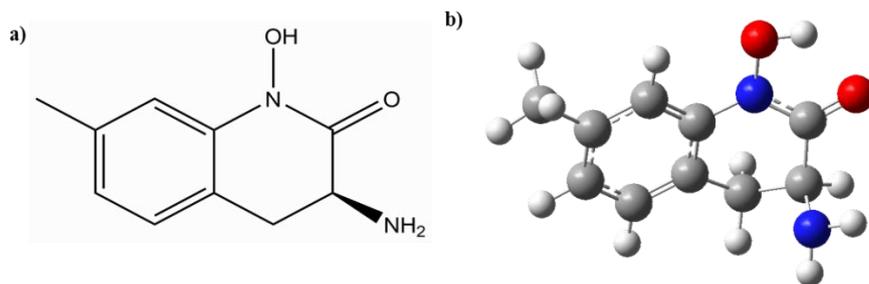


Figura 2.3: Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-7metil-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. Se observa el fármaco en 2D .b) Fármaco en 3D elaborado en Mecánica Cuántica en el programa Gaussian.

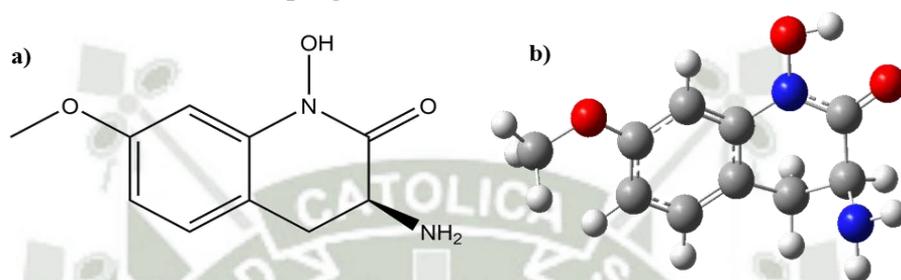


Figura 2.4: Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-metoxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.a) Se observa el fármaco en 2D .b) Fármaco en 3D elaborado en Mecánica Cuántica en el programa Gaussian.

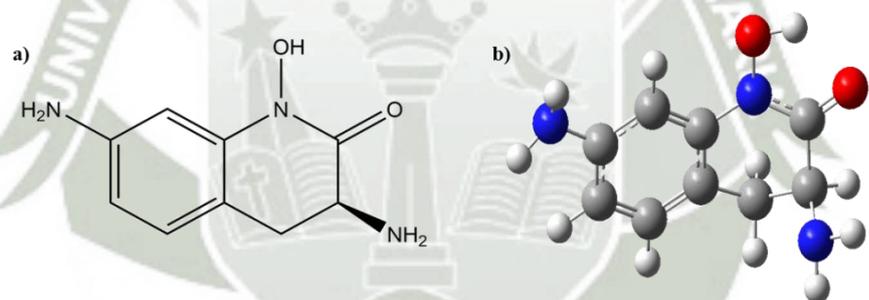


Figura 2.5: Fármaco (3S)-3,7-diamino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. Se observa el fármaco en 2D .b) Fármaco en 3D elaborado en Mecánica Cuántica en el programa Gaussian.

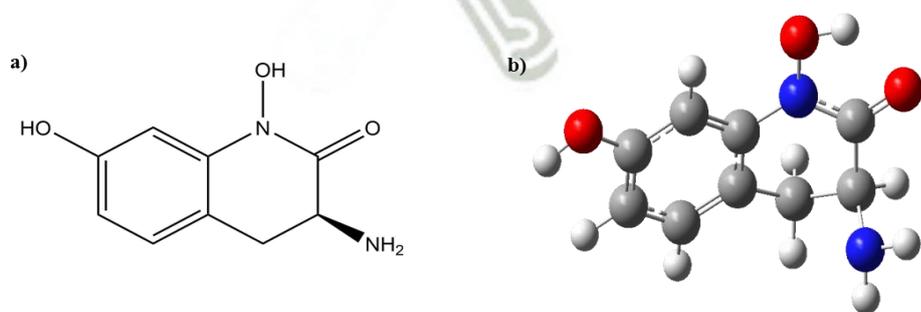


Figura 2.6: Fármaco (3S)-3-amino-1,7-dihidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona .Se observa el fármaco en 2D .b) Fármaco en 3D elaborado en Mecánica Cuántica en el programa Gaussian.

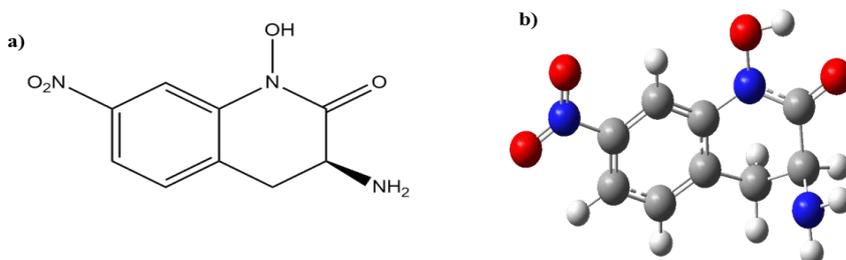


Figura 2.7: Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-nitro-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. Se observa el fármaco en 2D .b) Fármaco en 3D elaborado en Mecánica Cuántica en el programa Gaussian.

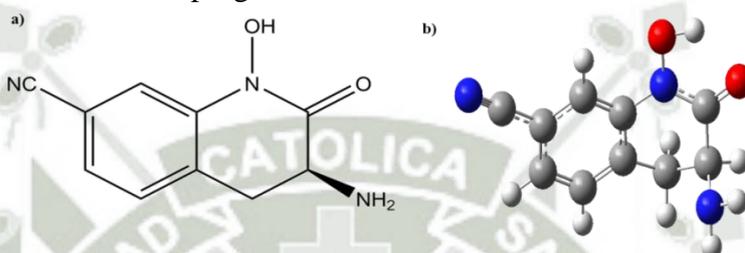


Figura 2.8: Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-nitrilo-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. Se observa el fármaco en 2D .b) Fármaco en 3D elaborado en Mecánica Cuántica en el programa Gaussian.

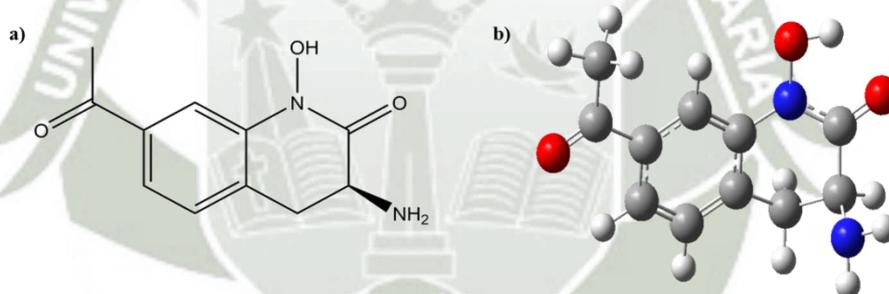


Figura 2.9: Fármaco (3S)-7-acetoxi-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. a) Se observa el fármaco en 2D .b) Fármaco en 3D elaborado en Mecánica Cuántica en el programa Gaussian.

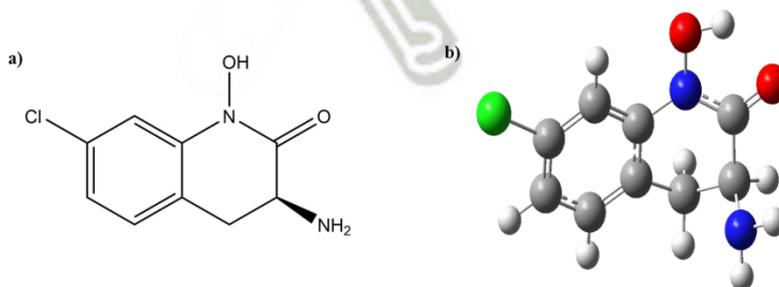


Figura 2.10: Fármaco (3S)-3-amino-7-cloro-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. a) Se observa el fármaco en 2D .b) Fármaco en 3D elaborado en Mecánica Cuántica en el programa Gaussian.

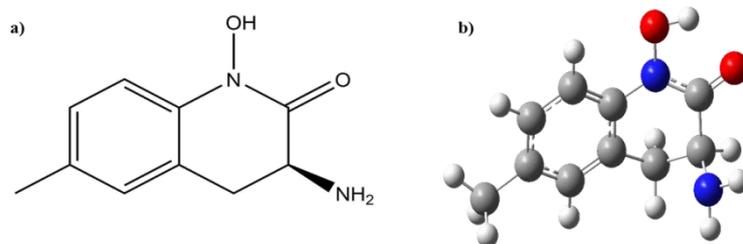


Figura 2.11: Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-metil-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. **a)** Se observa el fármaco en 2D **.b)** Fármaco en 3D elaborado en Mecánica Cuántica en el programa Gaussian.

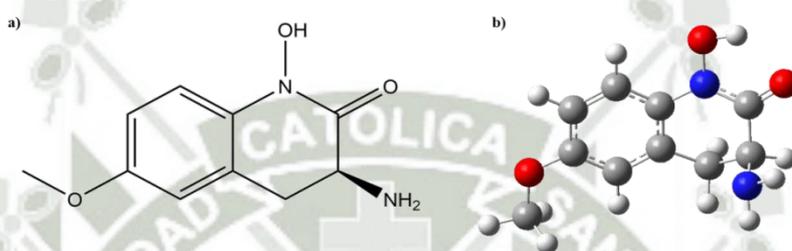


Figura 2.12: Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-metoxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. **a)** Se observa el fármaco en 2D **.b)** Fármaco en 3D elaborado en Mecánica Cuántica en el programa Gaussian.

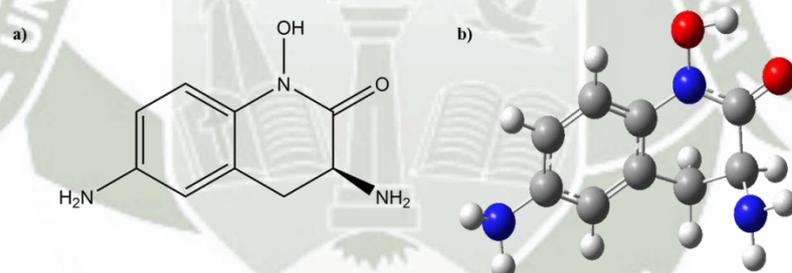


Figura 2.13: Fármaco (3S)-3,6-diamino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona **a)** Se observa el fármaco en 2D **.b)** Fármaco en 3D elaborado en Mecánica Cuántica en el programa Gaussian.

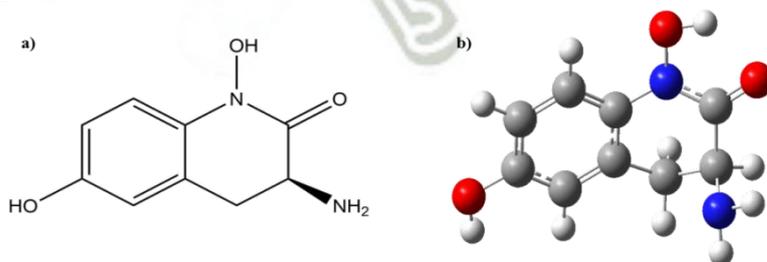


Figura 2.14: Fármaco (3S)-3-amino-1,6-dihidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. **a)** Se observa el fármaco en 2D **.b)** Fármaco en 3D elaborado en Mecánica Cuántica en el programa Gaussian.

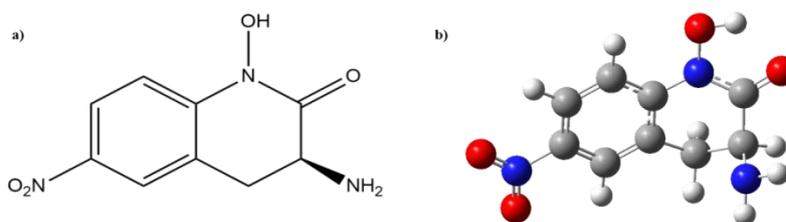


Figura 2.15: Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-nitro-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. **a)** Se observa el fármaco en 2D. **b)** Fármaco en 3D elaborado en Mecánica Cuántica en el programa Gaussian.

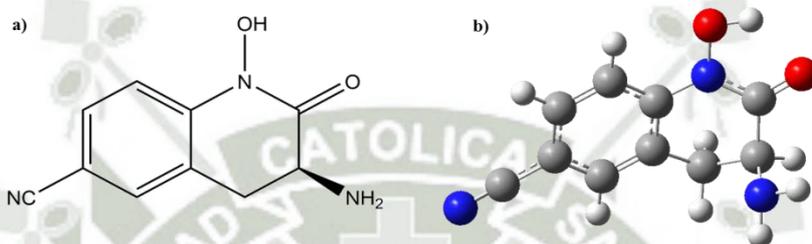


Figura 2.16: Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-nitrilo-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. **a)** Se observa el fármaco en 2D. **b)** Fármaco en 3D elaborado en Mecánica Cuántica en el programa Gaussian.

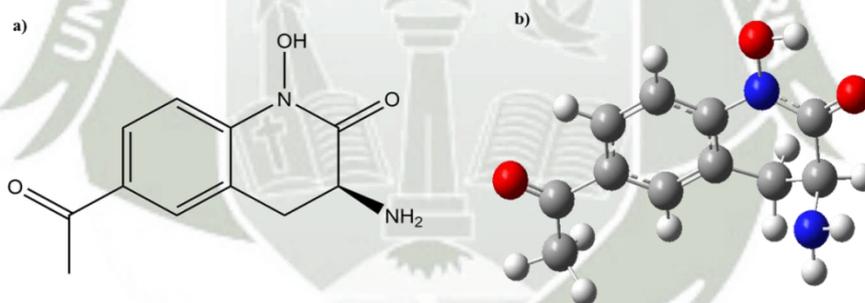


Figura 2.17: Fármaco (3S)-6-acetoxi-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. **a)** Se observa el fármaco en 2D. **b)** Fármaco en 3D elaborado en Mecánica Cuántica en el programa Gaussian.

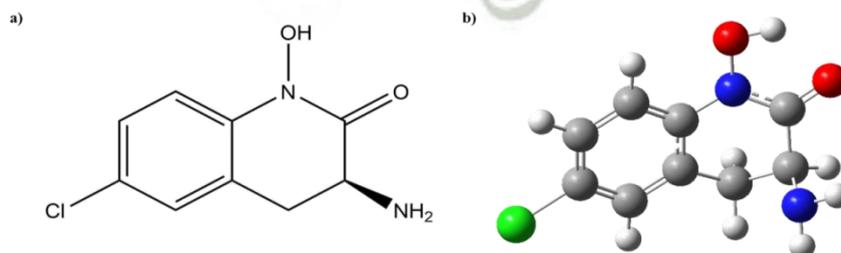


Figura 2.18: Fármaco (3S)-3-amino-6-cloro-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. **a)** Se observa el fármaco en 2D. **b)** Fármaco en 3D elaborado en Mecánica Cuántica en el programa Gaussian.

Como objetivo de la tesis es adaptar los fármacos creados por el CIIM de Mecánica Cuántica a Mecánica Molecular, con el fin de poder realizar el acoplamiento o Docking.

Se procedió a optimizar el fármaco convirtiéndolo a partir de un punto .xyz a un punto .pdb, esto se hizo quitándole la cabecera del archivo, luego se procedió a optimizar el .pdb, colocándole, ATOM por HETAM y también cambiándole el nombre a cada átomo dándoles el nombre con el que serán declarados posteriormente, todo esto se realizó en el editor de texto Medit; también se optimizaron sus cargas de Mulliken a Hirshfeld, en la máquina de supercomputo de México, esto se realizó para que las cargas de los electrones de cada átomo perteneciente a cada derivado sumen cero.

Debido a que el programa Gromacs está diseñado para macromoléculas no reconoce los fármacos, porque no se encuentran dentro de su sistema; se tuvo que declarar los campos de fuerza correspondientes a cada derivado, esto se hizo dentro del esquema OPLSAA, modificando archivos como *ffbonded*, *ffnobonded*, *atomtype*, *aminoacid*, para solvente explicito lo que significa que tendrá interacción con las aguas, también se tuvo que crear una caja de simulación en el programa Molden para cada derivado, esto con el fin de darle las condiciones para la simulación, se les hará una minimización para generar los archivos de topología en un plano *x,y,z*.

Se hará dentro de un ensamble canónico NVT a número de átomos, volumen, y temperatura constante, con un termostato de Noose Hoover con energía en equilibrio, también se le hizo una minimización de sus energías y una dinámica molecular.

Se hizo su RMSD (razón media cuadrática), la gráfica nos indica que se encuentran dentro del rango sin mucha oscilación entre átomo y átomo.

2.5 Simulación de Dinámica Molecular

Para ello los diferentes modelos obtenidos fueron calculados mediante mecánica clásica en el programa computacional GROMACS, en ello se consideró las condiciones periódicas de contorno, una temperatura de 36.5°C regulada con el algoritmo de Nose-Hoover (termostato), el sistema bajo el colectivo canónico NVT (número de moléculas, volumen y temperatura constante) y el campo de fuerza OPLSAA, con una trayectoria de 200ns.

Primeramente, se escogió un campo de fuerza apropiado (OPLSAA) para el sistema, el cual describe cómo las partículas dentro del sistema interactúan entre sí.

Para esto se obtuvo los *.pdb* en los que se generan los archivos de coordenadas sin procesar para el sistema.

Luego se obtuvo el archivo de topología para el sistema.

En este proceso se creó la caja de simulación para la enzima, la cual tenía 13 nm de tamaño que fue hecho a la medida, igualmente con los derivados del fármaco su caja fue de 3nm, y se usó el solvente explícito el cual permite interactuar con las moléculas de agua en el sistema.

Se ejecutó luego una minimización de la energía del sistema, es necesario para corregir las estructuras de arranque incorrectas causadas en el desarrollo del sistema que podrían bloquearlo; como herramientas necesarias se usaron el *integrador =steep* es un algoritmo que sirve para minimizar la energía, *nsteps*, es el número de pasos para integrar o minimizar las energías.

Después de obtener el sistema con la energía minimizada, se procedió a hacer la dinámica, en el cual se usó el ensamble canónico NVT que es a volumen y temperatura y número de átomos constante, es el último paso donde se ejecutara la corrida para llevar al sistema finalmente a un estado de relajación.

2.6 Ensamblaje o “Docking”

Como primera intención se realizó la predicción del acoplamiento con 17 modelos moleculares correspondientes a los fármacos y la proteína KATII optimizada con el programa computacional iGemdock, posteriormente teniendo en cuenta la primera predicción, se realizó un segundo acoplamiento para guiar al fármaco al sitio activo de KATII que viene involucrado en procesos de citotoxicidad.

Para ello se usó el modelo llave-candado, buscando la posición más óptima de dockeo, teniendo en cuenta el sistema rígido-rígido, con la ayuda del programa Hex el cual calcula y muestra modos de acoplamiento viables en proteína – ligando.

Se usó la última versión de Hex en la que se requirió del uso del procesador gráfico GPU, para optimizar aún más el acoplamiento, por ello se hizo la búsqueda proteína –ligando en 3D que hizo uso de los ángulos de rotación buscando la mejor posición de acople.

Se tuvo que usar varios controles que especificaron la correlación y el orden de acoplamiento, el programa realiza un escaneo estérico en la que hace 30,000 evaluaciones de la posición de acoplamiento, quedándose al final con una.

Display Clusters = Best este control es importante ya que selecciono los mejores acoplamientos con menor energía.

Se usó el control *Post Processing=OPLSminimisation*, para eliminar orientaciones falso positivas.

Para finalizar se obtiene un nuevo *.pdb* generado con las coordenadas nuevas del acoplamiento. Se observa en la Figura 2.19.

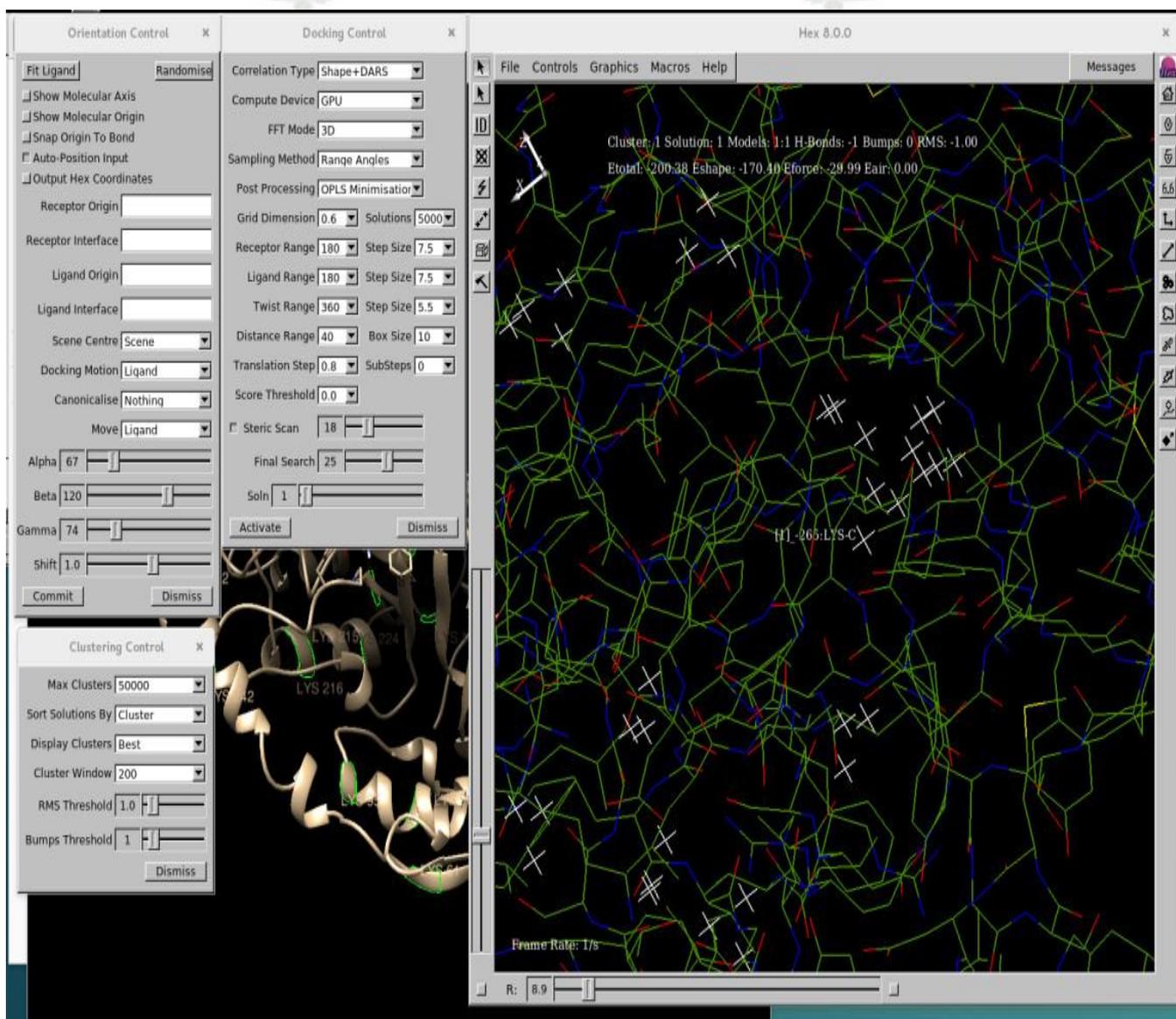


Figura 2.19 Comandos del programa Hex.

CAPÍTULO III

Resultados y Discusión

3.1 Modelo estructural de KAT II

Se hizo una búsqueda exhaustiva de las estructuras más recientes publicadas en el PDB (Protein Data Bank), donde se halló estas estructuras cristalográficas pertenecientes a la KAT II Humana las que son *5EFS*, *2VGZ*, *2QLR* y *5EUN*. Estas estructuras presentaron 1.82503 Å, 2.3 Å, 2.3 Å y 1.825 Å de resolución estructural. Así mismo también se realizó la búsqueda en la base de datos del NCBI (Centro Nacional para la Información Biotecnológica) donde se encontraron 79 estudios relacionados a la Kinurenina Aminotransferasa y sus isoformas, así mismo de estos se tomó en consideración las secuencias correspondientes a los reportados por cristalografía de rayos X. Esto se realizó con el fin de no tener inconvenientes a la hora de realizar los procesos de simulación de dinámica molecular, ya que los archivos de cristalografía de rayos X mostraron ciertas pérdidas debida a la falta de resolución o causa en sí de la difracción, es importante que los archivos de partida o estructuras bajo el formato *.pdb contengan los aminoácidos correspondientes a las proteínas que nos interesa conocer su comportamiento. Se observa en la Figura 3.1

The image shows a search for the enzyme KAT-II. On the left, the Protein Data Bank (PDB) search results are displayed, showing four entries: 2QLR, 2VGZ, SEFS, and 4EUN. The entry 4EUN is circled in red. On the right, the NCBI search results for 'KATII HUMAN' are shown, listing 15 items including various isoforms of kynurenine/alpha-aminoadipate aminotransferase from Homo sapiens, with accession numbers and links to GenPept, Medical Proteins, FASTA, and Graphics.

Figura 3.1: Búsqueda de la Enzima KAT-II en fuentes confiables como son PDB y NCBI.

Por otro lado con el fin de conseguir una estructura de partida altamente confiable, se procedió a realizar una comparación de los aminoácidos de las estructuras encontradas en el PDB, para ello se usó el método de alineamiento múltiple de secuencias en el programa UGENE versión 1.25 mediante el algoritmo ClustalW , como se ve en la Figura 3.2.

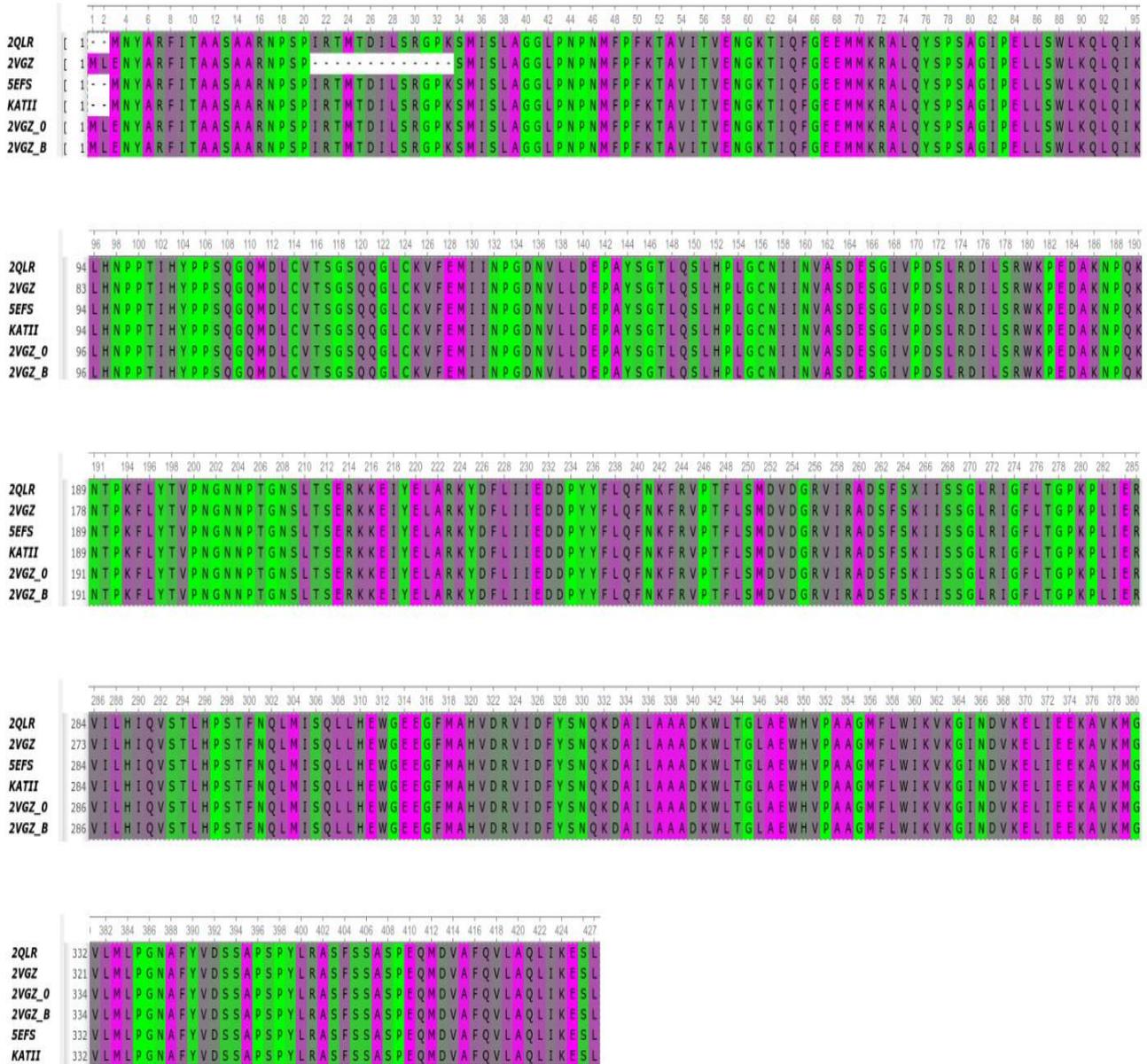


Figura 3.2: Se hizo un alineamiento de los formatos fasta con el fin de conseguir la secuencia aminoacídica más completa.

Aquí se muestra que el modelo más completo es el 5EUN, sin embargo mediante el programa Molden se adicionó los aminoácidos que se encuentran al inicio de la proteína (MET, LEU, GLU), en la Figura 3.3.

