



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

SÍNTESIS Y EVALUACIÓN DEL EFECTO
ANTINOCICEPTIVO DE BENZAMIDAS PIPERIDÍNICAS
Y MORFOLÍNICAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
M A E S T R O EN F A R M A C I A

P R E S E N T A:

L.F. LUIS ALBERTO MELO HERNÁNDEZ

Directores de Tesis

Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez
Dra. Myrna Déciga Campos

Fecha: 25 de enero de 2018

Asunto: jurado

Medio de notificación: Impresa/personal

Folio: FF/D/SAc/CIP/MF/010/2018

L.F. LUIS ALBERTO MELO HERNÁNDEZ
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 "**SÍNTESIS Y EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE BENZAMIDAS PIPERIDÍNICAS Y MORFOLÍNICAS**".

Quedando integrado su comité de la siguiente manera:

PRESIDENTE: Dr. Samuel Enoch Estrada Soto
SECRETARIO: Dra. Verónica Rodríguez López
VOCAL1: Dr. Sergio Nemorio Hidalgo Figueroa
VOCAL2: Dr. Víctor Barba López
VOCAL 3: Dra. María Eva González Trujano

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
mitv

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

AGRADECIMIENTOS

A CONACyT por otorgarme la beca (CVU/Becario 741522) para la realización de este proyecto, así como el apoyo otorgado para el proyecto de investigación para la educación en ciencia básica 2015, número 253814.

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 Núñez** del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN Unidad Mérida, al Dr. **Héctor Manuel Torres** del Instituto de Química y Química Biológica (ICBC) en Wädenswil, Suiza y al Dr. **Carlos Alejandro Nava Zuazo** de APOTEX, Jiutepec, Morelos, por la colaboración en la obtención de los espectros de los análisis espectroscópicos y espectrométricos.

Al Dr. **Francisco Javier López Muñoz** y al Dr. **Josué Vidal Espinoza** del Departamento de Farmacología del Cinvestav sede-Coapa del Instituto Politécnico Nacional (IPN) por la colaboración de los ensayos *in vivo*.

A la Dra. **María Eva González Trujano** y al QFB. **Omar Guadarrama Enríquez** del Instituto Nacional de Psiquiatría Dr. Ramón de la Fuente Muñiz, por el apoyo brindado en el aprendizaje de diferentes modelos de ensayo de dolor.

Al comité revisor de tesis: Dr. **Samuel Enoch Estrada Soto**, Dra. **Verónica Rodríguez López**, Dr. **Sergio Nemorio Hidalgo Figueroa**, Dr. **Víctor Barba López** y la Dra. **María Eva González Trujano** por sus observaciones y aportaciones, pero sobre todo por el valioso tiempo que emplearon para la revisión de este proyecto.

Agradecimiento especial:

A la Dra. **Myrna Déciga Campos** por permitirme formar parte de su grupo de trabajo, sus enseñanzas, observaciones que permitieron mejorar este trabajo, el tenerme una gran paciencia y sobre todo permitirme acercarme a ella como un amigo.

Al Dr. **Gabriel Navarrete Vázquez** por permitirme una vez más formar parte de su grupo de trabajo. Ya que me orilló al gusto de la Química Farmacéutica enseñándome que “El conocimiento solo sirve si se comparte” ese es un buen maestro, muchas gracias por todo!!!

DEDICATORIAS

A mis padres:

J. Arturo Melo Ramos y **M. Guadalupe Hernández Méndez** por apoyarme nuevamente ahora en esta etapa de mi vida su apoyo incondicional y apoyo económico. Estoy infinitamente agradecidos con ustedes y quiero compartirles esta felicidad que siento, de todo corazón les doy mil gracias, y como lo dije en licenciatura, ¡LOS AMO PADRES SON LO MEJOR!

A mis Hermanos:

A **Paola, Arturo** y **Juan** por apoyarme en todo y para todo, son parte fundamental de la persona quien hoy soy, mostrándome que tenemos que sonreír siempre a la vida y levantarnos las veces que sean necesarias. Por todo esto y más los quiero mucho Carnalitos.

Amigos y familiares:

A mis sobrinos latosos, que siempre me han trasmitido su sonrisa preciosa haciendo olvidar todos los problemas; a mi primo **Lalo** que ahora paso a ser mi hermano menor, a mi padrino **Jesús** que en ocasiones actúa como un segundo padre.

A mis compañeros y amigos de carrera:

Gracias a ustedes me he pasado la maestría de lo mejor, muchas gracias por compartir este bello trayecto en mi vida; a **Elix, Blankish, Mike, Thaly, Clavs, Edgar, Genaro, Bris, Yelz, Josué, Cris, Norma, Abril, Kary y Jorge** (L-5).
Nemo, Omar G. Marianita, Klaret y Josue V (foráneos).

Mis mejores amigos **Diana, Conde** y **Pablo**. Muchas gracias por estar conmigo en las buenas y en las malas, por sacarme mis carcajadas, apoyarme incondicionalmente en todo; porque personas como ustedes no se encuentran rápido, ya que ustedes son y serán mis mejores amigos de por vida.

A Mi esposa:

A mi adorable y hermosa Esposita (**María Concepción Ocampo Morales**) tu que fuiste pieza fundamental para la decisión de entrar al posgrado, tu que eres mi enfermera personal, siempre has estado conmigo en las buenas y en las malas, por tus buenos consejos para no derrumbarme, gracias por compartir tu vida con la mía, te dedico este trabajo con todo mi amor y mucho cariño, porque "TE AMO"
13/enero/2018.

ABREVIATURAS

ATP	Adenosín trifosfato
CaMK	Ca ²⁺ /proteína quinasa dependiente de calmodulina
CCI	Constricción del nervio ciático
CDR	Curva Dosis-Respuesta
cLogP	Logaritmo del coeficiente de partición calculado
CYP450	Citocromo P 450
d	Doblete
dd	Doble de dobles
DL ₅₀	Dosis letal media
DMSO- δ	Dimetilsulfóxido deuterado
EM	Espectrometría de masas
GABA	Ácido γ -aminobutírico
Halo	Haloperidol
hERG	Gen Humano relacionado con el movimiento a-go-go provocado por éter
Hz	Hertz
i.p.	Intraperitoneal
i.v.	Intravenosa
IASP	International Association for the Study of Pain
IE	Impacto electrónico
<i>J_m</i>	Constante de acoplamiento posición meta
JNK	Cinasa N-terminal JUN
<i>J_o</i>	Constante de acoplamiento posición orto
<i>K_i</i>	Constante de afinidad
kDa	Kilo Dalton
m	Multiplete
MAPK	Proteínas cinasas activadas por mitógeno
MHz	Mega hertz
NGF	Factor de crecimiento nervioso
NMDA	<i>N</i> -metil- <i>D</i> -aspartato
OECD	Organización para Cooperación y el Desarrollo Económico
PI3K	Fosfoinositol 3-quinasa
PKA	Proteína quinasa A
PKC	Proteína quinasa C
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMSD	Desviación de la raíz cuadrada media de las poblaciones atómicas
s	Singulete
S1RA	Antagonista del receptor sigma-1
SAR	Relación estructura-actividad
SNC	Sistema nervioso central
SNP	Sistema nervioso periférico
t	Triplete
TRPV	Receptor de potencial transitorio V1
σ_1	Sigma-1

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE ESPECTROS	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
COMPUESTOS SINTETIZADOS	xvi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 Dolor neuropático	2
2.1.1 Epidemiología	4
2.1.2 Mecanismos de neurotransmisión	4
2.1.3 Tratamiento	10
2.2 Receptores σ	15
2.2.1 Historia	15
2.2.2 El receptor σ_1	16
2.2.2.1 Co-cristalización química	16
2.2.2.2 Activación molecular (Role)	18
2.3 Moléculas endógenas agonistas y antagonistas del receptor σ_1	20
2.4 Moléculas exógenas agonistas y antagonistas del receptor σ_1	21
2.4.1 Antagonista del receptor σ_1 (S1RA o E-52862)	21
2.4.2 <i>N</i> -[2-(morfolin-4-il)etil]-2-(naftalen1-iloxi)acetamida (NMIN)	22
2.4.1 2-(3,4-diclorofenoxi)- <i>N</i> -(2-morfolin-4-ilet)acetamida (AAO-1)	22
2.4.4 Haloperidol	23
2.4.4.1 Química, Farmacocinética y Farmacodinamia del Haloperidol	23
3. JUSTIFICACIÓN	25
4. HIPÓTESIS	26
5. OBJETIVOS	26
5.1 Objetivo general	26

5.2 Objetivos específicos.....	26
6. CONSIDERACIONES QUÍMICO-FARMACÉUTICAS PARA EL DISEÑO	
MOLECULAR.....	27
6.1 Diseño de los compuestos	27
6.2 Interacción molecular ligando proteína (Haloperidol → σ_1)	28
6.3 Reglas de Lipinski y Veber en el diseño de los compuestos con actividad biológica.	31
7. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	33
7.1 PARTE QUÍMICA	34
7.1.1 Retro-síntesis de los compuestos.....	34
7.1.2 Metodología general para la síntesis de los compuestos de <i>N</i> -(1-Bencilpiperidin-4-il)benzamida (LMH 1-3)	35
7.1.3 Metodología general para la síntesis de los compuestos de <i>N</i> -1-Dibencilpiperidin-4-amina (LMH 4-6).....	35
7.2 PARTE COMPUTACIONAL (<i>in silico a priori</i>)	36
7.2.1 Herramienta como predictor de dianas terapéuticas (SwissTarget Prediction)	36
7.2.2 Software como herramienta predictiva de toxicidad aguda (ACD/ToxSuite)	37
7.2.3 Predicción de las propiedades quasi-fármaco (OSIRIS).....	37
7.2.4 MetaPrint2D-React como predictor del sitio metabólico	38
7.2.5 Predictor de parámetros farmacocinéticos y toxicidad (admetSAR)...	39
7.3 EVALUACIÓN <i>in vitro</i>	40
7.3.1 Ensayo de unión para el receptor σ_1 (<i>binding</i>).....	40
7.4 EVALUACIÓN <i>in vivo</i>	40
7.4.1 Animales.....	40
7.4.2 Cirugía del nervio ciático	41
7.4.3 Evaluación de alodinia e hiperalgesia	41
7.4.4 Diseño experimental.....	42
7.4.5 Análisis estadísticos	42
7.5 ACOPLAMIENTO MOLECULAR "Docking" (<i>in silico a posteriori</i>).....	43

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
8.1 PARTE QUÍMICA	45
8.1.1 Síntesis de <i>N</i> -(1-Bencilpiperidin-4-il)benzamida (LMH-1)	45
8.1.2 Síntesis de <i>N</i> -(1-Bencilpiperidin-4-il)-4-fluorobenzamida (LMH-2)	48
8.1.3 Síntesis de <i>N</i> -(1-Bencilpiperidin-4-il)-2,4-diclorobenzamida (LMH-3)	51
8.1.4 Síntesis de <i>N</i> ,1-Dibencilpiperidin-4-amida (LMH-4)	54
8.1.5 Síntesis de 1-Bencil- <i>N</i> -(4-fluorobencil)piperidin-4-amina (LMH-5)	57
8.1.6 Síntesis de 1-Bencil- <i>N</i> -(2,4-diclorobencil)piperidin-4-amina (LMH-6)	60
8.2 PARTE COMPUTACIONAL (<i>In silico</i>)	64
8.2.1 Predicción de dianas terapéuticas de los compuestos LMH 1-6 con el programa SwissTarget	64
8.2.2 Predicción de propiedades de los cuasi-fármacos con el programa OSIRIS	65
8.2.3 Propiedades admetSAR de los compuestos LMH 1-6	66
8.2.4 Predicción toxicológica de los compuestos LMH 1-6 mediante el programa ACD/ToxSuite.	67
8.2.5 Predicción de metabolitos y sitios metabolizables por MetaPrint2D-React	70
8.3 EVALUACIÓN <i>in vitro</i>	72
8.3.1 Eficiencia del ligando para los compuestos LMH 1-6	74
8.4 ACOPLAMIENTO MOLECULAR “Docking” (<i>in silico a posteriori</i>)	77
8.4.1 Acoplamiento molecular de Haloperidol sobre el receptor σ_1	77
8.4.2 Acoplamiento molecular de S1RA sobre el receptor σ_1	78
8.4.3 Acoplamiento molecular de LMH 1-3 sobre el receptor σ_1	79
8.4.4 Acoplamiento molecular de LMH 4-6 sobre el receptor σ_1	80
8.5 Análisis de consenso Farmacológico	81
8.6 EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIALODÍNICO Y ANTIHIPERALGÉSICO <i>in vivo</i> DEL COMPUESTO LMH-2	83
8.6.1 Pruebas conductuales	83
8.6.2 Comparación del efecto antialodínico y antihiperalgésico de LMH-2 y gabapentina	88

9. CONCLUSIONES	91
10. PERSPECTIVAS	92
11. PARTE EXPERIMENTAL	93
11.1 Instrumentación.....	93
11.2 Parte química	94
11.2.1 Síntesis de <i>N</i> -(1-bencilpiperidin-4-il)benzamida (LMH-1).....	94
11.2.2 Síntesis de <i>N</i> -(1-bencilpiperidin-4-il)-4-fluorobenzamida (LMH-2) ...	95
11.2.3 Síntesis de <i>N</i> -(1-bencilpiperidin-4-il)-2,4-diclorobenzamida (LMH-3)	96
11.2.4 Síntesis de <i>N</i> ,1-dibencilpiperidin-4-amida (LMH-4)	97
11.2.5 Síntesis de 1-bencil- <i>N</i> -(4-fluorobencil)piperidin-4-amina (LMH-5)....	98
11.2.6 Síntesis de 1-bencil- <i>N</i> -(2,4-diclorobencil)piperidin-4-amina (LMH-6)	99
12. ESPECTROS	100
13. REFERENCIAS Y FUENTES DE INFORMACIÓN CONSULTADAS	118
14. ANEXOS	126

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación de alodinia e hiperalgesia como respuesta de una lesión	3
Figura 2. Sensibilización periférica	5
Figura 3. Sensibilización central	7
Figura 4. Señal mediada por los receptores de NMDA	8
Figura 5. Esquema general de la sensibilización central	9
Figura 6. Escala de EVA, que va de 0 (sin dolor) a 10 (máximo dolor)	10
Figura 7. Receptor σ_1 co-cristalizado (izquierda), Receptor σ_2 (derecha)	15
Figura 8. Ligando PB144418 (A), 4-IBT (B).....	18
Figura 9. Localización sub-celular del receptor σ_1	18
Figura 10. Role del receptor σ_1	20
Figura 11. Neuroesteroides, ligandos endógenos del receptor σ_1	20
Figura 12. Ligandos exógenos del receptor σ_1 (Agonistas).....	21
Figura 13. Antagonista selectivo de los receptores σ_1 (S1RA por sus siglas en inglés “ <i>Sigma-1 Receptor Antagonist</i> ”).....	21
Figura 14. Antagonista del receptor σ_1 NMIN	22
Figura 15. Antagonista del receptor σ_1 AAO-1	22
Figura 16. Haloperidol	23
Figura 17. Haloperidol con grupos importantes para la afinidad al receptor σ_1	27
Figura 18. Diseño de estructuras basados en el fármaco Haloperidol, LMH 1-6 ..	28
Figura 19. Visualización en 3D y 2D de haloperidol (Azul) en el sitio de unión del receptor σ_1	28
Figura 20. Modelo farmacofórico para ligandos selectivos σ_1	29
Figura 21. Modelo farmacofórico propuesto por Glennon	30
Figura 22. Multialineación y distancias mostradas por Haloperidol y los compuestos LMH 1-3	30
Figura 23. Programa Molinspiration Cheminformatics online (http://www.molinspiration.com).....	32
Figura 24. Ruta retrosintética de la serie 1-3	34

Figura 25. Ruta retrosintética de la serie 4-6	34
Figura 26. Síntesis de los productos finales 1-3 , derivados piperidínicos.	35
Figura 27. Síntesis de los productos finales 4-6 , derivados bencilpiperadínicos...	36
Figura 28. Programa Swisstarget Prediction.	36
Figura 29. Programa de ACD/ToxSuite.	37
Figura 30. Programa OSIRIS (http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/)	38
Figura 31. Programa MetaPrint2d (http://www-metaprint2d.ch.cam.ac.uk/).	39
Figura 32. Programa admetSAR (http://lmmd.ecust.edu.cn:8000/).	39
Figura 33. Preparación del estudio <i>in vivo</i> en ratas Wistar.....	42
Figura 34. Ligando con el cual fue co-cristalizada el receptor σ_1 (ID: 5HK2).....	44
Figura 35. Síntesis del compuesto LMH-1	45
Figura 36. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto LMH-1	46
Figura 37. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) del compuesto LMH-1	47
Figura 38. Espectro de masas de LMH-1 con 295 m/z.	47
Figura 39. Síntesis del compuesto LMH-2	48
Figura 40. Espectro de RMN ^1H (600 MHz) del compuesto LMH-2	49
Figura 41. Espectro de RMN ^{13}C (150 MHz, a) acoplado y b) predictivo) del compuesto LMH-2	50
Figura 42. Espectro de masas (IE) del compuesto LMH-2	50
Figura 43. Síntesis del compuesto LMH-3	51
Figura 44. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto LMH-3	52
Figura 45. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) del compuesto LMH-3	53
Figura 46. Espectro de masas (IE) del compuesto LMH-3	53
Figura 47. Síntesis del compuesto LMH-4	54
Figura 48. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) del compuesto LMH-4	55
Figura 49. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) del compuesto LMH-4	56
Figura 50. Espectro de masas (IE) del compuesto LMH-4	56
Figura 51. Síntesis del compuesto LMH-5	57
Figura 52. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) del compuesto LMH-5	58
Figura 53. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) del compuesto LMH-5	59
Figura 54. Espectro de masas (IE) del compuesto LMH-5	59

Figura 55. Síntesis del compuesto LMH-6	60
Figura 56. Espectro de RMN ¹ H (400 MHz) del compuesto LMH-6	61
Figura 57. Espectro de RMN ¹³ C (150 MHz) del compuesto LMH-6	62
Figura 58. Espectro de masas (IE) del compuesto LMH-6	62
Figura 59. Metabolitos y sitio del metabolismo del compuesto LMH-1	70
Figura 60. Metabolitos y sitio del metabolismo del compuesto S1RA	71
Figura 61. Metabolitos y sitio del metabolismo del compuesto Haloperidol	71
Figura 62. Visualización en 3D y 2D del confórmero Haloperidol en el sitio de unión del receptor σ_1	77
Figura 63. Visualización en 3D y 2D del confórmero S1RA en el sitio de unión del receptor σ_1	78
Figura 64. Visualización 2D de a) LMH-1 , b) LMH-2 y c) LMH-3 con el sitio activo del receptor σ_1	79
Figura 65. Visualización 2D de a) LMH-4 , b) LMH-5 y c) LMH-6 con el sitio activo del receptor σ_1	80
Figura 66. Efecto alodínico determinado mediante un estímulo frío con acetona y efecto hiperalgésico establecido con un estímulo mecánico	84
Figura 67. Curso temporal del efecto antialodínico y antihiperalgésico de la administración de LMH-2 en ratas con CCI	87
Figura 68. Curva dosis respuesta (CDR) del efecto antihiperalgésico y antialodínico de la administración de LMH-2 y de gabapentina	90

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fármacos de uso frecuente en el tratamiento de dolor neuropático	13
Tabla 2. Valores de las reglas de Lipinski y Veber	32
Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas de los compuestos.....	63
Tabla 4. Predicción de dianas terapéuticas para los compuestos LMH 1-6, S1RA y Haloperidol	64
Tabla 5. Propiedades toxicológicas, cuasi-fármaco y calificaciones como fármaco de los compuestos finales LMH 1-6, S1RA y Haloperidol	65
Tabla 6. Resultados predictivos por admetSAR para los compuestos LMH 1-6, S1RA y haloperidol	66
Tabla 7. Bloqueo de canales hERG	68
Tabla 8. Probabilidad de inhibición de las isoformas del CYP450	69
Tabla 9. Probabilidad de toxicidad aguda de los compuestos	69
Tabla 10. Clasificación de toxicidad de la OECD.....	70
Tabla 11. Afinidad de los compuestos LMH 1-6, S1RA y haloperidol sobre el receptor σ_1	72
Tabla 12. Valores de LE para los compuestos LMH 1-6, S1RA y haloperidol con actividad analgésica.	76
Tabla 13. Correlación de resultados <i>in vitro</i> e <i>in silico</i>	81
Tabla 14. Análisis de consenso farmacológico de diferentes programas computacionales.....	82
Tabla 15. Sistemas utilizados como fase móvil para CCF	93

ÍNDICE DE ESPECTROS

Espectro 1. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto LMH-1	100
Espectro 2. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) del compuesto LMH-1	101
Espectro 3. Espectro de masas de LMH-1 con 295 m/z.	102
Espectro 4. Espectro de RMN ^1H (600 MHz) del compuesto LMH-2	103
Espectro 5. Espectro de RMN ^{13}C (150 MHz) del compuesto LMH-2	104
Espectro 6. Espectro de masas (IE) del compuesto LMH-2	105
Espectro 7. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto LMH-3	106
Espectro 8. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) del compuesto LMH-3	107
Espectro 9. Espectro de masas (IE) del compuesto LMH-3	108
Espectro 10. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) del compuesto LMH-4	109
Espectro 11. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) del compuesto LMH-4	110
Espectro 12. Espectro de masas (IE) del compuesto LMH-4	111
Espectro 13. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) del compuesto LMH-5	112
Espectro 14. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, del compuesto LMH-5	113
Espectro 15. Espectro de masas (IE) del compuesto LMH-5	114
Espectro 16. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) del compuesto LMH-6	115
Espectro 17. Espectro de RMN ^{13}C (150 MHz) del compuesto LMH-6	116
Espectro 18. Espectro de masas (IE) del compuesto LMH-6	117

RESUMEN

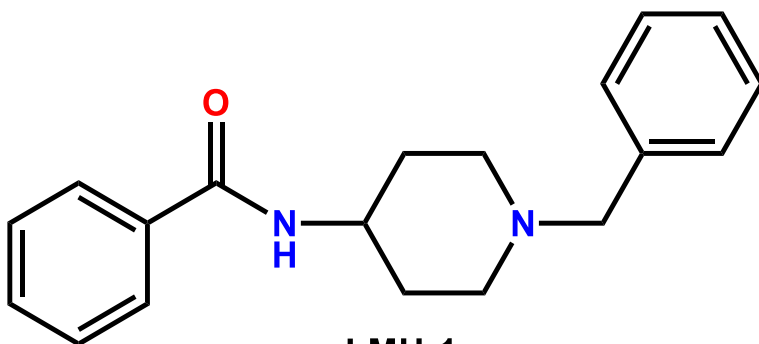
El dolor neuropático es un padecimiento en diversas enfermedades, y es un problema de Salud Pública que afecta ampliamente a diversos sectores de la población, representando en la actualidad implicaciones económicas y sociales relevantes. Existen diversos grupos de fármacos para tratar dicho padecimiento, pero hoy en día no cubren con las expectativas terapéuticas, actuando con baja eficacia o provocando tolerancia en su uso crónico, disminuyendo la calidad de vida de los pacientes. Por esto es necesaria la investigación en el desarrollo de nuevas moléculas que ofrezcan alternativas terapéuticas para tratar dicho padecimiento. En este contexto, se eligió al haloperidol, un neuroléptico que ha demostrado efecto antinociceptivo en un modelo de dolor neuropático en estudios farmacológicos, el cual posee una alta afinidad hacia los receptores σ_1 actuando como antagonista. En este trabajo se describe el diseño y la síntesis de seis compuestos análogos de haloperidol (**LMH 1-3**) y de su metabolito activo (**LMH 4-6**) con ausencia del grupo carbonilo, sus estructuras fueron caracterizadas por técnicas espectroscópicas de RMN ^1H y ^{13}C y espectrometría de masas. Las propiedades farmacocinéticas, farmacodinámicas y toxicológicas se realizaron por predicciones *in silico* con resultados adecuados. Los seis compuestos se sometieron a la evaluación *in vitro* de afinidad sobre receptores σ_1 observando que todos los compuestos fueron Líderes, resaltando a los compuestos **LMH-3** y **LMH-6** con afinidades de 2 nM. Posteriormente se realizaron los estudios de acoplamiento molecular con el receptor σ_1 para determinar su energía de unión, así como para observar sus interacciones cercanas ligando-proteína. Con los resultados anteriores se realizó un análisis de consenso farmacológico para la selección de un líder computacional seguro, escogiendo al compuesto **LMH-2** para la evaluación de los ensayos *in vivo*. Finalmente, se determinaron las conductas hiperalgésica y alodínica *in vivo* con el compuesto **LMH-2** en ratas Wistar con daño en el nervio ciático, observando un efecto antihiperalgésico y antialodínico similar al de gabapentina, pero a dosis bajas de administración: 10.0, 31.6 y 100.0 mg/Kg.

ABSTRACT

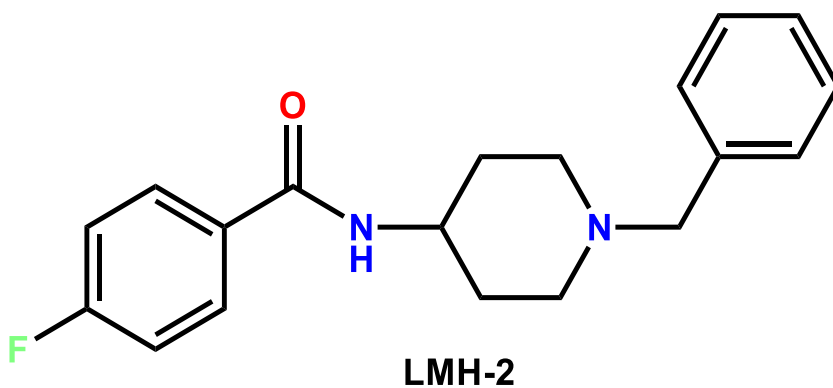
Neuropathic pain is a symptom in various diseases, and is a public health problem that affects broad sectors of the population, representing currently important economic and social implications. There are several groups of drugs to treat this condition, but nowadays they do not cover therapeutic expectations, acting with low efficacy or causing tolerance under chronic use reducing the quality of life of patients. This is why research is needed in the development of new molecules, which offer new therapeutic alternatives to treat this disease. In this context we selected haloperidol, a neuroleptic drug who has demonstrated antinociceptive effect in neuropathic pain model, due to the high affinity towards σ_1 receptors acting as an antagonist. In this work, is described the design and synthesis of six haloperidol analogues (**LMH 1-6**). Their structures were characterized by using spectroscopic (^1H and ^{13}C NMR) and spectrometry (mass) techniques. *In silico* predictions of pharmacokinetic, pharmacodynamic and toxicological properties were obtained with acceptable results. The six compounds were subjected to *in vitro* affinity evaluation over σ_1 receptors observing that all the compounds were Leads, highlighting compounds **LMH-3** and **LMH-6** with affinities of 2 nM. Subsequently, molecular docking studies were carried out to determine their binding energy, as well as to observe their close ligand-protein interactions. With the previous results, a Pharmacological Consensus Analysis was made for the selection of a computational safe lead, choosing **LMH-2** for the evaluation of the *in vivo* activity. Finally, the hyperalgesic and allodynic behaviors were determined in an *in vivo* study with the compound **LMH-2** in Wistar rats with damage to the sciatic nerve, observing an antihyperalgesic and antiallodynic effect similar to obtained with gabapentin at lower doses of administration: 10.0, 31.6 and 100 mg/Kg.

ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS

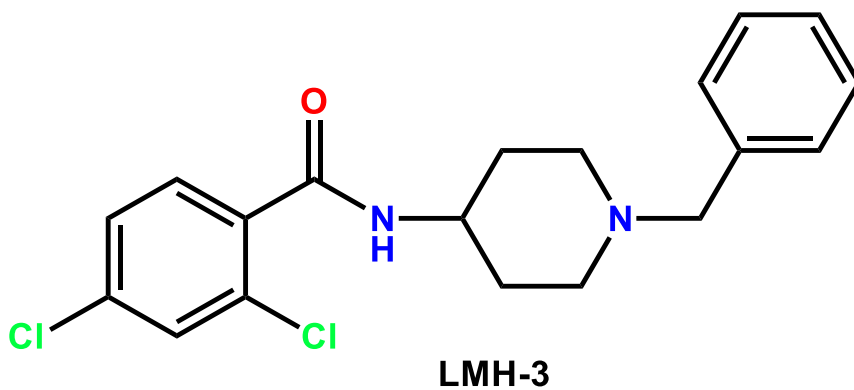
Compuestos finales benzamidas piperidínicas



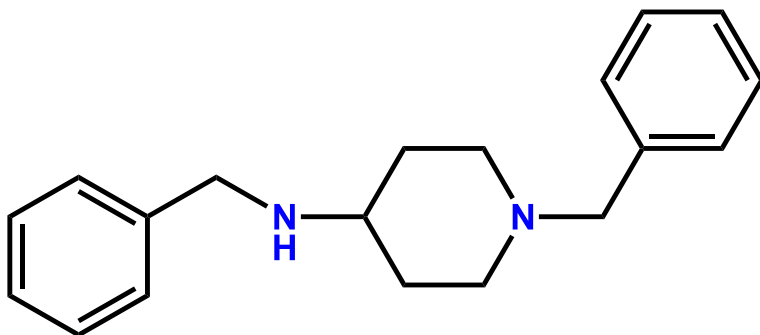
N-(1-bencilpiperidin-4-il)benzamida



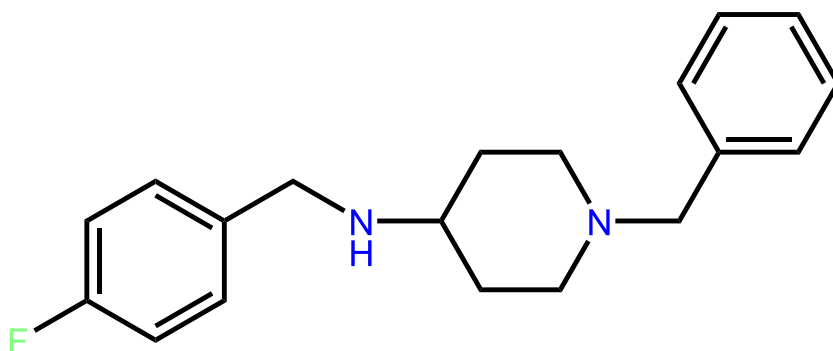
N-(1-bencilpiperidin-4-il)-4-fluorobenzamida



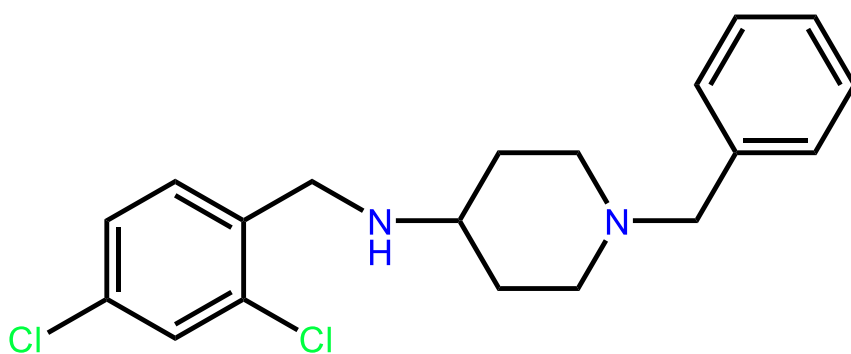
N-(1-bencilpiperidin-4-il)-4-diclorobenzamida

Compuestos finales bencilaminas piperidínicas**LMH-4**

N,1-dibencilpiperidin-4-amina

**LMH-5**

1-bencil-*N*-(4-fluorobencil)piperidin-4-amina

**LMH-6**

1-bencil-*N*-(2,4-diclorobencil)piperidin-4-amina

1. INTRODUCCIÓN

El dolor neuropático es un problema de Salud Pública que afecta a un amplio sector de la población. Es un dolor que se caracteriza como constante, punzante y continuo. Desafortunadamente, los fármacos que se emplean como tratamiento tienen baja eficacia terapéutica y alta presencia de efectos adversos. Ante la necesidad de contar con herramientas farmacológicas que ayuden a este tipo de pacientes, el presente proyecto tiene como finalidad evaluar el potencial efecto antialodínico y antihiperalgésico en el dolor neuropático de una serie de análogos de haloperidol. El haloperidol es un fármaco que entre sus mecanismos de acción involucra el antagonismo del receptor σ_1 cuya activación se ha relacionado recientemente con la terapéutica del dolor de tipo neuropático. El proyecto está dividido en tres fases; la primera fase consiste en el diseño, síntesis y caracterización de los análogos estructurales, la segunda fase consiste en evaluar predictivamente, mediante herramientas químio-informáticas, la actividad farmacocinética, farmacodinámica y toxicológica, así como un estudio de acoplamiento molecular ("*Molecular Docking*") sobre el sitio de unión del receptor σ_1 . La tercera fase del estudio consiste en la evaluación *in vitro* de afinidad sobre receptores σ_1 y en los ensayos *in vivo*, determinando la posible actividad terapéutica antihiperalgésica y antialodínica en un modelo de dolor neuropático en rata.^{1,2}

2. ANTECEDENTES

2.1 Dolor neuropático

El dolor neuropático ha sido definido por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) como “un dolor iniciado o causado por una lesión primaria o disfunción en el sistema nervioso”. Este tipo de dolor es considerado como anormal o patológico debido a que no se manifiesta por un daño como un golpe sino como un dolor ocasionado por una lesión o enfermedad que afecta al sistema somatosensorial, tal como se describe en su definición.^{3,4} El dolor neuropático es una descripción clínica (y no un diagnóstico) que requiere una lesión demostrable o una enfermedad que satisface los criterios de diagnósticos neurológicos establecidos.³

El dolor neuropático se ocasiona por un mal funcionamiento del sistema nervioso, que confunde estímulos no dolorosos como la temperatura o el tacto haciendo la percepción de mayor sensibilidad.⁵

El dolor neuropático se clasifica en periférico y central:

El de tipo periférico es el resultado de causas por traumas de tipo mecánico, enfermedades metabólicas, químicos neurotóxicos e infección o invasión de tumores, e implica cambios múltiples fisiopatológicos tanto en el sistema nervioso periférico (SNP) como en el sistema nervioso central (SNC).⁶ El dolor neuropático de tipo central es el resultado de lesión de la médula espinal, accidente cerebrovascular o esclerosis múltiple entre otras causas.⁷

Las personas que sufren este tipo de dolor refieren sensaciones dolorosas de tipo espontáneas, pero generalmente difuso como quemazón, hormigueo, picazón, entumecimiento.^{8,9} Sin embargo, los síntomas provocados y más frecuentemente presentados en el dolor neuropático son la alodinia y la hiperalgesia.¹⁰

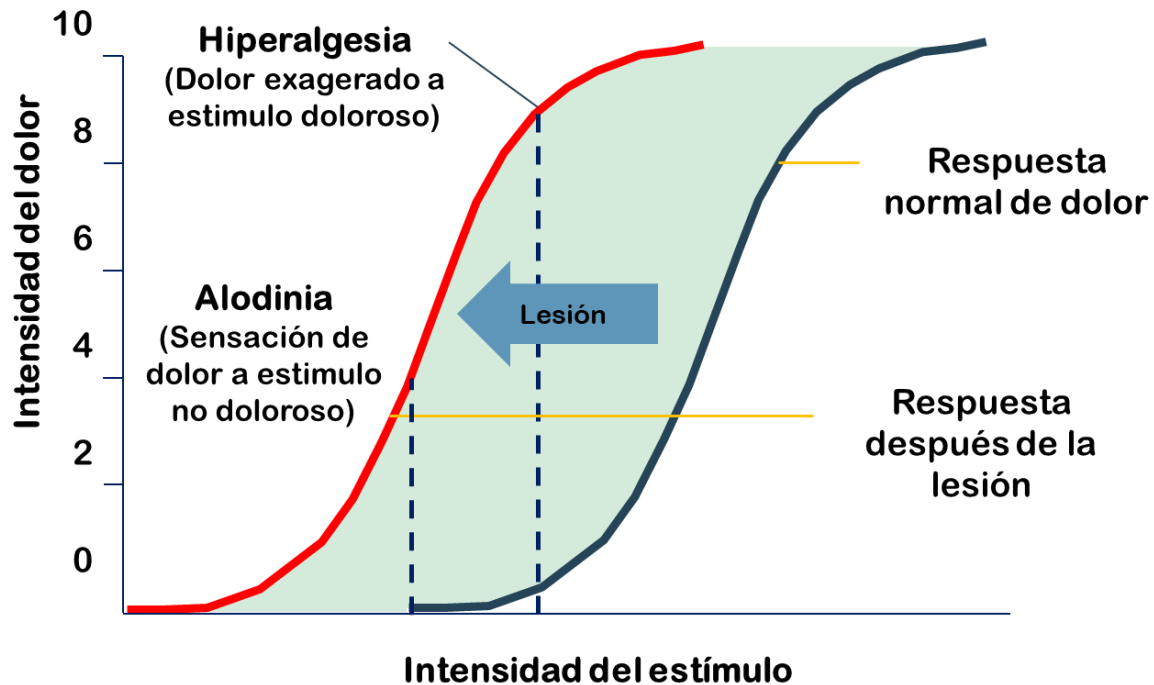


Figura 1. Representación gráfica de alodinia e hiperalgesia en el dolor neuropático como respuesta de una lesión.

Como se muestra en la **Figura 1**, la curva de color azul representa una intensidad de dolor cero con una intensidad menor (como el rose ligero de las prendas, este es un estímulo inocuo) conforme se aumenta la intensidad del estímulo se empieza a tener una percepción de dolor, la línea punteada representa una intensidad fija del estímulo la cual divide ambas curvas de respuesta de dolor, la curva de color rojo muestra un daño o lesión, alterando la percepción de dolor. Un estímulo que normalmente es inocuo un paciente con dolor neuropático lo percibe como doloroso, Esta es la definición de “alodinia”, una respuesta dolorosa a un estímulo que normalmente no es doloroso. La definición de “hiperalgesia” es una respuesta exagerada a un estímulo que normalmente es doloroso.¹¹ La hiperalgesia y la alodinia son los síntomas más importantes de muchos estados de dolor crónico y las propiedades de la sensación de dolor que la hacen especialmente desagradable e insoportable.¹²

2.1.1 Epidemiología

El dolor neuropático posee una múltiple etiología, afectando del 25 al 29% de la población a nivel mundial mientras que en México se estima que 28 millones de mexicanos presentan este dolor. En un estudio del 2010 se propuso que el 17% de los pacientes atendidos en los centros de atención primaria presentan dolor crónico. En nuestro país, se carece de información documental que caracterice la prevalencia de este fenómeno. Sin embargo, un estudio nacional de corte epidemiológico sugiere que individuos que acudieron a los centros de medicina familiar presentaron una enfermedad dolorosa crónica claramente documentada, los cuadros frecuentemente asociados al dolor neuropático son: por lesión de médula espinal (67%); por dolor lumbar con componente neuropático (37%); por dolor neuropático como secuela postquirúrgica (35%); por neuropatía diabética (30%) y por dolor en esclerosis múltiple (28%).¹³⁻¹⁵

2.1.2 Mecanismos de neurotransmisión

El dolor neuropático se presenta como consecuencia de un proceso de sensibilización que puede ser a nivel periférico o central, inducidos por una lesión. Ambos se caracterizan por la disminución del umbral de activación de los nociceptores.

En el proceso de sensibilización periférica se presentan cambios en las fibras periféricas después de una lesión al nervio, es la primera fase de la afectación neuropática. En este estado los axones se degeneran y otros permanecen intactos pero capaces de generar hiperexcitabilidad (respuesta más sensible a estímulos) en las fibras aferentes primarias (**Figura 2**).¹⁶

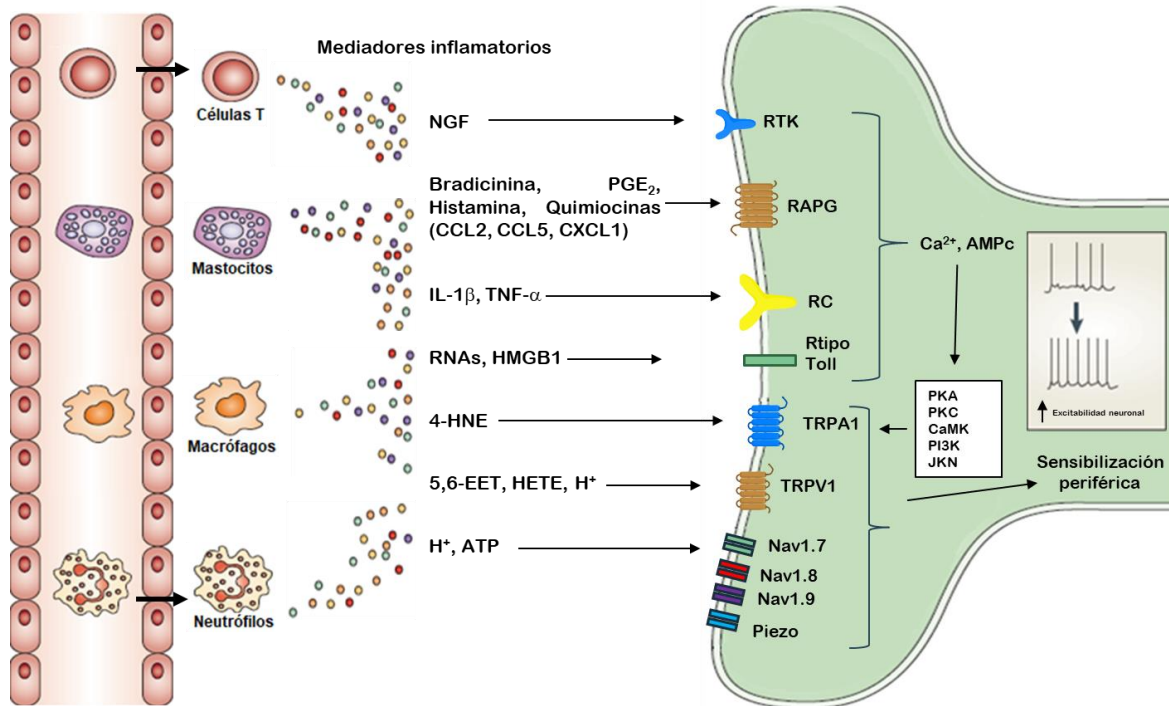


Figura 2. Sensibilización periférica: Las células inmunes como macrófagos, células T, neutrófilos en tejidos dañados y queratinocitos, liberan mediadores inflamatorios como bradikina, prostaglandinas, H⁺, ATP, NGF, TNF α , IL-1 β , IL-6 y quimiocinas proinflamatorias (CCL2, CXCL1 y CXCL5). Los nociceptores expresan receptores, para todos los mediadores inflamatorios, que actúan sobre las fibras nerviosas de los nociceptores periféricos. Estos incluyen receptores acoplados a proteína G (GPCRs), ionotrópicos y receptores de tirosina cinasa, la activación da como resultados la generación de segundos mensajeros Ca²⁺ y AMP cíclico, que a su vez activan cinasas como PKA, PKC, CaMK, PI3K, JNK. Las activaciones de estas cinasas causan hipersensibilidad e hiperexcitabilidad de los nociceptores neuronales (Sensibilización periférica), a través de la modulación de moléculas clave de transducción como TRPA1, TRPV1 y Piezo (canal de iones activado por estiramiento), así como los canales de sodio regulados por voltaje Nav1.7, Nav1.8 y Nav1.9.¹⁷

En una situación de dolor crónico, la periferia continúa mandando información nociceptiva hacia el asta dorsal de la médula espinal. Las células relacionadas en procesos inflamatorios como son los mastocitos, neutrófilos y basófilos liberan mediadores inflamatorios que provienen de estímulos nocivos, estos mediadores reducen el umbral de estimulación y generan que el nociceptor deje de ser exclusivamente un detector de estímulos dolorosos y que pueda ser también por estímulos no dolorosos. Por otro lado, la neurona envía desde su soma, vesículas

que liberan a la sustancia P y al péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP). Estas dos sustancias, una vez liberadas en la periferia, se unen a sus respectivos receptores localizados en distintas células relacionadas con el proceso inflamatorio ya antes mencionado.^{18,19}

Esta unión causa la liberación de una serie de sustancias proinflamatorias, como son el factor de crecimiento neural derivado de la glía (GDNF por sus siglas en inglés “*Glial cell-derived neurotrophic factor*”), el factor de necrosis tumoral ($TNF\alpha$), bradicinina y serotonina que actúan a través de sus receptores y que constituyen la “sopa inflamatoria” produciendo cambios de pH, liberación de ATP de las células lesionadas, síntesis de óxido nítrico (NO), etc. Además, se favorece la síntesis de ciclooxigenasas (COX), que a su vez promueven la síntesis de prostaglandinas (PGs) y eicosanoides.^{18,19}

Lo mencionado anteriormente realiza la activación de segundos mensajeros intracelulares con dos efectos principales: la fosforilación de los canales de TRPV y los de Na^+ modificando el umbral y su cinética, lo que induce la amplificación de la señal hacia la médula espinal y los centros superiores, a todo esto, se le conoce como sensibilización periférica, lo cual contribuye importantemente al mantenimiento del dolor crónico.^{17,18}

Sensibilización central: este segundo fenómeno existe cuando un tejido es dañado y el dolor persiste durante unos días o semanas, se produce como un mecanismo de adaptación de los nociceptores (fibras que perciben el dolor). La sensibilización central se refiere a la mayor capacidad de respuesta de las neuronas nociceptivas en el SNC ante la entrada aferente normal o subumbral. También los mecanorreceptores $A-\beta$ de bajo umbral obtienen acceso a los sistemas transmisores del dolor, lo que provoca que los estímulos normalmente no dolorosos se perciban como dolorosos (**Figura 3**).^{17,20}

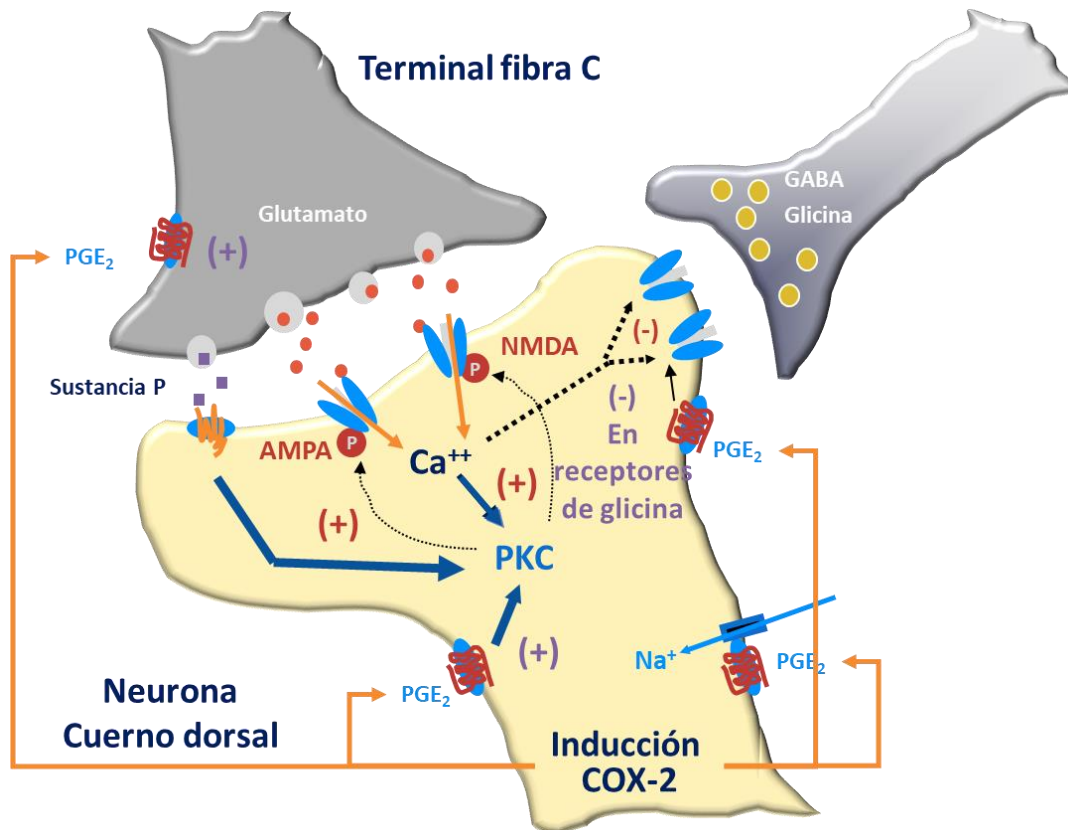


Figura 3. Sensibilización central: Puede dar lugar por la activación repetida de los nociceptores de la fibra C y la inflamación periférica, esto permite la liberación del neurotransmisor glutamato en la sinapsis con el cuerno dorsal, estimulando el canal de sodio asociado con el receptor α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propionato (AMPA). El canal de sodio abierto permite la entrada de sodio, ocasionando una despolarización, el cual suprime la inhibición del Mg^{2+} de los canales de calcio asociados con el receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), la entrada de Ca^{2+} al canal NMDA abierto activa la cascada de señalización habiendo mayor excitabilidad neuronal con efecto supresor interneuronal inhibitorio.²¹

Al llegar una señal aumentada desde la periferia debido a la descarga sostenida de las fibras C, libera presinápticamente sustancias neuroexcitatorias como sustancia P (se une a receptores de neurocininas NK subtipo 1), péptido relacionado con el gen de calcitonina (CGRP) y ATP, en neuronas de salida en la lámina I del asta dorsal superficial, así mismo hay una liberación de glutamato, el cual, se une a receptores específicos de NMDA, y más tarde se une al receptor metabotrópico del glutamato. Estos receptores no se expresan en situaciones de dolor agudo.²⁰⁻²²

Al activarse, los receptores de NMDA (normalmente silenciosos) localizados en la neurona postsináptica contribuyen a su despolarización, debido al aumento de calcio intracelular por la retirada de magnesio del receptor activado por glutamato, accionándose una serie de vías de señalización dependientes de calcio y segundos mensajeros, esta cascada de eventos aumenta la excitabilidad de neuronas de salida y facilita la transmisión de mensajes de dolor al cerebro, cabe mencionar que también hay una serie de cambios intracelulares con expresión de oncogenes, síntesis de proteínas, activación enzimática (Proteincinasas, COX y NO, este último activa la liberación de sustancia P y COX favoreciendo la síntesis de PGs E2, la cual es sustancia algésica que aumenta la señal nociceptiva (**Figura 4**).^{17,20,22}

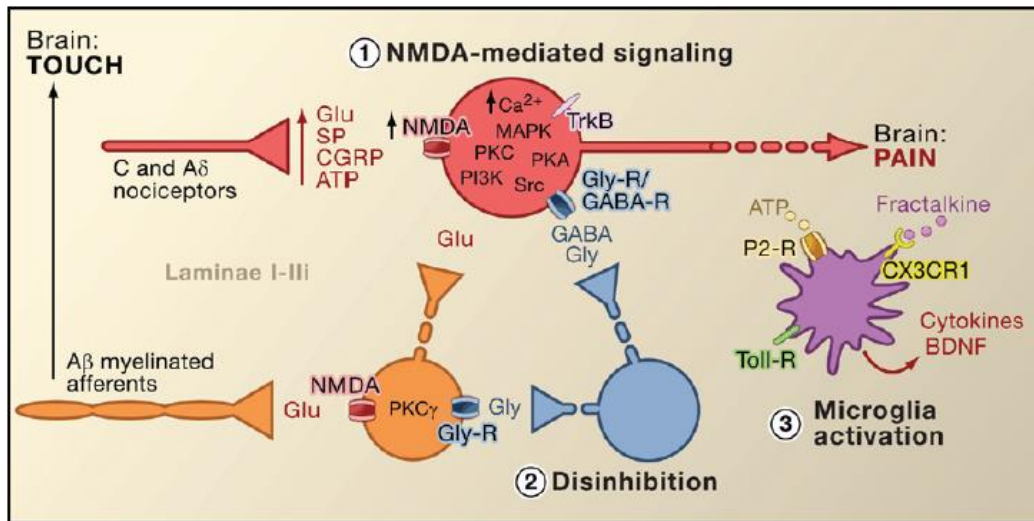


Figura 4. Señal mediada por los receptores de NMDA.²²

También se ha demostrado que las lesiones del sistema nervioso periférico y central activan las células gliales de la médula espinal. Después de dicha lesión la microglía conduce a la liberación de citocinas proinflamatorias (IL-6, IL-1B, entre otras), actuando sobre las neuronas, éste es un mecanismo importante de dolor exagerado desaminando el dolor al tejido vecino fuera de la lesión nerviosa.^{20,22}

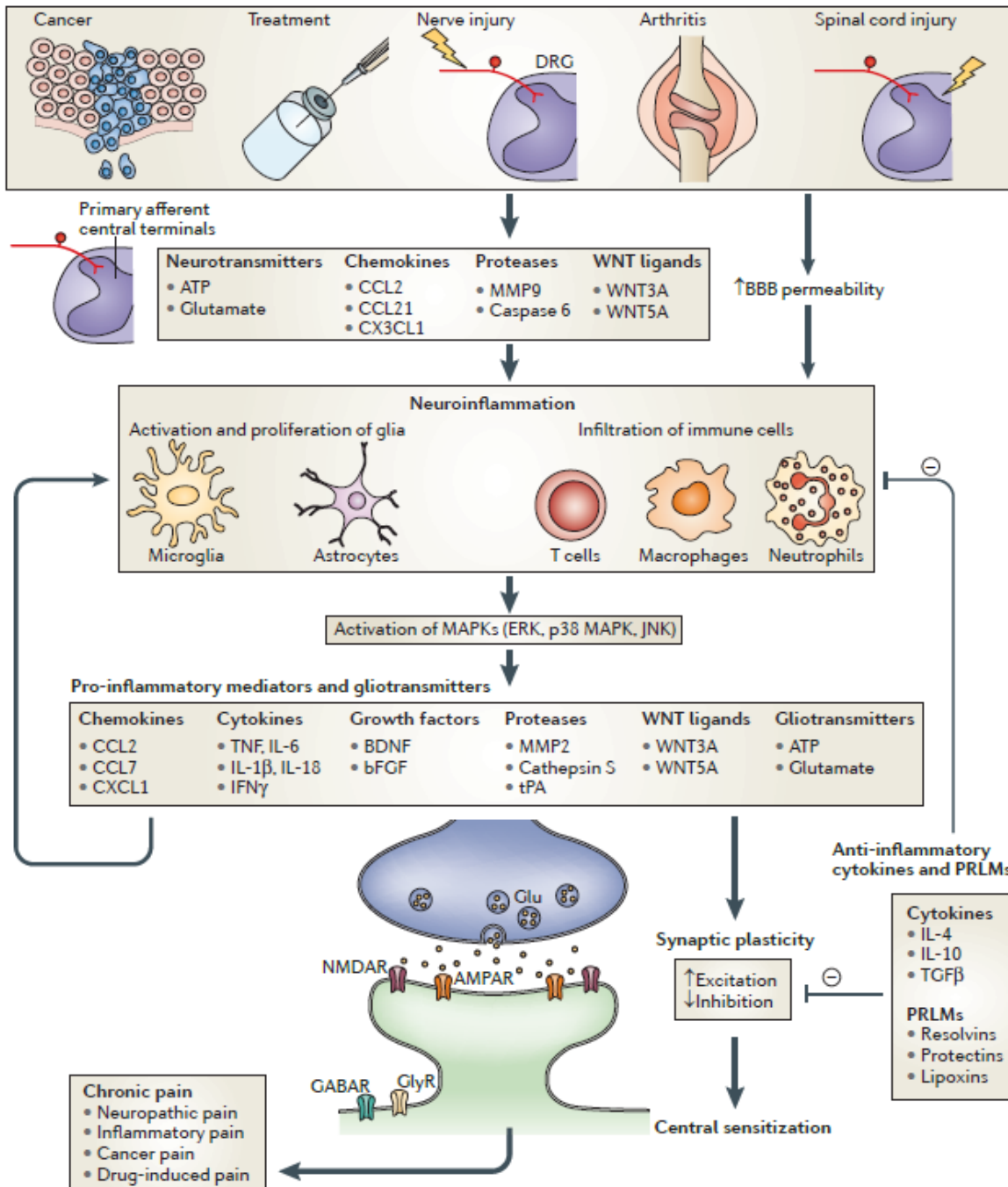


Figura 5. Esquema general de la sensibilización central. La neuroinflamación de la médula espinal provoca dolor crónico a través de interacciones neurona-glía y la sensibilización central. Esta neuroinflamación se desencadena por la liberación dependiente de la actividad de los activadores gliales de los terminales centrales de las neuronas aferentes primaria y/o por la ruptura de la barrera hematoencefálica. La activación y proliferación de la microglía y de astrocitos, así como de células inmunológicas facilitan la neuroinflamación, por consiguiente la generación de citocinas antiinflamatorias y mediadores lipídicos proresolución (PRLM) para su normalización, plasticidad sináptica y dolor crónico anormal.¹⁷

Todos estos cambios amplifican de forma muy importante y mantenida la señal nociceptiva que se produce en el asta dorsal de la médula, y producen lo que se conoce como sensibilización central.²²

2.1.3 Tratamiento

El tratamiento farmacológico indicado para el dolor neuropático sigue siendo un desafío, ya que muchos de los pacientes que experimentan dolor solo obtienen alivio parcial. El tratamiento debe ser individualizado de acuerdo con el tipo de dolor neuropático, co-morbilidades, edad del paciente, etc. En ocasiones se pueden administrar dos o más fármacos para lograr un mayor beneficio, para esto debe existir una evaluación y diagnóstico adecuado del dolor.²³⁻²⁵

Se debe saber la intensidad de dolor de cada individuo para proporcionar el analgésico adecuado, esto con ayuda de la escala numérica o la escala visual analógica (EVA), la primera valora el dolor mediante números que van de menor a mayor en relación con la intensidad del dolor, que van de 0 a 10, siendo 0 ausencia y 10 el máximo dolor, la segunda lleva el método subjetivo más empleado por tener una mayor sensibilidad de medición, la cual no emplea numeración ni palabras descriptivas, consiste en una línea de 10 cm de longitud, en los extremos se señala el nivel de dolor mínimo y máximo, el paciente debe marcar con una línea el lugar donde cree que corresponde la intensidad de dolor. Con este tipo de escalas se puede ayudar a determinar la intensidad de dolor de cada paciente (**Figura 6**).²⁵⁻²⁷



Figura 6. Escala de EVA, que va de 0 (sin dolor) a 10 (máximo dolor)

El objetivo del tratamiento es reducir el dolor en un periodo corto, mejorar la calidad de vida del paciente y continuar con sus actividades cotidianas. Existen grupos de

fármacos divididos en tres líneas, para el uso del dolor neuropático, en la **Tabla 1** se incluyen los antidepresivos tricíclicos y duales, los neuromoduladores o gabapentanoides, anestésicos locales, opioides y anticonvulsivantes, entre otros.²⁸

Primera línea de tratamiento.

