



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS**

---

---

**FACULTAD DE FARMACIA**

**PREPARACIÓN Y EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA  
DE ANÁLOGOS DE FENFORMINA Y ADIPORON**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MAESTRO EN FARMACIA**

**P R E S E N T A:**

**L.F. CARLOS MARTÍNEZ CONDE**

**DIRECTORES DE TESIS**

**Dr. J. GABRIEL NAVARRETE VÁZQUEZ  
Dr. SAMUEL ENOCH ESTRADA SOTO**



**CUERNAVACA, MORELOS 2018**



**FACULTAD DE FARMACIA**  
Consejo Interno de Posgrado

MAESTRÍA EN FARMACIA

**Fecha:** 25 de enero de 2018

**Asunto:** jurado

**Medio de notificación:** Impresa/personal

**Folio:** FF/D/SAc/CIP/MF/011/2018

**L.F. CARLOS MARTÍNEZ CONDE**  
**ESTUDIANTE DEL PROGRAMA DE MAESTRÍA EN FARMACIA**  
**P R E S E N T E**

Por este medio le informo que, con base en la propuesta hecha en su solicitud, el Consejo Interno de Posgrado le asigno el siguiente jurado para evaluar la tesis **“PREPARACIÓN Y EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA DE ANÁLOGOS DE FENFORMINA Y ADIPORON”**.

Quedando integrado su comité de la siguiente manera:

**PRESIDENTE:** Dr. German Bernal Fernández  
**SECRETARIO:** M. en C. Martha Hernández Labra  
**VOCAL1:** Dr. David Centurión Pacheco  
**VOCAL2:** Dra. Myrna Déciga Campos  
**VOCAL 3:** Dr. Elix A. Domínguez Mendoza

Se le solicita entregar las tesis al jurado designado y dar fluidez a los trámites como se indica en el manual de procedimientos.

Esperando que esta resolución sea en beneficio de su desempeño académico, y sin otro particular por el momento reciba un cordial saludo.

Atentamente  
*Por una humanidad culta*  
*Una universidad de excelencia*



**Dr. Julio César Rivera Leyva.**  
**Jefatura de Posgrado**

ccp: archivo  
mjt  
Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209, 1er. Piso Torre de Rectoría,  
Tel. (777) 329 701 1, 329 70, 00, Ext. 3582 / administracion@uaem.mx



UAEM

Una universidad de excelencia

RECTORÍA  
2017-2023

UAEM



*En los libros perdura la imagen del ingenio y del  
conocimiento de los hombres. -Francis Bacon*

## AGRADECIMIENTOS

A CONACyT por el apoyo otorgado para el proyecto de investigación para la educación en ciencia básica 2015, numero 253814 y por la beca otorgada para estudios de maestría (CVU/Becario): 741523

Al financiamiento interno otorgado por la **Facultad de Farmacia** de la **Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM)** para la realización de este proyecto.

Al **Dr. Emanuel Hernández Nuñez** del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN Unidad Mérida y al **Dr. Héctor Manuel Torres** del Instituto de Química y Química Biológica (ICBC) en Wädenswil, Suiza, por la colaboración en la obtención de los espectros de los análisis espectroscópicos y espectrométricos.

A la **M. en F. Fabiola Chávez Silva**, **M. en F. Litzia Christell Cerón Romero** y **pLF. Kathia Gisela Ornelas Mendoza** por la colaboración en la realización de los ensayos *in vivo*.

A la **L.F. Yelzyn Dolores Galván Ciprés** por su colaboración en la realización del Docking Molecular Ciego.

Al comité revisor: **Dr. German Bernal Fernández**, **M. En C. Martha Hernández Labra**, **Dr. David Centurión Pacheco**, **Dra. Myrna Déciga Campos** y **Dr. Elix A. Domínguez Mendoza** por sus observaciones y tiempo invertido en la revisión de ésta investigación.

Al **Dr. Samuel Enoch Estrada Soto** por permitirme formar parte de su grupo de trabajo, así como de sus enseñanzas y observación que permitieron mejorar este trabajo.

Finalmente, un agradecimiento especial al **Dr. J. Gabriel Navarrete Vázquez** por permitirme una vez más formar parte de su grupo de trabajo, por enseñarme responsabilidad y constancia. Por ser un ejemplo a seguir, ya que es uno de los mejores Maestros que he conocido, enseñar y la forma de transmitir su conocimiento son algunas de sus mejores cualidades, tanto que deja huella en la vida académica y personal de sus estudiantes en donde me incluyo.

## DEDICATORIAS

A mis padres: **Carlos Alberto Martínez Noriega, Eufemia Conde Medina** por brindarme su apoyo incondicional durante toda mi formación académica, así como afuera de ella. Por haberme enseñado que con esfuerzo, trabajo y responsabilidad se pueden alcanzar todos los objetivos que te propones.

A mis compañeros y ahora parte de mis mejores amigos **Diana y Melo**, por compartir todas aquellas experiencias tanto buenas y malas, a lo largo de nuestra formación académica en la Maestría en Farmacia.

A mi segunda familia el L-5, compañeros y amigos que de alguna u otra manera, contribuyeron a mejorar este proyecto, además de hacer más ameno el trabajo en el laboratorio. Por su apoyo, amistad y consejos; a **Elix, Blanca, Miguel, Abraham, Thalia, Clave, Yelz, Cristian, Josue, Briseyda, Edgar, Genaro, Abril, Kary, Norma y Jorge**.

A la vida, ya que con todas las experiencias que te brinda te forja para ser una mejor persona día a día. No le reprocho nada. Solo hay una cosa, la cual me hubiese gustado se diera de otra manera, δθδ.

.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE ESPECTROS.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS.....	II
ÍNDICE DE TABLAS.....	III
ABREVIATURAS.....	IV
ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS.....	V
RESUMEN.....	VI
ABSTRACT.....	VII
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 ANTECEDENTES.....	2
2.1 Definición de diabetes y su clasificación.....	2
2.2 Prevalencia.....	3
2.3 Diabetes mellitus tipo 2.....	4
2.4 Factores etiológicos para el desarrollo de DM2.....	5
2.5 Diagnóstico de DM.....	6
2.5.1 Prediabetes.....	7
2.6 Fisiopatología de la DM2.....	9
2.6.1 Mecanismos de excreción de insulina.....	9
2.6.2 Resistencia a la insulina.....	10
2.7 Tratamiento de la DM2.....	11
2.7.1 Sulfonilureas.....	12
2.7.2 Meglitinidas.....	13
2.7.3 Inhibidores de las $\alpha$ -glucosidasas.....	13
2.7.4 Tiazolidindionas (TZDs).....	14
2.7.5 Inhibidores de la dipeptidil peptidasa-4 y análogos de incretinas.....	15
2.7.6 Inhibidores del transportador de sodio-glucosa tipo 2.....	17
2.7.7 Biguanidas.....	18
2.8 Blancos terapéuticos relevantes en el tratamiento de la DM2.....	19
2.8.1 Receptores de adiponectina.....	20

2.8.1.1 Agonistas de los receptores de adiponectina.....	21
3 JUSTIFICACIÓN.....	22
4 HIPÓTESIS.....	23
5 OBJETIVOS.....	23
5.1 Objetivo general.....	23
5.2 Objetivos particulares.....	23
6. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO MOLECULAR.....	24
6.2 Diseño de los compuestos homólogos inferiores de fenformina ( <b>MCC 1-5</b> ).....	24
6.3 Diseño del compuesto análogo de adipoRon ( <b>MCC-7</b> ).....	25
6.3.1 Disminución de Log P.....	26
6.3.2 Disminución de la reactividad.....	27
7 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	29
7.1 Parte química.....	29
7.1.1 Retrosíntesis .....	29
7.1.1.1 Retrosíntesis de la serie homólogos inferiores de fenformina.....	29
7.1.1.2 Retrosíntesis de la serie análogos de adipoRon.....	30
7.1.2 Síntesis química.....	31
7.1.2.1 Metodología general para la síntesis de la serie homólogos inferiores de fenformina ( <b>MCC 1-5</b> ).....	31
7.1.2.2 Metodología general para la síntesis de los análogos de adipoRon ( <b>MCC-7</b> ).....	32
7.2 Parte computacional ( <i>in silico</i> ).....	34
7.2.1 PASS online (Predictor del Espectro de Actividad Biológica para Sustancias).....	34
7.2.2 Explorador de propiedades OSIRIS.....	35
7.2.3 admetSAR (Predictor de las propiedades ADMET).....	36
7.2.4 MetaPrint2D.....	36
7.2.5 ACD/ToxSuite.....	37
7.2.6 Acoplamiento Molecular Automatizado.....	38
7.3 Parte farmacológica.....	41
7.3.1 Generación del modelo experimental de diabetes no insulino dependiente en ratón (DNID)..	42
7.3.2 Efecto antidiabético agudo en un modelo experimental de diabetes no insulino dependiente.. en ratón.....	42

7.4 Análisis de datos.....	42
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
8.1 PARTE QUÍMICA.....	44
8.1.1 Síntesis de los compuestos <b>MCC 1-5</b> de la serie homólogos inferiores de fenformina.....	44
8.1.1.1 Síntesis de: Diamida <i>N</i> -(3,4-dimetoxibencil)imidodicarbonimidica ( <b>MCC- 1</b> ).....	44
8.1.1.2 Síntesis de: Diamida <i>N</i> -(4-clorobencil)imidodicarbonimidica ( <b>MCC-2</b> ).....	45
8.1.1.4 Síntesis de: Diamida <i>N</i> -(4-metoxibencil)imidodicarbonimidica ( <b>MCC-3</b> ).....	45
8.1.1.3 Síntesis de: Diamida <i>N</i> -(3,4-diclorobencil)imidodicarbonimidica ( <b>MCC-4</b> ).....	46
8.1.1.6 Síntesis de: Diamida <i>N</i> -(4-hidroxibencil)imidodicarbonimidica ( <b>MCC-5</b> ).....	47
8.1.2 Síntesis del compuesto <b>MCC 7</b> de la serie análogos de adipoRon.....	47
8.1.2.1 Síntesis del precursor: <i>N</i> -(1-bencilpiperidin-4-il)-2-cloroacramida ( <b>MCC-14</b> ).....	47
8.1.2.2 Síntesis del precursor: <i>N</i> -(1-bencilpiperidin-4-il)-2-(4-formilfenil)acetamida ( <b>MCC-15</b> )...	48
8.1.2.3 Síntesis del compuesto final: ( <i>Z</i> )- <i>N</i> -(1-bencilpiperidin-4-il)-2-((2,4-dioxotiazolidin-5-iliden)metil)fenoxi)acetamida ( <b>MCC-7</b> ).....	48
8.1.3 Identificación y caracterización estructural de los compuestos sintetizados.....	51
8.1.3.1 Espectrometría de masas.....	52
8.1.3.2 Espectroscopia de RMN de <sup>1</sup> H y <sup>13</sup> C.....	56
8.2 PARTE COMPUTACIONAL.....	67
8.2.1 Predictor del Espectro de Actividad Biológica para Sustancias (PASS).....	68
8.2.2 Predicción de las propiedades quasi-fármaco y riesgo de toxicidad por la herramienta: OSIRIS.....	69
8.2.3 Predicción de las propiedades farmacocinéticas: admetSAR.....	71
8.2.4 MetaPrint2D: Predictor del sitio de metabolismo.....	73
8.2.5 ACD/ToxSuite predicción de la toxicidad aguda.....	76
8.2.5.1 Bloqueo de los canales hERG.....	77
8.2.5.2 Predicción de la inhibición de las isoformas de CYP 450.....	79
8.2.5.3 Toxicidad aguda.....	81
8.2.6 Acoplamiento molecular sobre AMPK.....	82
8.2.7 Validación del acoplamiento molecular AMPK.....	84
8.2.8 Validación del acoplamiento molecular de adipoR1.....	84
8.2.9 Alineamiento y análisis de similitud molecular .....	85



8.3 Acoplamiento molecular de fenformina sobre AMPK.....	87
8.3.1 Acoplamiento molecular del compuesto <b>MCC-2</b> sobre AMPK.....	88
8.3.2 Acoplamiento molecular del compuesto <b>MCC-3</b> sobre AMPK.....	90
8.3.3 Acoplamiento molecular del compuesto <b>MCC-7</b> en el sitio de reconocimiento al ligando de adipoR1.....	92
8.3.4 Sobre posicionamiento de los compuestos <b>MCC-2</b> , <b>MCC-3</b> , fenformina y AMP sobre el sitio alostérico de la AMPK.....	94
8.3.5 Sobre posicionamiento de los compuestos <b>MCC-7</b> .....	94
8.4 Parte <i>in vivo</i> .....	96
8.4.1 Análisis de consenso farmacológico.....	96
8.4.2 Determinación del efecto antihiper glucémico del compuesto <b>MCC-2</b> .....	97
9 CONCLUSIONES.....	101
10 PERSPECTIVAS .....	102
11 PARTE EXPERIMENTAL.....	103
11.1 Reactivos.....	103
11.2 Instrumentación.....	103
11.3 Cromatografía en capa fina.....	104
11.4.1 Síntesis de: Diamida <i>N</i> -(3,4-dimetoxibencil)imidodicarbonimidica ( <b>MCC-1</b> ).....	105
11.4.2 Síntesis de: Diamida <i>N</i> -(4-clorobencil)imidodicarbonimidica ( <b>MCC-2</b> ).....	106
11.4.3 Síntesis de: Diamida <i>N</i> -(4-metoxibencil)imidodicarbonimidica ( <b>MCC-3</b> ).....	107
11.4.4 Síntesis de: Diamida <i>N</i> -(3,4-diclorobencil)imidodicarbonimidica ( <b>MCC-4</b> ).....	109
11.4.5 Síntesis de: Diamida <i>N</i> -(4-hidroxibencil)imidodicarbonimidica ( <b>MCC-5</b> ).....	110
11.5 Análogos de adipoRon.....	111
11.5.1 Síntesis de: <i>N</i> -(1-bencilpiperidin-4-il)-2-cloroacetamida ( <b>14</b> ).....	111
11.5.2 Síntesis de: <i>N</i> -(1-bencilpiperidin-4-il)-2-(4-formilfenoxi)acetamida ( <b>15</b> ).....	112
11.5.3 Síntesis de: (Z)- <i>N</i> -(1-bencilpiperidin-4-il)-2-(4-((2,4-dioxotiazolidin-5-iliden)metil)fenoxi)acetamida ( <b>MCC-7</b> ).....	113
12 ESPECTROS.....	115
13 REFERENCIAS.....	125
14 ANEXOS.....	132

## ÍNDICE DE ESPECTROS

<b>Espectro 1.</b> RMN <sup>1</sup> H del compuesto <b>MCC-1</b> .....	117
<b>Espectro 2.</b> RMN <sup>13</sup> C del compuesto <b>MCC-1</b> .....	117
<b>Espectro 3.</b> RMN <sup>1</sup> H del compuesto <b>MCC-2</b> .....	117
<b>Espectro 4.</b> RMN <sup>13</sup> C del compuesto <b>MCC-2</b> .....	117
<b>Espectro 5.</b> EM-EI del compuesto <b>MCC-2</b> .....	118
<b>Espectro 6.</b> RMN <sup>1</sup> H del compuesto <b>MCC-3</b> .....	119
<b>Espectro 7.</b> RMN <sup>13</sup> C del compuesto <b>MCC-3</b> .....	119
<b>Espectro 8.</b> EM-EI del compuesto <b>MCC-3</b> .....	120
<b>Espectro 9.</b> RMN <sup>1</sup> H del compuesto <b>MCC-4</b> .....	121
<b>Espectro 10.</b> RMN <sup>13</sup> C del compuesto <b>MCC-4</b> .....	121
<b>Espectro 11.</b> EM-EI del compuesto <b>MCC-4</b> .....	123
<b>Espectro 12.</b> RMN <sup>1</sup> H del compuesto <b>MCC-5</b> .....	123
<b>Espectro 13.</b> RMN <sup>13</sup> C del compuesto <b>MCC-5</b> .....	123
<b>Espectro 14.</b> EM-EI del compuesto <b>MCC-5</b> .....	123
<b>Espectro 15.</b> RMN <sup>1</sup> H del compuesto <b>MCC-7</b> .....	124
<b>Espectro 16.</b> RMN <sup>13</sup> C del compuesto <b>MCC-7</b> .....	124
<b>Espectro 17.</b> RMN <sup>1</sup> H del compuesto precursor <b>MCC-14</b> .....	124
<b>Espectro 18.</b> EM-EI del compuesto precursor <b>14</b> .....	125
<b>Espectro 19.</b> RMN <sup>1</sup> H del compuesto precursor <b>15</b> .....	125
<b>Espectro 20.</b> EM-EI del compuesto precursor <b>15</b> .....	125

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Número de personas con DM por región a nivel mundial.....	5
<b>Figura 2.</b> Países con mayor número de personas con DM.....	6
<b>Figura 3.</b> Principales complicaciones de la diabetes.....	7
<b>Figura 4.</b> Mecanismo de secreción de la insulina.....	12
<b>Figura 5.</b> Estructura química de las Sulfonilureas de 1a y 2a generación.....	15
<b>Figura 6.</b> Estructura química de las meglitinidas.....	16
<b>Figura 7.</b> Estructura química de las $\alpha$ -glucosidasas.....	17
<b>Figura 8.</b> Estructura química de las TZDs.....	17
<b>Figura 9.</b> Estructura química de los inhibidores de la DPP-1.....	18
<b>Figura 10.</b> Estructura química de la exenatida.....	19
<b>Figura 11.</b> Estructura química de los inhibidores del SGLT2.....	20
<b>Figura 12.</b> Estructura química de la metformina.....	21
<b>Figura 13.</b> Mecanismo de acción de la metformina.....	21
<b>Figura 14.</b> Mecanismo de acción de la adiponectina.....	23
<b>Figura 15.</b> Estructura química del adipoRon.....	24
<b>Figura 16.</b> Homólogos Inferiores de fenformina.....	27
<b>Figura 17.</b> Actividad biológica del compuesto <b>EGL-6</b> .....	28
<b>Figura 18.</b> Diseño de los análogos de adipoRon.....	29
<b>Figura 19.</b> Relación de Log P con la biodisponibilidad oral.....	30
<b>Figura 20.</b> Formación de los productos finales de glicación avanzada.....	31
<b>Figura 21.</b> Retrosíntesis de los homólogos inferiores de fenformina.....	33
<b>Figura 22.</b> Retrosíntesis del análogo de adipoRon.....	34
<b>Figura 23.</b> Síntesis de los homólogos inferiores de fenformina.....	35
<b>Figura 24.</b> Síntesis de los análogos de adipoRon.....	36
<b>Figura 25.</b> Interfaz del programa PASS online.....	37
<b>Figura 26.</b> Interfaz de OSIRIS.....	38

<b>Figura 27.</b> Interfaz de admetSAR.....	39
<b>Figura 28.</b> Interfaz de Metaprint2D. ....	39
<b>Figura 29.</b> Interfaz de ACD/Tox Suite.....	40
<b>Figura 30.</b> Interfaz de autodock.....	42
<b>Figura 31.</b> Interfaz de PyMOL.....	43
<b>Figura 32.</b> Interfaz de discovery studio.....	43
<b>Figura 33.</b> Síntesis de <b>MCC-1</b> .....	47
<b>Figura 34.</b> Síntesis de <b>MCC-2</b> .....	48
<b>Figura 35.</b> Síntesis de <b>MCC-3</b> .....	49
<b>Figura 36.</b> Síntesis de <b>MCC-4</b> .....	49
<b>Figura 37.</b> Síntesis de <b>MCC-5</b> .....	50
<b>Figura 38 .</b> Síntesis del compuesto precursor ( <b>14</b> ).....	51
<b>Figura 39.</b> Síntesis del compuesto precursor ( <b>15</b> ).....	51
<b>Figura 40.</b> Síntesis del compuesto <b>MCC-7</b> .....	52
<b>Figura 41.</b> Espectro de EM-EI del compuesto <b>MCC-2</b> .....	55
<b>Figura 42.</b> Espectro de EM-EI del compuesto <b>MCC-3</b> .....	56
<b>Figura 43.</b> Espectro de EM-EI del compuesto <b>MCC-4</b> .....	56
<b>Figura 44.</b> Espectro de EM-EI del compuesto <b>MCC-5</b> .....	57
<b>Figura 45.</b> Espectro de EM-EI del precursor <b>MCC-14</b> .....	58
<b>Figura 46.</b> Espectro de EM-EI del precursor <b>MCC-15</b> .....	58
<b>Figura 47.</b> Espectro de EM-EI del compuesto <b>MCC-7</b> .....	59
<b>Figura 48.</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H del compuesto <b>MCC-4</b> .....	60
<b>Figura 49.</b> Espectro de RMN de <sup>13</sup> C del compuesto final <b>MCC-3</b> .....	60
<b>Figura 50.</b> Espectro de <sup>1</sup> H del precursor <b>14</b> .....	61
<b>Figura 51.</b> Espectro de RMN de <sup>13</sup> C del precursor <b>15</b> .....	62
<b>Figura 52.</b> Espectro de <sup>13</sup> C del compuesto final <b>MCC-7</b> .....	63
<b>Figura 53.</b> Espectro de <sup>1</sup> H del compuesto final <b>MCC-7</b> .....	64
<b>Figura 54.</b> Fragmento de metilbiguanida.....	74
<b>Figura 55 .</b> Principales sitios de metabolismo y metabolitos para el compuesto <b>MCC-1</b> .....	78

<b>Figura 56.</b> No se presenta metabolismo para los compuestos <b>MCC-2</b> y <b>MCC-4</b> .....	78
<b>Figura 57.</b> Principales sitios de metabolismo y metabolitos para el compuesto <b>MCC-3</b> .....	78
<b>Figura 58.</b> Principales sitios de metabolismo y metabolitos para el compuesto <b>MCC-5</b> .....	79
<b>Figura 59.</b> Principales sitios de metabolismo y metabolitos para el compuesto <b>MCC-7</b> .....	79
<b>Figura 60.</b> a) Potencial de acción cardiaco, b) electrocardiograma correspondiente.....	80
<b>Figura 61.</b> Interacciones 2D de, A) AMP con el sitio alostérico de la enzima AMPK, B) adipoRon en el sitio activo del receptor adipoR1.....	87
<b>Figura 62.</b> Superposición molecular de los compuestos AMP, fenformina, <b>MCC-2</b> y <b>MCC-3</b> .....	89
<b>Figura 63.</b> Superposición molecular de adipoRon con el compuesto <b>MCC-7</b> .....	90
<b>Figura 64.</b> Visualización 3D en el programa PyMOL de las interacciones presentadas por fenformina.....	90
<b>Figura 65.</b> Visualización 2D en el programa MOE de las interacciones presentadas por fenformina.....	91
<b>Figura 66.</b> Visualización 3D en el programa PyMOL del compuesto <b>MCC-2</b> .....	92
<b>Figura 67.</b> Visualización 2D en el programa MOE de las interacciones presentadas por el compuesto <b>MCC-2</b> .....	93
<b>Figura 68.</b> Visualización 3D en el programa PyMOL del compuesto <b>MCC-3</b> .....	94
<b>Figura 69.</b> Visualización 2D en el programa MOE de las interacciones presentadas por el compuesto <b>MCC-3</b> .....	95
<b>Figura 70.</b> Visualización 3D en el programa PyMOL del compuesto <b>MCC-7</b> en el sitio activo del receptor adipoR1.....	96
<b>Figura 71.</b> Visualización 2D en el programa MOE de las interacciones presentadas por el compuesto <b>MCC-7</b> en el sitio activo del receptor adipoR1.....	96
<b>Figura 72.</b> Sobreposicionamiento de los compuestos <b>MCC-2</b> , <b>MCC-3</b> , fenformina y AMP en el sitio alostérico de la AMPK.....	97
<b>Figura 73.</b> Sobreposicionamiento de los compuestos <b>MCC-7</b> y adipoRon en el sitio activo del receptor adipoR1.....	98
<b>Figura 74.</b> Efecto antihiper glucémico del compuesto <b>MCC-2</b> .....	101
<b>Figura 75.</b> Efecto antihiper glucémico del compuesto <b>MCC-3</b> .....	102
<b>Figura 76.</b> Efecto antihiper glucémico del compuesto <b>MCC-7</b> .....	102
<b>Figura 77.</b> Efecto subagudo de tolerancia a la glucosa de adipoRon.....	103

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación de diabetes.....	2
<b>Tabla 2.</b> Criterios para el diagnóstico de DM.....	7
<b>Tabla 3.</b> Criterios de prediabetes.....	8
<b>Tabla 4.</b> Propiedades fisicoquímicas de los compuestos <b>MCC 1-5</b> .....	50
<b>Tabla 5.</b> Propiedades fisicoquímicas de los análogos de adipoRon.....	51
<b>Tabla 6.</b> Desplazamientos químicos obtenidos en RNM $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$ del compuesto <b>MCC-1</b> .....	62
<b>Tabla 7.</b> Desplazamientos químicos obtenidos en RNM $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$ del compuesto <b>MCC-2</b> .....	63
<b>Tabla 8.</b> Desplazamientos químicos obtenidos en RNM $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$ del compuesto <b>MCC-3</b> .....	64
<b>Tabla 9.</b> Desplazamientos químicos obtenidos en RNM $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$ del compuesto <b>MCC-4</b> .....	65
<b>Tabla 10.</b> Desplazamientos químicos obtenidos en RNM $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$ del compuesto <b>MCC-5</b> .....	66
<b>Tabla 11.</b> Desplazamientos químicos de $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$ del compuesto <b>MCC-7</b> .....	67
<b>Tabla 12.</b> Efectos predichos por PASS para los compuestos homólogos inferiores de fenformina..	69
<b>Tabla 13.</b> Efectos predichos por PASS para los compuestos análogos inferiores de adipoRon.....	69
<b>Tabla 14.</b> Propiedades cuasi-fármaco y riesgo de toxicidad de los compuestos <b>MCC 1-5</b> y <b>MCC-7</b> .....	70
<b>Tabla 15.</b> Propiedades calculadas por admetSAR para los compuestos <b>MCC 1-5</b> .....	72
<b>Tabla 16.</b> Propiedades calculadas por admetSAR para el compuesto <b>MCC-7</b> .....	73
<b>Tabla 17.</b> Bloqueo de canales hERG.....	78
<b>Tabla 18.</b> Principales isoformas del CYP 450 presentes en microsomas de hígado humano.....	80
<b>Tabla 19.</b> Probabilidad de inhibición de las isoformas del CYP 450.....	80
<b>Tabla 20.</b> Probabilidad de toxicidad aguda de los compuestos <b>MCC 1-5</b> .....	81
<b>Tabla 21.</b> Clasificación de la toxicidad de acuerdo a la OECD.....	82
<b>Tabla 22.</b> Análisis de consenso farmacológico de resultados de las herramientas quimioinformáticas para los compuestos homólogos inferiores de fenformina.....	83
<b>Tabla 23.</b> Análisis de consenso farmacológico de los compuestos <b>MCC 1-5</b> .....	96
<b>Tabla 24.</b> Análisis de consenso farmacológico del compuesto <b>MCC 7</b> .....	97
<b>Tabla 25.</b> Sistemas empleados en el monitoreo de la síntesis química de los compuestos <b>MCC 1-5</b> y <b>MCC-7</b> .....	104

## ABREVIATURAS

ACC1	Acetil-CoA Carboxilasa 1
ADA	Asociación Americana de diabetes (ADA por sus siglas en inglés)
AMPK	Proteína cinasa activada por AMP (AMPK por sus siglas en inglés)
<i>d</i>	Doblete
DM	Diabetes mellitus
DM2	Diabetes mellitus Tipo 2
DPP-4	Dipeptidilpeptidasa-4
EM-EI	Espectrometría de masas de impacto electrónico
FFA	Ácidos grasos libres (FFA por sus siglas en inglés)
GIP	Péptido insulínico dependiente de glucosa (GIP por sus siglas en inglés)
GLUT-2	Transportador de glucosa 2
GP-1	Glicoproteína-1 (GP-1 por sus siglas en inglés)
GPL-1	Péptido semejante al glucagón tipo 1 (GLP-1 por sus siglas en inglés)
GTZs	Glitazonas
IDF	Federación Internacional de Diabetes (IDF por sus siglas en inglés)
IFN- $\gamma$	Interferon $\gamma$
IL-1	Interleucina-1
IL-6	Interleucina-6
IRS	Sustrato del receptor de insulina (IRS por sus siglas en inglés)
K <sub>ATP</sub>	Canales de potasio dependientes de ATP
MPC-1	Proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MPC-1 por sus siglas en inglés)
OCT-1	Transportador de cationes orgánico 1 (OCT-1 por sus siglas en inglés)
OMS	Organización Mundial de la Salud
PI3K	Fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K por sus siglas en inglés)
PPAR- $\alpha$	Receptor Activado por Proliferadores de Peroxisoma $\alpha$ (PPAR- $\alpha$ por sus siglas en inglés)

## ABREVIATURAS

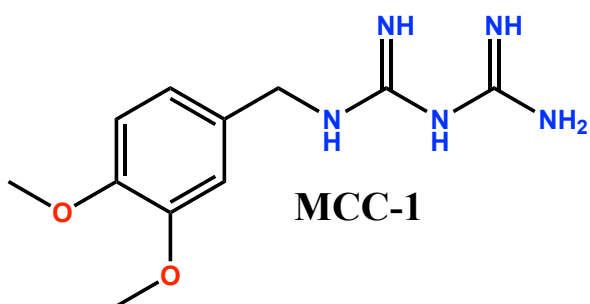


PPARs	Receptor Activado por Proliferadores de Peroxisomas (PPARs por sus siglas en inglés)
RI	Resistencia a la insulina
RMN	Resonancia magnética nuclear
s	Singulete
SGLT2	Transportado de sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2 por sus siglas en inglés)
SUR-1	Receptor de sulfonilureas 1 (SUR-1 por sus siglas en inglés)
TNF- $\alpha$	Factor de necrosis tumoral $\alpha$ (TNF- $\alpha$ por sus siglas en inglés)
TZDs	Tiazolidindionas

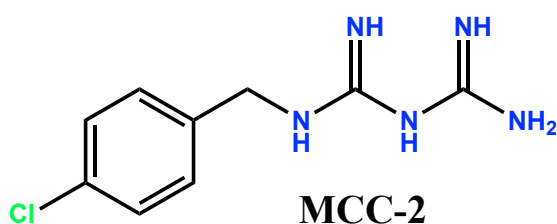


## ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS

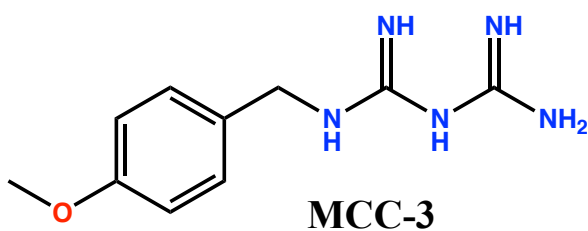
### Compuestos finales de la serie homólogos inferiores de fenformina



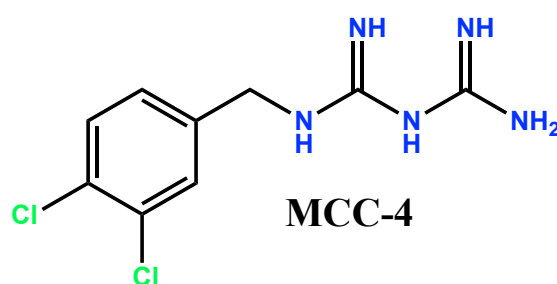
Diamida *N*-(3,4-dimetoxibencil)imidodicar-bonimidica



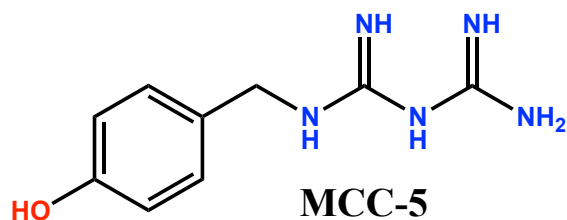
Diamida *N*-(4-clorobencil)imidodicar-bonimidica



Diamida *N*-(4-metoxibencil)imidodicar-bonimidica

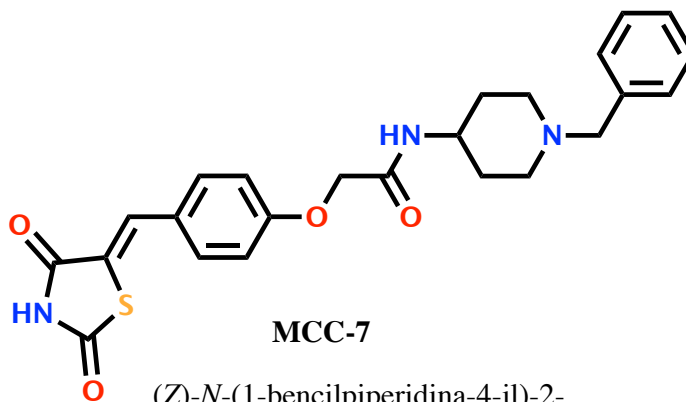


Diamida *N*-(3,4-diclorobencil)imidodicar-bonimidica



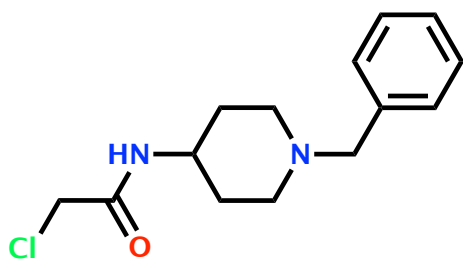
Diamida *N*-(4-hidroxibencil)imidodicar-bonimidica

**Compuesto final análogo de adipoRon**

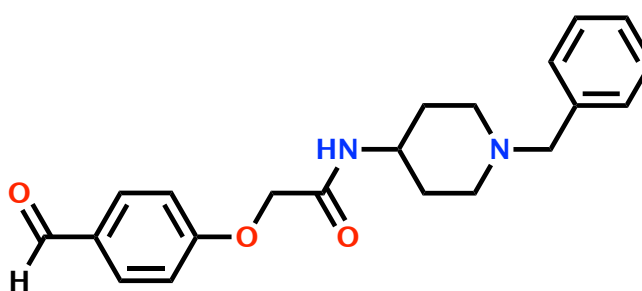


(Z)-N-(1-bencilpiperidina-4-il)-2-(4-((2,4-dioxotiazolidina-5-ilideno)metil)fenoxi)acetamida

**Compuestos precursores**



N-(1-bencilpiperidina-4-il)-2-cloroacetamida



N-(1-bencilpiperidina-4-il)-2-(4-formilfenil)acetamida

## RESUMEN

Actualmente la Diabetes Mellitus (DM) representa un problema de salud pública importante a nivel mundial debido a su alta prevalencia y mortalidad. En el 2017 la Federación Internacional de Diabetes estimó 425 millones de personas con diabetes, en donde el tipo 2 (DM2) representa el 90% de los casos. Las personas con esta enfermedad presentan diversas complicaciones macro y microvasculares que derivan en problemas renales, oculares y en afectaciones en arterias coronarias debido a la hiperglucemia crónica. Existen diversas familias de fármacos para el tratamiento de esta enfermedad. Sin embargo, esto no es suficiente debido a que muchos de los fármacos disponibles presentan diversos efectos adversos, además de que algunos de ellos se limitan al uso de un solo fármaco en la terapéutica tal es el caso de las biguanidas y tiazolidindionas. Debido a lo anterior, en este trabajo se diseñaron y generaron alternativas terapéuticas que puedan actuar de forma específica y con mínimos efectos adversos, por lo que se seleccionaron blancos terapéuticos novedosos y efectivos en el tratamiento de la diabetes como lo es la proteína cinasa activada por AMP (AMPK) y el receptor de adiponectina adipoR1. Los compuestos **MCC 1-5** y **MCC-7** se diseñaron racionalmente tomando en cuenta criterios como: toxicidad, farmacocinética y farmacodinámica, a través de un análisis de consenso farmacológico de las herramientas quimioinformáticas.

Los compuestos fueron sintetizados y purificados por recristalización y se caracterizaron por técnicas espectrométricas y espectroscópicas.

A través de un análisis de consenso farmacológico de las herramientas quimioinformáticas y docking, se determinó que los compuestos **MCC-2**, **MCC-3** y **MCC-7** tienen perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos adecuados, por lo que se eligieron como hit computacionales para su evaluación *in vivo* y observar su posible efecto antidiabético. Los compuestos **MCC-2** y **MCC-3** presentaron un efecto sostenido de disminución en las concentraciones plasmáticas de glucemia durante las 7 horas post-administración. El compuesto **MCC-3** presentó un efecto antihiper glucémico equipotente a metformina. El compuesto **MCC-7** no presentó diferencia estadísticamente significativa respecto al vehículo, por lo que se propone realizar un estudio subagudo para observar su posible efecto sensibilizador de la insulina, como el reportado por adipoRon.

## ABSTRACT

Currently, Diabetes Mellitus (DM) represents a significant public health problem worldwide due to its high prevalence and mortality. In 2017, the International Diabetes Federation estimated 425 million people with diabetes, where type 2 (DM2) represents 90% of cases. People with this disease have various macro and microvascular complications that lead to kidney problems, eye problems and coronary artery disease due to chronic hyperglycemia. There are several types of drugs for the treatment of DM2. However, this is not enough because many of the available medicines present diverse adverse reactions, besides that some of them are limited to the use of a single drug in the therapeutic such is the case of biguanides and thiazolidinediones. Due to the above, in this work we designed and generated therapeutic alternatives that could act in a specific way and with minimal adverse effects, so we selected new and efficient therapeutic targets in the treatment of diabetes such as protein kinase activated by AMP (AMPK) and the adiponectin adipoR1 receptor. The compounds **MCC 1-5** and **MCC-7** were rationally designed considering criteria such as toxicity, pharmacokinetics, and pharmacodynamics, through a pharmacological consensus analysis of chemoinformatics tools.

The compounds were synthesized and purified by recrystallization and characterized by spectrometric and spectroscopic techniques.

Through a pharmacological consensus analysis of the chemoinformatics data and docking tools, it was determined that the compounds **MCC-2**, **MCC-3**, and **MCC-7** have adequate pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles. That is the reason why they were chosen as computational hits for their *in vivo* evaluation in order to observe its possible antidiabetic effects. The compounds **MCC-2** and **MCC-3** showed a sustained effect of a decrease in plasma glucose levels during the 7 hours post-administration. Compound **MCC-3** presented an antihyperglycemic effect equipotent to metformin. The compound **MCC-7** did not show a statistically significant difference concerning the vehicle, so it is proposed to perform a subacute study to observe its possible insulin-sensitizing effect, as reported by its closely related analogue adipoRon.

## 1. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM), es una enfermedad crónica degenerativa la cual se caracteriza por altas concentraciones de glucosa en sangre, lo cual conduce a una alteración en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas.<sup>1</sup>

En los últimos años la diabetes mellitus (DM) se ha convertido en un problema de salud pública importante a nivel mundial por la elevada prevalencia y mortalidad que presenta, siendo la tipo 2 (DM2) la que representa el 90% de los casos de personas con esta enfermedad y la cual esta asociada a otras patologías como dislipidemias, obesidad e hipertensión. En la DM2 la hiperglucemia es debido a la deficiencia en a secreción de insulina o por su resistencia en tejidos sensibles. La hiperglucemia crónica presenta complicaciones microangiopáticas y macroangiopáticas que derivan en problemas renales, retinopatías, así como complicaciones vasculares.<sup>2,3</sup>

Es por esto que el objetivo del tratamiento de la DM2 no es sólo mantener las concentraciones de glucosa normales, sino también disminuir las dislipidemias asociadas a esta y por lo consecuente mejorar la sensibilidad a la insulina. Por lo que en este trabajo químico farmacéutico se buscaron dianas farmacológicas novedosas y efectivas en el tratamiento de la DM2 como es la proteína cinasa activada por AMP (AMPK) y los receptores de adiponectina (adipoR1 y adipoR2) los cuales median funciones en la homeóstasis de energía y el metabolismo celular.<sup>4</sup> La AMPK al activarse promueve la disminución de la síntesis de lípidos, la gluconeogénesis hepática, en el tejido adiposo disminuye la síntesis de ácidos grasos y en el músculo esquelético promueve la captación de glucosa y la glucólisis.<sup>5,6,7</sup> Por otra parte, la adiponectina es una adipocitocina secretada por los adipocitos la cual se une a los receptores adipoR1 y adipoR2 ejerciendo efectos antidiabéticos a través de la activación de la AMPK y PPAR- $\alpha$  los cuales están implicados en el metabolismo de lípidos y captación de glucosa.<sup>8,9</sup> Debido a lo anterior es de suma relevancia generar alternativas terapéuticas que puedan actuar particularmente sobre estas dianas farmacológicas y así abordar de forma eficaz a esta enfermedad.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Definición de diabetes y su clasificación

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Asociación Americana de Diabetes (ADA) definen a la diabetes como una enfermedad crónica degenerativa la cual se produce por una deficiente secreción de insulina o bien por la incapacidad de utilizarla eficazmente.<sup>2,10</sup>

La diabetes se clasifica en 4 tipos principalmente las cuales son; diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, la diabetes gestacional y otros tipos de diabetes (**tabla 1**).

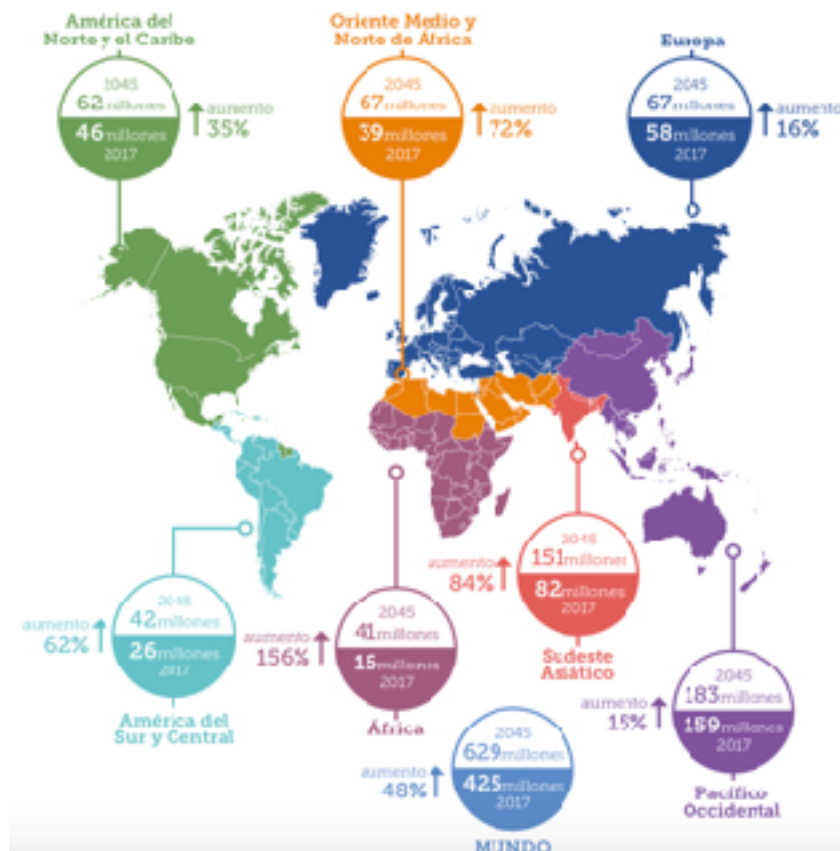
**Tabla 1.** Clasificación de diabetes.

Clasificación	Descripción general
<b>Diabetes tipo 1</b>	Es causada por una reacción autoinmune en donde las células del sistema inmune atacan a las células- $\beta$ pancreáticas por lo que existe una deficiencia o nula secreción de insulina, personas con esta enfermedad necesitan de la administración diaria de insulina para controlar los niveles de glucosa en sangre. <sup>2,3,10</sup>
<b>Diabetes tipo 2</b>	Se caracteriza por la progresiva disminución en la secreción de insulina por las células- $\beta$ , o bien por su resistencia en tejido músculo esquelético, por lo que el cuerpo no es capaz de utilizarla eficazmente. <sup>2,10</sup>
<b>Diabetes gestacional</b>	Este tipo de diabetes se desarrolla durante la etapa de embarazo y que claramente no corresponda a otro tipo de diabetes, y la cual se caracteriza por la resistencia a la insulina, posiblemente por la acción de hormonas producidas por la placenta. <sup>3,11</sup>
<b>Otros tipos de diabetes</b>	Se caracterizan por tener otra etiología, por ejemplo, por síndromes monogénicos como es la diabetes de tipo MODY, por enfermedades pancreáticas o la inducida por sustancias químicas. <sup>3,12</sup>

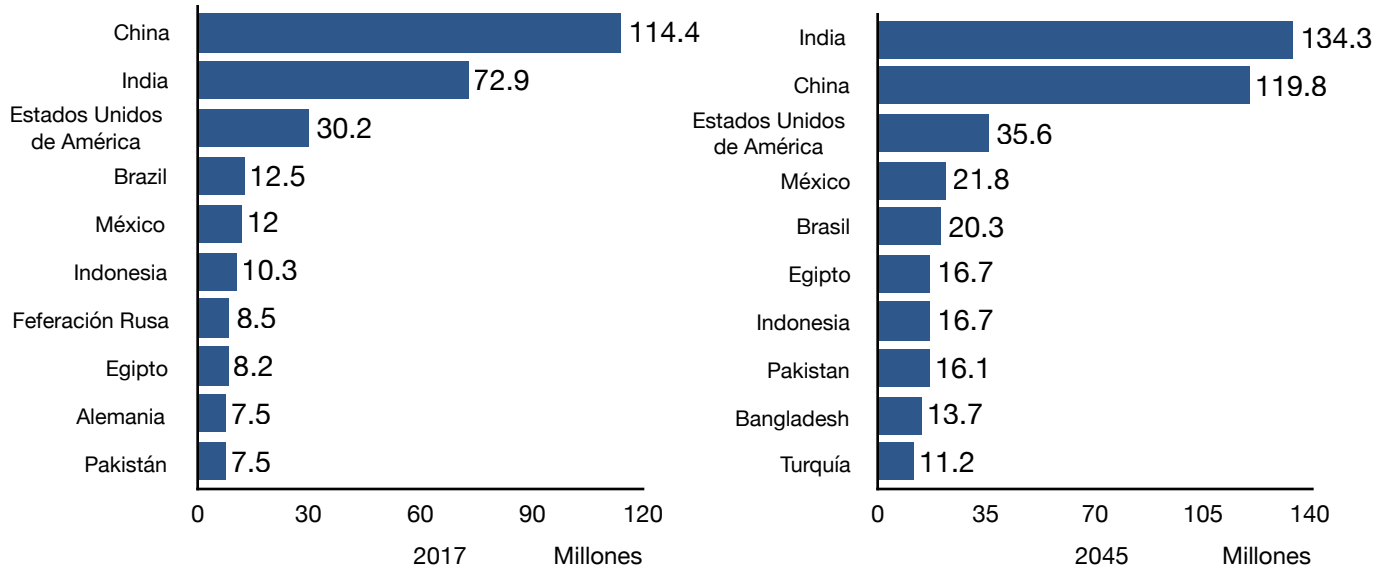
## 2.2 Prevalencia

La OMS estableció que en el año 2014 había 422 millones de personas con diabetes con una prevalencia elevada debido al aumento de casos de DM2 y sus factores que la impulsan, esto debido en gran parte a los estilos de vida adoptados actualmente, los cuales contribuyen al sobrepeso y la obesidad, factores determinantes en esta enfermedad.<sup>10</sup> Por otro lado y como se observa en la **figura 1**, la Federación Internacional de Diabetes (IDF) estableció que en el 2017 hubo 425 millones de personas con DM y prevé que para el año 2045 se incremente a 629 millones de personas con esta enfermedad lo que equivale a un crecimiento del 48 %.<sup>2</sup>

Así mismo México en 2017 ocupó el quinto lugar de los 10 países con mayor número de personas con DM con 11.5 millones de personas, y se prevé que ocupe el cuarto lugar en el año 2045 con 21.8 millones de personas con esta enfermedad como se observa en la **figura 2**.<sup>2</sup>



**Figura 1.** Número de personas con DM por región a nivel mundial.<sup>2</sup>



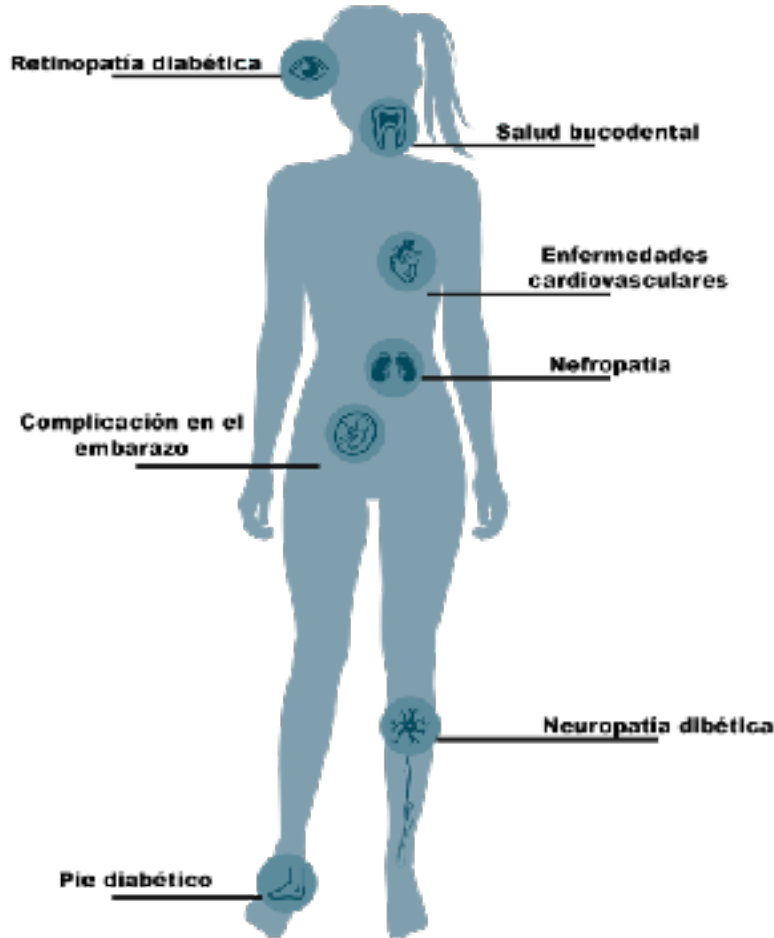
**Figura 2.** Países con mayor número de personas con DM.

### 2.3. Diabetes mellitus tipo 2

La DM2 es un desorden metabólico crónico el cual tiene por consecuencia alteraciones el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas.<sup>1</sup> Este tipo de diabetes generalmente se desarrolla en personas de edad adulta, pero se ha observado cada vez más incidencia en personas jóvenes, en este tipo de diabetes el cuerpo es capaz de producir insulina pero no la puede ocupar eficazmente, lo cual conduce a la resistencia a la insulina y por consecuente a la hiperglucemia que son características de esta enfermedad.<sup>2,10</sup>

Cabe destacar que la DM2 es el tipo más frecuente con aproximadamente 90 % de los casos de esta enfermedad, la cual puede pasar inadvertida y sin diagnóstico. Tal es el caso que un 50% de las personas con diabetes a nivel mundial no está diagnosticada, sino hasta que presentan algunas de las complicaciones propias de la enfermedad, ocasionadas por la hiperglucemia crónica sin tratamiento y las cuales se presentan en la **figura 3.**<sup>2</sup>





**Figura 3.** Principales complicaciones de la diabetes.

### 2.4 Factores etiológicos para el desarrollo de DM2

Se debe enfatizar que el aumento de incidencia de la DM2 sigue una tendencia a la urbanización, al cambio de estilos de vida y a la mala alimentación asociada a la obesidad, por lo que los factores e influencias ambientales y factores genéticos son importantes contribuyentes al desarrollo de esta enfermedad.<sup>13</sup> Los factores etiológicos para el desarrollo de la DM2, se pueden dividir en dos categorías, los factores asociados al estilo de vida o modificables y factores genéticos.<sup>14</sup>

- ❖ Los factores modificables están fuertemente correlacionados con el estilo de vida y son determinantes en el desarrollo de la DM2. Estos comprenden el

sedentarismo, inactividad física, tabaquismo, consumo de alcohol, mala alimentación y la obesidad, siendo este último el factor de riesgo más importante ya que puede contribuir en la resistencia a la insulina y la progresión de esta enfermedad. Aproximadamente el 90 % de pacientes con DM2 desarrollan esta enfermedad debido a un problema de sobrepeso u obesidad.<sup>14,15</sup>

- ❖ Los factores genéticos para el desarrollo de la DM2 han permanecido inciertos. En la actualidad se han descrito algunos de estos factores predisponentes para la generación de DM2 y los cuales se deben a mutaciones o polimorfismos en genes implicados en la expresión de proteínas que regulan la señalización de la insulina y alteran la utilización correcta de la glucosa en el músculo esquelético, contribuyendo de forma importante a la resistencia a la insulina. Por mencionar algunos; la glicoproteína 1 (GP-1) tiene un efecto en la señalización de la insulina debido a la interacción directa con la subunidad- $\alpha$  del receptor de insulina ocasionando un bloqueo en la acción de la insulina, siendo el polimorfismo PC-1K121Q el cual se ha asociado a una inhibición fuerte del receptor de insulina. Los sustratos del receptor de la insulina (IRS1 y IRS2) son mediadores importantes en la vía de señalización de la insulina y se les han identificado múltiples polimorfismos, siendo más comunes para el IRS1 en pacientes con DM2 siendo el polimorfismo G972R uno de los más estudiados.<sup>16</sup>

### 2.5 Diagnóstico de DM

Existen diferentes criterios propuestos por diversas instituciones como la OMS, IDF, la Federación Mexicana de Diabetes, entre otras más, que permiten el correcto diagnóstico de la DM. La Asociación Americana de Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés) establece 4 principales pruebas para el diagnóstico de la DM las cuales se describen a continuación y se resumen en la **tabla 2**.