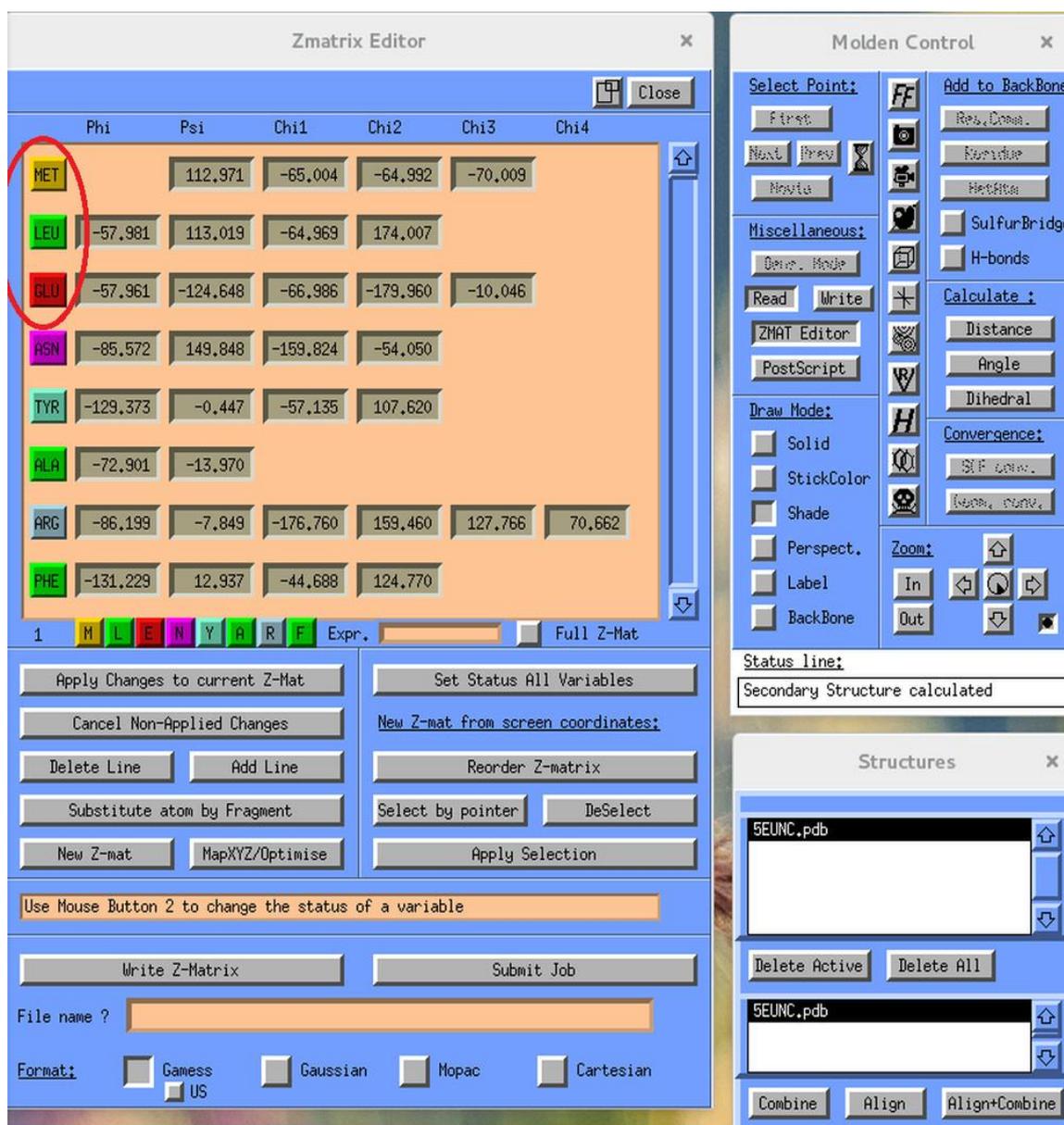


Figura 3.3 Modificación de los aminoácidos en el visualizador Molden.

Con el modelo estructural obtenido **5EUN** se procedió revisar las coordenados XYZ de los aminoácidos, el cofactor PLP y eliminar los restos que no corresponden a la estructura en sí. El proceso de la eliminación se puede apreciar en la Figura 3.4, antes y después de remover los átomos espurios de la estructura de Rayos-X.

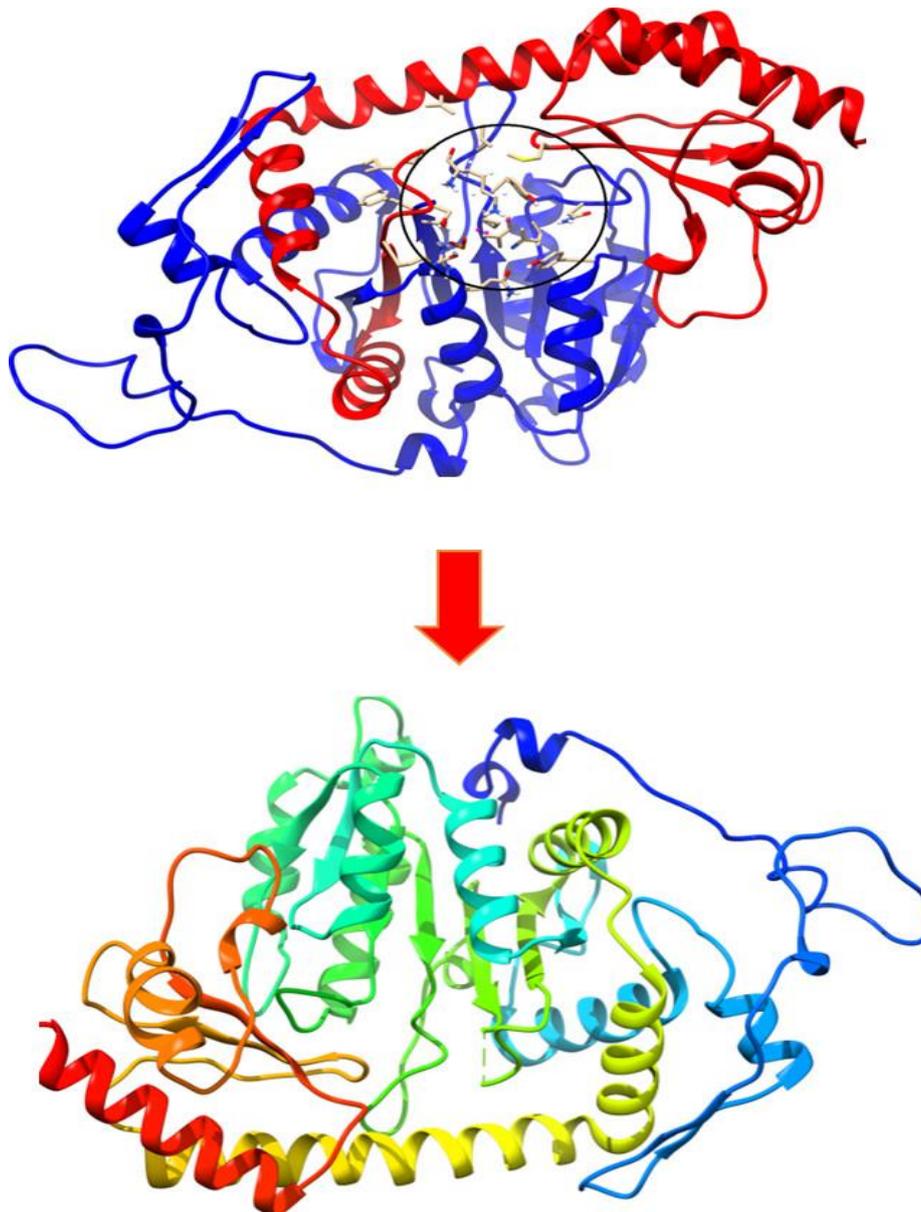


Figura 3.4: Se visualizó en el programa Chimera 1.10.1 que la enzima no este fragmentada como inicialmente lo estaba.

Para fines de la tesis se trabajó con la enzima completa conteniendo 425 aminoácidos y en forma adicional, con su cofactor denominado Piridoxal-5-fosfato (PLP). Luego de obtener las coordenadas limpias de la estructura y adicionalmente completada aquellos aminoácidos faltantes, se escribió un archivo en formato *.pdb*, con ello tenemos listo los requerimientos para nuestro proceso de simulación.

Se realizaron las primeras pruebas de simulación en el programa Gromacs, las cuales en principio no generaban buenos resultados, debido a que el sistema tiene integrado el reconocimiento para proteínas, adn, arn y lípidos; por lo que al tener la presencia del cofactor PLP en el modelo estructural fue necesario la incorporación de los datos

correspondientes a las cargas, distancias de enlace, ángulos y dihedros, esto en base a la forma estructural del PLP. Con los datos del PLP incluidos en el sistema del campo de fuerza OPLSAA de Gromacs, se inició la simulación de dinámica molecular, donde los primeros pasos a seguir fueron los de crear una caja cúbica donde la proteína fue incluida en el centro, teniendo en cuenta una distancia de 13nm por cada lado de la caja. Seguidamente se solvató con moléculas de agua explícita (modelo de agua SPC216) y se procedió a una minimización de las fuerzas del sistema, como paso previo a la simulación de dinámica molecular, debido fundamentalmente a que, si las fuerzas son máximas, podemos tener un sistema inestable, donde los átomos pueden repelerse ficticiamente. Una vez minimizado el sistema, se preparó nuestra molécula para la simulación, fijando las condiciones en del ensamble canónico “NVT”, la temperatura de 36.5°C lo que equivale a 309.65°K, para ello se hizo uso del termostato Nosé-Hoover, se consideró una interacción entre las proteínas y el solvente para evitar algún punto de acumulación de energía cinética, la simulación se llevó a cabo por un periodo de tiempo de 200ns de dinámica.

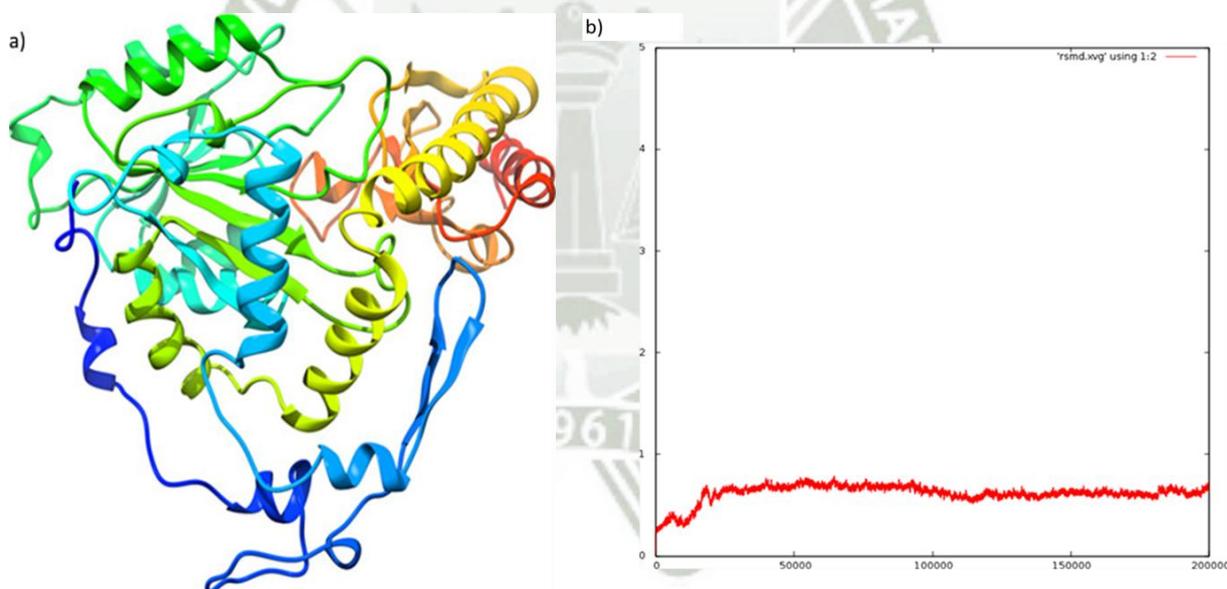


Figura 3.5: a) Enzima promedio después de la simulación en dinámica molecular. b) Grafica de la razón media cuadrática (RMSD) en la que se evaluó en un trayecto de tiempo de 200ns.

Una vez finalizado la simulación de dinámica molecular para el sistema proteína – agua, se extrajo la estructura promedio y su RMSD, esto se presenta en la Figura 3.5.

Así mismo se obtuvo una aproximación general de la energía total de la KAT II a una temperatura constante, mostrándonos que durante la trayectoria se mantuvo constante hasta culminar el proceso de simulación (ver Figura 3.6). La estructura promedio, fue minimizada, para poder realizar su diagrama de Ramachandran.

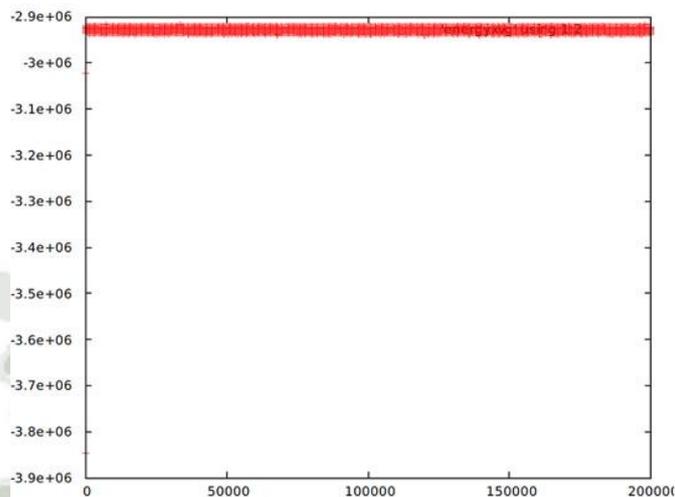


Figura 3.6: La grafica de la energía de la enzima se mantiene en fluctuaciones constantes durante un rango de tiempo de 200ns.

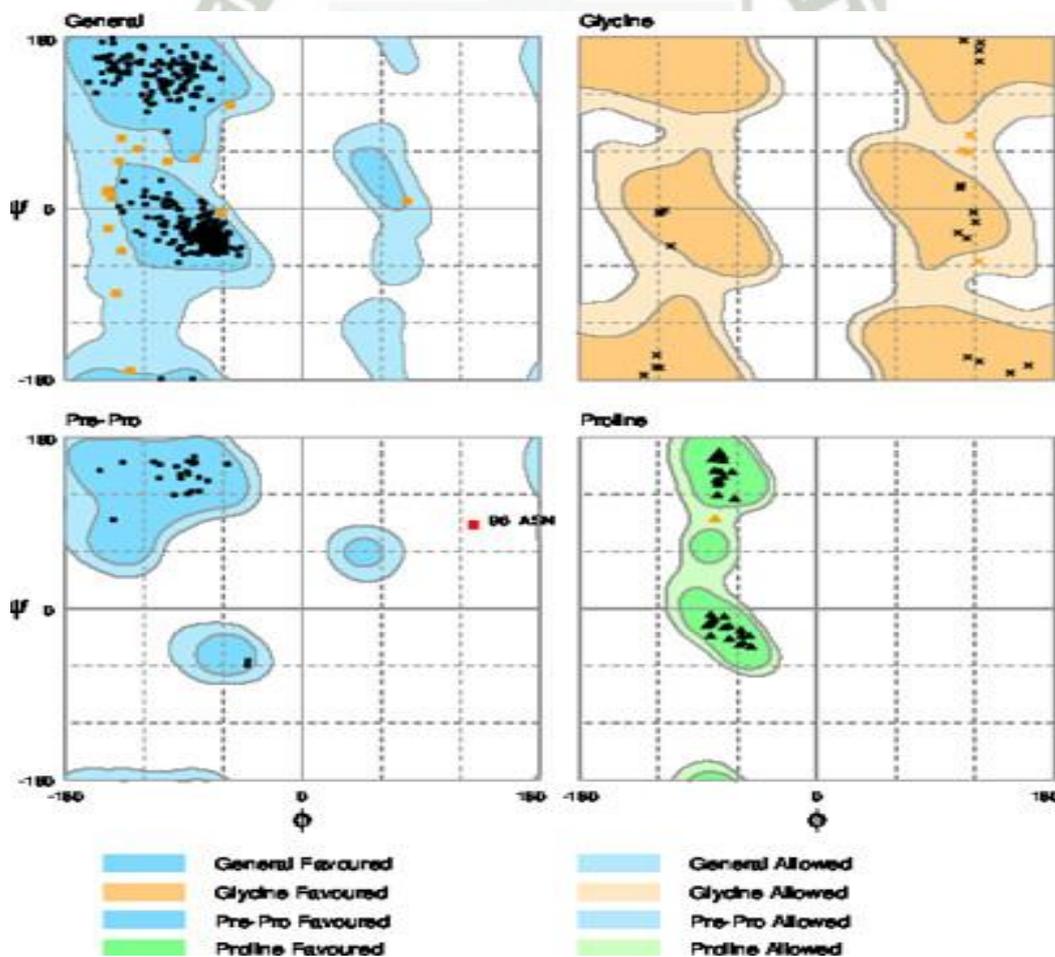


Figura 3.7: Mapeo de Ramachandran.

El diagrama de Ramachandran se presenta en la Figura 3.7, el cual nos indica un buen porcentaje de los aminoácidos en las regiones favorecidas correspondientes a KAT-II equivalente a un 95.0%, un 4.8% de regiones permitidas y un 0.2% de regiones periférica, lo que quiere decir que el mayor porcentaje de la sumatoria de 100%, los aminoácidos se encuentran en regiones favorecidas. Los residuos de aminoácidos que se encuentran en zonas permitidas son prolina, metionina, glicina, asparagina en posición 57, histidina, serina, glicina, treonina, ácido aspártico, fenilalanina, arginina, tirosina, valina, representando el 4,8% y en la región de valores atípicos se encuentra la asparagina en posición 96 representando el 0.2% en zona no permitida. Para fines de la tesis estos resultados son muy favorables indicándonos que la estructura secundaria es estable.

3.2 Modelo estructural para los 17 derivados del fármaco

Las estructuras de los fármacos, fueron realizados en el contexto del proyecto PIBAP-140-2015, los cuales me fueron proporcionados en un formato de coordenadas cartesianas, “xyz”, el cual fue convertido a formato *pdb* mediante el uso del programa Babel en su distribución de Linux, debido a que los moléculas como los fármacos en el presente estudio, no se encontraban definidos en los campos de fuerza del programa Gromacs, se procedió a crear los respectivos campos de fuerza para cada fármaco, en el contexto del potencial tipo OPLSAA, donde tuvimos que definir átomo por átomo, y los correspondientes términos enlazantes, y no enlazantes, para los 17 fármacos y en el caso de las cargas para el término Coulombico, usamos el análisis poblacional de Hirshfeld. Esto se logró modificando los archivos del programa Gromacs: *aminoacids*, *atomtype*, *ffbonded*, *ffnonbonded*, los cuales en nuestra distribución de Linux, se encuentra localizados en: `/usr/local/Gromacs/share/Gromacs/top/oplsaa`.

Para verificar el correcto funcionamiento de nuestros nuevos archivos, realizamos una prueba, obteniendo el resultado que se muestra en la Figura 3.8, nos podemos dar cuenta que presentaba un error en las definiciones, esto nos permitió realizar las correcciones correspondientes, antes de proceder al proceso de la simulación de la dinámica molecular de todos los fármacos.

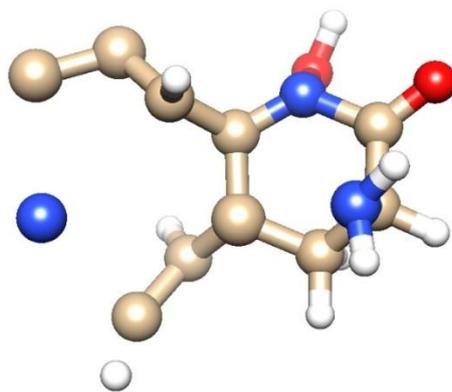


Figura 3.8: Se debe declarar correctamente cada átomo, para que al momento de la dinámica el fármaco no se rompa como se ve en la imagen de la izquierda.

Una vez que se declararon los campos de fuerza adecuadamente, se procedió a hacer una minimización de las fuerzas de los centros atómicos, y posterior a ello se definió las condiciones para una simulación de dinámica molecular, que fueran en general similares a la de la proteína, por tanto se tomó como temperatura de referencia 36.5°C , equivalente a 309.65°K , esto para un ensamble Canónico, NVT, cuyo termostato elegido fue el de Nosé-Hoover, se puso al fármaco en una caja cubica de 3 nm, y se le agrego el solvente en forma explícita en su modelo spc216, considerando una densidad de 1.0g/l, la trayectoria de la simulación, se dejó por un tiempo de 100ns, debido a que buscamos la estabilización del campo del fuerza como de la estructura. Este procedimiento se realizó para los 17 fármacos (16 estructuras sustituidas y el fármaco original), en las mismas condiciones, verificando para todos los casos, se llegue a la zona de equilibrio del sistema o región asintótica del RMSD.

Una vez culminado el proceso de simulación de dinámica molecular, se procedió a extraer la estructura promedio en las respectivas zonas de equilibrio para cada uno de los casos, esto fue definido mediante el análisis de la gráfica de los RMSD, ya que no podemos hacer un diagrama de Ramachandran debido a que no son proteínas o aminoácidos esenciales. Para el caso del fármaco sin sustituyente, (ver Figura 3.9), podemos observar que el equilibrio se logró en forma temprana, en aproximadamente los 50ps, del tiempo restante, se procedió extraer la estructura promedio y una minimización de las fuerzas sobre la estructura promedio, lo cual es mostrado en la Figura 3.9 para el fármaco sin sustituyente.

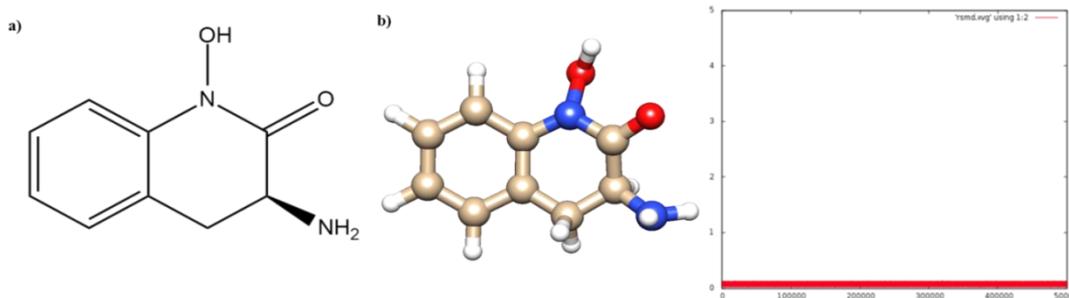


Figura 3.9: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona .b) Está constituido por 23 átomos, presenta estabilidad y equilibrio de acuerdo a su grafica de RMSD en 100ns.

El fármaco con sustituyente en la posición 7 de parte de un grupo metil, fue sometido a las mismas condiciones de simulación de dinámica molecular, al igual que en el caso anterior, se llegó al equilibrio en forma temprano, se procedió a extraer la estructura promedio, y su forma minimizada de las fuerzas, se presentan en la Figura 3.10, así como su diagrama del RMSD.

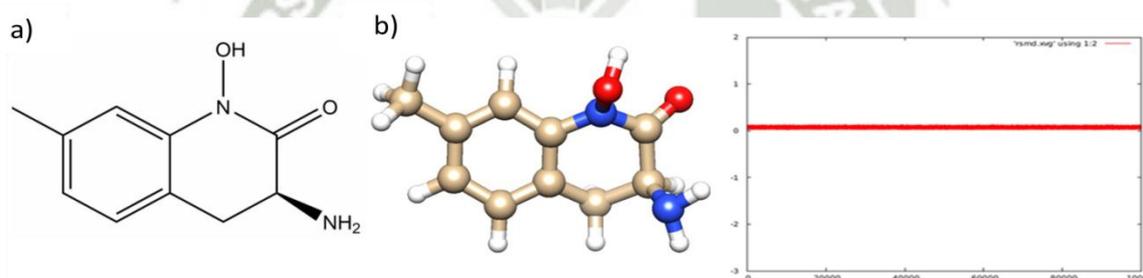


Figura 3.10: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-7metil-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.b) Fármaco con sustituyente metil en la posición 7 y su diagrama de RMSD en 100ns.

En la Figura 3.11, se presenta el fármaco con sustituyente en la posición 7 del anillo fusionado, cuyo sustituyente en este caso es el grupo metóxido, al igual que en los dos casos anteriores, se llega en forma temprana a la zona de equilibrio, eso lo podemos notar desde la gráfica del RMSD que se presenta en la Figura 3.11. Así mismo, podemos observar que el grupo metóxido se posiciona en la misma cara del grupo amino, considerando como planos moleculares a las zonas resonantes del fármaco.

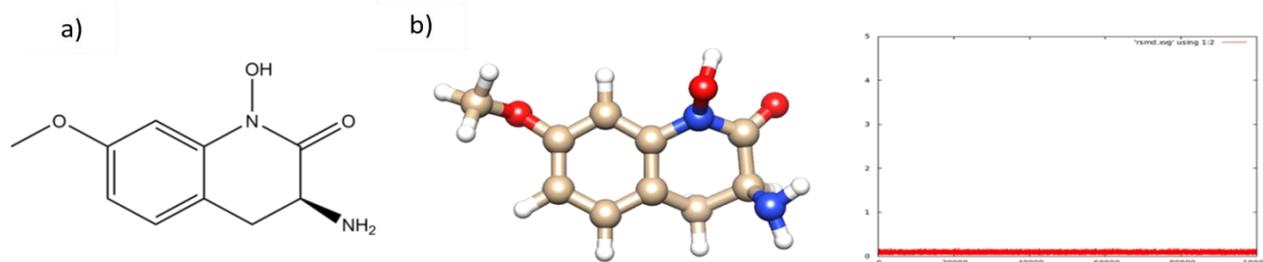


Figura 3.11: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-metoxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Fármaco con sustituyente metóxido en la posición 7, y su diagrama de RMSD en 100ns.

Cuando el fármaco es sustituido en la posición 7 por un grupo amino, se presenta en la Figura 3.12, en donde en forma similar a los casos anteriores, presentamos la estructura promedio y el diagrama de RMSD.

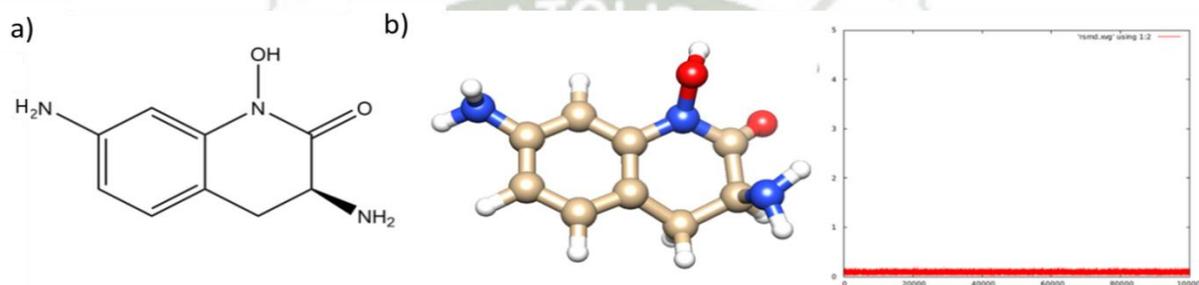


Figura 3.12: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3,7-diamino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Fármaco con sustituyente amino en la posición 7, y su diagrama de RMSD en 100ns.

Para el caso en el cual el sustituyente en la posición 7 es el grupo hidroxilo, presentado en la Figura 3.13, al igual que en los casos anteriores se procedió a una simulación de dinámica molecular por un periodo de 100ns, llegando en forma temprana al equilibrio, por tanto se presenta la estructura promedio de la zona de equilibrio y el diagrama de RMSD, para nuestros fármaco hidroxilado.

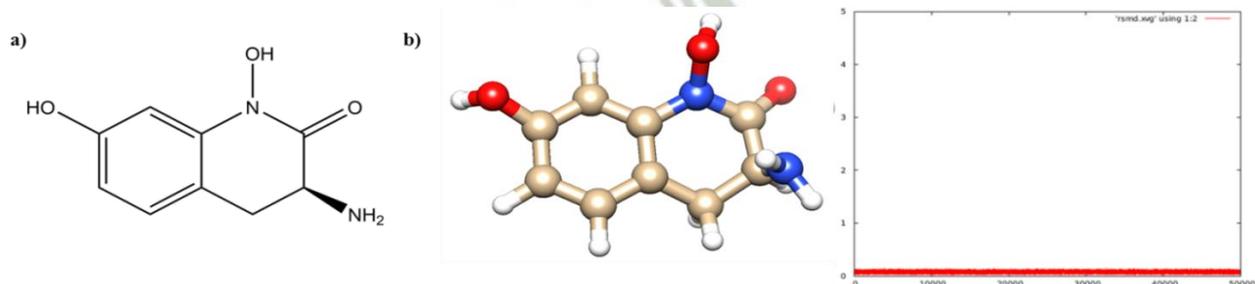


Figura 3.13: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1,7-dihidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Fármaco con sustituyente hidroxilo en la posición 7, y su diagrama de RMSD en 100ns.

Si ahora, el sustituyente es el grupo nitro en la estructura, en la posición 7 del anillo fusionado, también podemos ver en la Figura 3.14, que se llega rápidamente a la zona de equilibrio de la simulación, en lo que refiere el RMSD, entonces se procedió a extraer la estructura promedio que se presenta en la Figura 3.14.

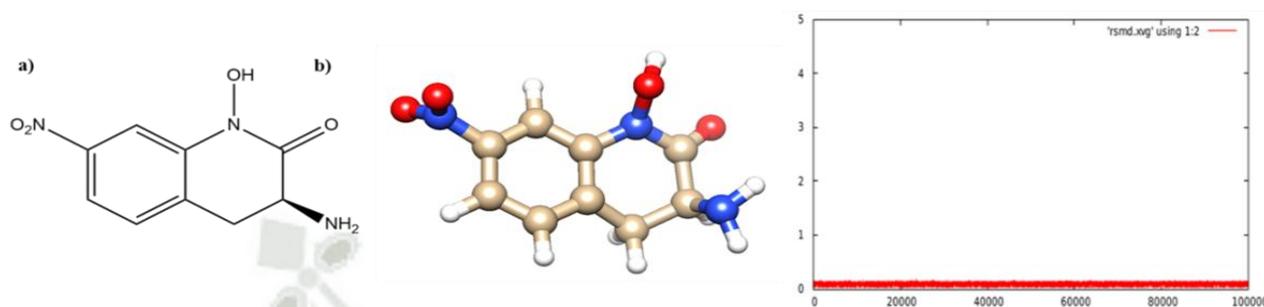


Figura 3.14: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-nitro-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. Fármaco con sustituyente nitro en la posición 7, y su diagrama de RMSD en 100ns.