Antidepresivos:

1.- Antidepresivos tricíclicos: (ATC)

Este tipo de fármacos se considera de primera línea para el dolor neuropático ya que modulan el dolor a través de bloqueo de canales de Ca^{2+} y Na^+ , la inhibición de la recaptura de mono-aminas y el bloqueo del receptor de NMDA. Unos de los fármacos son la amitriptilina, clomipramina, desipramina e Imipramina, especialmente para el tratamiento de neuropatía diabética y de neuralgia postherpética. Éstos dos últimos fármacos con menos efectos secundarios, como es náuseas, vomito, somnolencia.²⁹

2.- Antidepresivos duales: (AD)

Los Antidepresivos duales son de gran utilidad en la neuropatía diabética, inhiben la recaptación de noradrenalina-serotonina (ISRN). Existe evidencia de su eficacia en pacientes con polineuropatía dolorosa, estos fármacos son la duloxetina que se aprobó para el tratamiento de la neuropatía diabética en el 2005, venlafaxina inhibe selectivamente a serotonina en bajas dosis y es dual en dosis altas.²⁹

3.- Neuromoduladores: (N)

Estos se unen a la unidad $\alpha 2\delta$ de los canales de calcio dependientes de voltaje de los terminales presinápticos del SNC en el asta posterior, disminuyendo la liberación de glutamato, norepinefrina y sustancia P. Gabapentina, fue efectiva en varios tipos de dolor neuropático periférico. Pregabalina ha mostrado eficacia para la neuropática diabética y neuralgia postherpética, en la actualidad es el único fármaco autorizado para el dolor neuropático central.^{27,29}

4.- Anestésicos Locales (AL)

Este grupo de fármacos son estabilizadores de membrana y bloqueadores de canales de Na⁺. Este grupo de fármacos presentan escasos efectos adversos, que suelen consistir en erupción o eritema. El parche de lidocaína al 5% es el más usado, se puede usar en forma tópica y es de primera elección para el dolor neuropático localizado.^{26,27}

Segunda línea de medicamentos.

Opioides

Se ha mostrado que los opioides son eficaces en múltiples cuadros de dolor neuropático, sin embargo, se necesitan más estudios para saber el tratamiento, cuál y en qué dosis será la indicada del opioide. Se recomienda usar opioides con una intensidad de dolor mayor a 7 en la escala de EVA como el tramadol (opioide débil) y morfina de acción rápida, pero sus usos están limitados por sus efectos adversos. Por otro lado, la Oxycodona y metadona de liberación lenta tienen una potencia similar a la morfina.²⁵

Tercera línea de medicamentos.

Anticonvulsivantes

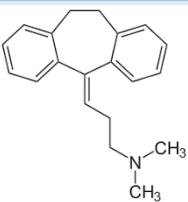
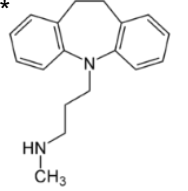
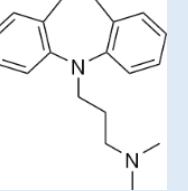
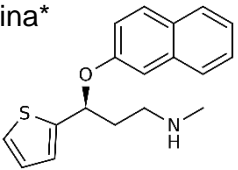
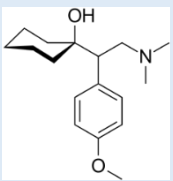
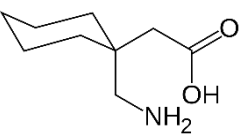
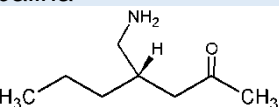
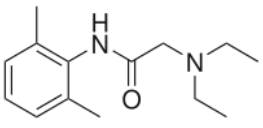
En esta categoría se encuentran los bloqueadores de canales de Na⁺ como la carbamazepina para el uso de neuralgia de trigémino en dolor neuropático periférico.

Antagonistas de los receptores de NMDA (Ketamina), sin embargo, el uso en la práctica médica clínica está limitada por sus importantes efectos adversos (hipertensión, taquicardia, depresión respiratoria).^{27,29}

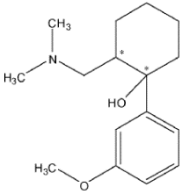
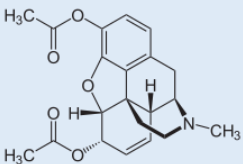
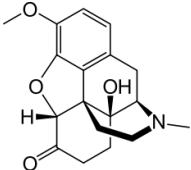
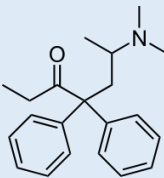
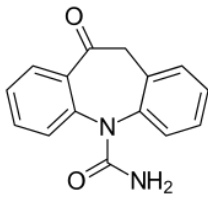
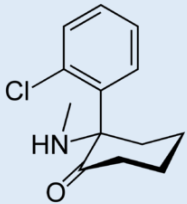
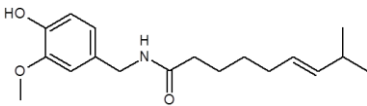
La capsaicina en parche o tópica está autorizada para el alivio del dolor moderado a severo en la neuropatía diabética que no haya respondido a otro tratamiento.²⁷

Cannabinoides: sus derivados son beneficiosos contra el dolor neuropático asociado a esclerosis múltiple y se recomienda su uso en esta situación.²⁵

Tabla 1. Fármacos de uso frecuente en el tratamiento de dolor neuropático

Clase	Fármaco	Mecanismo de acción	Efectos adversos
ATC	Amitriptilina* 	Reducción en la recaptación de la norepinefrina (NE) y serotonina (5-HT)	Náuseas, vómito, somnolencia, cansancio, estreñimiento.
	Desipramina* 	Reducción en la recaptación de la NE y 5-HT	Náuseas, pesadillas, somnolencia, cansancio, boca seca, estreñimiento.
	Imipramina* 	Reducción en la recaptación de la NE y 5-HT	Náuseas, pesadillas, cansancio, somnolencia, cambio de apetito.
AD	Duloxetina* 	Inhibidor de la re captación de 5-HT y NA	Náuseas, vómito, diarrea, estreñimiento, acidez gástrica, sequedad en la boca.
	Venlafaxina* 	Inhibidor selectivo de la recaptación de 5-HT y NA.	Astenia, sudación, Náuseas, Constipación, Anorexia, vértigo, nerviosismo.
N	Gabapentina* 	Ligando de canal de Ca ²⁺	Sedación, ataxia, ganancia de peso, diplopía
	Pregabalina* 	Ligando de canal de Ca ²⁺	Sedación, ataxia, ganancia de peso, diplopía
AL	Lidocaína* 	Bloqueo de la conducción de los impulsos nerviosos.	Náuseas, somnolencia, alteraciones del lenguaje, confusión, vértigo y tinnitus.

*Primera línea, **Segunda línea, *** tercera línea de medicamentos

O P I O I D E S	<p>Tramadol**</p> 	<p>Agonista μ-opioide Agonista κ-opioide Agonista δ-opioide</p>	<p>Depresión respiratoria, ataxia, sedación, constipación y náuseas.</p>
	<p>Morfina**</p> 	<p>Agonista μ-opioide</p>	<p>Depresión respiratoria, deterioro cognitivo, sedación, constipación,</p>
	<p>Oxicodona**</p> 	<p>Agonista μ-opioide</p>	<p>Boca seca, dolor estomacal, rubor, cefalea, somnolencia y cambios de humor.</p>
	<p>Metadona**</p> 	<p>Agonista μ-opioide Agonista κ-opioide Agonista δ-opioide</p>	<p>Ojos llorosos, pupilas dilatadas, irritabilidad, ansiedad, dolor de espalda e inquietud.</p>
AC	<p>Carbamazepina***</p> 	<p>Estabilizador de membranas nerviosas excitadas. Inhibe descargas neuronales, reduce la propagación sináptica (impulsos excitatorios)</p>	<p>Somnolencia, mareos, inestabilidad, náuseas, vómitos, dolor de cabeza y ansiedad.</p>
AN	<p>Ketamina***</p> 	<p>Antagonista del receptor NMDA, μ-opioide. Bloqueador de canales de Na^+ y Ca^{2+}. Antagonista del receptor σ_1</p>	<p>Hipertensión, taquicardia, hipotensión, bradicardia, arritmia, depresión respiratoria.</p>
T	<p>Capsaicina en parche***</p> 	<p>Inhibidor de liberación de la sustancia P.</p>	<p>Eritema irritativo y sequedad de piel en el lugar de aplicación.</p>

*Primera línea, **Segunda línea, *** tercera línea de medicamentos

2.2 Receptores σ

Los receptores sigma (σ) se caracterizaron anteriormente como parte de los receptores opioides los cuales median los efectos de la morfina, sin embargo, tiempo después se descubrió la existencia del “receptor σ ” el cual difería de los receptores opioides.³⁰

Hasta la fecha se han logrado identificar dos subtipos del receptor σ : σ_1 y σ_2 (**Figura 7**). El receptor σ_2 interactúa con canales para la movilización de iones como, por ejemplo, Ca^{2+} y K^+ . Además, que desempeña un papel importante en la diferenciación celular.³¹ Mientras que al receptor σ_1 , se le ha atribuido un papel en la modulación farmacológica para tratar el dolor, este receptor se expresa abundantemente en varios centros del dolor de la región central del sistema nervioso central, modulando diversos receptores y canales.³⁰

2.2.1 Historia

De los dos subtipos, el receptor σ_1 ha sido clonado en humanos y roedores, y su secuencia de aminoácidos no muestra homología con otras proteínas de mamíferos. Varios fármacos psicoactivos muestran una afinidad alta a moderada para estos receptores.³²

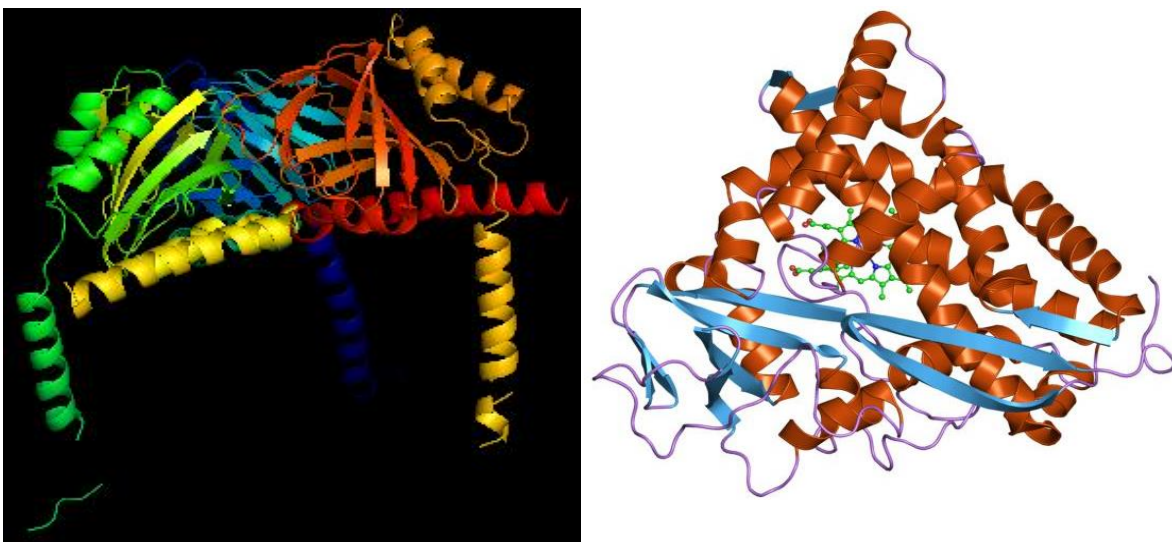


Figura 7. Receptor σ_1 co-cristalizado (izquierda), Receptor σ_2 (derecha)

Se sabe que ciertos neuroesteroides (pregnenolona, dehidroepiandrosterona, progesterona y testosterona) interactúan con los receptores σ_1 , y se ha propuesto que son sus ligandos endógenos. Estos receptores se localizan en la membrana plasmática y en las membranas subcelulares, particularmente en el retículo endoplasmático (RE), donde juegan un papel modulador en la señalización intracelular de Ca^{2+} . Los receptores σ_1 también juegan un papel modulador en la actividad de algunos canales iónicos y en varios sistemas neurotransmisores, principalmente en la neurotransmisión glutamatérgica. Los receptores σ_1 han sido estudiados minuciosamente con el fin de tratar de dilucidar sus posibles aplicaciones neurofarmacológicas, principalmente en procesos de aprendizaje y memoria, depresión y ansiedad, esquizofrenia, analgesia y algunos efectos de sustancia de abuso.³²

El peso molecular se encontró que difiere entre los dos subtipos de receptores: el receptor σ_1 es un polipéptido único de 29-kDa clonado por primera vez en 1996, mientras que los receptores σ_2 no han sido clonados todavía y tienen un peso molecular aparente de 18-21.5 kDa según estudios de “fotolabeling”.³²

2.2.2 El receptor σ_1

EL receptor σ_1 está ampliamente distribuido en órganos periféricos y diferentes áreas del SNC involucradas en la memoria, la emoción, la función sensorial y motora. El receptor σ_1 posee tres dominios transmembranales y se agrupan en la membrana del RE asociadas a las mitocondrias (MAM por sus siglas en inglés *mitochondrion-associated endoplasmic reticulum (ER) membranes*) y que yuxtaponen la densidad postsináptica de tipos específicos de neuronas. El receptor σ_1 ejerce actividades chaperonas mediante las cuales se estabilizan las proteínas de membrana del RE.^{30,33}

2.2.2.1 Co-cristalización química

El receptor σ_1 se encuentra co-cristalizado y depositado en su base de datos desde abril del 2016 por Andrew *et al.*³³ Esta es una proteína transmembranal que reside

en el retículo endoplásmico. Las estructuras revelan una arquitectura trimérica con un solo dominio transmembranal en cada monómero. El dominio carboxi-terminal del receptor muestra una extensa superficie hidrofóbica proximal a la membrana plana, siguiendo una asociación íntima con la superficie citosólica de la membrana del retículo endoplásmico en las células.³³

Los estudios farmacológicos sugirieron que los receptores μ , δ y κ estaban estrechamente relacionados entre sí, mientras que el receptor σ se mostró como distinto. A diferencia de los receptores opioides canónicos, el receptor σ_1 muestra una afinidad insignificante por la naloxona y la naltrexona. En 1996, la clonación molecular del receptor σ_1 confirmó definitivamente que el receptor es diferente en secuencia de los verdaderos receptores opioides. Desempeña un papel clave en la fisiología humana y se ha demostrado que modula una variedad de enfermedades del sistema cardiovascular y nervioso.³³

Otra investigación importante ha sugerido un papel para el receptor σ_1 como proteína chaperona del retículo endoplásmico y regulador de la señalización del calcio, y se ha informado que regula la actividad de varios canales iónicos y receptores acoplados a la proteína G.³³

Los dos ligandos, 4-IBP y PD144418 (**Figura 8**), se seleccionaron en parte sobre la base de su divergencia en la estructura química, con un coeficiente de similitud Tanimoto de 0.235, lo que indica una similitud de estructura fundamental. No obstante, debe observarse que ambos compuestos son moléculas alargadas, cargadas positivamente, con carácter hidrofóbico importante, todas las características comunes entre los ligandos del receptor σ_1 .³³

El receptor σ_1 se clonó y se extrajo mediante una metodología muy extensa, donde se hacen varias mezclas de buffers, centrifugaciones y haciendo lisis en las células. Después el receptor se purificó debidamente para que fuera bioquímicamente puro y mezclado con los dos ligandos, 4-IBP y PD144418, para ser congelados a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$

hasta su debido uso para la cristalografía. Posteriormente, se evaluó la pureza y la monodispersidad de las muestras cristalográficas, la cristalización creció lentamente y alcanzaron su tamaño completo en el transcurso de 2-4 semanas.³³

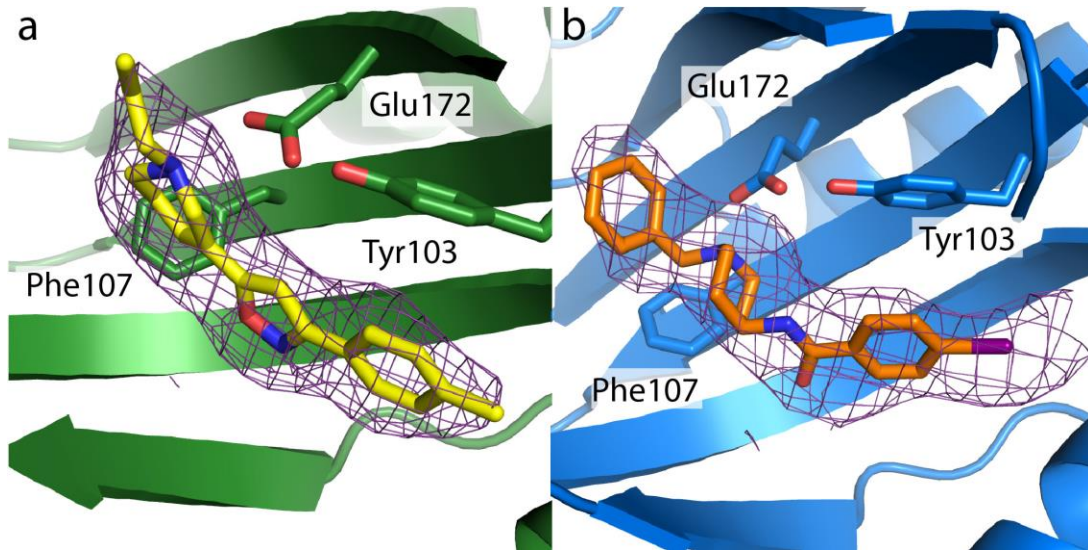


Figura 8. Ligando PB144418 (A), 4-IBT (B).³³

2.2.2.2 Activación molecular (Role)

A nivel sub-celular, el receptor σ_1 se localiza en membranas biológicas, así como las microsómicas, mitocondriales, nucleares y plasmáticas .³⁴

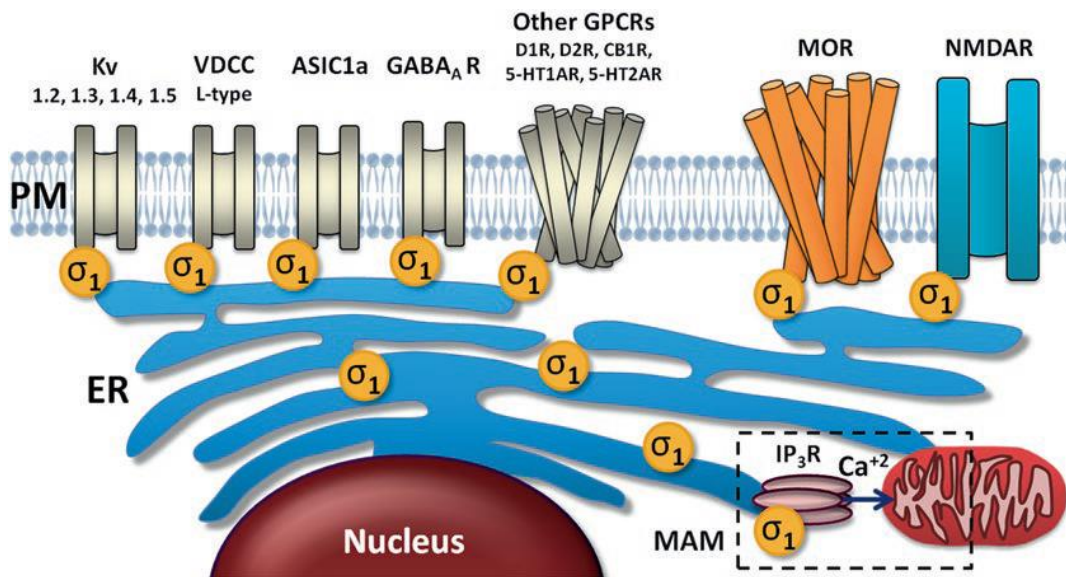


Figura 9. Localización sub-celular del receptor σ_1 .³⁰

La actividad chaperona del receptor σ_1 está regulada con la interacción proteína-proteína directamente con otra chaperona del retículo endoplásmico, la proteína de unión a inmunoglobulinas/proteína regulada por glucosa de 78 kDa (BiP/GRP78), sin embargo, el receptor σ_1 se encuentra acoplado con BiP en su estado normal.³⁵

El receptor σ_1 regula la movilización de Ca^{2+} intracelular mediada por el receptor IP_3 (inositol 1,4,5-trifosfato) en la MAM. El Ca^{2+} emigrado a las mitocondrias activa la producción de ATP. Las neuronas agotadas con el receptor σ_1 promueve la maduración de las espinas dendríticas y el reclutamiento de AMPA/NMDA a las membranas postsinápticas, también puede modular las proteínas postsinápticas, las cuales incluyen una variedad de canales iónicos (Na^{2+} , K^+), así como receptores acoplados a proteínas G (receptores opioides, DA, D_2 y μ) mediante la translocación a la proximidad de la densidad postsináptica.³⁰

En estado anormal o de estrés (esto es debido a la activación de IP_3 o disminución de la concentración de Ca^{2+} en el retículo endoplásmico) el receptor σ_1 se disocia de BiP para activarse como chaperonas moleculares. El receptor σ_1 libre se asocia como chaperona del tipo reguladora a los receptores IP_3 en el MAM, de ese modo disminuye su degradación. El receptor σ_1 tiene como objetivo de membranas receptores acoplados a proteínas G y varios canales iónicos, de estos se saben que interactúa con los receptores de NMDA (NMDAR), canales de K^+ dependientes de voltaje (Kv1.2, Kv1.3, Kv1.4 y Kv1.5), canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje tipo L (VDCC), receptores GABA A, receptores de dopamina D_1 y D_2 , receptores cannabinoides y receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} como se muestra en la **Figura 10**.

Tras la unión de los receptores σ_1 o el agotamiento de Ca^{2+} en el retículo endoplásmico, el receptor σ_1 se disocia de BiP, cambiando así al estado activo. Por lo contrario, los antagonistas del receptor σ_1 fortalece la asociación con BiP, lo que inhibe la acción de los agonistas. En consecuencia, en los sistemas vivos, la actividad chaperona se activa rápidamente mediante aplicaciones de agonistas del

receptor σ_1 o mediante la activación de los receptores IP_3 a través de los receptores metabotrópicos acoplados a proteínas G en la membrana plasmática.³¹

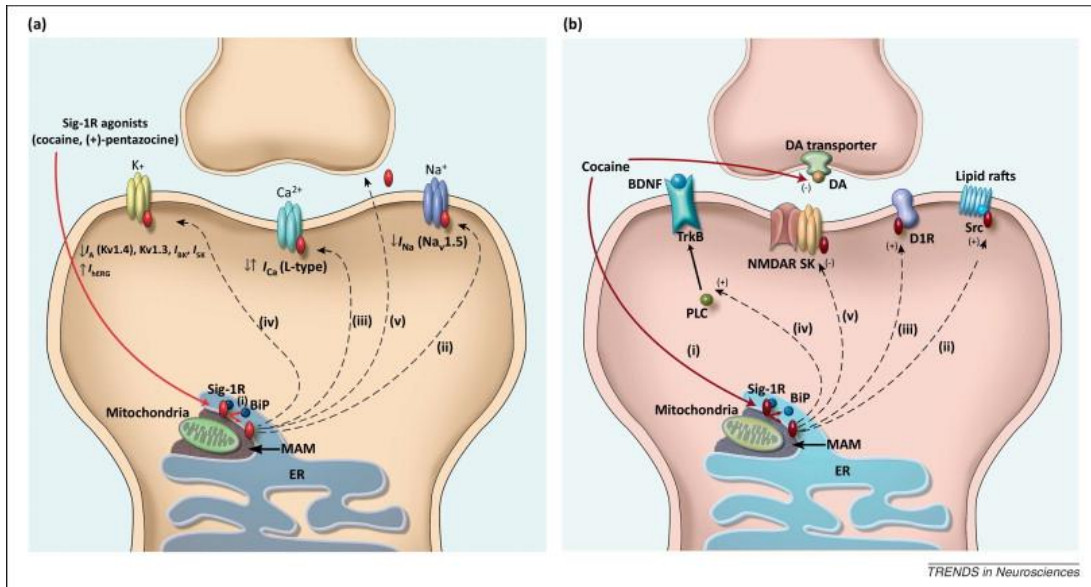


Figura 10. Role del receptor σ_1 .³⁶

2.3 Moléculas endógenas agonistas y antagonistas del receptor σ_1

Existen moléculas endógenas (neuroesteroides) que pueden ser agonistas o antagonistas del receptor σ_1 (Figura 11), moduladoras de la actividad neuronal, estos ligandos se sintetizan en el SNC y SNP, estas moléculas son la pregnenolona, dehidroepiandrosterona (DHEA), sus ésteres de sulfato, progesterona y alopregnenolona.³⁷ Entre los neuroesteroides, se sabe que la DHEA y la pregnenolona son agonistas, mientras que la progesterona y la testosterona son antagonistas del receptor σ_1 .^{30,37}

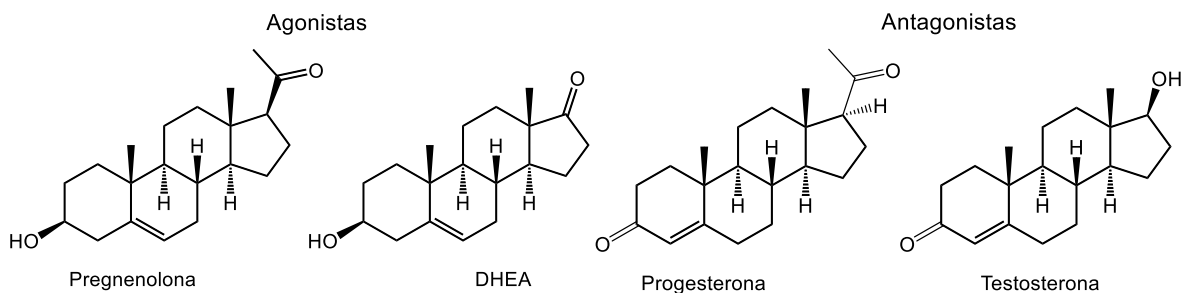


Figura 11. Neuroesteroides, ligandos endógenos del receptor σ_1 .