- ❖ Hemoglobina glucosilada. Esta prueba se basa en la medición de la fijación de la glucosa a la hemoglobina por lo que refleja el promedio de los niveles de glucosa en sangre de una persona en los últimos 3 meses.<sup>3,17</sup>
- ❖ Glucosa plasmática en ayuno. Esta prueba se realiza generalmente a la primera hora de la mañana en un estado de ayuno por lo menos de 8 horas antes de la prueba.<sup>3,17</sup>
- ❖ Prueba de tolerancia a la glucosa oral. En esta prueba se miden los niveles de glucosa en ayuno y posterior a las 2 horas de la ingesta de una solución de glucosa de 75 g, por lo que se evalúa la capacidad del cuerpo de metabolizar la glucosa.<sup>3,17</sup>
- ❖ Glucosa plasmática aleatoria. En este tipo de prueba se realiza la medición de glucemia en cualquier momento del día.<sup>3,17</sup>

**Tabla 2.** Criterios para el diagnóstico de DM.<sup>3</sup>

Prueba	Valor normal	Se diagnostica DM
Hemoglobina glucosilada	4.0-5.6 %	≥ 6.5%
Glucosa plasmática en ayunas	70-100 mg/dL	≥ 126 mg/dL
Tolerancia a la glucosa oral (glucosa después de la ingesta de una solución de glucosa de 75 g disuelta en agua)	≤ 140 mg/dL	≥ 200 mg/dL
Glucosa plasmática aleatoria	≤ 140 mg/dL	≥ 200 mg/dL

### 2.5.1 Prediabetes

El término prediabetes refiere a individuos que presentan alteraciones de glucemia en ayuno y/o tolerancia a la glucosa alterada. Los niveles de glucemia no cumplen con los criterios de diagnóstico de DM2. Sin embargo, son altos para considerarse normales. Estos factores predisponen a una persona al desarrollo de DM2. Además, de otros

padecimientos como la aparición de enfermedades cardiovasculares. La ADA establece tres criterios que definen un estado de prediabetes los cuales se presentan en la **tabla 3**.<sup>3</sup>

**Tabla 3.** Criterios de prediabetes.<sup>3</sup>

Prueba	Valor de prediabetes
Hemoglobina glucosilada	5.7-6.4 %
Glucosa plasmática en ayunas	100-125 mg/dL
Tolerancia a la glucosa oral (glucosa después de la ingesta de una solución de glucosa de 75 g disuelta en agua)	140-199 mg/dL

La alteración de la glucosa en ayuno y la tolerancia a la glucosa alterada están asociadas con obesidad, dislipidemias e hipertensión, lo cual puede conducir al síndrome metabólico.<sup>3</sup> El síndrome metabólico puede definirse como un conjunto de trastornos metabólicos predisponentes al desarrollo de enfermedades cardiovasculares, diabetes, accidentes cerebrovasculares y enfermedades relacionadas con la acumulación de grasa en las arterias. La Asociación Americana del Corazón establece los siguientes 5 criterios y basta con tener 3 de ellos para diagnosticar síndrome metabólico.<sup>18</sup>

- ❖ Obesidad abdominal (circunferencia de la cintura de más de 102 cm en hombres, y más de 88 cm en las mujeres)
- ❖ Niveles de triglicéridos de 150 mg/dL o mayor
- ❖ Colesterol HDL menor de 40 mg/dL en los hombres o menor de 50 mg/dL en las mujeres
- ❖ Presión arterial sistólica de 130 mmHg o mayor, o presión arterial diastólica de 85 mmHg
- ❖ Glucosa en ayunas de 100 mg/dL o mayor

## 2.6 Fisiopatología de la DM2

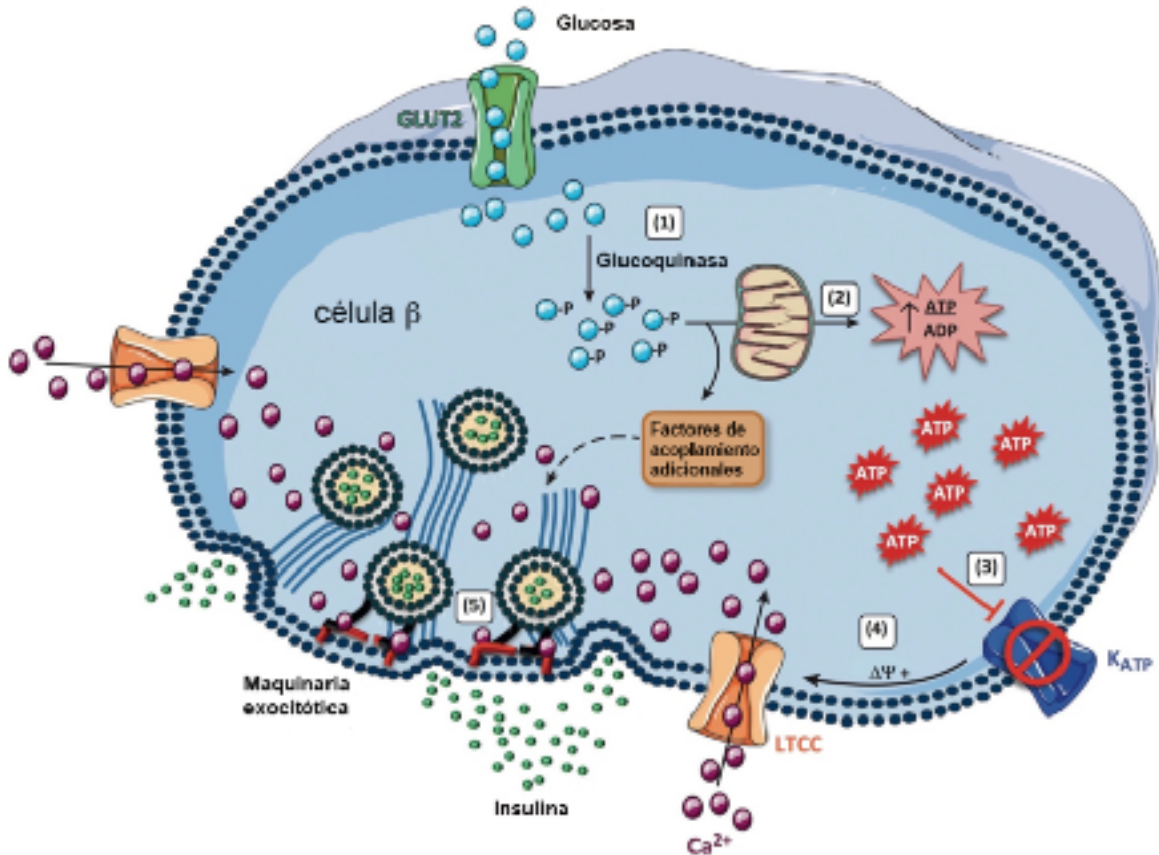
En condiciones normales el organismo es capaz de mantener la homeóstasis energética en todo el cuerpo y en gran medida es por el metabolismo pancreático. El páncreas tiene la capacidad de secretar diversas hormonas y entre las más importantes la insulina y glucagón, las cuales tienen un papel regulador en la homeóstasis del metabolismo de glucosa y lípidos.<sup>19</sup> La regulación del metabolismo de glucosa se debe a diversos eventos los cuales están interrelacionados. En primera instancia, la secreción de la insulina es estimulada por las altas concentraciones de glucosa en sangre, la cual ocurre después de la ingesta de alimentos. Esto conlleva a la inhibición de la producción endógena de glucosa (gluconeogénesis). Finalmente, la insulina liberada en el torrente sanguíneo se une a sus receptores de membrana ubicados en la mayoría de las células, lo cual promueve la captación de glucosa y su posterior metabolismo.<sup>19,20</sup>

En un estado hiperglucémico las células  $\beta$  aumentan la secreción de insulina, con la finalidad de mantener la homeóstasis en el metabolismo de la glucosa. Sin embargo, muchas veces no es suficiente debido al desarrollo de resistencia a la insulina (RI), por lo que las células  $\beta$  pierden su capacidad para controlar la hiperinsulinemia perdiendo su capacidad de establecer la homeóstasis de la glucosa y en consecuencia se mantiene la hiperglucemia incluso en ayuno.<sup>20</sup>

### 2.6.1 Mecanismos de secreción de insulina

La secreción de la insulina es un mecanismo esencial en la homeóstasis del metabolismo de glucosa en el organismo. Como se observa en la **figura 4**, el mecanismo de secreción de insulina es estimulada por la entrada de glucosa a las células  $\beta$  por el transportador de glucosa GLUT2 (1). Posteriormente la glucosa entra en las vías metabólicas de la glucólisis y el ciclo de Krebs aumentando así la producción de ATP lo que conduce a un incremento en la relación ATP/ADP (2). El aumento en la concentración de ATP promueve el bloqueo de canales de  $K^+$  dependientes de ATP ( $K_{ATP}$ ) (3), conduciendo a la despolarización de la membrana

plasmática y a la consecuente apertura de canales de  $\text{Ca}^{2+}$  promoviendo la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  al interior de la célula (4). Finalmente, el aumento en los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular promueven la fusión de los gránulos de insulina con la membrana plasmática de las células  $\beta$  y con esto la liberación de la insulina (5).<sup>21,22,2</sup>



**Figura 4.** Mecanismo de secreción de la insulina.<sup>23</sup>

### 2.6.2 Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina (RI) es una alteración que se caracteriza por la ineficiencia de las células de responder al efecto de esta hormona y la cual ocurre principalmente en tejidos y órganos sensibles, como por ejemplo; el hígado, tejido músculo esquelético y tejido adiposo. La RI puede estar asociada a diversos factores, los cuales originan una deficiente o nula señalización de la insulina, ya sea por mutaciones del receptor de insulina o de moléculas efectoras que participan en la cascada de señalización, siendo

algunas de las más representativas el aumento en el estado de fosforilación en residuos de Ser/Thr de proteínas clave como lo es el receptor de insulina (IR) y el sustrato de receptor de insulina (IRS-1), así como la pérdida de la actividad cinasa del fosfoinositol-3-cinasa (PI3K) y Akt, las cuales conducen a una alteración en la vías de señalización y la subsecuente resistencia a la insulina.<sup>24, 25</sup>

Como ya se ha mencionado con anterioridad, la obesidad es uno de los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de la DM2 ya que está asociada a un estado de inflamación crónica de bajo grado, en donde los adipocitos producen diversas adipocinas, siendo una de las más importante la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1), la cual es responsable de la atracción y acumulación de macrófagos.<sup>26,27</sup> Los macrófagos producen y liberan citocinas proinflamatorias como por ejemplo; interleucina 6 (IL-6), interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) y factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ). La IL-6 está implicada en la reducción de la secreción de adiponectina, transportador GLUT-4 y la expresión de IRS-1. Por otro lado, el TNF- $\alpha$  está implicado en una elevada secreción de MCP-1 e IL-6, por tanto TNF- $\alpha$  e IL-6 contribuyen de manera importante a la RI.<sup>27-29</sup> Además, el TNF- $\alpha$  e IL-6 favorecen la liberación de ácidos grasos libres a través de la lipólisis, los cuales están asociados a alteraciones en la fosforilación del IRS-1 y de la actividad de PI3k, produciendo una alteración en la vía de señalización de la insulina.<sup>30</sup>

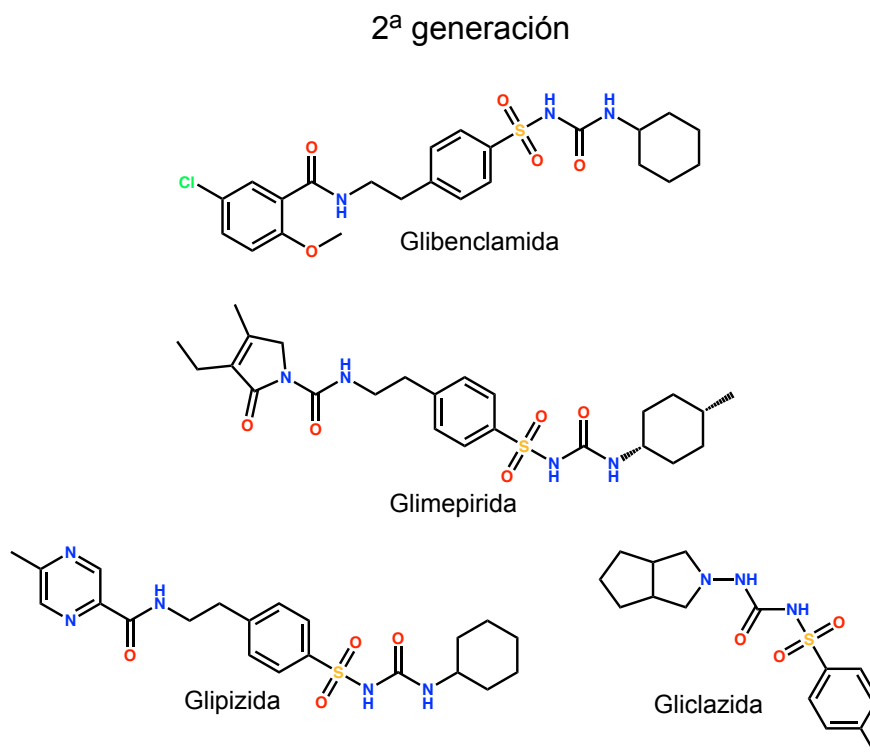
## 2.7 Tratamiento de la DM2

El tratamiento integral de la DM2 se basa en una triada en donde deben converger la alimentación adecuada, ejercicio físico y un tratamiento farmacológico. Se ha observado que las modificaciones en la alimentación y ejercicio físico son eficaces en la disminución del peso corporal y control glucémico. La dieta está basada en una ingesta hipocalórica y baja en grasas. La actividad física aumenta la captación muscular de glucosa así como la mejora en la acción sistémica de la insulina.<sup>31</sup> En el

tratamiento farmacológico existen diversas familias de fármacos destinados al tratamiento de la DM2, los cuales se describen a continuación.

### 2.7.1 Sulfonilureas

Las sulfonilureas fueron los primeros fármacos empleados en el tratamiento de la DM2, los cuales se desarrollaron a partir de las sulfonamidas ya que se observó que tenían un efecto hipoglucemiante. Actualmente, se clasifican en dos generaciones las cuales difieren en su farmacocinética y potencia, permitiendo el tratamiento con menores dosis. En la primera generación se encuentran fármacos como: tolbutamida y clorpropamida, mientras que en la segunda generación está conformada por glibenclamida, gliclazida, glipizida y glimepirida (**figura 5**). Los efectos adversos de este tipo de fármacos incluyen la hipoglucemia y la ganancia de peso corporal el cual esta probablemente relacionado con el efecto anabólico del aumento de los niveles de insulina. Por tanto, puede no ser la mejor opción terapéutica para pacientes con obesidad o sobre peso.<sup>32,33</sup>



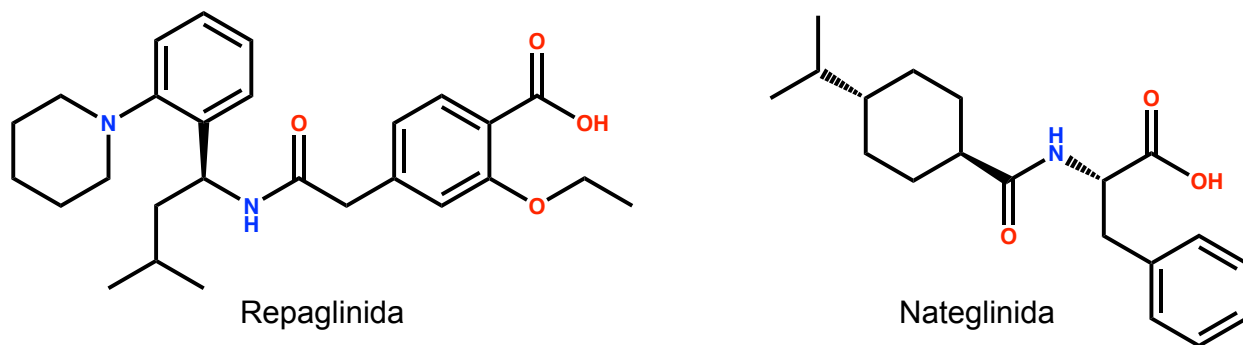
**Figura 5.** Estructura química de las Sulfonilureas.



Las sulfonilureas son secretagogos de insulina ya que actúan directamente en las células  $\beta$  pancreáticas, uniéndose a su receptor de membrana el cual se conoce como receptor de sulfonilureas 1 (SUR1). Esta unión bloquea al canal de  $K_{ATP}$  evitando flujo de  $K^+$  y la subsecuente despolarización de la membrana plasmática estimulando así la secreción de la insulina como se mostró en la **figura 4**.<sup>33</sup>

### 2.7.2 Meglitinidas

Este grupo de fármacos está conformado por repaglinida aprobado por la FDA en diciembre de 1997 y nateglinida aprobado en diciembre del 2000 (**figura 6**), dichos fármacos se unen al sitio Kir6.2/SUR1 en las células  $\beta$ , por lo que tienen un efecto similar a las sulfonilureas ejerciendo su efecto secretagogo de insulina a medida que bloquean los canales de  $K_{ATP}$ . Este grupo de fármacos se caracteriza por su rápida acción y tiempo de vida media corta, por lo que son adecuados para el tratamiento de la hiperglucemia postprandial con un menor riesgo de presentar hipoglucemia.<sup>33,34</sup>

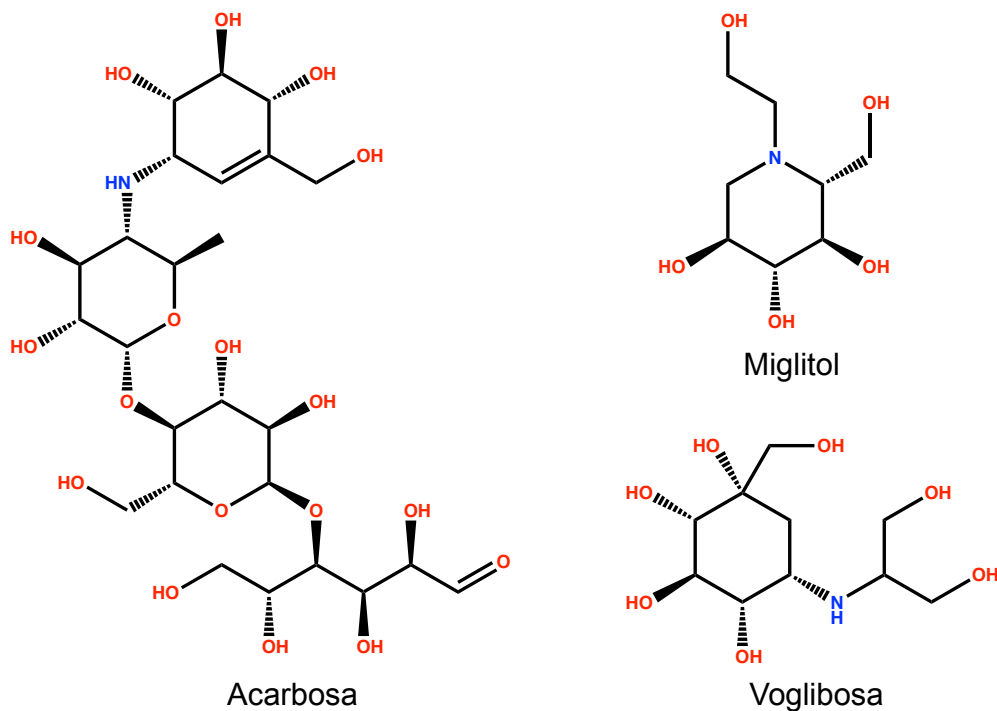


**Figura 6.** Estructura química de las meglitinidas.

### 2.7.3 Inhibidores de las $\alpha$ -glucosidasas

El fármaco más representativo de este grupo es la acarbosa introducido en la terapéutica a principios de los años noventa. Sin embargo, el miglitol y voglibosa están disponibles en algunos países como parte del tratamiento de la DM2 (**figura 7**), estos

fármacos inhiben de forma competitiva la actividad de las enzimas  $\alpha$ -glucosidasas en el borde del cepillo de los enterocitos que recubren las vellosidades del intestino, por lo que retardan la absorción de monosacáridos ocasionando una disminución en los niveles de glucosa sanguínea postprandial, por lo que este tipo de fármacos es ideal en pacientes cuya dieta incluye carbohidratos complejos.<sup>33,35</sup>

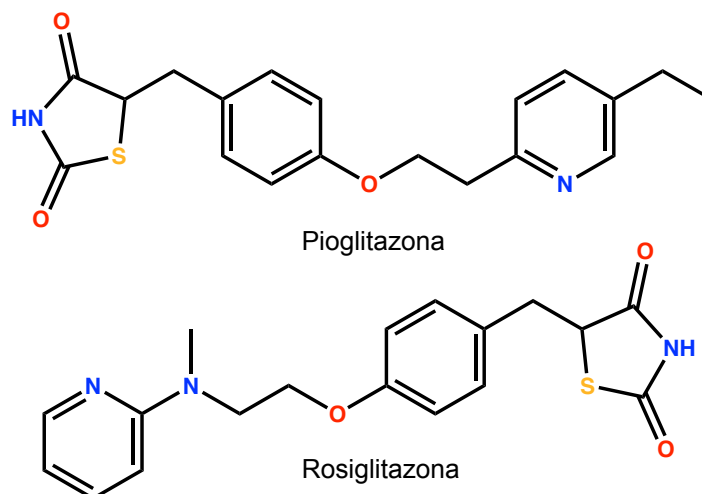


**Figura 7.** Estructura química de las  $\alpha$ -glucosidasas.

### 2.7.4 Tiazolidindionas (TZDs)

Este grupo de fármacos está conformado por pioglitazona y rosiglitazona (figura 8), las tiazolidindionas ejercen un efecto sensibilizador de la insulina principalmente en tejido muscular, hígado y tejido adiposo.<sup>35</sup>

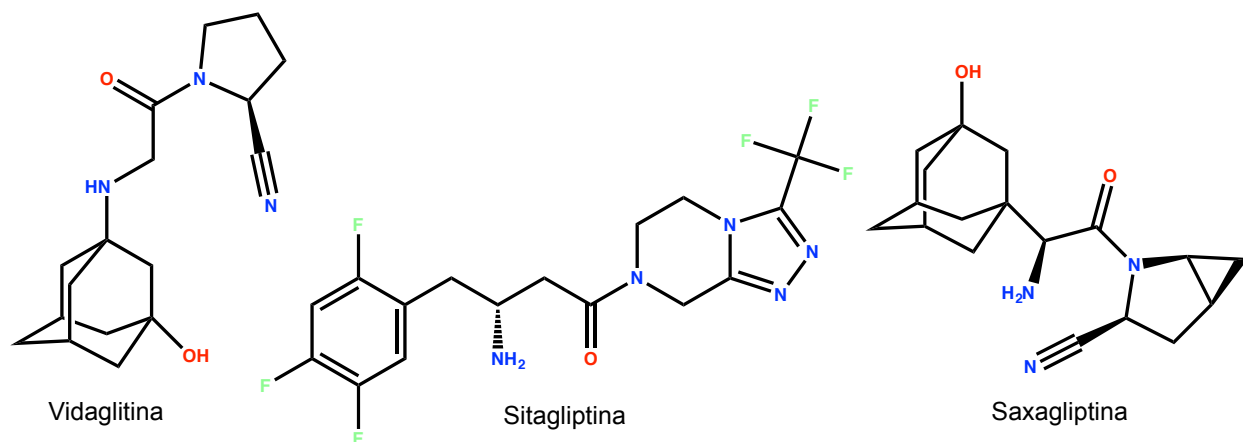
El mecanismo de acción de TZDs está mediado por la unión a su receptor PPAR- $\gamma$ . Esta unión promueve su activación formando un complejo heterodimérico con el receptor retinoide X, el cual tiene la capacidad de unirse al elemento de respuesta del proliferador de peroxisoma situado en regiones promotoras de genes, estimulando así la expresión y translocación del transportador de glucosa (GLUT4) y con ello el aumento de la absorción de glucosa para su posterior metabolismo.<sup>34,35</sup>



**Figura 8.** Estructura química de las TZDs.

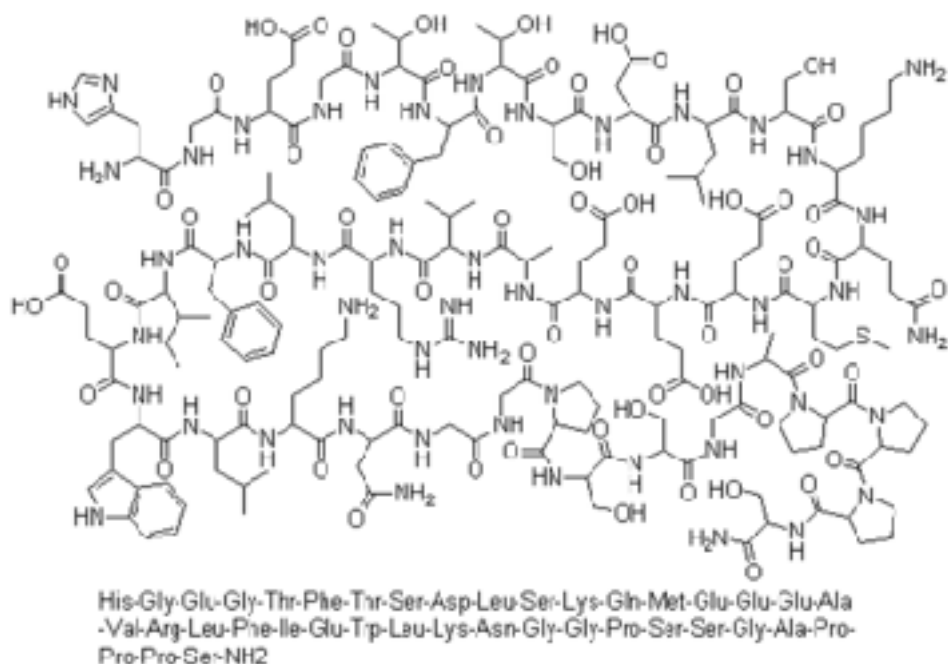
### 2.7.5 Inhibidores de la dipeptidil peptidasa-4 y análogos de incretinas

Estos fármacos se basan en los efectos de las incretinas, las cuales son hormonas que modulan la secreción de insulina de manera glucosa-dependiente, siendo los más conocidos el péptido semejante al glucagón tipo 1 (GLP-1) y el péptido insulínico dependiente de glucosa (GIP). Las incretinas tienen un efecto importante en la biosíntesis y secreción de insulina, sin embargo, presentan un  $t_{1/2}$  corto de 2 min para GLP-1 y 7 min para GIP ya que son metabolizadas rápidamente por la enzima dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4). Debido a lo anterior se han desarrollado fármacos que inhiban a la enzima DPP-4 con la finalidad de retardar su metabolismo y aumentar el  $t_{1/2}$  de las incretinas, dentro de este grupo se encuentran: la vidagliptina, saxagliptina y sitagliptina (**figura 9**).<sup>34,35</sup>



**Figura 9.** Estructura química de los inhibidores de la DPP-1.

Por otro lado, los miméticos de incretinas están conformados por exenatida, lixisenatida y dulaglutida. La exenatida (**figura 10**) es un péptido aislado originalmente de la saliva del monstruo de gila, con un 53% de homología con el GLP-1 humano, presentando una sustitución de Ala 8 por Gly lo cual le confiere resistencia frente al metabolismo por parte de DPP-4, incrementando su tiempo de vida media lo cual resulta beneficioso para el tratamiento de la DM2.<sup>32,35</sup>

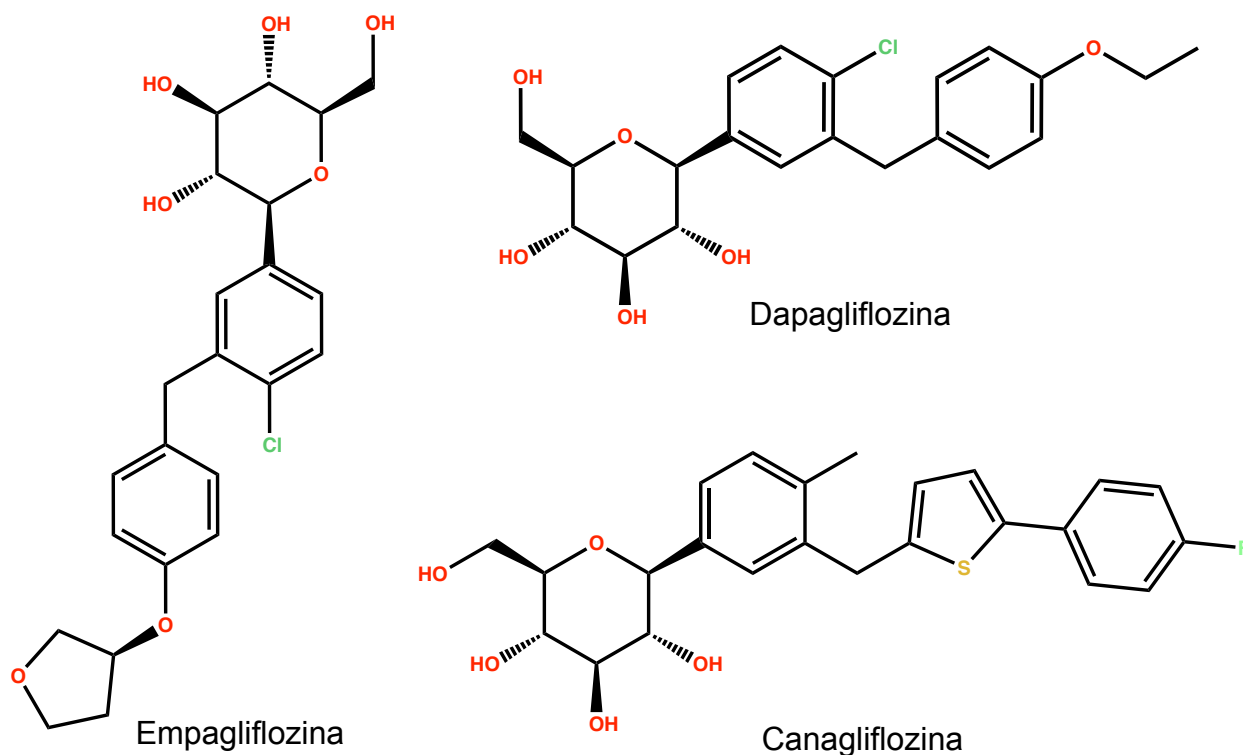


**Figura 10.** Estructura química de la exenatida.

### 2.7.6 Inhibidores del transportador de sodio-glucosa tipo 2

El riñón es un órgano de gran importancia en la homeóstasis de la glucosa, ya que a través del transportador de sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2), la glucosa se reabsorbe a la circulación sistémica por el túbulo proximal, esto como un mecanismo para evitar la pérdida de glucosa ya que es la principal fuente de energía en el organismo. Actualmente ese grupo de fármacos está conformado por dapagliflozina, canagliflozina y empagliflozina (**figura 11**); éste último aprobado por la FDA en 2014.<sup>33,36</sup>

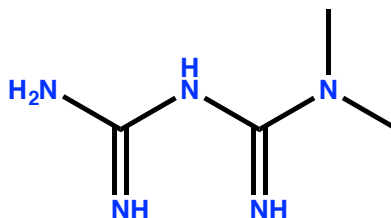
El mecanismo de acción se basa en la inhibición del SGLT2, por lo que el cuerpo ya no es capaz de reabsorber la glucosa, promoviendo de esta manera su libre excreción en la orina disminuyendo la glucosa postprandial. Además, la glucosuria puede resultar en una pérdida aproximadamente de 300 kcal por día, conduciendo a la pérdida de peso y a una mayor sensibilidad a la insulina.<sup>36</sup>



**Figura 11.** Estructura química de los inhibidores del SGLT2.

### 2.7.7 Biguanidas

Actualmente el único fármaco de tipo biguanida disponible en la terapéutica es la metformina (**figura 12**) y se ha convertido en el fármaco más prescrito para la DM2 en todo el mundo. Otras biguanidas fueron retiradas del mercado por su asociación con acidosis láctica tal es el caso de buformina y fenformina.<sup>33</sup>



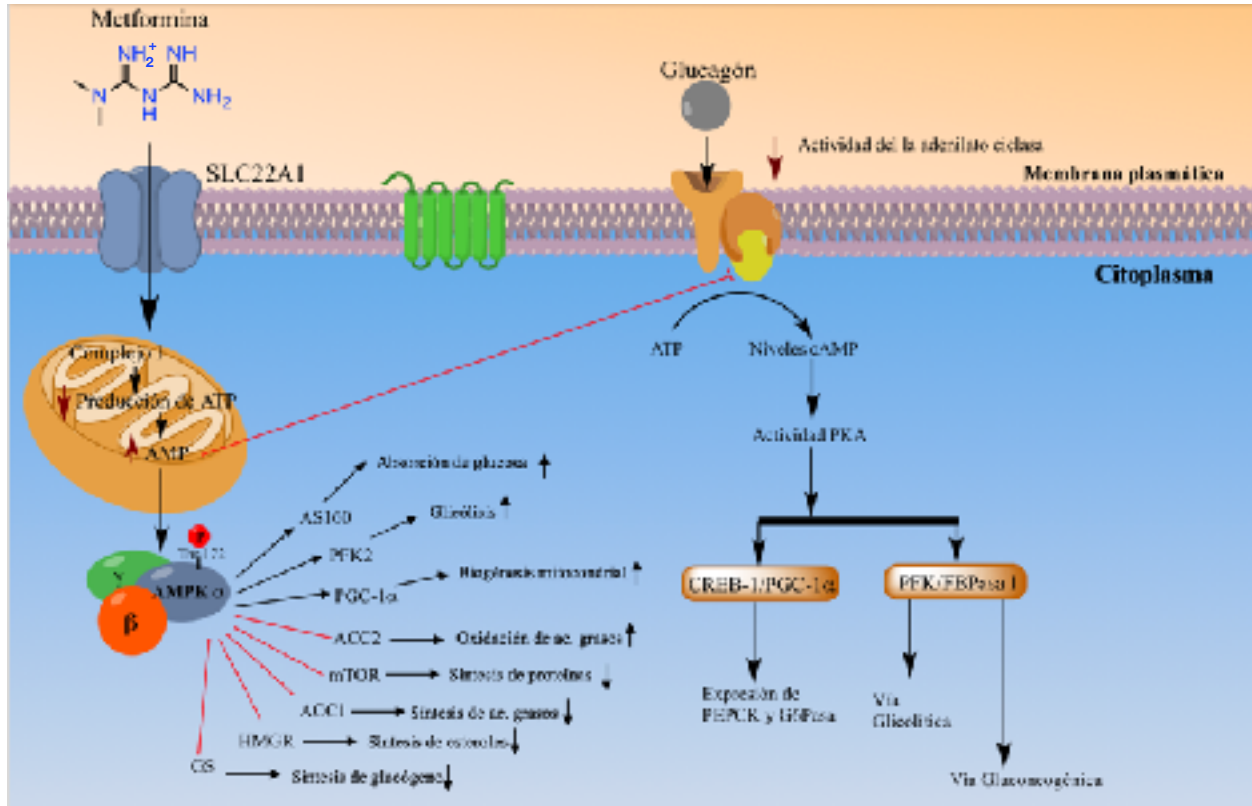
Metformina

**Figura 12.** Estructura química de la metformina.

La metformina es transportada al interior de la célula por medio del transportador de cationes orgánico 1 (OCT1), dentro de la célula tiene la capacidad de unirse directamente al complejo I de la cadena transportadora de electrones ocasionando una disminución en la producción de ATP y el aumento subsecuente de la concentración de AMP. El AMP inhibe directamente la actividad del adenilato ciclasa interfiriendo con la vía de señalización descendente de la gluconeogénesis hepática, siendo esta la actividad más importante de la metformina.<sup>37,38</sup>

Por otro lado, la metformina se puede unir a un sitio alostérico de la proteína cinasa activada por AMP (AMPK), ejerciendo diferentes efectos biológicos. Por ejemplo, la fosforilación de la acetil-CoA carboxilasa 1 (ACC1) en Ser79 y de ACC2 en Ser218 resultando en la inhibición de dicha enzima. La inhibición de ACC disminuye la síntesis de malonil-CoA, reacción y etapa limitante de la biosíntesis de ácidos grasos, esto conduce a un aumento de carnitina aciltransferasa (CPT1) la cual media el transporte de ácidos grasos de cadena larga a través de la membrana de las mitocondrias para su posterior oxidación. De esta manera la síntesis de ácidos grasos se inhibe y se

promueve su oxidación, así como otros efectos biológicos relevantes para el tratamiento de la DM2 como se muestra en la **figura 13**.<sup>37,38</sup>



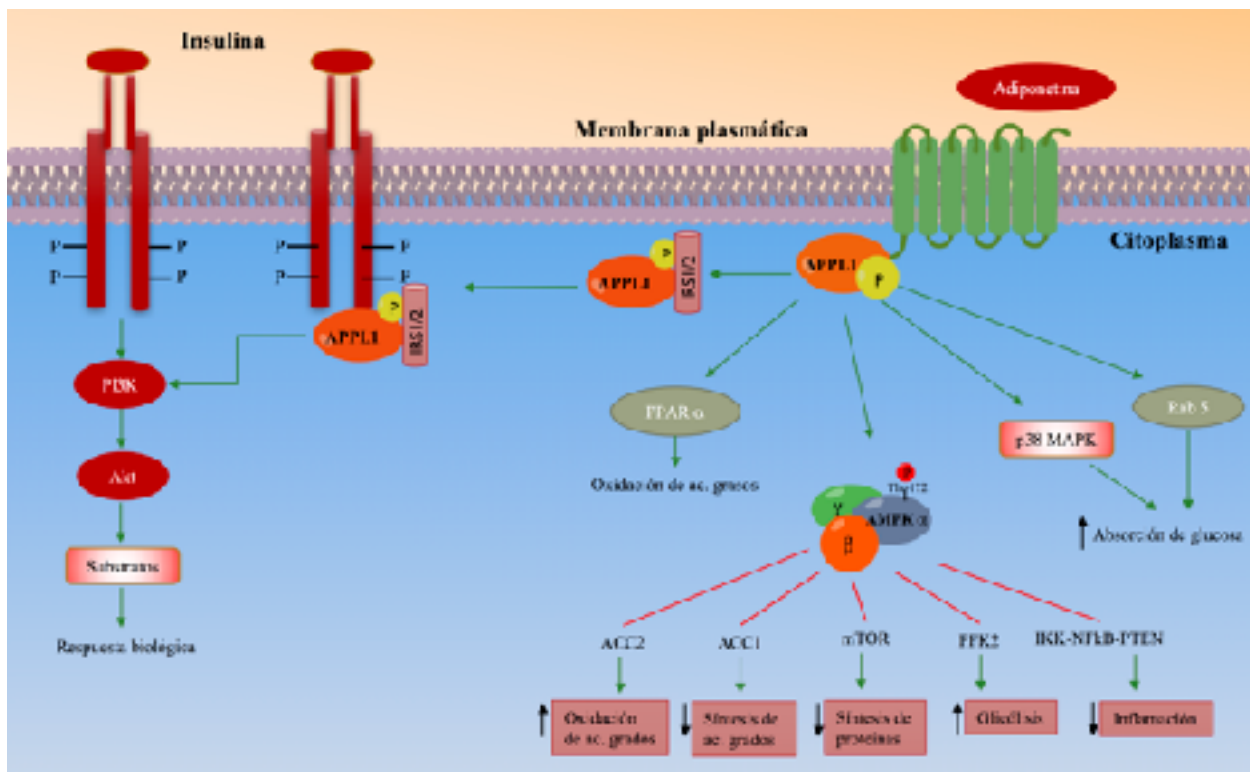
**Figura 13.** Mecanismo de acción de metformina.

## 2.8 Blancos terapéuticos relevantes en el tratamiento de la DM2

Para la síntesis de los compuestos finales en este proyecto, se buscó la afinidad con blancos terapéuticos novedosos y efectivos para el tratamiento de la DM2. Debido a lo anterior se seleccionó a la AMPK, ya que tiene un papel fundamental en la regulación de la homeóstasis de energía, además de que actualmente el único fármaco de tipo biguanida que se encuentra en el mercado capaz de activarla es la metformina. Por otro lado, se eligió a los receptores de adiponectina, ya que tienen un efecto sensibilizador de la insulina. Dicho receptor y efectos biológicos se describen a continuación.

### 2.8.1 Receptores de adiponectina

Los receptores de adiponectina se dividen en adipoR1 y adipoR2, los cuales son receptores de membrana de 7 dominios transmembranales, expresados abundantemente en tejidos muscular y en hepatocitos respectivamente. Estos receptores son activados de manera endógena por la adiponectina, la cual es una adipocitocina secretada por los adipocitos, promoviendo así el metabolismo de carbohidratos y lípidos.<sup>39</sup>



**Figura 14.** Mecanismo de acción de la adiponectina.

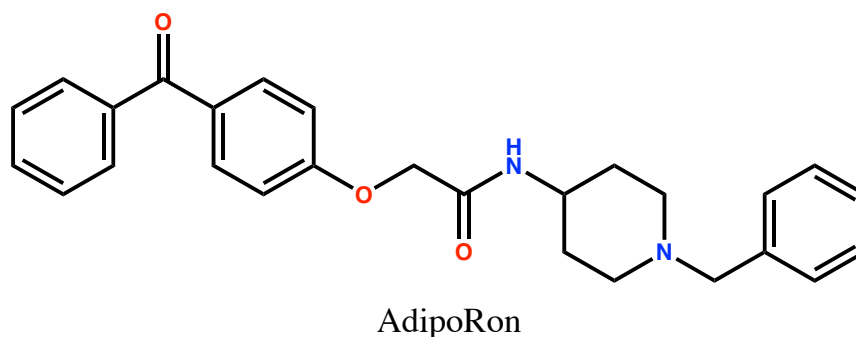
La adiponectina interactúa con sus receptores de membrana el adipoR1 y adipoR2 como se observa en la **figura 14**. Por un lado, al interactuar con el adipoR1 estimula la fosforilación y activación de a la AMPK en tejido músculo esquelético e hígado, promoviendo diversos efectos biológicos importantes en el tratamiento de la DM2 como lo son: la estimulación de la absorción de glucosa al interior de la célula para su posterior metabolismo, incremento de la oxidación de ácidos grasos, así como la



disminución en la síntesis de ácidos grasos.<sup>39-41</sup> La adiponectina a través del receptor adipoR2 activa y estimula la expresión del receptor PPAR- $\alpha$ , aumentando de esta manera la oxidación de ácidos grasos y el consumo de energía.<sup>41</sup>

### 2.8.1.1 Agonistas de los receptores de adiponectina

En la actualidad la única molécula sintética capaz de activar a los receptores de adiponectina es el adipoRon (**figura 15**). Esta molécula se descubrió a partir del screening de la quimioteca del Centro de Innovación Abierta de la Universidad de Tokio, el cual fue capaz de actuar como agonista de los receptores de adiponectina adipoR1 y adipoR2 en un estudio *in vitro*, con una  $K_d$  de 1.8 y 3.1  $\mu\text{M}$  respectivamente. También tiene la capacidad de mejorar la capacidad metabólica en el hígado, el músculo esquelético y el tejido adiposo.<sup>42,43</sup>



**Figura 15.** Estructura química del adipoRon.

### 3. JUSTIFICACIÓN

La DM2 es una patología de gran importancia en salud pública a nivel nacional e internacional, esto debido a la alta prevalencia y mortalidad que presenta, y está asociada a otras complicaciones como obesidad e hipertensión. La IDF ha estimado que en el año 2017 habían 445 millones de personas con DM y prevé que para el año 2045 se incremente a 642 millones de personas. Esta cifra equivale a un crecimiento del 48%, en donde la DM2 representa el 90% de todos los casos de diabetes.

En el tratamiento de la DM2 se emplea una amplia cantidad de familias de fármacos. Sin embargo, no es suficiente ya que los fármacos disponibles se caracterizan por presentar diversos efectos adversos. Además, algunos de ellos se limitan al uso de un solo fármaco en la terapéutica; tal es el caso de las biguanidas.

Por lo tanto, es importante diseñar y generar alternativas terapéuticas que puedan actuar de forma específica y con mínimos efectos adversos. Para ello se seleccionaron blancos terapéuticos novedosos y efectivos en el tratamiento de la diabetes como es la AMPK y los receptores de adipoR1 y adipoR2, ya que actualmente el único fármaco en el mercado capaz de activar la AMPK es la metformina y el único compuesto agonista de los receptores adipoR1 y adipoR2 es el adipoRon. Por lo tanto, es importante tener nuevas alternativas terapéuticas que puedan actuar sobre estos blancos y así abordar la hiperglucemia y sus complicaciones.

## 4. HIPÓTESIS

Los homólogos inferiores de fenformina mostrarán afinidad *in silico* por la enzima AMPK, mientras que los análogos de adipoRon serán ligandos de los receptores de adiponectina y ambos ejercerán efecto antidiabético *in vivo*.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

- Diseñar, sintetizar y evaluar *in vivo* los análogos de fenformina y adipoRon como agentes antidiabéticos.

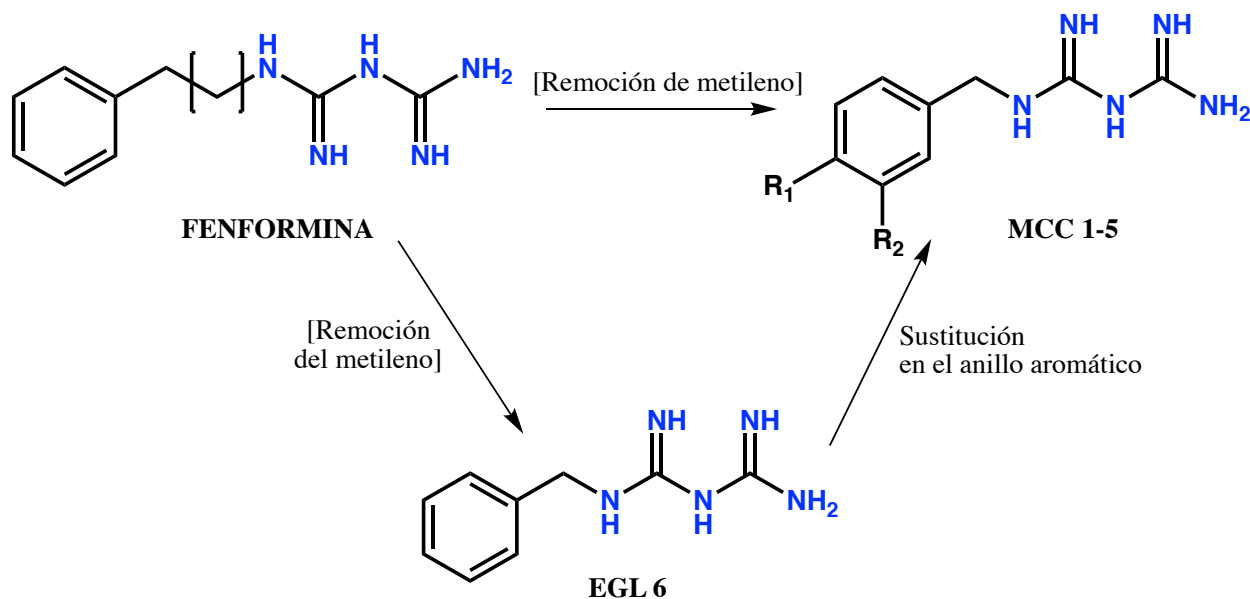
### 5.2 Objetivos particulares

- Sintetizar y caracterizar 6 compuestos mediante técnicas espectroscópicas (RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ ) y espectrométricas (EM).
- Realizar el estudio de acoplamiento molecular sobre la AMPK y el receptor de adiponectina adipoR1 de los compuestos con las mejores características farmacocinéticas y farmacodinámicas derivado del análisis de consenso farmacológico para seleccionar un hit computacional seguro.
- Efectuar ensayos *in vivo* en un modelo experimental de diabetes, para evaluar el efecto antidiabético de los compuestos con los mejores perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos derivado del análisis de consenso farmacológico, obteniendo un hit experimental seguro.

## 6. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO MOLECULAR

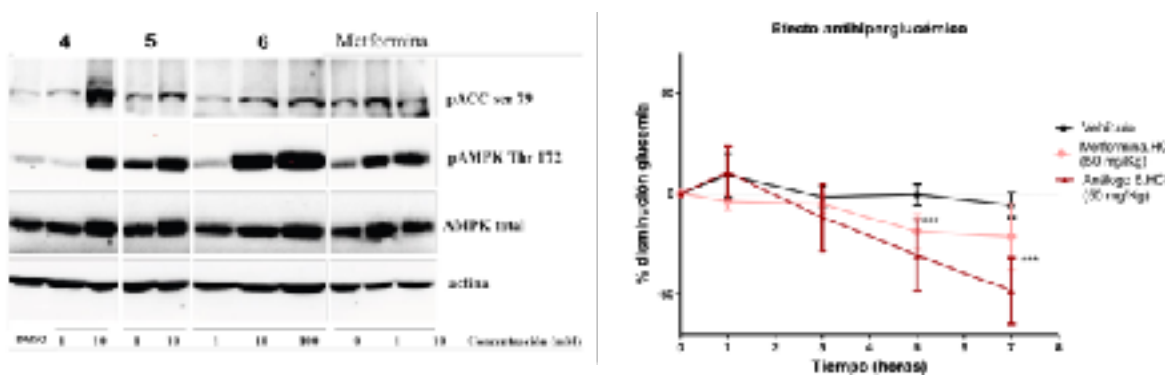
### 6.2 Diseño de los compuestos homólogos inferiores de fenformina (MCC 1-5)

El diseño de compuestos finales **MCC 1-5** se basó en la estructura de la fenformina cuya actividad biológica está bien detallada, planteando la remoción de un grupo metileno de su estructura como se observa en la **figura 16**, para así formar los homólogos inferiores de fenformina. La fenformina en su estructura tiene un fragmento de feniletilo en la cadena lateral de la biguanida, lo cual lo hace ser menos polar y más lipofílico que la metformina. Esto confiere a la fenformina mayor afinidad a las membranas mitocondriales, y por ende un potente efecto inhibitorio sobre el funcionamiento de la cadena respiratoria mitocondrial; sin embargo también inhibe la función de la piruvato deshidrogenasa. Este mecanismo es responsable de su asociación con la acidosis láctica, por lo que al remover un grupo metileno de la estructura para obtener sus homólogos inferiores se espera que se pierda o disminuya esta actividad tóxica.



**Figura 16.** Homólogos Inferiores de fenformina.

En la **figura 16** también, se puede observar a la molécula **EGL-6** sintetizada en nuestro grupo de trabajo, la cual es un homólogo inferior de fenformina. Cabe destacar que esta molécula demostró tener la capacidad de activar a la AMPK en estudios *in vitro*, así como tener un efecto antihiper glucémico en pruebas *in vivo*. Además tuvo la capacidad de reducir la resistencia a la insulina inducida por fructosa, cuyos resultados se presentan en **figura 17**.<sup>44</sup> Debido a lo anterior, se decidió realizar diversas sustituciones en el anillo aromático para obtener a los compuestos finales **MCC 1-5**.

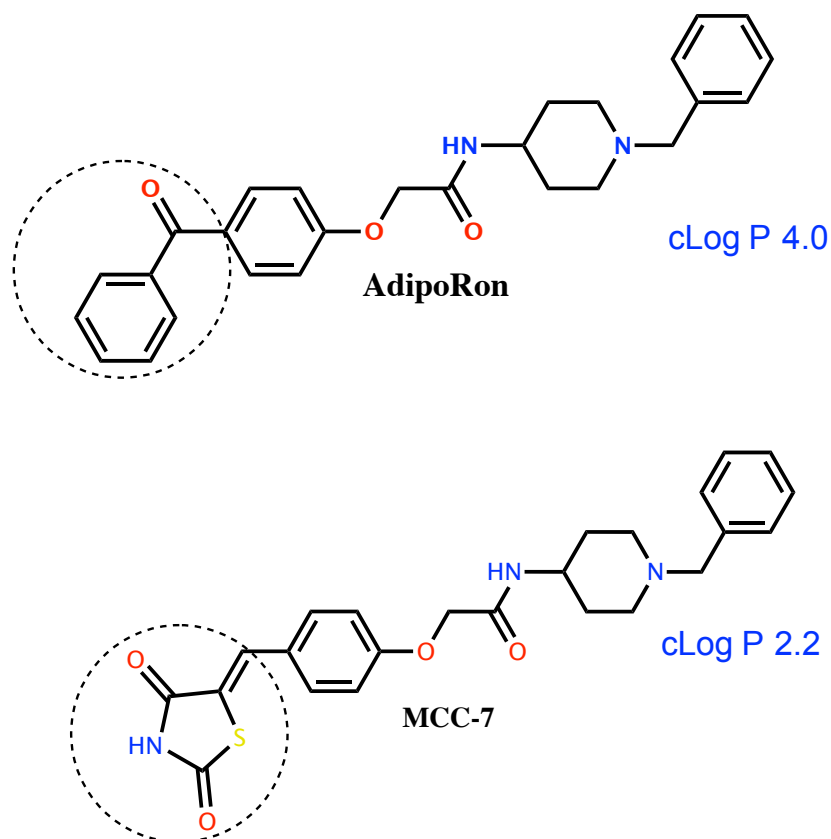


**Figura 17.** Actividad biológica del compuesto **EGL-6**. A) activación de AMPK, el compuesto **EGL-6** presenta una fosforilación similar a la mostrada por metformina. B) En ensayo agudo en ratas diabéticas, el compuesto **EGL-6** mostró mantener un efecto antihiper glucémico comparable a metformina. (Tomado de Gutierrez-Lara, E. 2017)<sup>44</sup>

### 6.3 Diseño del compuesto análogo de adipoRon (MCC-7)

El diseño del compuesto **MCC-7** se basó en la estructura de adipoRon, el cual es un agonista de los receptores de adiponectina adipoR1 y adipoR2, con una  $K_d$  de 1.8 y 3.1  $\mu\text{M}$  respectivamente. Sin embargo, nos enfocaremos a la actividad sobre el receptor adipoR1 ya que este tiene la capacidad de activar a la AMPK la cual tienen efectos biológicos relevantes en el tratamiento de la DM2.