En el caso cuando el sustituyente es el grupo nitrilo, o ciano, en la posición 7 del anillo fusionado, los resultados se presentan en la Figura 3.15, tanto el RMSD como su estructura promedio minimizada.

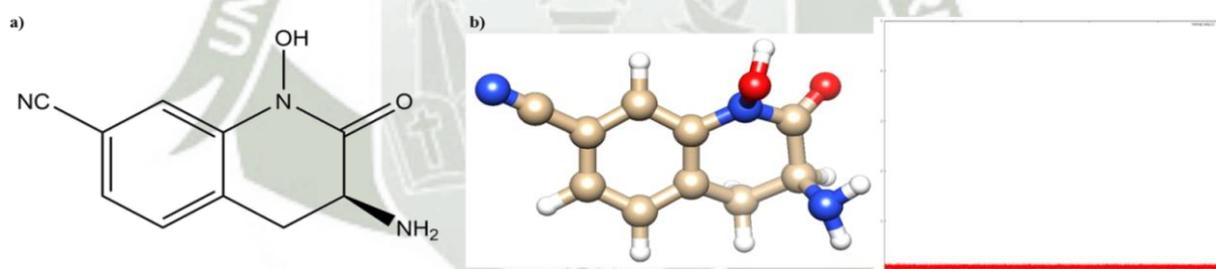


Figura 3.15: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-nitrilo-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Derivado del fármaco con sustituyente nitrilo en la posición 7, y su diagrama de RMSD en 100ns.

Un grupo acetoxilo en la posición 7 de la estructura del anillo fusionado se presenta en la Figura 3.16, en donde presentamos la estructura promedio minimizada y el diagrama del RMSD para la simulación de dinámica molecular de 100ns.

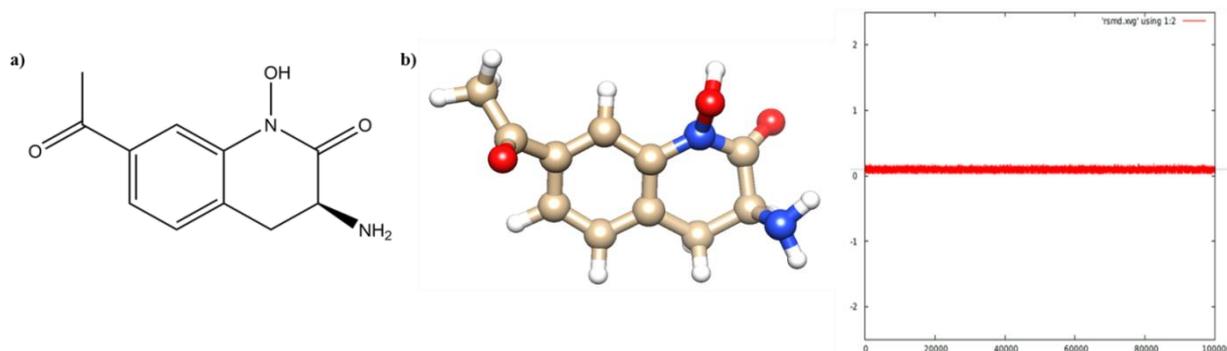


Figura 3.16: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-7-acetoxi-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Fármaco con sustituyente acetoxilo en la posición 7, y su diagrama de RMSD en 100ns.

Como un último sustituyente en la posición 7, se presenta el fármaco con un átomo de cloro, en la Figura 3.17 presentamos la estructura promedio minimizada y su diagrama de RMSD para la simulación de 100ns del sistema.

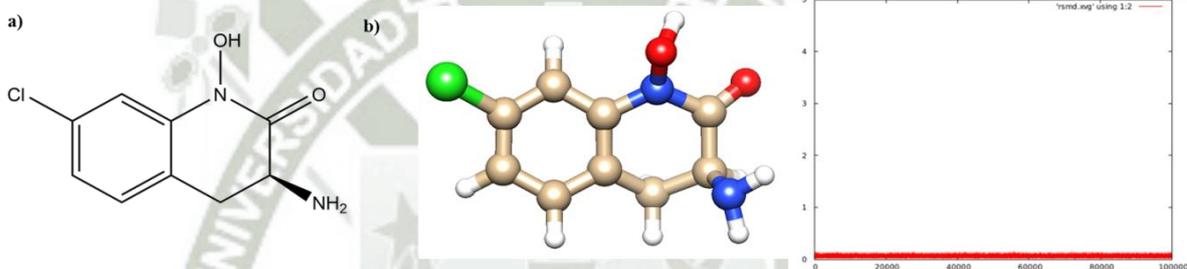


Figura 3.17: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-7-cloro-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Derivado del fármaco con sustituyente cloro en la posición 7, y su diagrama de RMSD en 100ns.

Otro punto de sustitución elegido fue la posición 6 del anillo fusionado, en primer término, sustituimos con un grupo metilo, bajo las mismas condiciones de los sustituyentes en posición 7 del anillo, en la Figura 3.18 se presenta la estructura promedio minimizada y el diagrama de RMSD para la simulación en un tiempo de 100ns.

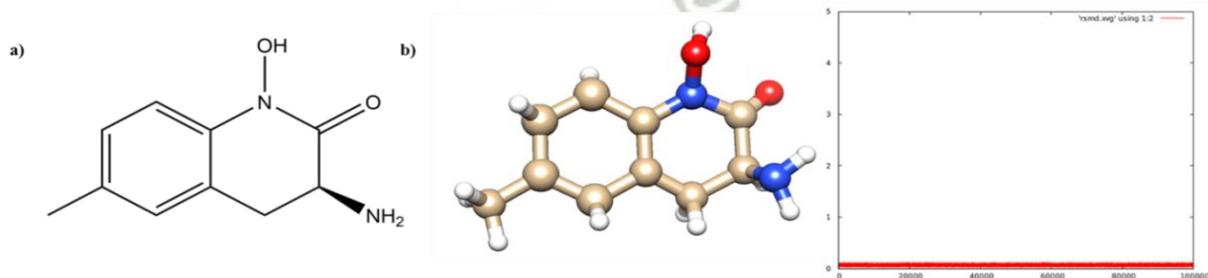


Figura 3.18: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-metil-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Fármaco con sustituyente metil en la posición 6, y su diagrama de RMSD en 100ns.

El siguiente sustituyente en la posición 6 fue el grupo metoxilo, cuya estructura promedio minimizada y su respectivo grafico de RMSD en 100ns para la simulación de dinámica molecular en un tiempo de 100ns se presenta en la Figura 3.19.

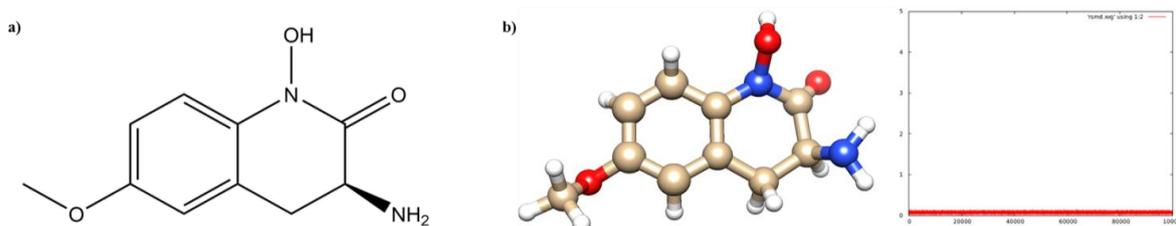


Figura 3.19: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-metoxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Derivado del fármaco con sustituyente metoxilo en la posición 6, y su diagrama de RMSD en 100ns.

El siguiente fármaco a ser evaluado en la posición 6 fue el que tenía como sustituyente al grupo amino, cuya estructura promedio y diagrama de RMSD se presentan en la Figura 3.20.

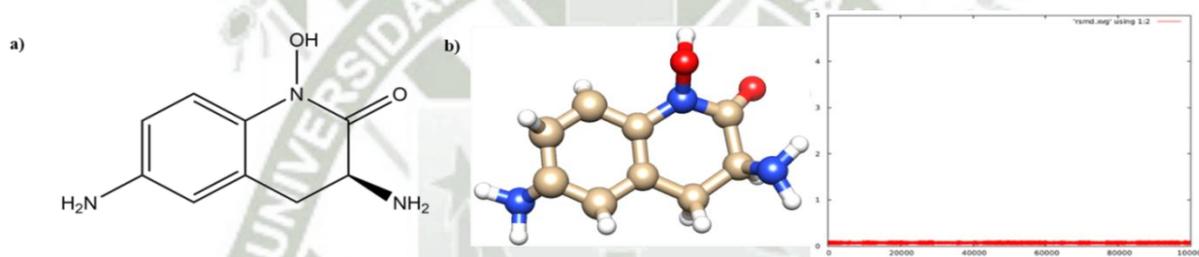


Figura 3.20: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3,6-diamino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Derivado del fármaco con sustituyente amino en la posición 6, y su diagrama de RMSD en 100ns.

Cuando sustituimos en la posición 6 del fármaco con un grupo hidroxilo, como se presenta en la Figura 3.21, en la cual podemos apreciar el fármaco promedio en la zona de equilibrio y su diagrama de RMSD en 100ns.

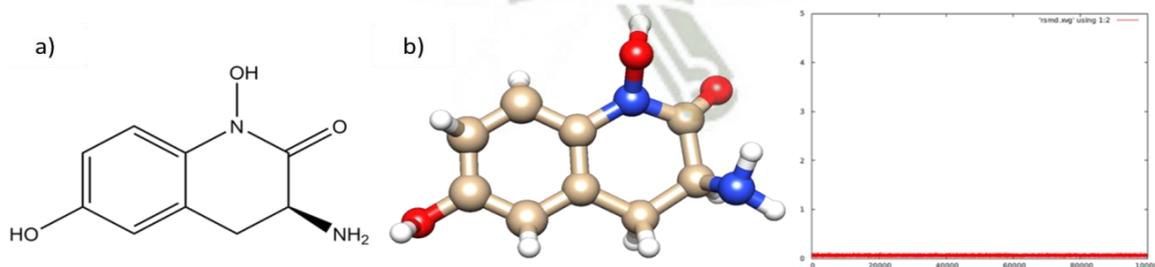


Figura 3.21: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1,6-dihidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Derivado del fármaco con sustituyente hidroxilo en la posición 6, y su diagrama de RMSD en 100ns.

Ahora, si la posición 6 es remplazada por un grupo nitro en la estructura del anillo fusionado, vemos que al igual que en todos los casos anteriores, llegamos a la zona de equilibrio rápidamente, tanto la estructura promedio de la zona de equilibrio como el diagrama de RMSD en 100ns para la simulación de dinámica molecular, se presentan en la Figura 3.22.

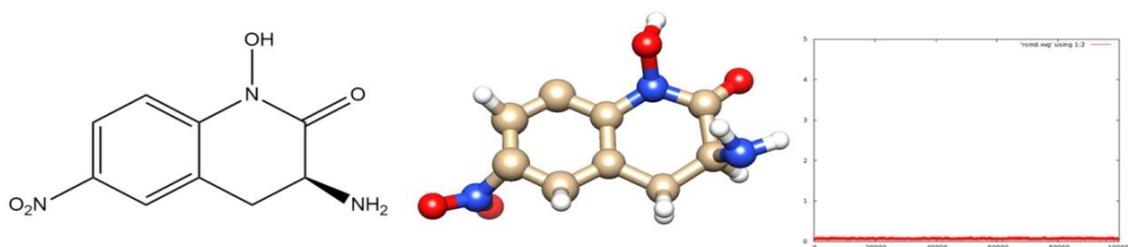


Figura 3.22: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-nitro-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Fármaco con sustituyente nitro en la posición 6, y su diagrama de RMSD en 100ns.

Una vez que al fármaco lo hemos sustituido con el grupo nitrilo (ciano) en la posición 6 de los anillos fusionados, la estructura promedio minimizada y el diagrama de RMSD en 100ns, se presentan en la Figura 3.23.

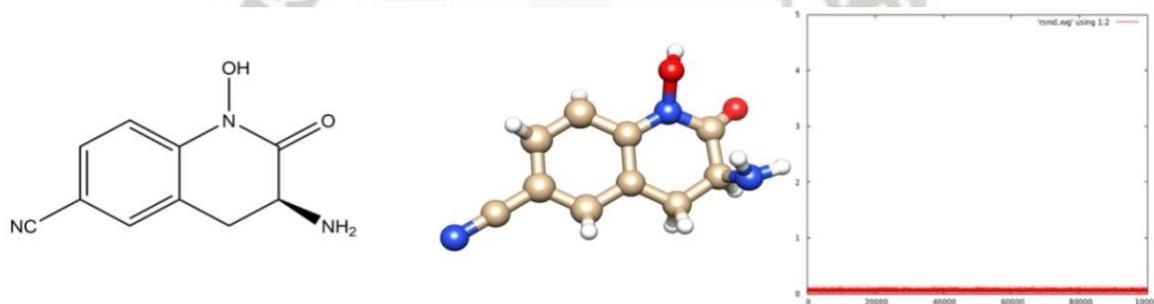


Figura 3.23: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-nitrilo-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Fármaco con sustituyente nitrilo en la posición 6, y su diagrama de RMSD en 100ns.

Si ahora, introducimos el sustituyente acetoxilo, en la posición 6 del fármaco, y procedemos al igual que en los casos anteriores, logramos la estructura promedio minimizada, y su diagrama de RMSD en 100ns, como observamos en la Figura 3.24.

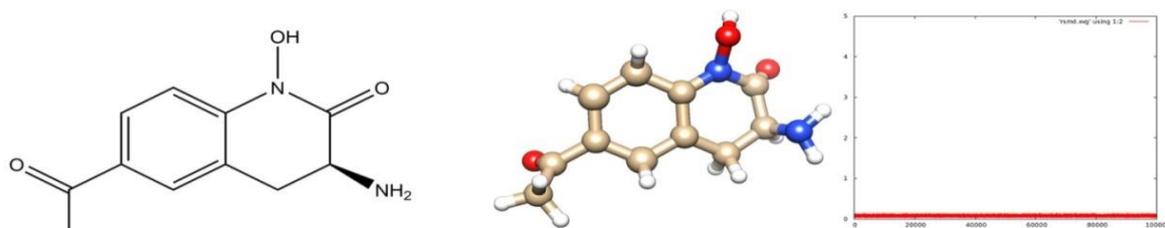


Figura 3.24: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-6-acetoxi-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Fármaco con sustituyente acetoxilo en la posición 6, y su diagrama de RMSD.

Por último, se introdujo el sustituyente cloro en la posición 6 del fármaco, y sus resultados como la estructura promedio minimizada, y su diagrama de RMSD se prestan en la Figura 3.25.

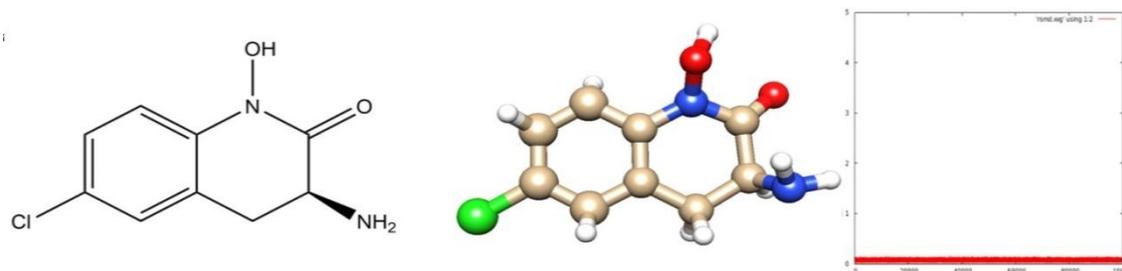


Figura 3.25: a) Estructura en 2D del fármaco (3S)-3-amino-6-cloro-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona. b) Fármaco con sustituyente cloro en la posición 6, y su diagrama de RMSD en 100ns.

En todos los casos podemos observar como curiosidad que los hidrógenos del anillo aromático, no se hallan en el plano, esto se debe a que estamos mostrando en todas las gráficas la estructura promedio, y no la estructura en su estado fundamental.

3.3 Sistemas interactuantes

La primera intención de acoplamiento en el programa iGemdock nos muestra que los 17 fármacos se acoplaron en tres regiones o sitios activos de la KATII (ver Figura 3.26), teniendo en cuenta que la región que presenta el cofactor es una zona cargada positivamente (Figura 3.27), así mismo nos damos cuenta que cuando el sistema actúa como homodímero los fármacos se aproximan a uno de sus sitios activos que contiene al cofactor PLP, como se muestra en la Figura 3.28 y vemos que el potencial electrostático indica que se mantiene la región cargada positivamente del cofactor PLP (Figura 3.29).

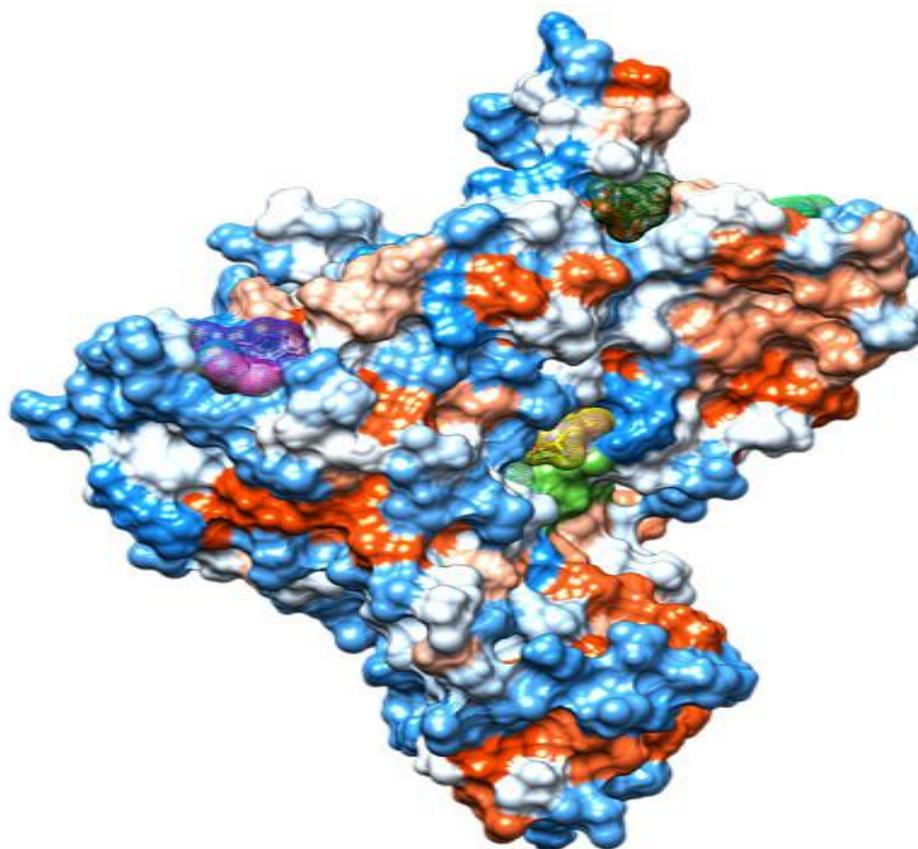


Figura 3.26 Imagen que muestra la superficie hidrofóbica (naranja) e hidrofílica (azul) de la enzima KATII acoplada a los fármacos.

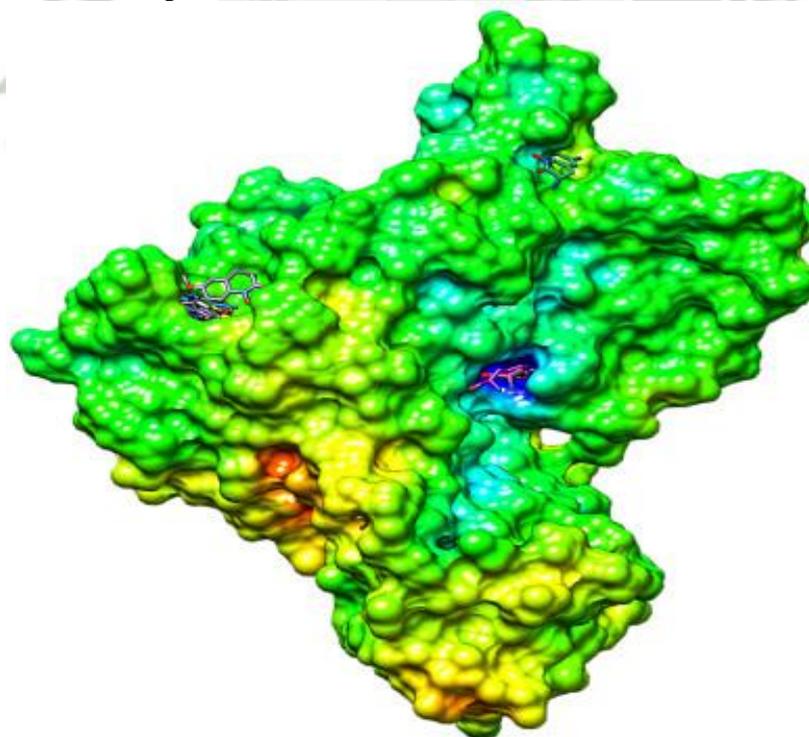


Figura 3.27 Imagen que muestra la superficie de potencial electrostático, de color azul la región cargada positivamente y de color naranja región negativa, así mismo los ligandos que se ubican en los sitios activos.

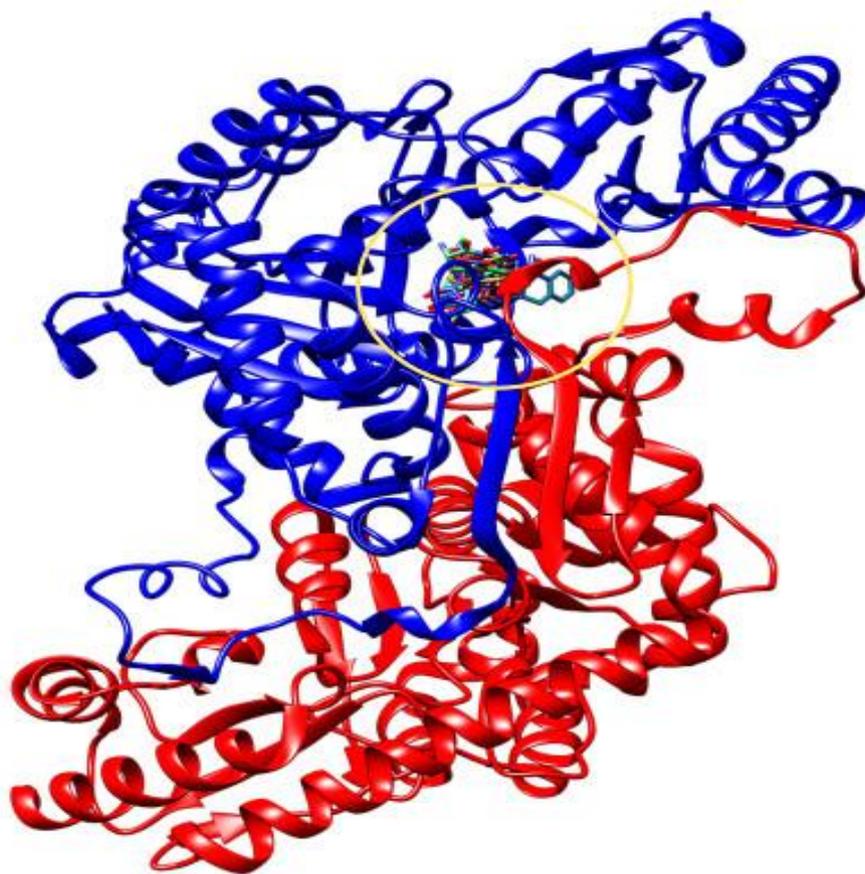
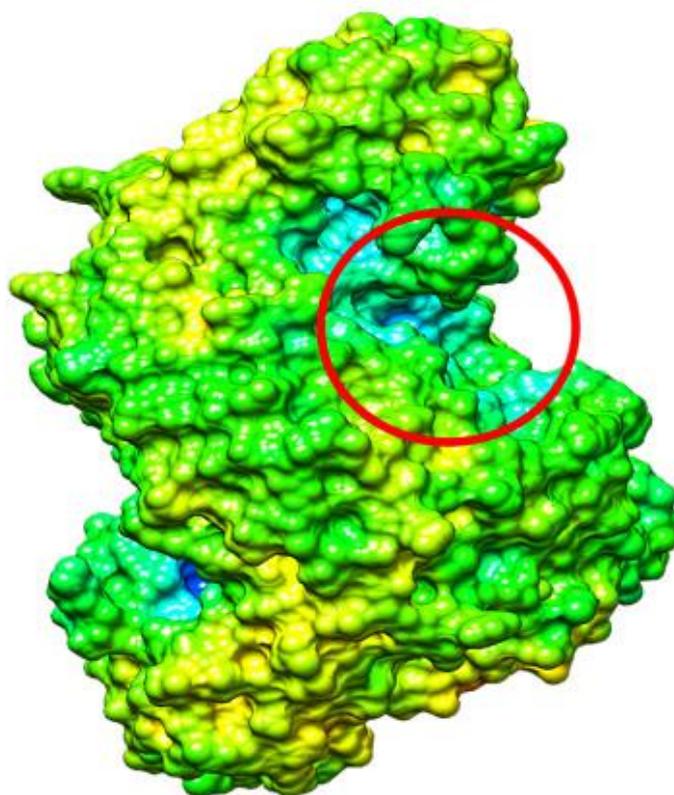


Figura 3.28 Imagen del homodimero KATII en acoplamiento con los 17 fármacos.



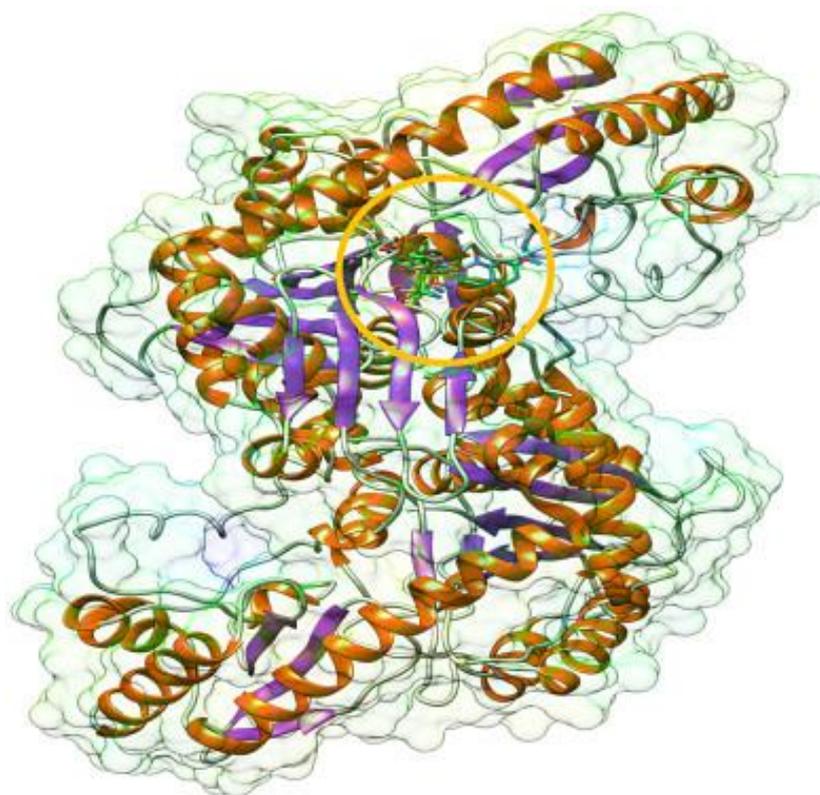


Figura 3.29 Superficie del potencial electrostático del acoplamiento de los fármacos con el homodímero KATII.

Acoplamiento	Energía Total	
	K.I/mol	E Kcal/mol
KATII – Farmaco 1	-83.2689	-19.88884351
KATII – Farmaco 2	-58.6438	-14.006831
KATII – Farmaco 3	-89.9022	-21.4727716
KATII – Farmaco 4	-89.6353	-21.4090236
KATII – Farmaco 5	-81.4221	-19.4473345
KATII – Farmaco 6	-85.0441	-20.3124343
KATII – Farmaco 7	-81.1198	-19.37511314
KATII – Farmaco 8	-74.3717	-17.7633754
KATII – Farmaco 9	-80.8558	-19.312076
KATII – Farmaco 10	-74.4612	-17.7847521
KATII – Farmaco 11	-70.5679	-16.8548533
KATII – Farmaco 12	-74.9675	-17.9056798
KATII – Farmaco 13	-84.6294	-20.2133849
KATII – Farmaco 14	-85.8348	-20.5012898
KATII – Farmaco 15	-81.6294	-19.4968472
KATII – Farmaco 16	-103.879	-24.8110729
KATII – Farmaco 17	-58.1169	-13.8809831

Tabla 3.1. Se muestran los datos de energía para los diferentes sistemas acoplados, donde podemos observar que el mejor acoplamiento lo hacen los fármacos 3,4 y 16.

Acoplamiento	Energía Total	E Kcal/mol
KATII – Farmaco 1	-65.9159	-15.75
KATII – Farmaco 2	-58.0417	-13.87
KATII – Farmaco 3	-72.0517	-17.22
KATII – Farmaco 4	-70.0462	-16.74
KATII – Farmaco 5	-70.7237	-16.9
KATII – Farmaco 6	-86.1633	-20.59
KATII – Farmaco 7	-79.3637	-18.97
KATII – Farmaco 8	-75.6822	-18.09
KATII – Farmaco 9	-68.8323	-16.45
KATII – Farmaco 10	-70.6031	-16.87
KATII – Farmaco 11	-75.5158	-18.05
KATII – Farmaco 12	-69.6127	-16.64
KATII – Farmaco 13	-72.7469	-17.39
KATII – Farmaco 14	-84.7983	-20.27
KATII – Farmaco 15	-62.2899	-14.89
KATII – Farmaco 16	-73.9125	-17.67
KATII – Farmaco 17	-59.4458	-14.21

Tabla 3.2. Energías de acoplamiento de la primera interacción del homodímero frente a 17 fármacos.