2.4. Moléculas exógenas agonistas y antagonistas del receptor σ_1

Existen moléculas exógenas (xenobióticos) agonistas y antagonistas del receptor σ_1 , los agonistas se muestran en la **Figura 12** y los antagonistas se describen en los siguientes subtemas para saber más de ellos.

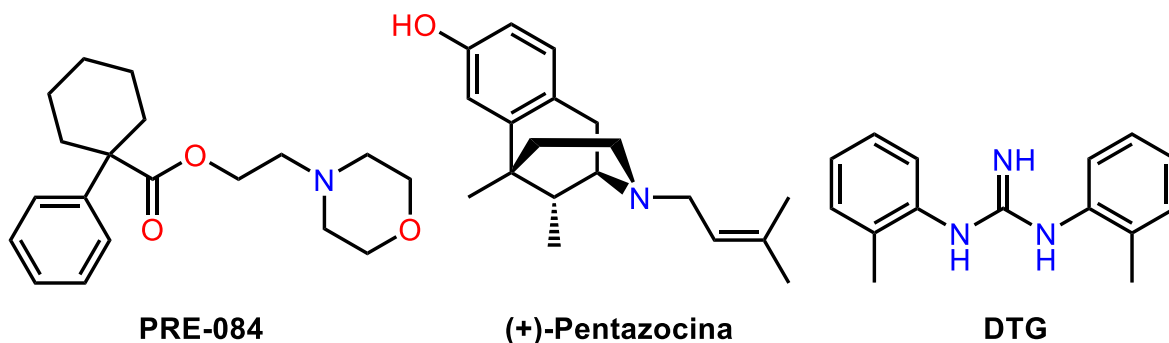


Figura 12. Ligandos exógenos del receptor σ_1 (Agonistas)

2.4.1 Antagonista del receptor σ_1 (S1RA o E-52862)

El **S1RA** ha mostrado en ensayos *in vitro* alta afinidad por el receptor σ_1 ($K_i = 17$ nM), no presentó actividad significativa sobre otros receptores, canales de iones o enzimas, atraviesa la barrera hematoencefálica para llegar a los receptores σ_1 que se encuentran en el sistema nervioso central. Este fármaco presentó efecto analgésico para las fases I y II de estudios clínicos, obteniendo resultados en los estudios farmacocinéticos, mostrando ser seguros en dosis que van de los 400 mg a 800 mg por día (**Figura 13**).^{28,38}

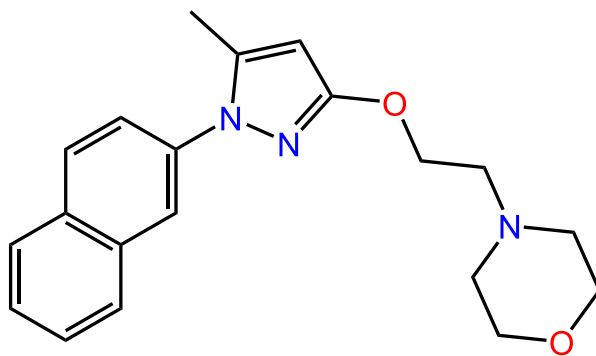


Figura 13. Antagonista selectivo de los receptores σ_1 (S1RA por sus siglas en inglés *Sigma-1 Receptor Antagonist*).

2.4.2 N-[2-(morfolin-4-il)etil]-2-(naftalen1-iloxi)acetamida (NMIN)

El compuesto **NMIN** (Figura 14) fue sintetizado por el L.F. Luis Alberto Melo en la tesis de licenciatura, en el grupo de trabajo del Dr. Gabriel Navarrete. El NMIN mostró en ensayos *in vitro* una afinidad de 324 nM para el receptor σ_1 , en los ensayos *in vivo* no observó ninguna actividad antinociceptiva en el modelo de dolor artrítico, pero si se obtuvo un efecto antialodínico en dolor neuropático dependiente de la dosis con eficacia similar a morfina y BD-1063 (antagonista del receptor σ_1).³⁹

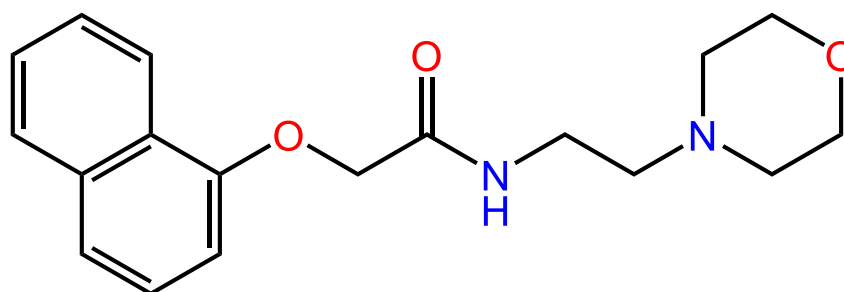


Figura 14. Antagonista del receptor σ_1 NMIN.

2.4.3 2-(3,4-diclorofenoxi)-N-(2-morfolin-4-ilet)acetamida (AAO-1)

El compuesto AAO-1 fue sintetizado en el grupo de trabajo del Dr. Gabriel Navarrete, mostrando una alta afinidad por el receptor σ_1 ($K_i= 42$ nM) en los ensayos *in vitro*, además los resultados de la parte *in silico* mostraron adecuadas propiedades farmacocinéticas, farmacológicas y toxicológicas. En los resultados *in vivo* el compuesto mostró un efecto antinociceptivo en el dolor inflamatorio (Figura 15).⁴⁰

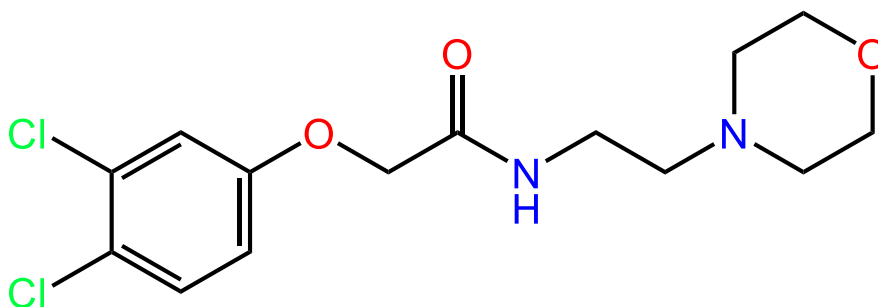


Figura 15 Antagonista del receptor σ_1 AAO-1

2.4.4 Haloperidol

Los laboratorios Janssen sintetizaron el compuesto haloperidol (**Figura 16**) el día 11 de febrero en el año de 1958. Paul Janssen y sus colegas vieron al compuesto, en aquel entonces llamado R1625, de gran interés, por su acción farmacológica similar a clorpromazina; sin embargo, haloperidol fue más potente, ya que a concentraciones más bajas produjo la actividad farmacológica. El día 28 de octubre del mismo año, se realizó la primera publicación clínica de los efectos de haloperidol como un neuroléptico, posteriormente se demostró en estudios clínicos que poseía actividad contra delirios y alucinaciones, ya que el número de pacientes crónicamente hospitalizados pudo abandonar el hospital psiquiátrico y vivir en su hogar después de la toma de este nuevo medicamento. ⁴¹

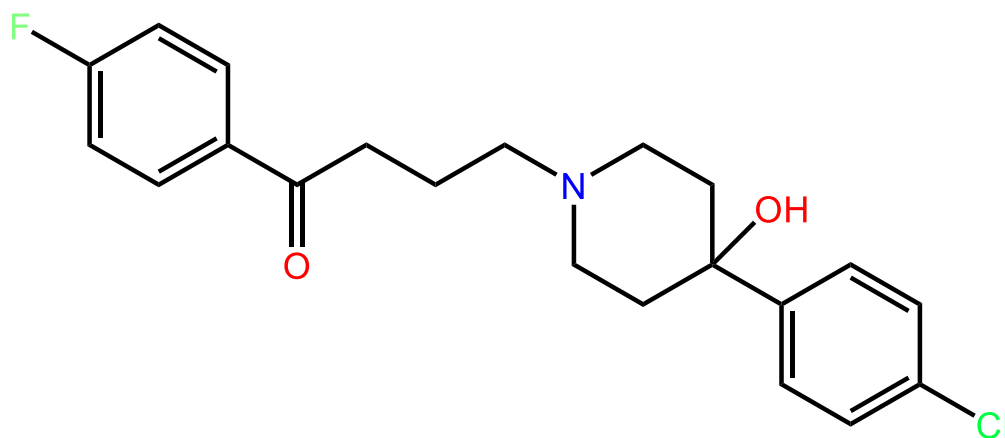


Figura 16.- Haloperidol

2.4.4.1 Química, farmacocinética y farmacodinamia del haloperidol

Haloperidol puede ser administrado por diferentes vías, en éstas están incluidas oral e intramuscular, tiene un peso molecular de 375 g/mol, un punto de fusión de 151.5 °C y un LogP de 4.3. Se absorbe un 60% del fármaco por la vía oral, uniéndose el 92% a proteínas (α -globulina ácida), es metabolizado en el hígado por el CYP3A4, tiene una vida media de 3 semanas y una DL₅₀ de 165 mg/kg (rata, oral). Las reacciones por las que se elimina el fármaco son a través de oxidación, reducción (Fase I) y glucuronidación (Fase II).^{42,43} Es un agente psicotrópico utilizado para el tratamiento de la esquizofrenia, psicosis aguda y crónica, puede potenciar la

depresión del SNC producida por otros medicamentos que actúan como éste, sin embargo, hoy en día se está viendo un nuevo uso terapéutico, el cual es como antagonista del receptor σ_1 .⁴³

En la actualidad el dolor neuropático es una afección salud difícil de tratar, de la cual se hace investigación con la finalidad de encontrar una terapia que resulte eficaz para esta condición, como es el caso del uso de antagonistas del receptor σ_1 , y el haloperidol es un compuesto que ha demostrado tener una alta afinidad hacia estos receptores actuando como antagonistas en un modelo de dolor neuropático.²

Se ha demostrado que el haloperidol se une con igual afinidad a los receptores σ y dopamina D_2 , pero se observó que el metabolito reducido del grupo carbonilo se une a al receptor σ_1 con la misma afinidad que haloperidol. Sin embargo, este metabolito tiene menos afinidad a los receptores dopaminérgicos en comparación con Haloperidol.⁴⁴

En el grupo de trabajo del Dr. Francisco López se realizaron estudios farmacológicos de alodinia e hiperalgesia en un modelo experimental para corroborar su acción de antagonizar a los receptores σ_1 en condiciones de dolor neuropático. Este demostró similitud de eficacia que gabapentina, y de igual forma revirtió el efecto agonista del compuesto PRE-084. Se demostró que haloperidol presenta efecto antinociceptivo en un modelo de constricción crónica del nervio ciático (CCI por sus siglas en inglés "*chronic constriction injury*").^{2,45}

3. JUSTIFICACIÓN

El dolor neuropático es un padecimiento que se incrementa día a día, como un problema de salud pública con implicaciones económicas y sociales relevantes. Desafortunadamente, los fármacos antidepresivos, anticonvulsivantes y los opioides más empleados para controlar este tipo de dolor no cubren las expectativas terapéuticas de los pacientes dado que el dolor persiste por la baja eficacia que presentan. La inadecuada eficacia terapéutica en la neuropatía tiene altas implicaciones económicas en el Sector Salud y en la calidad de vida del paciente. El 15% de los pacientes que asisten a consulta por dolor es de origen neuropático, ya que deriva de patologías como son la radiculopatía, la neuropatía diabética, el dolor neuropático asociado a cáncer, dolor fantasma y dolor post-quirúrgico, por mencionar algunos.

Los pacientes afectados con este padecimiento sufren desórdenes del estado de ánimo, así como incapacidad para realizar actividades cotidianas incluyendo su desempeño laboral.

Por lo anterior, es necesario proponer opciones terapéuticas que produzcan mayor eficacia y menos efectos y/o reacciones adversas asociados a los fármacos que se prescriben en la actualidad.

Con base en lo anterior, en este proyecto se plantea el diseño y síntesis de nuevas entidades químicas para el tratamiento del dolor neuropático. Se propone una serie de moléculas de tipo benzamidas/bencilaminas piperidínicas análogas del haloperidol (antagonista de los receptores σ_1) con propiedades antihiperalgésicas y antialodínicas.

4. HIPÓTESIS

Los compuestos diseñados derivados de benzamidas/bencilaminas piperidínicas y morfolínicas producirán efecto antihiperalgésico y antialodínico en un modelo de dolor neuropático en rata debido a su similitud estructural con haloperidol.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Diseñar, sintetizar y evaluar *in combo* los derivados benzamidas/bencilaminas piperidínicas y morfolínicas de haloperidol como posibles antagonistas al receptor σ_1 para la terapéutica del dolor neuropático.

5.2 Objetivos específicos

- Sintetizar, purificar y caracterizar mediante técnicas espectroscópicas (RMN de ^1H y ^{13}C) y espectrométricas (EM) seis análogos de haloperidol.
- Realizar un análisis de predicción *in silico* de las propiedades farmacocinéticas, metabólicas, toxicológicas y cuasi-fármaco de los compuestos sintetizados mediante el uso de herramientas quimioinformáticas.
- Evaluar *in vitro* la afinidad de los compuestos sobre el receptor σ_1 .
- Realizar estudios de acoplamiento molecular ("*Molecular Docking*") de los compuestos sobre el receptor σ_1 para conocer su posible modo de unión.
- Realizar un análisis de consenso farmacológico para seleccionar el mejor candidato y efectuar ensayos *in vivo* en un modelo de dolor hiperalgésico y alodínico en rata.

6. CONSIDERACIONES QUIMICO-FARMACÉUTICAS PARA EL DISEÑO MOLECULAR

6.1 Diseño de los compuestos

Para la consideración del diseño de los compuestos análogos de haloperidol (**LMH 1-6**) se tomó en cuenta el fármaco haloperidol, donde la amina terciaria ionizable es importante para la actividad. En la **Figura 17** se observa su estructura química y en esta se resalta con colores los grupos funcionales importantes para mostrar afinidad sobre el receptor σ_1 .

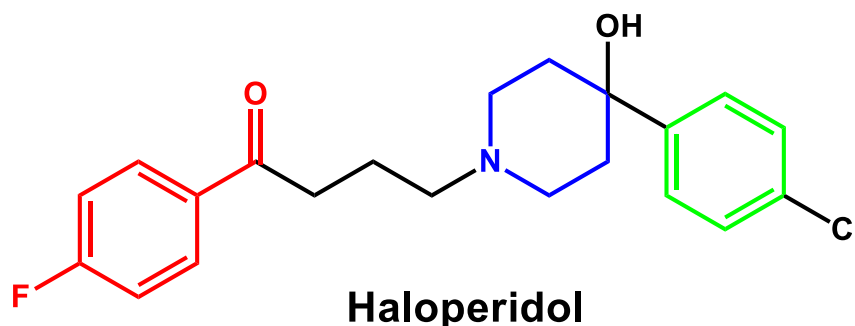


Figura 17. Haloperidol con grupos químicos para la afinidad al receptor σ_1 .

En esta serie de moléculas **LMH 1-3** tienen el fragmento común benzamida piperidínica (sustituida en posición 4 del anillo de benceno). Para los compuestos de tipo benzamidas morfolínicas, debido a su baja afinidad obtenida, se optó por no sintetizarlos. Por este motivo se plantearon nuevas moléculas **LMH 4-6**, los cuales son derivados de los compuestos benzamidas piperidínicas, mediante la reducción del grupo carbonilo, ya que se ha observado que el metabolito de reducción de haloperidol es menos afín a los receptores dopaminérgicos D_2 , pero conserva su afinidad sobre los receptores σ_1 . Para este proyecto es importante tener afinidad por los receptores σ_1 , y evitar la unión sobre los receptores centrales de dopamina. De esta manera no se tendría la actividad incisiva en alucinaciones o sedación psicomotora como posee el haloperidol (**Figura 18**).⁴⁴

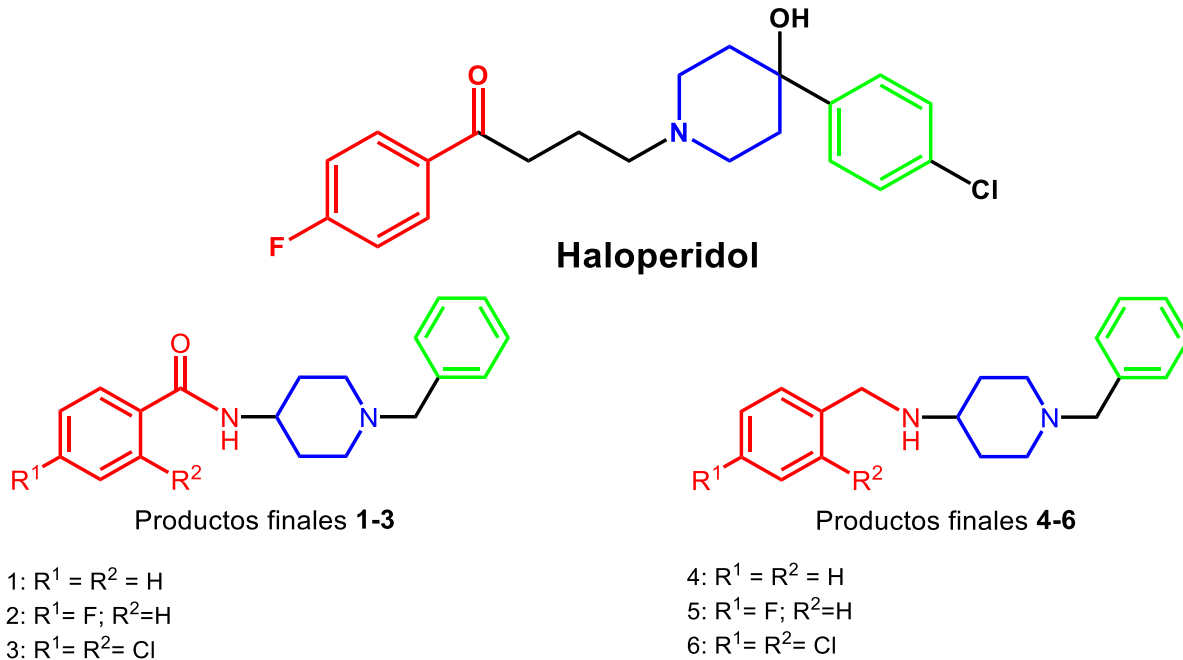


Figura 18. Diseño de estructuras basados en el fármaco haloperidol, LMH 1-6.

6.2 Interacción molecular ligando proteína (haloperidol → σ_1)

En la siguiente **Figura 19** se observa el acoplamiento molecular de haloperidol con el receptor σ_1 (PDB ID: 5HK2). Los resultados fueron ordenados en grupos con RMSD < 0.5 Å. Se puede observar una interacción polar (3D) del residuo de aminoácido Ser117 con el grupo hidroxilo unido al ciclo de piperidina. En la imagen 2D se observa una interacción π -catión con Phe107 y el amino ionizable del heterociclo.

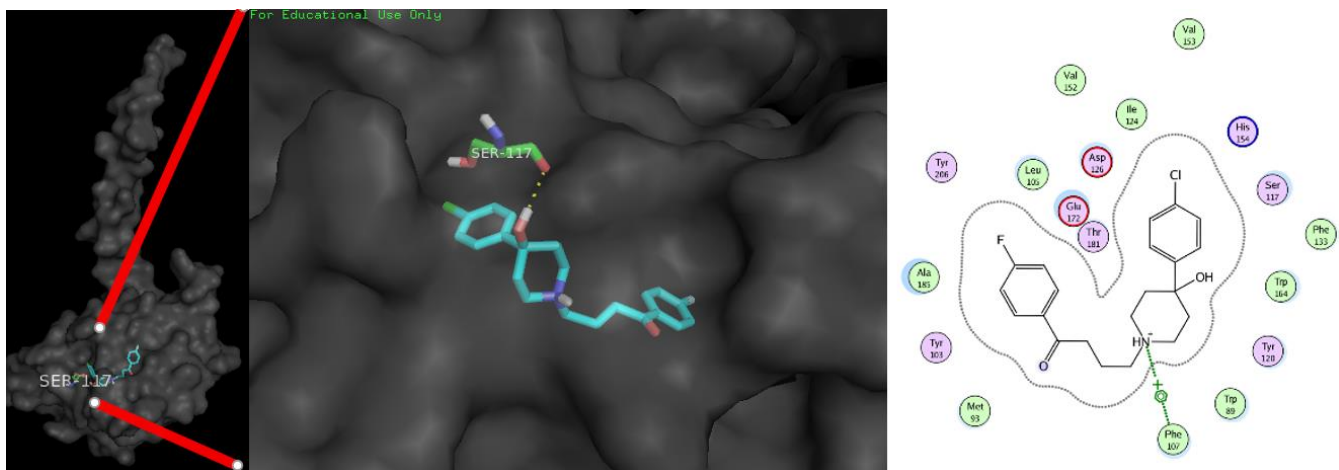


Figura 19. Visualización en 3D y 2D de haloperidol (Azul) en el sitio de unión del receptor σ_1 .

Existen diferentes modelos farmacofórico que se han desarrollado como método para la explicación de la afinidad y creación de los ligandos σ_1 . Todos los modelos propuestos coinciden en los dos farmacóforos basados en este proyecto, en ellos se habla de tres importantes grupos funcionales repetidos en al menos el 70% de ligandos probados: 2 fracciones hidrofóbicas y una sección catiónica central. Los compuestos propuestos, así como el fármaco haloperidol mantienen distancias muy cercanas a las propuestas en el grupo del Dr. Gabriel Navarrete (**Figura 20**).⁴⁶

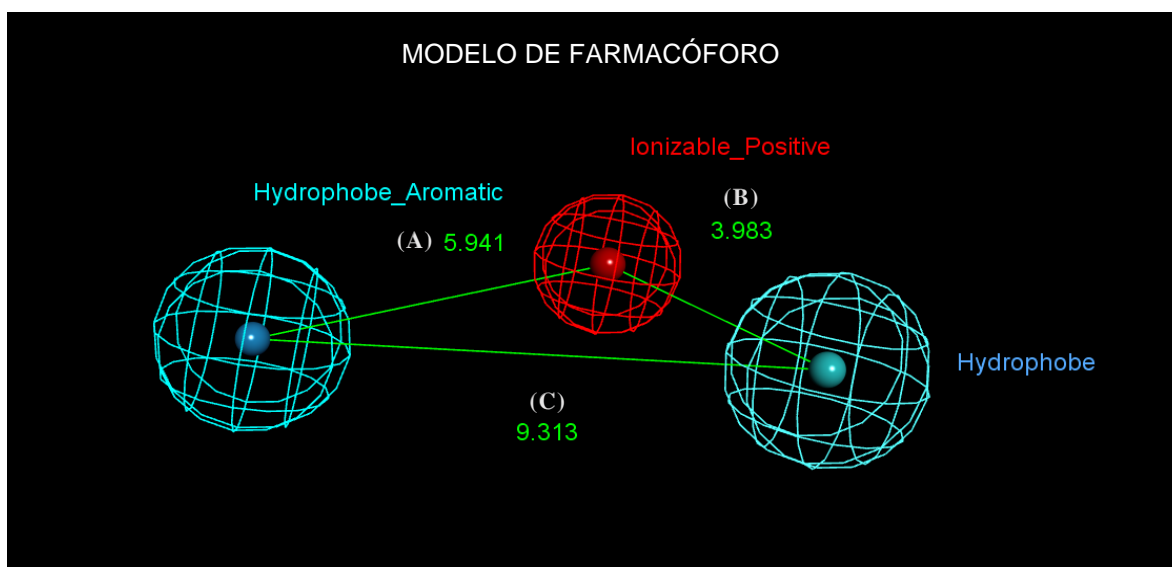


Figura 20. Modelo farmacofórico para ligandos selectivos σ_1 .

Las distancias mostradas en la figura 20 son: a) 5.941, b) 3.983 y c) 9.313 Å,⁴⁶ son muy cercanas en comparación con los compuestos propuestos en este proyecto para ser ligandos del receptor σ_1 . Si se hace referencia al grupo farmacofórico propuesto por Glennon, las distancias serían: a) 6-10, b) 2.5-3.9 y c) 11.2 Å,⁴⁷ como se muestra en la **Figura 21**, comparando las dos propuestas se puede apreciar una similitud en las distancias.

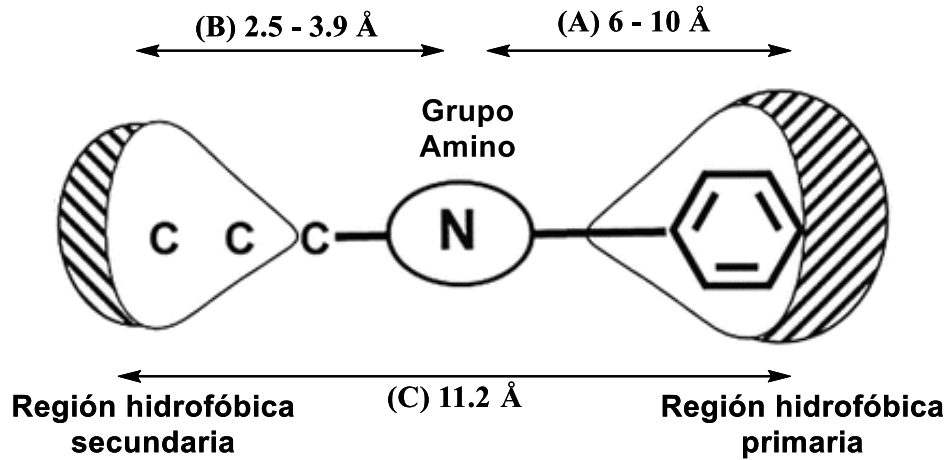


Figura 21. Modelo farmacofórico propuesto por Glennon.⁴⁷

En la **Figura 22** se observa la sobreposición (overlay) de haloperidol y los compuestos **LMH 1-3** en 3D, donde el fármaco posee distancia parecidas entre las regiones hidrofóbicas que los compuestos propuestos.

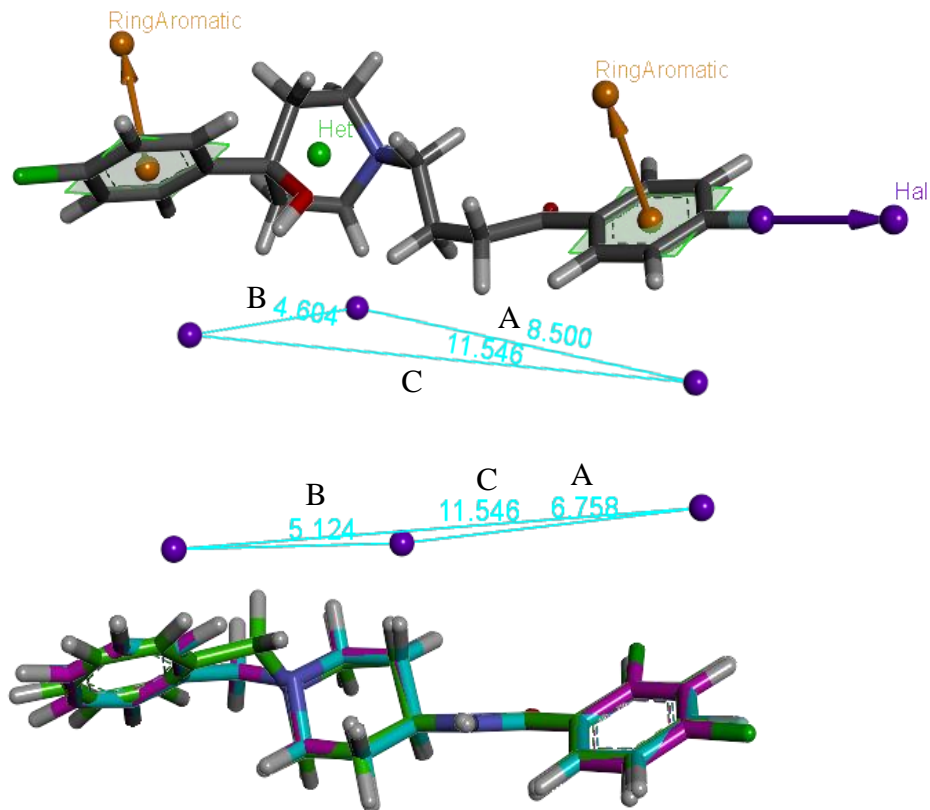


Figura 22. Multialineación y distancias mostradas por **haloperidol** y los compuestos **LMH 1-3**, como ligandos del receptor σ_1 .