Este proyecto químico-farmacéutico se enfocó en la búsqueda de un heterociclo que pueda sustituir el fragmento de la acetofenona con la finalidad de disminuir el log P y por otro lado disminuir la reactividad de las cetonas con grupos amino de proteínas como se muestra en la **figura 18**, dichos procesos se describen con mayor detalle a continuación.

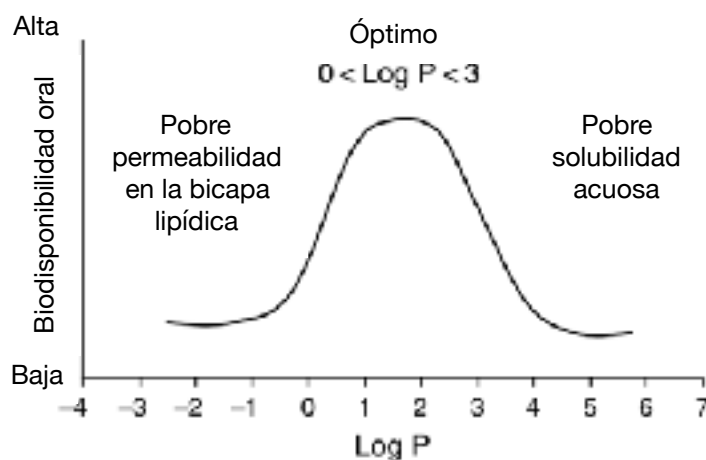


**Figura 18.** Diseño de los análogos de adipoRon.

### 6.3.1 Disminución de Log P

El Log P se puede definir como el coeficiente de partición entre una fase orgánica y una fase acuosa, y es un factor determinante para una óptima absorción intestinal humana. Se ha descrito que un Log P óptimo para una buena permeabilidad por difusión pasiva debe de estar en un rango de 0 a 3 como se presenta en la **figura 19**, ya que en este rango existe un equilibrio de permeabilidad y solubilidad.<sup>45</sup> Debido a lo anterior se reemplazó el fragmento de la acetofenona del adipoRon (log P =4.0) por un heterociclo

más polar como lo es la tiazolidindiona para obtener así a al compuesto final **MCC-7**, el cual tiene un cLog P de 2.2, por lo que estaría en un rango óptimo para una buena absorción intestinal.

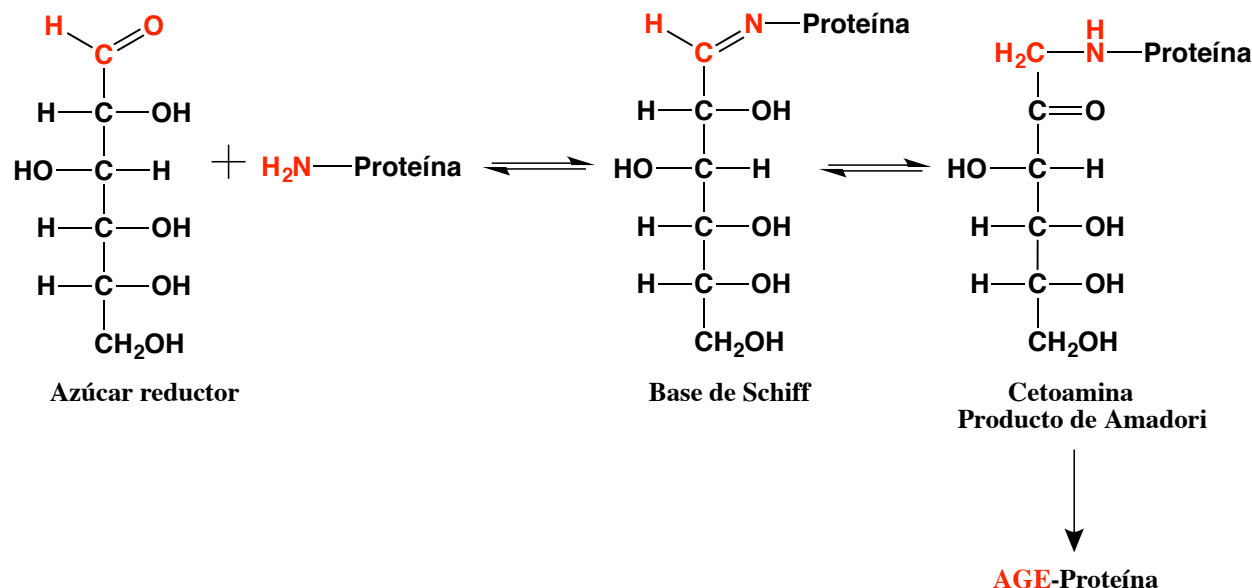


**Figura 19.** Relación de Log P con la biodisponibilidad oral.<sup>45</sup>

### 6.3.2 Disminución de la reactividad

Como ya se ha mencionado con anterioridad, la DM se caracteriza por la hiperglucemia la cual se asocia con complicaciones micro y macrovasculares. El estado de hiperglucemia crónica conduce a la formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs), que ocurre preferentemente en proteínas, pero también puede ocurrir con otras biomoléculas que presenten grupos funcionales capaces de reaccionar con el grupo aldehído de la glucosa, como por ejemplo lípidos y ácidos nucleicos. Los AGEs contribuyen de manera importante a la patogénesis de las complicaciones diabéticas.<sup>46, 47</sup> La formación de los AGE, se inicia por la formación de una base de Schiff reversible dada por la reacción entre el grupo carbonilo de un carbohidrato típicamente glucosa y el grupo amino de una proteína; la base de Schiff es inestable por lo que se transforma en una  $\alpha$ -cetoamina conocida como producto de

Amadori, el cual es intermediario para la formación de AGEs como se puede observar en la **figura 20**.<sup>47,48</sup>



**Figura 20.** Formación de los productos finales de glicación avanzada.

Esta reacción puede llevarse en cetonas y aldehídos debido a la reactividad del grupo carbonilo, ya que los electrones son fuertemente atraídos por el oxígeno, por lo que el carbono carbonílico es deficiente de ellos, esto lo hace susceptible al ataque nucleofílico.<sup>49,50</sup>

Debido a lo anterior, se planteó la remoción del grupo carbonilo de cetona de la parte de la benzofenona del adipoRon (**figura 18**) por un anillo el cual carezca de esta reactividad como lo es la tiazolidindiona cuyo grupo carbonilo pertenece a una imida y no es electrofílica como la cetona de aldehído, esto con la finalidad de reducir los posibles efectos tóxicos.



## 7. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

### 7.1 Parte química

La síntesis química se realizó en el Laboratorio 5 de Química Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (FF-UAEM) bajo la dirección del Dr. J. Gabriel Navarrete Vázquez; la cual comprende del diseño molecular, el análisis retrosintético, la síntesis química de los compuestos y la caracterización de los mismos por técnicas espectroscópicas y espectrométricas

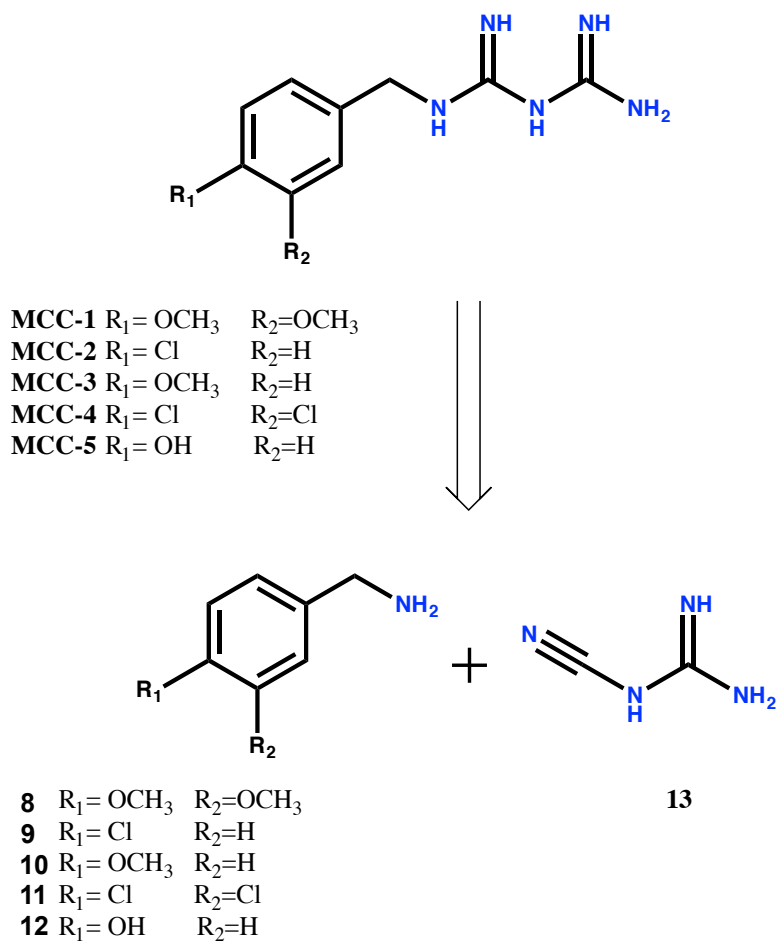
Los análisis espectroscópicos y espectrométricos se realizaron en colaboración con el Dr. Emanuel Hernández Núñez del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN Unidad Merida y el Dr. Héctor Manuel Torres del Instituto de Química y Química Biológica (ICBC) en Wadenwil, Suiza.

#### 7.1.1 Retrosíntesis

Posteriormente al análisis de las consideraciones del diseño molecular los cuales son importantes para el desarrollo racional de moléculas, se planteó la retrosíntesis de los compuestos diseñados. El análisis retrosintético es una técnica desarrollada por el químico estadounidense y premio Nobel Elias James Corey, el cual tiene como finalidad plantear una ruta de síntesis química sencilla y lógica, disminuyendo de esta manera el número de reacciones químicas para la obtención de compuestos, partiendo de materias primas cada vez más sencillas y comercialmente disponibles.<sup>51</sup>

##### 7.1.1.1 Retrosíntesis de la serie homólogos inferiores de fenformina

Para la síntesis de los homólogos inferiores de fenformina se planteó la desconexión en la parte de la biguanida obteniendo así, las respectivas bencilaminas correctamente sustituidas (**8-12**) y la cianoguanidina (**13**) como se observa en la **figura 21**.



**Figura 21.** Retrosíntesis de los homólogos inferiores de fenformina.

### 7.1.1.2 Retrosíntesis de la serie análogos de adipoRon

Para la síntesis de los análogos de adipoRon se planteó la desconexión entre el bencilideno y el heterociclo, obteniendo al anillo de tiazolidindiona (**19**), así como también al respectivo aldehído (**15**), a este se le hizo una desconexión en el grupo éter para obtener al 4-hidroxibenzaldehído (**18**) y la haloacetamida (**14**). Por último, a la haloacetamida se le realizó una desconexión en la parte de la amida para obtener al cloruro de cloroacetilo (**16**) y la 4-aminobencilpiperidina (**17**) como se puede observar en la **figura 22**.

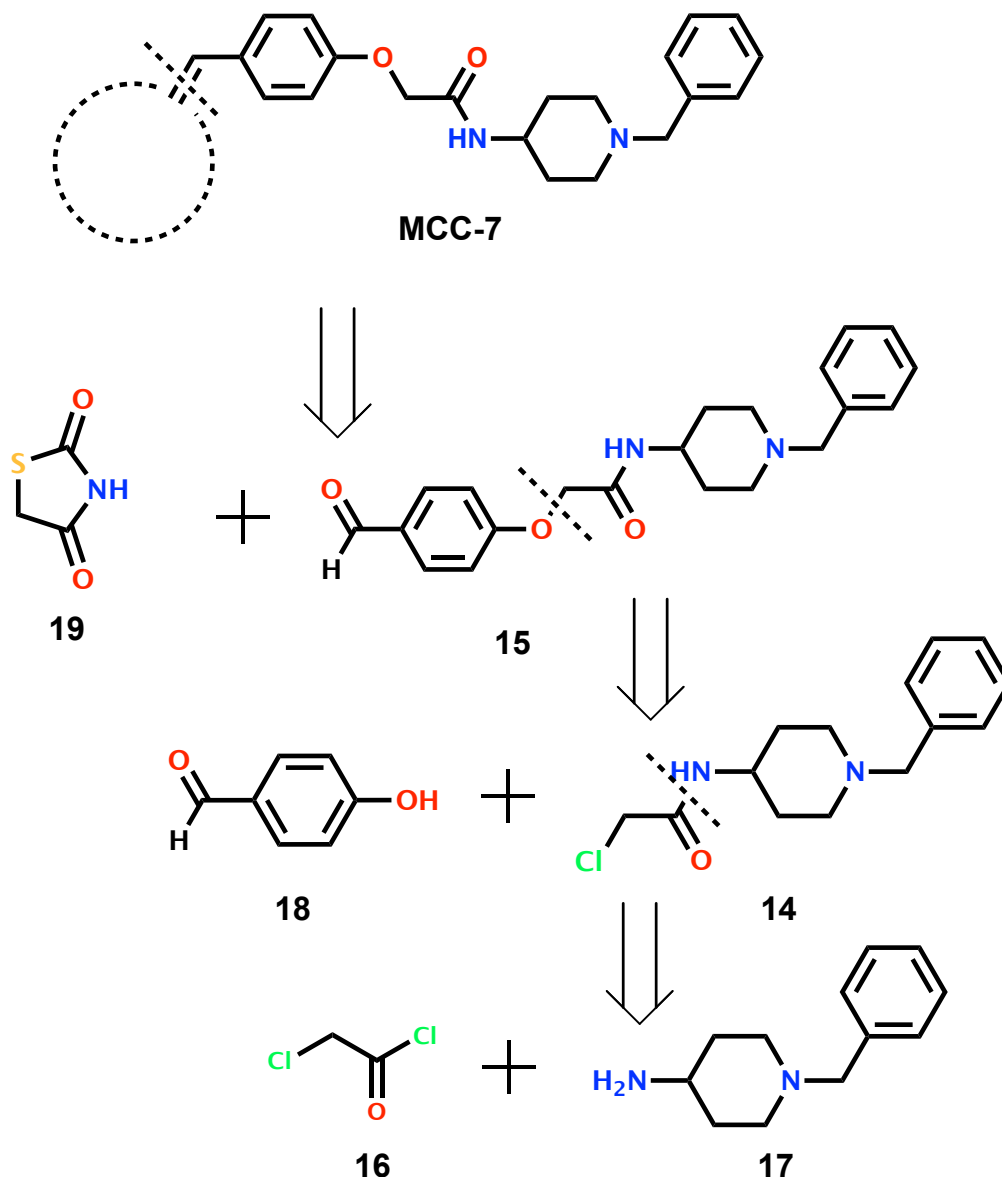
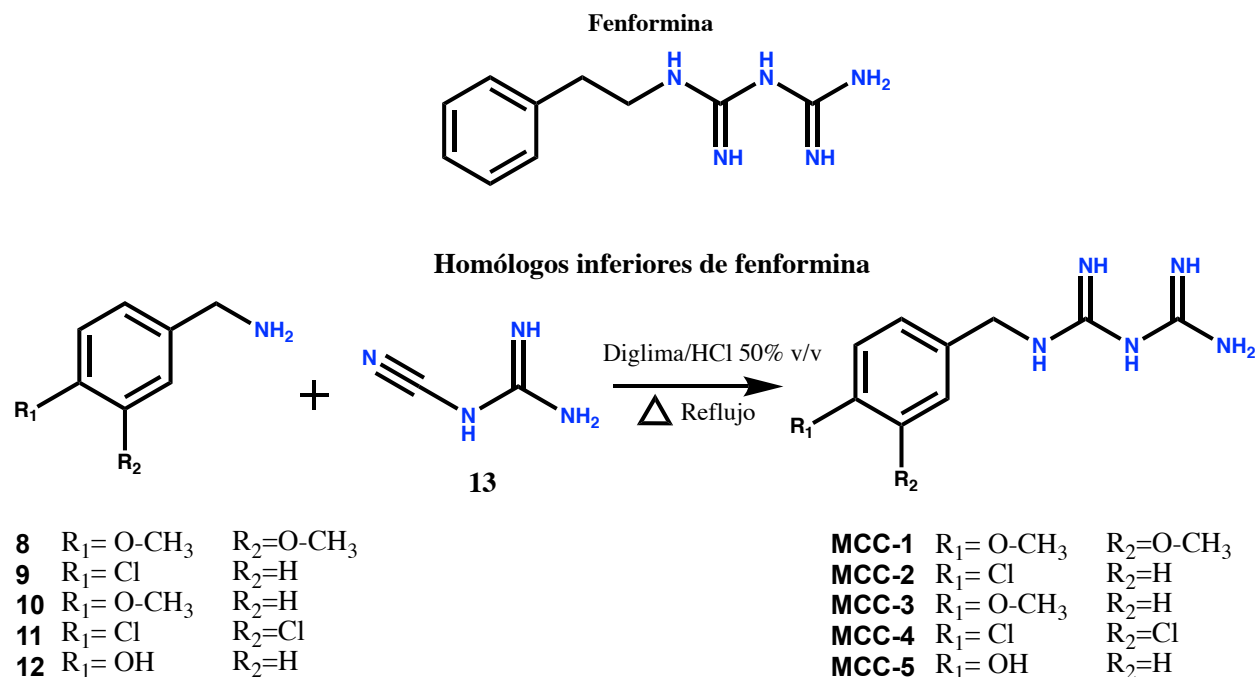


Figura 22. Retrosíntesis del análogo de adipoRon.

### 7.1.2 Síntesis química

#### 7.1.2.1 Metodología general para la síntesis de la serie homólogos inferiores de fenformina (MCC 1-5)

Para la síntesis de los homólogos inferiores de fenformina se hizo una reacción en dos pasos entre la cianoguanidina y las respectivas bencilaminas; dicha síntesis se esquematiza en la **figura 23**.

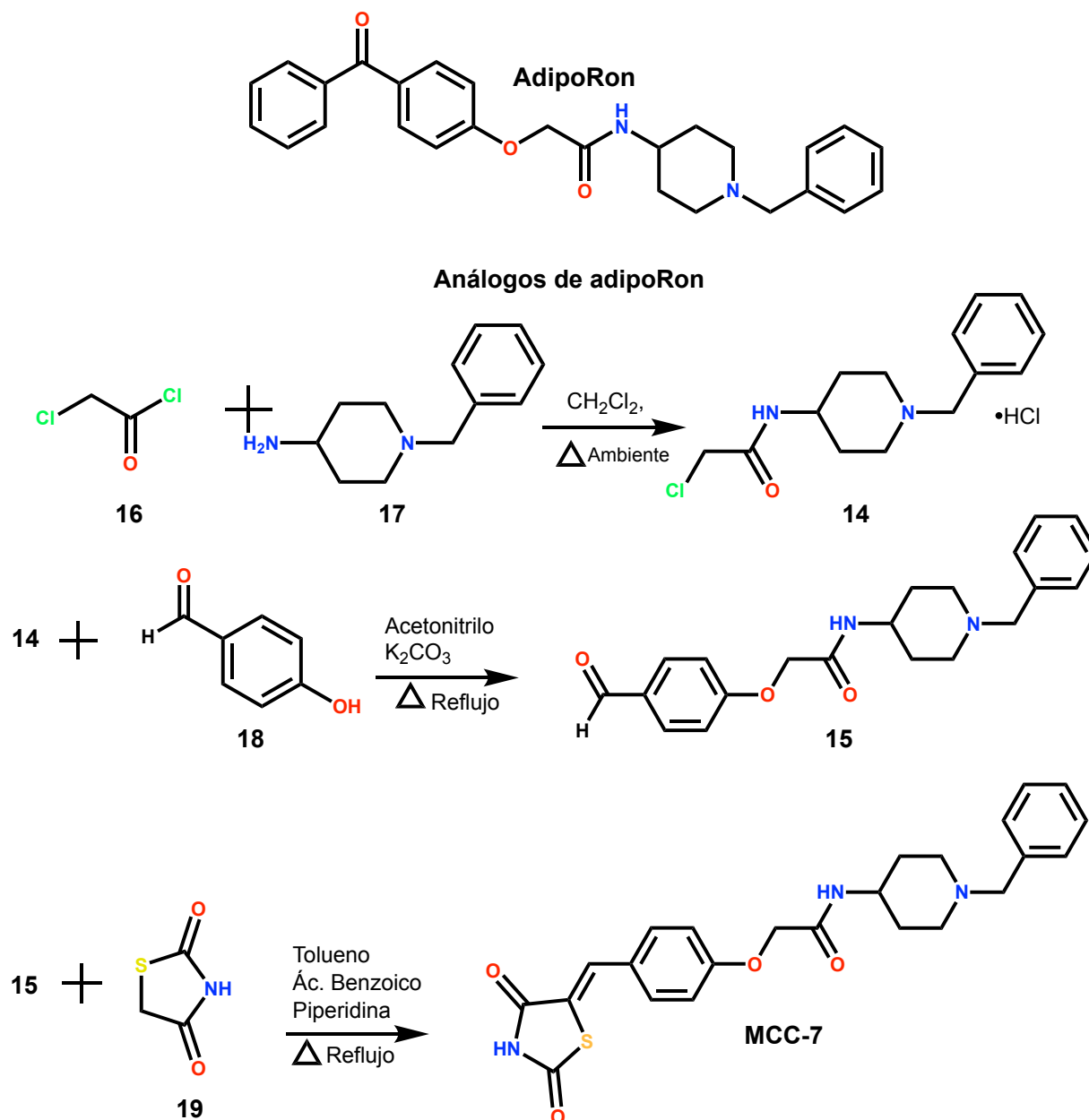


**Figura 23.** Síntesis de los homólogos inferiores de fenformina.

### 7.1.2.2 Metodología general para la síntesis de los análogos de adipoRon (MCC 7)

En la **figura 24** se puede observar la síntesis de los análogos de adipoRon, empezando por la reacción de Schotten-Baumann para la formación del grupo amida, entre el cloruro de cloroacetilo (**16**) y la 4-aminobencilpiperidina (**17**) en diclorometano como disolvente y condiciones de temperatura ambiente para obtener al precursor **14** en forma de clorhidrato. Posteriormente, se realizó la síntesis de Williamson a través del mecanismo de reacción tipo SN<sub>2</sub> para la formación del grupo éter, realizando la reacción del precursor **14** y el 4-hidroxibenzaldehído (**18**) en presencia de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> como base con la finalidad de generar el fenolato el cual es el responsable del ataque nucleofílico, así como de neutralizar el ácido clorhídrico (HCl) formado en la reacción, utilizando acetonitrilo como disolvente y manteniendo condiciones de reflujo para obtener el precursor **15**. Por último, el precursor **15** se hizo reaccionar a través de la

condensación de Knoevenagel con la tiazolidindiona para obtener al compuesto final **MCC-7**, en tolueno como disolvente y en presencia de piperidina y ácido benzoico.



**Figura 24.** Síntesis de los análogos de adipoRon.

## 7.2 Parte computacional (*in silico*)

El uso de los programas quimioinformáticos es útil en la elección y desarrollo de moléculas bioactivas, además de que se han adoptado como herramientas que disminuyen tiempos y costos de investigación a las industrias farmacéuticas. Por lo tanto, en este proyecto se hace uso de diversas herramientas quimio-informáticas para calcular algunas propiedades importantes de las moléculas propuestas como sus propiedades de Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción (ADME) así como su Toxicidad y su posible actividad biológica, las cuales se describen a continuación:

### 7.2.1 PASS online (Predictor del Espectro de Actividad Biológica para Sustancias)

PASS online (**figura 25**), es una herramienta de libre acceso y la cual se puede consultar en la página web <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/>.<sup>52</sup>



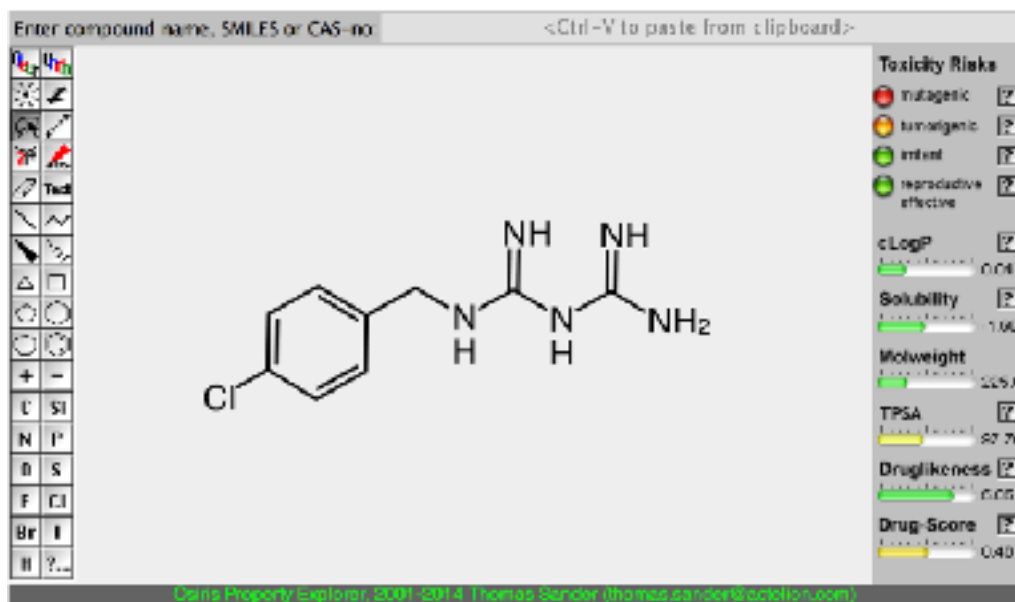
**Figura 25.** Interfaz del programa PASS online.

Pass online evalúa el potencial de actividad biológica por un análisis de la relación estructura actividad (SAR) de más de 300,000 sustancias biológicamente activas en las que se incluyen a fármacos, candidatos a fármacos y compuestos tóxicos. Las

predicciones en PASS se presentan en valores estimados de probabilidad de la actividad ( $P_a$ ) o inactividad ( $P_i$ ), en donde el valor  $P_a$  entre más cercano a 1 se tendrá una mayor probabilidad de mostrar actividad experimental.<sup>53</sup>

### 7.2.2 Explorador de propiedades OSIRIS

OSIRIS (**figura 26**) es una herramienta de libre acceso la cual se puede consultar en el Portal de Química Orgánica en la página web <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>, la cual nos permite calcular el riesgo de toxicidad como: mutagenicidad, tumorigenicidad, efectos irritantes y reproductivos, así como también nos permite calcular propiedades como cLogP, solubilidad y peso molecular, parámetros de gran importancia que impactan directamente en la permeabilidad y consecuentemente en la biodisponibilidad de un fármaco por administración oral. OSIRIS asigna un puntaje de “Druglikeness” el cual refleja la similitud con otras sustancias contenidas en su base de datos y un valor de “Drug-score” el cual es la puntuación de todos los parámetros antes mencionados en su conjunto, esto permite calcular si la molécula evaluada posee las características necesarias para calificar como un posible fármaco.<sup>54</sup>



**Figura 26.** Interfaz de OSIRIS.

### 7.2.3 admetSAR (Predictor de las propiedades ADMET)

Es una herramienta de libre acceso y se puede consultar en la página web <http://lmmd.ecust.edu.cn:8000><sup>56</sup>, la cual permite calcular las propiedades de absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad por un análisis de la relación estructura-actividad de una molécula de interés con moléculas contenidas en la base de datos de esta herramienta.<sup>55</sup>



Figura 27. Interfaz de admetSAR.

### 7.2.4 MetaPrint2D

Es una herramienta desarrollada por la universidad de Cambridge de libre acceso la cual se puede consultar en la página web <http://www-metaprint2d.ch.cam.ac.uk><sup>58</sup>, metaprint2D permite calcular los sitios más probables de metabolismo de fase 1 y 2, haciendo énfasis que en la química farmacéutica es de suma importancia conocer el proceso de metabolismo que pudiera sufrir una molécula ya que esto nos permite modificar el perfil farmacocinético a través del bloqueo de los principales sitios de metabolismo o bien la adición de ciertos grupos funcionales para favorecer el mismo.<sup>57</sup>

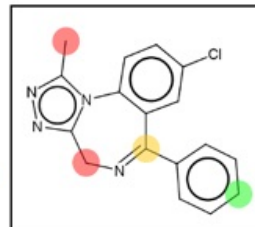


### MetaPrint2D metabolic site predictor

University of Cambridge > Department of Chemistry > Centre for Molecular Informatics

MetaPrint2D is a tool that predicts xenobiotic metabolism through data-mining and statistical analysis of known metabolic transformations reported in scientific literature.

Two versions are available: MetaPrint2D, which predicts sites of phase I metabolism, defined as the addition of oxygen (e.g. hydroxylation, oxidation, epoxidation) or elimination reactions, and MetaPrint2D-React which can make predictions concerning a wider range of reactions, and is able to predict the types of transformation that can take place at ease site of metabolism, and the likely metabolite formed.



Select which version you wish to use:

#### MetaPrint2D

Predict sites of phase I metabolism

#### MetaPrint2D-React

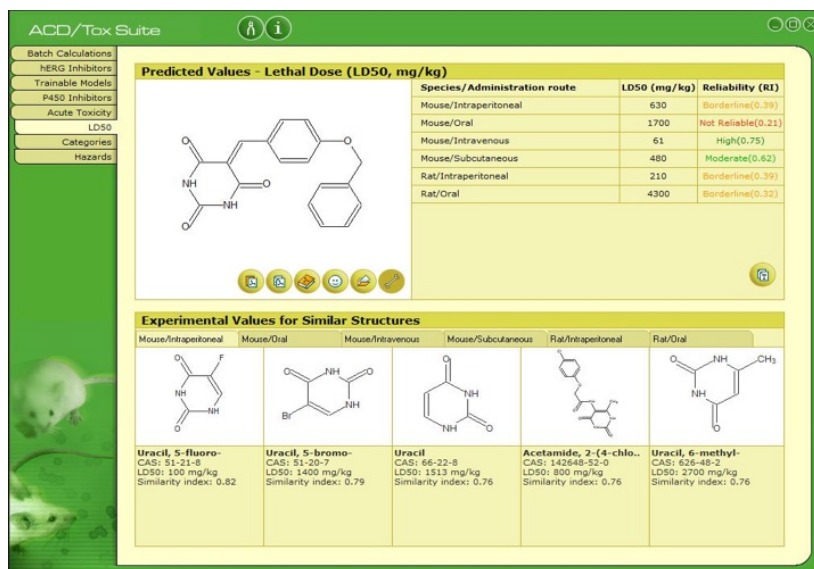
Predict metabolic transformations, and likely metabolites formed

(experimental)

Figura 28. Interfaz de Metaprint2D.

### 7.2.5 ACD/ToxSuite

Es un programa de carácter comercial por lo que se necesita de una licencia para su uso. Dicho programa permite calcular diversos criterios de toxicidad aguda los cuales incluyen el bloqueo de los canales hERG, inhibición de las diversas familias del CYP450 y DL<sub>50</sub>.



**ACD/Tox Suite**

**Predicted Values - Lethal Dose (LD50, mg/kg)**

Species/Administration route	LD50 (mg/kg)	Reliability (RI)
Mouse/Intraperitoneal	630	Borderline(0.39)
Mouse/Oral	1700	Not Reliable(0.21)
Mouse/Intravenous	61	High(0.75)
Mouse/Subcutaneous	480	Moderate(0.62)
Rat/Intraperitoneal	210	Borderline(0.39)
Rat/Oral	4300	Borderline(0.32)

**Experimental Values for Similar Structures**

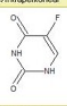
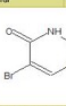
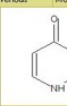


Mouse/Intraperitoneal	Mouse/Oral	Mouse/Intravenous	Mouse/Subcutaneous	Rat/Intraperitoneal	Rat/Oral
					
<b>Uracil, 5-fluoro</b> CAS: 51-21-8 LD50: 100 mg/kg Similarity index: 0.82	<b>Uracil, 5-bromo</b> CAS: 51-20-7 LD50: 1400 mg/kg Similarity index: 0.79	<b>Uracil</b> CAS: 66-22-8 LD50: 1513 mg/kg Similarity index: 0.76	<b>Acetamide, 2-(4-chloro)</b> CAS: 142640-52-0 LD50: 800 mg/kg Similarity index: 0.76	<b>Uracil, 6-methyl</b> CAS: 626-48-2 LD50: 2700 mg/kg Similarity index: 0.76	

Figura 29. Interfaz de ACD/Tox Suite.

### 7.2.6 Acoplamiento Molecular Automatizado

El acoplamiento molecular o docking es un método el cual permite encontrar el modo de unión más estable de un ligando con su receptor. Actualmente el acoplamiento molecular tiene dos aplicaciones fundamentales:<sup>59</sup>

1.- Aporta información para el entendimiento del posible modo de acción de moléculas con actividad biológica.<sup>59</sup>

2.- Utilizada para analizar la afinidad de grandes colecciones de moléculas con diversas dianas las cuales puedan estar implicadas en la fisiopatología de una enfermedad; dicho proceso puede llevarse en pocas horas incluso minutos y el cual ayuda a reducir el número de moléculas propuestas para su evaluación biológica.<sup>59</sup>

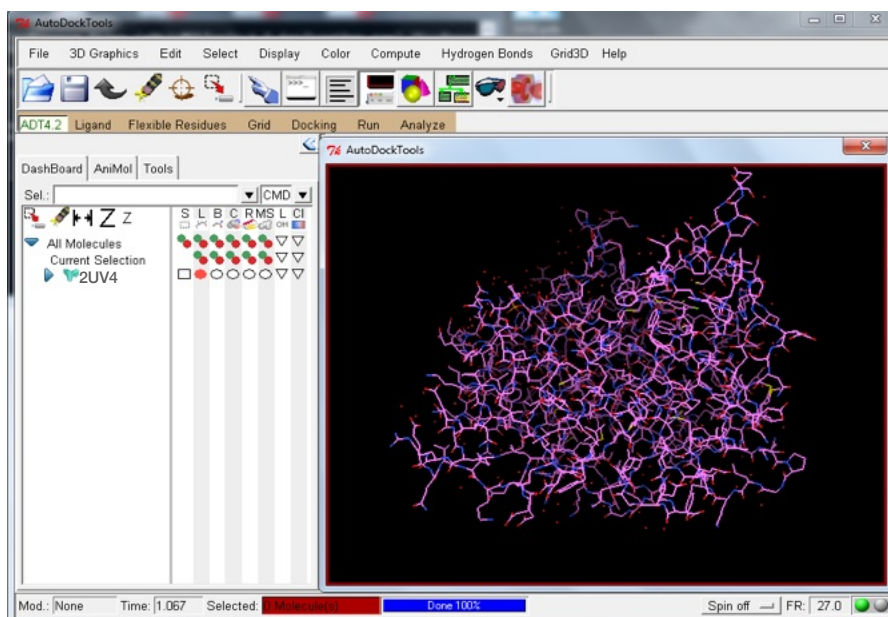
Por lo anterior, el acoplamiento molecular o docking se ha convertido en una herramienta esencial en el descubrimiento de fármacos ya que permite hacer más eficiente y reducir costos de la etapa de descubrimiento de moléculas bioactivas.<sup>59,60</sup>

Para la realización de los estudios de acoplamiento molecular se utilizaron diversos programas computacionales tal es el caso de Autodock Tools, Autodock Vina y MOE (Molecular Operating Environment), así como también programas los cuales permiten visualizar las interacciones de la molécula con el sitio diana a partir de los resultados obtenidos del acoplamiento molecular.

**Autodock Tools.** Es un programa de libre acceso disponible en <http://autodock.scripps.edu>, el cual integra un conjunto de herramientas automatizadas para la predicción del posible modo de unión de moléculas pequeñas con un receptor cuya estructura 3D es conocida.<sup>61</sup>

**Autodock Vina.** Es un programa de código abierto para la realización de acoplamiento molecular disponible en <http://vina.scripps.edu>, el cual tiende a ser más rápido que AutoDock ya que AutoDock Vina puede tomar ventaja de los múltiples núcleos de CPU

de un sistema, lo cual acorta significativamente su tiempo de ejecución.<sup>62</sup> Por lo que es ideal para un estudio de acoplamiento molecular ciego debido a la complejidad del proceso.



**Figura 30.** Interfaz de autodock.

**Acoplamiento molecular ciego.** Hace inferencia al acoplamiento molecular de un ligando en toda la superficie de una proteína de la cual no se tiene conocimiento previo del sitio de reconocimiento al ligando, por lo que tiene como finalidad encontrar la pose más favorable del complejo ligando-proteína.<sup>63</sup>

**MOE** es un programa de carácter comercial por lo que se necesita de una licencia para su uso, y el cual ofrece diversas herramientas como: visualizaciones de las interacciones proteínas-ligando en 2D Y 3D, análisis y desarrollo de nuevas relaciones estructura-actividad de pequeñas moléculas, modelado molecular entre otras aplicaciones de relevancia en la química farmacéutica.<sup>64</sup>

**PyMOL** es un programa de acceso libre y permite la visualización 3D de las interacciones presentadas por el complejo ligando-receptor de una proteína co-

crystalizada o bien de los resultados obtenidos por el acoplamiento molecular. <sup>65</sup>

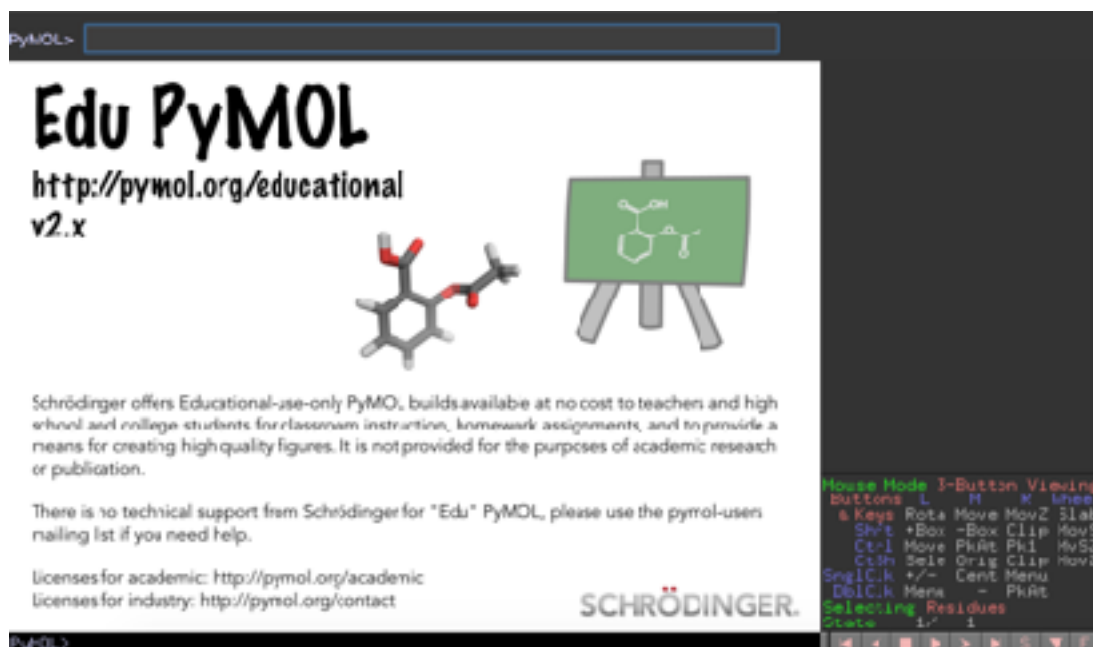


Figura 31. Interfaz de PyMOL.

**Discovery Studio** es un programa de acceso libre el cual permite la visualización 3D y 2D de las interacciones de tipo electrostática, puente de hidrógeno, Van Der Waals e hidrofóbicas presentes por complejos ligando-receptor. <sup>66</sup>

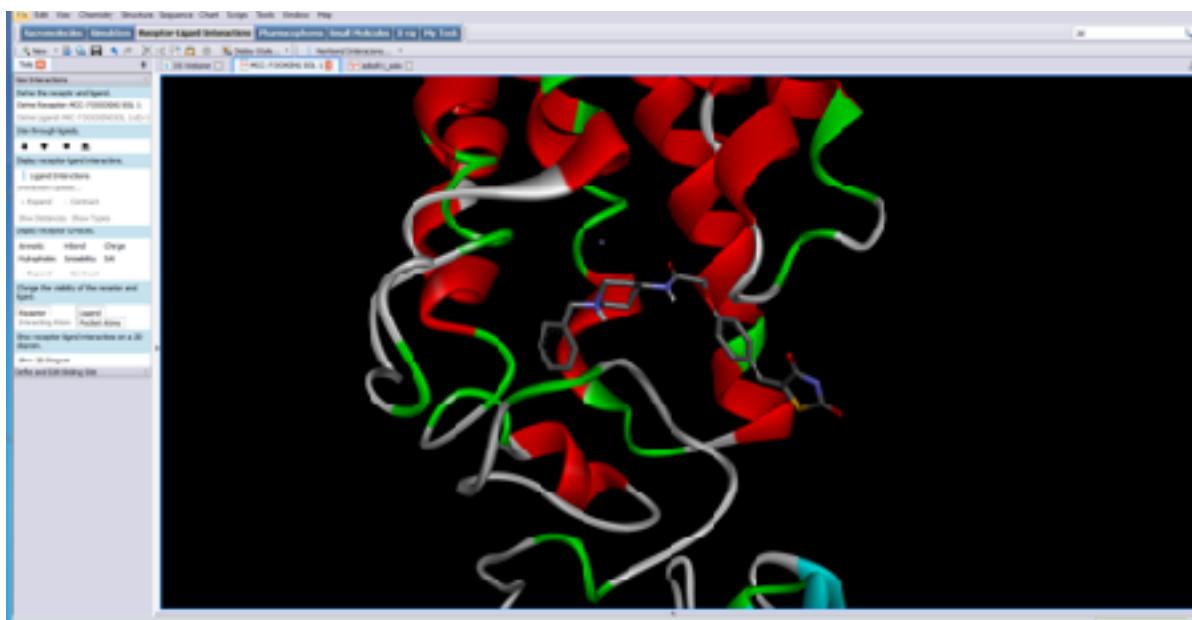


Figura 32. Interfaz de Discovery Studio.

### 7.3 Parte farmacológica

**Evaluación *in vivo***, se realizó en el laboratorio 12 de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la colaboración del Dr. Samuel Enoch Estrada Soto, M. en F. Fabiola Chávez Silva, M en F. Litzia Christell Cerón Romero y pLF. Kathia Gisela Ornelas Mendoza , en donde se ensayaron los compuestos con las mejores propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de la evaluación *in silico*, en un modelo murino de diabetes.

#### REACTIVOS

La estreptozotocina, nicotinamida, glibenclimida y metformina fueron adquiridas de manera comercial con Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO, USA.

#### EQUIPO

Para cuantificar los niveles de glucemia sanguínea de los animales utilizados en los experimentos, se utilizó un glucómetro marca Accutrend® GCT de Roche, con las tiras reactivas para la determinación de glucemia en sangre Accutrend® Glucose de Roche.

#### ANIMALES

Los animales de experimentación utilizados se manipularon conforme a la Regulación Federal para el Manejo y Experimentación de Animales, emitida por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Dichos procedimientos se encuentran descritos en la norma oficial **NOM-062-ZOO-1999** “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio” (Diario Oficial de la Federación Mexicana 1999, “NOM-062-ZOO-1999”). Para los ensayos antidiabéticos *in vivo* se emplearon ratones machos de la cepa CD1, de entre 20-25 g, adquiridos de la Facultad de Medicina de la UAEM. Estos animales son destinados exclusivamente al uso experimental, se alojaron en condiciones de laboratorio (ciclos de 12 h luz/oscuridad, 25±2 °C y 45-65% de

humedad) y se alimentaron con una dieta comercial de pellets de roedores y agua *ad libitum*.

### **7.3.1 Generación del modelo experimental de diabetes no insulino dependiente en ratón (DNID)<sup>68</sup>**

La inducción de la diabetes no insulino dependiente en ratón consistió en la administración vía intraperitoneal (i.p) de una dosis única de nicotinamida (20 mg/kg) disuelta en agua destilada, 15 minutos posteriores se administró estreptozotocina a una dosis de 120 mg/Kg, disuelta en un buffer de citrato 1 M y pH 4.5.<sup>68</sup> Transcurridas al menos dos semanas de la inducción, se monitorearon los niveles de glucemia mediante un glucómetro portátil, los cuales presentaron glucemias mayores a 150 mg/dL. Los animales se pusieron en ayuno 13 horas previas a iniciar los experimentos, los cuales se desarrollaron como se describe a continuación.

### **7.3.2 Efecto antidiabético agudo en un modelo experimental de diabetes no insulino dependiente en ratón**

Los ratones se dividieron en 3 grupos (vehículo, control positivo y el compuesto a evaluar), se midió la glucemia al inicio del experimento (T0). Posteriormente, se administró 0.1 mL del vehículo (agua inyectable) al primer grupo, al segundo grupo se le administró metformina (100 mg/kg) y al tercer grupo se le administró 100 mg/kg del compuesto disuelto en el vehículo, todos por vía oral. La glucemia sanguínea se midió a las 1, 3, 5 y 7 horas, posterior a la administración. Los resultados se representaron como el porcentaje de variación de glucemia.

## **7.4 Análisis de datos**

Para determinar el efecto del compuesto sobre los niveles de glucemia sanguínea, los efectos de cada tratamiento se analizaron utilizando 6 animales en cada grupo y los

resultados obtenidos se transformaron en datos que representan las medias aritméticas con sus respectivos errores estándar. Estos son exhibidos en cursos temporales de variación de glucemia vs el tiempo. Los valores de variación de glucemia se calcularon utilizando la ecuación:

$$\% \text{ de variación de glucemia} = ((Glu_x - Glu_0) / Glu_0) \times 100$$

donde el % de variación de glucemia representó la diferencia aritmética entre los promedios de los niveles plasmáticos de glucemia al tiempo cero de experimentación ( $Glu_0$ ) y los promedios de los niveles de glucemia sanguínea a los tiempos evaluados ( $Glu_x$ ). Se empleó el programa GraphPad Prism v. 5.0 para graficar el porcentaje de variación de glucemia contra el tiempo y se realizó un análisis estadístico de varianza de dos vías,  $p < 0.05$  con un análisis post-hoc de Bonferroni para ANOVA.<sup>69</sup>

## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

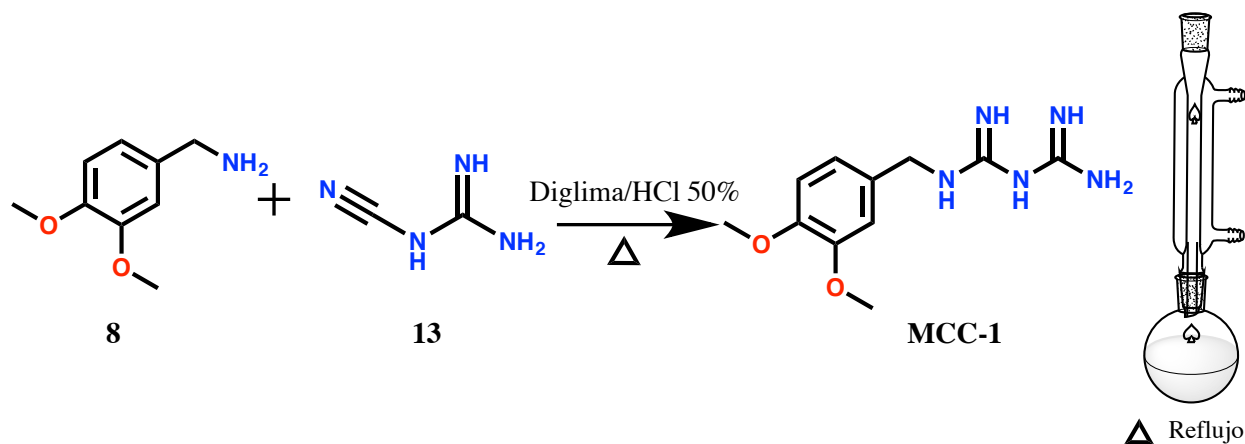
### 8.1 PARTE QUÍMICA

Se sintetizaron cinco compuestos de la serie de homólogos inferiores de fenformina (**MCC 1-5**), así como los precursores **14** y **15** de la serie de análogos de adipoRon para la síntesis del compuesto final **MCC 7**. A continuación se describe la síntesis de cada uno de ellos.

#### 8.1.1 Síntesis de los compuestos MCC 1-5 de la serie homólogos inferiores de fenformina

##### 8.1.1.1 Síntesis de: Diamida *N*-(3,4-dimetoxibencil)imidodicarbonimidica (**MCC-1**)

Para la obtención del compuesto **MCC-1** (figura 33) se disolvió la cianoguanidina (**13**) en diglima como disolvente; posteriormente se adicionó la 3,4-dimetoxibencilamina (**8**). La reacción se colocó en baño de hielo para adicionar gota a gota de HCl al 50% v/v. Al formarse una solución homogénea la reacción se pasó a reflujo en baño de aceite durante 10 horas. Se obtuvieron cristales de color amarillo en forma de aguja con un rendimiento de reacción de 80% y un punto de fusión de 256.1-257.9 °C.

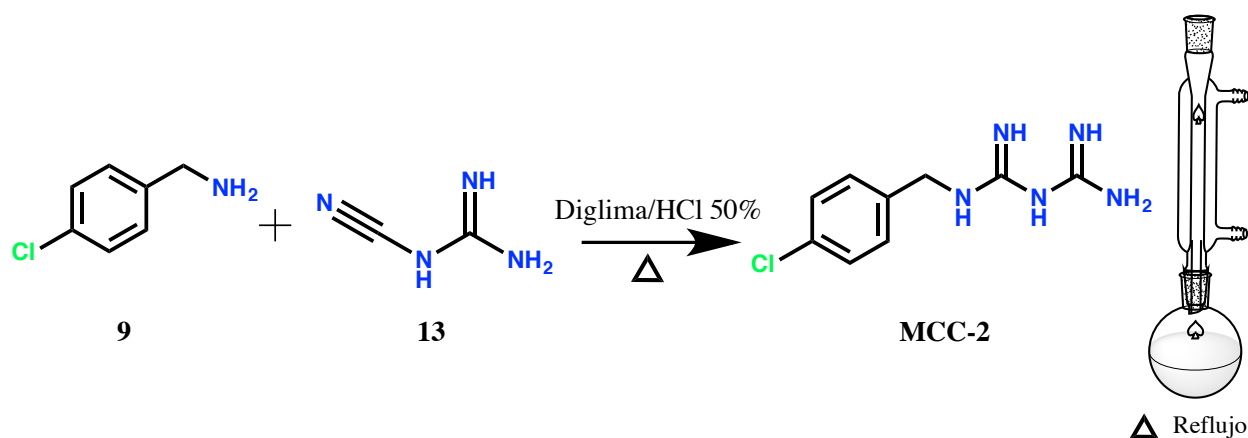


**Figura 33.** Síntesis de **MCC-1**.



### 8.1.1.2 Síntesis de: Diamida N-(4-clorobencil)imidodicarbonimidica (MCC-2)

Para la obtención del compuesto **MCC-2** (figura 34), se disolvió la cianoguanidina (**13**) en diglima como disolvente, posteriormente se adicionó la 4-clorobencilamina (**9**). La reacción se colocó en baño de hielo para adicionar gota a gota de HCl al 50% v/v, al formarse una solución homogénea la reacción se pasó a reflujo en baño de aceite, durante 10 horas. Se obtuvieron cristales incoloros en forma de aguja con un rendimiento de reacción de 74 % y un punto de fusión de 236.8-238.9 °C.



**Figura 34.** Síntesis de **MCC-2**.

### 8.1.1.3 Síntesis de: Diamida N-(4-metoxibencil)imidodicarbonimidica (MCC-3)

Para la obtención del compuesto **MCC-3** (figura 35), se disolvió la cianoguanidina (**13**) en diglima como disolvente; posteriormente se adicionó la 4-metoxibencilamina (**10**). La reacción se colocó en baño de hielo para adicionar gota a gota de HCl al 50% v/v, al formarse una solución homogénea la reacción se pasó a reflujo en baño de aceite durante 12 horas. Se obtuvieron cristales incoloros en forma de aguja con un rendimiento de reacción de 76 % y un punto de fusión de 225.8-228.2 °C.