Teniendo en cuenta que los fármacos actúan en un modelo estructural dimérico, pasamos a realizar el proceso de simulación de dinámica molecular. Para ello usamos el programa HEX, el cual nos ayudó a aproximar los fármacos al PLP a un monómero de la KATII y de esta forma obtener un nuevo archivo de partida para continuar con las dinámicas.

Se obtuvieron 17 sistemas acoplados bajo el esquema rígido - rígido, solicitando al programa HEX la estructura con mejor acoplamiento mediante la función score, para un total de 50000 posibles acoplamientos.

La simulación de minimización de energías ubicó al sistema en su estado más bajo energéticamente, la simulación de dinámica molecular ocurrió a condiciones de 309.65°K y en solvente explícito (modelo de agua SPC216), con una duración de 100ns de trayectoria y del proceso de simulación podemos observar que el complejo llega tempranamente al equilibrio, aproximadamente a los 20ns, es de los 80ns restantes que

extraemos la estructura promedio del complejo y minimizamos, esta se presenta en la Figura 3.30, y su respectivo diagrama de RMSD al lado derecho de la Figura.

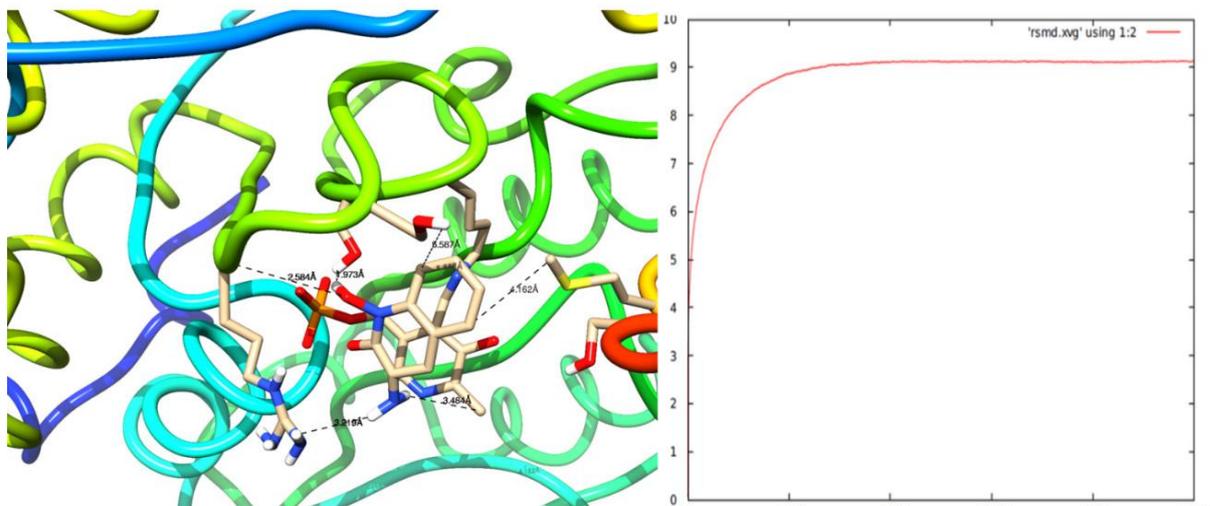


Figura 3.30: Acoplamiento del fármaco con la enzima KAT-II, estructura y RMSD.

Para el caso del fármaco con sustituyente en la posición 7 del anillo fusionado con un radical metilo, la estructura promedio de la dinámica y su diagrama de RMSD se presentan en la Figura 3.31.

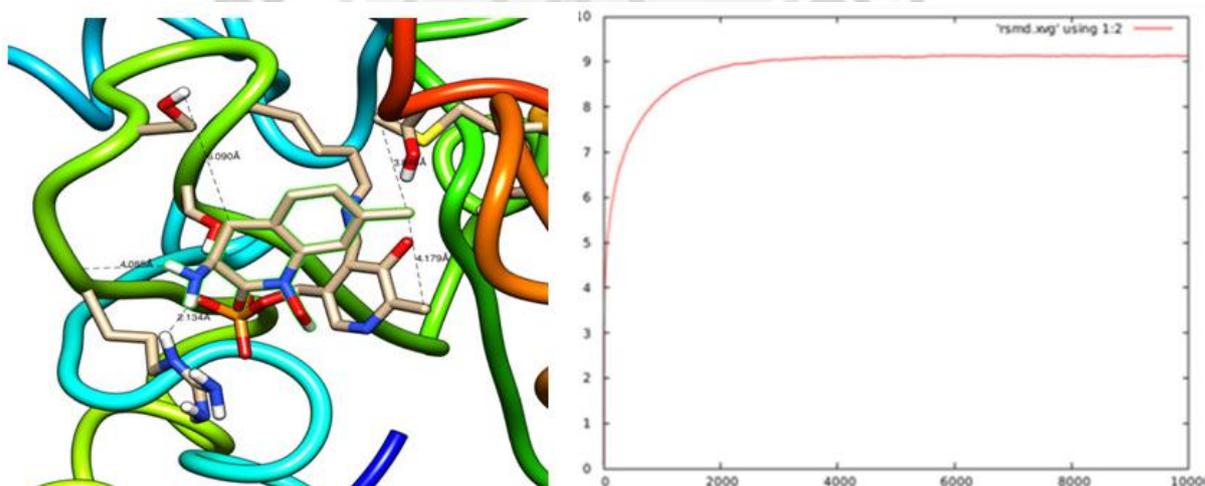


Figura 3.31: Acoplamiento del fármaco con el sustituyente metilo en posición 7 con la enzima KAT-II, su RMSD.

Cuando el sustituyente sobre el fármaco es el grupo metoxilo, observamos que la estructura del ensamblaje después del proceso de simulación de dinámica molecular, llega al equilibrio a los 20 ns, y la estructura promedio minimizada se presenta en la Figura 3.32, al igual que el diagrama del RMSD para todo el proceso de simulación.

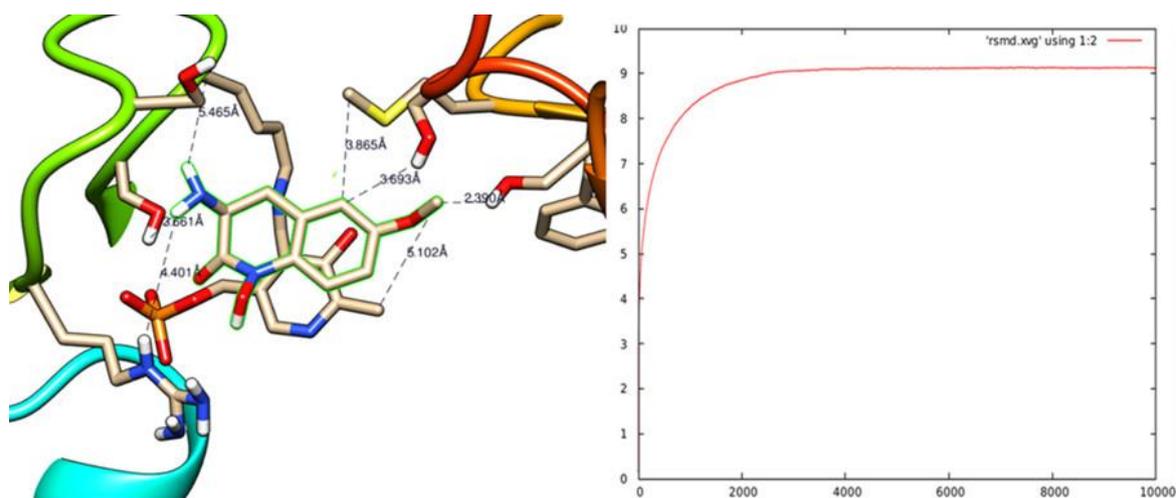


Figura 3.32: Acoplamiento del fármaco con el sustituyente metoxilo en posición 7 con la enzima KAT-II y su RMSD.

Si vemos el caso de la interacción del fármaco con sustituyente en posición 7 con un grupo amina, la simulación molecular a los 20ns ya ha llegado al equilibrio, y la estructura promedio minimizada se presenta en la Figura 3.33, así como el diagrama de RMSD.

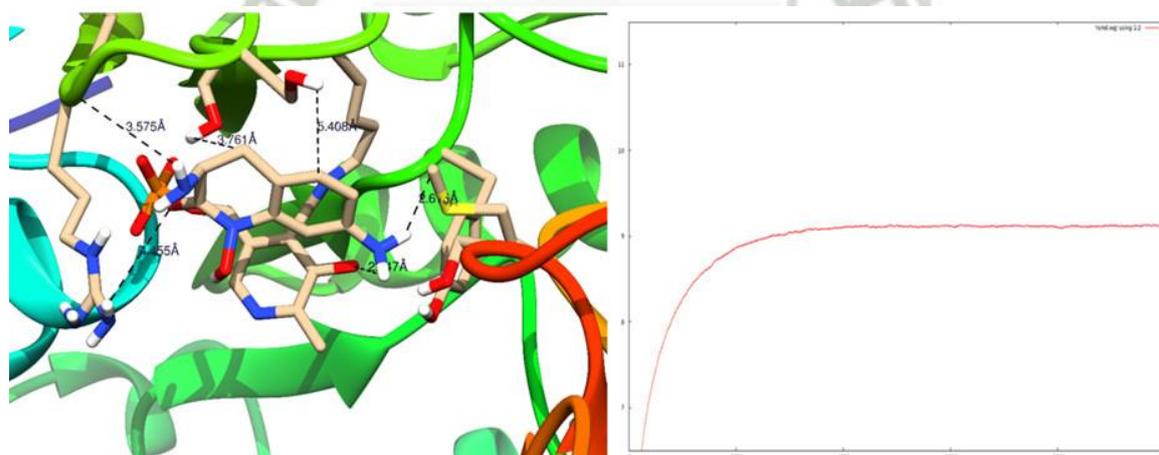


Figura 3.33 Acoplamiento del fármaco con el sustituyente de amina en posición 7, su RMSD.

Cuando el fármaco sustituido en la posición 7 con un grupo hidroxilo, luego del proceso de ensamblaje “Docking”, realizamos una dinámica molecular, en la cual encontramos que a los 20ns se ha llegado prácticamente a la zona de equilibrio, y es con esta información que calculamos la estructura promedio que se muestra en la Figura 3.34.

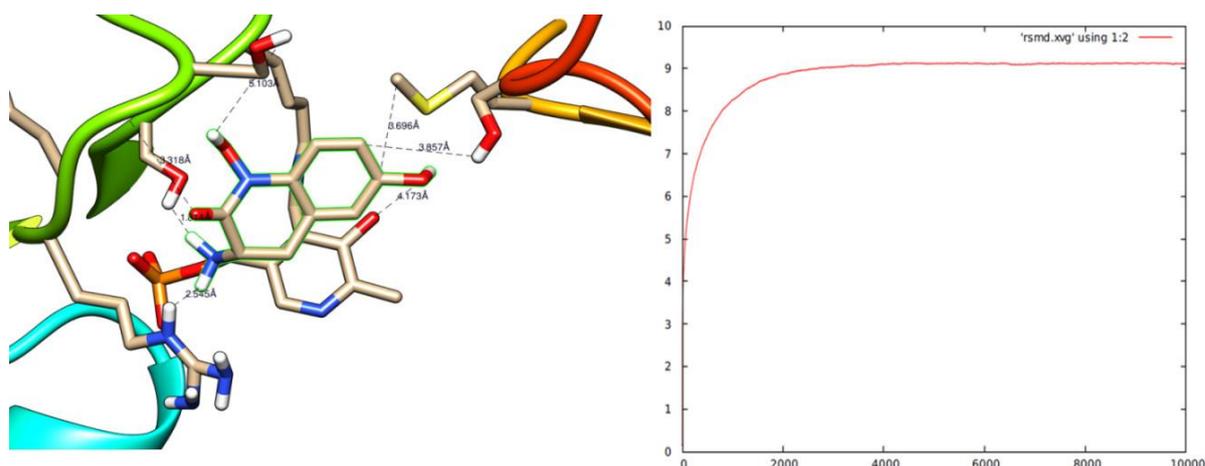


Figura 3.34: Acoplamiento del fármaco con el sustituyente hidroxilo en posición 7 con la enzima KAT-II, su RMSD.

Para el caso en que el sustituyente en la posición 7 es un grupo nitro, el ensamblaje nos brinda una estructura que fue sometida a una simulación de dinámica molecular por 100ns., podemos ver que se llega al equilibrio aproximadamente a los 20ns, la estructura promedio se presenta en la Figura 3.35, así como el diagrama de RMSD.

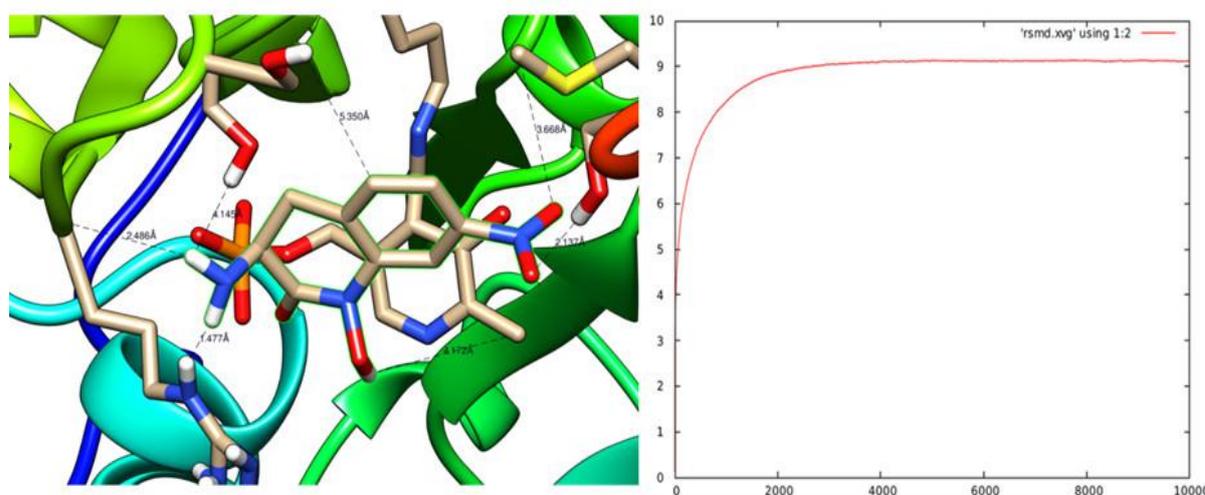


Figura 3.35: Acoplamiento del fármaco con el sustituyente nitro en posición 7 con la enzima KAT-II, su RMSD.

Cuando realizamos la sustitución por un grupo nitrilo o ciano, en la posición 7 del fármaco y se realiza el ensamblaje, y lo sometemos a una dinámica molecular de 100ns, observamos que a los 20ns se logra el equilibrio y la estructura promedio como el diagrama de RMSD se presentan en la Figura 3.36.

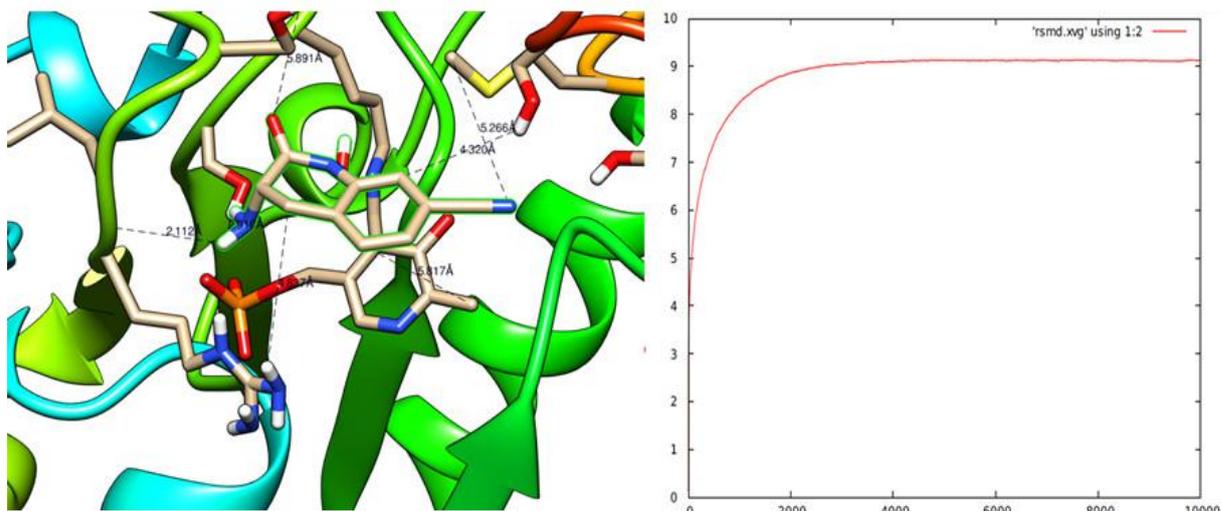


Figura 3.36: Acoplamiento del fármaco con el sustituyente ciano o nitrilo en posición 7 con la enzima KAT-II, su RMSD.

Para el caso de presentar el grupo acetoxilo en la posición 7 del fármaco, el ensamblaje produjo una estructura que fue sometida a dinámica molecular, logrando el equilibrio a un tiempo de aproximadamente 20ns, y la estructura promedio del tiempo restante se presenta en la Figura 3.37.

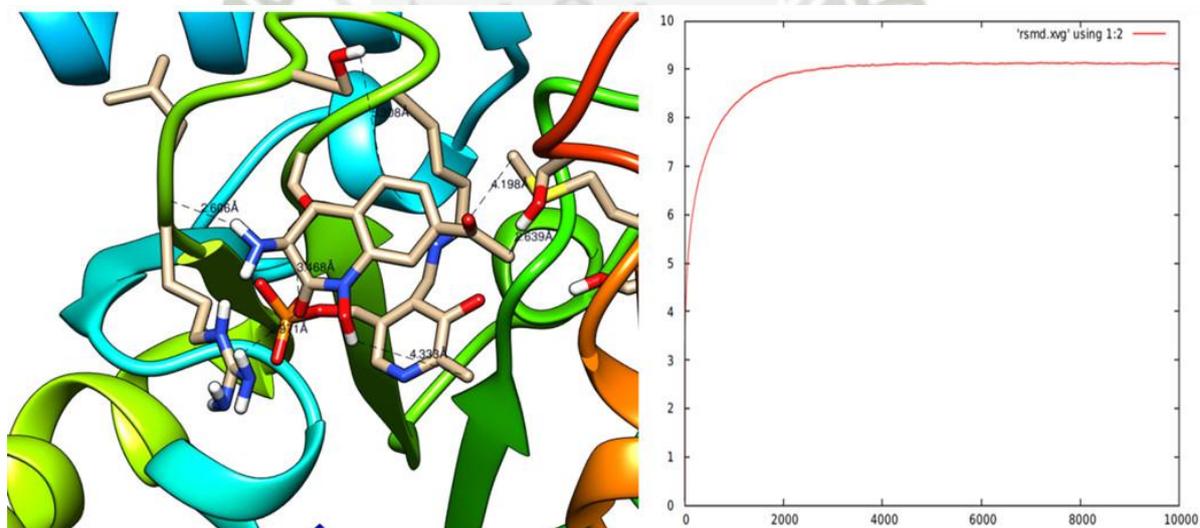


Figura 3.37: Acoplamiento del fármaco con el sustituyente acetoxilo en posición 7 con la enzima KAT-II, su RMSD.

En el caso de tener como sustituyente un átomo de cloro en la posición 7 del fármaco, el ensamblaje y posterior simulación de dinámica molecular nos muestra que a los 20ns se logró el equilibrio, y a los 80ns restantes se le extrajo la estructura promedio, la cual se presenta en la Figura 3.38 junto con su diagrama de RMSD.

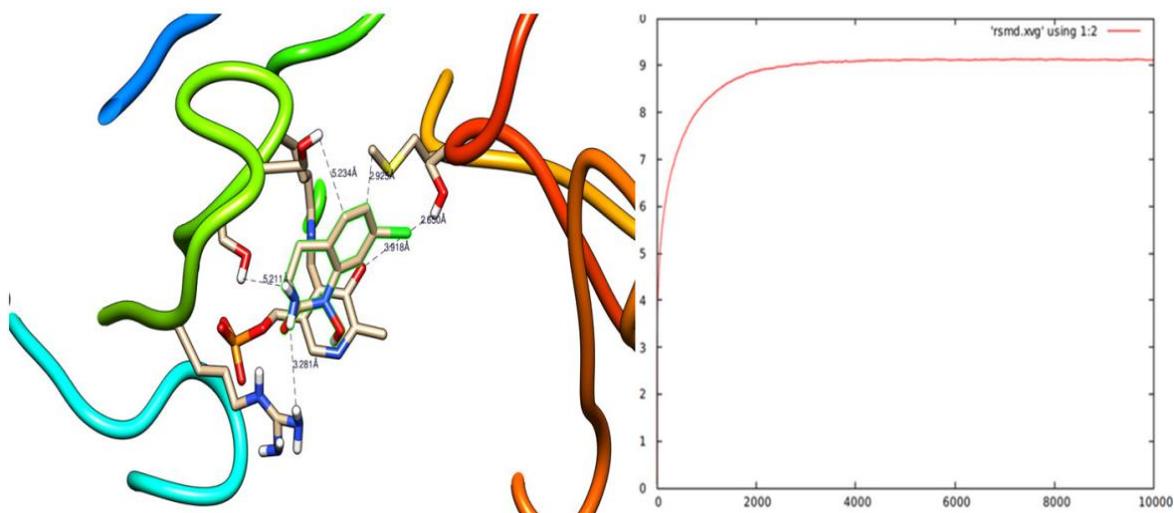


Figura 3.38: Acoplamiento del fármaco con el sustituyente cloro en posición 7 con la enzima KAT-II, su RMSD.

Cuando el fármaco tiene como sustituyente el grupo metilo en la posición 6 del anillo fusionado, luego del ensamblaje, y una simulación de dinámica molecular, logramos una estructura promedio como se presenta en la Figura 3.39, y la zona de equilibrio se llegó en forma temprana como se puede observar en el RMSD.

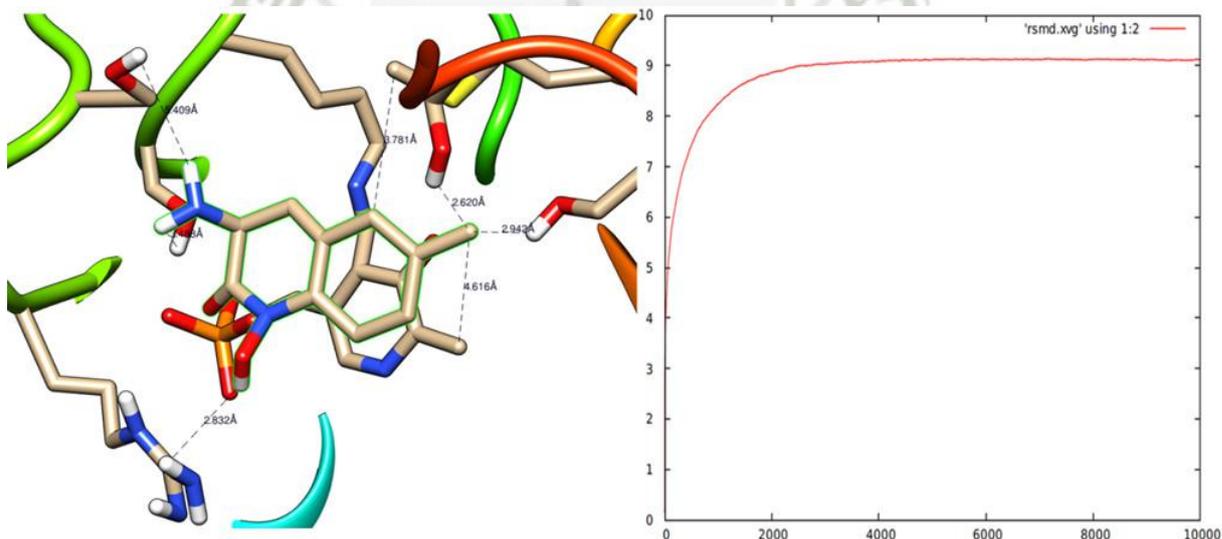


Figura 3.39: Acoplamiento del fármaco con el sustituyente metil en posición 6 con la enzima KAT-II, su RMSD.

Si el fármaco presenta un grupo metoxilo en la posición 6, después de realizar el ensamblaje y la simulación de dinámica molecular, observamos que cerca de los 20ns se ha llegado a la zona de equilibrio, y la estructura promedio del resto de la simulación molecular se obtuvo la estructura promedio que presentamos en la Figura 3.40.

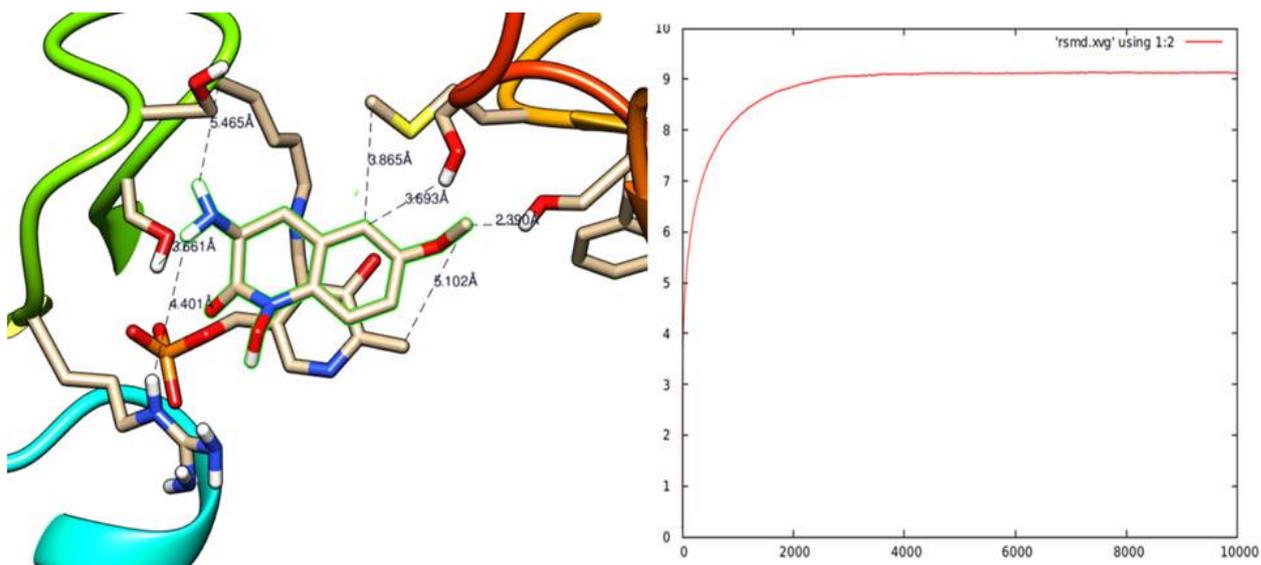


Figura 3.40: Acoplamiento del fármaco con el sustituyente metoxilo en posición 6 con la enzima KAT-II, su RMSD.

Con el fármaco con el sustituyente del grupo amina en la posición 6 del anillo fusionado, después de realizado el ensamblaje o “Docking” y la simulación de dinámica molecular, el equilibrio se logra aproximadamente a los 20ns y del tiempo restante sacamos la estructura promedio como se muestra en la Figura 3.41.

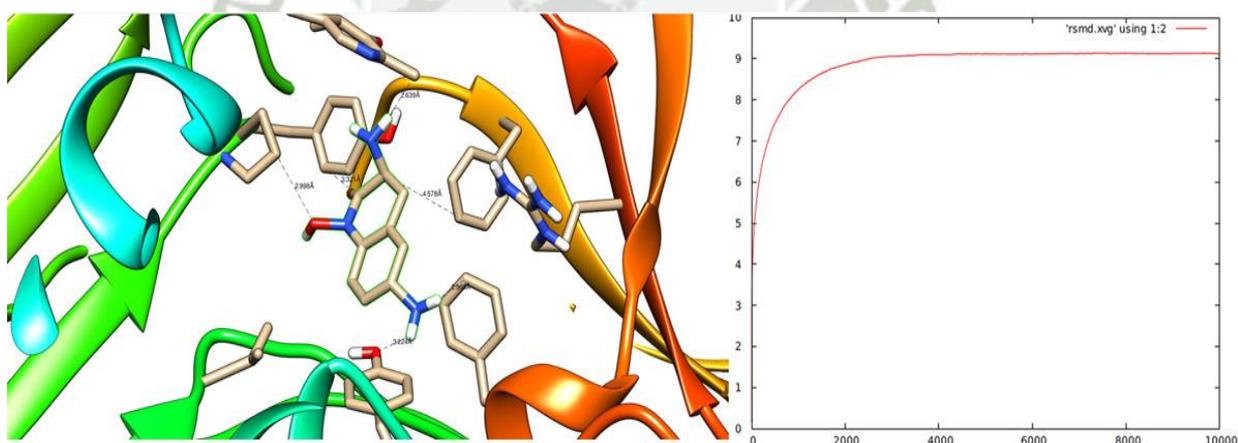


Figura 3.41: Acoplamiento del fármaco con la sustituyente amina en posición 6 con la enzima KAT-II, su RMSD.

Cuando el fármaco tiene como sustituyente en la posición 6 del anillo fusionado al grupo hidroxilo, la estructura que posee la mayor función score fue sometida a una simulación de dinámica molecular, logramos el equilibrio a los 20ns, y de los 80ns restantes obtuvimos la estructura promedio, y el diagrama de RMSD como se muestra en la Figura 3.42.