El diseño químico farmacéutico fue empleado para realizar la modificación de manera racional, para mantener la actividad biológica, mejorar sus características fisicoquímicas y reducir la toxicidad de las moléculas propuestas.

6.3 Reglas de Lipinski y Veber en el diseño de los compuestos con actividad biológica.

La regla de los 5 (regla de Lipinski), junto con las reglas de Veber son de las más utilizadas para el diseño racional de nuevas moléculas, así como su predicción para una buena permeabilidad celular y por ende una absorción adecuada, ya que mantienen los compuestos propiedades estructurales similares a fármacos.

Para la regla de Lipinski y Veber, la molécula no debe presentar más de dos violaciones a los siguientes criterios, ya que podrían tener problemas de absorción, permeabilidad y biodisponibilidad, estas reglas son:

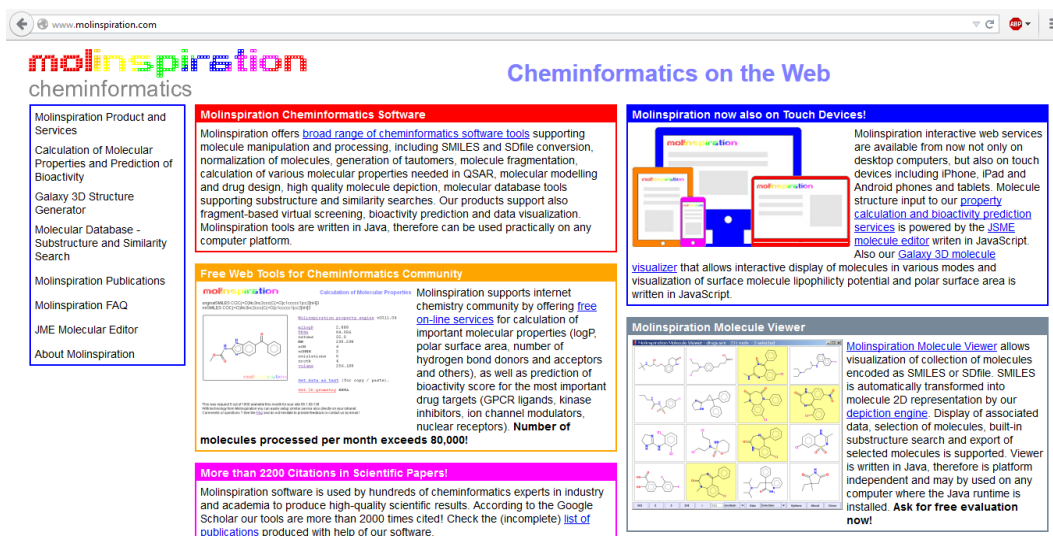
Regla de Lipinski⁴⁸

- Peso molecular inferior a 500 g/mol.
- Número de donadores de puentes de hidrógeno menor a 5, expresado sobre la misma molécula.
- Número de aceptores de puentes de hidrógeno menor a 10 (2 X 5), expresado sobre la misma molécula.
- Coeficiente de partición (LogP) menor a 5.

Regla de Veber⁴⁷

- ≤ 10 enlaces rotables (flexibilidad molecular).
- $\leq 140 \text{ \AA}^2$ de área polar superficial (APS).
- ≤ 12 puentes de hidrógenos totales (aceptores y donadores).

Para obtener esta información, se usó el servidor computacional Molinspiration Cheminformatics (**Figura 23**) que permite calcular las reglas antes mencionadas, así de igual forma indica el número de violaciones a dichas reglas.



The screenshot shows the Molinspiration website with several key sections:

- Molinspiration Product and Services:** Calculation of Molecular Properties and Prediction of Bioactivity, Galaxy 3D Structure Generator, Molecular Database - Substructure and Similarity Search, Molinspiration Publications, Molinspiration FAQ, JME Molecular Editor, About Molinspiration.
- Molinspiration Cheminformatics Software:** Offers a broad range of cheminformatics software tools supporting molecule manipulation and processing, including SMILES and SDF file conversion, normalization of molecules, generation of tautomers, molecule fragmentation, calculation of various molecular properties needed in QSAR, molecular modelling and drug design, high quality molecule depiction, molecular database tools supporting substructure and similarity searches. Our products support also fragment-based virtual screening, bioactivity prediction and data visualization. Molinspiration tools are written in Java, therefore can be used practically on any computer platform.
- Free Web Tools for Cheminformatics Community:** Molinspiration supports internet chemistry community by offering free on-line services for calculation of important molecular properties (logP, polar surface area, number of hydrogen bond donors and acceptors and others), as well as prediction of bioactivity score for the most important drug targets (GPCR ligands, kinase inhibitors, ion channel modulators, nuclear receptors). Number of molecules processed per month exceeds 80,000!
- Molinspiration now also on Touch Devices!** Molinspiration interactive web services are available from now not only on desktop computers, but also on touch devices including iPhone, iPad and Android phones and tablets. Molecule structure input to our property calculation and bioactivity prediction services is powered by the JSME molecule editor written in JavaScript. Also our Galaxy 3D molecule visualizer that allows interactive display of molecules in various modes and visualization of surface molecule lipophilicity potential and polar surface area is written in JavaScript.
- Molinspiration Molecule Viewer:** Molinspiration Molecule Viewer allows visualization of collection of molecules encoded as SMILES or SDF file. SMILES is automatically transformed into molecule 2D representation by our depiction engine. Display of associated data, selection of molecules, built-in substructure search and export of selected molecules is supported. Viewer is written in Java, therefore is platform independent and may be used on any computer where the Java runtime is installed. Ask for free evaluation now!
- More than 2200 Citations in Scientific Papers!** Molinspiration software is used by hundreds of cheminformatics experts in industry and academia to produce high-quality scientific results. According to the Google Scholar our tools are more than 2000 times cited! Check the (incomplete) list of publications produced with help of our software.

Figura 23. Programa Molinspiration Cheminformatics online (<http://www.molinspiration.com>).⁴⁹

En el estudio se determinó que las moléculas finales diseñadas no presentan violaciones a las diferentes reglas (Lipinski y Veber), por lo que se predice que tendrán una adecuada permeabilidad por difusión pasiva, esto se muestra en la siguiente **Tabla 2**. Se realizó la comparación con el compuesto S1RA, ligando de los receptores σ_1 que se encuentra en fase II de experimentación.

Tabla 2. Valores de las reglas de Lipinski y Veber

	Valor de referencia	LMH-1	LMH-2	LMH-3	LMH-4	LMH-5	LMH-6	Halo	S1RA
PM (g/mol)	<500	294	312	363	280	298	349	375	337
cLogP	<5	2.95	3.11	4.23	3.31	3.48	4.60	4.30	3.33
N° AH	<10	3	3	3	2	2	2	3	5
N° DH	<5	1	1	1	1	1	1	1	0
N° ER	<10	3	3	3	4	4	4	5	5
APS (Å²)	<140	49.4	49.4	49.4	32.3	32.3	32.3	36.9	36.9
Violaciones (N°)	<2	0	0	0	0	0	0	0	0

PM: Peso Molecular; cLogP: Coeficiente de partición; AH: Aceptores de puentes de hidrógeno; DH: Donadores de puentes de hidrógeno; ER: Enlaces rotables; APS: Área polar superficial

7. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

El presente trabajo se dividió en tres partes como se describe a continuación:

- 1. Parte química.** El diseño y la síntesis de los compuestos se realizó bajo la dirección del Dr. J. Gabriel Navarrete-Vázquez en el Laboratorio 5 de Química Farmacéutica en la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (FF-UAEM). Las técnicas espectroscópicas (RMN ^1H y ^{13}C) y espectrométricas (EM) se realizaron en colaboración con el Dr. Héctor Torres Gómez de la Universidad de *Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften* (ZHAW) de la unidad Química Orgánica y Química Farmacéutica, el Dr. Carlos Nava-Zuazo de Apotex, Jiutepec, Morelos y por el Dr. Emanuel Hernández Núñez del departamento de recursos del mar CINVESTAV Mérida del Departamento de Recursos del Mar.
- 2. Parte farmacológica.** La evaluación *in vitro* se realizó sobre el receptor σ_1 en colaboración con el Dr. Bernhard Wunsch y el Dr. Dirk Schepmann del Instituto de Química Farmacéutica de la Universidad de Münster, Alemania. Las pruebas *in vivo* se realizaron en colaboración con el Dr. Francisco Javier López Muñoz y el M. en. C. Josué Vidal Espinoza del Departamento de Farmacobiología del CINVESTAV sede Coapa del Instituto Politécnico Nacional (IPN).
- 3. Parte computacional (*In silico*).** Se divide en dos partes, la primera es un estudio *a priori* (antes de la síntesis): Consta de la predicción de la actividad biológica de cálculos farmacodinámicos, para determinar si la molécula poseerá o no la actividad propuesta, los programas utilizados son SwissTarget Prediction, Toxicidad aguda calculado con el software ACD/ToxSuite, propiedades cuasi-fármacos con el programa OSIRIS, predicción del metabolismo con MetaPrind2D-react. La segunda parte del estudio *a posteriori* (después de la evaluación farmacológica): consiste en el estudio de

acoplamiento molecular (“*Molecular Docking*”) sobre el blanco terapéutico del receptor σ_1 , en este se observan las interacciones de unión ligando proteína. Esta parte se realizó en el Laboratorio 5 de Química Farmacéutica de la FF-UAEM.

7.1 PARTE QUÍMICA

7.1.1 Retrosíntesis de los compuestos

En las **Figura 24** y **Figura 25** se muestra el análisis retrosintético para obtener la ruta sintética adecuada para la obtención de las moléculas propuestas **LMH 1-6**.

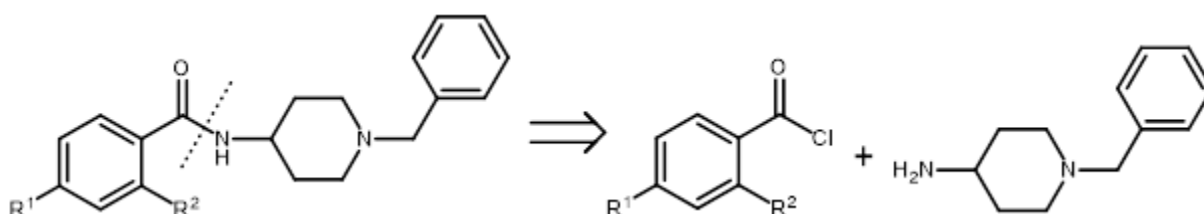


Figura 24. Ruta retrosintética de la serie 1-3.

Una vez diseñadas las moléculas finales de la serie **1-3**, se observa la desconexión en el grupo amida para así obtener el cloruro de ácido y la amina correspondiente, ambos compuestos químicos se encuentran disponibles comercialmente.

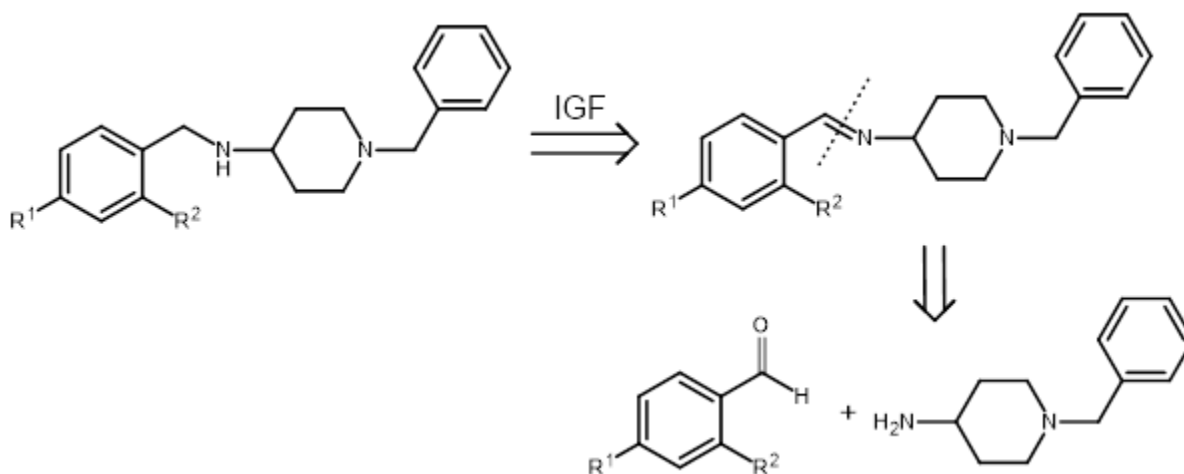


Figura 25. Ruta retro sintética de la serie 4-6.

Para las moléculas finales diseñadas de la serie **4-6**, se observa una interconversión de grupo funcional (IGF) para obtener la imina, cuya desconexión muestra el benzaldehído y la amina primaria correspondiente, ambos compuestos químicos se encuentran disponibles comercialmente.

7.1.2 Metodología general para la síntesis de los compuestos de *N*-(1-bencilpiperidin-4-il)benzamida (LMH 1-3)

Para el proceso se colocó la 4-aminobencilpiperidina (**11**) en agitación con trietilamina en diclorometano seco como disolvente. Posteriormente se hizo reaccionar con cloruro de benzoilo adecuadamente sustituido (**8-10**) mediante una reacción de Schotten-Baumann. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente para obtener los compuestos finales **LMH 1-3** (Figura 26).

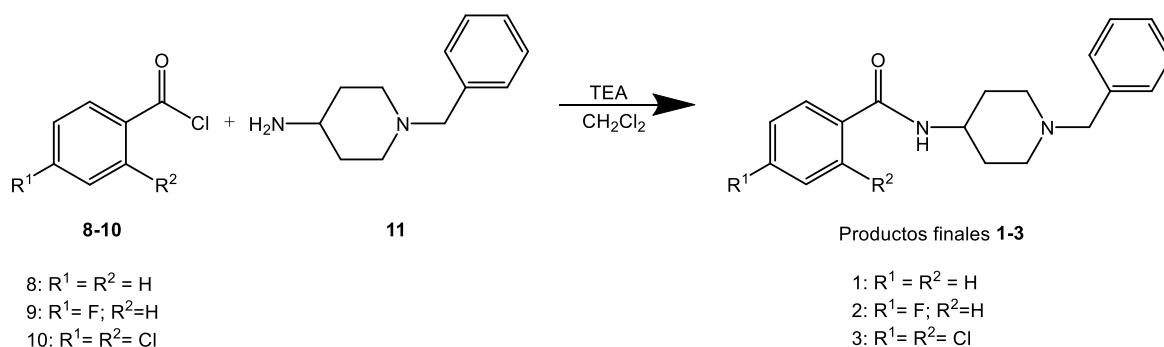


Figura 26. Síntesis de los productos finales **1-3**, derivados piperidínicos.

7.1.3 Metodología general para la síntesis de los compuestos de *N*-1-dibencilpiperidin-4-amina (LMH 4-6).

La 4-aminobencilpiperidina (**11**) se colocó en agitación con dicloroetano como disolvente, posteriormente se hizo reaccionar con el benzaldehído adecuadamente sustituido (**12-14**) para obtener la base de Schiff correspondiente, a continuación, se agregó el NaBH_3CN (**7**) para la reducción del doble enlace y así obtener los compuestos finales **LMH 4-6** (Figura 27). La reacción de mantuvo a temperatura ambiente.

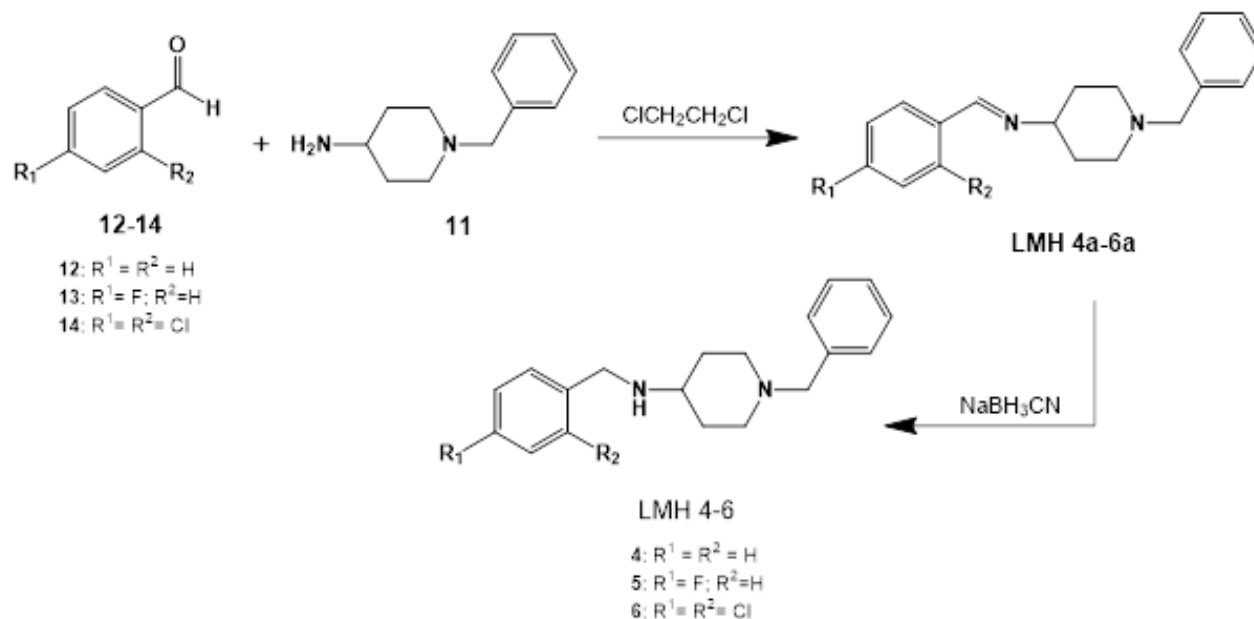


Figura 27. Síntesis de los productos finales **4-6**, como derivados bencilpiperidínicos.

7.2 PARTE COMPUTACIONAL (*in silico a priori*)

7.2.1 Herramienta como predictor de dianas terapéuticas (“SwissTarget Prediction”)

El programa SwissTarget (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) es de libre acceso y fue diseñado para predecir algunos tipos de actividades biológicas basados en la forma estructural de la molécula. Se compara la estructura de consulta en la biblioteca de más de 280 000 compuestos activos. Este programa fue utilizado para predecir la actividad analgésica de los compuestos sintetizados (**Figura 28**).⁵⁰

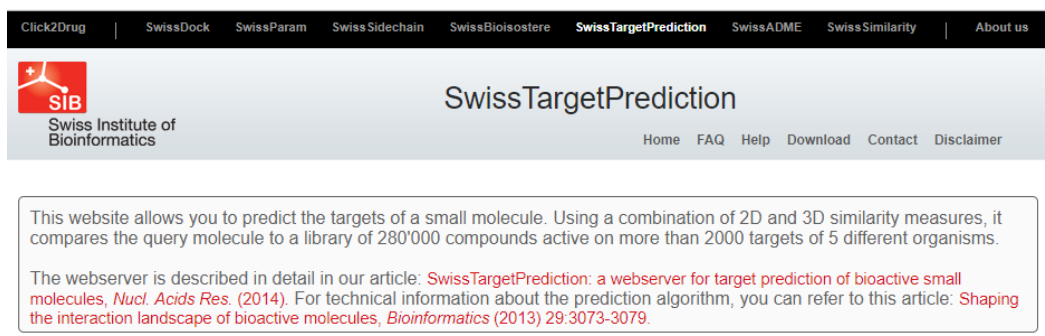


Figura 28. Programa Swisstarget Prediction.⁵⁰

7.2.2 Software como herramienta predictiva de toxicidad aguda (ACD/ToxSuite)

El software ACD/ToxSuite es un programa que permite predecir los efectos tóxicos, de éstos se incluyen el bloqueo de los canales hERG, inhibición de la familia CYP450, toxicidad aguda, así como la categoría donde entran los compuestos de acuerdo con la OECD (**Figura 29**).⁵¹

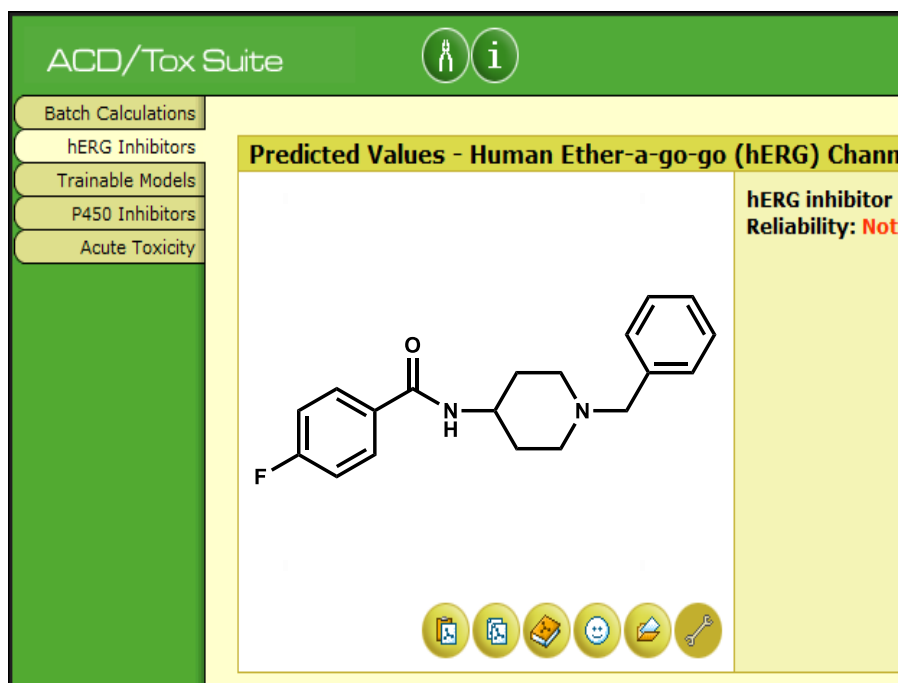


Figura 29. Programa de ACD/ToxSuite.⁵¹

7.2.3 Predicción de las propiedades cuasi-fármaco (OSIRIS)

EL programa OSIRIS (<http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>) es de libre acceso permitiendo calcular diversos parámetros, en éstos se encuentran las propiedades de mutagenicidad, tumorigenicidad, irritabilidad y afecciones en el aparato reproductivo. Los valores están codificados en colores, el color rojo es para aquellos compuestos con peligro de toxicidad y verde para los inocuos (**Figura 30**).⁵²

El programa indica resultados de semejanza de fármacos (Druglikeness), el cual combina medicamentos, fármacos y productos químicos disponibles en el mercado, produciendo una lista de fragmentos disponibles.⁵³ Además proporciona un puntaje (“Drug score”), el cual combina diversos parámetros que pueden utilizarse para estudiar el potencial del compuesto diseñado para llegar a ser un posible fármaco.⁵⁴



Figura 30. Programa OSIRIS (<http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>).⁵²

7.2.4 MetaPrint2D-React como predictor del sitio metabólico

EL programa MetaPrint2D-React (Figura 31) es de libre acceso, siendo una herramienta que ayuda a la predicción del metabolismo de los compuestos a través del análisis estadístico de las transformaciones metabólicas, así como las reportadas en la literatura científica. Este programa predice los sitios de metabolismo de Fase I (reducción, oxidación e hidrólisis) y Fase II (conjugación, sulfatación y glucuronidación).⁵⁵

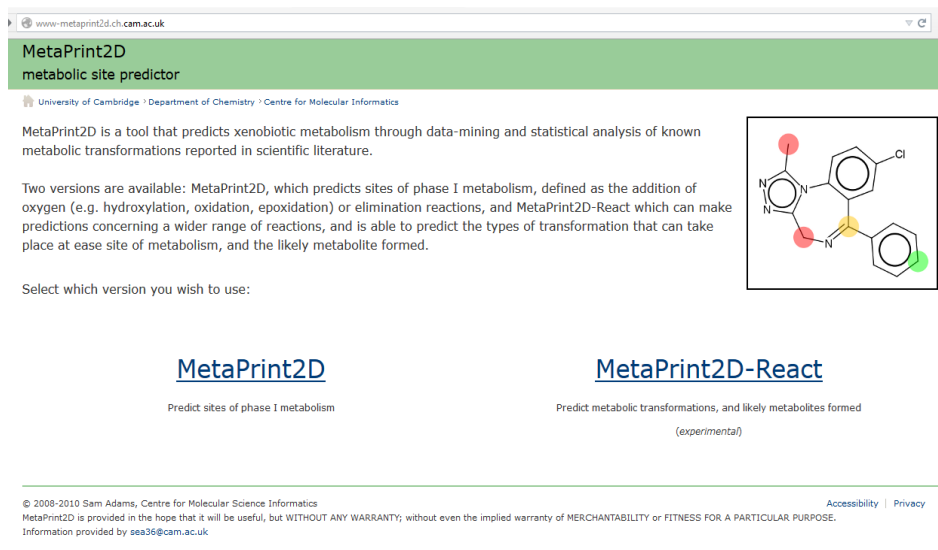


Figura 31. Programa MetaPrint2d (<http://www-metaprint2d.ch.cam.ac.uk/>).⁵⁶

7.2.5 Predictor de parámetros farmacocinéticos y toxicidad (admetSAR)

El programa computacional de predicción farmacocinética admetSAR (<http://lmm.d.ecust.edu.cn:8000/>) es un servidor de libre acceso y puede predecir parámetros como absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad de las moléculas en cuestión (Figura 32).⁵⁷

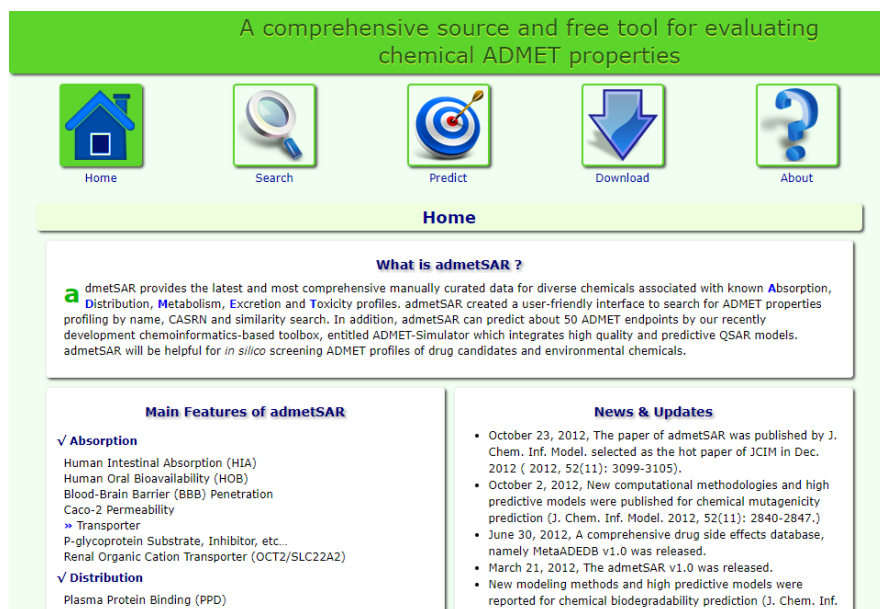


Figura 32. Programa admetSAR (<http://lmm.d.ecust.edu.cn:8000/>).⁵⁷

7.3 EVALUACIÓN *in vitro*

7.3.1 Ensayo de unión para el receptor σ_1 (*binding*)

Para el ensayo se utilizó cerebro de cuyo, el cual se homogenizó con seis cantidades de sacarosa (0.32 M) en frío. Esta solución se centrifugó a 1200 rpm/10 min/4°C. El sobrenadante se separó y se centrifugó a 23 500 rpm/20 min/4°C. El sedimento se re-suspendió en 5-6 cantidades de Buffer-TRIS (50 nM y pH 7.4) y se centrifugó nuevamente a 23 500/20 min/4°C). Este procedimiento se repite dos veces. El sedimento final se resuspendió entre 5-6 cantidades de buffer y se congeló a -80°C en porciones de 1.5 mL que contienen aproximadamente 1.5 mg de proteína/mL. Posteriormente, se preparó una membrana de la corteza cerebral de cuyo que estaba congelada (alrededor 100 μ g de proteína) y se incubó a varias concentraciones de los compuestos a evaluar en 2 nM [3 H]-(+)-pentazocina (22.0 Ci/mmol; Perkin Elmer) y solución Buffer-TRIS a 37 °C.