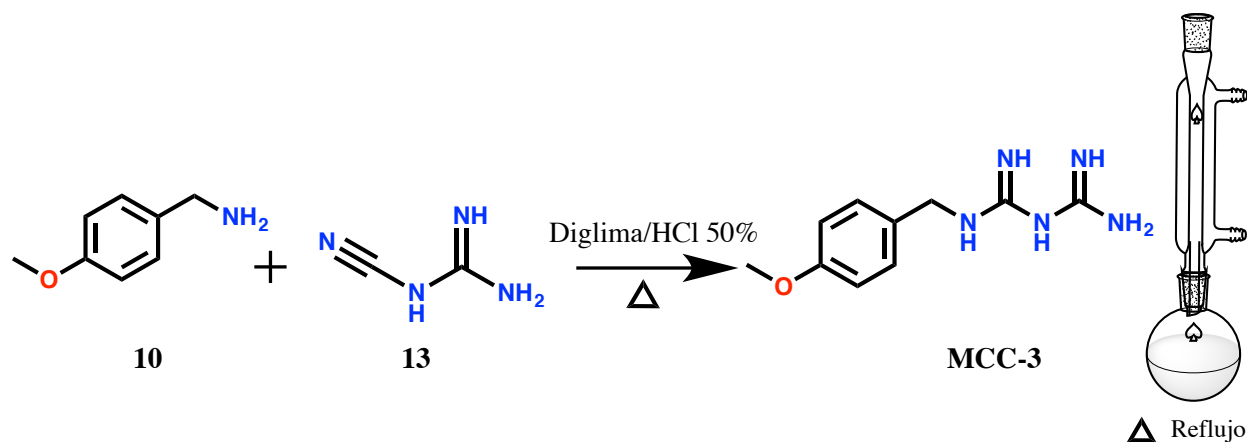


Figura 35. Síntesis de MCC-3.

#### 8.1.1.4 Síntesis de: Diamida *N*-(3,4-diclorobencil)imidodicarbonimidica (MCC-4)

Para la obtención del compuesto MCC-4 (figura 36) se disolvió la cianoguanidina (13) en diglima como disolvente; posteriormente se adicionó la 3,4-diclorobencilamina (11). La reacción se colocó en baño de hielo para adicionar gota a gota de HCl al 50% v/v, al formarse una solución homogénea la reacción se pasó a reflujo en baño de aceite durante 10 horas. Se obtuvieron cristales incoloros en forma de aguja con un rendimiento de reacción de 85 % y un punto de fusión de 229.7-232.5 °C

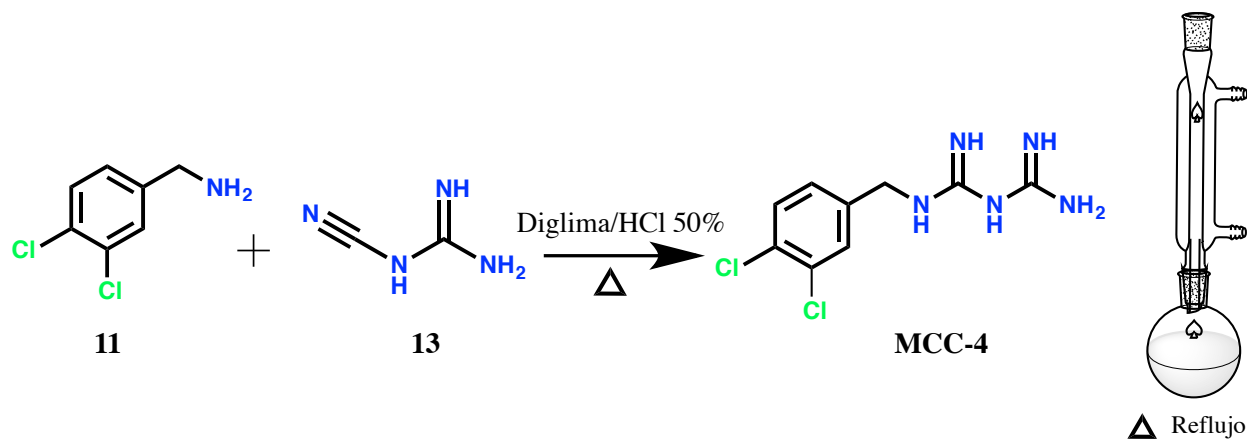
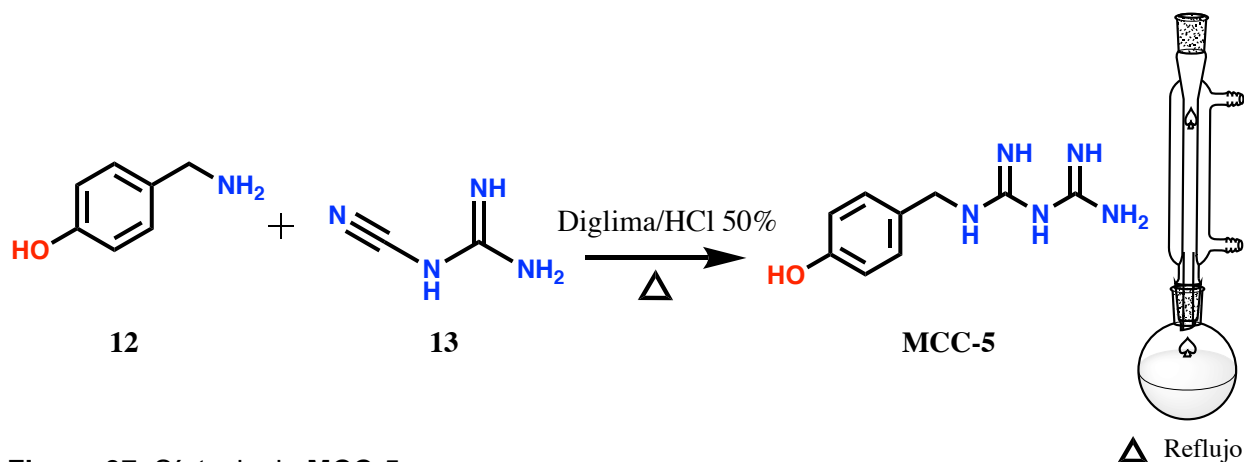


Figura 36. Síntesis de MCC-4.

### 8.1.1.5 Síntesis de: Diamida *N*-(4-hidroxibencil)imidodicarbonimidica (MCC-5)

Para la obtención del compuesto **MCC-5** (**figura 37**) se disolvió la cianoguanidina (**13**) en diglima como disolvente, posteriormente se adicionó la 4-hidroxibencilamina (**12**). La reacción se colocó en baño de hielo para adicionar gota a gota de HCl al 50% v/v, al formarse una solución homogénea la reacción se pasó a reflujo en baño de aceite durante 9 horas. Se obtuvieron cristales incoloros en forma de aguja con un rendimiento de reacción de 88 % y un punto de fusión de 182.5-185.1 °C.



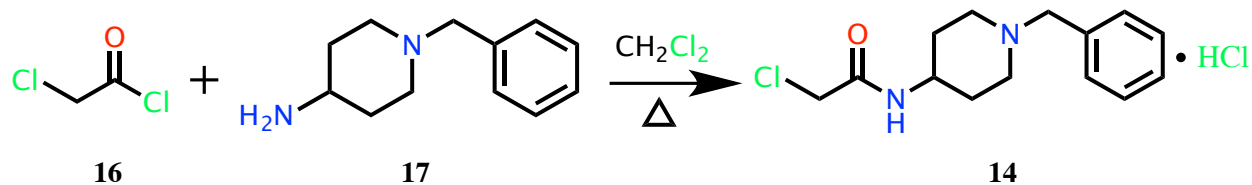
**Figura 37.** Síntesis de **MCC-5**.

### 8.1.2 Síntesis del compuesto MCC 7 de la serie análogos de adipoRon

#### 8.1.2.1 Síntesis del precursor: *N*-(1-bencilpiperidin-4-il)-2-cloroaceraida (**14**)

Para la obtención del precursor **14** (**figura 38**), se disolvió la 4-aminobencilpiperidina (**17**), en diclorometano seco como disolvente, al matraz bola se acondicionó con un embudo de adición de presiones igualadas con el cual se adicionó el cloruro de cloroacetilo (**16**) por goteo, la reacción se dejó a temperatura ambiente por 11 h, acondicionado con el tubo lavador para atrapar los gases de HCl que se forman en la reacción. Se obtuvo un compuesto solido de un color beige con un rendimiento de

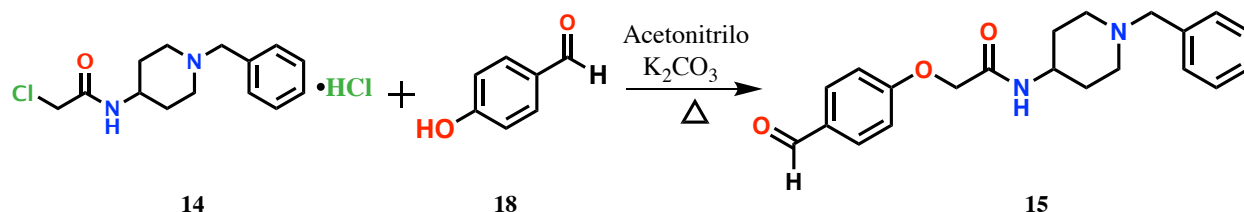
reacción de 93% y un punto de fusión de 98.9-102.1 °C.



**Figura 38** . Síntesis del compuesto precursor 14.

### 8.1.2.2 Síntesis del precursor: *N*-(1-bencilpiperidin-4-il)-2-(4-formilfenil)acetamida (15)

Para la obtención del precursor **15** (**figura 39**), se disolvió el 4-hidroxibenzaldehído (**18**) y el precursor **14** en acetonitrilo como disolvente y  $\text{K}_2\text{CO}_3$  como base. La reacción se mantuvo en condiciones de reflujo por 14 h. Se obtuvo un compuesto sólido amorfo de color café claro con un rendimiento de reacción del 86 %.

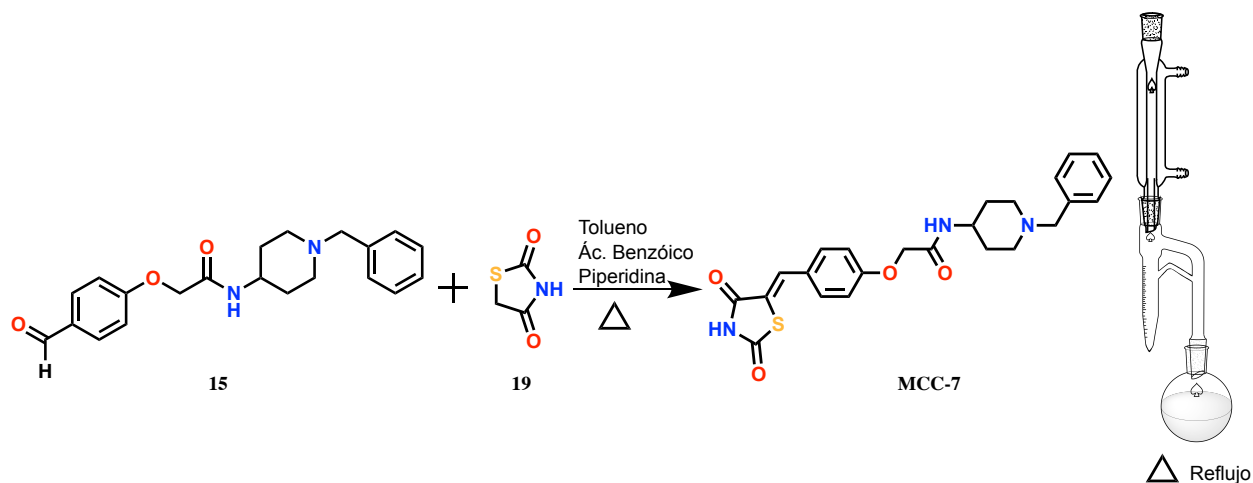


**Figura 39**. Síntesis del compuesto precursor 15.

### 8.1.2.3 Síntesis del compuesto final: *(Z)*-*N*-(1-bencilpiperidin-4-il)-2-((2,4-dioxotiazolidin-5-ilideno)metil)fenoxi)acetamida (MCC-7)

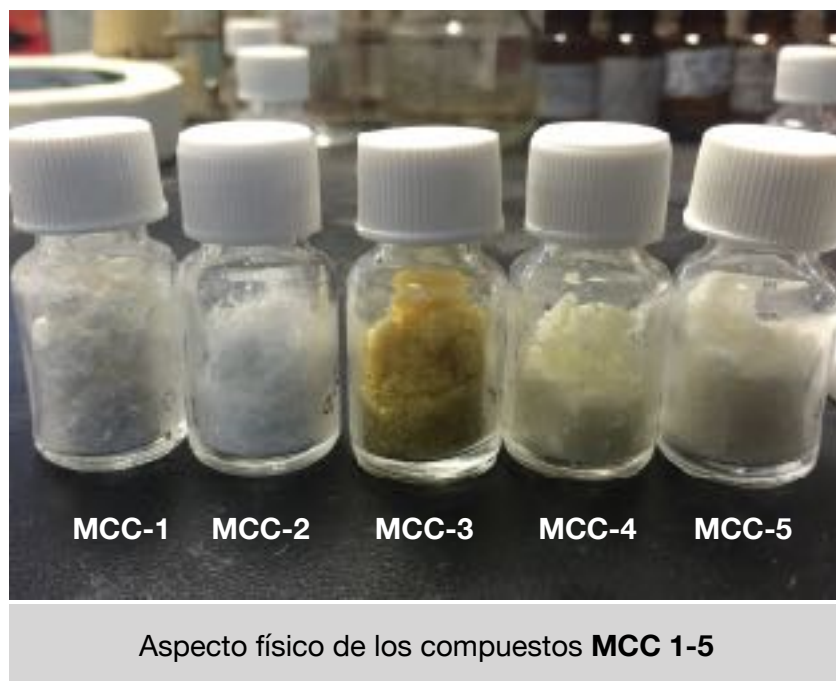
Para la obtención del compuesto **MCC-7** (**figura 40**), se puso en agitación por 15 minutos la tiazolidindiona (**19**), el precursor **15**, ácido benzoico en tolueno como

disolvente. Posteriormente se adicionó la piperidina; la reacción se mantuvo en condiciones de reflujo haciendo uso de la trampa Dean-Stark para eliminar el agua generada en la reacción. Se obtuvo un polvo color amarillo claro con un rendimiento de 90 % y un punto de fusión de 148.1-150.2 °C



**Figura 40.** Síntesis del compuesto **MCC-7**.

La síntesis de los compuestos finales **MCC 1-5** de la serie de los homólogos inferiores de fenformina, así como el compuesto final **MCC 7** y sus precursores **14** y **15** de la serie de análogos de adipoRon, presentaron tiempo de reacción y rendimientos óptimos para fines de este trabajo. Todos los compuestos se obtuvieron en estado sólido con un punto de fusión en un intervalo no mayor a los 2 °C lo que es indicativo de pureza. En las **tablas 4** y **5** se presentan algunas de las propiedades fisicoquímicas de los compuestos sintetizados.



**Tabla 4.** Propiedades fisicoquímicas de los compuestos **MCC 1-5.**

Cp	PM (g/mol)	T Rx (h)	Condiciones de reacción	% Rx	Estado físico	Pf °C	Metodo de purificación
<b>MCC-1</b>	251	10	Reflujo	80	Cristales color amarillo en forma de aguja	256.1-257.9	Recristalización
<b>MCC-2</b>	226	10	Reflujo	74	Cristales color blancos en forma de aguja	236.8-238.9	Recristalización
<b>MCC-3</b>	260	12	Reflujo	76	Cristales color blancos en forma de aguja	225.8-228.2	Recristalización
<b>MCC-4</b>	221	10	Reflujo	85	Cristales color blancos en forma de aguja	229.7-232.5	Recristalización
<b>MCC-5</b>	207	9	Reflujo	88	Cristales color blancos en forma de aguja	187.2-189.9	Recristalización

Cp=Compuesto, T Rx= Tiempo de reacción, Pf= Punto de fusión, % RX= Rendimiento de la recristalización



**Tabla 5.** Propiedades fisicoquímicas de los análogos de adipoRon.

Cp	PM (g/mol)	T Rx (h)	Condiciones	% Rx	Estado físico	Pf °C	Met de purificación
14	267	11	Reflujo	93	Polvo color beige	98.9-102.1	Repulpado
15	352	18	Reflujo	76	Polvo color café	126.2-129.8	Repulpado
MCC-7	451	12	Reflujo	90	Polvo color amarillo claro	148.1-150.2	Repulpado

Cp=Compuesto, T Rx= Tiempo de reacción, Pf= Punto de fusión, % RX= Rendimiento de la recristalización

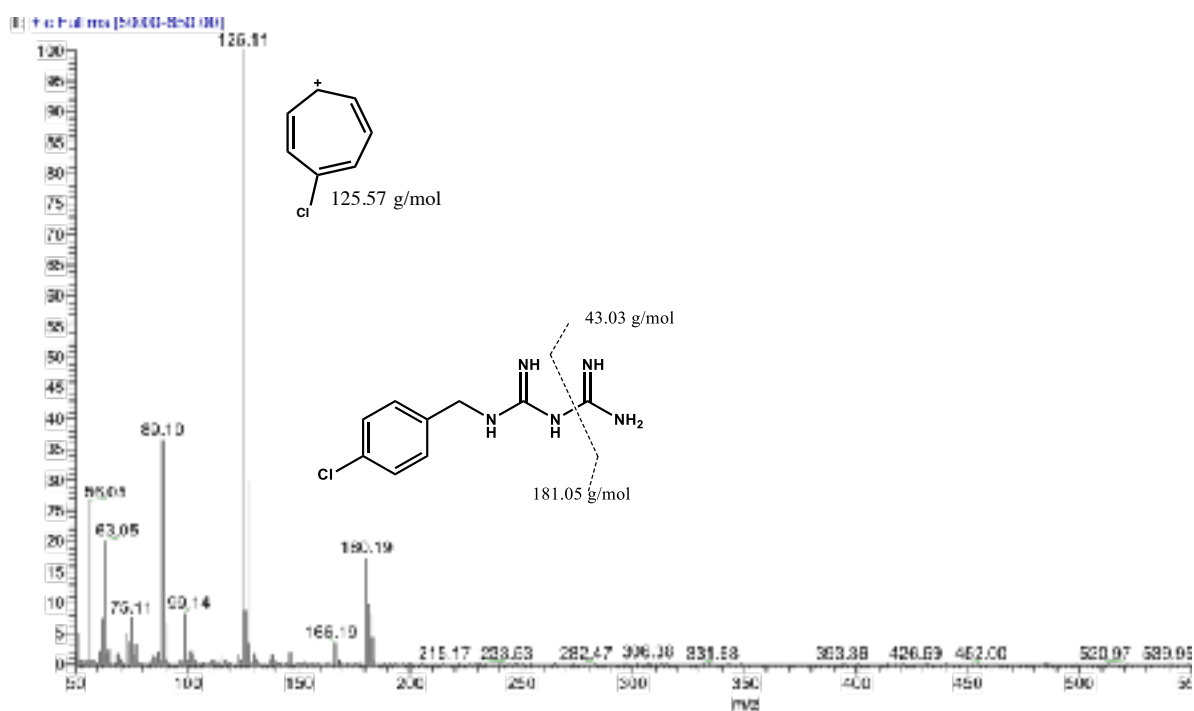
### 8.1.3 Identificación y caracterización estructural de los compuestos sintetizados

Posteriormente a la síntesis y purificación de los compuestos finales **MCC 1-5** y **MCC-7** se realizó la identificación estructural por medio de métodos espectroscópicos (RMN) y espectrométricos (masas-EI), los cuales permitieron la correcta corroboración estructural de los compuestos diseñados en este proyecto.

### 8.1.3.1 Espectrometría de masas

Los compuestos finales **MCC 2-5** y **MCC-7** se analizaron por medio de espectrometría de masas de impacto electrónico (EI). No fue posible la identificación del ion molecular ( $M^+$ ) para cada uno de los compuestos sintetizados, sin embargo, se identificaron fragmentos que permitieron su identificación.

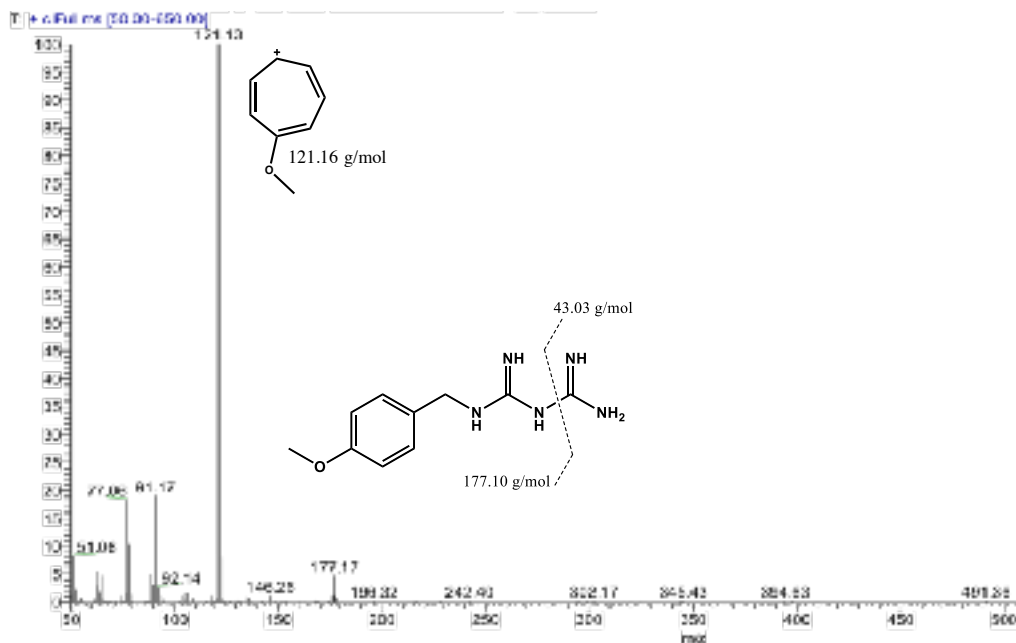
Para el caso del compuesto **MCC-2** (**figura 41**) se observa una señal en 125 m/z la cual corresponde a la formación del ion clorotropilio con una abundancia relativa de 100% debido a que es una estructura muy estable. Además, se observa la contribución isotópica otorgada por el  $^{37}\text{Cl}$  en 129 m/z y una señal en 180 m/z la cual corresponde a la ruptura de la biguanida con una abundancia relativa de 18 %.



**Figura 41.** Espectro de EM-EI del compuesto **MCC-2**.

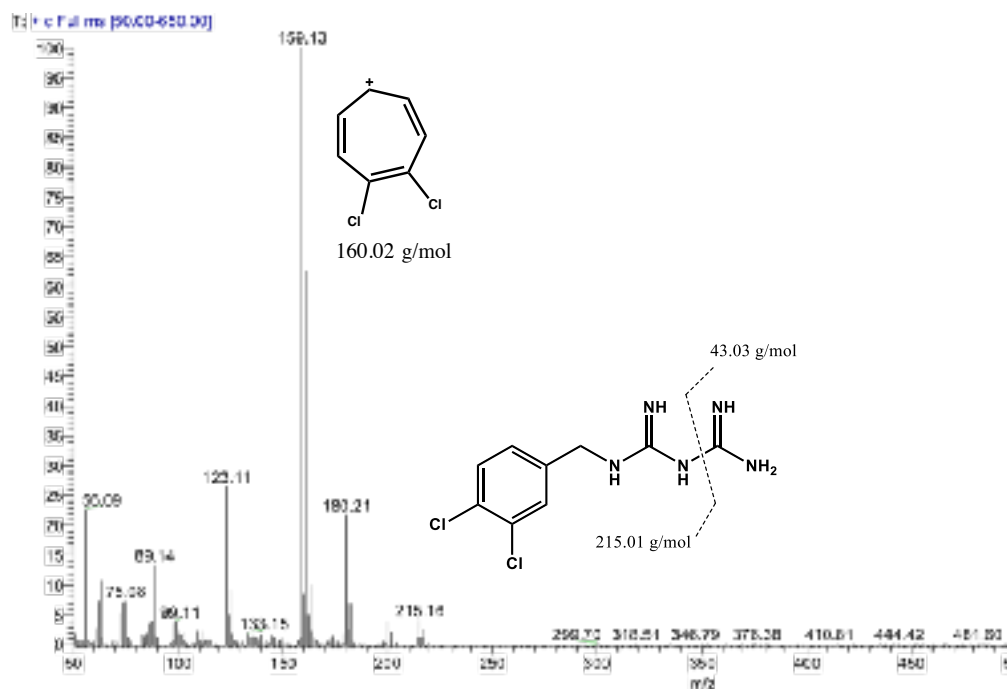
Para el caso del compuesto **MCC-3** (**figura 42**) se observa una señal en 121 m/z la cual corresponde al ion metoxitropilio con una abundancia relativa del 100 %, y un fragmento en 177 m/z el cual corresponde a la ruptura de la biguanida.





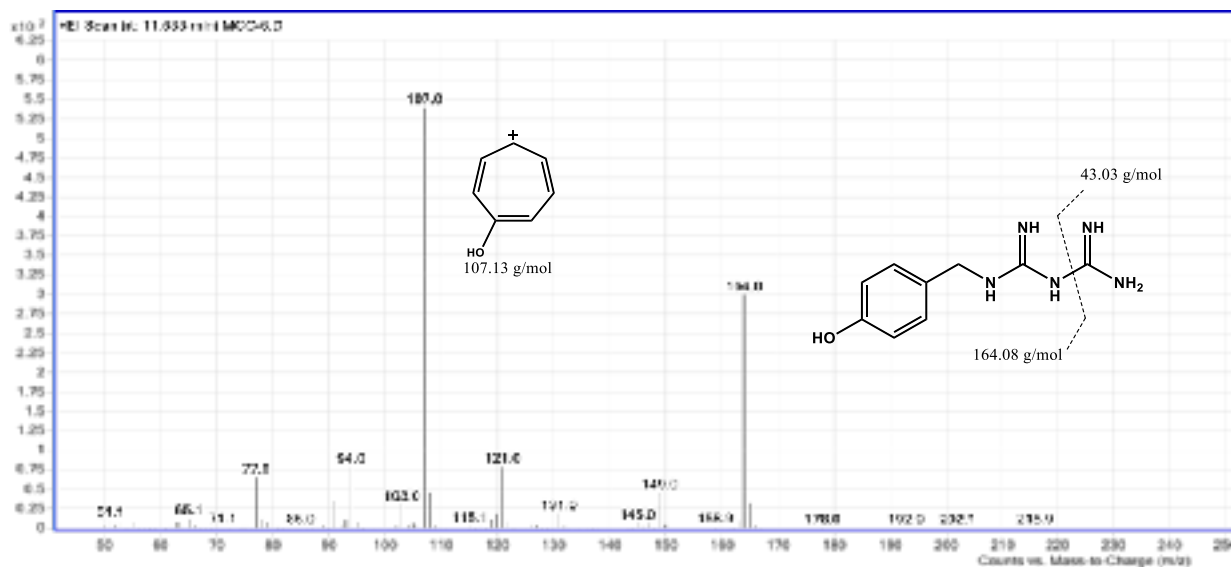
**Figura 42.** Espectro de EM-EI del compuesto **MCC-3**.

Para el compuesto **MCC-4** (**figura 43**) se observa una señal en 159 m/z la cual corresponde al ion diclorotropilio, además se observa la contribución isotópica otorgada por el  $^{37}\text{Cl}$  y un fragmento en 215 m/z que corresponde a la ruptura de la biguanida.



**Figura 43.** Espectro de EM-EI del compuesto **MCC-4**.

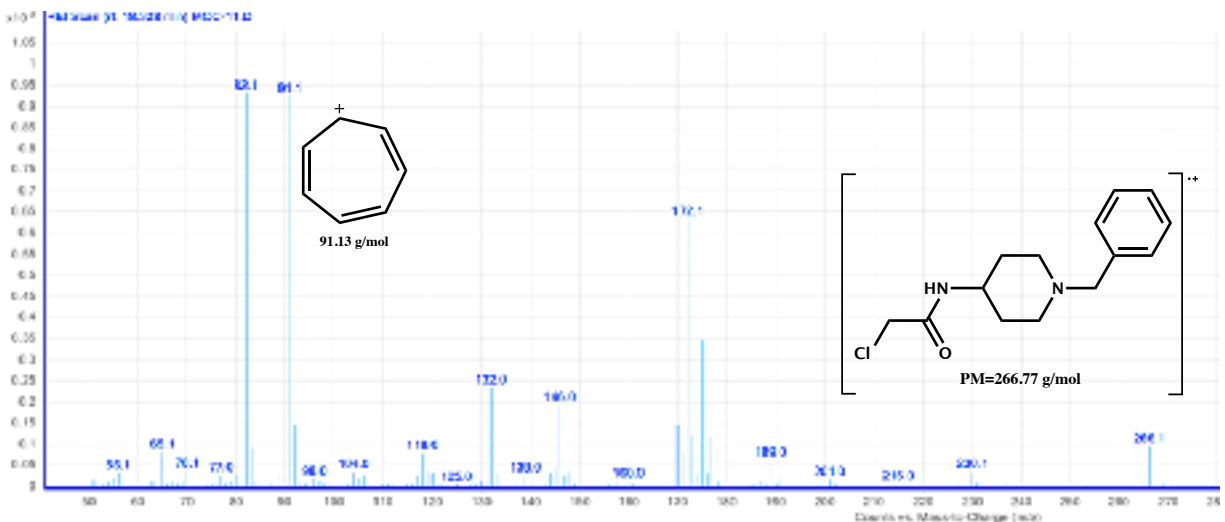
En el caso del compuesto **MCC-5** (figura 44), se puede observar la formación del ion hidroxitropilio en 107 m/z y un fragmento correspondiente a la ruptura de la biguanida en 164 m/z.



**Figura 44.** Espectro de EM-EI del compuesto **MCC-5**.

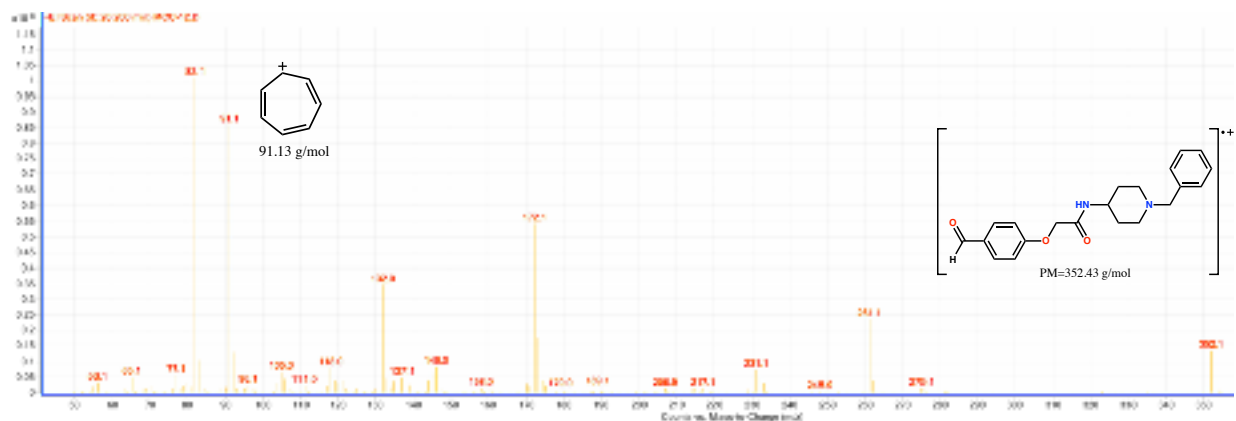
Aunque no fue posible la identificación del ion molecular por EM-EI se pudieron identificar fragmentos característicos. Estos fragmentos incluyen la formación del ion tropilio el cual se forma por la transposición del catión bencílico y el cual representa el pico base para cada compuesto, identificándose de igual manera la ruptura de la parte de la biguanida. Cabe mencionar que este fragmento fue constante en cada uno de los compuestos, lo que permitió la corroboración estructural de los compuestos diseñados. En caso del compuesto **MCC-1** no fue posible su caracterización por espectrometría de masas debido a su baja solubilidad.

En las **figuras 45-47** se presentan los espectros de espectrometría de masas para los precursores **14** y **15** así como del compuesto final **MCC-7**.



**Figura 45.** Espectro de EM-EI del precursor **MCC-14**.

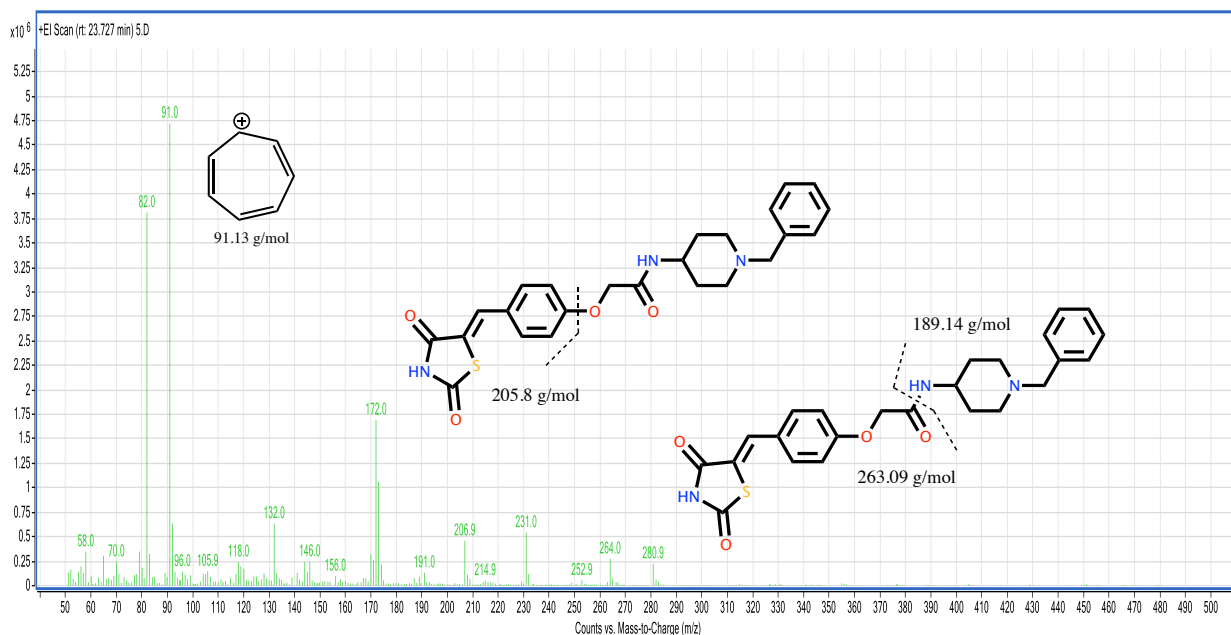
Para el precursor **14** (**figura 45**) se observa una señal en 266 m/z la cual corresponde al ion molecular, además se observa la formación del ion tropilio en 91 m/z. En el caso del precursor **15** (**figura 46**) se observar el ion molecular en 352 m/z, además de la formación del ion tropilio en 91 m/z, así como la fragmentación en la parte amida en 172 m/z. Esto permitió la corroboración estructural de los precursores de la serie análogos de adipoRon.



**Figura 46.** Espectro de EM-EI del precursor **MCC-15**.

Para el caso del compuesto final **MCC-7** (**figura 47**) se observa una señal en 264 m/z la cual corresponde a las fragmentaciones de la parte de amida, se observa una señal

en 206 m/z correspondiente a la fragmentación de la parte del grupo éter, además se observa la formación del ion tropilio en 91 m/z.

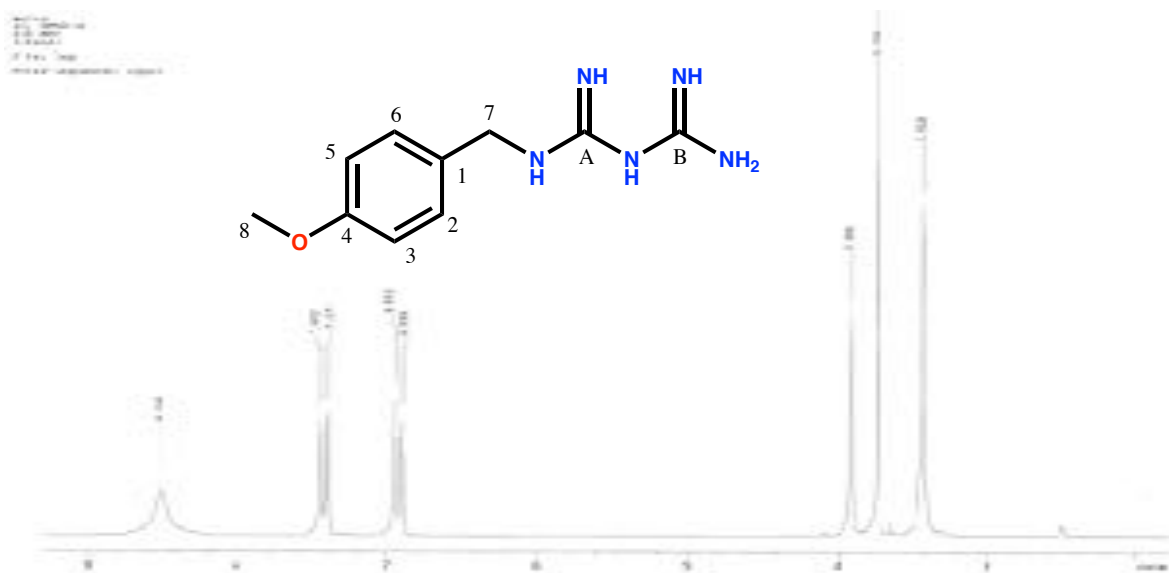


**Figura 47.** Espectro de EM-EI del compuesto **MCC-7**.

### 8.1.3.2 Espectroscopia de RMN de $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$

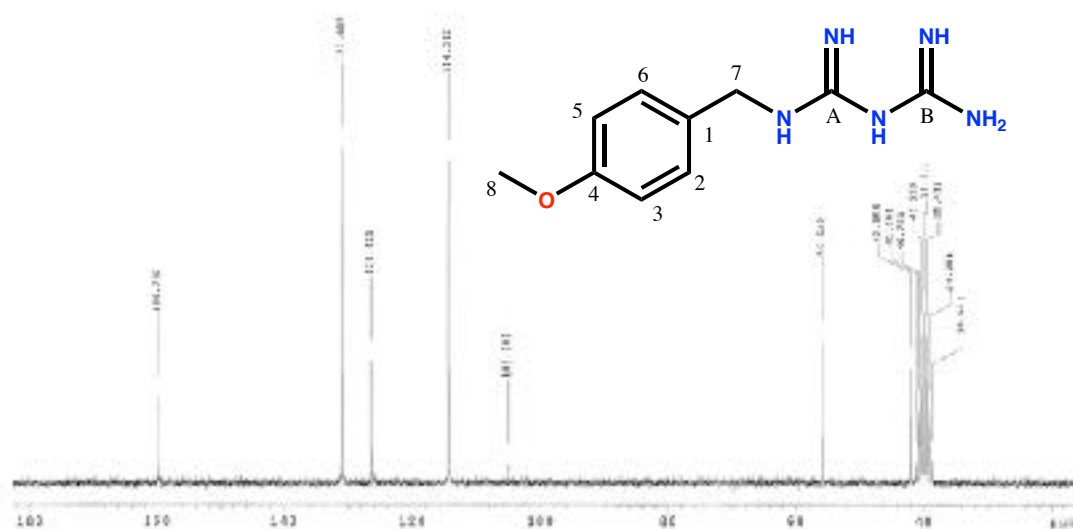
Se llevó a cabo la corroboración estructural de los compuestos finales **MCC 1-5** por resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  analizando sus desplazamientos químicos, multiplicidad y constante de acoplamiento.

A manera de ejemplo en la **figura 48** y **49** se muestran los espectros del compuesto **MCC-3** de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  respectivamente. Para el espectro de protón y de acuerdo al desplazamiento químico se pueden identificar 4 regiones, un singulete a 3.73 ppm correspondientes a los hidrógenos del metoxilo, un singulete en 3.89 ppm correspondientes a los protones del metileno, un singulete a 8.50 ppm correspondientes a los protones de la biguanidina y por último se puede observar el sistema  $A_2B_2$  de la región aromática en un rango de 6.90-7.44 ppm.



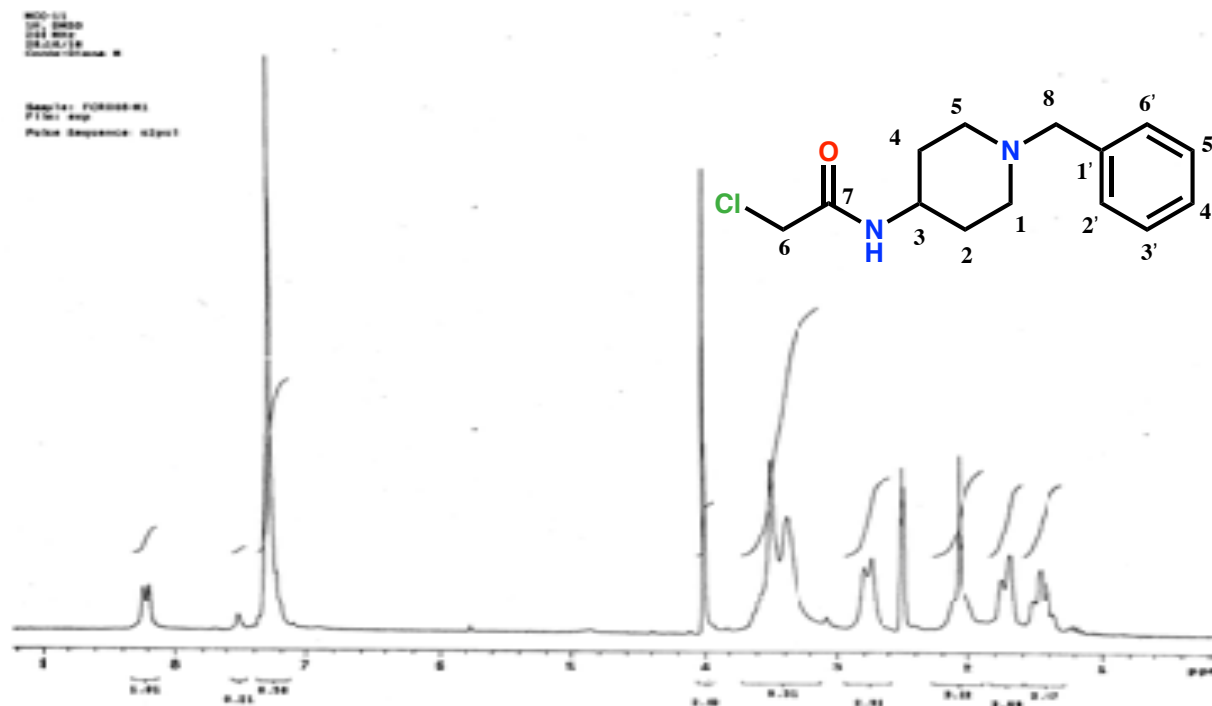
**Figura 48.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del compuesto **MCC-3**.

En el espectro de  $^{13}\text{C}$  **figura 49**, se observan las señales de carbono esperadas para el compuesto **MCC-3**, en donde podemos observar una señal a 42.0 ppm correspondiente al carbono del metileno, una señal a 55.6 ppm correspondiente al carbono del metoxilo, una señal a 105.0 ppm correspondiente al C-1, una señal a 114 ppm correspondiente a los carbonos 2 y 6, una señal a 126.4 ppm correspondiente al C-4, una señal a 131.0 ppm correspondientes a los carbonos 3 y 5, y finalmente una señal a 159.7 ppm correspondientes a los carbonos A y B de guanidina.



**Figura 49.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  del compuesto final **MCC-3**.

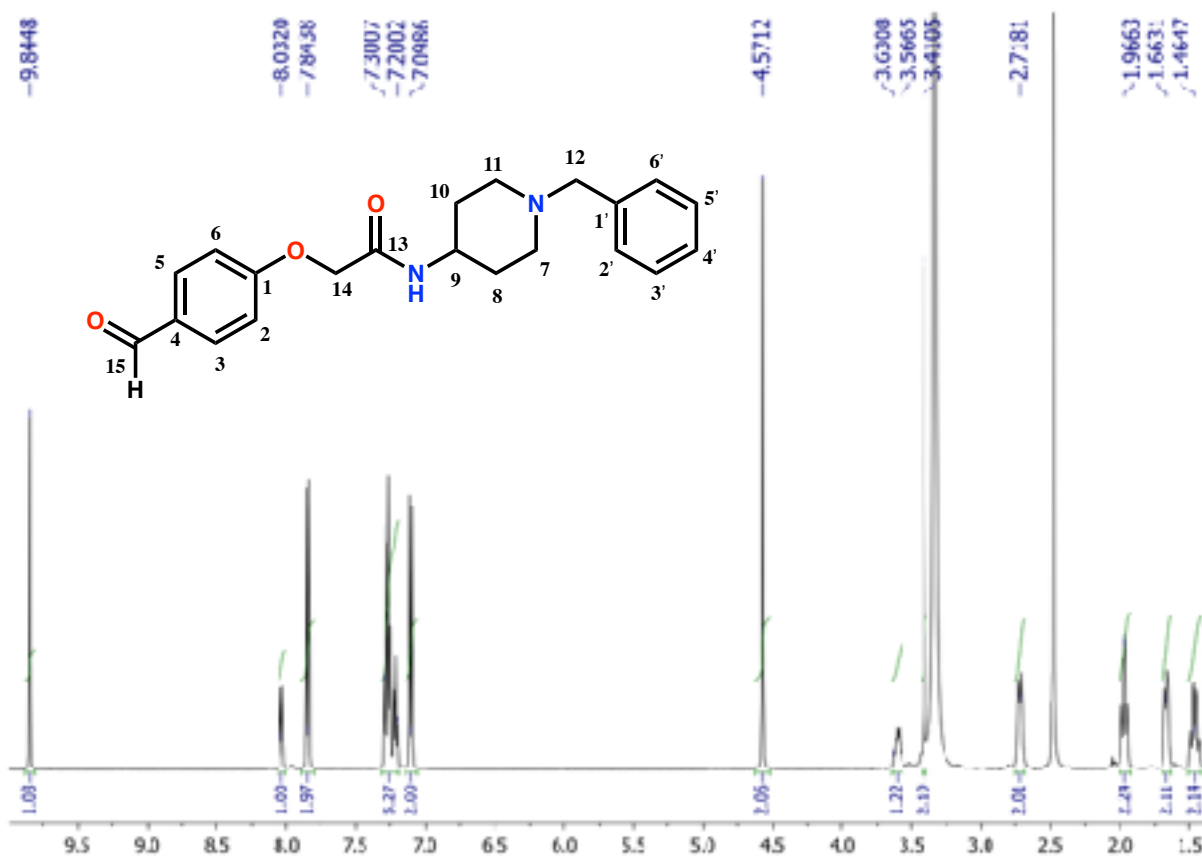
Así mismo en las **figuras 50** y **51** se presentan los espectros de  $^1\text{H}$  de los precursores **14** y **15** de la serie de análogos de adipoRon. Para el precursor **14** se observa un multiplete en un rango de desplazamiento químico de 1.3 a 1.8 ppm el cual corresponde a los protones de los C-2 y C-4, en 2.1 ppm se observa un multiplete que corresponde a los protones de los carbonos 1 y 5, se observa un doblete en 2.8 ppm que corresponde a los protones de los carbonos 1 y 5, en 3.4 ppm se observa un singulete el cual corresponde al protón del carbono 3, en 3.5 ppm se observa un singulete el cual corresponde a los protones del carbono 8, en 4 ppm se observa un singulete el cual corresponde a los protones del carbono 6, en 7.2 ppm se observa un singulete el cual corresponde a los protones del anillo aromático y en 8.2 se observa un doblete el cual corresponde al protón de la amida.



**Figura 50.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del precursor **14**.

En la **figura 51** se observa el espectro del precursor **15** en donde se puede observar un cuádruple en 1.46 ppm y un doblete en 1.66 ppm correspondientes a los protones de los C-8 y C-10, en 1.96 ppm y en 2.71 se observan las señales para los protones correspondientes a los C-7 y C-11, en 3.41 se observa un singulete para el C-12, en

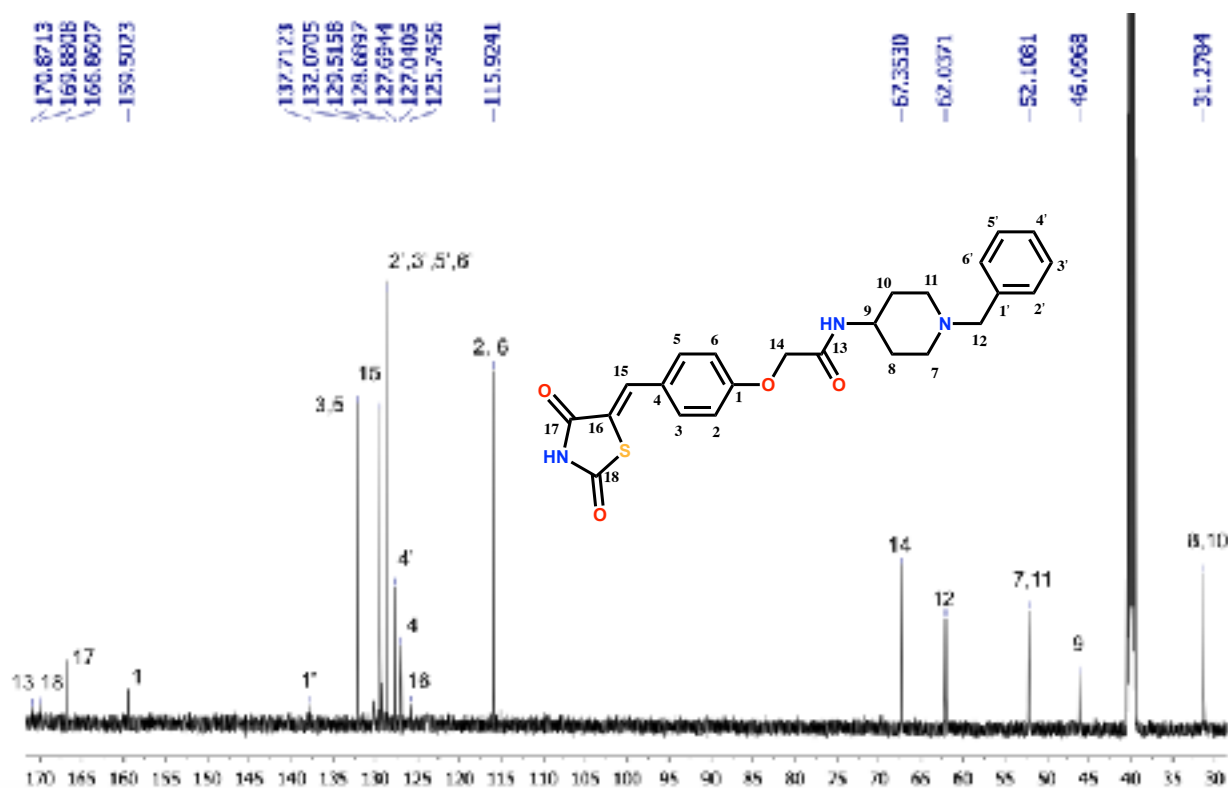
rango de desplazamiento químico de 3.56-3.63 se observa un multiplete correspondiente al protón del C-9, en 4.57 ppm se observa la señal correspondiente a los protones del carbono adyacente al oxígeno (C-14), en 7.09 se observa un singulete correspondiente a los protones de los C-2 y C-6 con una  $J_o = 8.6$ , se observa un multiplete en un rango de 7.20 a 7.30 ppm correspondiente a los protones del anillo aromático A, en 7.84 se observa un doblete para los protones de los C-3 y C-5, en 8.0 ppm se observa un doblete correspondiente al protón de amida, y en 9.85 ppm se observa un singulete correspondiente al protón del aldehído.



**Figura 51.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  del precursor **15**.

En la **figura 52** se presenta el espectro de  $^{13}\text{C}$  del compuesto final **MCC-7**, en donde se pueden observar todas las señales esperadas para la molécula, en 31.2 ppm se observa la señal correspondiente a los C-8 y C-10, en 46.0 ppm se observa la señal del C-9, en 52.1 ppm se observa la señal correspondiente a los C-7 y C-11, en 62.0 ppm se

observa al metileno bencílico (C-12), en 115.9 ppm se observa la señal para los C-2 y C-6, en 125.7 ppm se observa la señal correspondiente al C-16, en 127.0 ppm la señal para el C-4, en 127.6 ppm la señal para el C-4', en 128.6 ppm se observa la señal correspondiente a los carbonos del anillo aromático A (C-1', C-2', C-3' y C-4'), en 129.5 ppm se observa la señal para el C-15, en 132.0 ppm se observa la señal para los C-3 y C-5, en 137.7 ppm se observa la señal para el C-1', en 159.5 ppm se observa la señal correspondiente al C-1, en 166.8 ppm se observa la señal para el C-17, finalmente en 169.8 y 170.8 ppm se observan las señales para los C-18 y C-13 respectivamente.