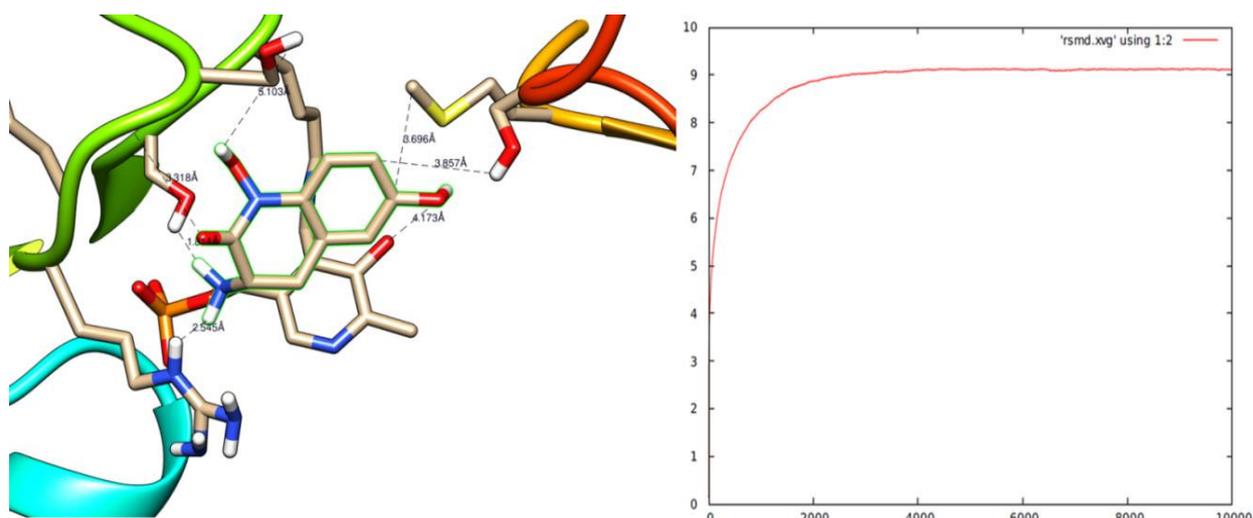


Figura 3.42: Acoplamiento del fármaco con el sustituyente hidroxilo en posición 6 con la enzima KAT-II, su RMSD.

Si el fármaco posee el grupo nitro en la posición 6 del anillo fusionado, la estructura de mayor score fue sometida a una simulación de dinámica molecular de 100ns, al realizar el análisis de la trayectoria, observamos que llegamos al equilibrio a los 20ns, y del resto determinamos la estructura promedio del sistema interactuante, como se muestra en la Figura 3.43.

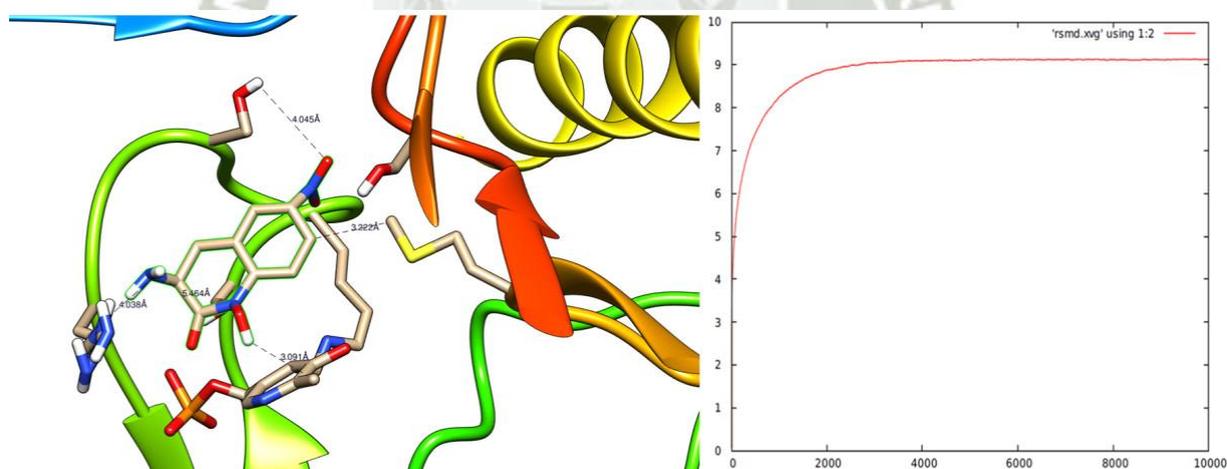


Figura 3.43: Acoplamiento del fármaco con el sustituyente nitro en posición 6 con la enzima KAT-II, su RMSD.

Si el grupo nitrilo o ciano se halla unido al fármaco en la posición 6 correspondiente al anillo fusionado, fue sometido al proceso de ensamblaje y la estructura con la mayor función score, fue sometida a una simulación molecular de 100ns, el equilibrio fue alcanzado a los 20ns, y de los 80ns restantes se extrajo la estructura promedio, como se muestra en la Figura 3.44, así como el diagrama de RMSD.

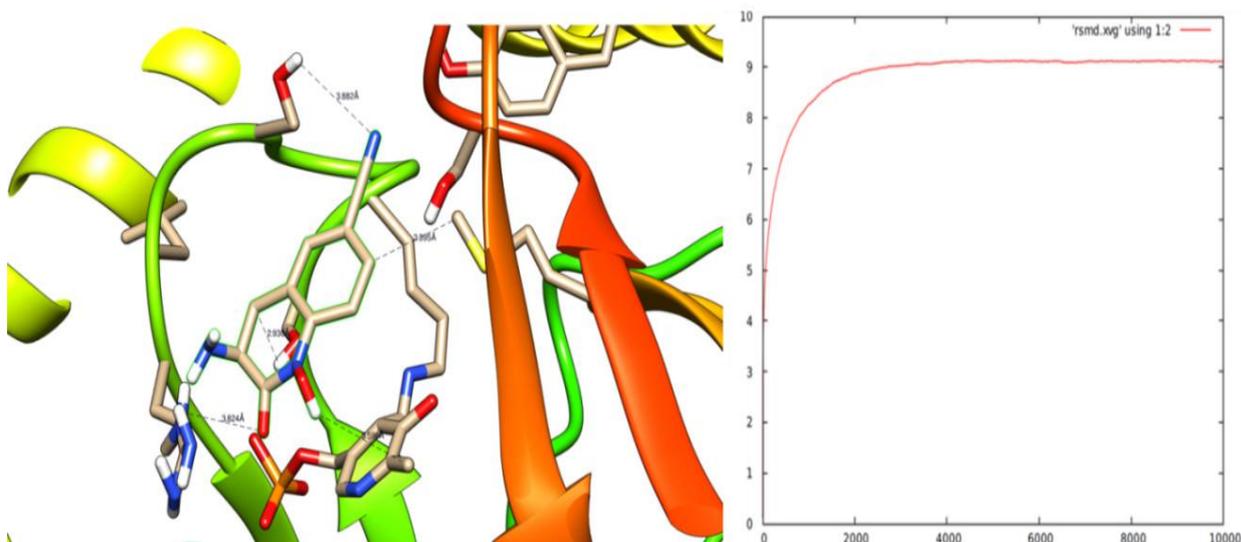


Figura 3.44: Acoplamiento del fármaco con el sustituyente ciano o nitrilo en posición 6 con la enzima KAT-II, su RMSD.

Cuando el fármaco está sustituido en la posición 6 del anillo fusionado, por el grupo acetoxilo, luego de realizar un ensamblaje y la estructura de mayor función score, fue sometido a una simulación de dinámica molecular de 100ns, la estructura promedio resultante de la zona de equilibrio se presenta en la Figura 3.45 así como el diagrama de RMSD.

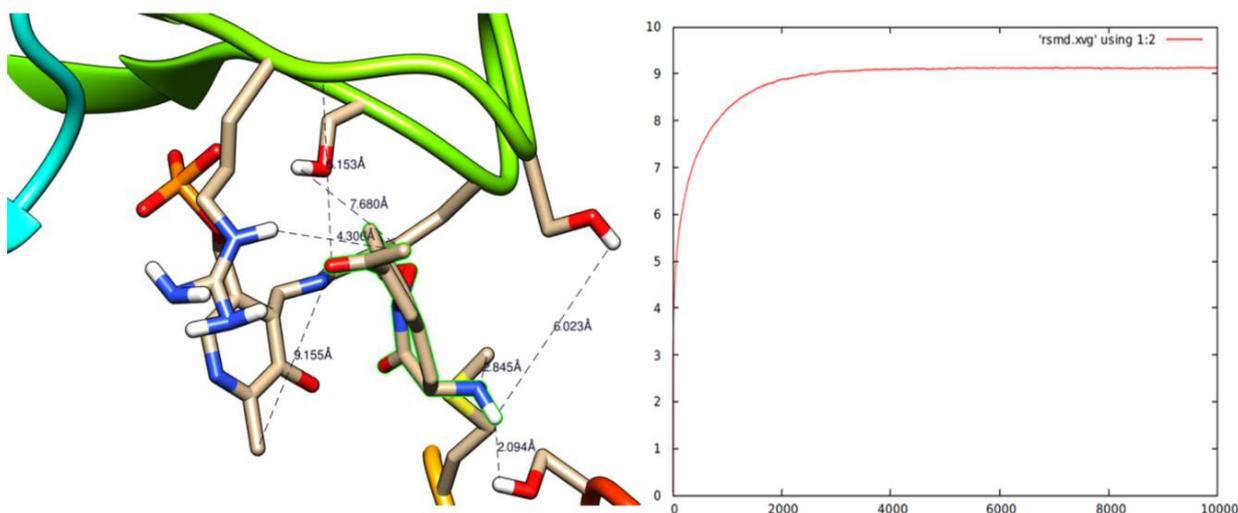


Figura 3.45: Acoplamiento del fármaco con el sustituyente acetoxilo en posición 6 con la enzima KAT-II, su RMSD.

Por último, al sustituir el fármaco en la posición 6 del anillo fusionado con el átomo de cloro, y obtener la estructura interactuante con la mayor función score, y someter a esta a una simulación de dinámica molecular por un tiempo de 100ns, se logró obtener la

estructura promedio de la zona de equilibrio y su RMDS como se muestra en la Figura 3.46.

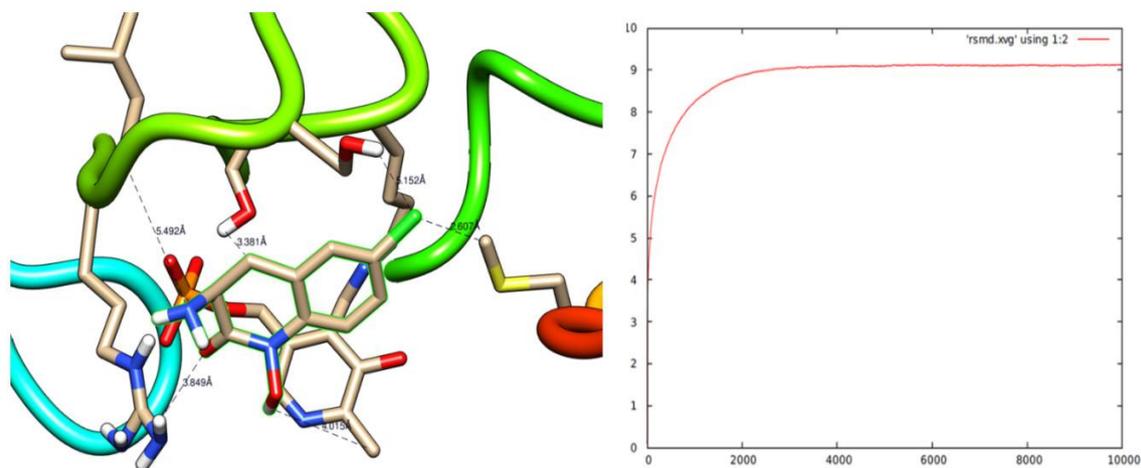


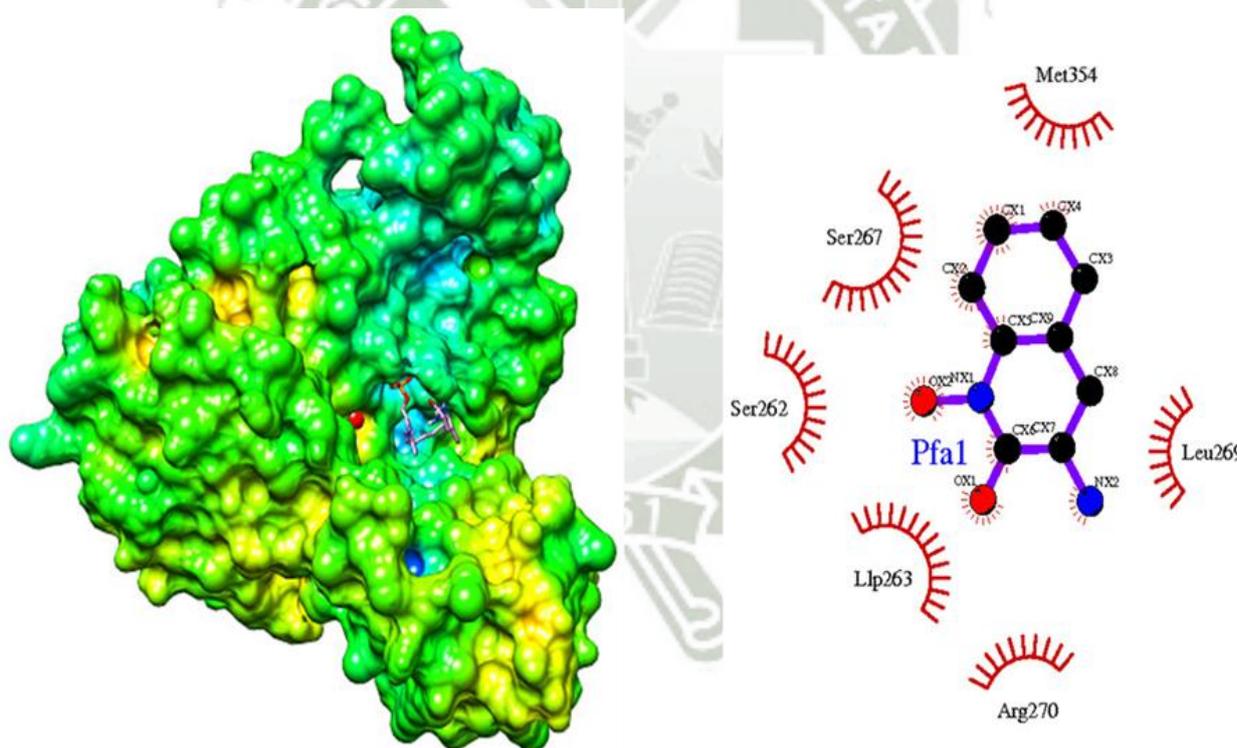
Figura 3.46: Acoplamiento del fármaco con el sustituyente cloro en posición 6 con la enzima KAT-II, su RMSD.

PFA	SERINA-267-PS	SERINA-401-PS	SERINA-403-PS	SERINA-262-PS	SERINA-266-PS	ARGININA-270-PP	METIONINA-354-NP	LLP-263	LEUCINA-269-NP	FENILALANINA-355-NP	FENILALANINA-387-NP	TIROSINA-142-PS	TIROSINA-233-PS	PROLINA-232-NP	GLICINA-268 PS	Ac. GLUTAMICO-56 PN
1	4.857			2.187		2.924	2.603	4.319	2.077							
2	6.090					2.164	3.140	4.179	4.086							
3	8.541	3.250	2.121	4.148		3.081	4.205	4.229	3.677							
4	5.408			3.761	3.422	4.455	2.615	2.947	3.575							
5	5.473		3.061	5.044		3.277	3.326	4.418	2.664							
6	5.350		2.137	4.145		1.477	3.668	4.172	2.486							
7	5.234		2.65	5.211		3.281	2.925	3.918	2.450							
8	5.308		2.639	3.468		3.971	4.198	4.333	2.606							
9	5.234		2.65	5.211		2.515	2.295	3.918	4.381							
10	5.409	2.942	2.62	3.488		2.832	3.781	4.616								
11	5.465	2.390	3.693	3.661		4.401	3.865	5.102								
12								2.639		4.578	2.968	3.224	3.321	2.998		
13	5.103		3.857	1.811		2.545	3.696	4.173	5.285						3.318	
14	4.045			5.464		4.038	3.222	3.091	8.924							
15	3.882			2.93	3.361	3.824	3.395	3.596	4.740							3.961
16	6.023		2.094	7.68		4.306	2.845	9.155	5.153							
17	5.152			3.381		3.849	2.607	4.015	5.492							

Tabla 3.3: Distancias de los diferentes acoplamiento.

3.4. Potencial electrostático de los sistemas interactuantes

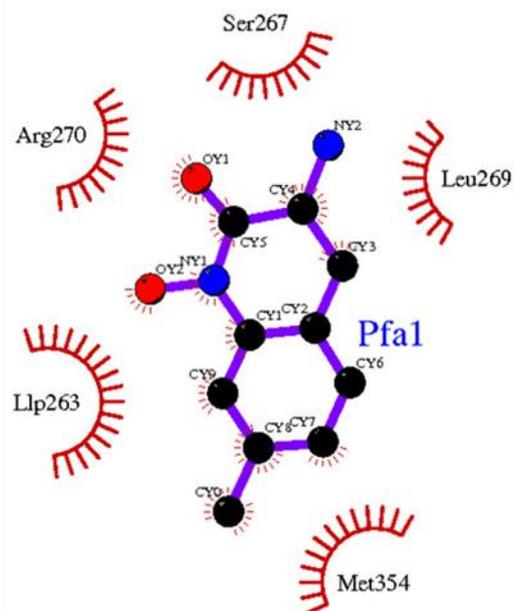
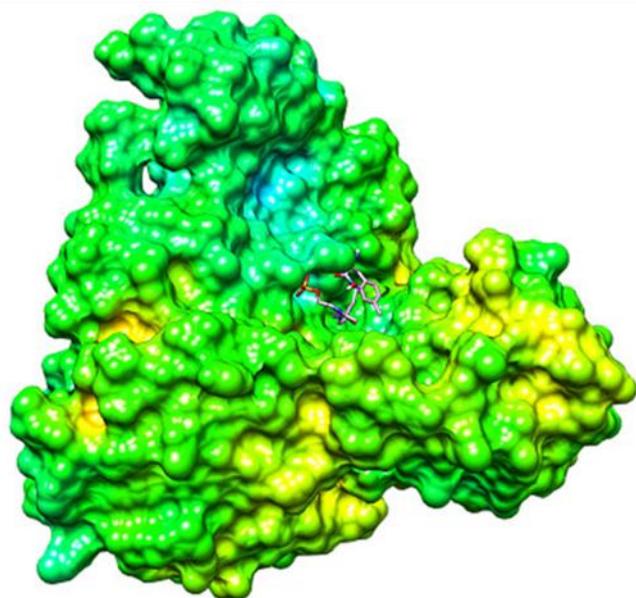
Los cálculos de las superficies de potencial electrostático (EPS) indicaron que el bolsillo de unión donde se encuentra el PLP es electropositivo y en su mayoría la enzima mostró una actividad neutra (color verde), por lo que la distribución de carga sobre la superficie de KATII y PLP fue importante para la orientación de los fármacos logrando una unión apropiada y que esta al parecer depende de fuerzas electrostáticas. Por otro lado en la Figura 3.47 se observa que el lugar de unión se presenta de color azul, mientras que para los demás potenciales (Figura 3.48 hasta 3.63) una región de acoplamiento de color verde, lo que nos indica que la actividad del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona es de tipo irreversible formando enlaces de unión muy fuerte, sin embargo los demás fármacos mostraron una actividad no electros tica, por lo que creemos que estos podrían ser buenos candidatos para futuros ensayos.



(a) Potencial Electrostático Sistema 1.

(b) Sitio Activo.

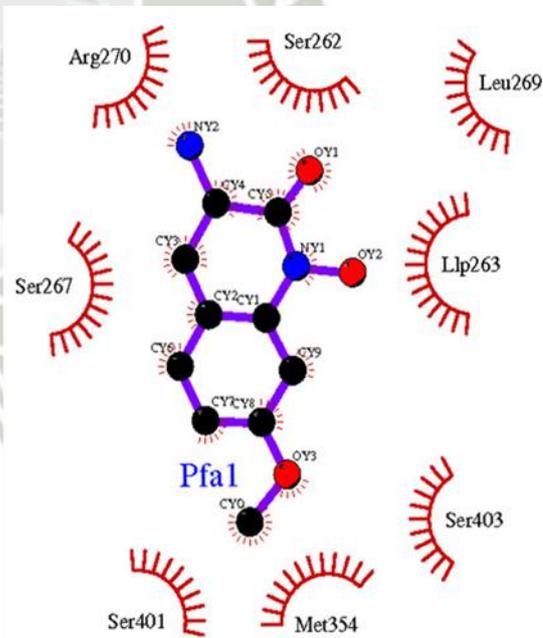
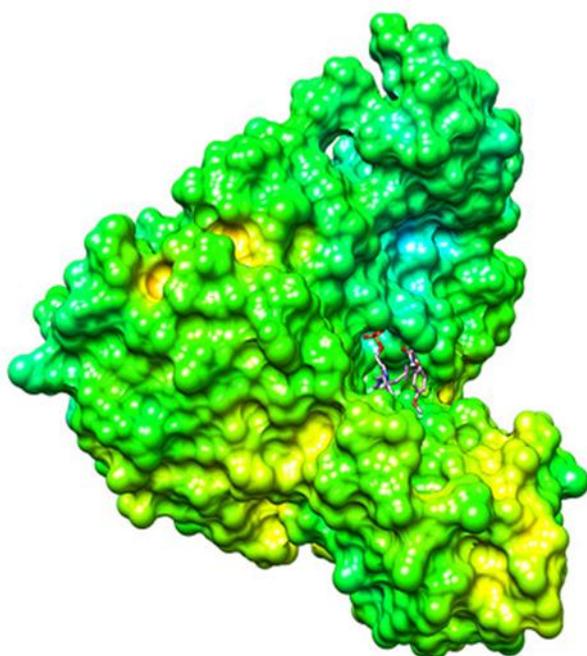
Figura 3.47: a) Potencial electrostático del sistema 1. b) Aminoácidos cercanos al ((3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona).



(a) Potencial Electrostático Sistema 2.

(b) Sitio Activo

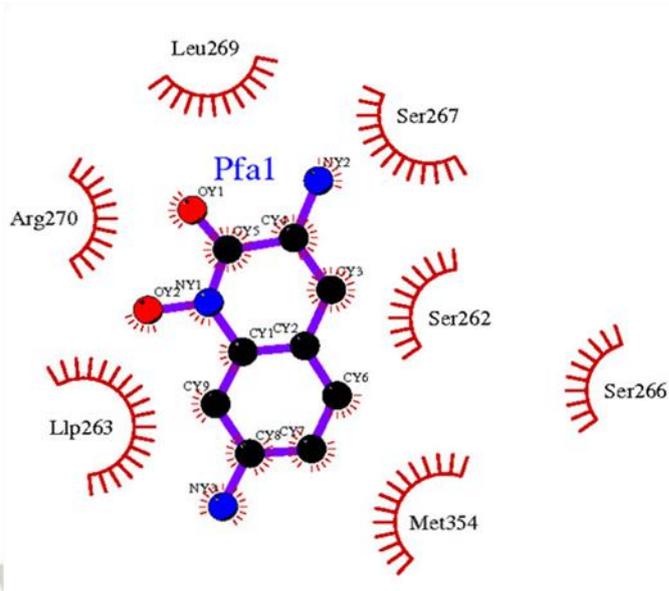
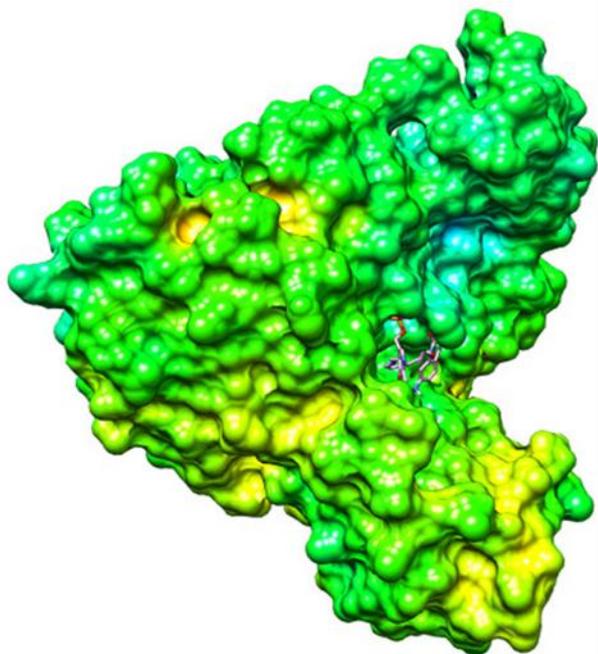
Figura 3.48: a) Potencial electrostático del sistema 2. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1-hidroxi-7metil-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.



(a) Potencial Electrostático Sistema 3

(b) Sitio Activo

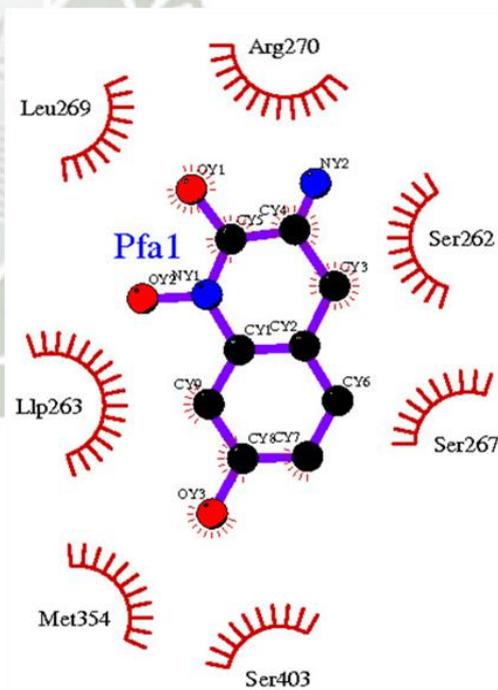
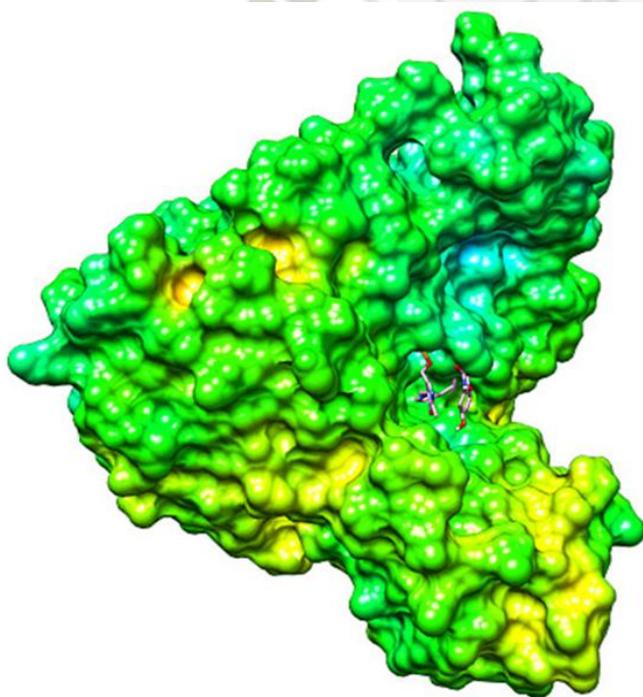
Figura 3.49: a) Potencial electrostático del sistema 3. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-metoxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.



(a) Potencial Electrostático Sistema 4.

(b) Sitio Activo

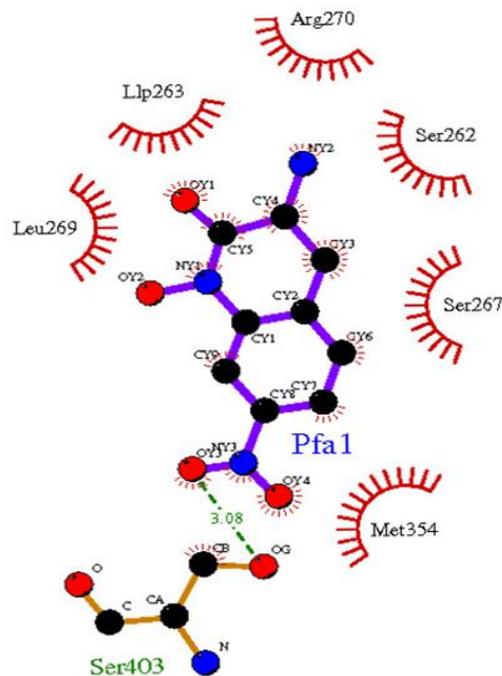
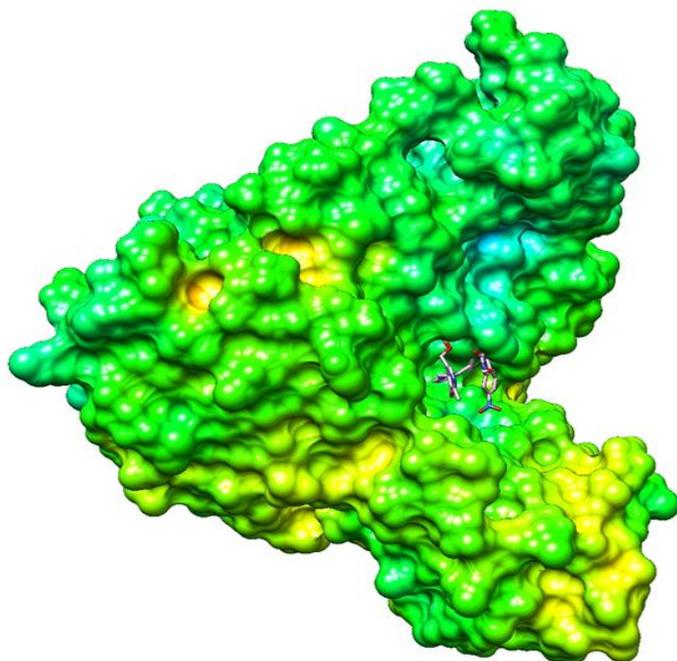
Figura 3.50: a) Potencial electrostático del sistema 4. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3,7-diamino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.