La constante de disociación (K_i) describe la afinidad entre un ligando y una proteína en particular. Las afinidades ligando-proteína están influenciadas por las interacciones intermoleculares no covalentes entre las dos moléculas, tales como enlaces de hidrógeno, interacciones electrostáticas, fuerzas hidrófobas y fuerzas Van der Waals. Cuanto menor sea la constante de disociación, más fuertemente se encuentra unido el ligando a la proteína. La unión no específica se determinó con 10 μ M de (+)-pentazocina. El valor de la K_i de (+)-pentazocina fue de 2.9 nM.²⁸

7.4 EVALUACIÓN *in vivo*

7.4.1 Animales

Ratas Wistar macho se utilizaron de 90-110 g de peso aproximadamente, éstas fueron proporcionadas por el bioterio del Departamento de Farmacología del Cinvestav sede Coapa. Los animales se mantuvieron bajo condiciones estándar (con ciclos de 12 h día/noche, 25°C y una humedad de 45-65 %). Los experimentos se realizaron de acuerdo con la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999 y bajo

las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio y siguiendo un modelo de dolor autorizado por la IASP. La vía de administración fue subcutánea y cada grupo experimental estuvo constituido por al menos seis animales.

7.4.2 Cirugía del nervio ciático

El modelo de constricción crónica del nervio ciático (CCI, por sus siglas en inglés). Consiste en colocar una ligadura en el nervio ciático para interrumpir la neurotransmisión, lo que genera un fenómeno de alodinia e hiperalgesia. Los animales se anestesiaron con ketamina/xilacina (50/12 mg/Kg, i.p.) para poder realizar la disección del músculo bíceps femoral, se localizó la parte más proximal a la trifurcación del nervio ciático y aproximadamente a 7 mm de ésta se realizaron 4 ligaduras con hilo de seda (3-0) con una distancia de 1 mm entre cada una. Posteriormente se suturó el músculo con hilo absorbible catgut crómico (4-0) y la piel (con hilo de seda 3-0), 15 días después de la cirugía se evaluó la presencia de alodinia e hiperalgesia (**Figura 33**).

7.4.3 Evaluación de alodinia e hiperalgesia

La evaluación de hiperalgesia se realizó por medio de los filamentos de Von Frey, aplicando en la superficie plantar de las extremidades posteriores un estímulo táctil con el filamento para ejercer una fuerza de 15 g (estos filamentos se utilizan para medir el umbral de dolor, ejerciendo la fuerza de 15 g, ya que con los filamentos de menor fuerza son imperceptibles a la sensación de las ratas), cada estímulo se aplicó 10 veces con intervalos de 3 segundos cada uno. La conducta que refleja hiperalgesia se cuantifica como latencia de retiro de la pata estimulada con el filamento. Para la evaluación de alodinia se utilizó el método que consiste en aplicar un estímulo frío, se colocó 0.1 mL de acetona sobre la superficie plantar de las extremidades posteriores. La conducta de alodinia se cuantificó como la latencia de sacudidas y lamidas de la extremidad durante un lapso de 1 minuto, estas conductas se analizaron a los 0, 30, 60, 90, 120 y 180 minutos después de la administración del compuesto a evaluar (**Figura 33**).

7.4.4 Diseño experimental

Para establecer la ventana terapéutica se realizó un cernimiento del compuesto a evaluar empleando dosis logarítmicas fraccionadas, evaluando el efecto antialodínico y antihiperalgésico. Posteriormente, se generó una curva dosis-respuesta de ambas actividades (0.1, 1.0, 3.16, 10.0, 31.6, 100.0 mg/kg, s.c.)

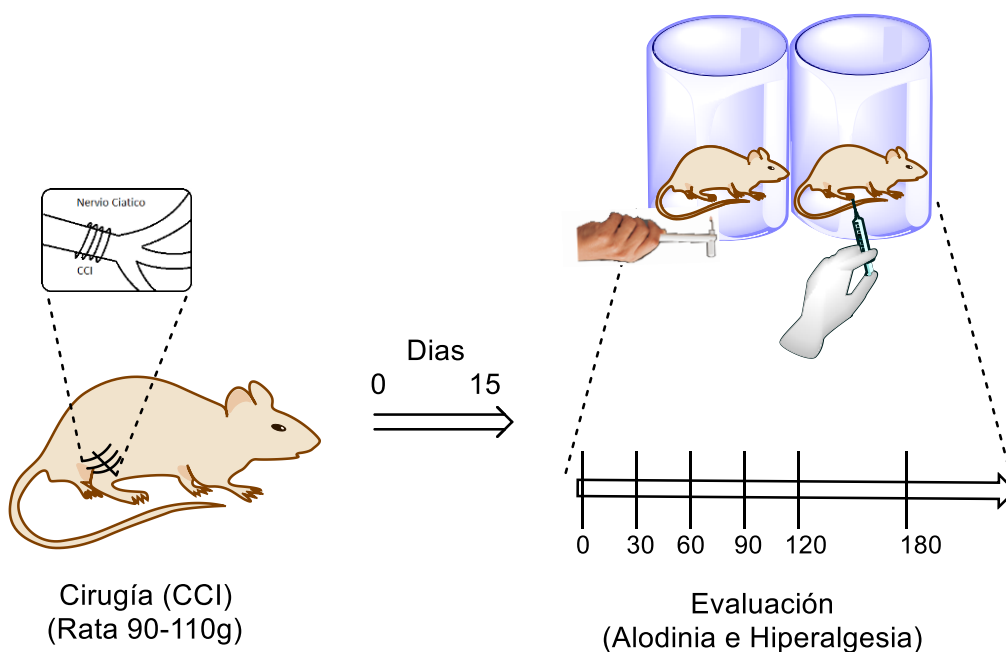


Figura 33. Preparación del estudio *in vivo* en ratas Wistar

7.4.5 Análisis estadístico

Para determinar el efecto del compuesto sobre la presencia de alodinia e hiperalgesia, los efectos de cada tratamiento se analizaron utilizando seis animales en cada grupo y los resultados obtenidos se expresan como un promedio \pm error estándar de la media (E.E.M.). El valor del área bajo la curva (ABC) se calculó a partir del curso temporal respectivo. El ABC para cada dosis del compuesto analizado se calculó mediante el método trapezoidal.⁶⁹ Para el análisis de la sensibilidad nociceptiva a la estimulación mecánica en los diferentes puntos temporales y bajo diferentes tratamientos, se utilizó ANOVA de una vía, seguido de un análisis *post hoc* de Dunnett con $p \leq 0.05$ comparando vs. vehículo. En el análisis ABC, los datos se compararon mediante una prueba de ANOVA de una vía seguida

de una prueba *post hoc* de Tukey ($p \leq 0.05$). En todos los análisis estadísticos, una $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativa.⁵⁸

7.5 ACOPLAMIENTO MOLECULAR (Docking, *in silico a posteriori*)

El acoplamiento molecular (“Docking”), predice la energía de unión (ΔG), así como la orientación y conformación tridimensional (3D) de la unión ligando-sitio de acción, generalmente en una proteína determinada por difracción de rayos X o por modelado por homología cuando la estructura (3D) se desconoce.²⁸

Los siguientes programas se utilizaron para llevar a cabo el acoplamiento molecular del presente proyecto:

AutoDock es un software con múltiples herramientas para predecir interacciones de moléculas pequeñas, con un receptor cuya estructura se debe encontrar en tercera dimensión.⁵⁹

MOE (Molecular Operating Environment) es un software que apoya firmemente el diseño de moléculas bioactivas a través de la simulación molecular, análisis de estructura de proteínas, procesamiento de datos de moléculas pequeñas, el estudio de acoplamiento de proteínas y moléculas pequeñas, y así sucesivamente bajo las operaciones unificadas.⁶⁰

PyMol es un software que apoya como visor molecular de código abierto para el diseño de sustancias bioactivas a través de visualización y simulación en tercera dimensión, analizando el tipo de enlace que se forma en el acoplamiento de los ligandos y las proteínas en cuestión, así como el procesamiento de datos del mismo.⁶¹

La estructura tridimensional de la proteína se obtuvo co-cristalizada de la página PDB (Protein Data Bank, <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>) bajo el ID: 5HK2,

la cual se obtuvo por difracción de rayos X. El sitio de unión es conocido con el ligando con el cual fue co-cristalizada la proteína (**Figura 34**), cabe mencionar que el ligando es muy similar a los propuestos análogos de este proyecto. Con el programa ChemBioDraw Ultra 12.0 se construyeron los ligandos y se optimizó la geometría de cada uno de éstos.^{62,63}

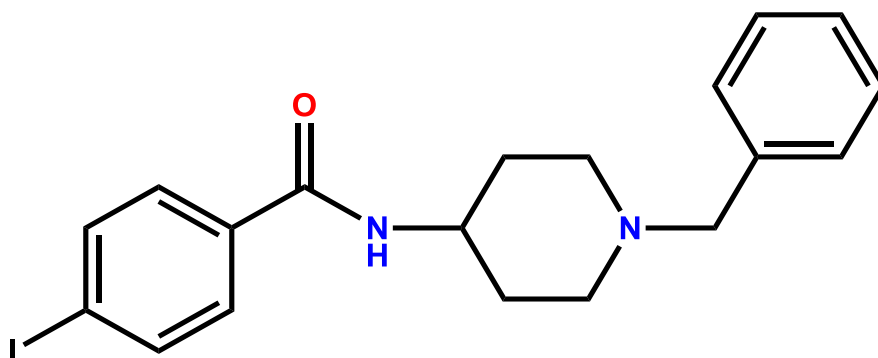


Figura 34. Ligando 4-IBT con el cual fue co-cristalizada el receptor σ_1 (ID: 5HK2).

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 PARTE QUÍMICA

En esta sección se sintetizaron seis compuestos finales benzamidas piperidínicas (**LMH 1-3**) y bencilaminas piperidínicas (**LMH 4-6**).

8.1.1 Síntesis de *N*-(1-bencilpiperidin-4-il)benzamida (**LMH-1**)

La reacción consistió en adicionar la 4-amino-1-bencilpiperidina (**11**) con cloruro de benzoilo (**8**) en medio básico con atmósfera de nitrógeno sobre condiciones de Schotten-Baumann a temperatura ambiente, para generar la amida final **LMH-1** con un rendimiento del 90% (**Figura 35**).

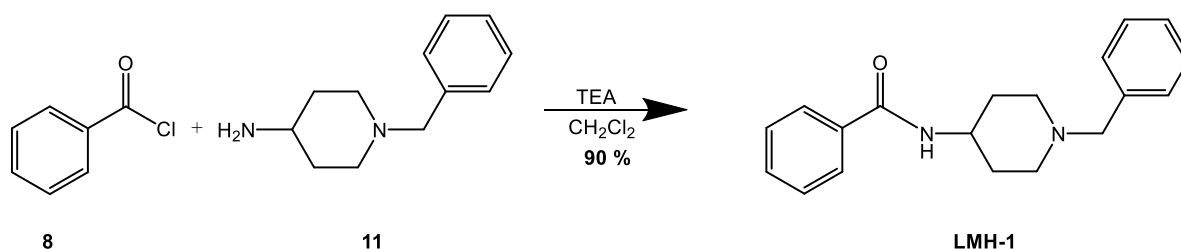


Figura 35. Síntesis del compuesto **LMH-1**.

El espectro de RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) del compuesto **LMH-1**, muestra un cuarteto y una señal doble a un desplazamiento químico de 1.58 y 1.77 ppm correspondiente a los protones H-9 y H-11. Posteriormente, se observan dos señales una triple y una doble a 2.01 y 2.82 ppm asignada para los protones H-8 y H-12 del heterociclo (esto es porque los protones, de los carbonos del heterociclo, son diastereotópicos significando que en los protones geminales uno está en posición *cis*, mientras que el otro está en posición *trans*, respecto al nitrógeno por esto se absorben a campos diferentes). una señal simple en 3.46 ppm correspondiente al metileno cercano al benceno, y finalmente, se muestra una señal múltiple entre 3.73-3.81 ppm asignado al protón de la posición 10. Para la parte aromática se observa una señal múltiple entre 7.23-7.27 ppm para el protón H-4'. Una señal múltiple entre 7.29-7.34 ppm para los protones asignados a las

posiciones 2', 3', 5' y 6'. Una señal múltiple entre 7.43-7.46 ppm que corresponde a los protones H-3 y H-5, en seguida una señal múltiple entre 7.49-7.53 ppm que corresponde al protón de la posición 4 y por último, una señal doble de dobles entre 7.82-7.84 ppm para los protones H-2, H-6 con una $J_m=1.4$ Hz y $J_o=8$ Hz (**Figura 36**).

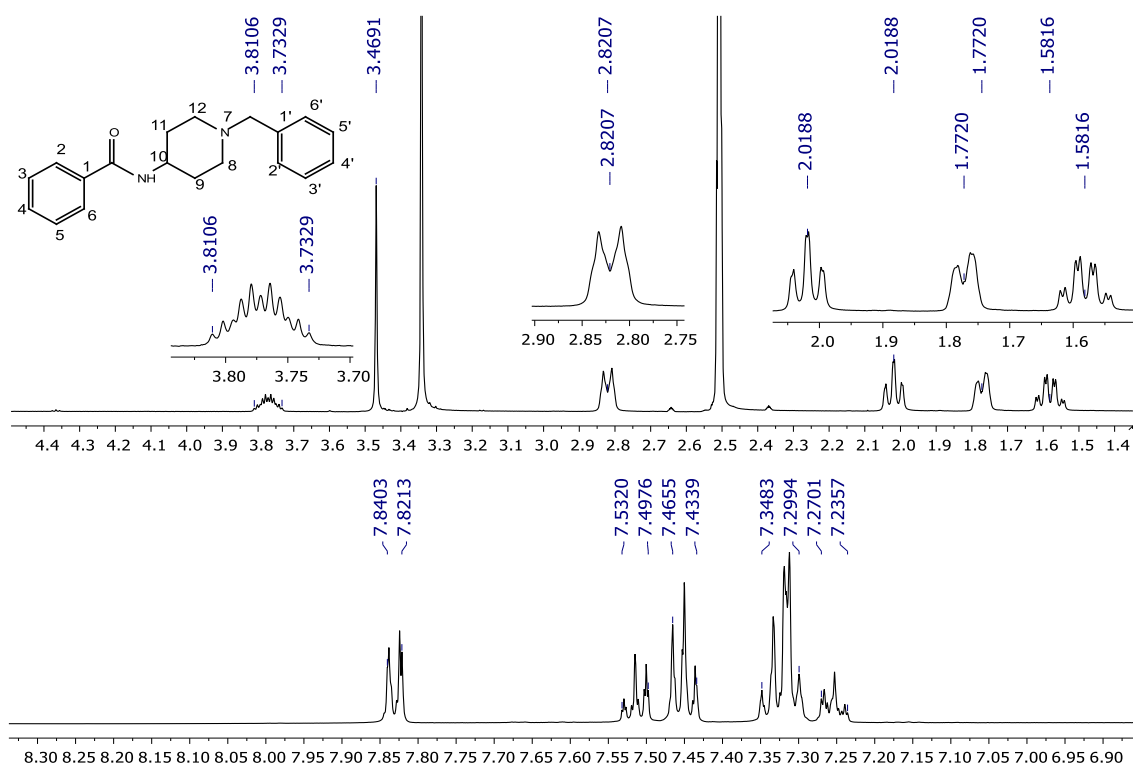


Figura 36. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto **LMH-1**.

En el espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) de **LMH-1** se observan 13 señales correspondientes al número total de carbonos esperados, con un desplazamiento químico en 31.9 ppm correspondiente a los carbonos de la posición 9 y 11, en seguida una señal a 47.3 ppm para el carbono C-10, una señal en 52.7 ppm para los carbonos 8 y 12, una señal en 62.6 ppm correspondiente al metileno, en seguida las señales 124.8, 127.3 y 127.7 ppm para los carbonos 4', 2' y 6', y 3' y 5', respectivamente las señales de 128.1, 129.6 y 131.4 ppm para los carbonos en posición 2 y 6, 3 y 5, y 4, respectivamente, una señal a 135.2 ppm para el C-1', a una señal de 139.1 ppm para el C-1, y por último una señal a 166.0 ppm para el carbono del carbonilo (**Figura 37**).

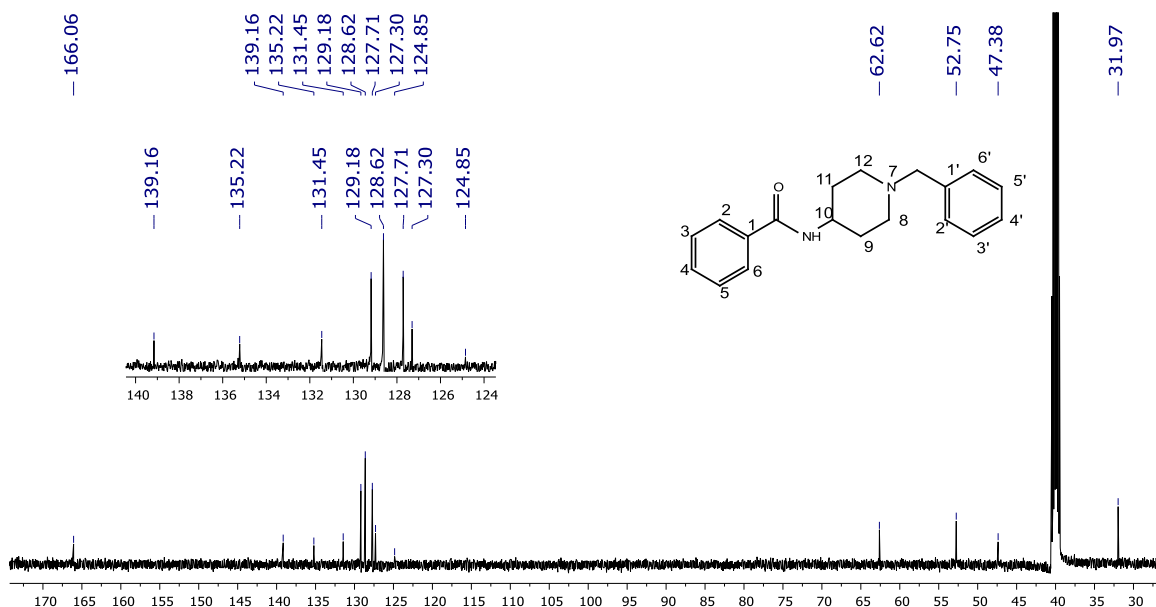


Figura 37. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) del compuesto LMH-1.

En el espectro de masas (IE) del compuesto LMH-1 se observa una señal a 295 m/z correspondiente al ion cuasi-molecular (M^{+1}) con una abundancia relativa del 100% correspondiente a la masa esperada del compuesto. La señal de m/z= 174 corresponde al fragmento bencilpiperidinilio (Figura 38).

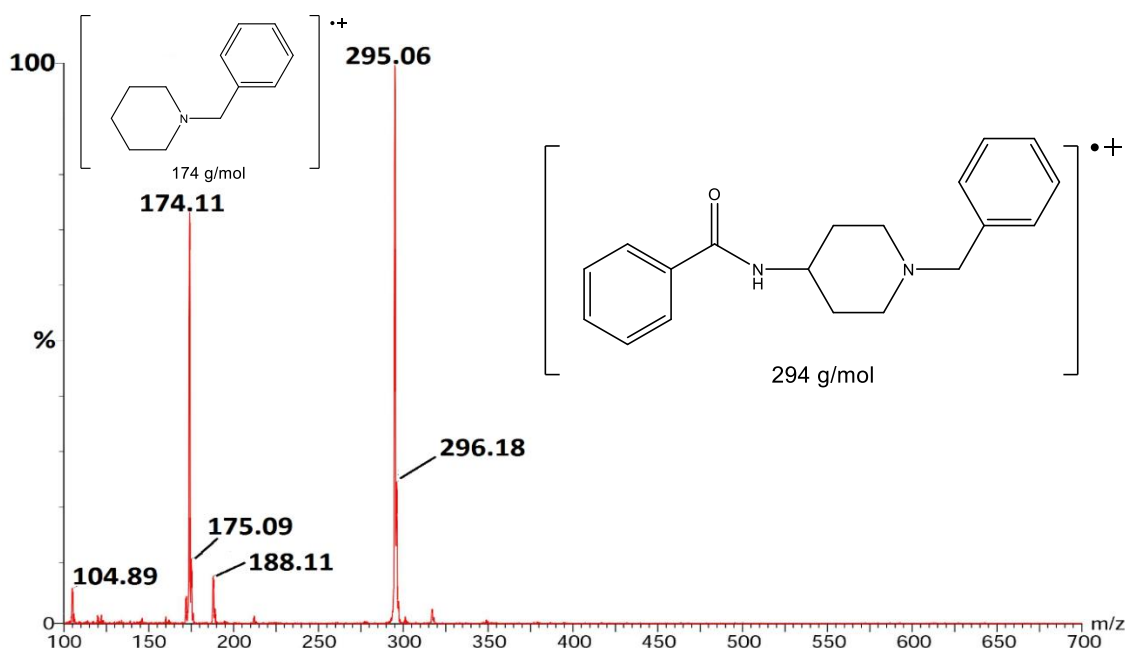


Figura 38. Espectro de masas de LMH-1 con 295 m/z.

8.1.2 Síntesis de *N*-(1-bencilpiperidin-4-il)-4-fluorobenzamida (LMH-2)

La 4-amino-1-bencilpiperidina (**11**) se hizo reaccionar con cloruro de 4-fluorobenzoilo (**9**) en medio básico con atmósfera de nitrógeno sobre condiciones de Schotten-Baumann a temperatura ambiente para generar la amida final **LMH-2** obteniendo un rendimiento del 95% (**Figura 39**).

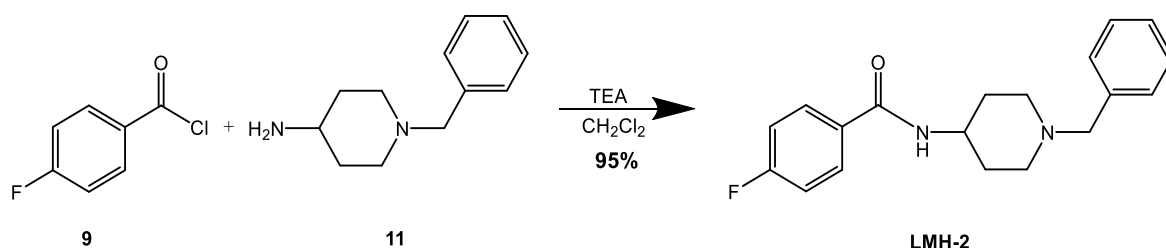


Figura 39. Síntesis del compuesto **LMH-2**.

El espectro de RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3) del compuesto **LMH-2**, se obtuvo como un cuarteto y una señal doble a un desplazamiento químico de 1.55 y 2.00 ppm correspondiente a los protones H-9 y H-11, dos señales una triple y una doble a 2.16 y 2.84 ppm para los protones H-8 y H-12 ppm del heterociclo, una señal simple en 3.51 ppm correspondiente al metileno, después una señal múltiple entre 3.95-4.02 ppm correspondiente al protón de la posición 10. Se logra ver también una señal doble en 6.00 ppm correspondiente al protón de la amida.

Para la parte aromática se observa una señal múltiple entre 7.07-7.10 ppm correspondiente a los protones H-3 y H-5 con una $J_m=2$ Hz y $J_o=8.6$ Hz con sus vecinos protones al igual que con su vecino flúor (F). A continuación, una señal múltiple entre 7.23-7.35 ppm asignados a los protones H-2' a H-6' y, por último, otra señal doble de dobles en 7.75 ppm perteneciente a los protones de las posiciones H-2 y H-6 con una $J_o=8.2$ Hz y una $J_m=5.2$ Hz con el heteroátomo F (**Figura 40**).

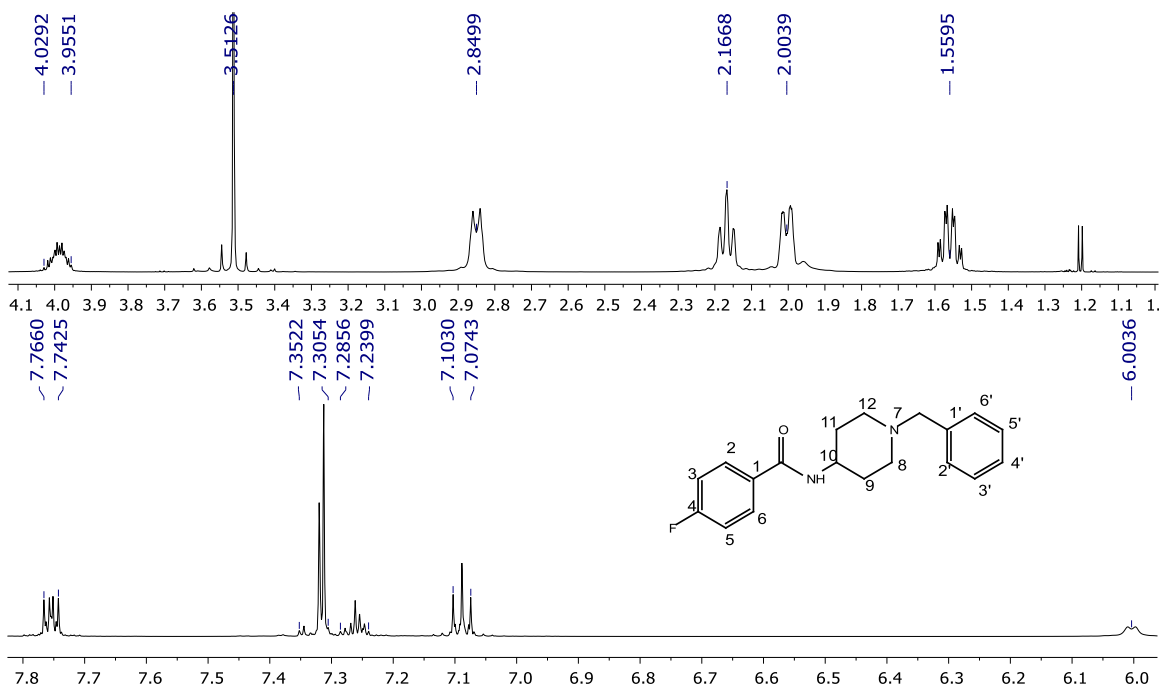


Figura 40. Espectro de RMN ^1H (600 MHz) del compuesto **LMH-2**.