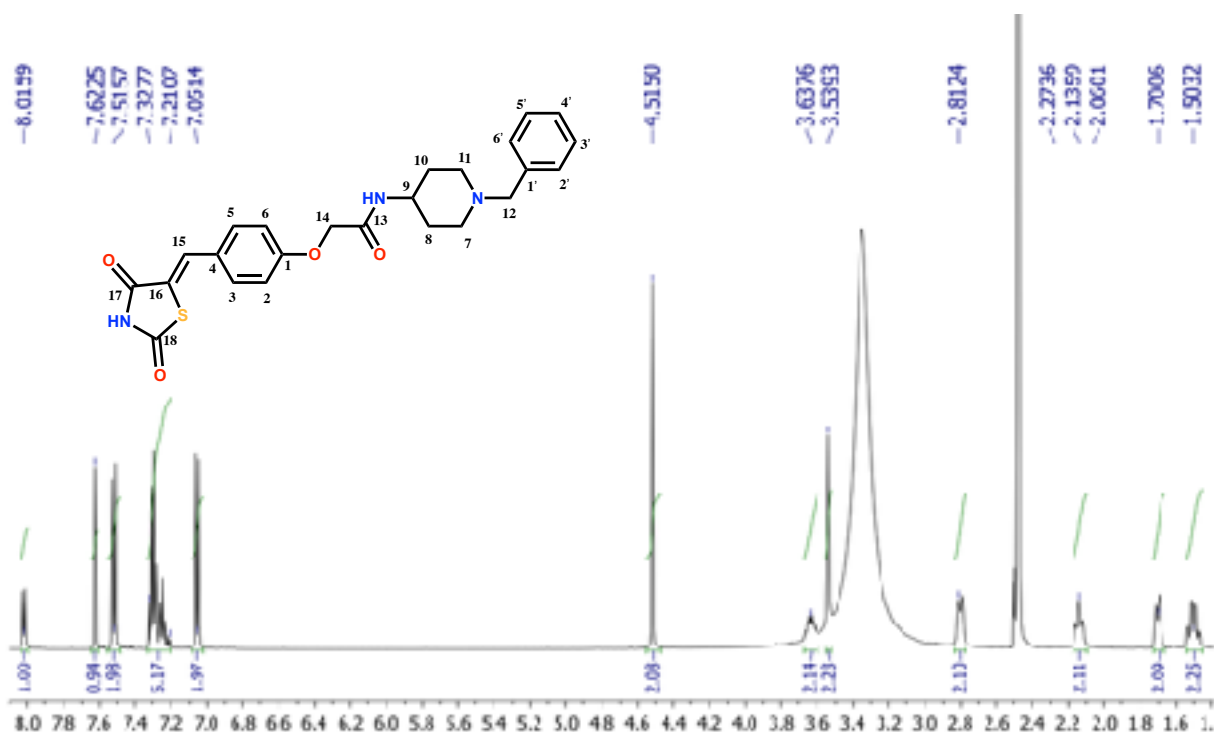


**Figura 52.** Espectro de  $^{13}\text{C}$  del compuesto final **MCC-7**.

En la **figura 53** se muestra el espectro de  $^1\text{H}$  del compuesto final **MCC-7**, en donde se puede observar un cuádruplete en 1.50 ppm y en 1.70 un doblete que corresponden a los protones de los carbonos 8 y 10, en 2.13 así como en 2.81 se observan las señales que corresponden a los protones de los carbonos 7 y 11, en 12 se observa un singulete



correspondiente a los protones del metileno bencílico, en 3.63 ppm se observa un multiplete en un rango de 3.53-3.63 el cual corresponde al protón del carbono 9, en 4.51 ppm se observa un singulete correspondiente a los protones del metileno adyacente al oxígeno (carbono 14), en 7.05 se observa un doblete correspondiente a los protones de los carbonos 2 y 6 con una  $J_o = 8.9$  Hz, en un rango de 7.21-7.32 se observa un multiplete correspondiente a los protones del anillo aromático A, en 7.51 se observa un doblete correspondiente a los protones de los carbonos 3 y 5 con una  $J_o = 8.9$  Hz, en 8.01 se observa un doblete correspondiente el protón de amida y por ultimo en 10.38 se observa un singulete correspondiente al protón de la imida de la tiazolidindiona.

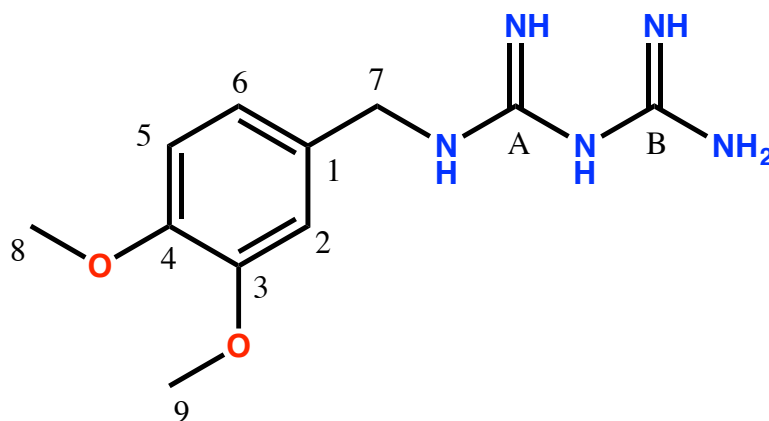


**Figura 53.** Espectro de  $^1\text{H}$  del compuesto final **MCC-7**.

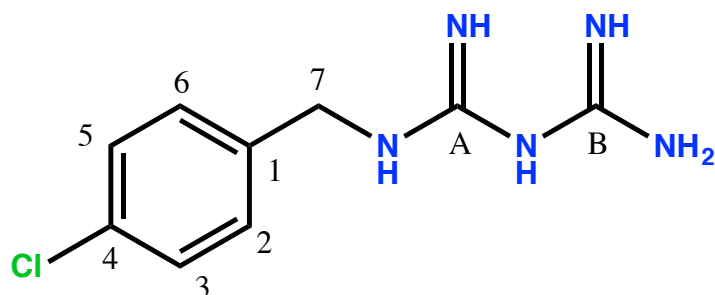
Por medio de las técnicas de espectrometría y espectroscopia fue posible la corroboración estructural de los compuestos diseñados, esto al analizar las señales características de cada uno de los compuestos como lo ejemplificado anteriormente.

En las **Tablas 6-11**, se muestran los resultados obtenidos de la espectroscopia de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de los compuestos finales **MCC 1-5** y **MCC-7**.

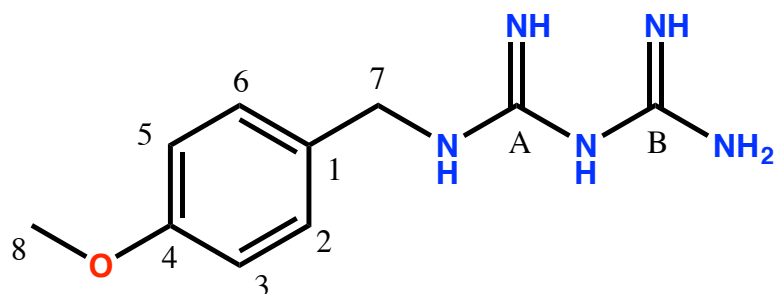
**Tabla 6.** Desplazamientos químicos obtenidos en RNM  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del compuesto **MCC-1**.



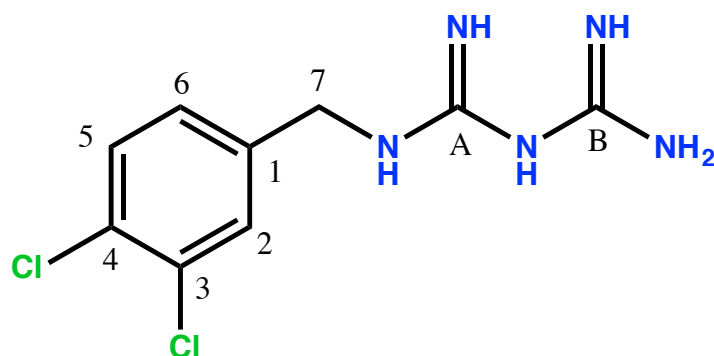
Posición	$\delta$ $^1\text{H}$	$\delta$ $^{13}\text{C}$
1	---	112.5
2	7.23(d, 1H $J_m=1.8$ )	112.0
3	---	126.8
4	---	126.8
5	6.93(d, 1H $J_o=7.8$ )	113.4
6	6.97(dd, 1H $J_o=8.4$ , $J_m=1.8$ )	121.8
7	3.9 (s, 1H)	42.5
8	3.74(s, 3H)	56.0
9	3.73(s, 3H)	56.0
A	---	149.0
B	---	149.5
-NH	8.45 (s, 6H)	---

**Tabla 7.** Desplazamientos químicos obtenidos en RNM  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del compuesto **MCC-2**.

Posición	$\delta$ $^1\text{H}$	$\delta$ $^{13}\text{C}$
1	---	133.6
2	7.47(d,2H $J_o=8.4$ )	131.4
3	7.56 (d, 2H, $J_o=8.4$ )	128.9
4	---	133.5
5	7.56 (d, 2H, $J_o=8.4$ )	128.9
6	7.47(d,2H $J_o=8.4$ )	131.4
7	4.0 (d, 2H)	41.8
A	---	154.9
B	---	156.1
-NH	8.6 (s, 6H)	---

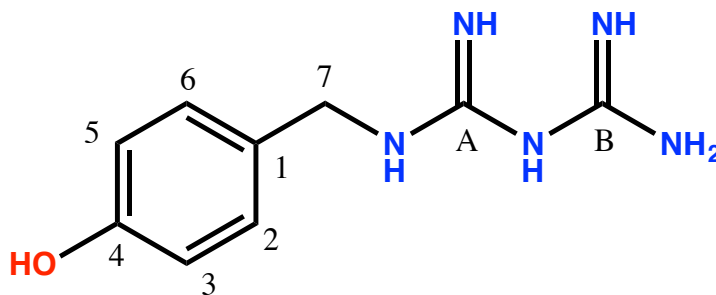
**Tabla 8.** Desplazamientos químicos obtenidos en RNM  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del compuesto **MCC-3**.

Posición	$\delta$ $^1\text{H}$	$\delta$ $^{13}\text{C}$
1	---	105.0
2	6.93(d, 2H $J_o=9.0$ )	114.3
3	7.42 (d, 2H, $J_o=8.6$ )	131.0
4	---	126.4
5	7.42 (d, 2H, $J_o=8.6$ )	131.0
6	6.93(d, 2H $J_o=9.0$ )	114.3
7	3.9 (d, 2H)	42.0
8	3.73 (s, 3H)	55.6
A	---	159.7
B	---	159.7
-NH	8.50 (s, 6H)	---

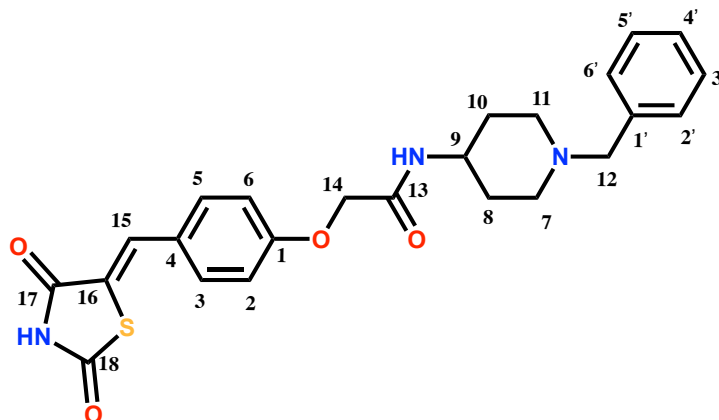
**Tabla 9.** Desplazamientos químicos obtenidos en RNM  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del compuesto **MCC-4**.

Posición	$\delta$ $^1\text{H}$	$\delta$ $^{13}\text{C}$
1	---	135.7
2	7.85(s, 1H)	131.0
3	---	131.6
4	---	131.4
5	7.51 (d, 1H, $J_o=8.4$ )	131.5
6	7.66(dd, 1H $J_o=8.0$ , $J_m=3.0$ )	129.9
7	4.00 (d, 2H)	41.3
A	---	150.3
B	---	150.3
-NH	8.50 (s, 6H)	---

**Tabla 10.** Desplazamientos químicos obtenidos en RNM  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del compuesto **MCC-5**.



Posición	$\delta$ $^1\text{H}$	$\delta$ $^{13}\text{C}$
1	---	123.7
2	6.78(d, 1H $J_o=8.4$ )	114.9
3	7.27(d, 1H $J_o=8.4$ )	130.1
4	---	154.4
5	7.27(d, 1H $J_o=8.4$ )	130.1
6	6.78(d, 1H $J_o=8.4$ )	114.9
7	3.86 (d, 2H)	41.5
A	---	155.4
B	---	157.3
-NH	8.42 (s, 6H)	---

**Tabla 11.** Desplazamientos químicos de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del compuesto **MCC-7**.

Posición	$\delta$ $^1\text{H}$	$\delta$ $^{13}\text{C}$
1	---	159.5
2-6	7.05(d,2H $J_{\text{O}}=8.8$ )	115.9
3-5	7.51 (d, 2H $J_{\text{O}}=8.8$ )	132.0
4	---	126.8
7-11	2.81 (d, 2H)	52.1
7-11	2.13 (t, 2H)	52.1
8-10	1.70(d, 2H)	31.3
8-10	1.50(c, 2H)	46.0
9	3.64 (m, 1H)	31.3
12	3.54 (s, 2H)	62.0
13	--	170.9
14	4.51 (s, 2H)	67.3
15	7.62(s, 1H)	129.5
16	--	125.7
17	--	166.9
18	--	169.9
1'	--	137.7
2', 3', 4', 5', 6'	7.33-7.21 (m, 5H)	128.7
-NH AMIDA (d, 1H)	8.01	--
-NH IMIDA (s, 1H)	10.38	--

## 8.2 PARTE COMPUTACIONAL

Las propiedades químicas, farmacocinéticas, farmacodinámicas y toxicológicas son de relevancia en el descubrimiento de moléculas bioactivas y están directamente relacionadas con la estructura de la molécula de interés. Para que una molécula tenga la oportunidad de convertirse en un posible fármaco se busca actividad biológica en el orden de  $\mu\text{M}$  a  $\text{nM}$  con buenas propiedades farmacocinéticas, con nulos o mínimos efectos tóxicos. Debido a lo anterior, es importante la implementación de herramientas quimio-informáticas durante la etapa de desarrollo ya que proporcionan un conjunto de conocimientos que permiten tomar mejores decisiones, además del ahorro de tiempo y costos a la hora de elegir una molécula candidata que pudiera mostrar actividad biológica en pruebas *in vitro* e *in vivo*.

Para cada uno de los cálculos realizados por las diferentes herramientas quimio-informáticas, se evaluaron controles que son las moléculas de referencia empleadas en este proyecto; fenformina y metformina para el caso de los homólogos inferiores de fenformina, así como adipoRon para el análogo sintetizado, esto con la finalidad de comparar dichos resultados con moléculas las cuales se les ha demostrado actividad antidiabética a través de las diferentes dianas terapéuticas de interés en este proyecto.

### 8.2.1 Predictor del Espectro de Actividad Biológica para Sustancias (PASS)

Se calculó la posibilidad de actividad antidiabética de los compuestos sintetizados **CMC 1-5** y **MCC-7** mediante la herramienta PASS. Valores entre 0.5 y 0.7 indican una probabilidad media de actividad y valores menores 0.5 una probabilidad baja de actividad. Este programa calcula la probabilidad de actividad con base a un análisis de estructura-actividad (SAR) de los compuestos contenidos en su base de datos.

De acuerdo a los resultados obtenidos por PASS online (**tabla 12**) se puede establecer que los compuestos sintetizados y el compuesto **EGL-6** tienen valores discretos para



actuar como agentes antidiabéticos al igual que fenformina, así como la posibilidad de activar a la AMPK el cual es el mecanismo de acción por las que fueron diseñadas estas moléculas, teniendo valores inferiores de actividad antidiabética que metformina el cual es un fármaco que se emplea en la actualidad para el tratamiento de esta enfermedad. Los compuestos **MCC 2-3** tuvieron una mayor probabilidad de actividad antidiabética a comparación de las otras moléculas de esta serie.

**Tabla 12.** Efectos predichos por PASS para los compuestos homólogos inferiores de fenformina.

Compuesto	Probabilidad de Actividad ( $P_a$ )	
	Antidiabético	Activador de la AMPK
<b>MCC-1</b>	0.353	0.461
<b>MCC-2</b>	0.420	0.257
<b>MCC-3</b>	0.370	---
<b>MCC-4</b>	0.342	0.438
<b>MCC-5</b>	0.304	0.485
<b>EGL-6</b>	0.373	0.363
<b>FENFORMINA</b>	0.295	0.477
<b>METFORMINA</b>	0.727	0.317

En el caso de los análogos de adipoRon cuyos resultados se presentan en la **tabla 13**, se observa que el compuesto **MCC 7** presentó baja probabilidad de actividad antidiabética, así como también no se observa la probabilidad de activación de la AMPK al igual que adipoRon, esto no significa necesariamente que carezca de ella, ya que posiblemente PASS no encontró similitud estructural con moléculas a las cuales se les atribuye esta actividad, a pesar de que adipoRon ha mostrado la activación de la AMPK en estudios experimentales.

**Tabla 13.** Efectos predichos por PASS para los compuestos análogos inferiores de adipoRon.

Compuesto	Probabilidad de Actividad ( $P_a$ )		
	Antidiabético	Agonismo de adipoR1	Activador de la AMPK
<b>MCC-7</b>	0.173	---	---
<b>adipoRon</b>	0.173	---	---

### 8.2.2 Predicción de las propiedades cuasi-fármaco y riesgo de toxicidad por la herramienta: OSIRIS

Los compuestos **MCC 1-5** y **MCC-7** se evaluaron mediante la herramienta OSIRIS, cuyos resultados se presentan en la **tabla 14**.

**Tabla 14.** Propiedades cuasi-fármaco y riesgo de toxicidad de los compuestos **MCC 1-5** y **MCC-7**.

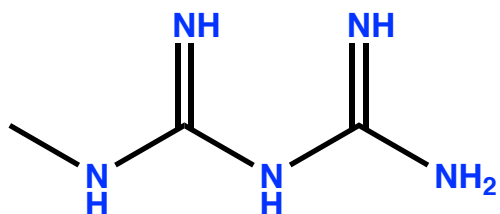
Parámetro	Mutagenicidad	Tumorigeno	Irritante	Reproductivo	cLog P	Solubilidad	Drug-Score
Compuesto							
<b>MCC-1</b>	●	●	●	●	-0.7	-0.89	0.46
<b>MCC-2</b>	●	●	●	●	-0.65	-0.88	0.46
<b>MCC-3</b>	●	●	●	●	-0.63	-0.88	0.44
<b>MCC-4</b>	●	●	●	●	0.65	-2.33	0.46
<b>MCC-5</b>	●	●	●	●	-0.91	-0.56	0.47
<b>EGL-6</b>	●	●	●	●	-0.56	-0.86	0.46
<b>FENFORMINA</b>	●	●	●	●	-0.13	-0.97	0.35
<b>METFORMINA</b>	●	●	●	●	-1.71	0.88	0.35
Análogos de adipoRon							
<b>MCC-7</b>	●	●	●	●	3.72	-5.01	0.71
<b>ADIPORON</b>	●	●	●	●	2.42	-4.44	0.57

Alto riesgo

Sin riesgo

Se puede observar que los compuestos **MCC 1-5** no presentan riesgo de ser irritantes o tener efectos adversos en la reproducción. Sin embargo, se calculó un riesgo alto y moderado de actuar como mutágeno y tumorigeno respectivamente, esta actividad se le atribuye al fragmento de metilbiguanida (**figura 54**) y siendo que los compuestos

sintetizados presentan una sustitución con las respectivas bencilaminas, se espera que esta actividad disminuya o se pierda. Cabe mencionar que estos resultados no son concluyentes sino hasta hacer estudios *in vitro* o *in vivo*. Para el caso del compuesto **MCC-7** se puede observar que no presentó ninguna alerta en cada uno de los parámetros evaluados por OSIRIS.



**Figura 54.** Fragmento toxicofórico de metilbiguanida.

El drug-score es un parámetro asignado por OSIRIS al conjuntar las puntuaciones de todos los parámetros evaluados, permitiendo de esta manera identificar si la molécula de interés posee las características necesarias para calificar como un posible fármaco. Los compuestos **MCC 1-5** presentaron una calificación similar a las presentadas por fenformina, **EGL-6** e incluso que metformina el cual es un fármaco que actualmente se utiliza en la terapéutica. El compuesto **MCC-7** presenta una buena calificación incluso mayor a la presentada por adipoRon. Lo anterior indica que los compuestos sintetizados tienen buenas propiedades cuasi-fármaco, con la excepción de las alertas presentadas por compuestos homólogos inferiores de fenformina. Sin embargo, estos resultados no son concluyentes sino hasta realizar estudios *in vitro* e *in vivo*.

### 8.2.3 Predicción de las propiedades farmacocinéticas: admetSAR

Se calcularon las propiedades de absorción, metabolismo y toxicidad de los compuestos sintetizados **MCC 1-5** y **MCC-7** con la herramienta admetSAR el cual realiza los cálculos por un análisis de estructura actividad de las moléculas evaluadas

con más de 96 000 compuestos contenidos en su base de datos. En la **tabla 15** se muestran los resultados más representativos e importantes, haciendo omisión de datos de metabolismo y algunos datos de toxicidad ya que se revisarán con más detalle con otras herramientas quimio-informáticas.

**Tabla 15.** Propiedades calculadas por admetSAR para los compuestos **MCC 1-5**.

Parámetro	Compuesto/Probabilidad							
	MCC-1	MCC-2	MCC-3	MCC-4	MCC-5	EGL-6	Fenformina	Metformina
	<b>Absorción</b>							
<b>Absorción intestinal humana</b>	0.99	0.99	0.97	0.97	0.98	0.97	0.96	0.91
<b>Barrera hematoencefálica</b>	0.82	0.52	0.77	0.74	0.73	0.73	0.69	0.58
<b>No sustrato de glicoproteína P</b>	0.53	0.69	0.68	0.53	0.58	0.67	0.50	0.66
	<b>Toxicidad</b>							
<b>Toxicidad AMES</b>	0.63	0.50	0.62	0.60	0.62	0.75	0.91	0.73
<b>No tóxico en abejas</b>	0.52	0.66	0.72	0.54	0.52	0.63	0.70	0.58

De manera general se puede destacar que los compuestos sintetizados **MCC 1-5** presentaron una probabilidad de absorción en el intestino humano mayores a 0.97, lo cual indica que tendrán una adecuada absorción lo que se traduce a una buena biodisponibilidad en el organismo, parámetro importante en el éxito de un fármaco. Los compuestos sintetizados no mostraron alta probabilidad de ser sustratos de glicoproteína-P. La glicoproteína-P está asociada a la resistencia a fármacos debido a

que es capaz de bombear a estos fuera de la célula por un mecanismo de transporte dependiente de ATP.

Referente a la toxicidad, los compuestos tienen probabilidades medias de presentar mutagenicidad (prueba de AMES) y probabilidades altas de presentar carcinogénesis. Estos resultados concuerdan con los obtenidos mediante la herramienta OSIRIS y como se mencionó con anterioridad se espera que este efecto se pierda o disminuya debido a la sustitución con las respectivas bencilaminas.

En cuanto a los resultados de toxicidad y de manera general se puede mencionar que los compuestos sintetizados, podrían considerarse seguros por su baja probabilidad de presentar efectos de carcinogénesis y mutagenicidad. Para el compuesto **MCC 7 (tabla 16)** se puede observar que posee una mediana probabilidad de atravesar la barrera hematoencefálica, a comparación con adipoRon el cual tiene una alta probabilidad de ingreso al SNC, lo cual es favorable ya que se disminuyen los posibles efectos no deseados. Por otro lado estos compuestos, tienen probabilidades altas de absorción intestinal humana lo cual es un factor importante para que el fármaco pueda ejercer su efecto en su blanco terapéutico.

**Tabla 16.** Propiedades calculadas por admetSAR para el compuesto **MCC-7**.

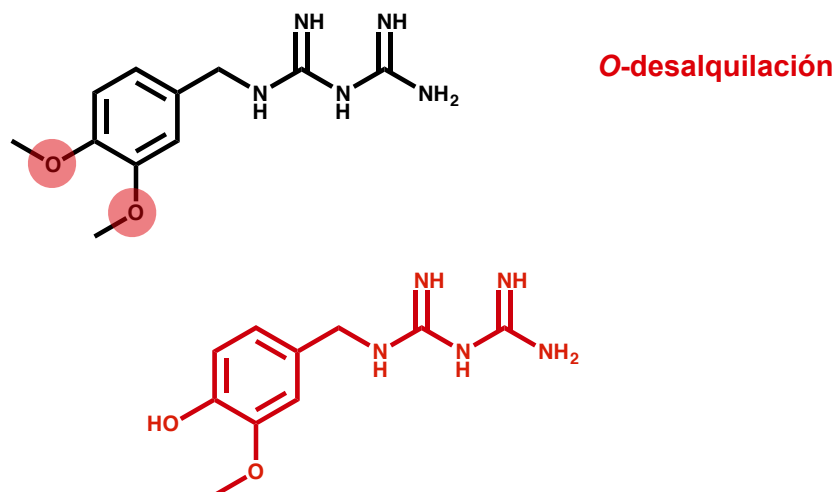
Parámetro	Compuesto/Probabilidad	
	MCC-7	adipoRon
<b>Absorción</b>		
Absorción intestinal humana	0.96	0.98
Barrera hematoencefálica	0.69	0.96
Sustrato de glicoproteína P	0.54	0.66
<b>Toxicidad</b>		
Toxicidad AMES -	0.74	0.73
No tóxico en abejas	0.71	0.86

### 8.2.4 MetaPrint2D: Predictor del sitio de metabolismo

Por medio de la herramienta Metaprint2D se analizaron los compuestos **MCC 1-5** y **MCC-7**, obteniendo los sitios más probables de metabolismo, así como sus posibles metabolitos de fase I y de fase II. Metaprint2D arroja los resultados por código de color. El color rojo indica los sitios más frecuentes de metabolismo, un color amarillo indica los sitios donde el metabolismo es medianamente frecuente, mientras que un color verde indica sitios poco frecuentes.

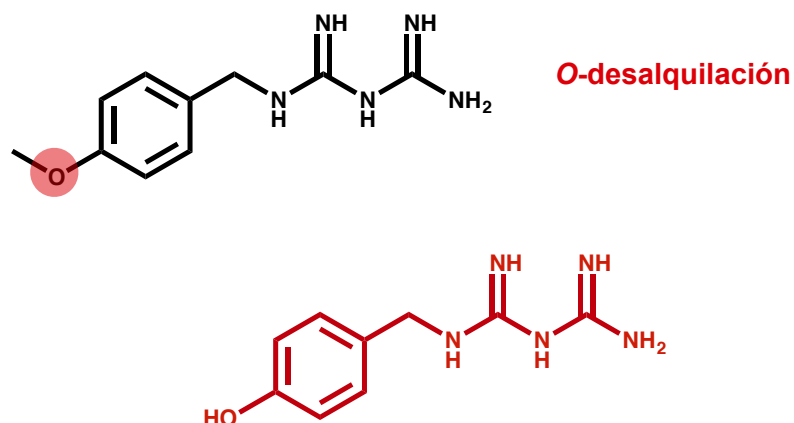
El metabolismo de fármacos o biotransformación se divide en dos fases: las reacciones de fase I las cuales son modificaciones químicas de reducción, oxidación e hidrólisis. Las reacciones de fase II son conjugaciones con grupo polares; tanto la reacciones de fase I y II tienen como finalidad generar moléculas más polares para aumentar su solubilidad acuosa y poder ser excretadas por el cuerpo con mayor facilidad a través de la bilis y la orina.

En las **figuras 55-58** se muestran los sitios más probables de metabolismo para los compuestos **MCC 1-5**, así como sus metabolitos predichos.

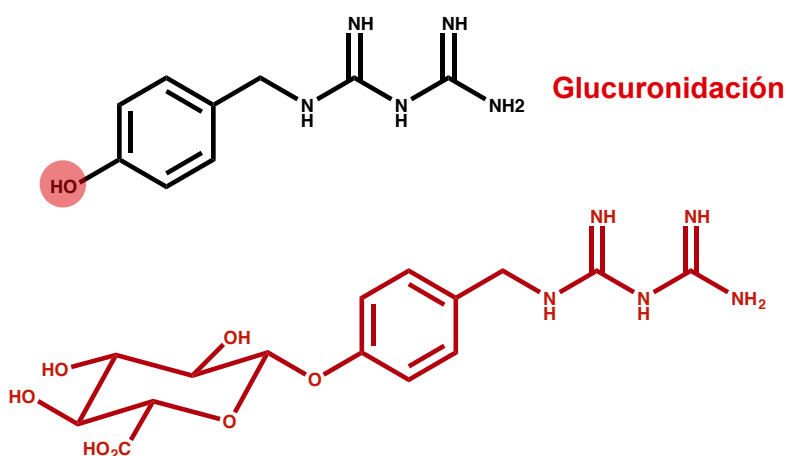


**Figura 55** . Principales sitios de metabolismo y metabolitos para el compuesto **MCC-1**.

La O-Desalquilación es la más frecuente para los compuestos **MCC-1**, **MCC-3** y **MCC-5**, siendo este último el que presenta metabolismo de fase II con la conjugación con ácido glucurónico.

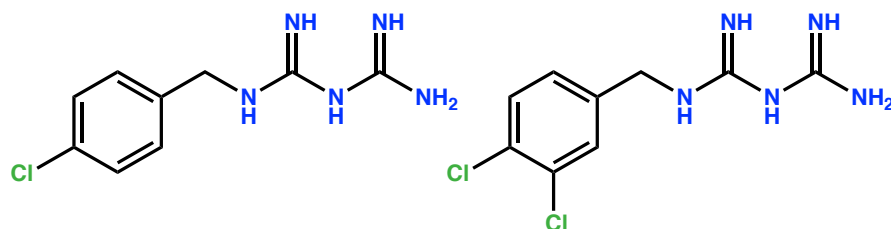


**Figura 56.** Principales sitios de metabolismo y metabolitos para el compuesto **MCC-3**.



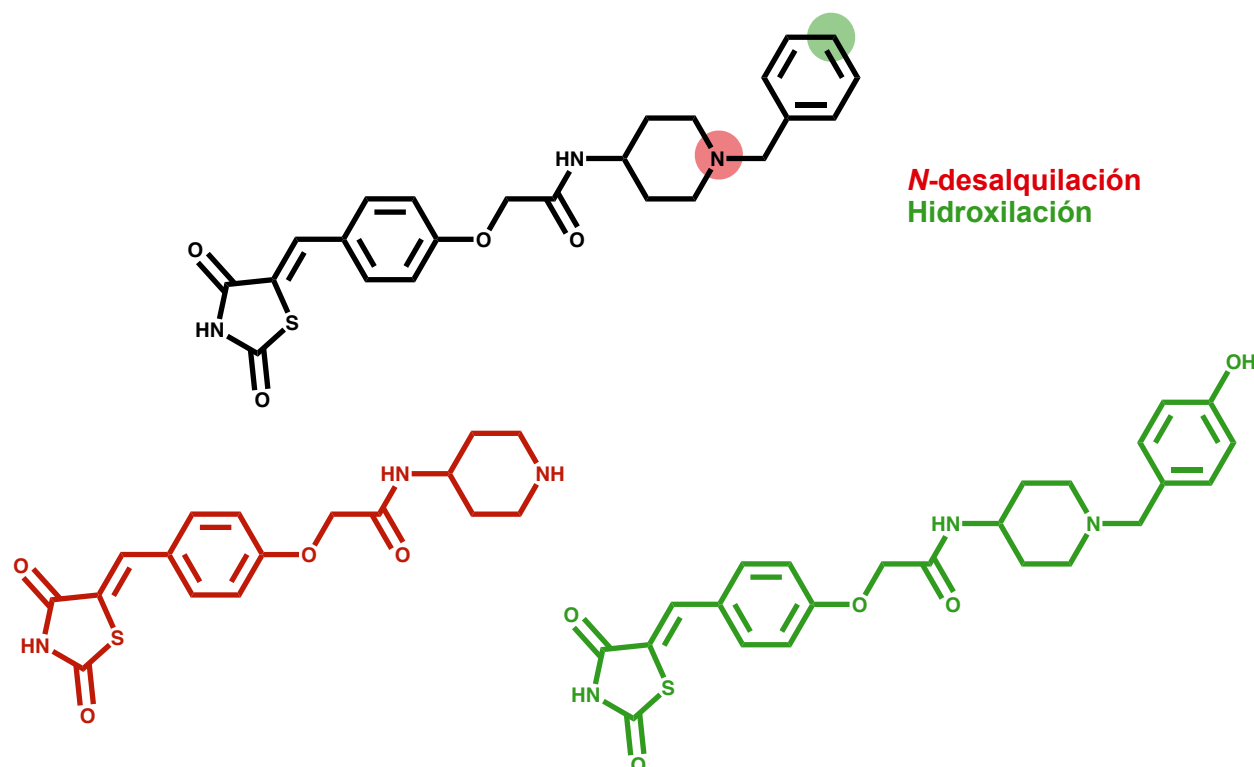
**Figura 57.** Principales sitios de metabolismo y metabolitos para el compuesto **MCC-5**.

De manera particular, caso particular de los compuestos **MCC-2** y **MCC-4** no presentaron sitios de metabolismo debido a que el sustituyente  $-Cl$  en posición “*para*” bloquea o retarda el metabolismo; cabe mencionar que metformina tampoco presenta metabolismo y se elimina sin problemas por vía renal.



**Figura 58.** No se presenta metabolismo para los compuestos **MCC-2** y **MCC-4**.

El compuesto **MCC-7** presenta dos sitios probables de metabolismo como lo es la *N*-desalquilación en la parte de la piperidina y la hidroxilación aromática representados en la figura **59**.



**Figura 59.** Principales sitios de metabolismo y metabolitos para el compuesto **MCC-7**.

Como se puede observar, los compuestos sintetizados son lo suficientemente polares para ser excretados por vía renal, generándose metabolitos aún más polares para favorecer dicha excreción, por lo que los compuestos tienen baja probabilidad de presentar efectos tóxicos por bioacumulación en tejidos.

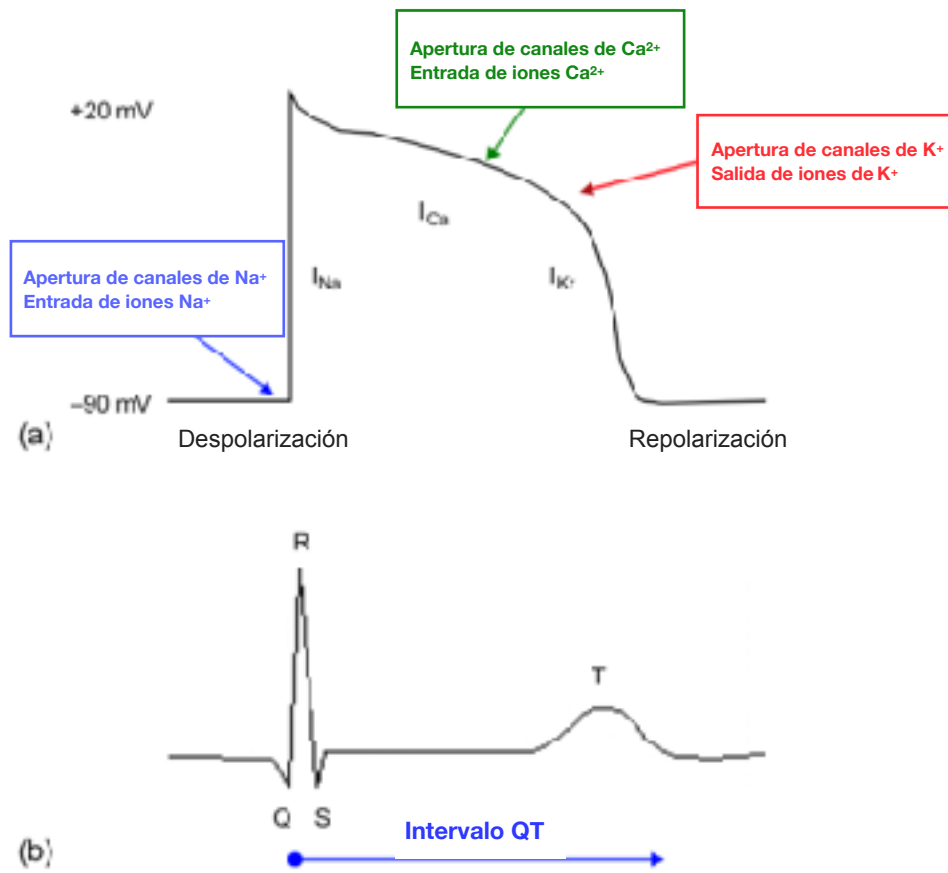


### 8.2.5 ACD/ToxSuite predicción de la toxicidad aguda

Los compuestos sintetizados **MCC 1-5** y **MCC-7** se evaluaron mediante el programa ACD/ToxSuite, el cual permite calcular diversos criterios de toxicidad. Por ejemplo, el bloqueo de los canales hERG, inhibición de las diferentes isoformas del CYP450, así como la posible dosis letal media (DL<sub>50</sub>) de los compuestos de interés.

#### 8.2.5.1 Bloqueo de los canales hERG

Los canales hERG pertenecen a la familia de canales de K<sup>+</sup> dependientes de voltaje de las células del músculo cardíaco responsables de generar el potencial de acción cardíaco a nivel celular.<sup>70</sup>



**Figura 60.- a)** Potencial de acción cardíaco, **b)** electrocardiograma correspondiente.

El potencial de acción se inicia con la apertura de los canales de sodio ( $\text{Na}^+$ ), los iones  $\text{Na}^+$  fluyen al interior de la célula, provocando la despolarización del potencial de acción de la membrana celular de un estado de reposo (-90 mV) a aproximadamente +20 mV, esta despolarización se mantiene por la subsecuente apertura de canales de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), permitiendo que iones  $\text{Ca}^{2+}$  fluyan hacia el interior de la célula. Este flujo se compensa por la apertura de los canales de  $\text{K}^+$  y la respectiva salida de los iones de  $\text{K}^+$ , la repolarización ocurre con los canales de  $\text{K}^+$  siguen permitiendo la salida de  $\text{K}^+$  y la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  disminuye. El potencial de acción de las células del miocardio contribuye a la correcta actividad eléctrica del corazón y el cual se mide por medio de un electrocardiograma. En el ECG, el tiempo desde el punto Q hasta el final de la onda T se denomina intervalo QT (**figura 60 b**).<sup>70</sup>

Cuando una molécula tiene la capacidad de bloquear estos canales se puede producir el síndrome de QT largo, ocasionando trastornos graves que conducen a arritmias cardíacas y hasta la muerte, por lo que es fundamental generar fármacos que no presenten afinidad hacia estos canales, disminuyendo la posibilidad de causar efectos cardiotóxicos.

**Tabla 17.** Bloqueo de canales hERG.

Compuesto	Probabilidad de bloqueo de canales hERG ( $\text{K}_i < 10 \mu\text{M}$ )
MCC-1	35%
MCC-2	22%
MCC-3	32%
MCC-4	33%
MCC-5	30%
EGL-6	34%
FENFORMINA	37%
TERFENADINA	98%
<b>Análogos de adipoRon</b>	
MCC-7	40%
AdipoRon	78%

Como se puede observar en la **Tabla 17** los compuestos sintetizados **MCC 1-5** no presentan probabilidad de actuar como bloqueadores de los canales hERG ya que se calculó menos del 35 % de posibilidad de bloqueo de estos canales. Incluso se obtuvieron valores menores a los presentados por metformina, que en comparación a terfenadina el cual es un fármaco conocido por sus efectos cardiotoxicos y el cual se calcularon probabilidades altas del 98 % de actuar como bloqueador hacia estos canales. Por lo tanto, se puede concluir que los compuestos sintetizados tienen baja probabilidad de presentar efectos cardiotoxicos a concentraciones clínicamente relevantes.

#### 8.2.5.2 Predicción de la inhibición de las isoformas de CYP 450

La OMS define a las reacciones adversas a medicamentos (RAM) como “cualquier respuesta a un fármaco que es nociva, no intencionada y que se produce a dosis habituales para la profilaxis, diagnóstico, o tratamiento...”. Por tanto, las RAM son efectos no deseados producidos por un medicamento.<sup>71</sup> Las reacciones adversas pueden ser causadas muchas veces por las interacciones medicamentosas producidas por la coadministración de múltiples fármacos a lo cual se le denomina polifarmacia.<sup>70</sup>

Las reacciones medicamentosas ocurren cuando un fármaco altera la farmacocinética de otro fármaco administrado conjuntamente; una de las principales causas de esto es la inactivación de enzimas metabólicas, concretamente de los citocromos P450. Las interacciones medicamentosas ocurren cuando un fármaco inhibe a la enzima responsable del metabolismo de un segundo fármaco, evitando su metabolismo y de esta forma causar efectos tóxicos.

Con la finalidad de conocer el impacto de la inhibición del CYP se han investigado y estudiado sus diferentes isoformas. En la **tabla 18** se observan las principales isoformas presentes en microsomas del hígado humano así como el porcentaje de fármacos que metaboliza cada uno de estas isoformas, siendo la más importante la 3A4 ya que metaboliza el 50% de los fármacos.

**Tabla 18.** Principales isoformas del CYP 450 presentes en microsomas de hígado humano.

CYPs	Distribución en el hígado %	Metabolismo de fármacos %
3A4	28	50
2D6	2	30
2C9	18	10
1A2	13	4

Debido a lo anterior es importante generar moléculas las cuales no tengan la capacidad de inhibir a las diferentes isoformas del CYP y así reducir los posibles efectos tóxicos. En la **Tabla 19** se presentan los resultados calculados para la inhibición de las isoformas del CYP450. Se puede observar de manera general que los compuestos sintetizados no tienen probabilidad de actuar como inhibidores de las distintas isoformas de CYP450, a comparación de ketoconazol (un fármaco el cual se sabe que inhibe a la principal isoforma la 3A4), cuya probabilidad de inhibición fue el 98 %. Se puede inferir que los compuestos sintetizados no tienen riesgo de presentar interacciones fármaco-fármaco.

**Tabla 19.** Probabilidad de inhibición de las isoformas del CYP 450.

Compuesto	% Inhibición de isoformas de CYP 450 [10 µM]				
	Homólogos inferiores de fenformina				
	3A4	2D6	2C9	2C19	1A2
MCC-1	3	6	0	1	3
MCC-2	2	7	1	1	5
MCC-3	2	14	2	2	7
MCC-4	3	1	0	1	4
MCC-5	5	17	0	1	8
EGL-6	1	10	0	1	3
FENFORMINA	2	1	0	1	4

% Inhibición de isoformas de CYP 450 [10 µM]					
Homólogos inferiores de fenformina					
<b>KETOCONAZOL</b>	93	2	14	13	0
Análogos de adiporon					
<b>MCC-7</b>	26	29	9	5	0
<b>adipoRon</b>	31	14	34	27	0

### 8.2.5.3 Toxicidad aguda

La toxicidad aguda puede definirse como todos aquellos efectos adversos que ocurren después de la administración oral única de una sustancia, o dosis múltiples administradas dentro de las 24 horas.<sup>72</sup>

**Tabla 20.** Probabilidad de toxicidad aguda de los compuestos **MCC 1-5**.

DL <sub>50</sub> (mg/kg) Especie y vía de administración				
Homólogos inferiores de fenformina				
Compuesto	Ratón Oral	Ratón IP	Rata Oral	Rata IP
<b>MCC-1</b>	670	230	800	230
<b>MCC-2</b>	700	200	830	250
<b>MCC-3</b>	600	190	780	230
<b>MCC-4</b>	690	160	910	230
<b>MCC-5</b>	790	180	870	270
<b>EGL-6</b>	710	170	850	240
<b>Fenformina</b>	720	240	890	240
Análogos de adipoRon				
<b>MCC-7</b>	850	390	340	330
<b>adipoRon</b>	850	190	1100	340

La toxicidad aguda se calculó mediante el programa ACD/ToxSuite el cual tiene como finalidad calcular la dosis letal media ( $DL_{50}$ ), que se define como la dosis de una sustancia o compuesto que ocasiona la muerte del 50% de la población sometida al ensayo.<sup>72</sup> Los cálculos se realizaron en modelos de ratón y rata con diferentes vías de administración (oral e i.p) y debido a que la administración por vía oral es la más aceptada por los pacientes se hará énfasis en la vía de administración en ambos modelos murinos.

Como se puede apreciar en la **tabla 20**, los valores de la  $DL_{50}$  no presentan diferencias importantes en los valores para cada uno de los compuestos e incluso a los obtenidos para fenformina y adipoRon, pudiéndose clasificar de acuerdo a los criterios de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE, **tabla 21**) en la categoría IV lo cual indica una toxicidad moderada. Cabe mencionar que la mayoría de fármacos en el mercado están dentro de esta categoría.

**Tabla 21.** Clasificación de la toxicidad de acuerdo a la OECD.

Categoría	Rango de la $DL_{50}$	Clasificación
I	$DL_{50} \leq 5$ mg/kg	Altamente tóxico
II	$5 \leq DL_{50} \leq 50$ mg/kg	Muy tóxico
III	$50 \leq DL_{50} \leq 300$ mg/kg	Tóxico
IV	$300 \leq DL_{50} \leq 2000$ mg/kg	Toxicidad moderada
V	$DL_{50} > 2000$ mg/kg	Sin peligro

### 8.2.6 Acoplamiento molecular sobre AMPK

A través del análisis de consenso farmacológico de las herramientas quimioinformáticas (**tabla 22**) se determinó que el compuesto **MCC-2** así como el compuesto **MCC-3** presentaron las mejores propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas, por lo que se eligieron para realizar el acoplamiento molecular sobre la AMPK. Así mismo

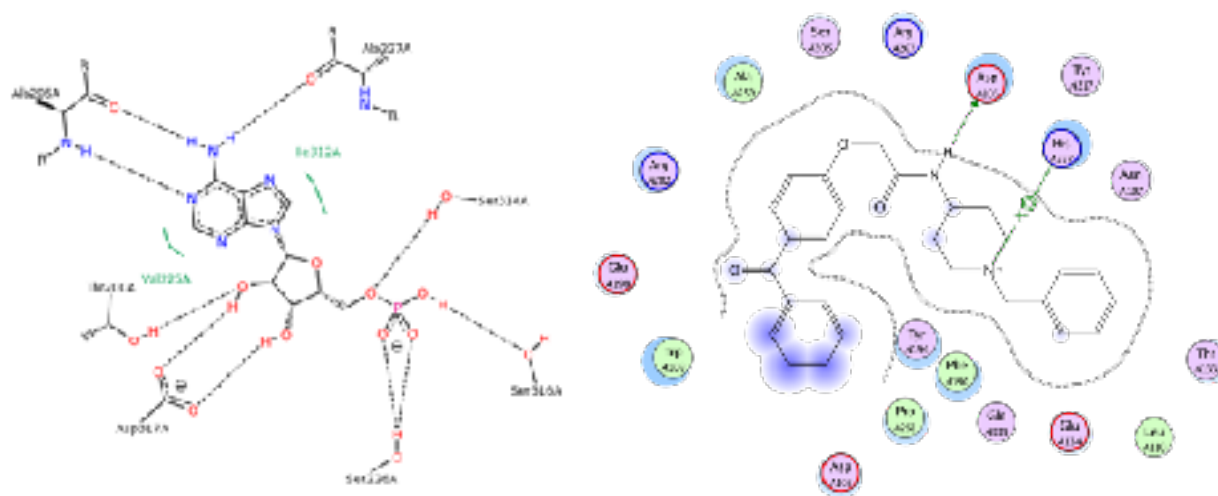
se realizó el acoplamiento molecular del compuesto **MCC-7** de la serie análogos de adipoRon sobre el receptor de adiponectina adipoR1.

**Tabla 22.** Análisis de consenso farmacológico de resultados de las herramientas quimio-informáticas para los compuestos homólogos inferiores de fenformina.

Compuesto	Pass online	Osiris	admetSAR	Metaprint 2D	ACD/Tox Suite
MCC-1	✓	✓	✗	✓	✗
MCC-2	✓	✓	✓	✓	✓
MCC-3	✓	✓	✓	✓	✗
MCC-4	✓	✓	✗	✓	✗
MCC-5	✓	✓	✗	✓	✗
MCC-7	✓	✓	✓	✓	✓

Los acoplamientos moleculares de los compuestos **MCC 2-3** y **MCC-7** sobre el sitio alostérico de la AMPK y el sitio activo del adipoR1 respectivamente, se realizaron en el programa Autodock Tools 1.5rc3. Previamente se realizó la validación del modelo con la finalidad de garantizar la veracidad de los resultados obtenidos.

Para realizar el acoplamiento molecular es necesario contar con las estructuras cristalográficas de rayos X de enzima AMPK y el receptor adipoR1. Para el caso de la AMPK se encuentra formando un complejo ligando-receptor con AMP, mientras que para el receptor adipoR1 no se conoce el sitio de reconocimiento al ligando. Sus estructuras cristalográficas se pueden encontrar con los códigos 2UV4 para AMPK y 3WXV para el receptor adipoR1 en la página web del Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>).<sup>73,74</sup>



**Figura 61.** Interacciones 2D de, A) AMP con el sitio alostérico de la enzima AMPK, B) adipoRon en el sitio de reconocimiento al ligando del receptor adipoR1.

En la **figura 61** se observan las interacciones presentadas por AMP en la subunidad gamma 1 de la AMPK. Así, se presentan interacciones por puente de hidrógeno con los residuos de aminoácidos Ala227, Ser314, Ser316, Ser226, Asp317, Thr200 y Ala205, y para el caso de adipoRon se presenta interacciones de tipo puente de hidrógeno con el residuo de aminoácido Asp106 e interacciones de tipo  $\pi$ -catión con His 337.

### 8.2.7 Validación del acoplamiento molecular AMPK

La validación consiste en el reacoplamiento molecular del ligando co-cristalizado con la enzima AMPK. La validación se realizó con un tamaño de grid de 50x60x60 Å, obteniendo con éxito la predicción del modo de unión de AMP con AMPK con un RMSD de 0.89 Å. Para que la validación se considere adecuada, el valor de RMSD debe ser menor a 2 Å, por lo que el modelo se puede considerar confiable para la realización del acoplamiento molecular de los compuestos **MCC-2** y **MCC-3** sobre AMPK.



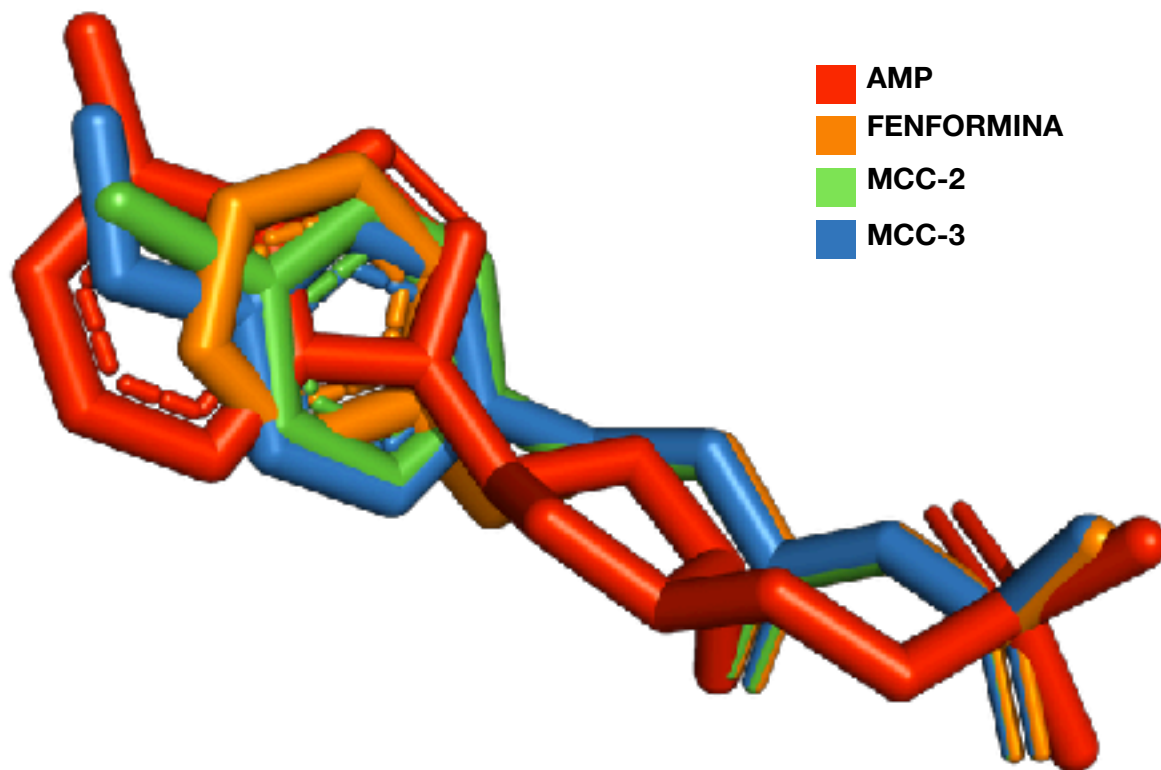
### 8.2.8 Validación del acoplamiento molecular de adipoR1

En el caso del receptor adipoR1 se realizó un acoplamiento molecular ciego ya que la proteína co-cristalizada no está formando un complejo ligando-receptor. Para esto se realizó el acoplamiento molecular con un tamaño de grid que abarcara la superficie total de la proteína. Se realizó el acoplamiento molecular por varias repeticiones, esto para encontrar la zona en donde se obtuvieran el mayor número de poses. Posteriormente se realizó un acoplamiento molecular dirigido en la zona encontrada con la finalidad de encontrar la pose con mayor energía. La validación consistió en el reacoplamiento molecular de la pose encontrada por docking ciego con un tamaño de grid de 60x140x60 Å. Se obtuvo con éxito la predicción del modo de unión del receptor adipoR1 con el adipoRon con un RMSD de 0.79 Å el cual es menor a 2 Å por lo que la validación se considera adecuada, para la realización del acoplamiento molecular con el compuesto **MCC-7**.