(a) Potencial Electrostático, Sistema 5.

(b) Sitio Activo.

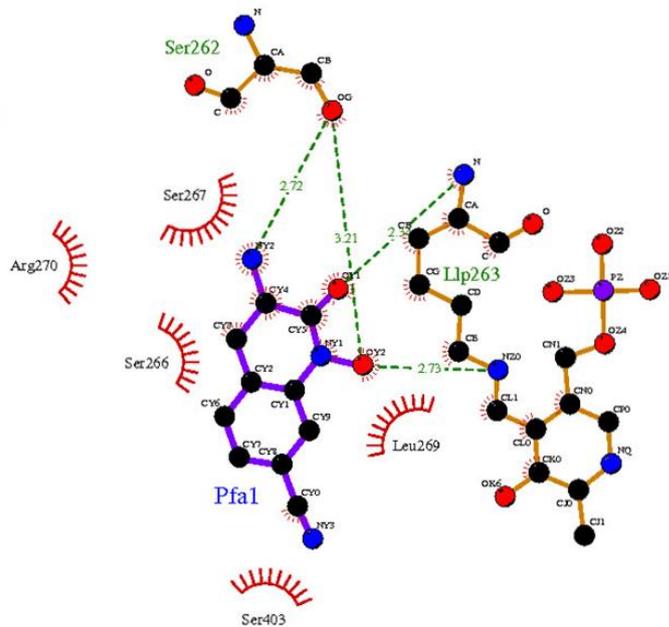
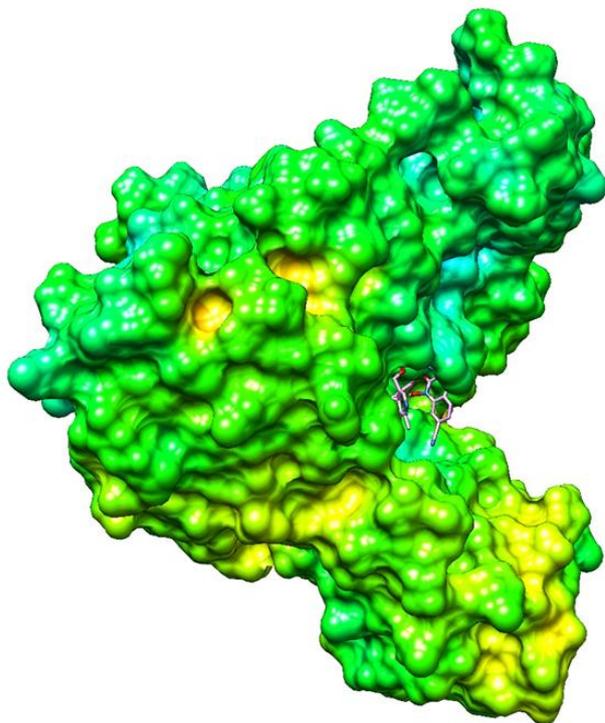
Figura 3.51: a) Potencial electrostático del sistema 5. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1,7-dihidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.



(a) Potencial Electrostático, Sistema 6.

(b) Sitio Activo.

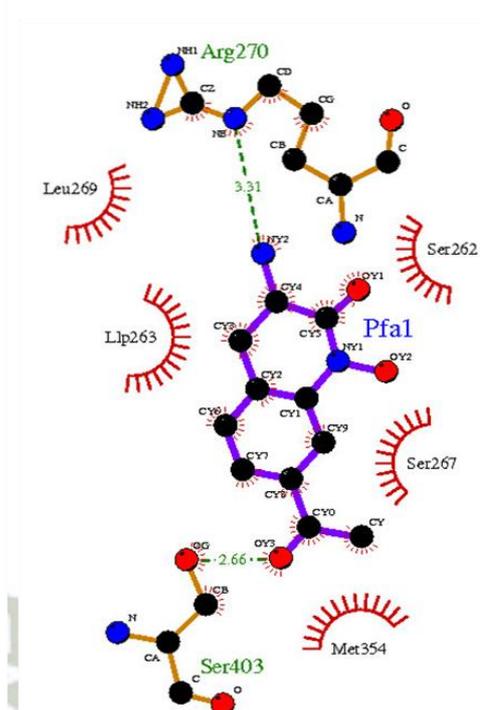
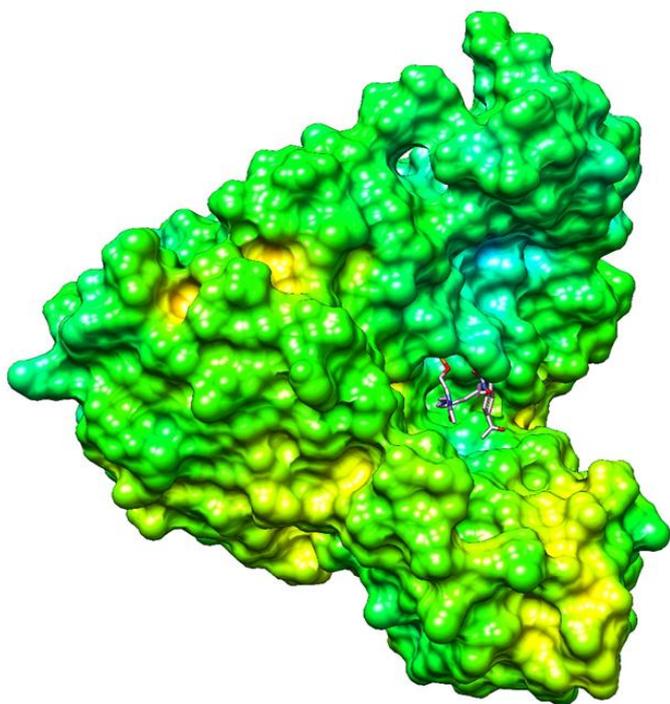
Figura 3.52: a) Potencial electrostático del sistema 6. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-nitro-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.



(a) Potencial Electrostático, Sistema 7.

(b) Sitio Activo.

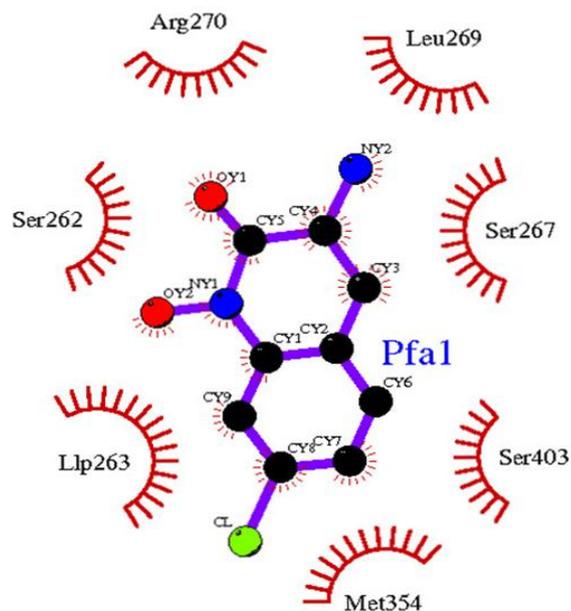
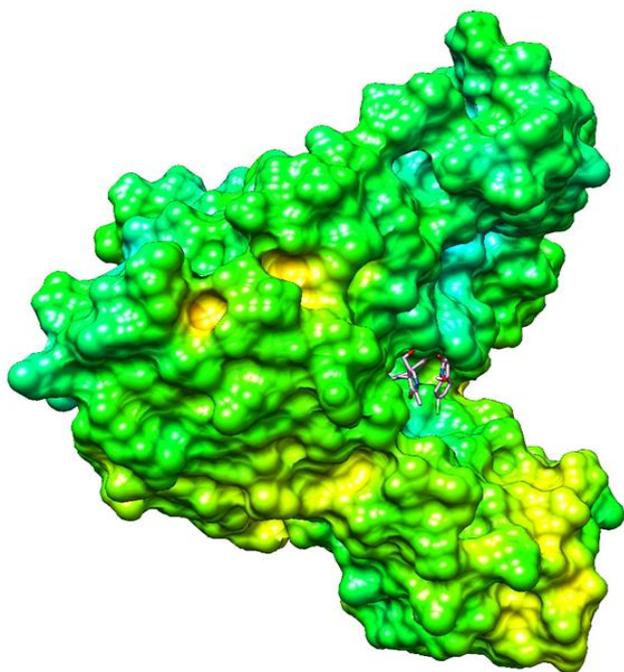
Figura 3.53: a) Potencial electrostático del sistema 7. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1-hidroxi-7-nitrilo-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona



(a) Potencial Electrostático Sistema 8.

(b) Sitio Activo

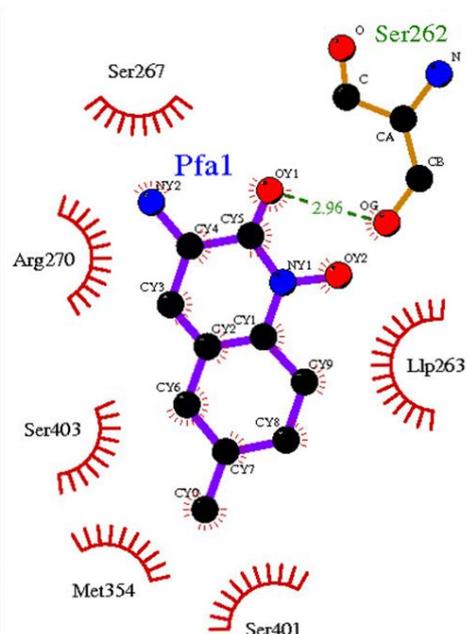
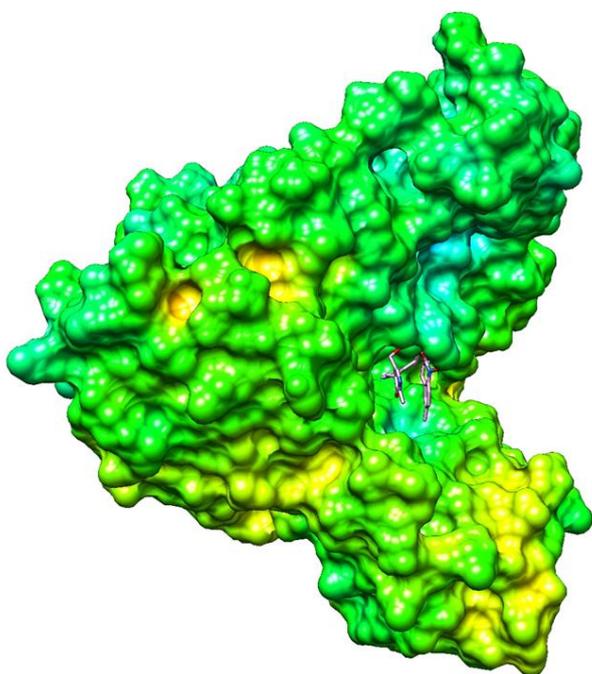
Figura 3.54: a) Potencial electrostático del sistema 8. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-7-acetoxi-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.



(a) Potencial Electrostático, Sistema 9.

(b) Sitio Activo.

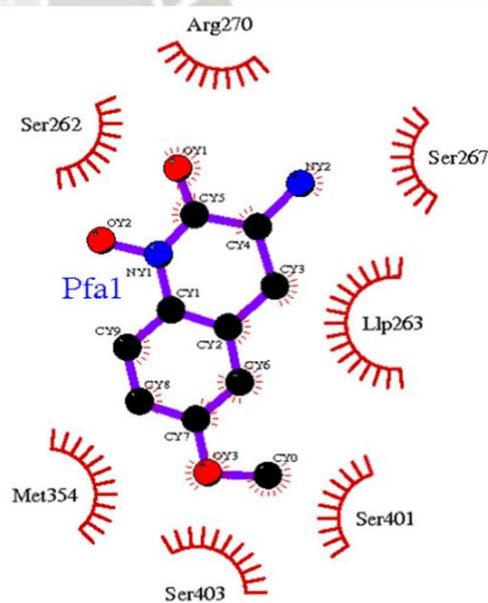
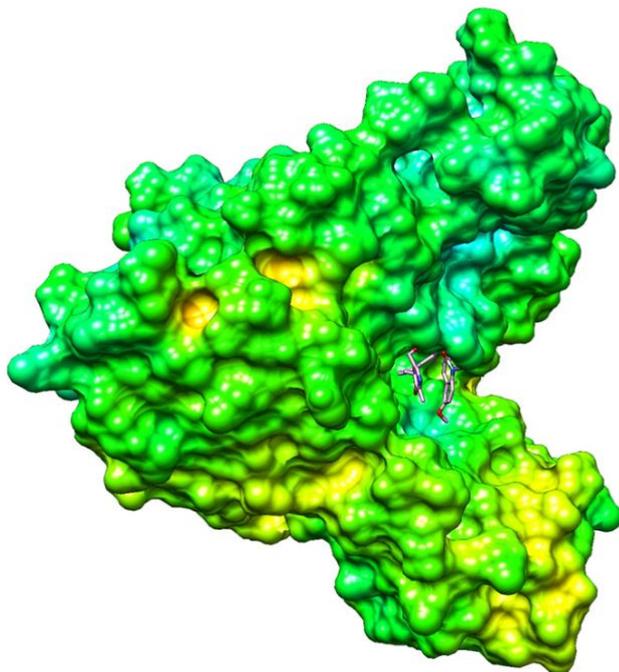
Figura 3.55: a) Potencial electrostático del sistema 9. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-7-cloro-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.



(a) Potencial Electrostático, Sistema 10.

(b) Sitio Activo.

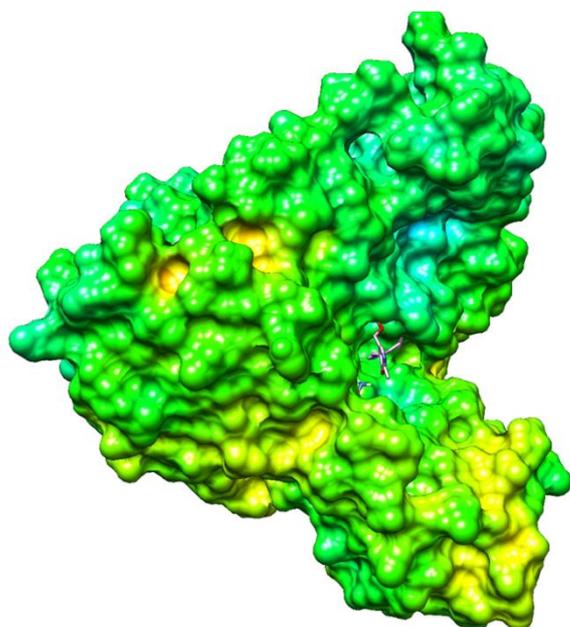
Figura 3.56: a) Potencial electrostático del sistema 10. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-metil-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.



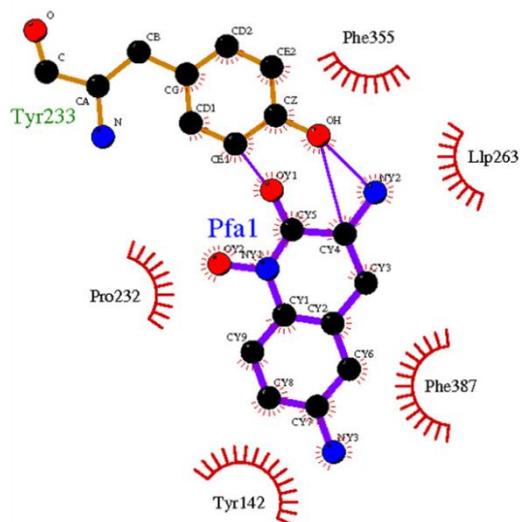
(a) Potencial Electrostático, Sistema 11.

(b) Sitio Activo.

Figura 3.57: a) Potencial electrostático del sistema 11. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-metoxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.

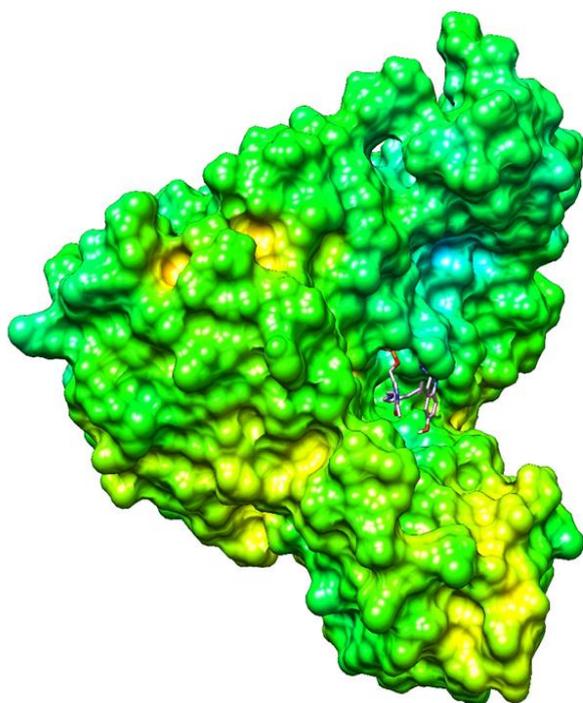


(a) Potencial Electrostático, Sistema 12.

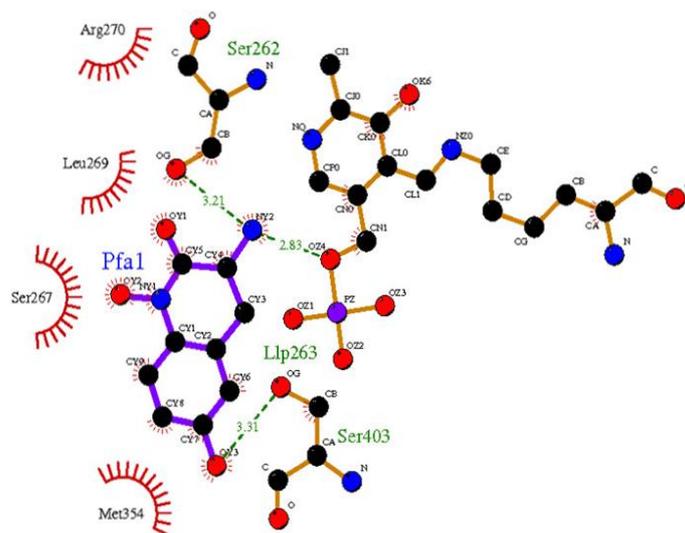


(b) Sitio Activo.

Figura 3.58: a) Potencial electrostático del sistema 12. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3,6-diamino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.

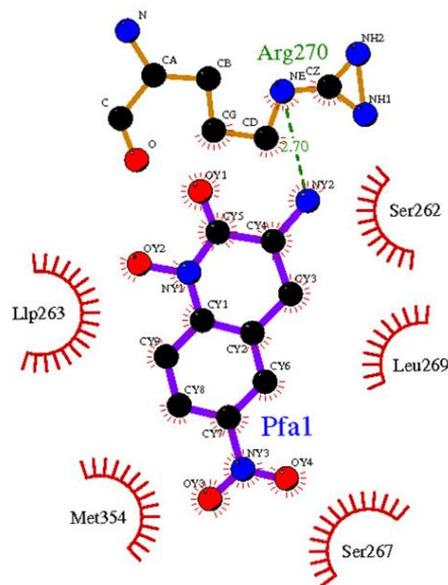
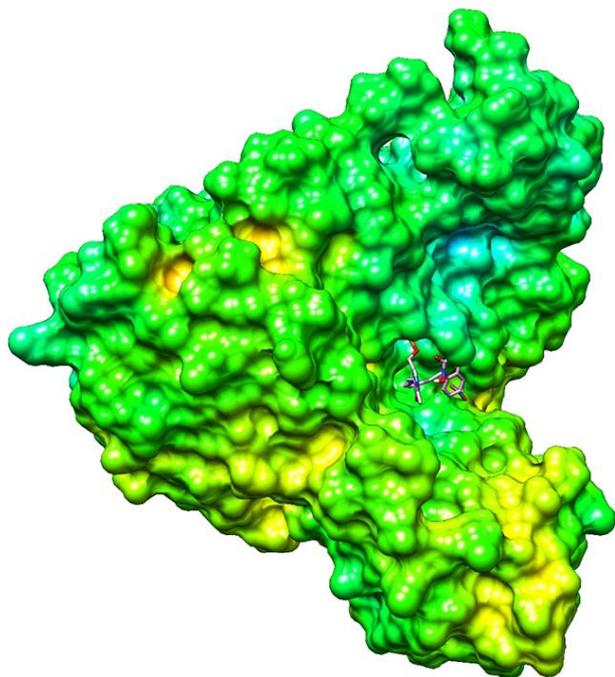


(a) Potencial Electrostático, Sistema 13.



(b) Sitio Activo.

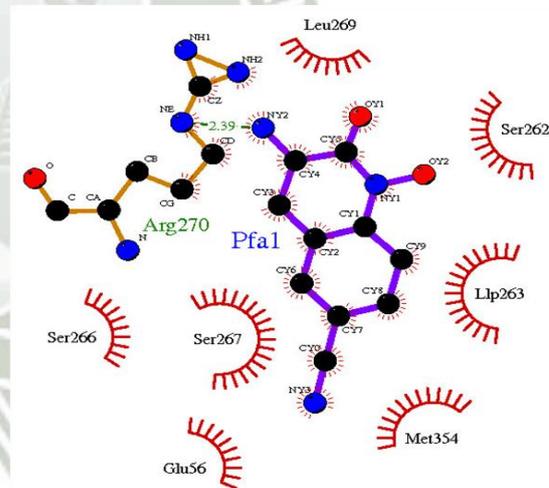
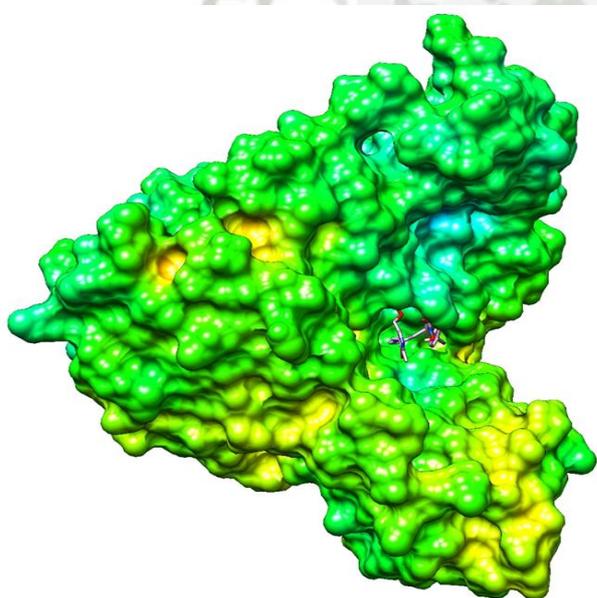
Figura 3.59: a) Potencial electrostático del sistema 13. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1,6-dihidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.



(a) Potencial Electrostático, Sistema 14.

(b) Sitio Activo.

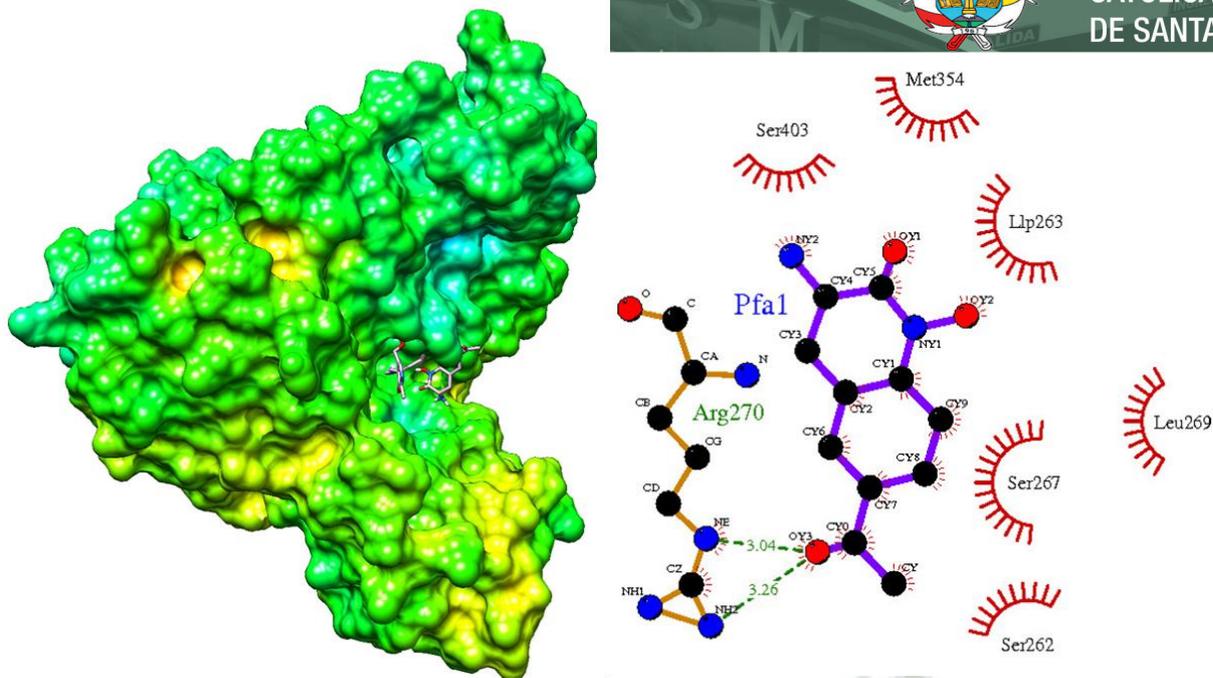
Figura 3.60: a) Potencial electrostático del sistema 14. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-nitro-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.



(a) Potencial Electrostático, Sistema 15.

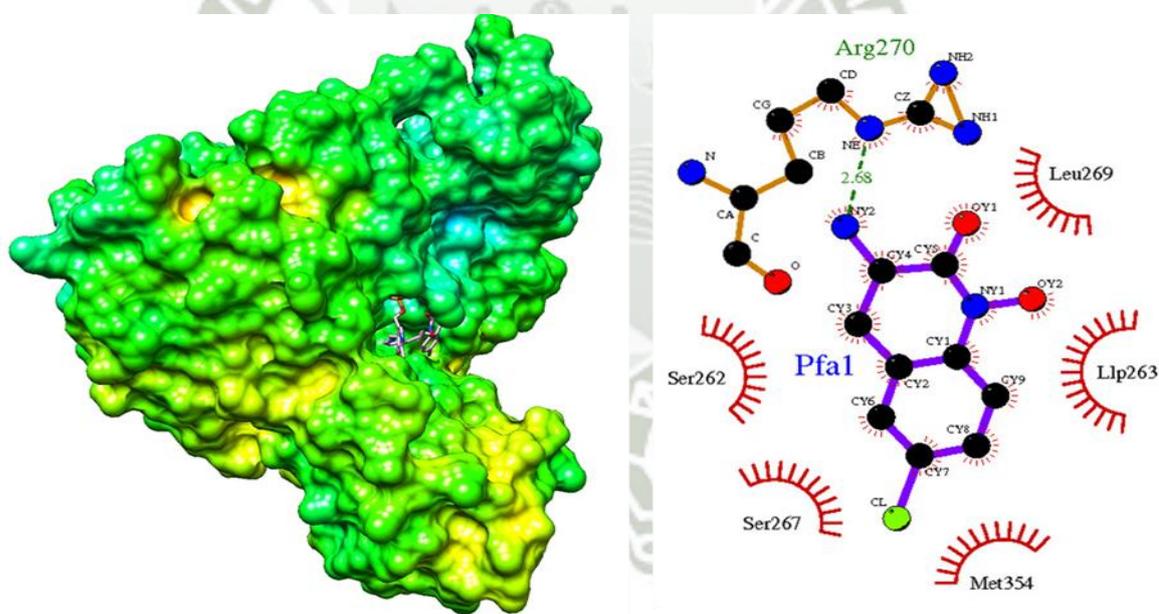
(b) Sitio Activo.

Figura 3.61: a) Potencial electrostático del sistema 15. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-1-hidroxi-6-nitrilo-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.



(a) Potencial Electrostático, Sistema 16. (b) Sitio Activo.

Figura 3.62: a) Potencial electrostático del sistema 16. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-6-acetoxi-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.



(a) Potencial Electrostático, Sistema 17. (b) Sitio Activo.

Figura 3.63: a) Potencial electrostático del sistema 17. b) Aminoácidos cercanos al (3S)-3-amino-6-cloro-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.

Conclusiones

Primera. Mediante la construcción de los campos de fuerzas en el modelo del potencial de OPLSAA, se pudo introducir en el programa Gromacs los campos de fuerza para los 16 fármacos estudiados en el presente trabajo.

Segunda. Se logró estabilizar la estructura en su estado más probable, para la proteína quinurenina amino transferasa II (KAT-II), y los 16, logrando obtener las coordenadas en formato *pdb* de cada uno de los sistemas en estudio.

Tercera. Las KAT-II y los 16 fármacos, fueron sometidos a simulación de dinámica molecular, logrando la zona de equilibrio en forma adecuada para todos los casos con gradientes no mayores a 0.2nm en el rmsd.

Cuarta. El acoplamiento entre la KAT-II y los 16 fármacos y su posterior simulación de dinámica molecular, nos mostró que el fármaco, aunque reacciona directamente con el PLP, requiere de un ambiente adecuado para que la reacción se produzca, es por ello que en la primera intención de predicción de acoplamiento resulta que el acercamiento de los 16 fármacos al sitio activo se ve favorecida por la presencia de un homodímero de la enzima, por lo que creemos que este sistema trabaja bien como dímero tras una dinámica molecular.

Quinta. Las energías de acoplamiento nos indican que los mejores se dan para los fármacos 3,4 y 16 para un solo dímero de la KAT-II.

Recomendaciones

Recomendamos que los estudios continúen con la determinación del ΔG , para de esta forma poder discriminar no solo en forma cualitativa sino cuantitativa la reacción más favorable.