En el espectro de RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de **LMH-2** se observa acoplado a protones (A), el espectro (B) es predictivo del mismo compuesto con el programa Mnova. En éste, se puede observar un desplazamiento químico en 32.2 ppm correspondiente a los carbonos de las posiciones 9 y 11, una señal a 47.5 ppm para el carbono de la posición 10, una señal a 52.5 ppm para los carbonos 8 y 12, una señal en 63.0 ppm para el carbón del metileno, una señal en 114.9 ppm para el C-4', señales de 127.5-129.5 para los carbonos 2', 6', 3', 5', 2, 3, 5 y 6, una señal de 130.9 ppm para el carbono de la posición 1', una señal en 138.3 ppm para el carbono de la posición 1, una señal doble en 164.6 ppm para el C del flúor con una $J_{\text{C-F}} = 248.5$ Hz (las constantes de acoplamiento $J^{13}\text{C-}^{19}\text{F}$ a un enlace para compuestos aromáticos son superiores a los 200 Hz), por último una señal a 165.7 ppm para el carbono del carbonilo (**Figura 41**). El flúor es monoisotópico (100% del isotopo ^{19}F) con un número cuántico de espín $I = \frac{1}{2}$, por lo tanto, producirá acoplamiento con el ^{13}C ; por esto las señales de los átomos de carbono se desdoblán por el acoplamiento con el flúor, llegando a percibirse dicho fenómeno en las señales de los átomos de carbono.⁶⁴

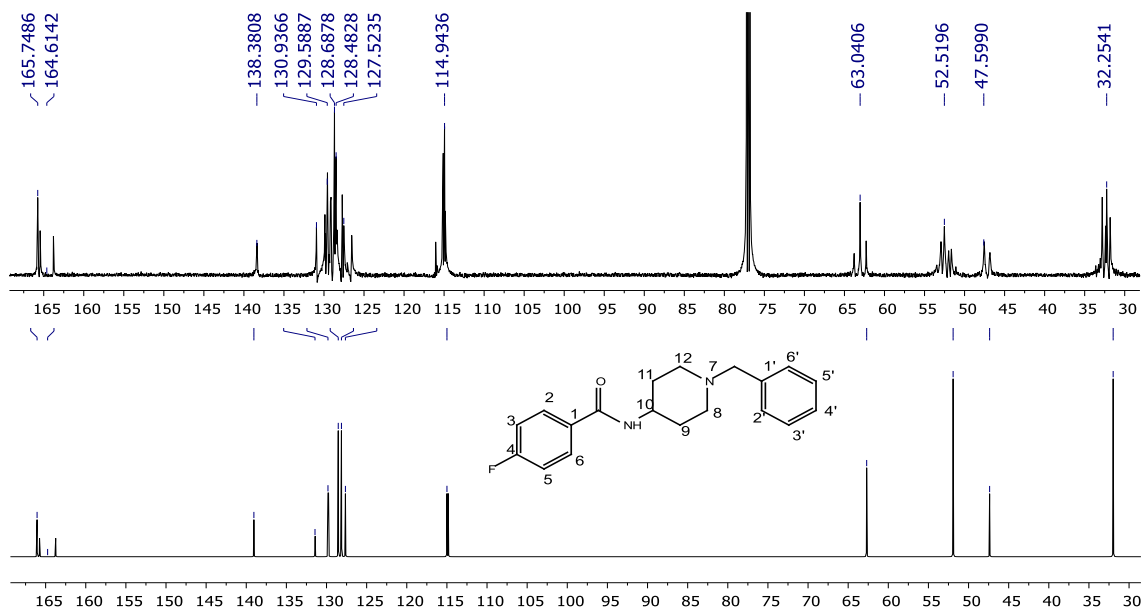


Figura 41. Espectro de RMN ^{13}C (150 MHz, a) acoplado y b) predictivo) del compuesto **LMH-2**.

En el espectro de masas (IE) del compuesto **LMH-2** se observa una señal a 312 m/z correspondiente al ion cuasi-molecular (M^+) con abundancia relativa de 20% correspondiente a la masa esperada del compuesto. La señal de 91 m/z corresponde a la formación del ion tropilio el cual tienen una abundancia del 90%, la señal de 83 m/z correspondiente a la pérdida de piperidina (**Figura 42**).

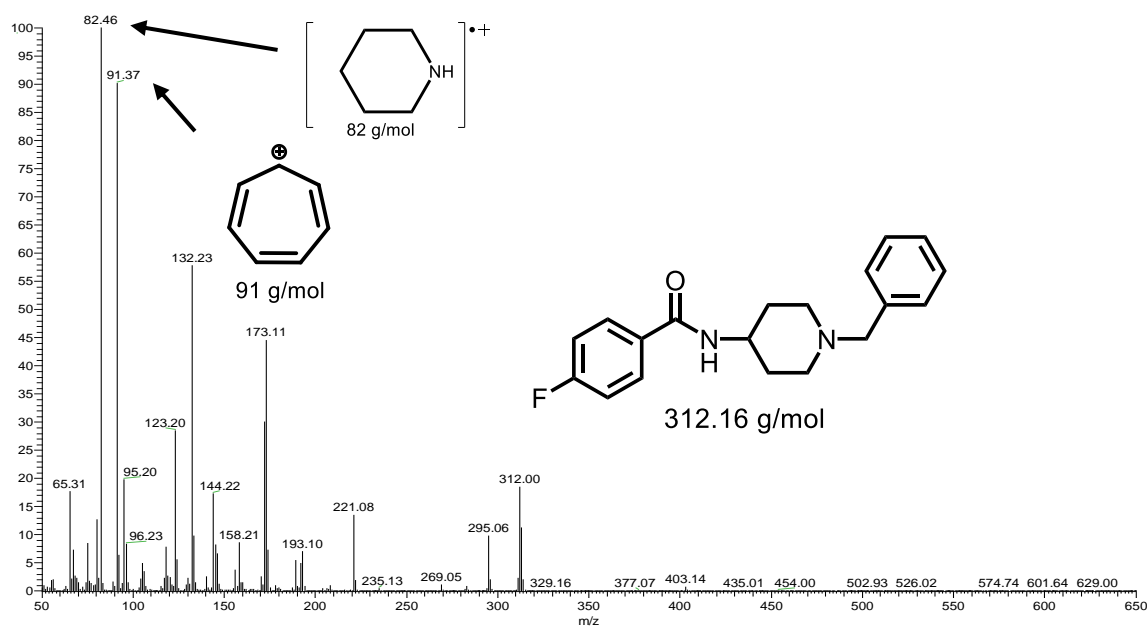


Figura 42. Espectro de masas (IE) del compuesto **LMH-2**.

8.1.3 Síntesis de *N*-(1-bencilpiperidin-4-il)-2,4-diclorobenzamida (LMH-3)

La 4-amino-1-bencilpiperidina (**11**) se hizo reaccionar con cloruro de 2,4-diclorobenzoilo (**10**) en medio básico con atmósfera de nitrógeno sobre condiciones de Schotten-Baumann a temperatura ambiente para generar la amida final **LMH-3** con un rendimiento del 91% (**Figura 43**).

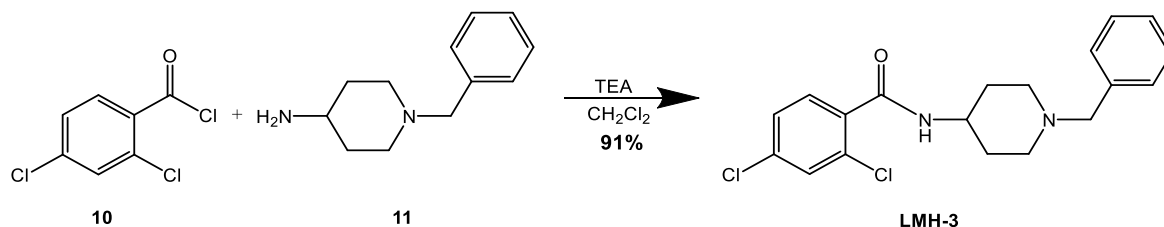


Figura 43. Síntesis del compuesto **LMH-3**.

El espectro de RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) del compuesto **LMH-3**, en el cual se observa un cuarteto y una señal doble a un desplazamiento químico de 1.48 y 1.79 ppm correspondiente a los protones H-9 y H-11, dos señales una triple y una señal doble a 2.03 y 2.77 ppm correspondiente a los protones H-8 y H-12 ppm del heterociclo, una señal simple en 3.45 ppm perteneciente al metileno y una señal múltiple entre 3.67-3.75 ppm correspondiente al protón de la posición 10.

Para la parte aromática se observa una señal múltiple entre 7.23-7.42 ppm correspondiente a los protones H2' a H-6'. una señal múltiple entre 7.47-7.49 para el protón H-5 con una $J_m=2$ Hz y $J_o=8.2$ Hz, una señal doble en 7.68 ppm para el protón H-3 con una $J_m=2$ Hz y por último una señal doble en 8.42 ppm para el protón H-6 con una $J_o=7.8$ Hz (**Figura 44**).

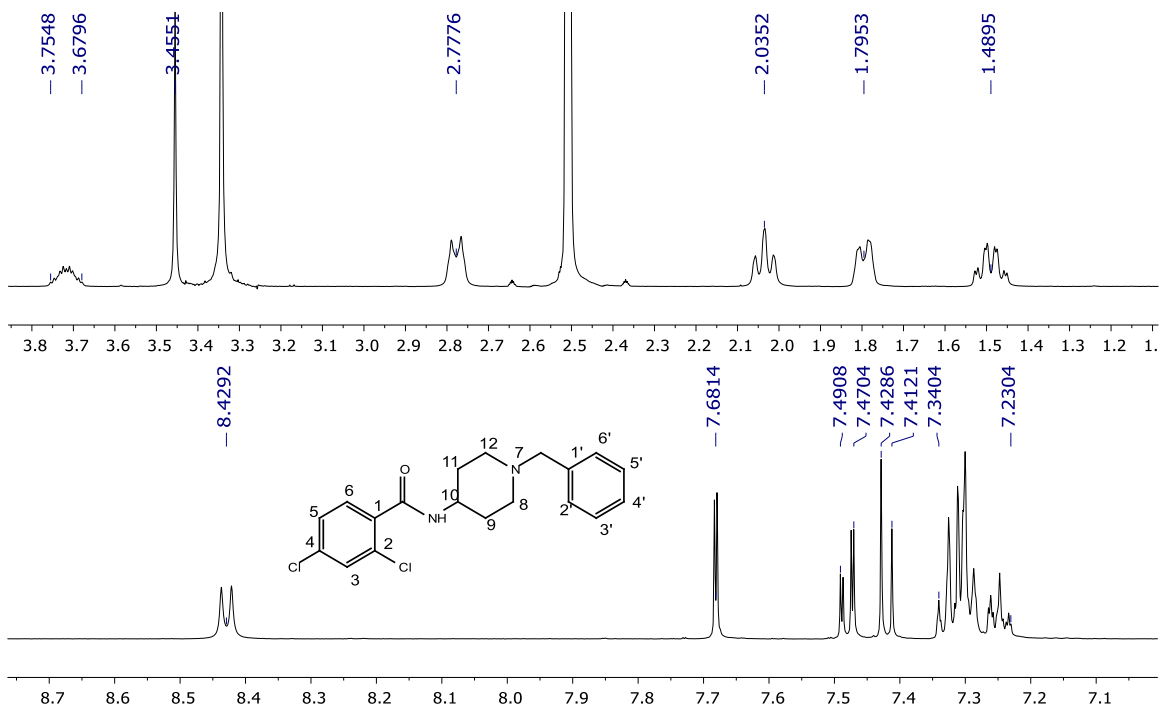


Figura 44. Espectro de RMN ^1H (500MHz) del compuesto **LMH-3**.

En el espectro de RMN ^{13}C de **LMH-3** se observan 15 señales correspondientes al número total de carbonos esperados. Un desplazamiento químico en 31.7 ppm correspondiente a los carbonos de las posiciones 9 y 11, después una señal a 47.1 ppm correspondiente al carbono C-10, una señal a 52.3 ppm para los carbonos 8 y 12, una señal en 62.6 ppm correspondiente para el carbono del metileno, una señal en 127.3 ppm que corresponde al carbono C-5, una señal a 127.7 ppm para el carbón C-4', dos señales 128.6 y 129.1 ppm para los carbonos C 3'-5' y C 2'-6' correspondientemente, una señal en 129.4 ppm para C-6, una señal en 130.6 ppm para C-3, una señal a 131.5 ppm para C-1', una señal 134.6 ppm para C-4, una señal en 136.5 ppm para C-2, una señal en 139.1 ppm para C-1 y por último una señal en 165.1 ppm correspondiente al carbono del carbonilo (**Figura 45**).

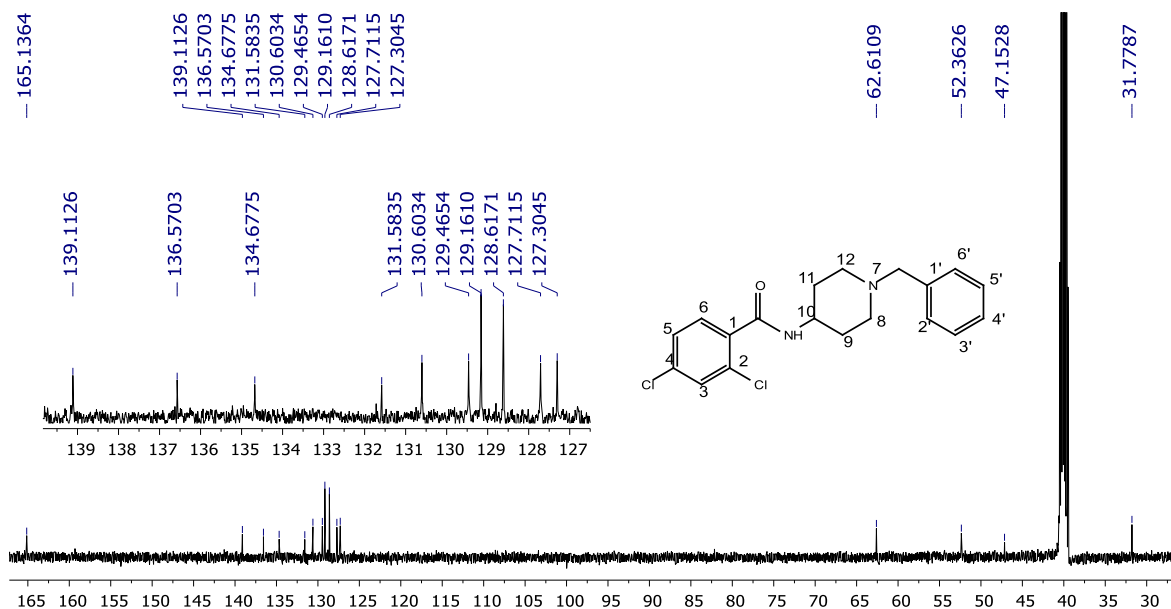


Figura 45. Espectro de RMN ^{13}C (125MHz) del compuesto LMH-3.

En el espectro de masas (IE) del compuesto LMH-3 (Figura 46) se observa una señal a 363 m/z correspondiente al ion molecular (M^+) con una abundancia relativa del 100%, correspondiente a la masa del compuesto. El patrón isotópico de la molécula diclorada con un M+2 y M+4 se observa en proporción 9:6:1.

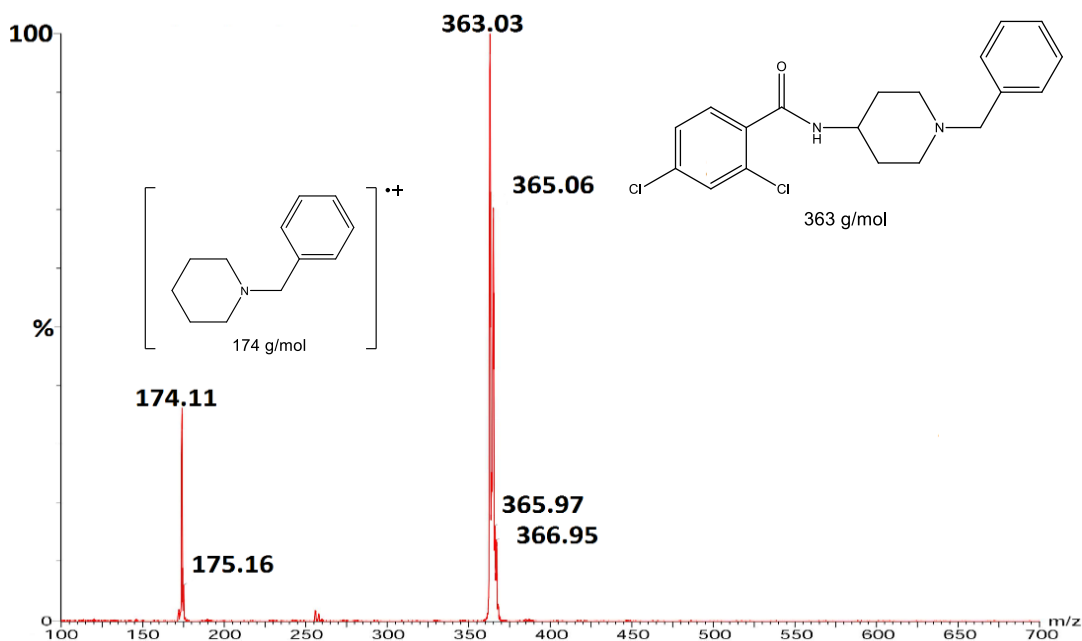


Figura 46. Espectro de masas (IE) del compuesto LMH-3.

8.1.4 Síntesis de *N*,1-dibencilpiperidin-4-amida (LMH-4)

La 4-amino-1-bencilpiperidina (**11**) se hizo reaccionar con benzaldehído (**12**) en atmósfera de nitrógeno y baño de hielo para generar la base de Schiff correspondiente. Posteriormente, *in-situ* se agregó el NaBH_3CN (**7**) para la reducción del doble enlace para generar la amina secundaria final **LMH-4**. Finalmente, se agregó HCl/etanol (50,50) para la formación del clorhidrato con un rendimiento del 62% (**Figura 47**).

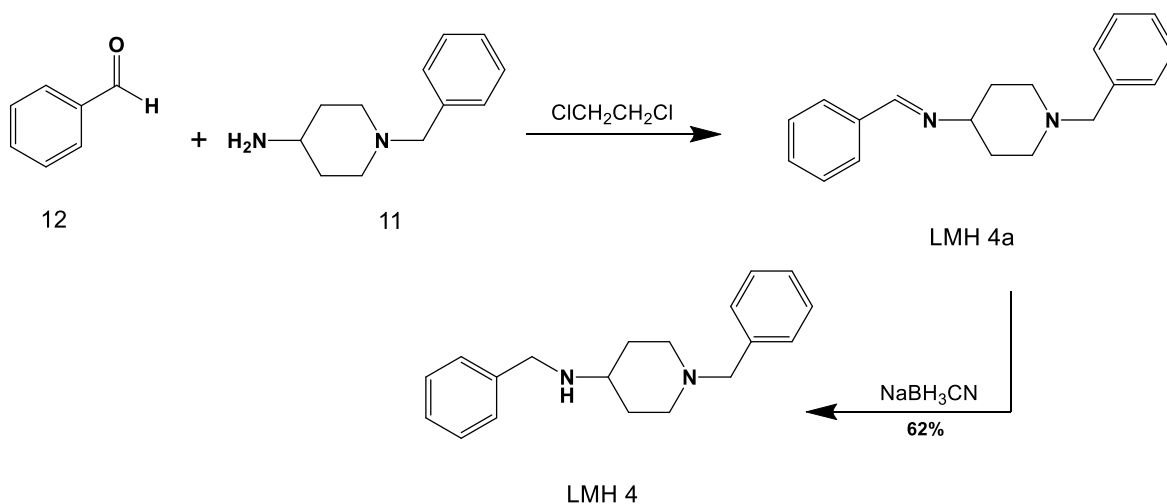


Figura 47. Síntesis del compuesto **LMH-4**.

El espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto **LMH-4**, presenta una señal cuádruple y una doble a un desplazamiento químico de 1.51 y 1.89 ppm correspondiente a los protones H-10 y H-12, una señal simple a 1.98 ppm correspondiente a la amina secundaria, dos señales dobles en 2.03 y 2.88 ppm que corresponden a los protones de las posiciones H-9 y H-13, una señal múltiple entre 2.52-2.59 ppm para el protón de la posición H-11, una señal simple a 3.53 ppm correspondiente al metileno cercano a la amina terciaria y el benceno, y por último, una señal simple con desplazamiento químico de 3.81 ppm que corresponde al metileno cercano de la amina secundaria. Para la parte aromática se observa una señal múltiple entre 7.25-7.27 para los protones de los anillos aromáticos H-2 a H-6 y H-2' a H-6'.

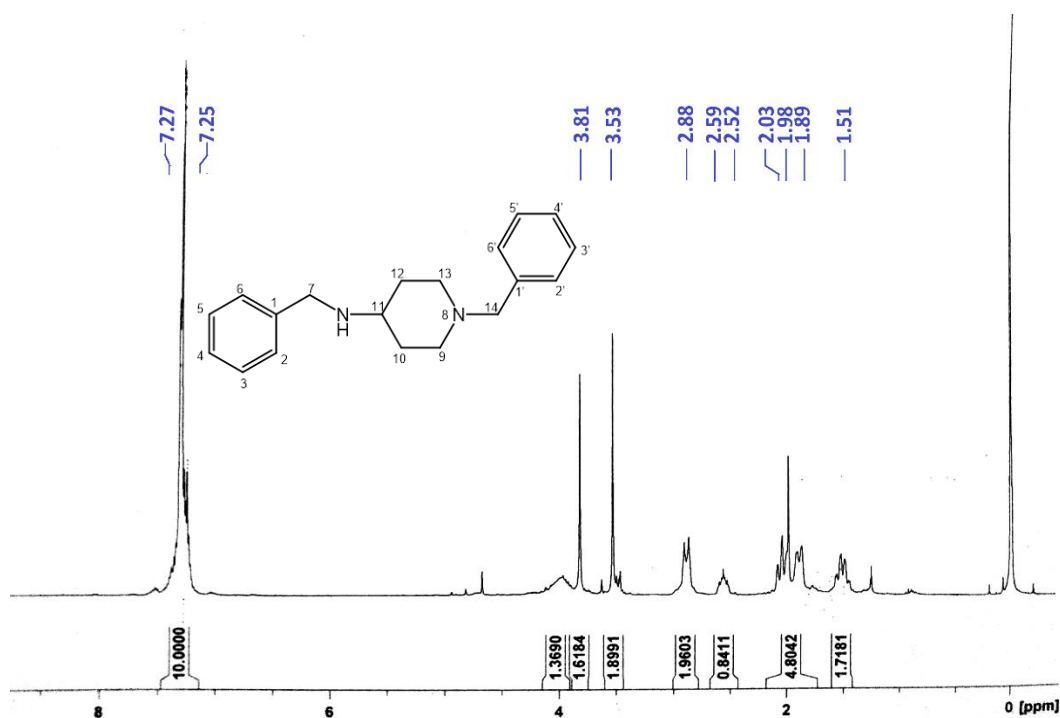


Figura 48. Espectro de RMN ^1H (400MHz) del compuesto **LMH-4**.

En el espectro de RMN ^{13}C de **LMH-4** se observan las 13 señales correspondientes al número total de carbonos esperados, se aprecia un desplazamiento en 31.7 ppm que corresponde a los carbonos de las posiciones 10 y 12, una señal a 50.2 que corresponde al carbón C-7, en seguida un desplazamiento químico a 51.9 ppm que corresponde a los carbonos de las posiciones 9 y 13, una señal con desplazamiento de 53.7 ppm asignado al carbono C-11, y por último, para la zona alifática se observa un señal con desplazamiento químico a 62.6 ppm para el carbono del metileno entre la amina terciaria y el benceno. Para la región aromática se observa una señal en 127.1 ppm asignado a los carbonos C-4 y C-4', enseguida se muestran dos señales en 128.2 asignado a los carbonos de las posiciones 2', 3', 5', 6', después se observa una señal en 128.4 ppm asignados a los carbonos 2 y 6, a continuación se observa una señal en 129.3 ppm que corresponden a los carbonos C-3 y C-5, y por último, se observan dos señales en 137.6 y 139.4 ppm para los carbonos C-1' y C-1 respectivamente (**Figura 49**).

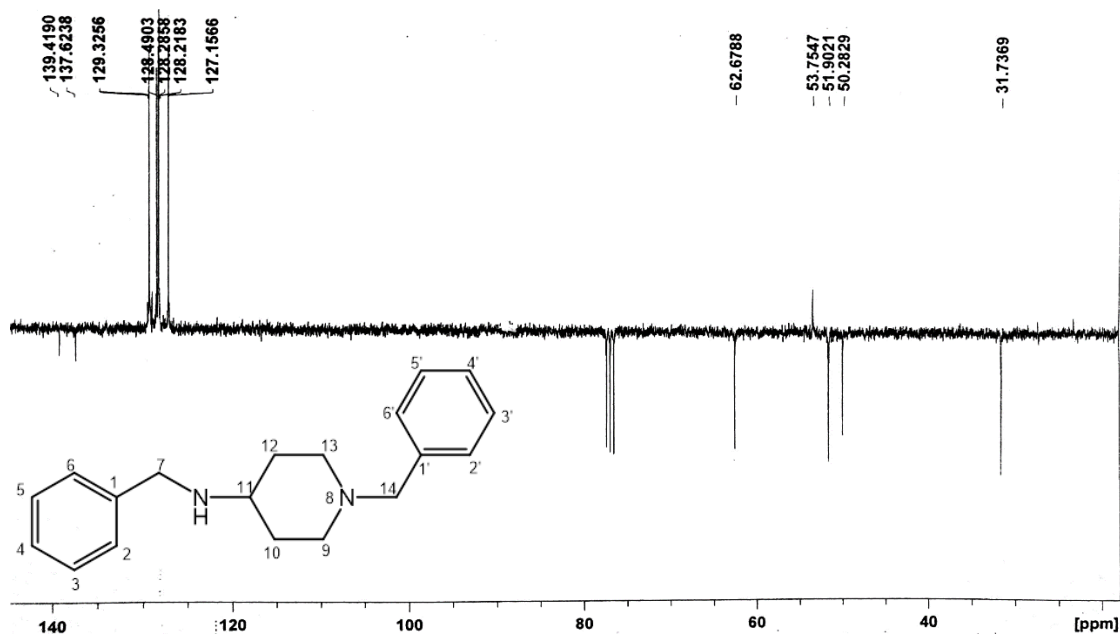


Figura 49. Espectro de RMN ^{13}C DEP (100 MHz) del compuesto LMH-4.

En el espectro de masas (IE) del compuesto LMH-4 (**Espectro 9**) se observa una señal a 281.29 m/z correspondiente al ion cuasi-molecular (M^{+1}) con una abundancia relativa del 1% correspondiente a la masa esperada del compuesto. La señal de m/z = 91 correspondiente al ion tropilio (**Figura 50**).

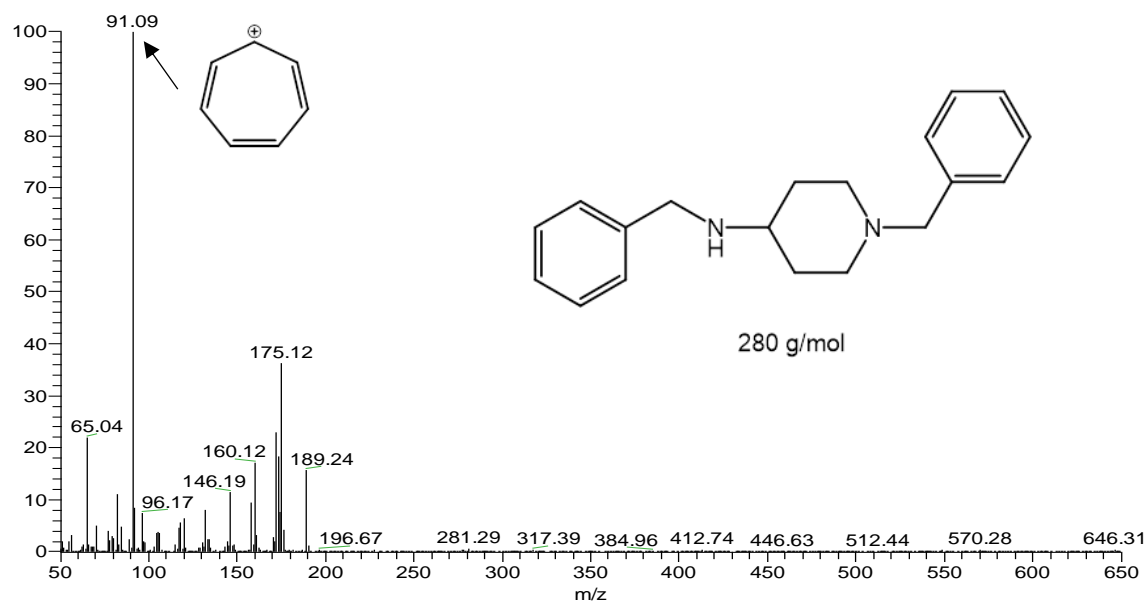


Figura 50. Espectro de masas (IE) del compuesto LMH-4.

8.1.5 Síntesis de 1-bencil-*N*-(4-fluorobencil)piperidin-4-amina (LMH-5)

La 4-amino-1-bencilpiperidina (**11**) se hizo reaccionar con 4-fluorobenzaldehído (**13**) en atmósfera de nitrógeno y baño de hielo para generar la base de Schiff correspondiente. Posteriormente, *in-situ* se agregó el NaBH₃CN (**7**) para la reducción del doble enlace de la imina para generar la amina secundaria final **LMH-5**. Finalmente se agregó HCl/etanol (50,50) para la formación del clorhidrato con un rendimiento del 45% (**Figura 51**).