### 8.2.9 Alineamiento y análisis de similitud molecular

Se realizó un análisis de similitud molecular con el programa MOE, el cual nos permite realizar una comparación del ligando co-cristalizado (AMP) y los compuestos **MCC-2**, **MCC-3** y fenformina, así como de adipoRon y el compuesto **MCC-7**.

En la **figura 62** se muestra la superposición molecular de AMP (rojo) con los compuestos fenformina (naranja), **MCC-2** (verde) y **MCC-3** (azul), Se puede observar la similitud estérica en la región de la biguanida de todos los compuestos, con la excepción del AMP la cual es una ribosa. También se puede observar similitud estérica en la región aromática constituido de un anillo de benceno para los compuestos análogos de fenformina y de adenina para el caso de la AMP. Esto indica la similitud espacial de las moléculas, por lo que se podría inferir que los compuesto **MCC-2** y **MCC-3** podrán ocupar el mismo espacio estérico en el sitio alostérico de la AMPK y presentar interacciones similares a las presentadas por fenformina y AMP.



**Figura 62.** Superposición molecular de los compuestos AMP, fenformina, **MCC-2** y **MCC-3**.

En la **figura 63**. Se observa la superposición molecular realizada en MOE de adipoRon (agonista del receptor de adiponectina adipoR1, verde) y el compuesto **MCC-7** (anaranjado). Se pueden observar que ambas moléculas se ajustan en un mismo espacio estérico. Además, se puede observar que el compuesto **MCC-7** y adipoRon adoptan una disposición espacial en forma de “C”. Por tal motivo el compuesto **MCC-7** podrá ocupar el mismo espacio estérico en sitio activo del receptor adipoR1, así como podría presentar interacciones similares a las presentadas por adipoRon.

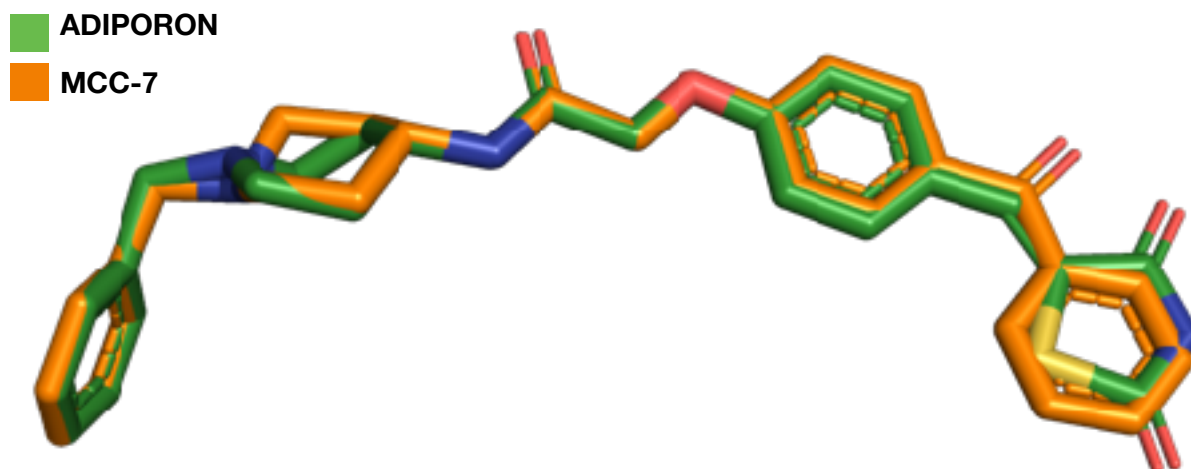


Figura 63. Superposición molecular de adipoRon con el compuesto MCC-7.

### 8.3 Acoplamiento molecular de fenformina sobre AMPK

Debido a que la fenformina es el fármaco de referencia en este proyecto quimiofarmacéutico y no se encuentra cocrystalizada formando un complejo ligando-receptor con la AMPK, se realizó el acoplamiento molecular de este fármaco en la enzima AMPK, para comprender su posible modo de unión e interacciones.

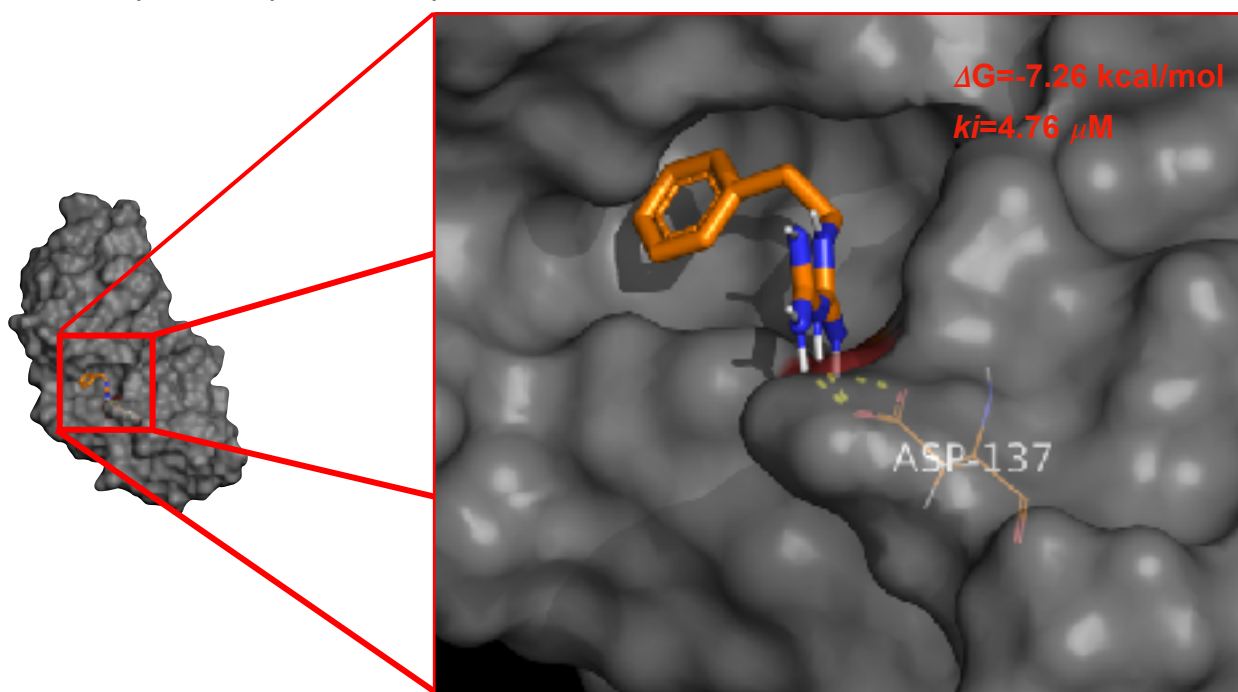
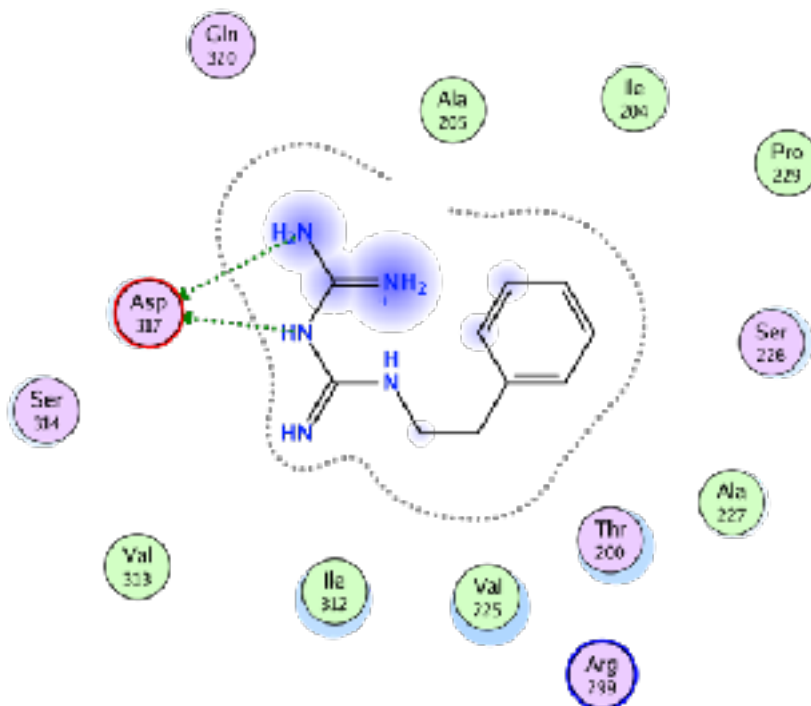


Figura 64. Visualización 3D en el programa PyMOL de las interacciones presentadas por fenformina (anaranjado) en el sitio alostérico de la enzima AMPK (gris).

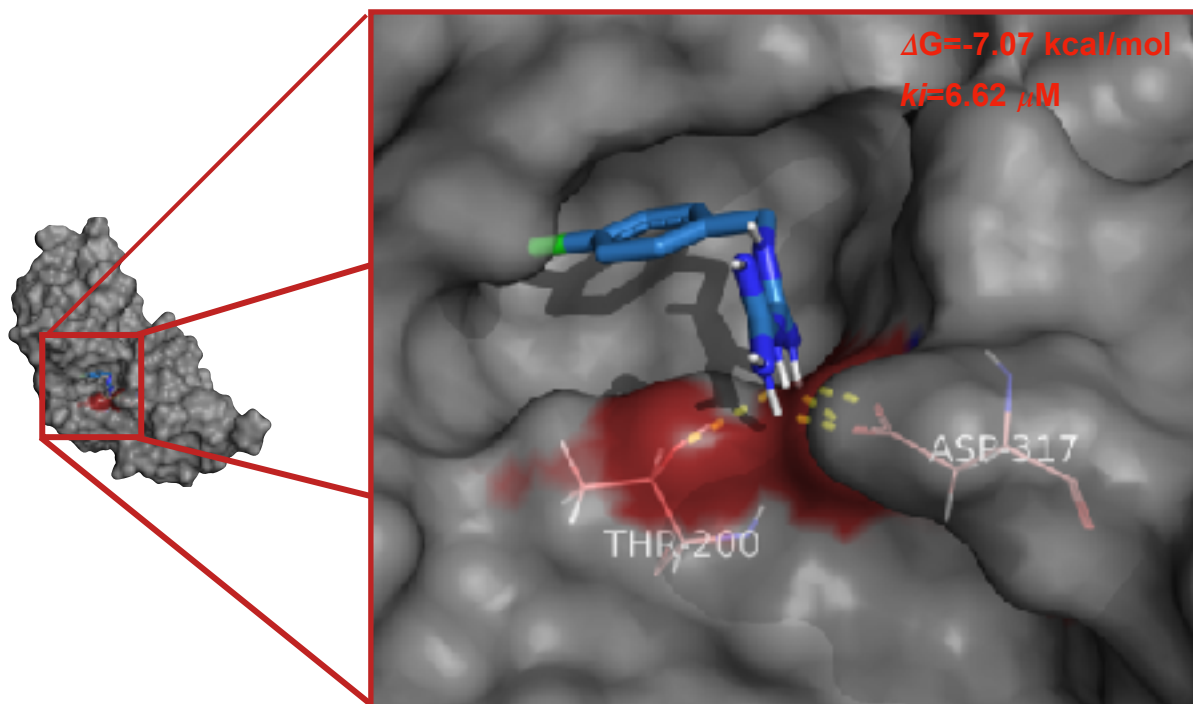
En las **figuras 64 y 65** se muestran las interacciones de la fenformina con la enzima AMPK. Se puede observar una triple interacción de puente de hidrógeno con el residuo de aminoácido Asp317, además de otras interacciones de tipo Van Der Waals.



**Figura 65.** Visualización 2D en el programa MOE de las interacciones presentadas por fenformina.

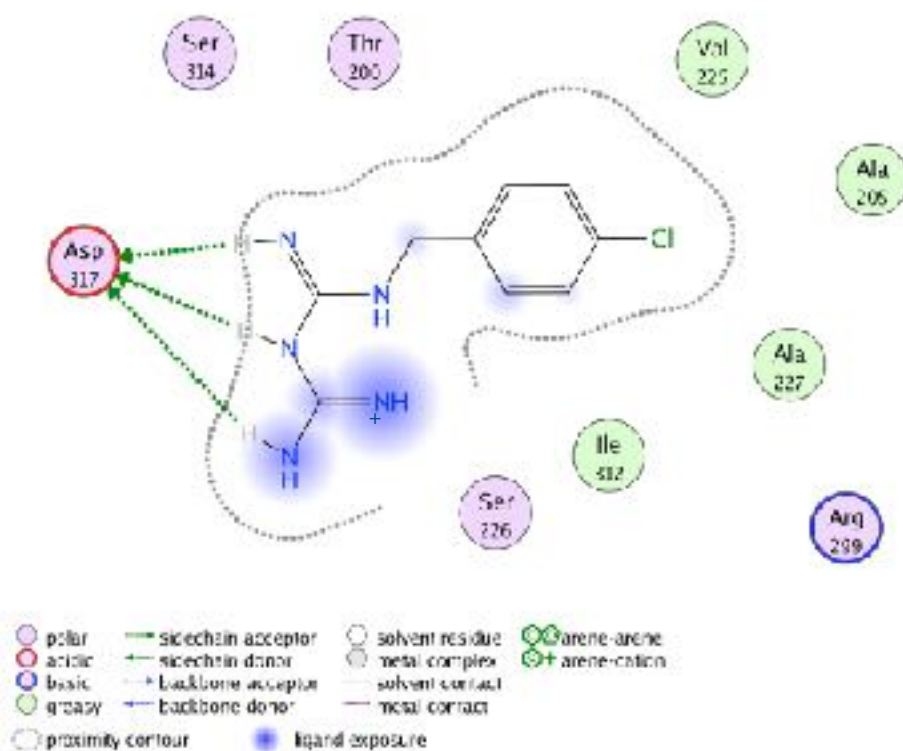
### 8.3.1 Acoplamiento molecular del compuesto MCC-2 sobre AMPK

Se realizó el acoplamiento molecular del compuesto **MCC-2** sobre la enzima AMPK con la finalidad de comprender su posible modo de unión e interacciones. Se obtuvo un solo conformero al reagrupar las poses con un RMSD= 2.0 Å, presentando una energía libre de unión ( $\Delta G$ ) igual a -7.07 kcal/mol. En las **figuras 66 y 67** se observan los mapas de interacciones 3D y 2D calculados por los programas PyMOL y MOE, respectivamente.



**Figura 66.** Visualización 3D en el programa PyMOL del compuesto **MCC-2** (azul) en el sitio alostérico de la enzima AMPK (gris). Se aprecian interacciones por puente de hidrógeno con los residuos de aminoácidos Thr 200 y Asp 317.

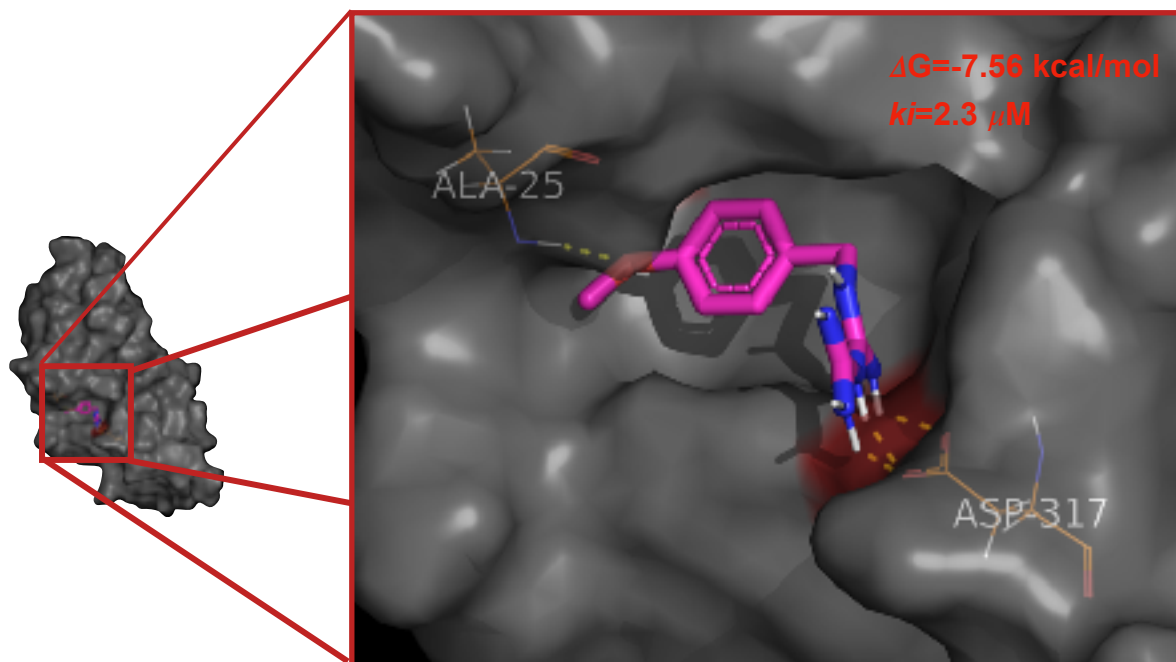
En las **figuras 66** y **67** se muestran las interacciones del compuesto **MCC-2** con la enzima AMPK. De manera interesante, se mantuvo la triple interacción con el residuo de aminoácido de Asp317 al igual que fenformina, así como una interacción con el residuo Thr200 de tipo puente de hidrógeno entre diversas interacciones polares y fuerza de Van Der Waals, como se observa en la visualización 2D. Cabe mencionar que se mantienen interacciones con los residuos de aminoácidos Asp317, Thr200, Ser314, Ala227 y Ala205 al igual que el AMP reportado en el complejo ligando-receptor de la estructura cristalográfica. Debido a las interacciones presentadas por el acoplamiento molecular discutidas anteriormente, se podría predecir que el compuesto **MCC-2** presentaría el mismo mecanismo de acción que el de AMP el cual es la activación de la AMPK; sin embargo, esto se tiene que corroborar por estudios *in vitro* e *in vivo*.



**Figura 67.** Visualización 2D en el programa MOE de las interacciones presentadas por el compuesto **MCC-2**.

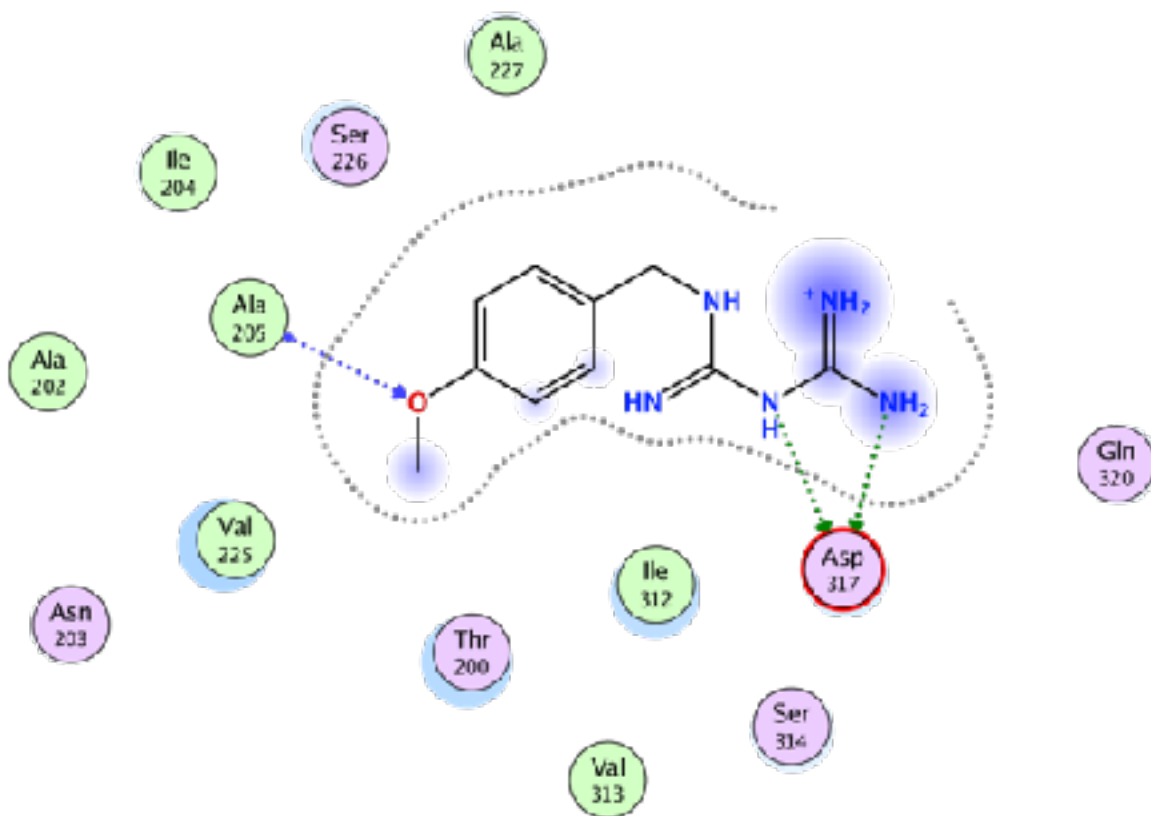
### 8.3.2 Acoplamiento molecular del compuesto MCC-3 sobre AMPK

Se realizó el acoplamiento molecular del compuesto **MCC-3** sobre la enzima AMPK con la finalidad de comprender su posible modo de unión e interacciones. Se obtuvo un solo conformero al reagrupar las poses con un RMSD=2.0 Å, presentando una energía libre de unión ( $\Delta G$ ) igual a -7.39 kcal/mol. En las **figuras 68 y 69** se observan los mapas de interacciones 3D y 2D calculados por los programas PyMOL y MOE respectivamente.



**Figura 68.** Visualización 3D en el programa PyMOL del compuesto **MCC-3** (guinda) en el sitio alostérico de la enzima AMPK (gris). Se aprecian interacciones por puente de hidrógeno con los residuos de aminoácidos Ala 25 y Asp 317.

En las **figuras 68 y 69** se muestran las interacciones del compuesto **MCC-3** con la enzima AMPK. Se puede observar que se mantuvo la triple interacción con el residuo de aminoácido de Asp317 al igual que fenformina, así como una interacción con el residuo Ala 25 de tipo puente de hidrógeno con el oxígeno del metoxilo. Además, se observan diversas interacciones polares y fuerza de Van Der Waals, como se observa en la visualización 2D. Cabe mencionar que se mantienen interacciones con los residuos de aminoácidos Asp317, Thr200, Ser314, Ser226, Ala227 y Ala205 al igual que el AMP reportado en el complejo ligando-receptor de la estructura cristalográfica. Debido a las interacciones presentadas por el acoplamiento molecular discutidas anteriormente, se podría predecir que el compuesto **MCC-3** podría presentar el mismo mecanismo de acción que el de AMP el cual es la activación de la AMPK; sin embargo, esto se tiene que corroborar por estudios *in vitro* e *in vivo*.

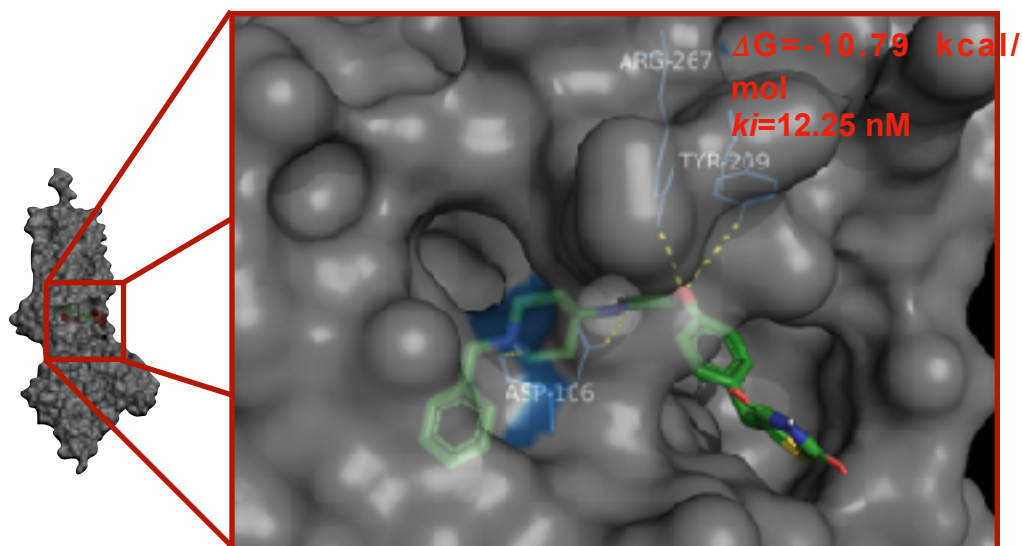


**Figura 69.** Visualización 2D en el programa MOE de las interacciones presentadas por el compuesto **MCC-3**.

### 8.3.3 Acoplamiento molecular del compuesto **MCC-7** en el sitio de reconocimiento al ligando de **adipoR1**

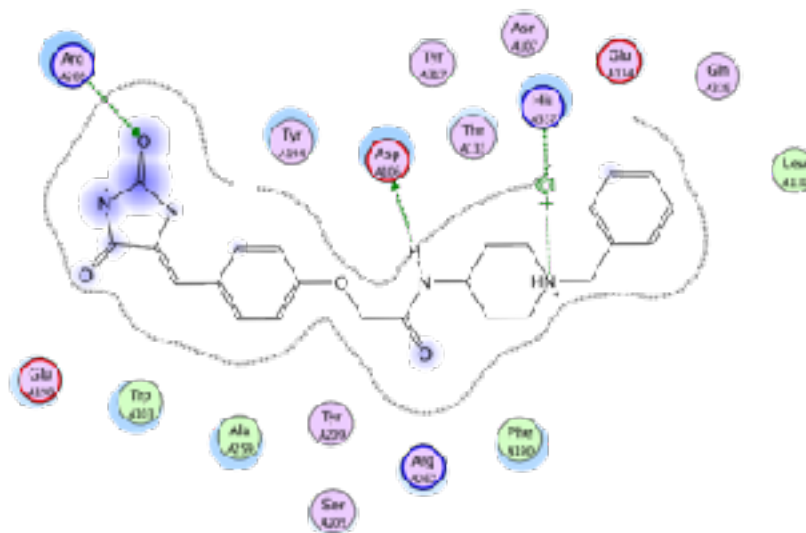
Se realizó el acoplamiento molecular de **adipoRon** agonista del receptor de adiponectina **adipoR1**, con la finalidad de comprender su posible modo de unión e interacciones. Se obtuvo un solo conformero al reagrupar las poses con un RMSD= 1.5 Å, presentando una energía libre de unión ( $\Delta G$ ) igual a -11.68 kcal/mol. En las **figuras 70** y **71** se observan los mapas de interacciones 3D y 2D calculados por los programas PyMOL y MOE respectivamente.





**Figura 70.** Visualización 3D en el programa PyMOL del compuesto **MCC-7** en el sitio de reconocimiento al ligando del receptor adipor1.

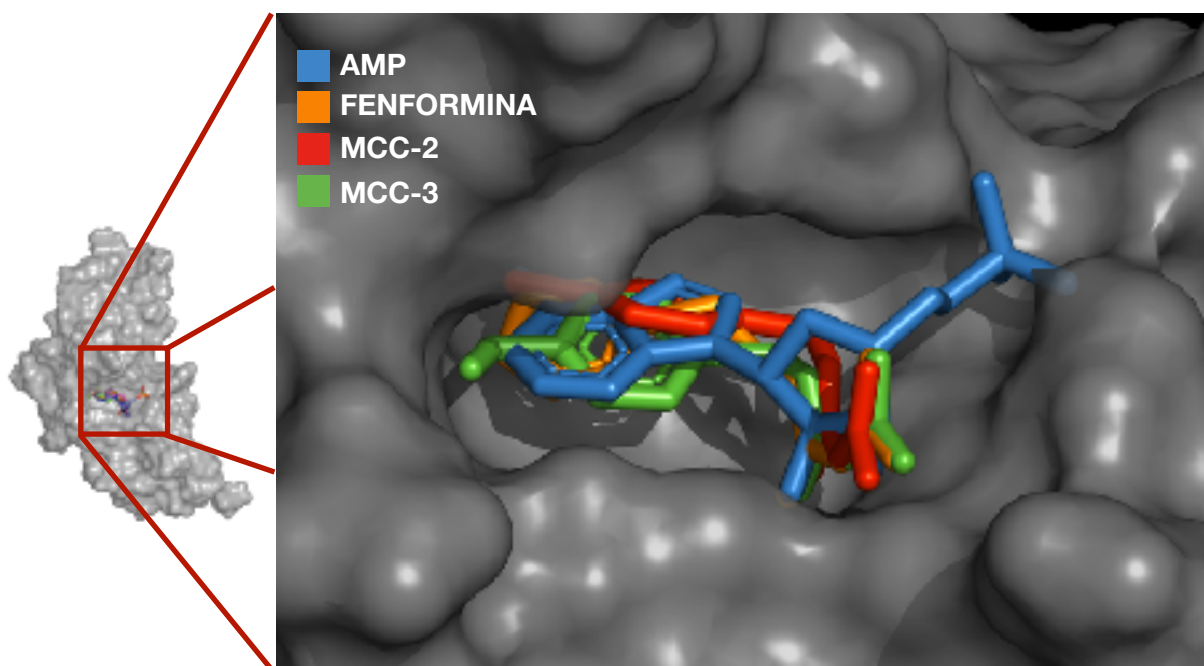
Se puede observar que el compuesto **MCC-7** mantiene la interacción por puente de hidrógeno con el residuo de aminoácido Asp106, así como la interacción tipo  $\pi$ -catión con His337 al igual a las presentadas por adipoRon. Además, se observa una interacción extra con el residuo de aminoácidos Arg202. Esta interacción extra podría aumentar la afinidad del compuesto **MCC-7** al sitio de reconocimiento al ligando de adipor1.



**Figura 71.** Visualización 2D en el programa MOE de las interacciones presentadas por el compuesto **MCC-7** en el sitio de reconocimiento al ligando del receptor adipor1.

### 8.3.4 Sobre posicionamiento de los compuestos MCC-2, MCC-3, fenformina y AMP sobre el sitio alostérico de la AMPK

Como se observa en la **figura 72**, los compuestos **MCC-2** (rojo) y **MCC-3** (verde), así como fenformina (anaranjado) y AMP (azul) comparten el mismo espacio en el sitio alostérico de la enzima AMPK. Debido a esto y por las interacciones presentadas por el acoplamiento molecular las cuales se discutieron anteriormente, se podría inferir que los compuestos **MCC-2** y **MCC-3** podrían presentar el mismo mecanismo de acción que fenformina o AMP el cual es la activación de AMPK. Sin embargo, esto se tiene que corroborar por estudios *in vitro* e *in vivo*.

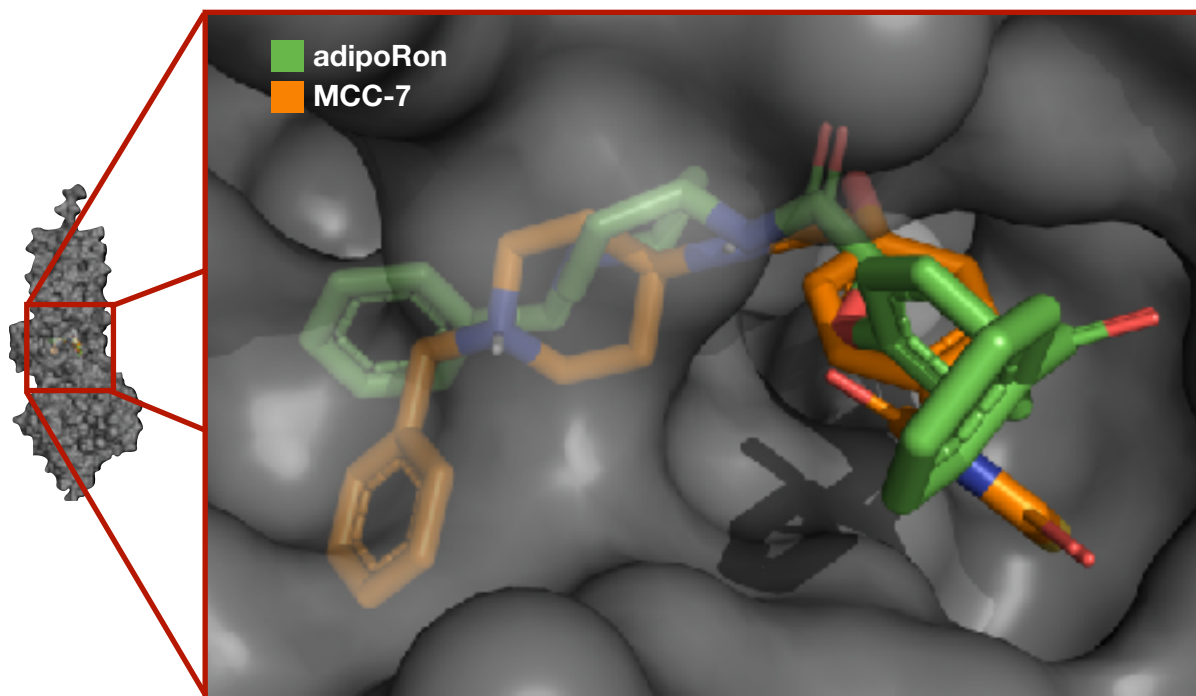


**Figura 72.** Sobreposicionamiento de los compuestos **MCC-2** (rojo), **MCC-3** (verde), fenformina (anaranjado) y AMP (azul) en el sitio alostérico de la AMPK.

### 8.3.6 Sobre posicionamiento de los compuestos MCC-7

Como se observa en la **figura 73**, adipoRon (verde) y **MCC-7** (anaranjado) comparten el mismo espacio en el sitio activo del receptor de adiponectina adipoR1. Debido a esto y por las interacciones presentadas por el acoplamiento molecular las cuales se

discutieron anteriormente, se podría inferir que el compuesto **MCC-7** podría presentar el mismo mecanismo de acción que adipoRon el cual es el agonismo del receptor adipoR1. Sin embargo, esto se tiene que corroborar por estudios *in vitro* e *in vivo*.



**Figura 73.** Sobreposicionamiento de los compuestos **MCC-7** (anaranjado) y adipoRon (verde) en el sitio activo del receptor adipoR1.

El presente proyecto está fundamentado en el análisis consensado de todos los resultados obtenidos a través de las diversas herramientas quimio-informáticas. Por lo tanto, los resultados obtenidos son lo suficientemente aceptables para jugar un papel importante en las decisiones de un proyecto de investigación, ya que la precisión de las predicciones *in silico* pueden ser en muchos casos al menos comparables a alternativas *in vitro* e *in vivo*. Sin embargo, es crucial conocer las limitaciones de estas técnicas para evitar aplicarlas ciegamente. Se espera que los datos obtenidos por las herramientas quimio-informáticas sean comparables con los resultados de las pruebas *in vitro* e *in vivo* a realizar en este proyecto.

## 8.4 Parte *in vivo*

### 8.4.1 Análisis de consenso farmacológico

El análisis de consenso farmacológico combina los resultados de los diferentes cálculos realizados *in silico* de las herramientas quimio-informáticas:

- Predicciones farmacodinámicas (Docking, Pass online, DIA-DB)
- Predicciones farmacocinéticas (AdmetSar, metaprint 2D, molinspiration)
- Predicciones toxicológicas (ACD Toxsuite, Osiris, admetSAR)

Cuando más cálculos coinciden en que un compuesto es activo, con baja toxicidad y perfil farmacocinético adecuado, más confiable es la selección de un líder seguro para sintetizarlo y que éste muestre un comportamiento farmacológico adecuado. En las **tablas 23 y 24** se agrupan los diferentes cálculos realizados.

**Tabla 23.** Análisis de consenso farmacológico de los compuestos **MCC 1-5**.

Parametro	MCC-1	MCC-2	MCC-3	MCC-4	MCC-5	Fenformina
PM (g/mol)	251	226	221	260	207	205
$\Delta G$ AMPK	-7.03	-7.07	-7.56	-7.39	-7.79	-6.58
$k_i$ AMPK ( $\mu M$ )	6.23	6.62	2.30	3.86	1.95	81.2
LE AMPK	0.47	0.47	0.49	0.46	0.52	0.43
pKa	12.3	12.33	12.49	12.06	12.99	10.66
logD 7.4	-3.28	-2.24	-3.10	-1.95	-3.75	-3.07
TPSA ( $\text{Å}^2$ )	116	98	107	98	118	97
Solubilidad ( $\mu g/mL$ )	32335.4	5809.1	29133.7	1216.1	57012.6	21966.1
Lipinski						
Toxicidad						
Farmacocinética						

A través del análisis de consenso farmacológico (**tabla 23**) se determinó que los compuestos **MCC-2** y **MCC-3** presentan una toxicidad baja, así como un perfil farmacocinético y farmacodinámico adecuado. Por lo tanto, estos compuestos se seleccionaron para la realización de ensayos *in vivo*, así como también el compuesto **MCC-7** de la serie análogos de adipoRon presentado en la **tabla 24**.

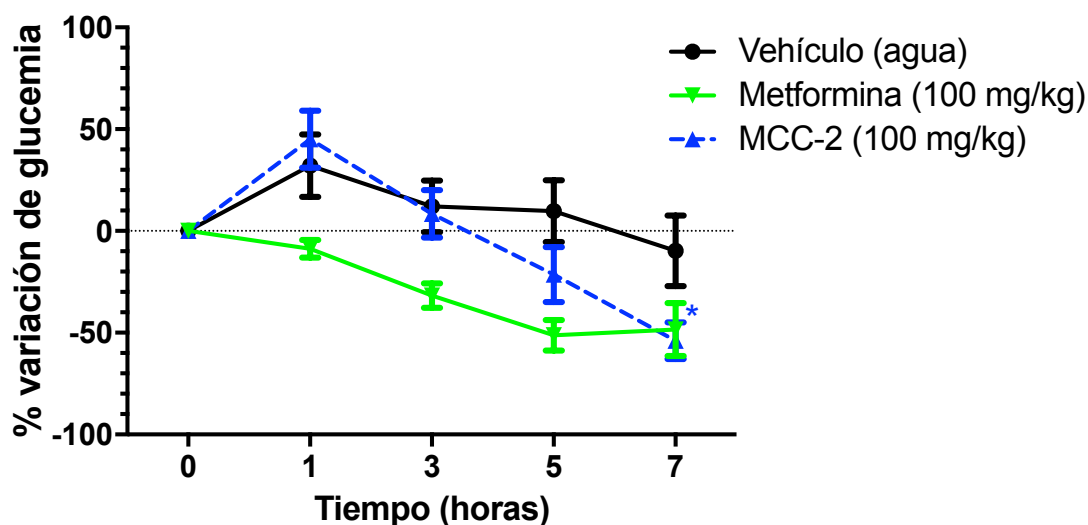
**Tabla 24.** Análisis de consenso farmacológico del compuesto **MCC 7**.

Parametro	MCC-7	adipoRon
PM (g/mol)	451	428
$\Delta G$ AMPK	-10.8	-9.8
$k_i$ AMPK (nM)	12.2	86.5
LE adipoR1	0.34	0.38
pKa	6.7	8.9
logD 7.4	1.8	3.4
TPSA (Å <sup>2</sup> )	91.5	59
Solubilidad (µg/mL)	471.2	1.41
Lipinski		
Toxicidad		
Farmacocinética		

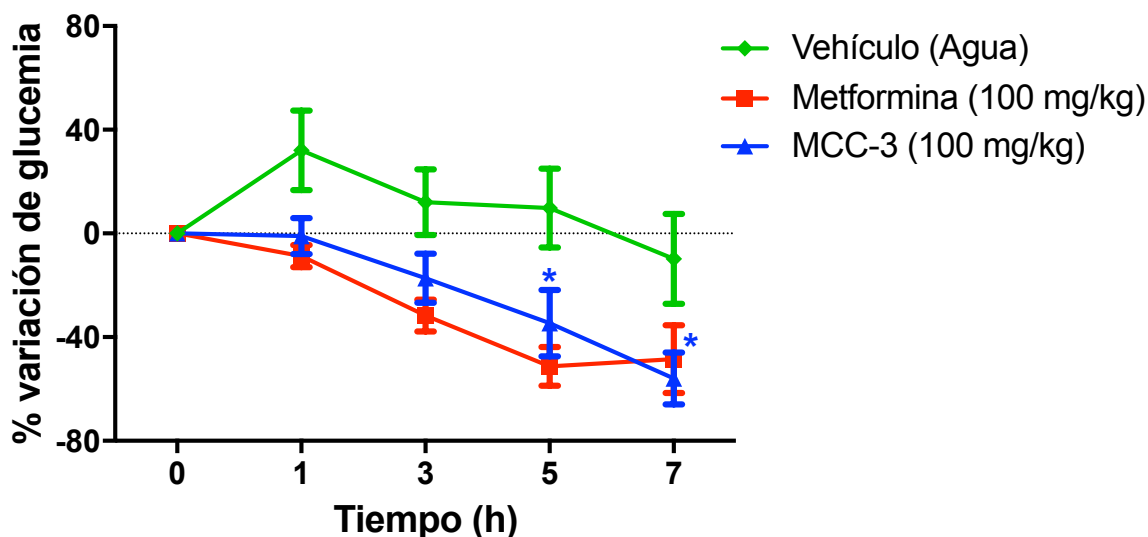
#### 8.4.2 Determinación del efecto antihiper glucémico del compuesto MCC-2

Para la evaluación *in vivo* y la determinación del efecto antihiper glucémico se utilizó un modelo experimental de diabetes no insulino dependiente (DNID) utilizando ratones CD1.

Los compuestos **MCC-2** y **MCC-3** se administraron por vía oral en su forma de clorhidrato a una dosis única de 100 mg/kg por vía oral. Los niveles de glucemia se midieron mediante un glucómetro portátil. Se utilizó como control positivo metformina a una dosis de 100 mg/kg y como grupo vehículo se administró agua inyectable.



**Figura 74.** Efecto antidiabético del compuesto **MCC-2** a una dosis de 100 mg/kg, vehículo (agua inyectable), metformina (100 mg/kg), en un modelo de ratón experimental no insulino dependiente. Los resultados son el promedio  $\pm$  EE,  $n=6$ ; *p.o.*  $p < 0.05$  vs vehículo.

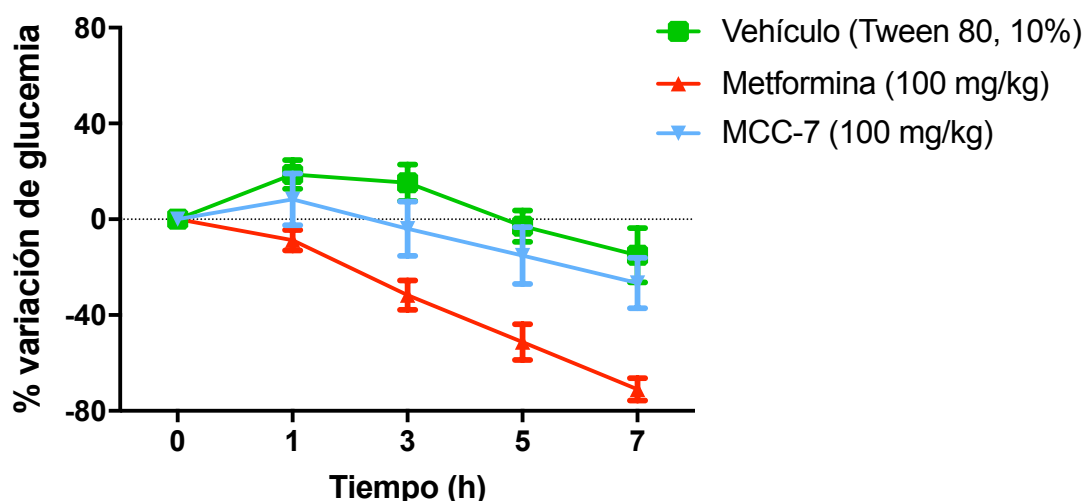


**Figura 75.** Efecto antidiabético del compuesto **MCC-3** a una dosis de 100 mg/kg, vehículo (agua inyectable), grupo control metformina a una dosis de 100 mg/kg, en un modelo de ratón experimental no insulino dependiente. Los resultados son el promedio  $\pm$  EE,  $n=6$ ; *p.o.*  $p < 0.05$  vs vehículo.

La evaluación del efecto antidiabético muestra que el compuesto **MCC-2 (figura 74)**, presentó un efecto sostenido de disminución en las concentraciones plasmáticas de glucemia durante las 7 horas post-administración. Su efecto máximo de variación de glucemia es en promedio de -50%, mostrando un efecto antidiabético significativo comparado con el vehículo a la hora 7.

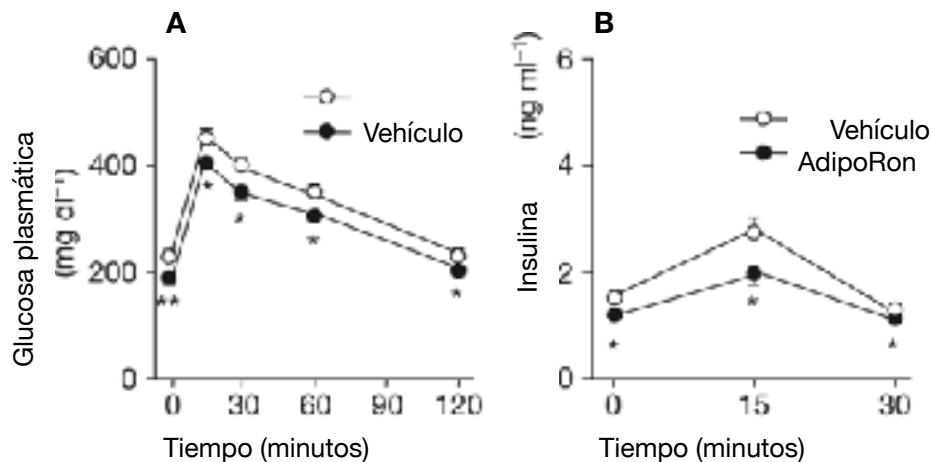
El compuesto **MCC-3 (figura 75)** presentó un efecto sostenido en la disminución de glucemia durante las 7 horas post-administración, su efecto máximo de variación de glucemia es un promedio -56%, mostrando un efecto antidiabético en comparación con el vehículo y equipotente a metformina.

El compuesto **MCC-7** se administró por vía oral a una dosis única de 100 mg/kg, utilizando como control positivo a metformina a una misma dosis y como vehículo tween 80 al 10%. El compuesto **MCC-7 (figura 76)** no presentó diferencias estadísticamente significativas comparado con el vehículo. Esto puede deberse a diversos factores como la farmacocinética y la farmacodinamia, ya que para que el compuesto pueda presentar un efecto biológico tiene que tener un proceso de absorción y distribución antes de interactuar con su sitio diana.



**Figura 76.** Efecto antidiabético del compuesto **MCC-7** a una dosis de 100 mg/kg, vehículo (Tween 80, 10%), grupo control metformina a una dosis de 100 mg/kg, en un modelo de ratón experimental no insulino dependiente. Los resultados son el promedio  $\pm$  EE,  $n=6$ ; p.o.  $p < 0.05$  vs vehículo.

Se ha reportado en la literatura que adipoRon (**figura 77**) administrado a una dosis de 50 mg/kg, durante 10 días en ratones obesos inducidos por dieta alta en grasas, disminuyó significativamente los niveles de glucosa plasmática en ayuno e insulina, durante una prueba de tolerancia a la glucosa indicando de esta manera un aumento en la sensibilidad a la insulina.<sup>8</sup> Por lo que se propone realizar un estudio subagudo del compuesto **MCC-7** para observar su posible efecto sensibilizador de la insulina.



**Figura 77.** Efecto subagudo de tolerancia a la glucosa de adipoRon a una dosis de 50 mg/kg administrado por 10 días. a) glucosa plasmática, b) niveles de insulina plasmática. (Tomado de Okada-Iwabu, M, 2013)<sup>8</sup>



## 9. CONCLUSIONES

- Se sintetizaron y caracterizaron los compuestos **MCC 1-5** de la serie homólogos inferiores de fenformina y el compuesto **MCC-7** de la serie análogos de adipoRon.
- A través del análisis de consenso de herramientas quimio-informáticas se determinó que los compuestos **MCC-2**, **MCC-3** y **MCC-7** presentaron buenas propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas, por lo que se seleccionaron para los estudios de acoplamiento molecular.
- En el sitio alostérico de la AMPK, los compuestos **MCC-2** y **MCC-3** conservaron interacciones similares a las presentadas por fenformina y AMP, fármaco de referencia y activador endógeno de la AMPK respectivamente.
- El compuesto **MCC-7** conservó interacciones importantes a las presentadas por adipoRon en la cavidad seleccionada del receptor adipoR1.
- A través del análisis de consenso farmacológico se determinó que los compuestos **MCC-2**, **MCC-3** y **MCC-7** presentaron baja toxicidad y un adecuado perfil farmacocinético por lo que se seleccionaron como líderes computacionales seguros y se eligieron para las pruebas *in vivo*.
- Los compuestos **MCC-2** y **MCC-3** tuvieron un efecto antidiabético comparable a metformina, disminuyendo un 54% y un 56% la variación de glucosa, respectivamente, y manteniendo el efecto hasta la hora 7 post-administración oral en ratones hiperglicémicos. Estos compuestos son catalogados como hits experimentales seguros.
- El compuesto **MCC-7** no presentó diferencia estadísticamente significativa comparado contra vehículo en un ensayo antidiabético agudo.

## 10. PERSPECTIVAS

- ❖ Realizar los estudios *in vitro* de los compuestos **MCC 1-5** como activadores de la enzima AMPK.
- ❖ Realizar los estudios *in vitro* del compuesto **MCC-7** como agonista del receptor de adiponectina adipoR1.
- ❖ Realizar un estudio subagudo del compuesto **MCC-7** para observar su posible efecto como sensibilizador de la insulina.
- ❖ Realizar estudios de toxicidad aguda y subcrónica en modelos murinos.

## 11. PARTE EXPERIMENTAL

### 11.1 Reactivos

Para la síntesis de los compuestos **MCC 1-5** y **MCC-7** se emplearon los siguientes reactivos de la marca SIGMA-ALDRICH®

- ❖ 3,4-Dimetoxibencilamina (955.00 MXN, 5g)
- ❖ 4-Clorobencilamina (1,646.00 MXN, 25g)
- ❖ 4-Clorobencilamina (1,646.00 MXN, 25g)
- ❖ 3,4-Diclorobencilamina (1,009.00 MXN, 5g)
- ❖ 4-Metoxibencilamina (1,354.00 MXN, 25g)
- ❖ 4-Hidroxibencilamina (510.00 MXN, 5g)
- ❖ Cianoguanidina (793.00 MXN, 1kg)
- ❖ 4-aminobencilpiperidina (885.00 MXN, 5g)
- ❖ Cloruro de cloroacetilo (1,160.00 MXN, 500 g)
- ❖ 4-hidroxibenzaldehído (1,529.00 MXN, 250g)
- ❖ Tiazolidindiona (1,562.00 MXN, 25g)

### 11.2 Instrumentación

La síntesis se realizó con una parrilla de calentamiento y agitación magnética marca VELP SCIENTIFICA® y matraces bola de 25 mL, acondicionados con agitación magnética y refrigerante en posición de reflujo. Para el caso del compuesto **MCC-7** se hizo uso de la trampa de gases así como del tubo de adición a presiones igualadas y la trampa Dean-Stark para la condensación de Knoevenagel.

Al finalizar las reacciones el disolvente se evaporó con el Rotavaporador marca BÜCHI R-200 acoplado a una bomba de vacío marca Vacuubrand® ME 2C.

Los punto de fusión (pf) se determinaron con el equipo Stanford Research System EZ-Melt®, modelo MPA 120.

### 11.3 Cromatografía en capa fina

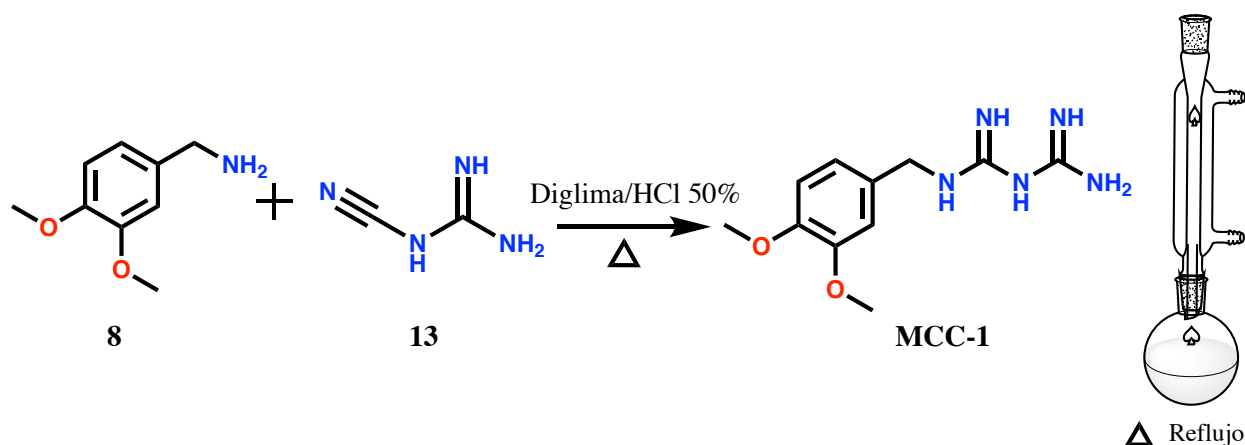
Para el monitorear el avance de las reacciones químicas se empleo la técnica de cromatografía en capa fina (CCF), utilizando placas de aluminio de 2.5 x 4 cm recubiertas con gel de sílice. Las placas se revelaron con una lámpara de luz ultravioleta UV-254/366 nm, para la elución de las placas cromatográficas se emplearon las fases móviles presentadas en la **tabla 25**.