Bibliografías

- [1] Organización Mundial De la Salud, A. M. *Carga mundial de trastornos mentales y necesidad de que el sector de la salud y el sector social respondan de modo integral y coordinado a escala de país: informe de la Secretaría.* (2012):1- 6.
- [2] *Atlas regional de salud mental de las américas* diciembre (2015) 1-32.
- [3] Ruiz, M. Á., Montes, J. M., Lauffer, J. C., Álvarez, C., Maurino, J., & de Dios Perrino, C... *Opiniones y creencias sobre las enfermedades mentales graves (esquizofrenia y trastorno bipolar) en la sociedad española. Revista de psiquiatría y salud mental* (2012) ,5(2): 98-106.
- [4] Obiols, Jordi E. "*Aspectos biológicos de la esquizofrenia.*" (1990): 41-56.
- [5] GAO, Wen-Jun, E. Kudo, and Y. Fujii. "*Dopaminergic and Glutamatergic dysfunctions in the neuropathophysiology of schizophrenia.*" *Dopamine: Functions, regulation and health effects* (Kudo E, Fujii y, Eds). Hauppauge, NY: Nova Science Publishers (2011):1- 24.
- [6] René S. Kahn¹, Iris E. Sommer¹, Robin M. Murray², Andreas Meyer-Lindenberg³, Daniel R. Weinberger⁴, Tyrone D. Cannon⁵, Michael O'Donovan⁶, Christophe U. Correll^{7, 8}, John M. Kane^{7, 8}, Jim van Os^{9, 10} and Thomas R. Insel¹¹ *nature reviews volume* (2015):1-23.
- [7] Cano, Juan F., et al. "Factores pronósticos de esquizofrenia en primer episodio psicótico." *Revista de Salud Pública* (2007); 9(3): 455-464.
- [8] Rondón, Marta B. "*Salud mental: un problema de salud pública en el Perú.*" *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* (2006); 23(4): 237-238.
- [9] Valdivia, Jonathan Zegarra, et al. "*de Salud Mental Moisés Heresi, en Arequipa.*" (2008):18.
- [10] Gómez-Martín, Serafín, Francisca López-Ríos, and Hilario Mesa-Manjón. "*Teoría de los marcos relacionales: algunas implicaciones para la psicopatología y la psicoterapia.*" *International Journal of clinical and health psychology* (2007); 7(2).
- [11] Tizón, Jorge L., et al. "Factores de riesgo para padecer trastornos psicóticos: *Es posible realizar una detección preventiva.*" *Clínica y Salud* (2008); 19(1): 27-58.

- [12] Ruiz, J. Sáiz, and JM Montes Rodríguez. *"Psicosis." Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado* 8.107 (2003): 297-314.
- [13] Josep M. Comelles Researchgate .*Los trabajadores de salud mental en Catalunya (1936-1938)* (2011):1-345.
- [14] Álvarez, José María, and Fernando Colina. *"Las voces y su historia: sobre el nacimiento de la esquizofrenia."* *Átopos* 6 (2007): 4-12.
- [15] Kyziridis, Theocharis Chr. *"Notes on the history of schizophrenia."* *German Journal of Psychiatry* 8.3 (2005): 42-48.
- [16] German Abeleira Padin *Universidad de Salamanca* (2012) 157- 172.
- [17] Álvarez, José María, and Fernando Colina Pérez. *"Origen histórico de la esquizofrenia e historia de la subjetividad."* *Frenia. Revista de Historia de la Psiquiatría* 11.1 (2011). 7-25.
- [18] Escobar, A., and K. Esquizofrenia Weidenheim. *"Circuitos nerviosos anormales."* *Rev Mex Neuroci* 5 (2004): 50-55.
- [19] Dualde Beltrán, Fernando. *"El concepto de esquizofrenia en los autores españoles a través de las publicaciones psiquiátricas españolas (1939-1975)."* (2004).
- [20] Tandon, Rajiv, Matcheri S. Keshavan, and Henry A. Nasrallah. *"Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology."* *Schizophrenia research* 102.1 (2008): 1-18.
- [21] Icaza, María Elena Medina-Mora, G. Borges, and María del Carmen Lara Muñoz. *"Prevalencia de trastornos mentales y uso de servicios: resultados de la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica en México."* (2003).
- [22] Rodríguez-Pulido, F., and J. L. González de Rivera. *"La investigación epidemiológica de la esquizofrenia: algunos problemas metodológicos."* *El método epidemiológico en salud mental* (2003): 271.
- [23] Pérez Aguirre, Edgar Fernando, Valhori Santino, and Pedro Emilio. *El esquizofrénico paranoide, inimputable, como ausencia de responsabilidad. BS thesis. Universidad Militar Nueva Granada, (2014).* pag 140
- [24] Lozano Mérida, J. A. *"Etiopatogenia, síntomas y tratamiento de la esquizofrenia."* *Offarm: Farmacia y Sociedad* 21.9 (2002): 104-114.
- [25] Guimón, José. *"Los límites del concepto de espectro en la esquizofrenia."* *Avances en Salud Mental Relacional* 4.3 (2005).pag 12
- [26] Paz, H. *"Modelos fisiopatológicos de la esquizofrenia; de dopamina a glutamato, de glutamato a GABA."* *Revista chilena de neuro-psiquiatría* 43.4 (2005): 314-328.

- [27] Newberg, Andrew R., Dimitry S. Davydow, and Hochang B. Lee. "Cerebrovascular disease basis of depression: post-stroke depression and vascular depression." *International Review of Psychiatry* 18.5 (2006): 433-441.
- [28] Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. "Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci." *Nature* 511.7510 (2014): 421-427.
- [29] Gratten, Jacob, et al. "La genómica a gran escala revela la arquitectura genética de los trastornos psiquiátricos". *Nature Neuroscience* 17.6 (2014): 782-790.
- [30] Sørensen, Holger J., et al. "Population impact of familial and environmental risk factors for schizophrenia: a nationwide study." *Schizophrenia research* 153.1 (2014): 214-219.
- [31] McGrath, John J., et al. "Where GWAS and epidemiology meet: opportunities for the simultaneous study of genetic and environmental risk factors in schizophrenia." *Schizophrenia bulletin* 39.5 (2013): 955-959.
- [32] Hooley, Jill M. "Social factors in schizophrenia." *Current directions in psychological science* 19.4 (2010): 238-242.
- [33] Cantor-Graae, Elizabeth. "La contribución de los factores sociales al desarrollo de la esquizofrenia: una revisión de los hallazgos recientes". *The Canadian Journal of Psychiatry* 52.5 (2007): 277-286.
- [34] Dounay, A. B., Anderson, M., Bechle, B. M., Evrard, E., Gan, X., Kim, J. Y., & Tuttle, J. B.. PF-04859989 as a template for structure-based drug design: Identification of new pyrazole series of irreversible KAT II inhibitors with improved lipophilic efficiency. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, (2013) 23(7), 1961-1966.
- [35] Nematollahi, A., Sun, G., Jayawickrama, G. S., Hanrahan, J. R., & Church, W. B. Study of the Activity and Possible Mechanism of Action of a Reversible Inhibitor of Recombinant Human KAT-2: A Promising Lead in Neurodegenerative and Cognitive Disorders. *Molecules*, (2016) 21(7), 856.
- [36] Javier Sancho. *Los Aminoácidos, El Enlace Peptídico Y La Estructura Secundaria*, (2009): 1-30.
- [37] Lovell, S. C., Davis, I. W., Arendall, W. B., de Bakker, P. I., Word, J. M., Prisant, M. G., & Richardson, D. C... Structure validation by C α geometry: ϕ , ψ and C β deviation. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, (2003) 50(3): 437-450.
- [38] Zimmer, M. Are classical molecular mechanics calculations still useful in bioinorganic simulations?. *Coordination Chemistry Reviews*, (2009) 253(5): 817-826.
- [39] Bort, J. A. *Química teórica y computacional* Publicacions de la Universitat Jaume I (2001), (2).

- [40] Huang, S. Y., & Zou, X. Ensemble docking of multiple protein structures: considering protein structural variations in molecular docking. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, (2007) ,66(2): 399-421
- [41] Trott, O., & Olson, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, (2010), 31(2): 455-461.
- [42] Carugo, O., & Pongor, S. A normalized root-mean-square distance for comparing protein three-dimensional structures. *Protein science*, (2001) ,10(7):1470-1473.
- [43] Briones Montecinos, L., Caroli Rezende, M., Mascayano Collado, C., & Arenas Salinas, M. *Estudio de migración de sondas solvatocromicas en un sistema micelar, mediante Simulación de Dinámica Molecular* (Doctoral dissertation, Universidad de Talca (Chile). Escuela de Ingeniería en Bioinformática) (2010).
- [44] Bow-Thomas, C. Christine, et al. "Predicting quality of life from symptomatology in schizophrenia at exacerbation and stabilization." *Psychiatry Research* 86.2 (1999): 131-142.
- [45] Frith, Chris D., Sarah-Jayne Blakemore, and Daniel M. Wolpert. "Explaining the symptoms of schizophrenia: abnormalities in the awareness of action." *Braun Research Reviews* 31.2 (2000): 357-363.
- [46] Frith, Chris D., Sarah-Jayne Blakemore, and Daniel M. Wolpert. "Explaining the symptoms of schizophrenia: abnormalities in the awareness of action." *Braun Research Reviews* 31.2 (2000): 357-363.
- [47] *Instituto Nacional de la Salud Mental* (2009) 22.
- [48] Angrist, Burt, John Rotrosen, and Sam Gershon. "Differential effects of amphetamine and neuroleptics on negative vs. positive symptoms in schizophrenia." *Psychopharmacology* 72.1 (1980): 17-19.
- [49] Milev, Peter, et al. "Predictive values of neurocognition and negative symptoms on functional outcome in schizophrenia: a longitudinal first-episode study with 7-year follow-up." *American Journal of Psychiatry* 162.3 (2005): 495-506.
- [50] Simpson, Eleanor H., Christoph Kellendonk, and Eric Kandel. "A possible role for the striatum in the pathogenesis of the cognitive symptoms of schizophrenia." *Neuron* 65.5 (2010): 585-596.
- [51] Meyer-Lindenberg, Andreas. "From maps to mechanisms through neuroimaging of schizophrenia." *Nature* 468.7321 (2010): 194-202.
- [52] Crow, T. J., et al. "Monoamine mechanisms in chronic schizophrenia: post-mortem neurochemical findings." *The British Journal of Psychiatry* 134.3 (1979): 249-256.

- [53] Howes, Oliver D., and Shitij Kapur. "The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III—the final common pathway." *Schizophrenia bulletin* 35.3 (2009): 549-562.
- [54] Tema 3 "Bases fisiológicas de la conducta" LA DOPAMINA/serpienti.blogia.com/ (2011) .
- [55] Nakajima, Shinichiro, et al. "Dopamine D 2/3 receptor availability in the striatum of antipsychotic-free older patients with schizophrenia—a [11 C]-raclopride PET study." *Schizophrenia research* 164.1 (2015): 263-267.
- [56] Gómez Ayala, Adela-Emilia. "Farmacoterapia de la esquizofrenia: antipsicóticos convencionales y atípicos (I)." *Farmacia Profesional* 20.9 (2006): 73-78.
- [57] Arnsten, Amy FT, et al. "Novel dopamine therapeutics for cognitive deficits in schizophrenia." *Biological psychiatry* 81.1 (2017): 67-77.
- [58] Thomas, Elizabeth HX, et al. "The Influence of the Glutamatergic System on Cognition in Schizophrenia: A Systematic Review." *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* (2017).
- [59] Villena-Rodriguez, Abigail. "Glutamatergic drugs for schizophrenia treatment." *Actas Esp Psiquiatr* 42.5 (2014): 234-41
- [60] Niklaus, Stephanie, et al. "Shaping of Signal Transmission at the Photoreceptor Synapse by EAAT2 Glutamate Transporters." *eNeuro* 4.3 (2017): ENEURO-0339.
- [61] Kantrowitz, Joshua T., and Daniel C. Javitt. "N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor dysfunction or dysregulation: the final common pathway on the road to schizophrenia?." *Brain research bulletin* 83.3 (2010): 108-121.
- [62] Nematollahi, Alireza, et al. "Kynurenine aminotransferase isozyme inhibitors: a review." *International journal of molecular sciences* 17.6 (2016): 946.
- [63] Bortz, D. M., et al. "Oral administration of a specific kynurenic acid synthesis (KAT II) inhibitor attenuates evoked glutamate release in rat prefrontal cortex." *Neuropharmacology* 121 (2017): 69-78.
- [64] Erhardt, Sophie, et al. "The kynurenine pathway in schizophrenia and bipolar disorder." *Neuropharmacology* 112 (2017): 297-306.
- [65] Cherian, Ajeesh Koshy, et al. "A systemically-available kynurenine aminotransferase II (KAT II) inhibitor restores nicotine-evoked glutamatergic activity in the cortex of rats." *Neuropharmacology* 82 (2014): 41-48.
- [66] MÜller, Norbert, and Markus Schwarz. "Schizophrenia as an inflammation-mediated dysbalance of glutamatergic neurotransmission." *Neurotoxicity research* 10.2 (2006): 131-148.

- [67] O'Farrell, Katherine, and Andrew Harkin. "Stress-related regulation of the kynurenine pathway: Relevance to neuropsychiatric and degenerative disorders." *Neuropharmacology* 112 (2017): 307-323.
- [68] Dijkman, Ulrike. *Inhibition of Kynurenine aminotransferase: a potential new drug target for the treatment of schizophrenia*. Diss. University of Groningen, (2010). Pag 232.
- [69] Nematollahi, Alireza, et al. "Structure of the PLP-form of the human kynurenine aminotransferase II in a novel spacegroup at 1.83 Å resolution." *International journal of molecular sciences* 17.4 (2016): 446.
- [70] Lehmann, Heinz E., and Thomas A. Ban. "The history of the psychopharmacology of schizophrenia." *The Canadian Journal of Psychiatry* 42.2 (1997): 152-162.
- [71] Fajardo González 3º grado de Psicología,(2012) pag 10.
- [72] Decuyper, Flore, et al. "Treatment continuation of four long-acting antipsychotic medications in the Netherlands and Belgium: A retrospective database study." *PloS one* 12.6 (2017): Pag 19.
- [73] Wright, W. Abel, et al. "Integrated pharmacies at community mental health centers: medication adherence and outcomes." *Journal of managed care & specialty pharmacy* 22.11 (2016): 1330-1336.
- [74] Amori, L., et al. "Specific inhibition of kynurenate synthesis enhances extracellular dopamine levels in the rodent striatum." *Neuroscience* 159.1 (2009): 196-203.
- [74] Bortz, D. M., et al. "Oral administration of a specific kynurenic acid synthesis (KAT II) inhibitor attenuates evoked glutamate release in rat prefrontal cortex." *Neuropharmacology* 121 (2017): 69-78.
- [75] Rebolledo, S., and M. J. Lobato. "Cómo afrontar la esquizofrenia: Una guía para familiares y afectados." *Santiago: Xunta de Galicia* (1995).
- [76] United states patent dounay et al. Julio 16 (2013).
- [77] Macalino, Stephani Joy Y., et al. "Role of computer-aided drug design in modern drug discovery." *Archives of pharmacal research* 38.9 (2015): 1686-1701.
- [78] Snyder, Solomon H. "Dopamine receptors, neuroleptics, and schizophrenia." *Am J Psychiatry* 138.4 (1981): 460-4.
- [79] Urs, Nikhil M., Sean M. Peterson, and Marc G. Caron. "New concepts in dopamine D 2 receptor biased signaling and implications for schizophrenia therapy." *Biological psychiatry* 81.1 (2017): 78-85.
- [80] Stahl, Stephen M. "Mechanism of action of serotonin selective reuptake inhibitors: serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects." *Journal of affective disorders* 51.3 (1998): 215-235.

- [81] Schwartz, Rochelle D., and Kenneth J. Kellar. "In vivo regulation of [3H] acetylcholine recognition sites in brain by nicotinic cholinergic drugs." *Journal of neurochemistry* 45.2 (1985): 427-433.
- [82] Skomedal, T., J-B. Osnes, y yo. Oye. "Bloqueo competitivo de receptores α -adrenérgicos en corazón de rata por Prazosi". *Basic and Clinical Pharmacology & Toxicology* 47.3 (1980): 217-222.
- [83] Kroeze, Wesley K., et al. "H1-histamine receptor affinity predicts short-term weight gain for typical and atypical antipsychotic drugs." *Neuropsychopharmacology* 28.3 (2003): 519.
- [84] Wu, Hui-Qiu, et al. "Targeting kynurenine aminotransferase II in psychiatric diseases: promising effects of an orally active enzyme inhibitor." *Schizophrenia bulletin* 40.Suppl_2 (2014): S152-S158.
- [85] Kawamura, M. OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS ESPAÑA Número de publicación: 2 258 716 (2005) pag 19.
- [86] Piskulic, Danijela, et al. "Conventional and alternative preventive treatments in the first stages of schizophrenia." *The European Journal of Psychiatry* ,29.2 (2015): 135-143.
- [87] P. Salorio del Moral, J. Rodado Martínez (2003) 783-797.
- [88] *Nami la esquizofrenia* (2005) pag 5.
- [89] Morgnanesi, Dante, et al. "A computational chemistry perspective on the current status and future direction of hepatitis B antiviral drug discovery." *Antiviral research* 123 (2015): 204-215.
- [90] Allen, Michael P. "Introduction to molecular dynamics simulation." *Computational soft matter: from synthetic polymers to proteins*, 23 (2004): 1-28.
- [91] Zimmer, Marc. "Are classical molecular mechanics calculations still useful in bioinorganic simulations?." *Coordination Chemistry Reviews* 253.5 (2009): 817-826.
- [92] Cruz Valcárcel, Carlos. *Simulación mediante métodos híbridos clásico-cuánticos de la relajación vibracional de moléculas en disolución*. Universidad de Murcia, (2005).
- [93] Lozano-Aponte, Jorge, and Thomas Scior. "¿ Qué sabe Ud. Acerca de... Dinámica Molecular?." *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas* 45.1 (2014): 86-88.
- [94] Miyamoto, Hitomi, et al. "Comparison of the simulations of cellulosic crystals with three carbohydrate force fields." *Carbohydrate research* 422 (2016): 17-23.

- [95] Sambasivarao, Somiseti V., and Orlando Acevedo. "Development of OPLS-AA force field parameters for 68 unique ionic liquids." *Journal of chemical theory and computation* 5.4 (2009): 1038-1050.
- [96] Sambasivarao, Somiseti V., and Orlando Acevedo. "Development of OPLS-AA force field parameters for 68 unique ionic liquids." *Journal of chemical theory and computation* 5.4 (2009): 1038-1050.
- [97] Pu, Yi-Fei, et al. "Fractional extreme value adaptive training method: fractional steepest descent approach." *IEEE transactions on neural networks and learning systems* 26.4 (2015): 653-662.
- [98] Chazal, Philip, and Mark D. McDonnell. "Regularized training of the extreme learning machine using the conjugate gradient method." *Neural Networks (IJCNN), 2017 International Joint Conference on*. IEEE, 2017.
- [99] Berendsen, HJC, Postma, JPM, van Gunsteren, WF, Hermans, J. *Fuerzas intermoleculares, capítulo Modelos de interacción para agua en relación con la hidratación de proteínas*, (1981) pp 331-342. Dordrecht: D. Reidel Publishing Company Dordrecht.
- [100] Kabsch, W., Sander, C. *Diccionario de estructura secundaria de proteínas: Reconocimiento de patrones de las características geométricas y de enlace de hidrógeno*. *Biopolímeros* 22 , (1983). 2577-2637.
- [101] Mierke, DF, Kessler, H. *Dinámica molecular con dimetilsulfóxido como disolvente. Conformación de un hexapéptido cíclico*. *Chem.* (1991). 113 , 9446.
- [102] Stryer, L..*Bioquímica vol. 1, p. 211*. Nueva York: Freeman, 3 edición. (1988).
- [103] Gijs Schaftenaar, Elias Vlieg y Gerrit Vriend, "Molden 2.0: química cuántica cumple con las proteínas ",*J Comput Aided Mol Des* (2017) 31: 789.
- [104] G.Schaftenaar y JH Noordik, "Molden: un programa de pre y postprocesamiento para estructuras moleculares y electrónicas ", *J. Comput.-Aided Mol. Design*,14 (2000) 123-134.
- [105] Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. *J Comput Chem.* 2004 , 1605-120.
- [106] Hertig S, Goddard TD, Johnson GT, Ferrin TE. *Biophys J.* 2015 , 2097-102.
- [107] *Distancia de proteínas*. Chen JE, Huang CC, Ferrin TE. *Bioinformática.* 2015 , 1484-6.
- [108] N. Furnham, Andrew S. Dore, Dimitri Y. Chirgadze, Paul IW de Bakker, MA Depristo y TL Blundell,. *Exposición de espacios reales basada en el conocimiento para estructura de determinación de estructuras de baja resolución* 14(2006) , 1313-1320.

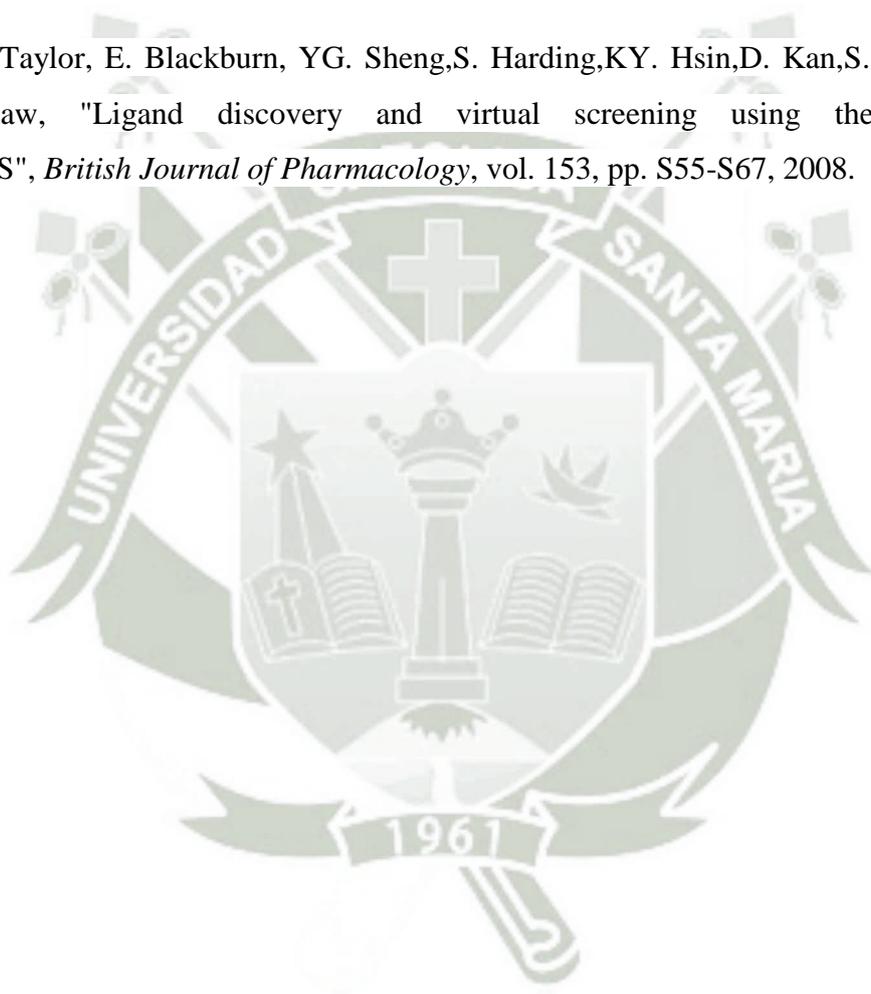
- [109] N. Furnham, TL Blundell, MA Depristo, TC Terwilliger. *¿Una solución es lo suficientemente buena? Nature Structural & Molecular Biology* 13 (2006) , 184-185.
- [110] MA Depristo, PIW de Bakker, RJ Johnson, TL Blundell. *Refinamiento cristalográfico por exploración basada en el conocimiento de paisajes energéticos complejos. Estructura* 13 (2005), 1311-1319.
- [111] Kresten Lindorff-Larsen, Robert B. Best, Mark A. DePristo, Christopher M. Dobson y Michele Vendruscolo *Determinación simultánea de la estructura y dinámica* (2005) 128-32.
- [112] MA DePristo, PIW de Bakker, TL Blundell *Heterogeneidad e imprecisión en las estructuras de proteínas resueltas mediante cristalografía de rayos X. Estructura* 12(2004) 831-838.
- [113] *Protein Docking Using Case-Based Reasoning*. A.W. Ghoorah, M. Smail-Tabbone, M.-D. Devignes, D.W. Ritchie, (2013).
- [114] *Ultra-Fast FFT Protein Docking On Graphics Processors*. D.W. Ritchie, V. Venkatraman (2010).
- [115] *HexServer: an FFT-based protein docking server powered by graphics processors*. G. Macindoe, L. Mavridis, V. Venkatraman, M.-D. Devignes, D.W. Ritchie (2010).
- [116] *Spherical Polar Fourier Assembly of Protein Complexes with Arbitrary Point Group Symmetry*. D.W. Ritchie and S. Grudinin (2016)., 158-167.
- [117] D.W. Ritchie, D. Kozakov, and S. Vajda (2008). 241865-1873.
- [118] D.W. Ritchie (2005) .
- [119] *HM Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, TN Bhat, H. Weissig, IN Shindyalov, PE Bourne. (2000)*
- [120] *Protein Workshop (J.L. Moreland, A. Gramada, O.V. Buzko, Q. Zhang, P.E. Bourne The Molecular Biology Toolkit (MBT): a modular platform for developing molecular visualization applications. (2005).*
- [121] F.C. Bernstein, T.F. Koetzle, G.J.B. Williams, E.F. Meyer Jr., M.D. Brice, J.R. Rodgers, O. Kennard, T. Shimanouchi, M. Tasumi,. 112 (1977): 535-542.
- [122] Smith KA. *Leyes, líderes y leyendas de la moderna Biblioteca Nacional de Medicina. J Med Libr Assoc. (2008)* .121 - 33.
- [123] R. Jia, LJ. Yang, SY. Yang, "Binding energy contributions of the conserved bridging water molecules in CDK2-inhibitor complexes: A combined QM/MM study", *Chemical Physics Letters*, vol. 460, pp. 300-305, 2008.

[124] R. Kim, J. Skolnick, "Assessment of programs for ligand binding affinity prediction", *Journal of Computational Chemistry*, vol. 29, pp. 1316-1331, 2008.

[125] BC. Robeits, RL. Mancera, "Ligand-protein docking with water molecules", *Journal of Chemical Information and Modeling*, vol. 48, pp. 397-408, 2008.

[126] N. Moitessier, P. Englebienne, D. Lee, J. Lawandi, CR. Corbeil, "Towards the development of universal, fast and highly accurate docking/scoring methods: a long way to go", *British Journal of Pharmacology*, vol. 153, pp. S7-S26, 2008.

[127] P. Taylor, E. Blackburn, YG. Sheng, S. Harding, KY. Hsin, D. Kan, S. Shave, M. Walkinshaw, "Ligand discovery and virtual screening using the program LIDAEUS", *British Journal of Pharmacology*, vol. 153, pp. S55-S67, 2008.



Apéndice A

Simulación de dinámica molécula

Para generar los archivos *.pdb* correspondientes a los derivados del fármaco y a la enzima unida al cofactor es necesario un corriendo en el cual irán los comandos necesarios para hacer la simulación molecular dentro del programa Gromacs.

```
#!/bin/bash
for file in $(ls *.pdb)
do
nuev=$(echo $file | sed 's/.pdb//g' )
gmx editconf -nice 0 -box 3 3 3 -c -resnr 1 -f $file -o $nuev.gro
gmx solvate -cp $nuev.gro -cs spc216.gro -o $nuev.gro
gmx pdb2gmx -nice 0 -f $nuev.gro -p $nuev.top -o $nuev.gro -i $nuev.itp -missing -n $nuev.ndx -ff oplaa -water spc
gmx grompp -f minima.mdp -c $nuev.gro -p $nuev.top -o $nuev-01.tpr -po $nuev.mdp -maxwarn 1
gmx mdrun -nice 0 -v -s -deffnm $nuev-01
gmx pdb2gmx -nice 0 -f $nuev-01.gro -p $nuev-01.top -o $nuev-01.gro -i $nuev-01.itp -missing -n $nuev-01.ndx -ff oplaa -water spc
gmx grompp -f nvt.mdp -c $nuev-01.gro -p $nuev-01.top -o $nuev-02.tpr -po $nuev-01.mdp
gmx mdrun -nice 0 -v -s -deffnm $nuev-02 -cpo $nuev-02.cpt -c $nuev-02.gro -ntmpi 0 -ntomp 0 -npme 0 -gpu_id 1
rm \#*
done
```

Figura A.1: Archivo corriendo con los comandos necesarios para la simulación molecular.

gmx editconf convierte el *.pdb* a *.gro*, *-nice* establece un valor de estabilización, *-box* es un comando que requiere el valor de la caja de simulación, *-c* sirve para archivos de coordenadas, *-resnr* sirve para reenumerar los residuos, finalmente se obtiene un archivo *.gro* de salida.

gmx solvate sirve para poner un soluto como es KATII y los derivados del fármaco en solución, *-cp* especifica el soluto, *-cs* especifica el solvente, en este caso es el tipo de agua representado por *spc216.gro*, *-o* indica un archivo de salida como es *.gro*.

gmx pdb2gmx lee los archivos de entrada *.pdb* o *.gro* agrega hidrógenos a las moléculas y genera coordenadas en formato GROMACS, para esto este comando busca que estén declarados los campos de fuerza correspondiente al soluto en estudio, en el caso de los fármacos se declararon nuevos campos, *-f* se coloca para

un archivo de entrada como es el nuevo *.gro*, *-p* se usa para un archivo de topología, *.top* contiene los átomos y combinaciones de átomos parametrizados en los campos de fuerza, luego se genera un nuevo *.gro*, *-i* antecede un archivo de inclusión, *.itp* es la topología de inclusión donde se modifican ángulos, diedros, pertenecientes a campos de fuerza modificados, *-missing* permite continuar aun cuando faltan átomos, *-n* antecede un archivo de índice, *.ndx* crea un archivo de índice de acuerdo a la topología de los átomos, *-ff* es una extensión para que sean reconocidos los campos de fuerza, *oplsaa* es un esquema dentro de GROMACS para átomos de mayor peso molecular, *-water spc* el disolvente predeterminado es el agua de carga de punto simple de coordenadas.