**Tabla 25.** Sistemas empleados en el monitoreo de la síntesis química de los compuestos **MCC 1-5 y MCC-7**.

Sistema	Proporción	Composición
I	90:10	Diclorometano:Metanol
II	60:40	Diclorometano:Metanol
III	95:5	Diclorometano:Metanol
IV	70:30	Diclorometano:Metanol

## 11.4 Síntesis de compuestos finales

### 11.4.1 Síntesis de: Diamida *N*-(3,4-dimetoxibencil)imidodicarbonimidica (MCC-1)



En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, baño de aceite y refrigerante en posición de reflujo, se disolvió 0.5 g (0.0059 mol) de cianoguanidina (**13**) en 3 mL de diglima como disolvente, posteriormente se adicionó 986  $\mu\text{L}$  (1.09 g, 0.0065 mol, 1.1 eq) de 3,4-dimetoxibencilamina (**7**). Esta mezcla se calentó a 60 °C por 20 minutos, transcurrido este tiempo se añadió gota a gota 2 mL de una solución de HCl al 50 % v/v, al formarse una solución homogénea la reacción se mantuvo en condiciones de reflujo. El avance de la reacción se monitoreó por cromatografía en capa, utilizando como fase móvil el sistema I, para esto se tomó una gota de la relación la cual se adicionó en un tubo de ensaye con 0.5 mL de agua, para realizar una extracción con 0.5 mL de acetato de etilo y ajustando el pH a 9 con una solución de  $\text{NH}_4\text{OH}$ , tomando la fase orgánica como muestra para realizar la cromatografía en capa fina, esto se realizó hasta la total conversión de las materias primas (10 horas).

Al finalizar la reacción el producto precipitó formando cristales color amarillo en forma de aguja por lo que el disolvente se eliminó por filtración. Se obtuvo un rendimiento de

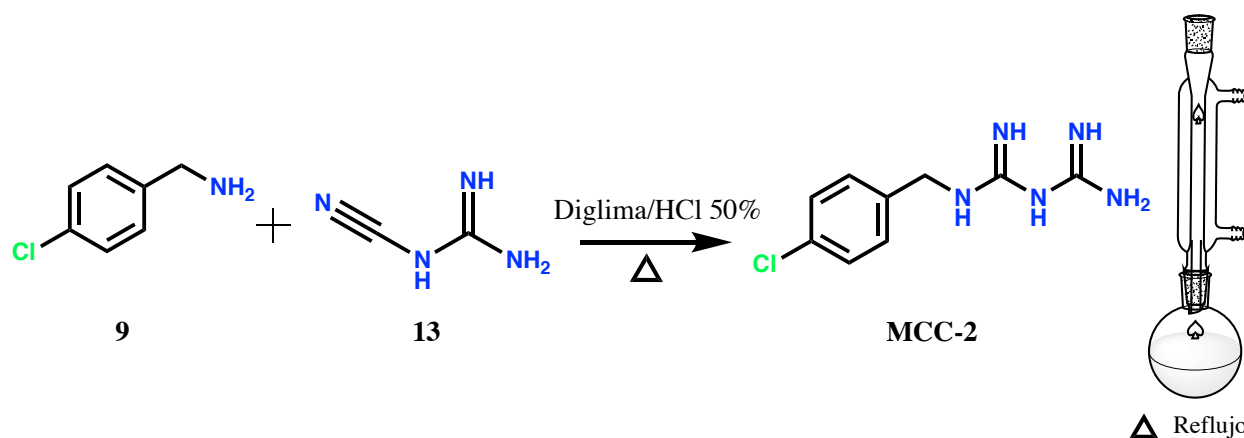
reacción del 80 %, el producto reveló una única mancha en cromatografía de capa fina con el sistema I, con un punto de fusión de 256.1-257.9 °C

**RMN <sup>1</sup>H** (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 8.45 (s, 6H, NH), 7.23 (d, 1H, *J<sub>m</sub>*=1.8 Hz, H-2), 6.97 (dd, 1H, *J<sub>o</sub>*=8.4, *J<sub>m</sub>*=1.8, H-6), 6.93 (d, 1H, *J<sub>o</sub>*=1.8, H-6), 3.74 (s, 3H, H-8), 3.73 (s, 3H, H-9), 3.90 (s, 1H, H-7)

**RMN <sup>13</sup>C** (150 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 149.5 (C-B), 149.0 (C-A), 126.8 (C-3, C-4), 121.8 (C-6), 113.4 (C-5), 112.5 (C-1), 112.0 (C-2), 56.0 (C-8, C-9), 42.5 (C-7)

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) (M<sup>+</sup>), No presentadas por baja solubilidad de la muestra.

#### 11.4.2 Síntesis de: Diamida *N*-(4-clorobencil)imidodicarbonimidica (MCC-2)



En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, baño de aceite y refrigerante en posición de reflujo, se disolvió 0.5 g (0.0059 mol) de cianoguanidina (**13**) en 3 mL de diglima como disolvente, posteriormente se adicionó 986  $\mu$ L (0.92 g, 0.0065 mol, 1.1 eq) de 4-clorobencilamina (**8**). Esta mezcla se calentó a 60 °C por 20 minutos, transcurrido este tiempo se añadió gota a gota 2 mL de una solución de HCl al 50% v/v,

al formarse una solución homogénea la reacción se mantuvo en condiciones de reflujo. El avance de la reacción se monitoreó por cromatografía en capa, utilizando como fase móvil el sistema II, para esto se tomó una gota de la reacción la cual se adicionó en un tubo de ensaye con 0.5 mL de agua, para realizar una extracción con 0.5 mL de acetato de etilo y ajustando el pH a 9 con una solución de  $\text{NH}_4\text{OH}$ , tomando la fase orgánica como muestra para realizar la cromatografía en capa fina, esto se realizó hasta la total conversión de las materias primas (10 horas).

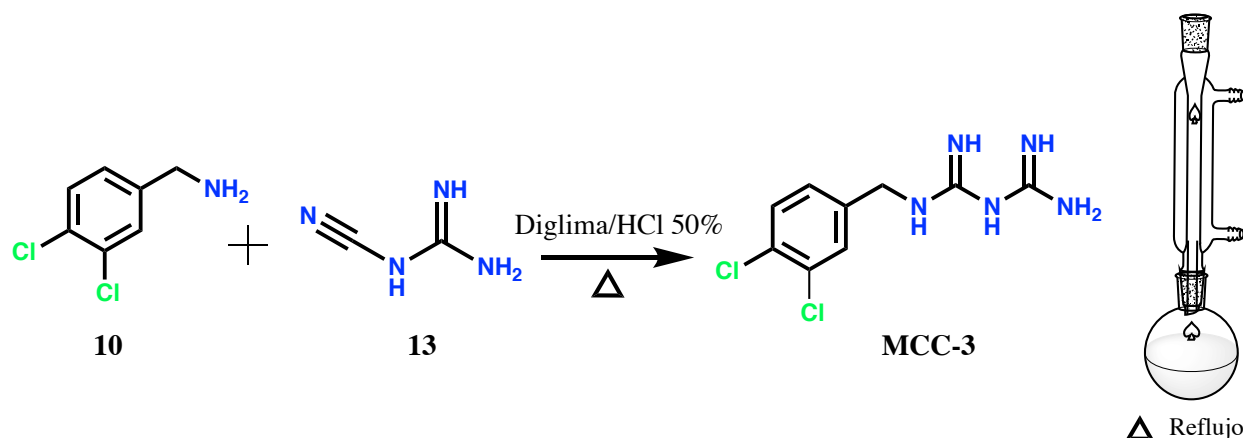
Al finalizar la reacción el producto precipitó formando cristales color blancos en forma de aguja por lo que el disolvente se eliminó por filtración. Se obtuvo un rendimiento de reacción del 74 %, el producto reveló una única mancha en cromatografía de capa fina con el sistema II, con un punto de fusión de 236.8-238.9 °C

**RMN  $^1\text{H}$**  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.60 (s, 6H, NH), 7.56 (d, 2H,  $J_o=8.4$  Hz, H-3, H-5), 7.47 (d, 2H,  $J_o=8.4$ , H-2, H-6), 4.0 (d, 2H, H-7)

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 156.1 (C-B), 154.9 (C-A), 133.6 (C-1), 133.5 (C-4), 131.4 (C-2, C-6), 128.9 (C-3, C-5), 41.8 (C-7)

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) ( $\text{M}^+$ ), 125 (100), 180 (16).

### 11.4.3 Síntesis de: Diamida *N*-(4-metoxibencil)imidodicarbonimidica (MCC-3)



En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, baño de aceite y refrigerante en posición de reflujo, se disolvió 0.5 g (0.0059 mol) de cianoguanidina (**13**) en 3 mL de diglima como disolvente, posteriormente se adicionó 848  $\mu$ L (0.89 g, 0.0065 mol, 1.1 eq) de 4-metoxibencilamina (**10**). Esta mezcla se calentó a 60 °C por 20 minutos, transcurrido este tiempo se añadió gota a gota 2 mL de una solución de HCl al 50 % v/v, al formarse una solución homogénea la reacción se mantuvo en condiciones de reflujo. El avance de la reacción se monitoreó por cromatografía en capa, utilizando como fase móvil el sistema II, para esto se tomó una gota de la relación la cual se adicionó en un tubo de ensaye con 0.5 mL de agua, para realizar una extracción con 0.5 mL de acetato de etilo y ajustando el pH a 9 con una solución de  $\text{NH}_4\text{OH}$ , tomando la fase orgánica como muestra para realizar la cromatografía en capa fina, esto se realizó hasta la total conversión de las materias primas (12 horas).

Al finalizar la reacción el producto precipitó formando cristales color amarillo en forma de aguja por lo que el disolvente se eliminó por filtración. Se obtuvo un rendimiento de reacción del 76 %, el producto reveló una única mancha en cromatografía de capa fina con el sistema II, con un punto de fusión de 225.8-228.2 °C

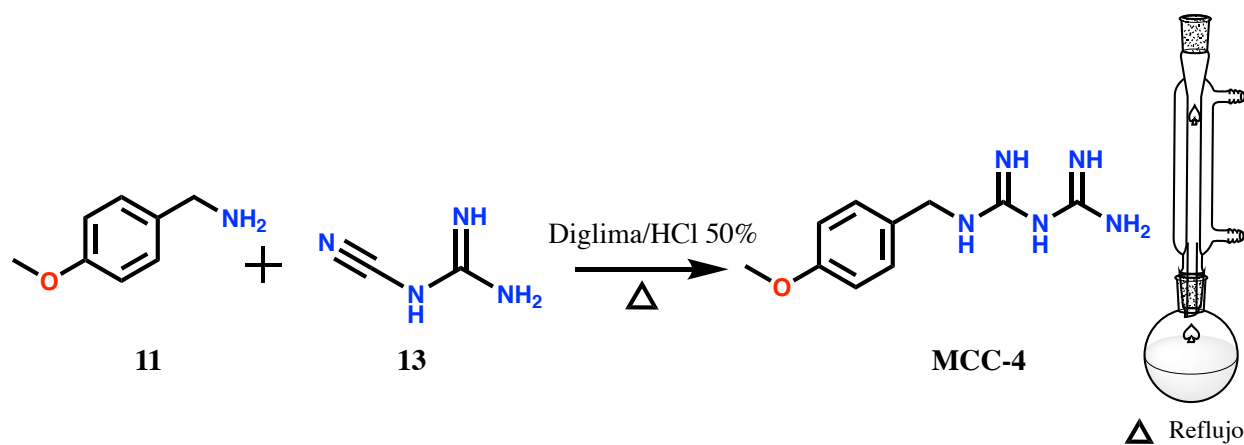
**RMN  $^1\text{H}$**  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.50 (s, 6H, NH), 7.42 (d, 2H,  $J_o=8.6$  Hz, H-3, H-5), 6.93 (d, 2H,  $J_o=9.0$ , H-2, H-6), 3.9 (d, 2H, H-7), 3.73 (s, 3H, H-8)

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 159.7 (C-A, C-B), 131.0 (C-3, C-5), 126.4 (C-4), 114.3 (C-2, C-6), 105.0 (C-1), 55.6 (C-8), 42.0 (C-7)

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) ( $\text{M}^+$ ), 121 (100), 177 (6).



#### 11.4.4 Síntesis de: Diamida *N*-(3,4-diclorobencil)imidodicarbonimidica (MCC-4)



En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, baño de aceite y refrigerante en posición de reflujo, se disolvió 0.5 g (0.0059 mol) de cianoguanidina (**13**) en 3 mL de diglima como disolvente, posteriormente se adicionó 865  $\mu\text{L}$  (1.14 g, 0.0065 mol, 1.1 eq) de 3,4-diclorobencilamina (**9**). Esta mezcla se calentó a 60 °C por 20 minutos, transcurrido este tiempo se añadió gota a gota 2 mL de una solución de HCl al 50 % v/v, al formarse una solución homogénea la reacción se mantuvo en condiciones de reflujo. El avance de la reacción se monitoreó por cromatografía en capa, utilizando como fase móvil el sistema II, para esto se tomó una gota de la relación la cual se adicionó en un tubo de ensaye con 0.5 mL de agua, para realizar una extracción con 0.5 mL de acetato de etilo y ajustando el pH a 9 con una solución de  $\text{NH}_4\text{OH}$ , tomando la fase orgánica como muestra para realizar la cromatografía en capa fina, esto se realizó hasta la total conversión de las materias primas (10 horas).

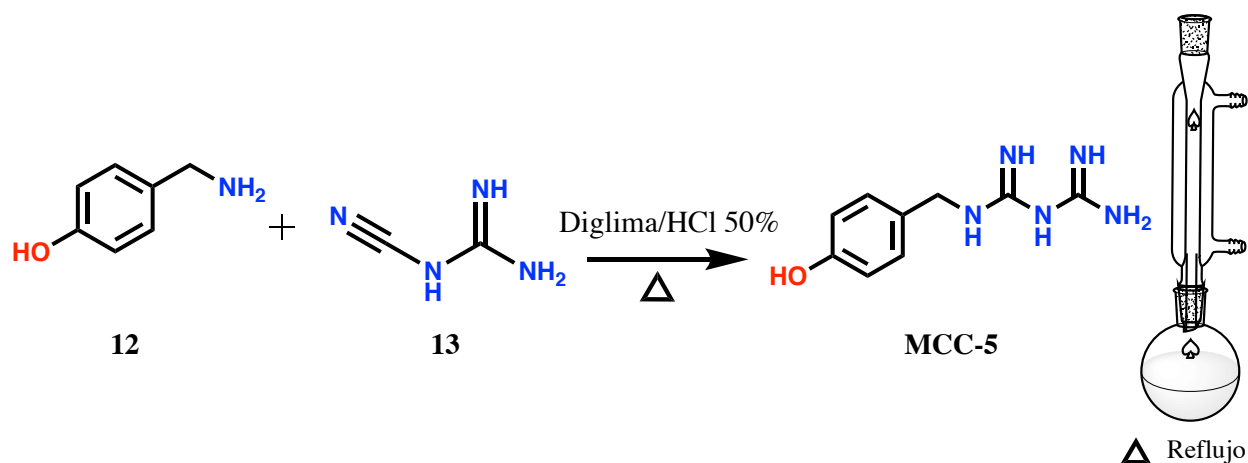
Al finalizar la reacción el producto precipitó formando cristales color amarillo en forma de aguja por lo que el disolvente se eliminó por filtración. Se obtuvo un rendimiento de reacción del 80%, el producto reveló una única mancha en cromatografía de capa fina con el sistema II, con un punto de fusión de 229.7.-232.5 °C

**RMN  $^1\text{H}$**  (600 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 8.50 (s, 6H, NH), 7.85 (s, 1H, H-2), 7.66 (dd, 1H,  $J_o=8.0$ ,  $J_m=3.0$ , H-6), 7.51 (d,  $J_o=8.4$ , H-5), 4.0 (d, 2H, H-7)

**RMN <sup>13</sup>C** (150 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 150.3 (C-A, C-B), 135.7 (C-1), 131.6 (C-2), 131.5 (C-5), 131.4 (C-4), 131.0 (C-2), 129.9 (C-6), 41.3 (C-7)

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) (M<sup>+</sup>), 159 (100), 215 (5).

#### 11.4.5 Síntesis de: Diamida N-(4-hidroxibencil)imidodicarbonimidica (MCC-5)



En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, baño de aceite y refrigerante en posición de reflujo, se disolvió 0.5 g (0.0059 mol) de cianoguanidina (**13**) en 3 mL de diglima como disolvente, posteriormente se adicionó 0.726 g (0.0059 mol, 1 eq) de 4-hidroxibencilamina (**12**). Esta mezcla se calentó a 60 °C por 20 minutos, transcurrido este tiempo se añadió gota a gota 2 mL de una solución de HCl al 50 % v/v, al formarse una solución homogénea la reacción se mantuvo en condiciones de reflujo. El avance de la reacción se monitoreó por cromatografía en capa, utilizando como fase móvil el sistema I, para esto se tomó una gota de la relación la cual se adicionó en un tubo de ensaye con 0.5 mL de agua, para realizar una extracción con 0.5 mL de acetato de etilo y ajustando el pH a 9 con una solución de NH<sub>4</sub>OH, tomando la fase orgánica como muestra para realizar la cromatografía en capa fina, esto se realizó hasta la total conversión de las materias primas (9 horas).

Al finalizar la reacción se ajustó el pH a 9 con una solución de  $\text{NH}_4\text{OH}$ , el disolvente se extrajo con el rotaevaporador. Posteriormente se adicionaron 3 mL de agua fría y se dejó en agitación por 20 minutos, al terminar este tiempo se filtró con vacío para recuperar el producto. Se obtuvo un polvo color café con un rendimiento de 88 %, este producto se recrystalizó con etanol formando cristales en forma de aguja color café. El producto reveló una única mancha en cromatografía de capa fina con el sistema I, con un punto de fusión de 182.5-185.1 °C.

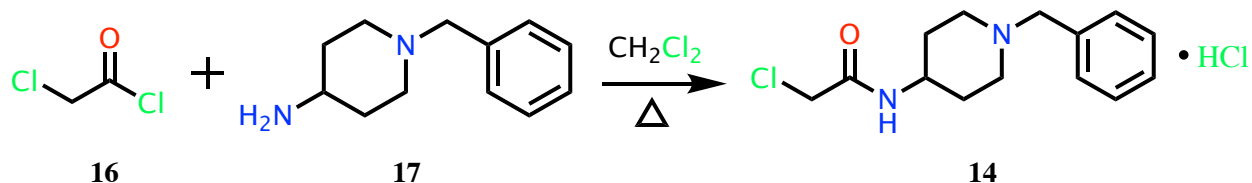
**RMN  $^1\text{H}$**  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.42 (s, 6H, NH), 7.27 (d, 2H,  $J_o=8.4$  Hz, H-3, H-5), 6.78 (d, 2H,  $J_o=8.4$ , H-2, H-6), 3.86 (d, 2H, H-7)

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 157.3 (C-B), 155.4 (C-A), 154.4 (C-4), 130.1 (C-3, C-5), 123.7 (C-1), 114.9 (C-2, C-6), 41.5 (C-7)

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) ( $\text{M}^+$ ), 107 (100), 164 (60).

## 11. 5 Análogos de adipoRon

### 11.5.1 Síntesis de: *N*-(1-bencilpiperidin-4-il)-2-cloroacetamida (**14**)



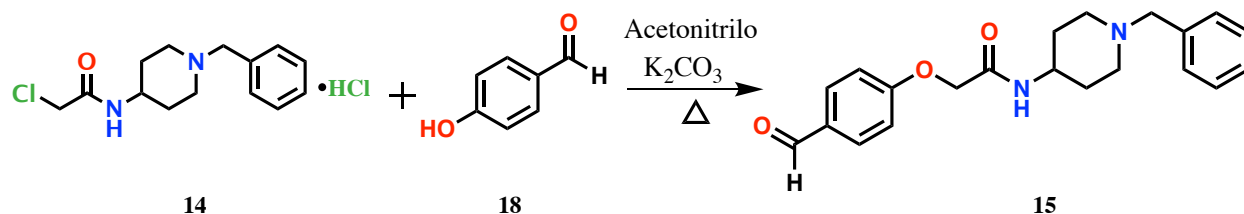
En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, baño de aceite y se adicionó 536  $\mu\text{L}$  (0.5 g, 0.00263 mol) de 4-aminobencilpiperidina (**14**) en 3 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco como disolvente, esto se mantuvo en baño de hielo para adicionar a goteo con el embudo de adición de líquidos a presiones igualadas 230  $\mu\text{L}$  (0.326 g, 0.0029 mol, 1.1 Eq) de cloruro de cloroacetilo (**16**) disuelto en 2 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco, una vez

terminada la adición de **16** se retiró el baño de hielo y se mantuvo a temperatura ambiente. El avance de la reacción se monitoreo por cromatografía en capa fina utilizando como fase móvil el sistema **III**, para esto se tomo una gota de la reacción la cual se adicionó en un tubo de ensaye con 0.5 mL de agua, para realizar una extracción con 0.5 mL de acetato de etilo y ajustando el pH 9 con una solución de NH<sub>4</sub>OH, tomando la fase orgánica para la realización de la cromatografía en capa fina, esto se realizó hasta la total conversión de las materias primas (11 horas).

El producto precipitó en la reacción en forma de un polvo amorfo color blanco por lo que el disolvente se eliminó por filtración utilizando papel Whatman. Se obtuvo un rendimiento de reacción del 93 %, el producto reveló una única mancha en cromatografía en capa fina con la fase móvil III, registrando un punto de fusión de 98.9-102.1 °C.

**EM** (IE): *m/z* (% int. rel.) (M<sup>+</sup>), 266 (10), 91 (95).

### 11.5.2 Síntesis de: *N*-(1-bencilpiperidin-4-il)-2-(4-formilfenoxi)acetamida (**15**)



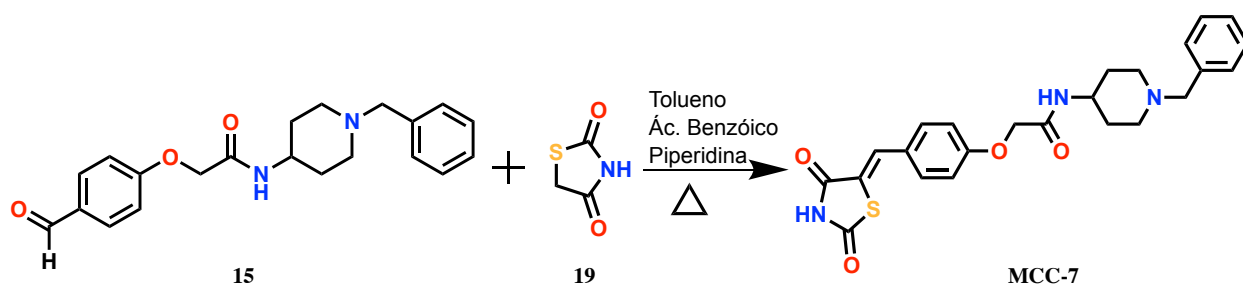
En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética y refrigerante en posición de reflujo, se disolvió 0.5 g ( 0.0041 mol) de 4-hidroxibenzaldehído (**18**) y 1,7 g (0.012 mol, 3 eq) de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en 5 mL de acetonitrilo como disolvente, adicionando unas gotas de agua para disolver el K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. La reacción se mantuvo a 40 °C con agitación durante 20 minutos. Transcurrido este tiempo se añadieron 1.17 g (0.0044 mol, 1 eq) del precursor **14**, posteriormente la reacción se mantuvo en condiciones de reflujo con atmósfera de nitrógeno. El avance de la reacción de monitoreó por cromatografía en capa, utilizando como fase móvil el sistema **IV**, para esto se tomó una gota de la relación la cual se adicionó en un tubo de ensaye con 0.5 mL de agua, para realizar

una extracción con 0.5 mL de acetato de etilo, tomando la fase orgánica como muestra para realizar la cromatografía en capa fina, esto se realizó hasta la total conversión de las materias primas (18 horas).

Al finalizar la reacción el disolvente se extrajo con el rotaevaporador. Posteriormente se adicionaron 3 mL de agua fría y se dejó en agitación por 20 minutos, al terminar este tiempo se filtró con vacío para recuperar el producto obteniendo un resina color café oscuro, posteriormente se realizó una extracción con acetato de etilo recuperando la fase orgánica, la cual se retiró el disolvente nuevamente con el rotaevaporador obteniendo una resina color ámbar la cual solidificó en un producto café claro. El producto reveló una única mancha por cromatografía en capa fina con el sistema **IV**, con un punto de fusión de 126.6-127.8 °C.

**EM** (IE):  $m/z$  (% int. rel.) ( $M^+$ ), 325 (15), 91 (90).

### 11.5.3 Síntesis de: (Z)-N-(1-bencilpiperidin-4-il)-2-(4-((2,4-dioxotiazolidin-5-iliden)metil)fenoxi)acetamida (MCC-7)



En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, refrigerante en posición de reflujo y una trampa Dean-Stark, se disolvió 0.5 g (0.0014 mol) del precursor **15**, 0.163 g (0.0014 mol, 1 eq) de tiazolidindiona (**19**), y 0.0683 (0.0005 mol, 0.4 eq) de ácido benzóico en 9 mL de tolueno seco, la reacción se mantuvo a 60 °C con agitación durante 20 minutos. Transcurrido este tiempo se añadieron 55.3  $\mu\text{L}$  (0.0476 g,

0.0005 mol, 0.4 eq) de piperidina (0.802 g/mL), posteriormente la reacción se mantuvo en condiciones de reflujo, conservando la agitación. El avance de la reacción de monitoreó por cromatografía en capa, utilizando como fase móvil el sistema **IV**, para esto se tomó directamente una muestra de la reacción para realizar la cromatografía en capa fina, esto se realizó hasta la total conversión de las materias primas (12 horas).

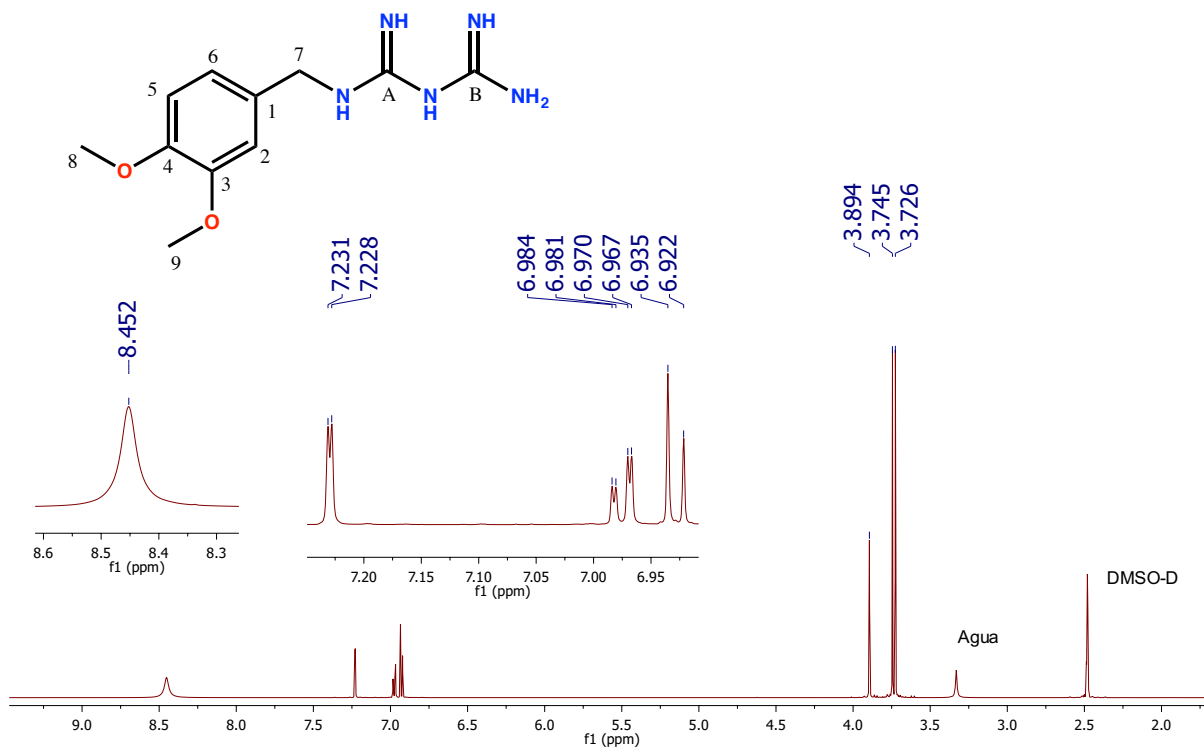
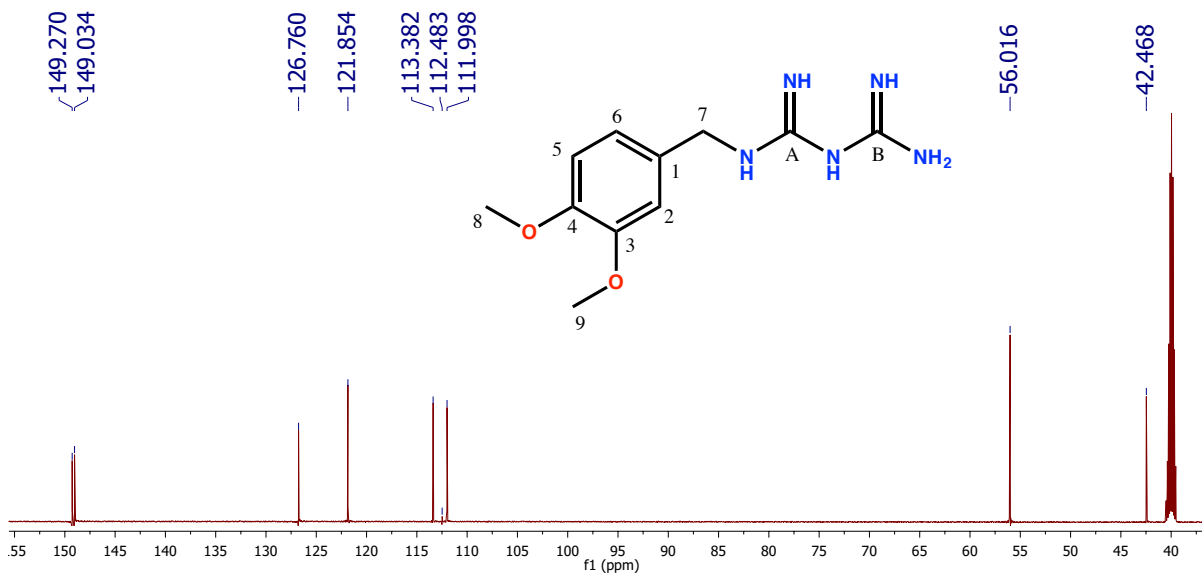
El producto precipitó en la reacción en forma de un polvo amorfo color amarillo por lo que el disolvente se removió por filtración utilizando papel Whatman. Se obtuvo un rendimiento de reacción del 90 %, el producto reveló una única mancha en cromatografía en capa fina con la fase móvil **IV**, registrando un punto de fusión de 148.1-150.2 °C.

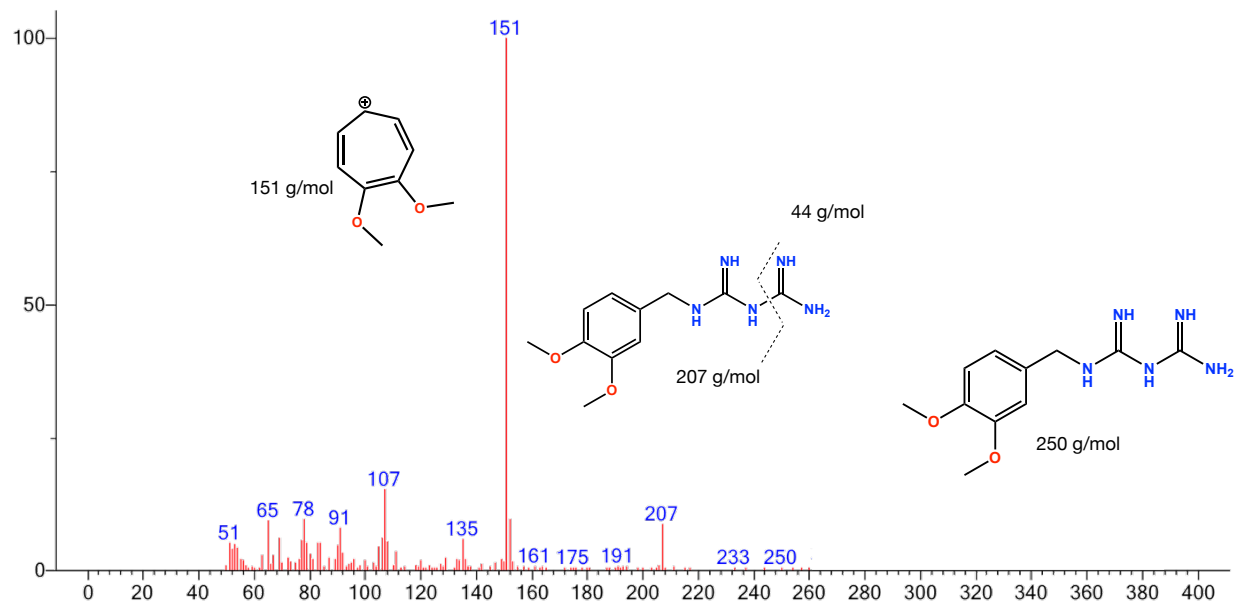
**RMN <sup>1</sup>H** (600 MHz, DMSO-*d*-6)  $\delta$ : 4.43 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.32 (d, 2H, H-3, H-5,  $J_0=9.0$  Hz), 6.54 (m, 1H, H-4',  $J_m=1.3$ ,  $J_0=8$  Hz), 6.60 (m, 2H, H-3', H-5',  $J_0=7.2$  Hz), 6.67 (m, 2H, H-2', H-6',  $J_m=1.3$ ,  $J_0=7.2$  Hz), 7.44 (s, 1H, H-8), 7.56 (d, 2H, H-2, H-6,  $J_0=9.2$  Hz), 10.37 (s, 1H, NH) y 10.49 (s, 1H, NH).

**RMN <sup>13</sup>C** (150 MHz, DMSO-*d*-6)  $\delta$ : 70.1 (O-CH<sub>2</sub>), 115.1 (C-3, C-5), 116.1 (C-9), 125.8 (C-1), 128.3 (C-2', C-6'), 128.5 (C-1'), 129.0 (C-3', C-5'), 136.8 (C-4'), 137.9 (C-2, C-6), 150.6 (C-4), 155.3 (C-8), 162.6 (C-10), 162.9 (C-12) y 164.3 (C-11).

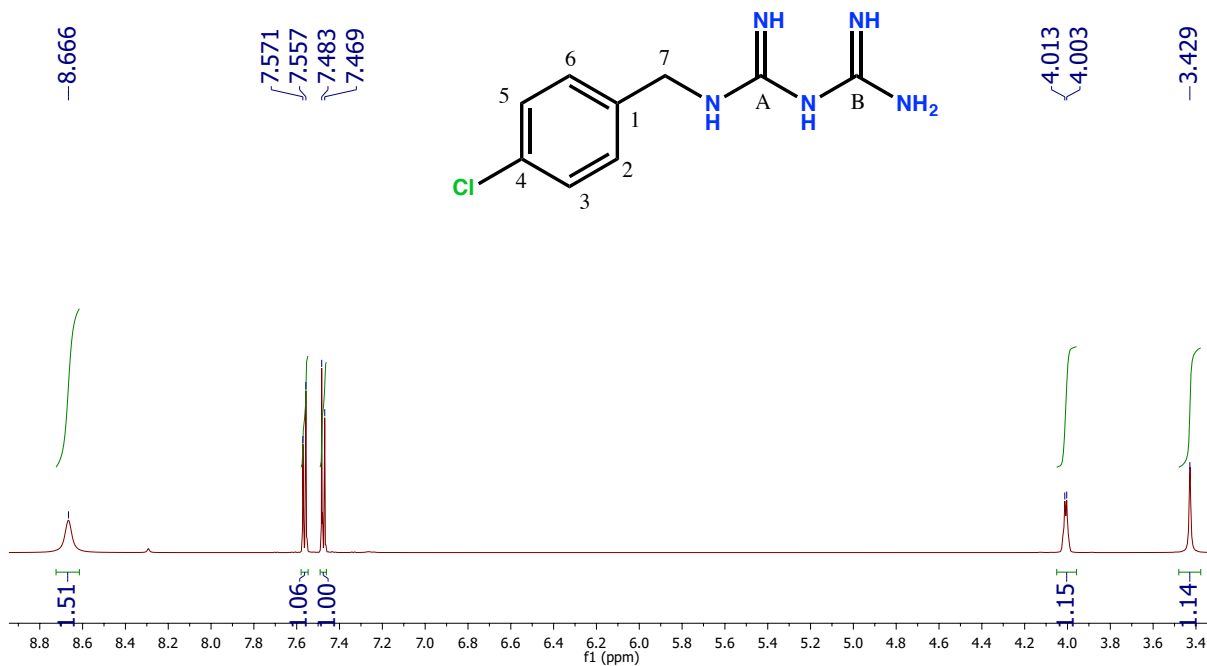
**EM** (IE):  $m/z$  (% int. rel.) (M<sup>+</sup>), 206 (30), 91 (100).

## 12. ESPECTROS

Espectro 1. RMN  $^1\text{H}$  del compuesto MCC-1Espectro 2. RMN  $^{13}\text{C}$  del compuesto MCC-1

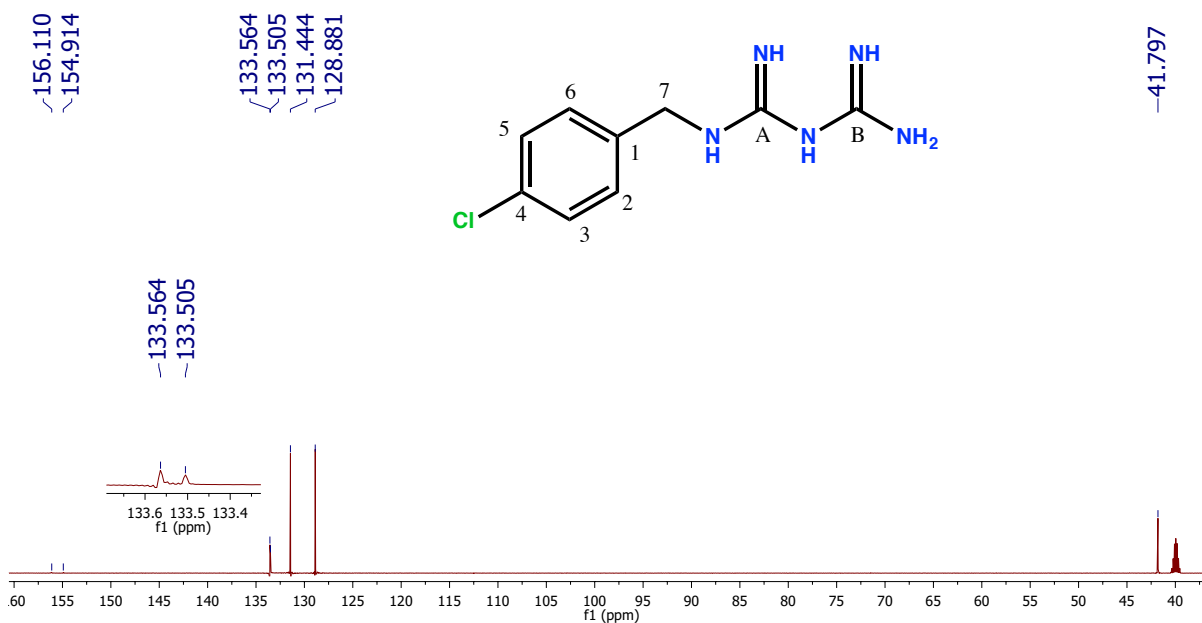


**Espectro 3. EM-IE del compuesto MCC-1**

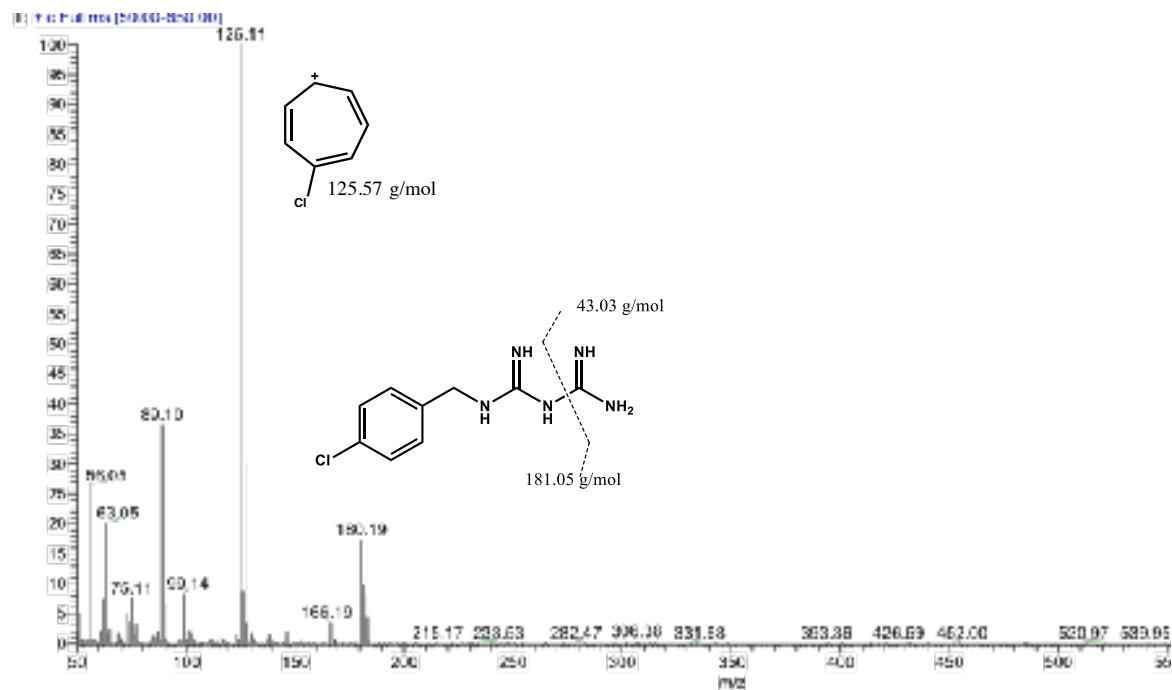


**Espectro 4. RMN <sup>1</sup>H del compuesto MCC-2**

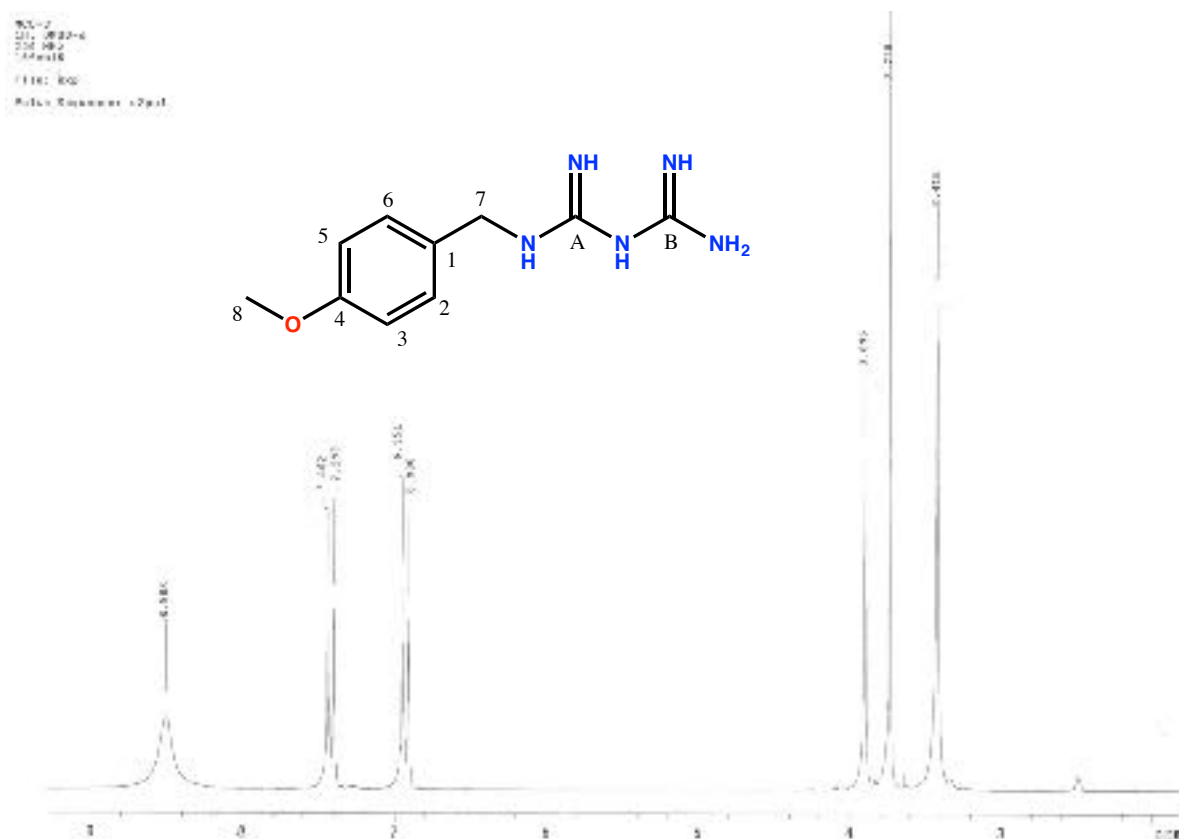
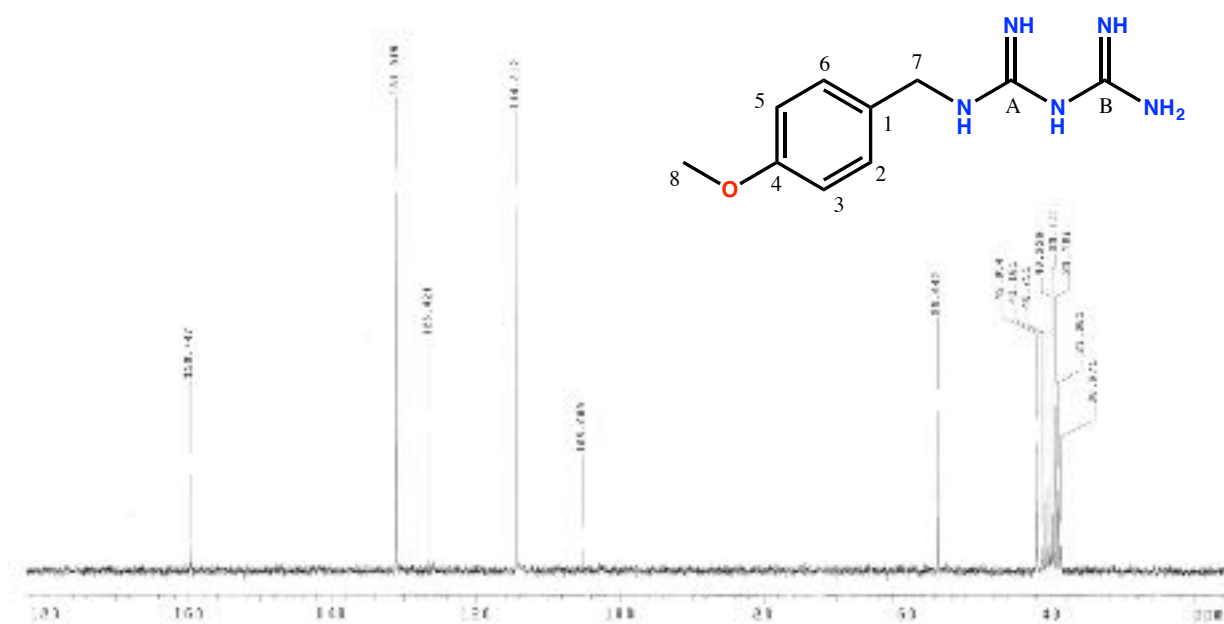


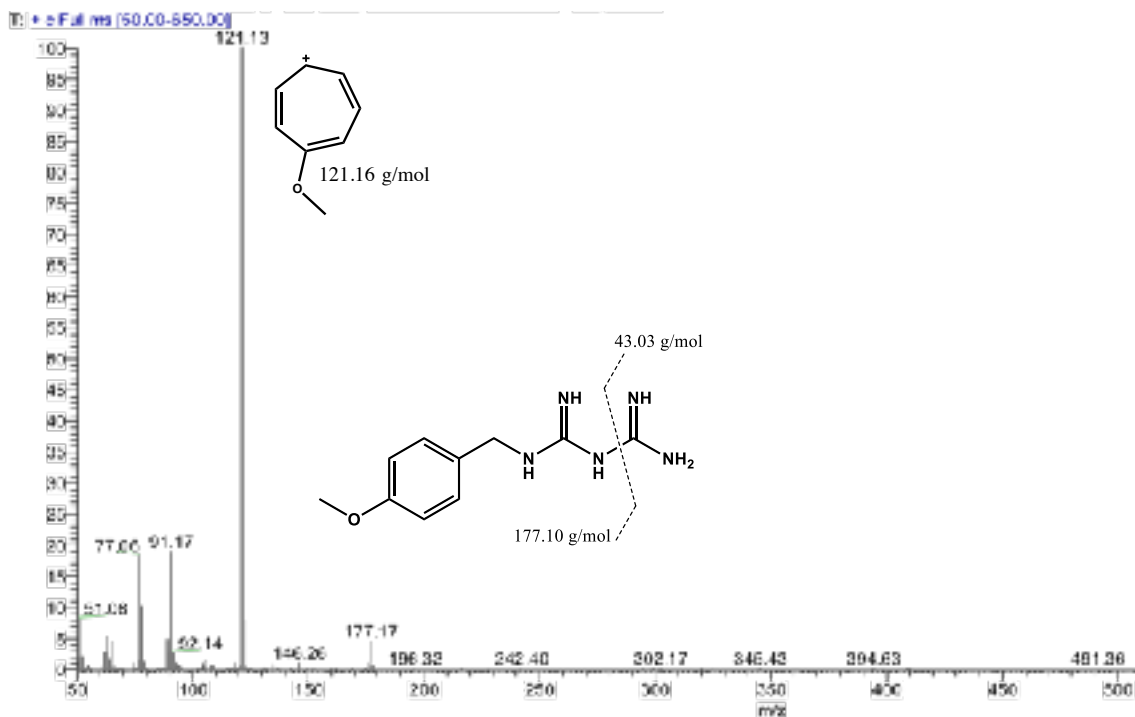


**Espectro 5. RMN <sup>13</sup>C del compuesto MCC-2**

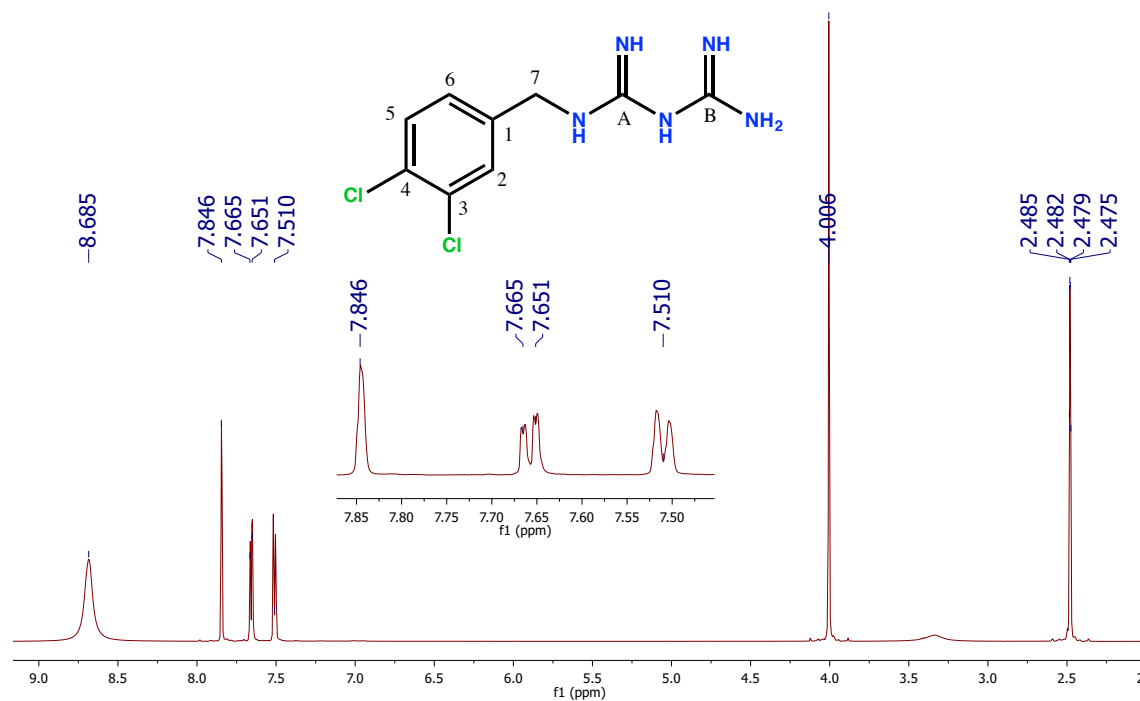


**Espectro 6. EM-EI del compuesto MCC-2**

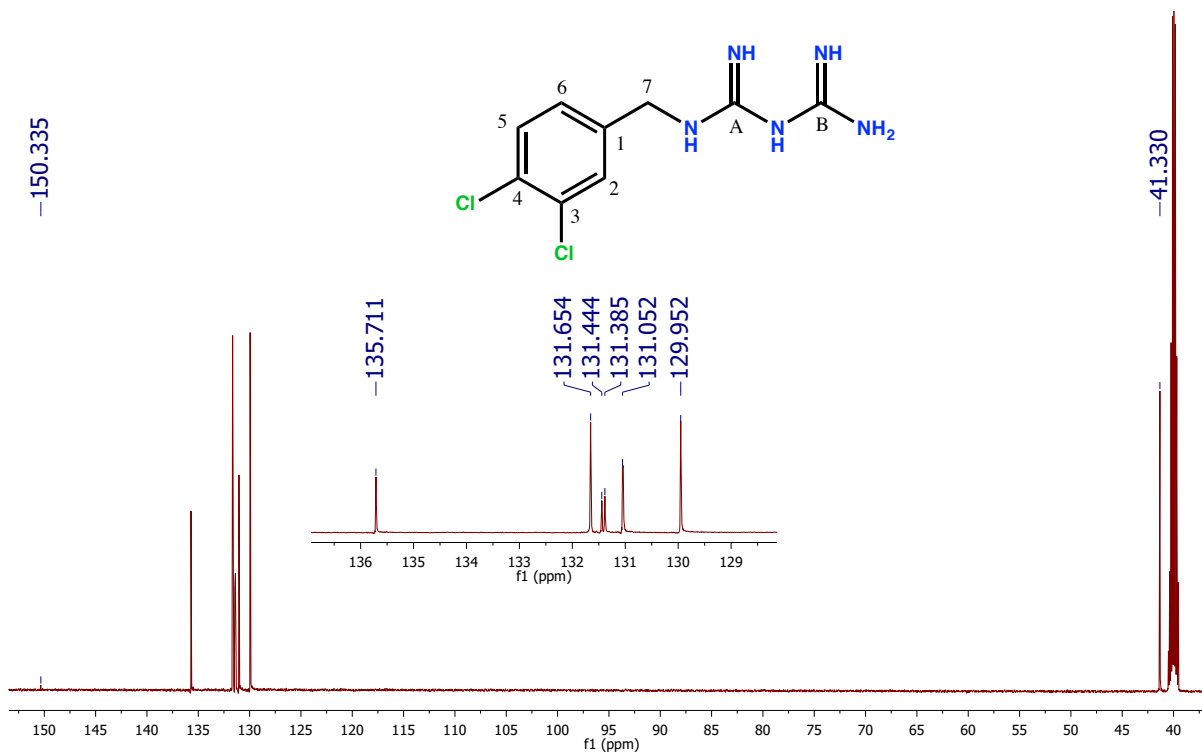
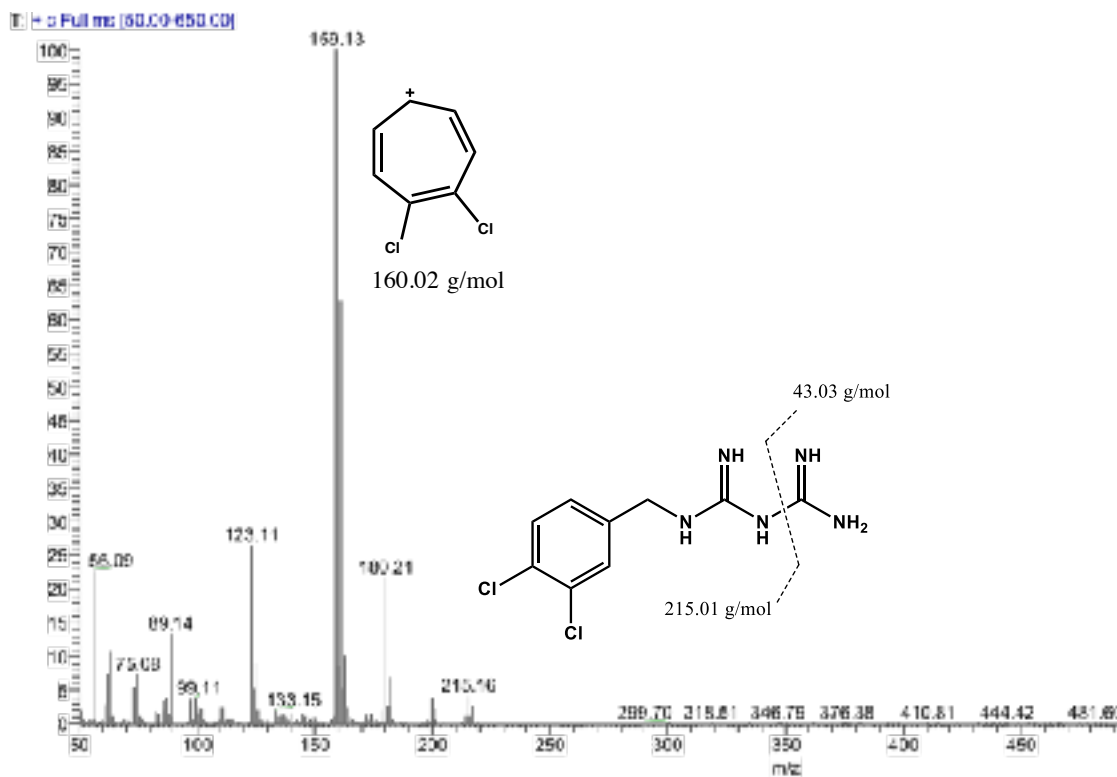
Espectro 7. RMN <sup>1</sup>H del compuesto MCC-3Espectro 8. RMN <sup>13</sup>C del compuesto MCC-3



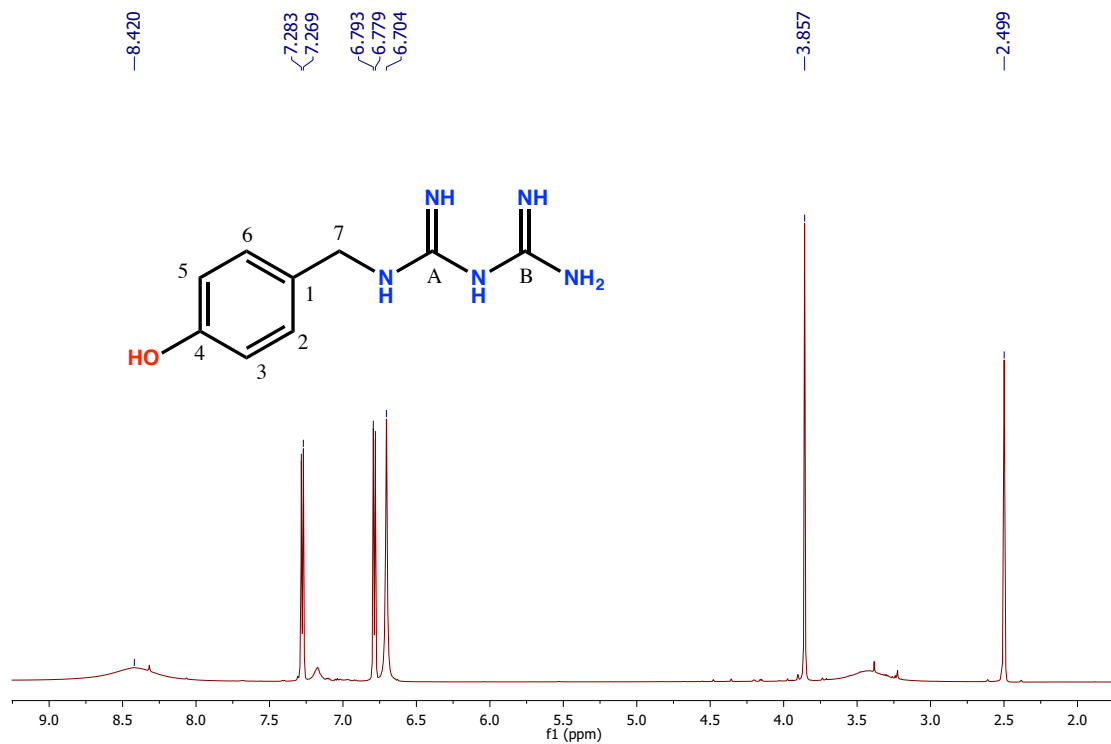
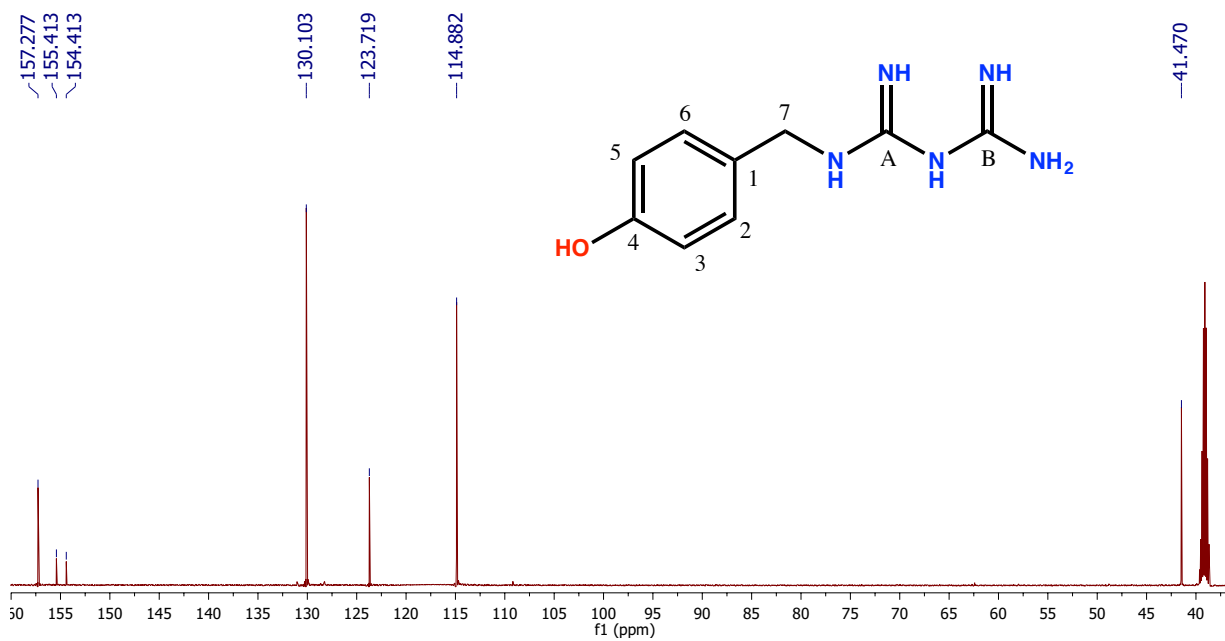
**Espectro 9. EM-IE del compuesto MCC-3**

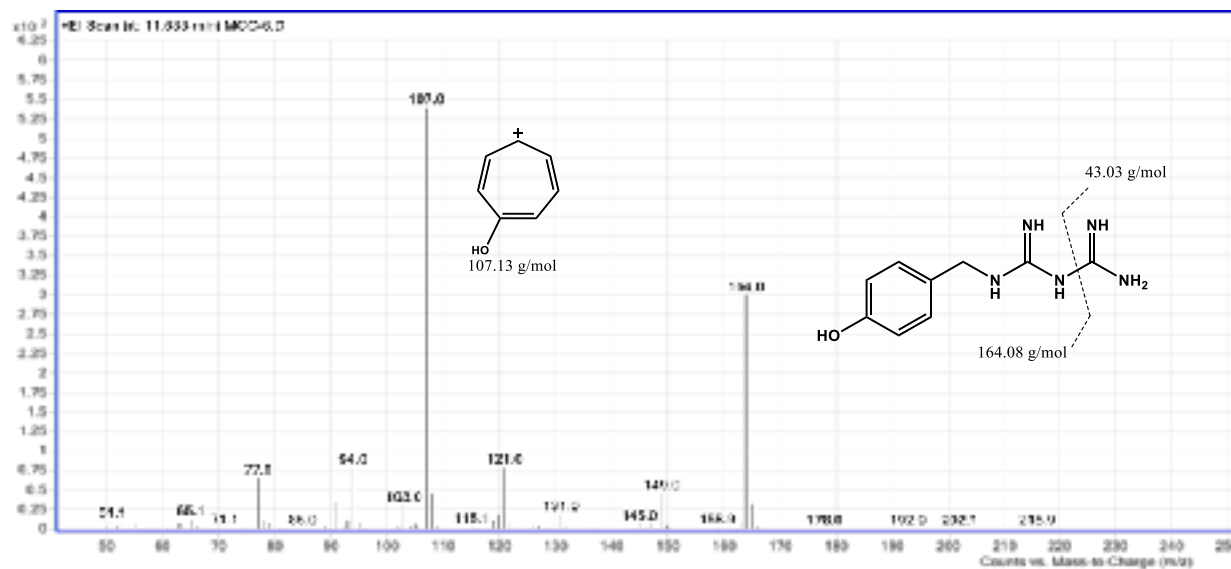


**Espectro 10. RMN <sup>13</sup>C del compuesto MCC-4**

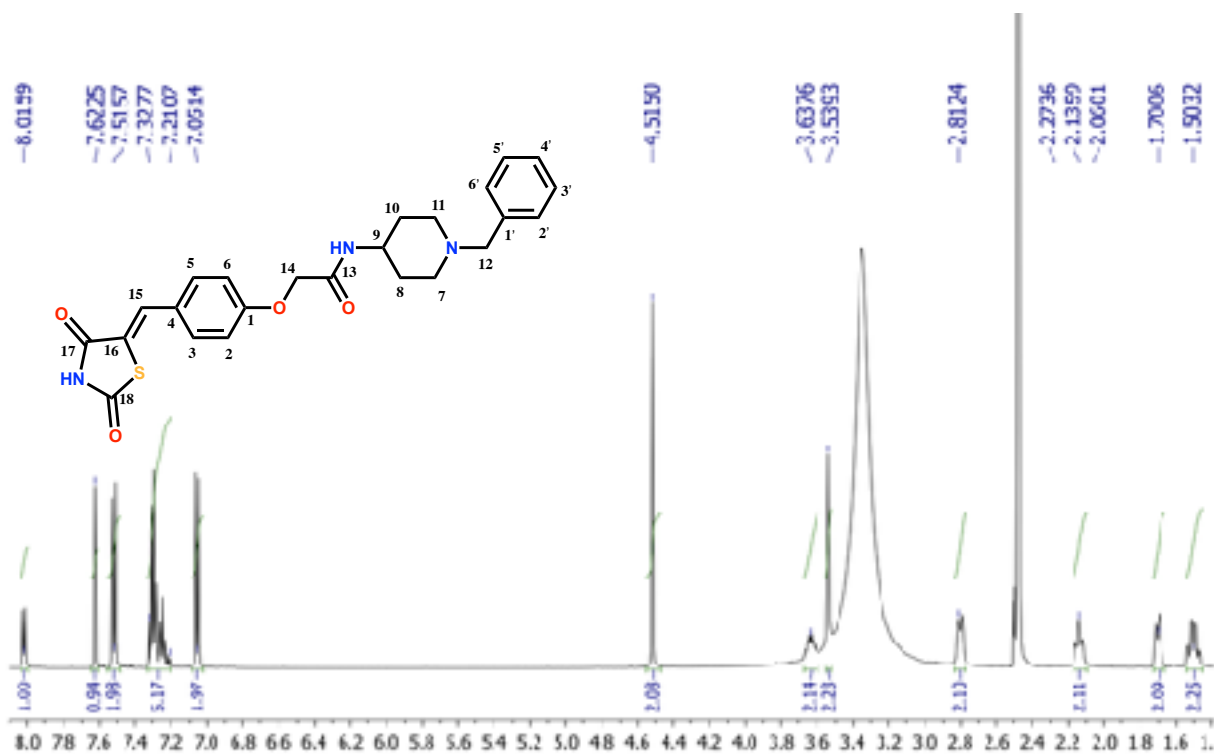
Espectro 11. RMN  $^{13}\text{C}$  del compuesto MCC-4

Espectro 12. EM-IE del compuesto MCC-4

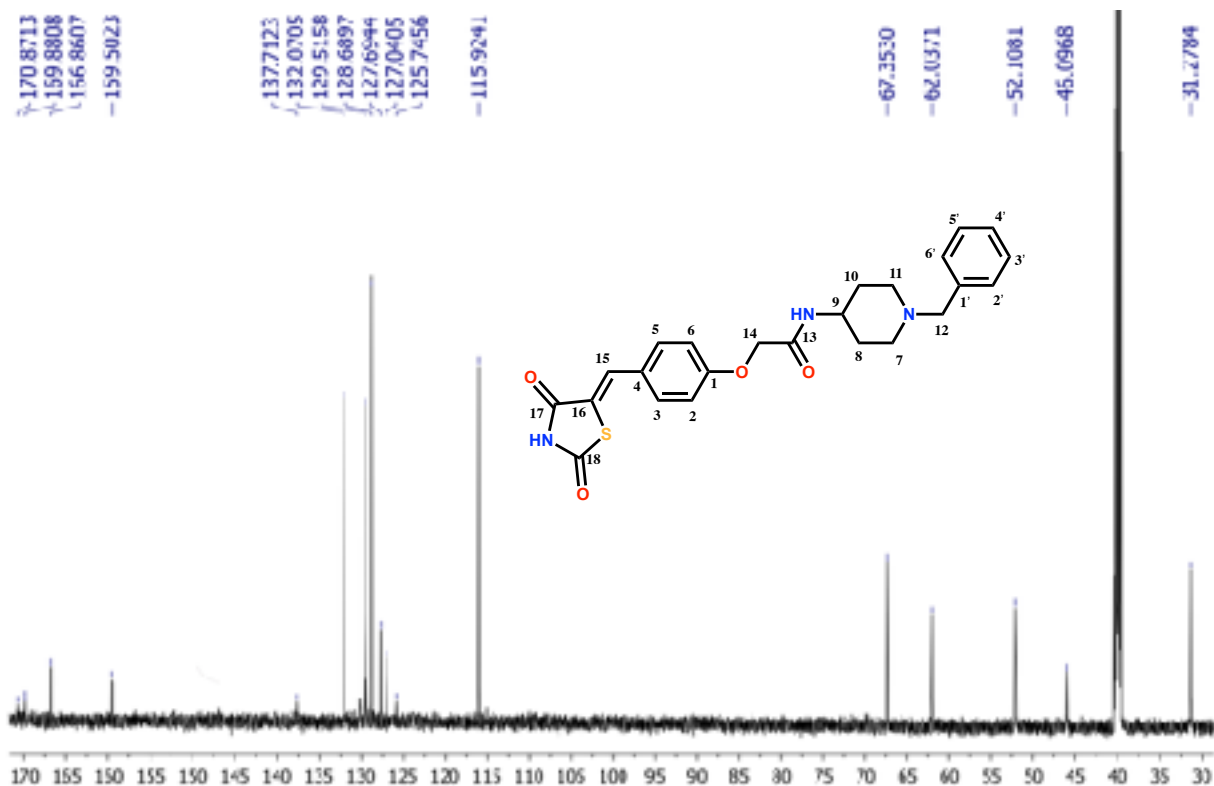
Espectro 13. RMN <sup>1</sup>H del compuesto MCC-5Espectro 14. RMN <sup>13</sup>C del compuesto MCC-5



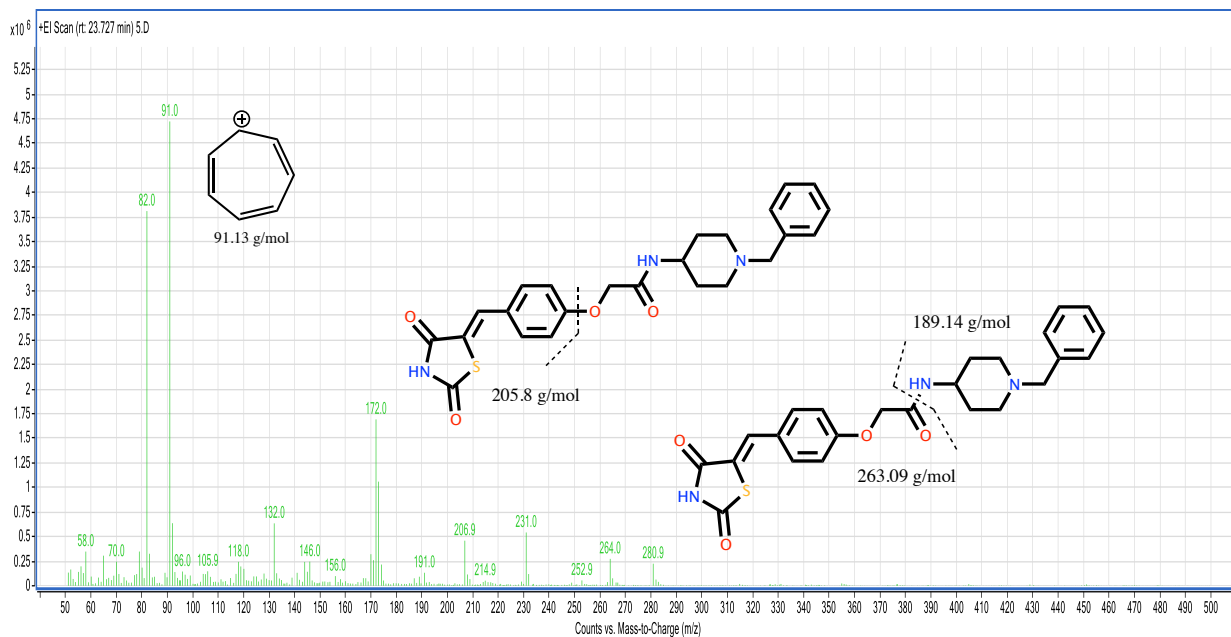
Espectro 15. EM-IE del compuesto MCC-5



Espectro 16. RMN <sup>1</sup>H del compuesto MCC-7

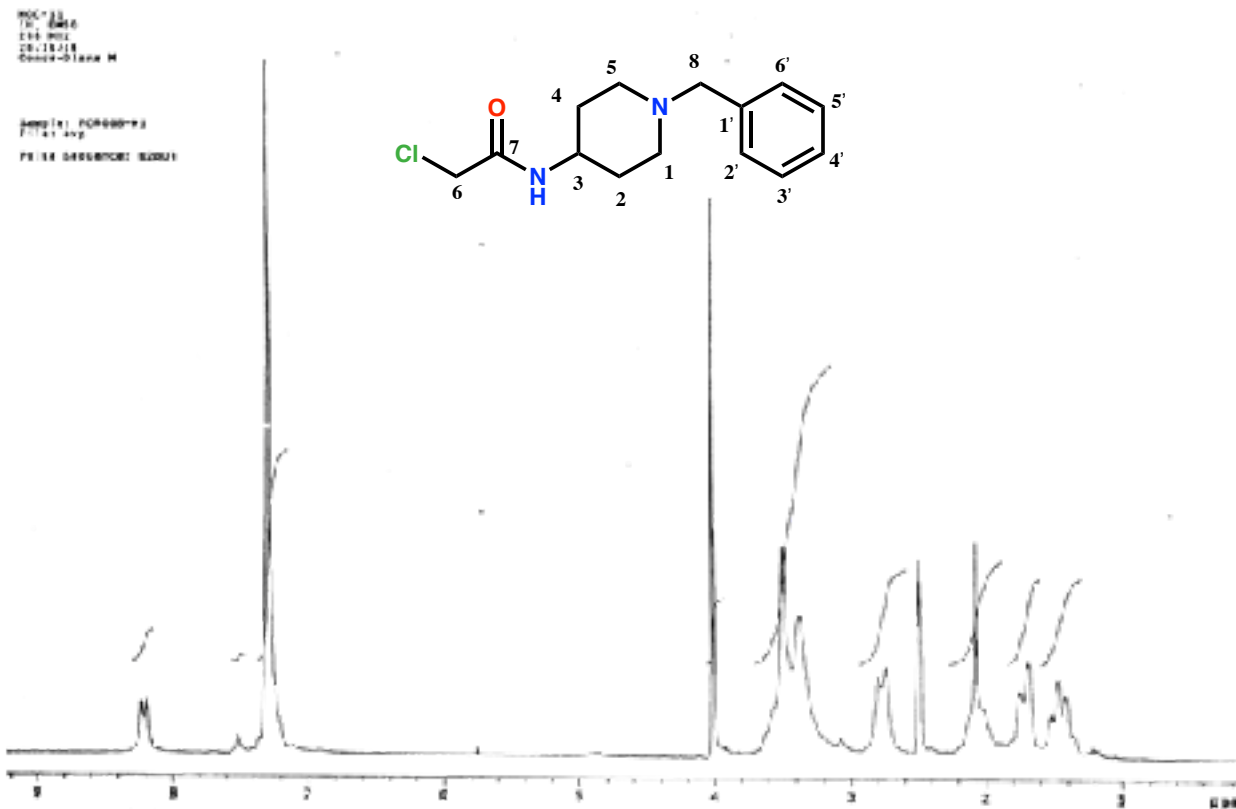


Espectro 17. RMN <sup>13</sup>C del compuesto MCC-7

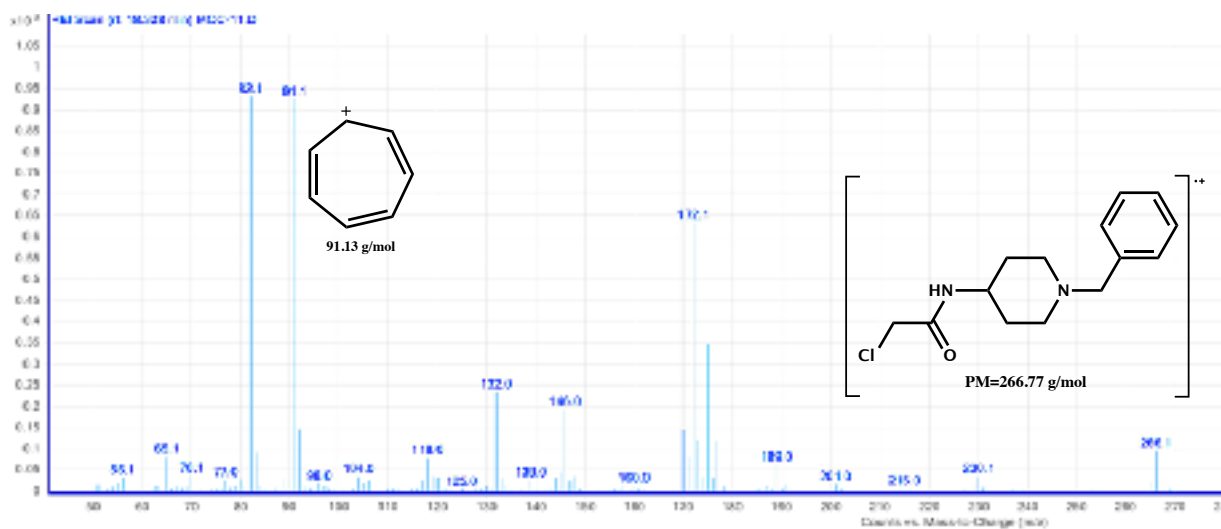


Espectro 18. EM-IE del compuesto MCC-7

## 12. ESPECTROS

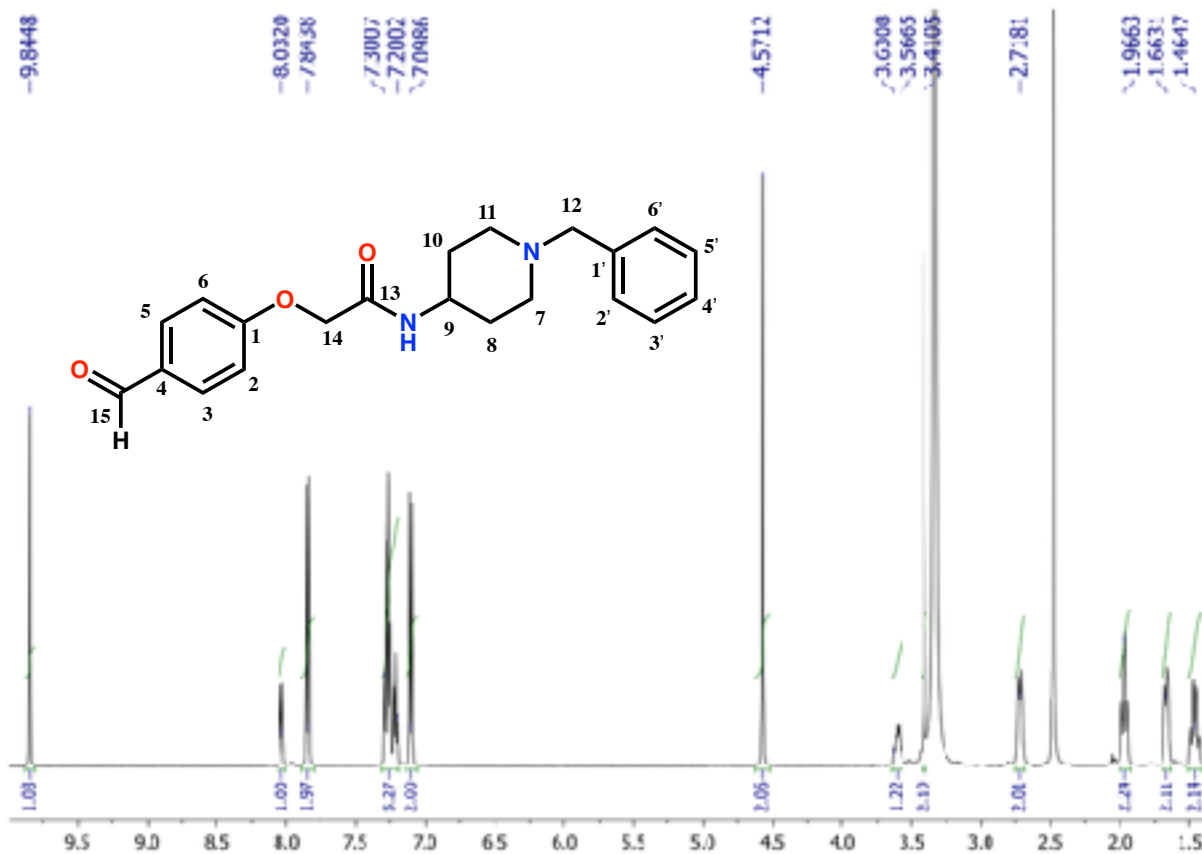


**Espectro 19.** RMN <sup>1</sup>H del compuesto precursor 14

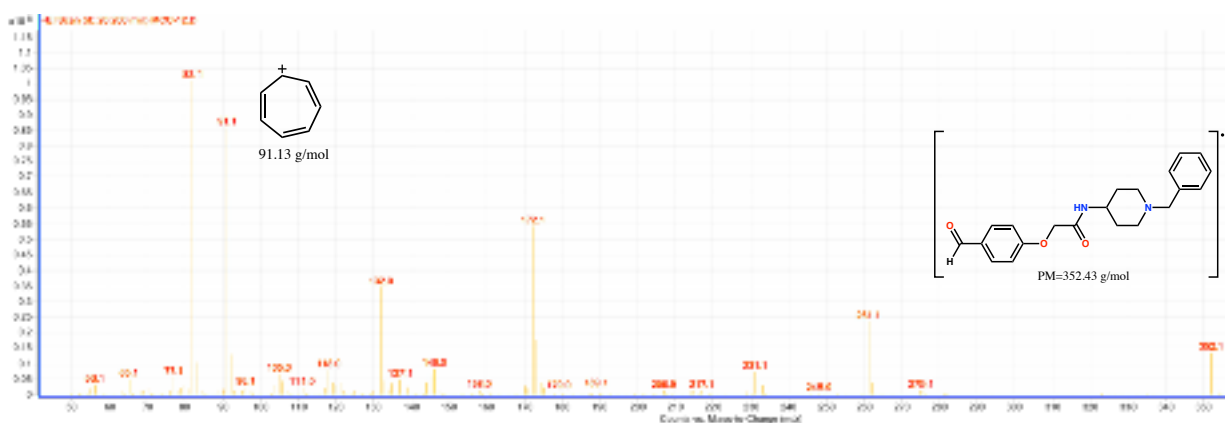


**Espectro 20.** EM-IR del compuesto precursor 14





Espectro 21. RMN <sup>1</sup>H del compuesto precursor 15



Espectro 22. EM-IE del compuesto precursor 15

## 13. REFERENCIAS

### Formato de cita: American Chemical Society (ACS)

1. H, Banoo.; N, Nusrat.; N, Nasir. Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Current Trends. *J. Med Sci* **2015**, *1(2)*, 50-57.
2. International Diabetes Federation, Diabetes Atlas Update 2017. <http://www.diabetesatlas.org> (Consultado el 20 de Noviembre de 2017).
3. Standards of Medical Care in Diabetes 2018. [http://care.diabetesjournals.org/content/41/Supplement\\_1](http://care.diabetesjournals.org/content/41/Supplement_1) (Consultado el 26 de enero de 2018).
4. Yao, F.; Zhang, M.; Chen, L. 5'-Monophosphate-Activated Protein Kinase (AMPK) Improves Autophagic Activity in Diabetes and Diabetic Complications. *Acta Petrol Sin B* **2015**, *6 (1)*, 20-15.
5. Rena, G.; Pearson, E. R.; Sakamoto, K. L. Molecular Mechanism of Action of Metformin: Old or New Insights?. *Diabetologia* **2013**, *56 (9)*, 1898-1906.
6. Coughlan, K. A.; Valentine, R. J.; Ruderman, N. B.; Saha, A. K. AMPK Activation: A Therapeutic Target for Type 2 Diabetes?. *Metab. Syndr. Obes. Targets Ther.* **2014**, *7*, 241–253.
7. Zhang, B. B.; Zhou, G.; Li, C. AMPK: An Emerging Drug Target for Diabetes and the Metabolic Syndrome. *Cell Metabolism* **2009**, *9(5)*, 407–416.
8. Okada-Iwabu, M.; Yamauchi, T.; Iwabu, M.; Honma, T.; Hamagami, K.; Matsuda, K.; Yamaguchi, M.; Tanabe, H.; Kimura-Someya, T.; Shirouzu, M.; Ogata, H.; Tokuyama, K.; Ueki, K.; Nagano, T.; Tanaka, A.; Yokoyama, S.; Kadowaki, T. A Small-Molecule AdipoR Agonist for Type 2 Diabetes and Short Life in Obesity. *Nature* **2013**, *503 (7477)*, 493–499.
9. Lim, S.; Quon, M. J.; Koh, K. K. Modulation of Adiponectin as a Potential Therapeutic Strategy. *Atherosclerosis* **2014**, *233 (2)*, 721–728.
10. World Health Organization. Diabetes. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/> (Consultado el 26 de enero del 2016).

11. Burlina, S.; Dalfrà, M. G.; Visentin, S.; Valentini, R.; Capovilla, F.; Lapolla, A. Team Management of Gestational Diabetes: A Training Experience. *Acta Diabetol.* **2017**, *1* (1).
12. Asociación, L. D. Guías ALAD sobre el Diagnostico, Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2 con Medicina Basada en Evidencia Edición 2013. [http://www1.paho.org/hq/dmdocuments/2010/Guias\\_ALAD\\_2009.pdf](http://www1.paho.org/hq/dmdocuments/2010/Guias_ALAD_2009.pdf) (Consultado el 10 de febrero del 2016).
13. Burlina, S.; Dalfrà, M. G.; Visentin, S.; Valentini, R.; Capovilla, F.; Lapolla, A. Team Management of Gestational Diabetes: A Training Experience. *Acta Diabetol.* **2017**, *1* (1).
14. Wu, Y.; Ding, Y.; Tanaka, Y.; Zhang, W. Risk Factors Contributing to Type 2 Diabetes and Recent Advances in the Treatment and Prevention. *Int. J. Med. Sci.* **2014**, *11* (11), 1185–1200.
15. Holt, R.; Cockram, C.; Flyvbjerg A.; Goldstein B., 5th ed. *Diabetes*; Wiley-Blackwell., **2017**.
16. Carulli, L.; Rondinella, S.; Lombardini, S.; Canedi, I.; Loria, P.; Carulli, N. Review Article: Diabetes, Genetics and Ethnicity. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2005**, *22* (2), 16–19.
17. Federación Mexicana de Diabetes. <http://fmdiabetes.org/el-diagnostico-de-la-diabetes-e-informacion-sobre-la-prediabetes/> (Consultado el 15 de agosto de 2017).
18. American Heart Association. [https://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/More/MetabolicSyndrome/About-Metabolic-Syndrome\\_UCM\\_301920\\_Article.jsp](https://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/More/MetabolicSyndrome/About-Metabolic-Syndrome_UCM_301920_Article.jsp) (Consultado el 16 de agosto de 2017).
19. Jouvett, N.; Estall, J. L. The Pancreas: Bandmaster of Glucose Homeostasis. *Exp. Cell Res.* **2017**, 351.
20. Gerich, J. E. Matching Treatment to Pathophysiology in Type 2 Diabetes. *Clin Ther.* **2001**, *23* (5), 646–659.
21. Do, O. H.; Thorn, P. Insulin Secretion from Beta Cells within Intact Islets: Location Matters. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **2015**, *42* (4), 406–414.
22. Cantley, J.; Ashcroft, F. M. Q&A: Insulin Secretion and Type 2 Diabetes: Why Do  $\beta$ -Cells Fail?. *BMC Biol.* **2015**, *13*, 1–7.
23. Mancini, A. D.; Poitout, V. The Fatty Acid Receptor FFA1/GPR40 a Decade Later: How Much Do We Know?. *Trends Endocrinol. Metab.* **2013**, *24* (8), 398–407.

24. Boucher, J.; Kleinridders, A.; Kahn, R. Insulin Receptor Signaling in Normal and Insulin-Resistant States. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **2014**, *6* (1), 1–23.
25. Alberto, J.; Reyes, O.; Arellano, A.; Resumen, P. Bases Moleculares de Las Acciones de La Insulina. *Rev. Educ. Bioquímica* **2008**, *27* (1), 9–18.
26. León-Pedroza, J. I.; González-Tapia, L. A.; Del Olmo-Gil, E.; Castellanos-Rodríguez, D.; Escobedo, G.; González-Chavez, A. Inflamación Sistémica de Grado Bajo Y Su Relación Con El Desarrollo de Enfermedades Metabólicas: De La Evidencia Molecular a La Aplicación Clínica. *Cir. Cir.* **2015**, *83* (6), 543–551.
27. Sishi, B.; Loos, B.; Ellis, B.; Smith, W.; du Toit, E. F.; Engelbrecht, A.-M. Diet-Induced Obesity Alters Signalling Pathways and Induces Atrophy and Apoptosis in Skeletal Muscle in a Prediabetic Rat Model. *Exp. Physiol.* **2011**, *96* (2), 179–193.
28. Asghar, A.; Sheikh, N. Role of Immune Cells in Obesity Induced Low Grade Inflammation and Insulin Resistance. *Cell. Immunol.* **2017**, *315*, 18–26.
29. León-Pedroza, J. I.; González-Tapia, L. A.; Olmo-Gil, E.; Castellanos-Rodríguez, D.; Escobedo, G.; Gonzáles-Chévez, A. Inflamación Sistémica de Grado Bajo Y Relación Con El Desarrollo de Enfermedades Metabólicas: De La Evidencia Molecular a La Aplicación Clínica. *Cir. Cir.* **2015**, *83* (6), 543–551.
30. Rodríguez-Rodríguez, E.; Perea, J. M.; López-Sobaler, a. M.; Ortega, R. M. Obesidad, Resistencia a La Insulina Y Aumento de Los Niveles de Adipoquinas: Importancia de La Dieta Y El Ejercicio Físico. *Nutr. Hosp.* **2009**, *24* (4), 415–421.
31. Tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención. <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/718GER.pdf> (Consultado el 28 de agosto del 2017).
32. Hollander, P. A Review of Type 2 Diabetes Drug Classes. *US Endocrinol.* **2008**, *4* (1), 58–61.
33. Tahrani, A. A.; Barnett, A. H.; Bailey, C. J. Pharmacology and Therapeutic Implications of Current Drugs for Type 2 Diabetes Mellitus. *Nat. Rev. Endocrinol.* **2016**, *12* (10), 566–592.
34. Alhadramy, M. S. Diabetes and Oral Therapies: A Review of Oral Therapies for Diabetes Mellitus. *J. Taibah Univ. Med. Sci.* **2016**, *11* (4), 317–329.

35. Krentz, A. *Drug Therapy for Type 2 Diabetes*, Springer: Henry Ling Ltd, Dorchester, UK **2012**.
36. Kahn, S. E.; Cooper, M. E.; Del Prato, S. Pathophysiology and Treatment of Type 2 Diabetes: Perspectives on the Past, Present, and Future. *Lancet* **2014**, *383* (9922), 1068–1083.
37. Pernicova, I.; Korbonits, M. Metformin Mode of Action and Clinical Implications for Diabetes and Cancer. *Nat. Rev. Endocrinol.* **2014**, *10* (3), 143–156.
38. Srivastava, R. A. K.; Pinkosky, S. L.; Filippov, S.; Hanselman, J. C.; Cramer, C. T.; Newton, R. S. AMP-Activated Protein Kinase: An Emerging Drug Target to Regulate Imbalances in Lipid and Carbohydrate Metabolism to Treat Cardio-Metabolic Diseases. *J. Lipid Res.* **2012**, *53* (12), 2490–2514.
39. Ruan, H.; Dong, L. Q. Adiponectin Signaling and Function in Insulin Target Tissues. *J. Mol. Cell. Biol.* **2016**, *8* (2), 101–109
40. Combs, T. P.; Marliss, E. B. Adiponectin Signaling in the Liver. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* **2014**, *15* (2), 137–147
41. Yamauchi, T.; Iwabu, M.; Okada-Iwabu, M.; Kadowaki, T. Adiponectin Receptors: A Review of Their Structure, Function and How They Work. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* **2014**, *28* (1), 15–23.
42. Okada-Iwabu, M.; Iwabu, M.; Ueki, K.; Yamauchi, T.; Kadowaki, T. Perspective of Small-Molecule AdipoR Agonist for Type 2 Diabetes and Short Life in Obesity. *Diabetes Metab. J.* **2015**, *39* (5), 363–372.
43. Okada-Iwabu, M.; Yamauchi, T.; Iwabu, M.; Honma, T.; Hamagami, K.; Matsuda, K.; Yamaguchi, M.; Tanabe, H.; Kimura-Someya, T.; Shirouzu, M. A Small-Molecule AdipoR Agonist for Type 2 Diabetes and Short Life in Obesity. *Nature* **2013**, *503* (7477), 493–499.
44. Gutierrez-Lara, E.; Martínez-Conde, C.; Rosales-Ortega, E.; José, J.; Rivera-Leyva, J. C.; Centurión, D.; Carvajal, K.; Ortega-Cuellar, D.; Estrada-soto, S.; Navarrete-Vázquez, G. Synthesis and in Vitro AMPK Activation of Cycloalkyl / Alkarylbiguanides with Robust In Vivo Antihyperglycemic Action. *J. Chem.* **2017**, *2017*, 1–17.
45. Di, L.; Kerns, E. H. 1st ed. *Drug-Like Properties: Concepts, Structure Design, and Methods: From ADME to Toxicity Optimization*; Academic Press: New York. **2008**

46. Gautieri, A.; Passini, F. S.; Silván, U.; Guizar-Sicairos, M.; Carimati, G.; Volpi, P.; Moretti, M.; Schoenhuber, H.; Redaelli, A.; Berli, M. Advanced Glycation End-Products: Mechanics of Aged Collagen from Molecule to Tissue. *Matrix Biol.* **2017**, *59*, 95–108.
47. Singh, R.; Barden, A.; Mori, T.; Beilin, L. Advanced Glycation End-Products: A Review. *Diabetologia* **2001**, *44* (2), 129–146.
48. Gkogkolou, P.; Bohm, M.; Böhm, M. Advanced Glycation end Products: Key Players in Skin Ageing?. *Dermatoendocrinol* **2012**, *4* (3), 259–270.
49. Morrison, R.; Boyd, R. 5th ed. *Química Orgánica*; Addison Wesley: Boston, **1998**.
50. Chang, R. 3rd ed. *General Chemistry: The Essential Concepts*; McGraw- Hill: Boston, **2003**.
51. E. J. Corey, X-M. Cheng. *The Logic of Chemical Synthesis*; Wiley, New York, **1995**,
52. PASS online. <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/> (Consultado el 16 de Febrero del 2016)
53. Filimonov, D. a.; Lagunin, a. a.; Glorizova, T. a.; Rudik, a. V.; Druzhilovskii, D. S.; Pogodin, P. V.; Poroikov, V. V. Prediction of the Biological Activity Spectra of Organic Compounds Using the Pass Online Web Resource. *Chem Heterocyc Compd* **2014**, *50* (3), 444–457.
54. OSIRIS. <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/> (Consultado el 16 de Febrero del 2016)
55. Cheng, F.; Li, W.; Zhou, Y.; Shen, J.; Wu, Z.; Liu, G.; Lee, P. W.; Tang, Y. AdmetSAR: A Comprehensive Source and Free Tool for Assessment of Chemical ADMET Properties. *J. Chem. Inf. Model.* **2012**, *52* (11), 3099–3105.
56. admetSAR. <http://lmmmd.ecust.edu.cn/admetSar1/> (Consultado el 16 de Febrero del 2016)
57. Adams, S. E. *Molecular Similarity and Xenobiotic Metabolism*. Ph. D. Thesis, University, Camdridge, Trinity College, **2010**.
58. Metaprint 2D. <http://www-metaprint2d.ch.cam.ac.uk> (Consultado el 20 de Febrero del 2016)
59. Medina-Franco, J. L.; Lopez-Vallejo, F.; Castillo, R. Diseño de Fármacos Asistidos Por Computadora. *Educ. Química* **2006**, *17*, 452–457.
60. Ferreira, L. G.; Dos Santos, R. N.; Oliva, G.; Andricopulo, A. D. Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules* **2015**, *20*(7), 13384-13421.

61. Goodsell, D. S.; Olson, A. J. Automated Docking of Substrates to Proteins by Simulated Annealing. *Proteins* **1990**, *8*, 195-202.
62. Trott, O.; Olson, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J. Comput. Chem.* **2010**, *31* (2), 455-461
63. Hassan, N. M.; Alhossary, A. A.; Mu, Y.; Kwoh, C.-K. Protein-Ligand Blind Docking Using QuickVina-W With Inter-Process Spatio-Temporal Integration. *Sci. Rep.* **2017**, *7* (1), 15451.
64. *Molecular Operating Environment (MOE)*, 2013.08; Chemical Computing Group ULC, 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, **2017**.
65. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.0 Schrödinger, LLC. <https://pymol.org/2/>
66. Dassault Systèmes BIOVIA, Discovery Studio Modeling Environment, Release **2017**, San Diego: Dassault Systèmes, **2016**.
67. Discovery Studio Modeling Environment. <http://accelrys.com/products/collaborative-science/biovia-discovery-studio/>
68. Hayashi, K.; Kojima, R.; Ito, M. Strain Differences in the Diabetogenic Activity of Streptozotocin in Mice. *Biol. Pharm. Bull.* **2006**, *29* (6), 1110–1119.
69. Chávez-Silva, F.; Cerón-Romero, L.; Arias-Durán, L.; Navarrete-Vázquez, G.; Almanza-Pérez, J.; Román-Ramos, R.; Ramírez-Pérez, G.; Rerea-Arango, I.; Villalobos-Molina, R.; Estrada-Soto, S. Antidiabetic effect of *Achillea millefolium* through multitarget interactions:  $\alpha$ -glucosidases inhibition, insulin sensitization and insulin secretagogue activities. *J. Ethnopharmacology*. **2017**, 212, 1-7.
70. Di, L.; Kerns, E. H. 2nd ed. *Drug-Like Properties: Concepts, Structure Design, and Methods: From ADME to Toxicity Optimization*; Academic Press: New York. **2016**; 552.
71. Formulario Modelo de la OMS 2004. <http://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Js5422s/> (Consultado el 4 de Octubre del 2017)
72. OECD, Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method, OECD Publishing, (2002) Paris.
73. Day, P.; Sharff, A.; Parra, L.; Cleasby, A.; Williams, M.; Hörer, S.; Nar, H.; Redemann, N.; Tickle, I.; Yon, J. Structure of a CBS-domain pair from the regulatory  $\gamma 1$  subunit of

- human AMPK in complex with AMP and ZMP. *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* **2007**, *63* (5), 587–596.
74. Tanabe, H.; Fujii, Y.; Okada-Iwabu, M.; Iwabu, M.; Nakamura, Y.; Hosaka, T.; Motoyama, K.; Ikeda, M.; Wakiyama, M.; Terada, T.; Ohsawa, N.; Hato, M.; Ogasawara, S.; Hino, T.; Murata, T.; Iwata, S.; Hirata, K.; Kawano, Y.; Yamamoto, M.; Kimura-Someya, T.; Shirouzu, M.; Yamauchi, T.; Kadowaki, T.; Yokoyama, S. Crystal structures of the human adiponectin receptors. *Nature* **2015**, *520* (7547), 312–316.





Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Química



Otorga la presente

**CONSTANCIA**

a:

Carlos Martínez-Conde, Gabriel Navarrete-Vázquez, Samuel Estrada-Soto,  
Emanuel Hernández-Núñez y Héctor Manuel-Torres

Por su participación en la realización y presentación del cartel:

**“Preparación y evaluación farmacológica de análogos de  
fenformina y AdipoRon”**

Durante el segundo simposio “Tendencias actuales en la búsqueda y desarrollo de fármacos” realizado los días 22 y 23 de junio de 2016 en la explanada del A de la Facultad de Química.



Dr. Andrés Navarrete Castro  
Jefe del Departamento de Farmacia

“Por mi raza hablará el espíritu”

Ciudad Universitaria, D.F. a 23 de junio de 2016



Dr. Alfonso S. Lira Rocha  
Comité Organizador



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



a:

**Carlos Martínez Conde, Emanuel Hernández Núñez  
Emanuel, Samuel E. Estrada Soto, J. Gabriel Navarrete  
Vázquez**



Por su participación en la presentación de trabajo libre en la modalidad de cartel con el título:

**Preparación y evaluación farmacológica in silico de análogos de fenformina**



durante el **12º Encuentro de Estudiantes de Licenciatura y Posgrado en Farmacia**, realizado  
en el marco del Día Mundial del Farmacéutico

en la Facultad de Farmacia de la UAEM, el día 29 de Septiembre de 2016.

«Por una Humanidad Culta»



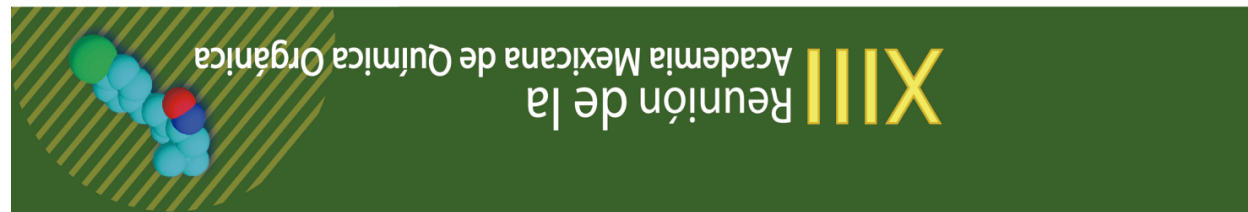
Sello Digital:

CF.IKPKUKcKHanHlha64hufnvuERK5.14WYHOuf.iisFzaLnrWYqw8ZRXA/HjOD9h/Hv4kpGxom6ZPLA8haQvNsgy  
MQINi.LBCdxkLIw2poIumi.kvIvMOADxa.lb20S9FFN8xpfS89zpwzTtKwBNEs/2TgCmKvxx2xdSI.BNpvvbfEHLDD0k=

M103816

Cuernavaca, Morelos, México





La Academia Mexicana de Química Orgánica



otorga la presente

# CONSTANCIA

a:

**Carlos Martínez Conde, Samuel Estrada Soto, Héctor Torres Gómez  
y Gabriel Navarrete Vázquez**

Por presentar el cartel:

**“Preparación y evaluación farmacológica *in silico* de homólogos inferiores  
de fenformina”**

En el marco de la XIII Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica.  
Del 3 al 7 de abril de 2017 en el Centro Internacional de Vinculación y Enseñanza,  
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

Villahermosa, Tabasco, a 6 de abril de 2017.

Dr. J. Martín Torres Valencia  
Presidente de la AMQO

AMQO17-C52



Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Química



Oforga el presente

## RECONOCIMIENTO

A:  
**Carlos Martínez Conde**

Por su participación en la exposición de carteles del Tercer Simposio de Tendencias Actuales en la Búsqueda y Desarrollo de Fármacos, con el tema titulado:

**Preparación y evaluación farmacológica in silico de homólogos inferiores de fenformina**

Realizado el día 15 de junio de 2017 en la Facultad de Química

"Por miraza hablará el espíritu"

Ciudad Universitaria, D.F. o 15 de junio de 2017.

  
Dr. Mariana Lira Rocha  
Comité Organizador

  
Dr. Andrés Navarrete Castro  
Jefe de Departamento de Farmacia



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS  
A través de la Facultad de Farmacia



Conociéndonos al servicio de la salud

*Hace constar que el*

## L.F. Carlos Martínez Conde

Participó en el ciclo de seminarios de la Facultad de Farmacia  
con la ponencia:

" Preparación y evaluación farmacológica de análogos  
de fenformina y adipoRon".

Cuernavaca, Morelos a 18 de agosto de 2017.

Dr. Ezequiel Hernández Baltazar  
Director de la Facultad de Farmacia