Para la caja de simulación se utilizó el solvente explícito correspondiente, se observa en las Figuras A.2 y A.3.

Se hizo la minimización de la energía generando los archivos de topología necesarios, anteriormente se detalló los archivos a usar.

Para finalizar la dinámica se llevó al equilibrio el sistema, con una trayectoria de tiempo correspondiente en el que se ejecutan los cálculos del sistema.

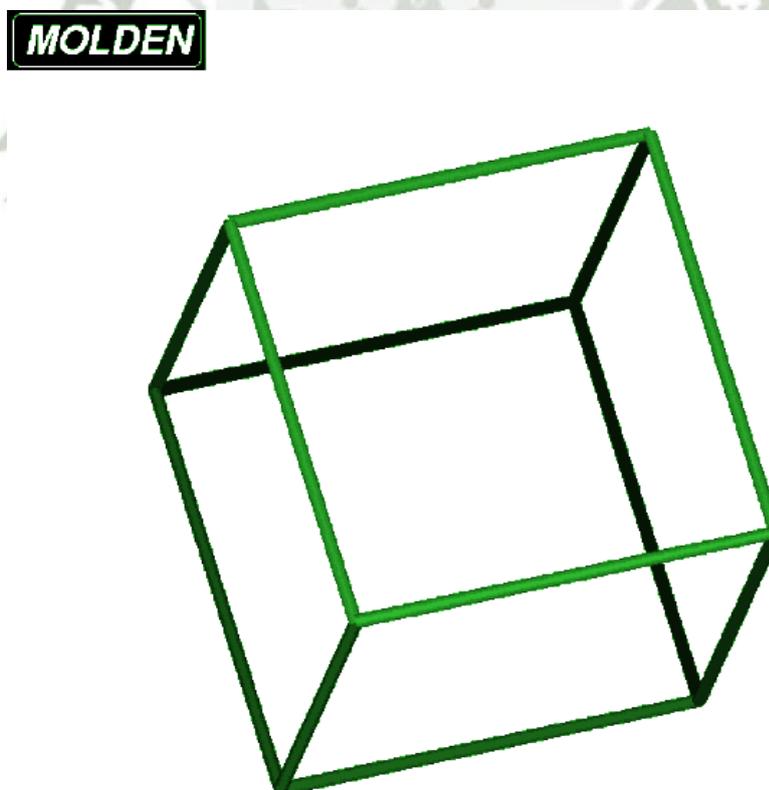


Figura A.2: Caja de simulación respectiva en el programa Molden, para ello se tomó en cuenta el tamaño de cada derivado del fármaco y de la enzima.

MOLDEN

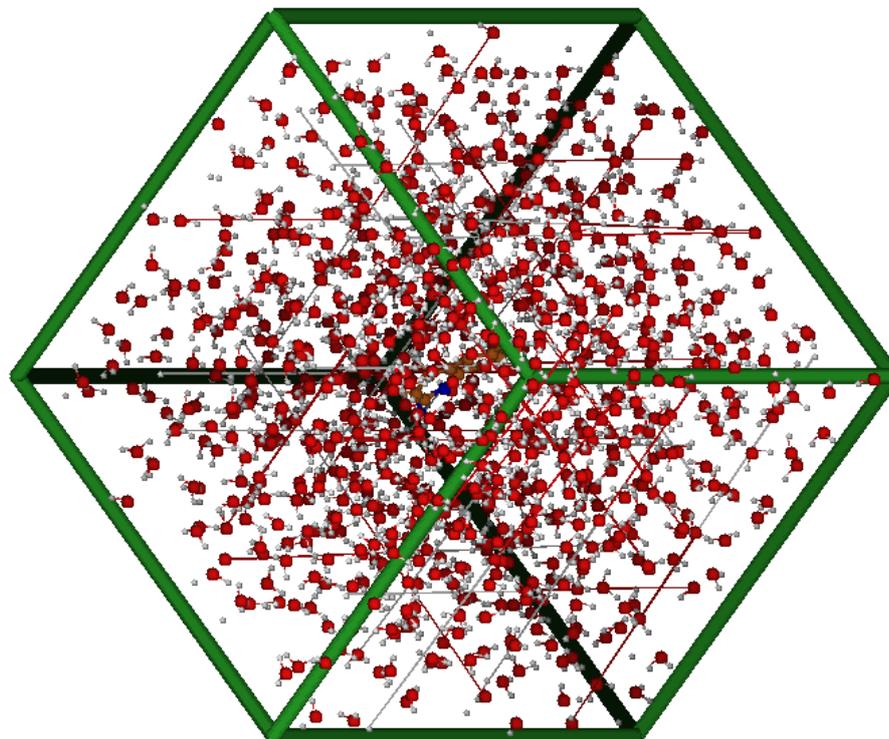


Figura A.3: Caja de simulación con el solvente explícito o interactuante moléculas de agua.

```

title           = Minimizacion
cpp             = /lib/cpp
include        = -I../top
define         =
integrator      = steep
nsteps         = 100
nstcomm        = 1
emtol          = 10
emstep         = 0.01
nstcgsteep     = 1000
nstxout        = 10
nstvout        = 10
nstfout        = 0
nstlog         = 1000
nstenergy      = 1000
nstxtcout      = 1
nbgscorr       = 10
xtc-precision  = 1000
xtc-grps       =
energygrps     =
cutoff-scheme  = Verlet
nstlist        = 10
ns-type        = grid
pbc            = xyz
optimize-fft   = yes
fourierspacing = 0.3
DispCorr       = Ener
constraints    = none
coulombtype    = PME
rlist          = 0.9
rcoulomb       = 0.9
vdwtype        = Cut-off
rvdw           = 0.9
pme-order      = 4
ewald-rtol     = 1e-5
rgbradii       = 0.9
;implicit_solvent= none
    
```

Figura A.3: Minimización de la energía con el archivo mínima el que contiene los datos necesarios como el tiempo de cálculo, para los grados de libertad del sistema y la topología.

```
title           = Dinamica Molecular NVT
cpp             = /lib/cpp
include        = -I../top
integrator     = md
dt             = 0.001
nsteps        = 100
nstxout       = 1000
nstvout       = 1000
nstlog        = 1000
nstenergy     = 1000
nstxout-compressed= 1000
xtc-grps      =
energygrps    =
nstlist       = 20
ns-type       = grid
fourierspacing = 0.30
pme-order     = 4
ewald-rtol    = 1e-5
pbc           = xyz
tcoupl        = v-rescale
tc-grps       = system
tau-t         = 0.5
ref-t         = 309.65
gen-vel       = yes
gen-seed      = 173529
constraints    = none
cutoff-scheme = Verlet
coulombtype   = PME
rlist         = 0.9
rcoulomb      = 0.9
vdwtype       = Cut-off
rvdw          = 0.9
```

Figura A.4: Archivo para realizar el NVT.

Para culminar se dio la dinámica en la que se llevó al sistema al equilibrio, se usa un archivo de NVT el cual contiene los pasos de ejecución de corrida en el que se generan los cálculos necesarios, además de que tienen las condiciones de contorno establecidas como temperatura, termostato.

Apéndice B

Para poder realizar la adaptación de Mecánica Cuántica a Mecánica Molecular es necesario pasar los archivos.

Primero el CIIM me brindo los archivos *.xyz* correspondientes a cada fármaco, para poderlas trabajar se tenían que convertir en *.pdb* para esto dentro del programa Gromacs que ya contenía la herramienta Open Babel se modificaron en un terminal de trabajo como se observa en la Figura B.1.

```
Archivo Editar Ver Buscar Terminal Ayuda
lilr@lili:~/Documentos/FINDEFIN10 babel -ixyz nombredelarchivo.xyz -opdb nombredelarchivo.pdb
```

Figura B.1: Comandos para convertir de *.xyz* al *.pdb*.

Seguidamente hay que verificar con el visualizador Molden y un editor de texto que los archivos *.pdb* estén sin fragmentarse como se ve en la Figura B.2.

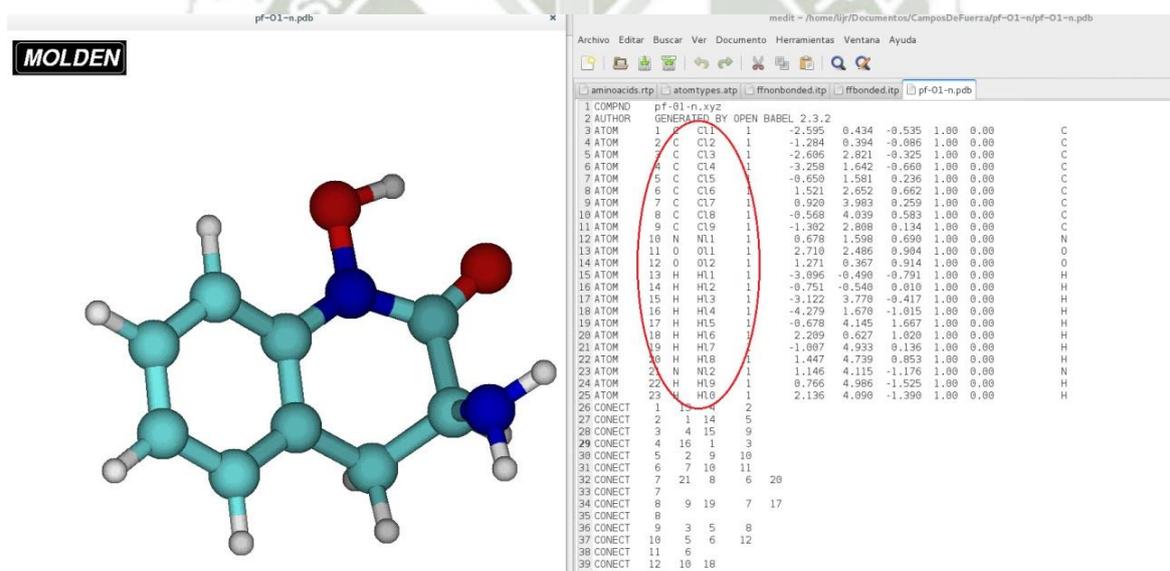


Figura B.2: *.pdb* inicial sin modificación.

Posteriormente se modificaron los nombres dentro del archivo *.pdb* colocando los nuevos que se van a utilizar, Figura B.3.

```

COMPND      pf-01-n.xyz
AUTHOR      GENERATED BY OPEN BABEL 2.3.2
ATOM        1  CX1 PFA A  1  -2.595  0.434 -0.535  1.00  0.00  C
ATOM        2  CX2 PFA A  1  -1.284  0.394 -0.086  1.00  0.00  C
ATOM        3  CX3 PFA A  1  -2.606  2.821 -0.325  1.00  0.00  C
ATOM        4  CX4 PFA A  1  -3.258  1.642 -0.660  1.00  0.00  C
ATOM        5  CX5 PFA A  1   0.650  1.581  0.236  1.00  0.00  C
ATOM        6  CX6 PFA A  1   1.521  2.652  0.662  1.00  0.00  C
ATOM        7  CX7 PFA A  1   0.920  3.983  0.259  1.00  0.00  C
ATOM        8  CX8 PFA A  1  -0.568  4.039  0.583  1.00  0.00  C
ATOM        9  CX9 PFA A  1   1.302  2.808  0.134  1.00  0.00  C
ATOM       10  NX1 PFA A  1   0.678  1.598  0.690  1.00  0.00  N
ATOM       11  OX1 PFA A  1   2.710  2.486  0.904  1.00  0.00  O
ATOM       12  OX2 PFA A  1   1.271  0.367  0.914  1.00  0.00  O
ATOM       13  HX1 PFA A  1  -3.096 -0.490 -0.791  1.00  0.00  H
ATOM       14  HX2 PFA A  1  -0.751 -0.540  0.010  1.00  0.00  H
ATOM       15  HX3 PFA A  1  -3.122  3.770 -0.417  1.00  0.00  H
ATOM       16  HX4 PFA A  1  -4.279  1.670 -1.015  1.00  0.00  H
ATOM       17  HX5 PFA A  1  -0.678  4.145  1.667  1.00  0.00  H
ATOM       18  HX6 PFA A  1   2.209  0.627  1.020  1.00  0.00  H
ATOM       19  HX7 PFA A  1  -1.007  4.933  0.136  1.00  0.00  H
ATOM       20  HX8 PFA A  1   1.447  4.739  0.853  1.00  0.00  H
ATOM       21  NX2 PFA A  1   1.146  4.115 -1.176  1.00  0.00  N
ATOM       22  HX9 PFA A  1   0.766  4.986 -1.525  1.00  0.00  H
ATOM       23  HX0 PFA A  1   2.136  4.090 -1.390  1.00  0.00  H
CONNECT     1  13  4  2
CONNECT     2  1  14  5
CONNECT     3  4  15  9
CONNECT     4  16  1  3
CONNECT     5  2  9  10
CONNECT     6  7  10  11
CONNECT     7  21  8  6  20
CONNECT     7
CONNECT     8  9  19  7  17
CONNECT     8
    
```

Figura B.3: *.pdb* inicial modificado.

Luego dentro del visualizador Molden se tomó las distancias y nota de cada enlace entre átomo y átomo, también los ángulos y los diedros para posteriormente poder colocarlos en los archivos de sistema de Gromacs, se ve en la Figura B.4.

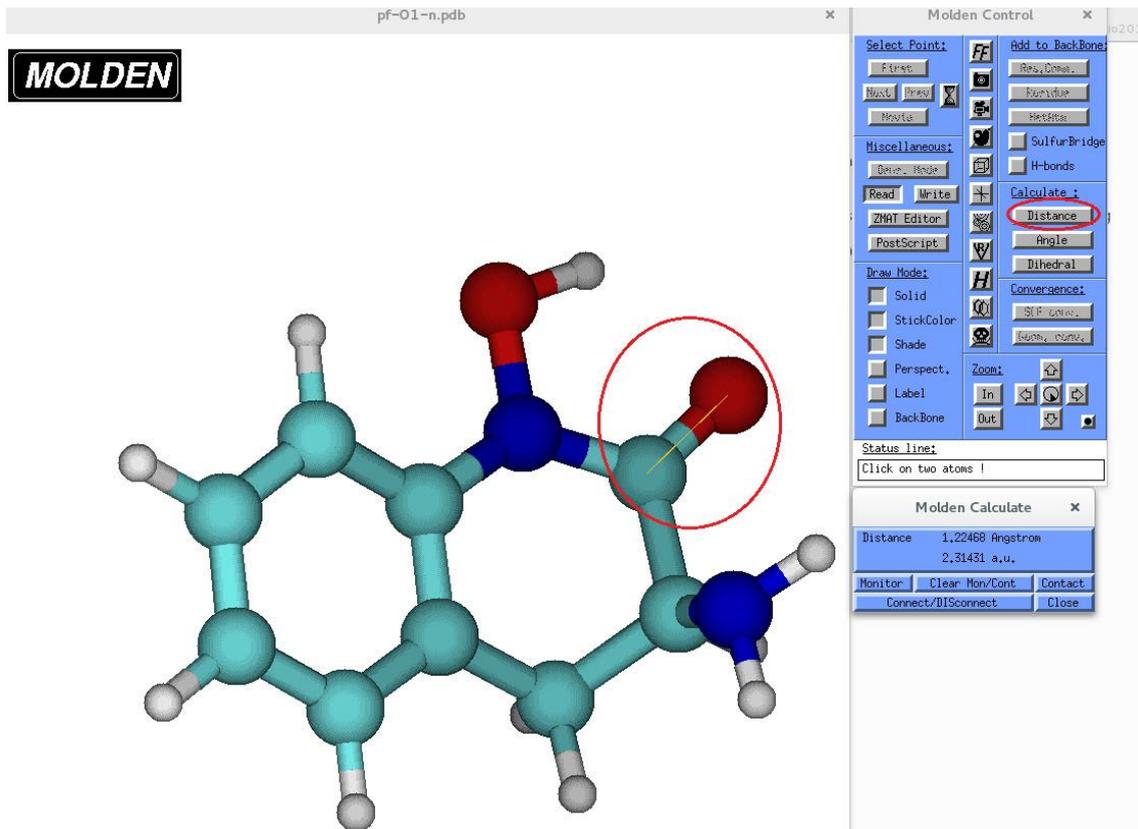


Figura B.4: .Distancias entre cada átomo.

Para poder insertar los campos de fuerza en cada archivo de sistema es necesario saber inicialmente que tipo de campo de fuerza se va a usar en este caso por ser el más probado y trabajado en macromoléculas como es KAT-II es uso el esquema OPLSAA.

También se requiere un tipo de solvente, se escogió el tipo spc16 para poderse aproximar a lo que ocurre en el cuerpo humano, este modelo trabaja bien a 36.65° C, se probó primero en un solvente implícito y no funcionó bien en todos los fármacos, solo algunos funcionaron, por ende a sabiendas de que aumentaría el tiempo se usó solvente explícito.

Se realizó la modificación en cada archivo de sistema evaluando detalladamente de que estén correctamente declarados enlaces, peso atómico, ángulos, diedros como se observa en la Figura B.5-B.9.

```

CQ6  NQ1      1      0.14048      319657.6      ;
CQ6  NQ1      1      0.13539      319657.6      ;
CQ6  CQ7      1      0.15191      265265.6      ;
CQ7  CQ8      1      0.15270      265265.6      ;
CQ8  CQ1      1      0.15056      265265.6      ;
NQ1  OQ1      1      0.14168      267776.0      ;
OQ1  HQ4      1      0.09932      502080.0      ;
CQ6  OQ2      1      0.12519      267776.0      ;
CQ7  NQ2      1      0.14579      319657.6      ;
CQ7  HQ5      1      0.10876      284512.0      ;
NQ2  HQ6      1      0.10126      363171.2      ;
NQ2  HQ7      1      0.10110      363171.2      ;
CQ8  HQ8      1      0.10893      284512.0      ;
CQ8  HQ9      1      0.10950      284512.0      ;
CX1  CX2      1      0.13999      265265.6      ; PFA
CX1  CX4      1      0.13999      265265.6      ; PFA
CX1  HX1      1      0.10807      307105.6      ; PFA
CX2  CX5      1      0.13999      265265.6      ; PFA
CX2  HX2      1      0.10807      307105.6      ; PFA
CX3  CX4      1      0.13999      265265.6      ; PFA
CX3  CX9      1      0.13999      265265.6      ; PFA
CX3  HX3      1      0.10807      307105.6      ; PFA
CX4  HX4      1      0.10807      307105.6      ; PFA
CX5  CX9      1      0.13999      265265.6      ; PFA
CX5  NX1      1      0.13539      319657.6      ; PFA
CX6  CX7      1      0.13999      265265.6      ; PFA
CX6  NX1      1      0.13539      319657.6      ; PFA
CX6  OX1      1      0.12519      267776.0      ; PFA
CX7  CX8      1      0.13999      265265.6      ; PFA
CX7  HX8      1      0.10807      307105.6      ; PFA
CX7  NX2      1      0.13539      319657.6      ; PFA
CX8  CX9      1      0.13999      265265.6      ; PFA
CX8  HX5      1      0.10807      307105.6      ; PFA
CX8  HX7      1      0.10807      307105.6      ; PFA
NX1  OX2      1      0.14168      267776.0      ; PFA
OX2  HX6      1      0.09932      502080.0      ; PFA
NX2  HX9      1      0.10110      363171.2      ; PFA
NX2  HX0      1      0.10110      363171.2      ; PFA
constrainttypes ]
    
```

Figura B.5: .Declaración de cada enlace en el archivo ffbonded.

```

opls_999 HQ1 1 1.00800 0.0529 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ;
opls_1000 HQ2 1 1.00800 0.0556 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ;
opls_1001 HQ3 1 1.00800 0.0569 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ;
opls_1002 NQ1 7 14.00670 -0.0074 A 3.25000e-01 7.11280e-01 ;
opls_1003 CQ6 6 12.01100 0.1649 A 3.50000e-01 2.76144e-01 ;
opls_1004 CQ7 6 12.01100 0.0312 A 3.50000e-01 2.76144e-01 ;
opls_1005 CQ8 6 12.01100 -0.0579 A 3.50000e-01 2.76144e-01 ;
opls_1006 OQ1 8 15.99940 -0.1715 A 2.96000e-01 8.78640e-01 ;
opls_1007 HQ4 1 1.00800 0.1677 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ;
opls_1008 OQ2 8 15.99940 -0.3262 A 2.96000e-01 8.78640e-01 ;
opls_1009 NQ2 7 14.00670 -0.2456 A 3.25000e-01 7.11280e-01 ;
opls_1010 HQ5 1 1.00800 0.0608 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ;
opls_1011 HQ6 1 1.00800 0.1110 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ;
opls_1012 HQ7 1 1.00800 0.1208 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ;
opls_1013 HQ8 1 1.00800 0.0524 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ;
opls_1014 HQ9 1 1.00800 0.0508 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ;
; PFA -Lili
opls_1015 CX1 6 12.01100 -0.045 A 3.50000e-01 2.76144e-01 ; PFA
opls_1016 CX2 6 12.01100 -0.054 A 3.50000e-01 2.76144e-01 ; PFA
opls_1017 CX3 6 12.01100 -0.049 A 3.50000e-01 2.76144e-01 ; PFA
opls_1018 CX4 6 12.01100 -0.056 A 3.50000e-01 2.76144e-01 ; PFA
opls_1019 CX5 6 12.01100 0.048 A 3.50000e-01 2.76144e-01 ; PFA
opls_1020 CX6 6 12.01100 0.184 A 3.50000e-01 2.76144e-01 ; PFA
opls_1021 CX7 6 12.01100 0.025 A 3.50000e-01 2.76144e-01 ; PFA
opls_1022 CX8 6 12.01100 -0.057 A 3.50000e-01 2.76144e-01 ; PFA
opls_1023 CX9 6 12.01100 -0.011 A 3.50000e-01 2.76144e-01 ; PFA
opls_1024 NX1 7 14.00670 0.009 A 3.25000e-01 7.11280e-01 ; PFA
opls_1025 OX1 8 15.99940 -0.314 A 2.96000e-01 8.78640e-01 ; PFA
opls_1026 OX2 8 15.99940 -0.164 A 2.96000e-01 8.78640e-01 ; PFA
opls_1027 HX1 1 1.00800 0.052 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ; PFA
opls_1028 HX2 1 1.00800 0.051 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ; PFA
opls_1029 HX3 1 1.00800 0.049 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ; PFA
opls_1030 HX4 1 1.00800 0.049 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ; PFA
opls_1031 HX5 1 1.00800 0.048 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ; PFA
opls_1032 HX6 1 1.00800 0.159 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ; PFA
opls_1033 HX7 1 1.00800 0.048 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ; PFA
opls_1034 HX8 1 1.00800 0.042 A 2.50000e-01 1.25520e-01 ; PFA
opls_1035 NX2 7 14.00670 -0.242 A 3.25000e-01 7.11280e-01 ; PFA

```

Figura B.6: Declaración de las cargas y masas en el archivo ffnobonded.

opls_998	1.00800	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_999	1.00800	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_1000	1.00800	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_1001	1.00800	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_1002	14.00670	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_1003	12.01100	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_1004	12.01100	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_1005	12.01100	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_1006	15.99940	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_1007	1.00800	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_1008	15.99940	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_1009	14.00670	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_1010	1.00800	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_1011	1.00800	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_1012	1.00800	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_1013	1.00800	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_1014	1.00800	; (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona
opls_1015	12.01100	; CX1
opls_1016	12.01100	; CX2
opls_1017	12.01100	; CX3
opls_1018	12.01100	; CX4
opls_1019	12.01100	; CX5
opls_1020	12.01100	; CX6
opls_1021	12.01100	; CX7
opls_1022	12.01100	; CX8
opls_1023	12.01100	; CX9
opls_1024	14.00670	; NX1
opls_1025	15.99940	; OX1
opls_1026	15.99940	; OX2
opls_1027	1.00800	; HX1
opls_1028	1.00800	; HX2
opls_1029	1.00800	; HX3
opls_1030	1.00800	; HX4
opls_1031	1.00800	; HX5
opls_1032	1.00800	; HX6
opls_1033	1.00800	; HX7
opls_1034	1.00800	; HX8
opls_1035	14.00670	; NX2

Figura B.7: Declaración de los pesos atómicos en el archivo atomtype.

CX1	CX2	HX2	1	121.010	303.700	; PFA
CX1	CX2	HX2	1	120.267	292.880	; PFA
CX5	CX2	HX2	1	120.267	292.880	; PFA
CX4	CX3	CX9	1	121.618	585.760	; PFA
CX4	CX3	HX3	1	120.267	292.880	; PFA
CX9	CX3	HX3	1	120.267	292.880	; PFA
CX1	CX4	CX3	1	121.618	585.760	; PFA
CX1	CX4	HX4	1	120.267	292.880	; PFA
CX3	CX4	HX4	1	120.267	292.880	; PFA
CX2	CX5	CX9	1	121.618	585.760	; PFA
CX2	CX5	NX1	1	116.908	313.800	; PFA
CX9	CX5	NX1	1	116.908	313.800	; PFA
CX7	CX6	NX1	1	111.101	313.800	; PFA
CX7	CX6	OX1	1	124.709	669.440	; PFA
NX1	CX6	OX1	1	119.340	669.440	; PFA
CX6	CX7	CX8	1	121.618	585.760	; PFA
CX6	CX7	HX8	1	120.267	292.880	; PFA
CX6	CX7	NX2	1	111.101	313.800	; PFA
CX8	CX7	HX8	1	120.267	292.880	; PFA
CX8	CX7	NX2	1	111.101	313.800	; PFA
HX8	CX7	NX2	1	111.101	313.800	; PFA
CX7	CX8	CX9	1	121.618	585.760	; PFA
CX7	CX8	HX5	1	120.267	292.880	; PFA
CX7	CX8	HX7	1	120.267	292.880	; PFA
CX9	CX8	HX5	1	120.267	292.880	; PFA
CX9	CX8	HX7	1	120.267	292.880	; PFA
HX5	CX8	HX7	1	120.267	292.880	; PFA
CX3	CX9	CX5	1	121.618	585.760	; PFA
CX3	CX9	CX8	1	121.618	585.760	; PFA
CX5	CX9	CX8	1	121.618	585.760	; PFA
CX5	NX1	CX6	1	126.763	418.400	; PFA
CX5	NX1	OX2	1	116.281	384.928	; PFA
CX6	NX1	OX2	1	116.281	384.928	; PFA
NX1	OX2	HX6	1	105.400	410.032	; PFA
CX7	NX2	HX9	1	115.098	251.040	; PFA
CX7	NX2	HX0	1	115.098	251.040	; PFA
HX9	NX2	HX0	1	115.098	251.040	; PFA

Figura B.7: Declaración de los ángulos en el archivo ffbonded.

```

CY9  CY1  CY2  CY6  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
NY1  CY1  CY9  CY8  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
NY1  CY1  CY9  HY2  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY2  CY1  CY9  CY8  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY2  CY1  CY9  HY2  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY1  CY2  CY3  CY4  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY1  CY2  CY3  HY4  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY1  CY2  CY3  HY6  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY6  CY2  CY3  CY4  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY6  CY2  CY3  HY4  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY6  CY2  CY3  HY6  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY1  CY2  CY6  CY7  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY1  CY2  CY6  HY3  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY3  CY2  CY6  CY7  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY3  CY2  CY6  HY3  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY2  CY3  CY4  CY5  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY2  CY3  CY4  NY2  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY2  CY3  CY4  HY7  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
HY4  CY3  CY4  CY5  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
HY4  CY3  CY4  NY2  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
HY4  CY3  CY4  HY7  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
HY6  CY3  CY4  CY5  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
HY6  CY3  CY4  NY2  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
HY6  CY3  CY4  HY7  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY3  CY4  CY5  NY1  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY3  CY4  CY5  OY1  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
NY2  CY4  CY5  NY1  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
NY2  CY4  CY5  OY1  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
HY7  CY4  CY5  NY1  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
HY7  CY4  CY5  OY1  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY3  CY4  NY2  HY8  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY3  CY4  NY2  HY9  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY5  CY4  NY2  HY8  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY5  CY4  NY2  HY9  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
HY7  CY4  NY2  HY8  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
HY7  CY4  NY2  HY9  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY2  CY6  CY7  CY8  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY2  CY6  CY7  CL  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
HY3  CY6  CY7  CY8  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
HY3  CY6  CY7  CL  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY6  CY7  CY8  CY9  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY6  CY7  CY8  HY1  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CL  CY7  CY8  CY9  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CL  CY7  CY8  HY1  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY7  CY8  CY9  CY1  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
CY7  CY8  CY9  HY2  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
HY1  CY8  CY9  CY1  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
HY1  CY8  CY9  HY2  3  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000  0.00000 ; PFA
; Residue-specific sidechain dihedrals, and sidechain acids. Use explicitly in rtp or top files.
; Chi-1 N-C-C-O in SER & THR
#define dih_SER_THR_chi1_N_C_C_O 9.89307 -4.71746 3.67774 -8.85335 0.00000 0.00000

```

Figura B.8: Declaración de los diedros en el archivo ffbonded.

Una vez que se tuvo correctamente declarados los campos de fuerza de cada fármaco, se realizó una minimización y una dinámica molecular, se usó un ensamble canónico NVT.

Se procedió a realizar el diagrama RMSD dentro de un terminal el cual es necesario, porque la gráfica nos indica cómo se comporta cada átomo en una trayectoria de tiempo.

Esta grafica es necesaria para poder sacar un promedio de la gráfica, se selecciona la parte en la que las líneas permanecen continuas sin altibajos.

Luego se obtiene el .pdb del promedio el cual se minimiza sin solvente, se realiza esto para preparar tanto al fármaco como a la enzima para el acoplamiento.