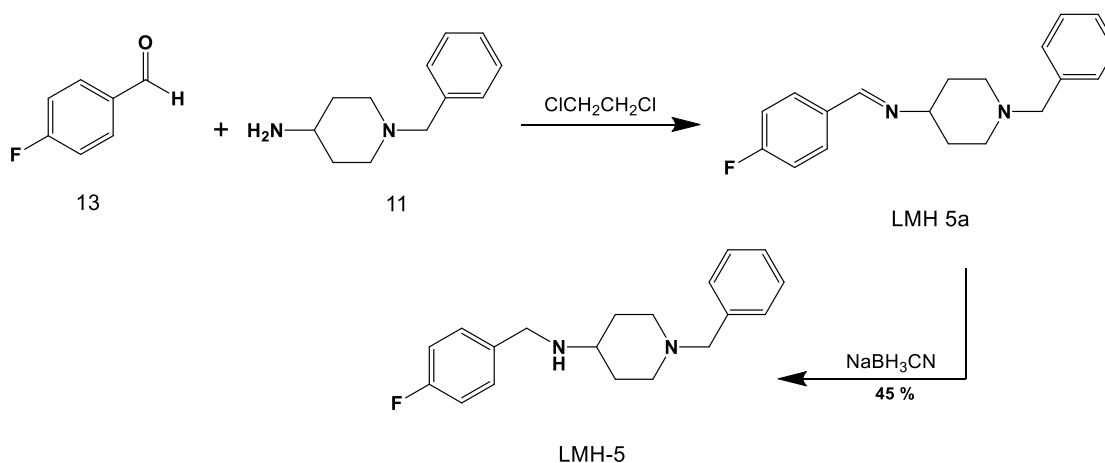


Figura 51. Síntesis del compuesto **LMH-5**.

El espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) del compuesto **LMH-5**, en el cual se observan dos señales un cuarteto y una señal doble con desplazamientos químicos de 1.54 y 1.87, respectivamente, para los protones de las posiciones 10 y 12, una señal simple a 1.99 ppm para el protón de la amina secundaria, dos señales dobles una a 2.03 ppm y la otra en 2.85 ppm que corresponden a los protones H-9 y H-13. Una señal múltiple entre 2.49-2.56 ppm que corresponde al protón de la posición 11, después se muestra una señal simple en 3.58 ppm que corresponden al protón H-14, finalmente se observa otra señal simple en 3.77 ppm que corresponde al protón H-7. Para la región aromática se observa una señal múltiple entre 6.96-7.01 ppm asignados a los protones de las posiciones 6 y 2, por último, otra señal múltiple existe entre 7.25-7.30 ppm asignado a los protones H-3, H-5, H-2' a H-6' (**Figura 52**).

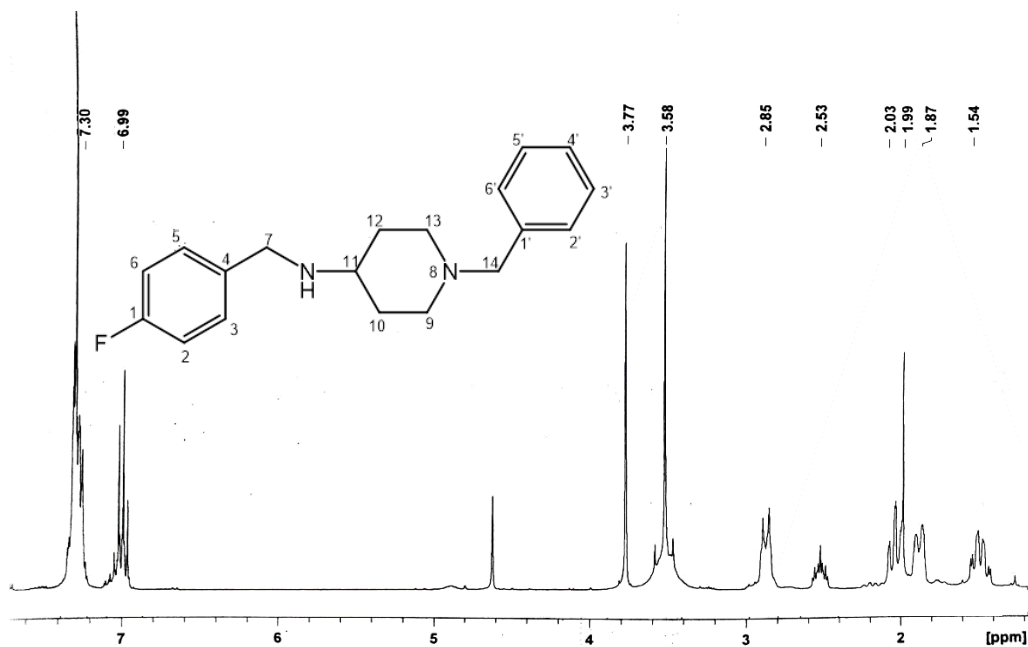


Figura 52. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) del compuesto **LMH-5**.

En el espectro de RMN ^{13}C de **LMH-5** se observa una señal con desplazamiento químico de 31.9 ppm que corresponden a los carbonos C-10 y C-12, después una señal en 49.6 ppm correspondiente al carbono del metileno cercano a la amina secundaria. Una señal se observa en 51.6 ppm que corresponden a los carbonos de las posiciones 9 y 13, después una señal en 53.8 ppm que corresponden al carbono C-11 y, por último, una señal en 64.2 ppm que corresponde al carbono del metileno entre el benceno y la amina terciaria. Para la parte aromática se observan dos señales cercanas con desplazamiento químico de 115.2 ppm que corresponden a los carbonos C-2 y C-6, después se muestra una señal en 127.1 ppm correspondiente al carbono C-4', además se aprecia una señal en 128.2 ppm que corresponde a los carbonos de las posiciones 2' y 6', una señal en 129.3 ppm que corresponden dos carbonos el C-3' y C-5', enseguida se muestra una señal en 130.0 ppm que corresponden a los carbonos de las posiciones C-3 y C-5, una señal pequeña a 135.4 ppm que corresponde al C-1', otra señal pequeña a 137.6 ppm que corresponde al carbono C-4 y, por último, una señal doble en 161.9 ppm para el C del flúor y una $J_{\text{C-F}} = 324.5$ Hz (**Figura 53**).

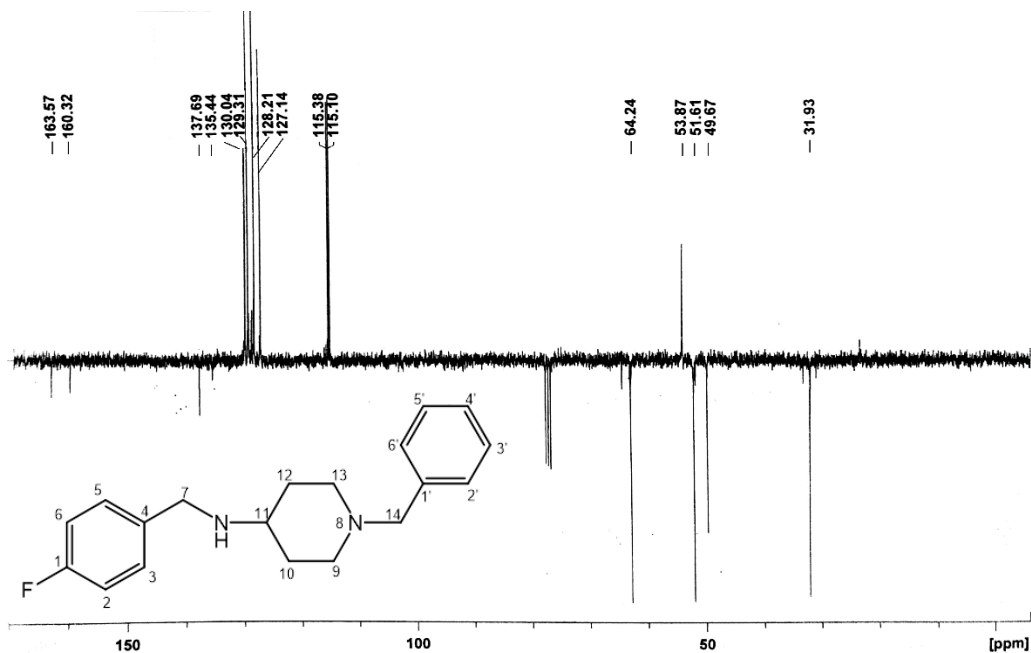


Figura 53. Espectro de RMN ^{13}C DEP (100 MHz) del compuesto LMH-5.

En el espectro de masas (IE) del compuesto **LMH-5** se obtuvo el pico base a 91 m/z correspondiente al ion tropilio y una señal en 298 m/z con una abundancia del 4% correspondiente al ion molecular (**Figura 54**).

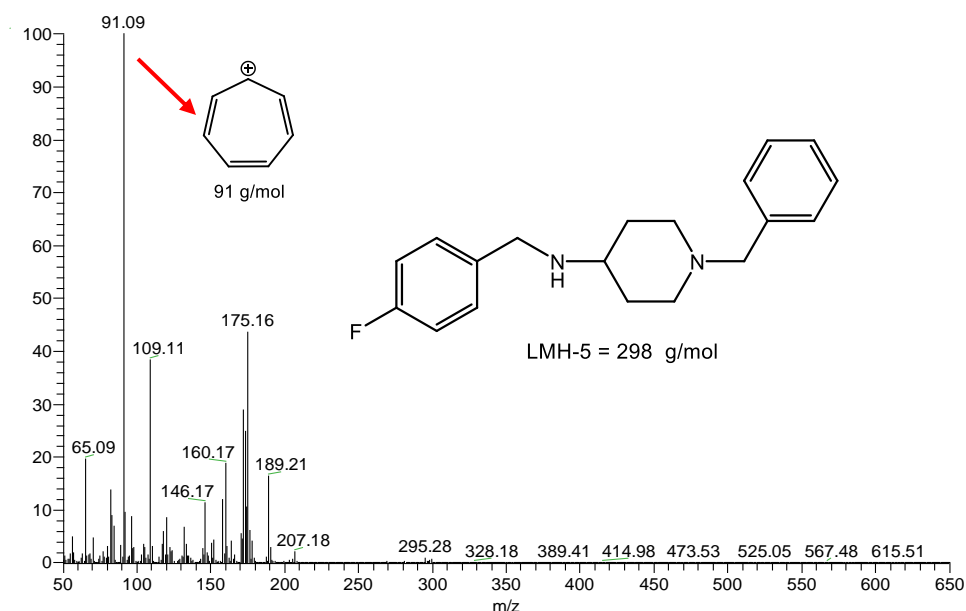


Figura 54. Espectro de masas (IE) del compuesto LMH-5.

8.1.6 Síntesis de 1-bencil-N-(2,4-diclorobencil)piperidin-4-amina (LMH-6)

La 4-amino-1-bencilpiperidina (**11**) se hizo reaccionar con 2,4-diclorobenzaldehído (**14**) en atmósfera de nitrógeno y baño de hielo para generar la base de Schiff correspondiente. Posteriormente, *in-situ* se agregó el NaBH₃CN (**7**) para la reducción del doble enlace de la imina para generar la amina secundaria final **LMH-6**. Finalmente se agregó HCl/etanol (50,50) para la formación del clorhidrato con un rendimiento del 57% (**Figura 55**)

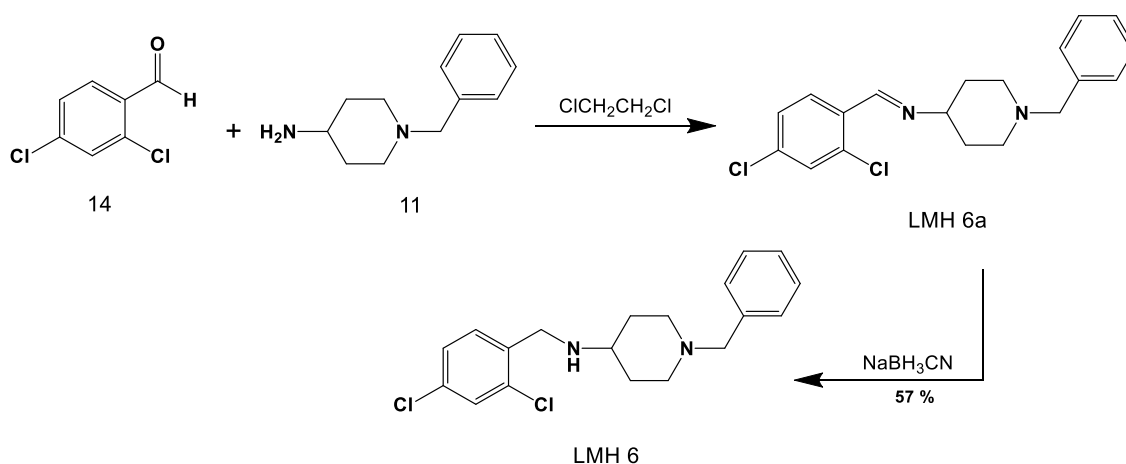


Figura 55. Síntesis del compuesto **LMH-6**.

El espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) del compuesto **LMH-6**, muestra dos señales, una cuádruple y una doble con desplazamientos de 1.52 y 1.91 ppm para los protones de las posiciones H-10 y H-12, una señal simple en 2.02 ppm que corresponde al protón de la amina secundaria, dos señales en 2.21 ppm (triplete) y 2.96 ppm (doblete) que corresponden a los protones 9 y 13, una señal múltiple en entre 2.51-2.58 ppm que corresponde al protón H-11, una señal simple en 3.62 ppm que corresponde al protón de la posición 14, y por último, en la región alifática se muestra una señal simple en 3.85 ppm que corresponde al protón H-7. Para la región aromática se observa una señal múltiple entre 7.19-7.36 ppm que corresponde a los protones aromáticos H-2, H-5, H-6 y H-2' a H-6' (**Figura 56**).

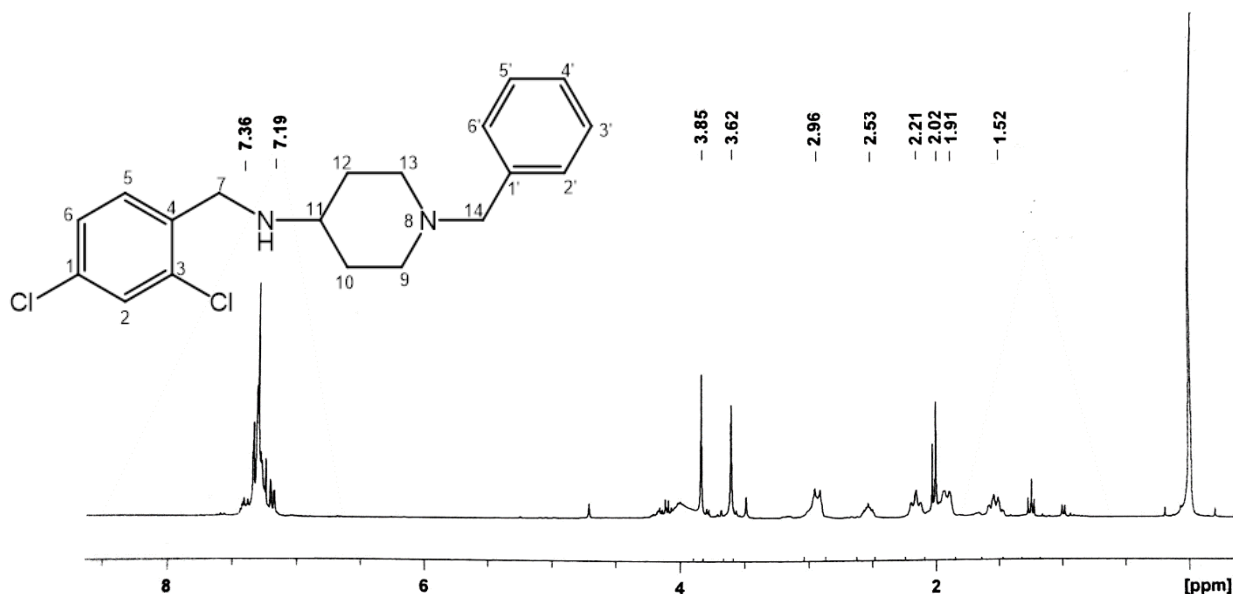


Figura 56. Espectro de RMN ^1H (400MHz) del compuesto **LMH-6**.

El espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, DMSO-d_6) del compuesto **LMH-6** muestra las 15 señales correspondiente al número total de carbonos esperados, un desplazamiento químico en 25.1 ppm correspondientes a los carbonos de las posiciones 10 y 12, después una señal a 43.8 ppm para al carbono de la posición 7, una señal en 49.3 ppm correspondiente a los carbonos 9 y 13, una señal en 52.4 ppm correspondiente al carbono 11, y por último, para las señales alifáticas una señal en 58.6 ppm correspondiente al carbono 14.

Para las señales aromáticas se puede observar una señal en señal en 127.5 ppm para el carbón C-6, una señal en 128.6 ppm para los carbonos C 3' y 5', una señal en 128.9 para los carbonos 2' y 6', una señal a 129.0 ppm para el carbón C-1, una señal a 129.4 ppm para el carbón de la posición 4', una señal a 131.5 ppm asignado al carbono C-2, una señal en 133.6 ppm asignado al carbono de la posición C-5, una señal en 134.5 ppm asignado al carbono C-3, una señal en 134.7 ppm asignado a la posición al carbono C-4 y por último, una señal chica en 141.2 ppm asignado al carbono de la posición 1' (**Figura 57**).

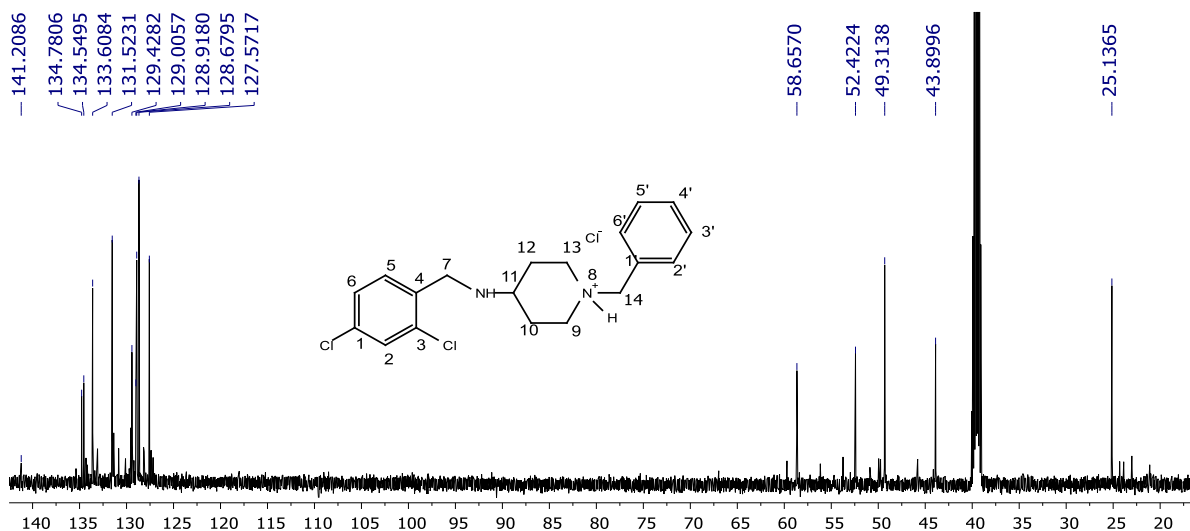


Figura 57. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) del compuesto LMH-6.

En el espectro de masas (IE) del compuesto LMH-6 (**Espectro 11**) se observa una señal en 349.2 m/z correspondiente al ion molecular con una abundancia relativa del 2% correspondiente a la masa esperada del compuesto. La señal de m/z = 91 correspondiente al ion tropilio (**Figura 58**).

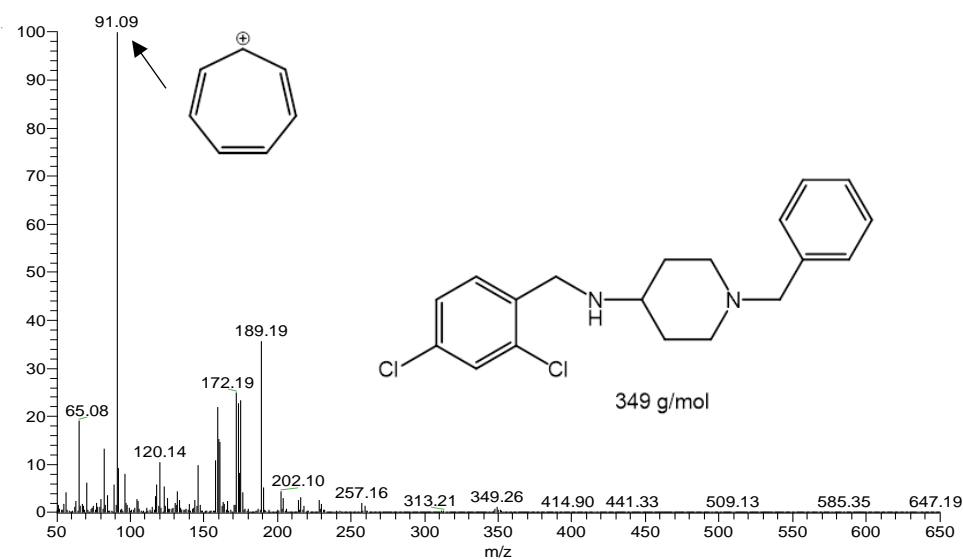


Figura 58. Espectro de masas (IE) del compuesto LMH-6.

En la **Tabla 3** se aprecian las propiedades fisicoquímicas que se obtuvieron de los compuestos sintetizados, la serie **LMH 1-3** se describen como bases libres con tiempo de reacción de 4 h, rendimientos cuantitativos y puntos de fusión indicativos de pureza, la serie **LMH 4-6** se obtuvieron como clorhidratos con tiempos de reacción de 72 h y rendimientos moderados.

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas de los compuestos.

Compuesto	PM (g/mol)	Estado físico	Tiempo de reacción (h)	Rendimiento (%)	PF. (°C)
LMH-1	294	Cristales blancos	4	90	171.7-173.9
LMH-2	312	Cristales Blancos	4	95	160.5-161.9
LMH-3	363	Cristales Blancos	4	91	144.2-145.9
LMH-4	316	Solido	72	62	295.7-297.3
LMH-5	334	Solido	72	45	↑300
LMH-6	385	Solido	72	57	273.9-276.5

PM: Peso Molecular; Pf: Punto de Fusión.

8.2 PARTE COMPUTACIONAL (*In silico*)

8.2.1 Predicción de dianas terapéuticas de los compuestos LMH 1-6 con el programa SwissTarget

Como diana terapéutica se seleccionó el receptor σ_1 para la afinidad con los compuestos presentes en este proyecto.

En los resultados obtenidos por el programa se muestra que las predicciones del servidor SwissTarget (**Tabla 4**) calculó que los compuestos **LMH 1-4** tendrían una alta afinidad hacia el receptor σ_1 , obteniéndose un 100% de afinidad del **S1RA** para este receptor, posiblemente porque el **S1RA** es una molécula conocida para este receptor. Para los compuestos **LMH 5-6** y **haloperidol** no se determinó posiblemente porque no se encuentran registros en la base de datos de este servidor.

Tabla 4. Predicción de dianas terapéuticas para los compuestos **LMH 1-6**, **S1RA** y **Haloperidol**.

Compuesto	Receptor intracelular σ_1
LMH-1	87%
LMH-2	74%
LMH-3	76%
LMH-4	70%
LMH-5	ND
LMH-6	ND
S1RA	100%
Haloperidol	ND
ND= No determinado	

8.2.2 Predicción de propiedades de los cuasi-fármacos con el programa OSIRIS

El servidor computacional OSIRIS presenta valores numéricos y códigos de color para los diferentes criterios, los cuales se indican con rojo: alerta de ser tóxico, Naranja: para intermedios y verde: para los no tóxicos. En la **Tabla 5** se muestran los resultados indicados para los compuestos finales **LMH 1-6, S1RA y haloperidol**.

Tabla 5. Propiedades toxicológicas, cuasi-fármaco y calificaciones como fármaco de los compuestos finales **LMH 1-6, S1RA y Haloperidol**.

Compuesto	Mutagénico	Tumorigéno	Irritante	Reproductivo	Drug likeness	Drug score
LMH-1	●	●	●	●	8.76	0.84
LMH-2	●	●	●	●	7.85	0.81
LMH-3	●	●	●	●	9.19	0.62
LMH-4	●	●	●	●	6.99	0.96
LMH-5	●	●	●	●	6.8	0.83
LMH-6	●	●	●	●	7.9	0.64
S1RA	●	●	●	●	1.66	0.37
Haloperidol	●	●	●	●	12.32	0.6

Alto Riesgo

Sin Riesgo

Ninguno de los compuestos indicó efectos mutagénicos, tumorigénicos, irritantes o teratogénicos. Estos resultados sugieren que son adecuados para el diseño de los compuestos nuevos con respecto a **S1RA**, que dio valores de ser tumorigénico y precaución de ser mutagénico esto es debido al fragmento naftol de la molécula. Sin embargo, haloperidol presenta valores que la caracterizan como una molécula no tóxica. Todos los compuestos tuvieron buenas propiedades cuasi-fármacos y calificaciones como fármaco como se aprecia anteriormente.

8.2.3 Propiedades admetSAR de los compuestos LMH 1-6

En la **Tabla 6** se observan los resultados teóricos de absorción, metabolismo y toxicidad calculados para **LMH 1-6**, **S1RA** y **haloperidol** basados en un modelo de QSAR por el servidor admetSAR. En esta tabla se observa que los compuestos podrían atravesar la barrera hematoencefálica, lo cual es de suma importancia para este proyecto, ya que se desea que lleguen a SNC, y podrían tener además absorción intestinal en humano. Sin embargo, de acuerdo con los datos del programa estos compuestos podrían ser sustrato de la glicoproteína P (datos desfavorables para los compuestos). Esta proteína se encuentra distribuida ampliamente en las células del epitelio intestinal, se encarga de expulsar los xenobióticos previamente absorbidos hacia el lumen intestinal, se sabe que crea un eflujo para la expulsión de su sustrato que es dependiente de ATP.

Tabla 6. Resultados predictivos por admetSAR para los compuestos **LMH 1-6**, **S1RA** y **Haloperidol**.

Modelo	LMH-1	LMH-2	LMH-3	LMH-4	LMH-5	LMH-6	S1RA	Halo
Absorción								
Absorción intestinal	+	+	+	+	+	+	+	+
Barrera Hematoencefálica	+	+	+	+	+	+	+	+
Sustrato glp	+	+	+	+	+	+	-	+
Metabolismo								
CYP2C9 sustrato	-	-	-	-	-	-	-	-
CYP2D6 Sustrato	+	+	-	+	+	+	-	+
CYP3A4 Sustrato	-	+	+	-	-	-	+	+
Toxicología								
Toxicidad AMES	-	-	-	-	-	-	+	-
Carcinogénesis	-	-	-	-	-	-	-	-

Glp. - Glicoproteína P; CYP.- Citocromo P450, familia, subfamilia e isoforma

En la parte de metabolismo, el programa sugiere que el compuesto **LMH-1** podría ser metabolizado por la isoforma CYP2D6, el compuesto **LMH-2** podría ser metabolizado por las isoformas CYP2D6 y CYP3A4, el compuesto **LMH-3** podría

ser sustrato de CYP3A4, los compuestos **LMH 4-6** serán sustratos de la isoforma CYP2D6 por lo se predice que los seis compuestos serán metabolizados en reacciones de fase I por esta familia de citocromos. Cabe mencionar, que es mejor que un compuesto sea sustrato de varias isoformas, ya que si es sustrato de solo una isoforma esta podría ser inhibida por otro agente xenobiótico y el ligando no ser metabolizado para su excreción, lo cual aumentaría sus efectos tóxicos al organismo.

Por último, en la parte toxicológica, los compuestos **LMH 1-6** no mostraron probabilidad de ser genotóxicos o carcinogénicos como previamente se había establecido en el programa OSIRIS. Los resultados para **S1RA** muestran un efecto genotóxico (AMES +), esto es debido a la probabilidad del fragmento, ya antes mencionado, que le confiere la toxicidad a la molécula.

8.2.4 Predicción toxicológica de los compuestos LMH 1-6 mediante el programa ACD/ToxSuite.

La predicción de los compuestos **LMH 1-6**, **S1RA** y **haloperidol** se realizó con el programa ACD/ToxSuite que indicó diversos resultados de toxicidad como es el porcentaje de probabilidad del bloqueo de los canales hERG, la inhibición de las isoformas de la familia del CYP450, así como la toxicidad aguda (dosis letal media = DL₅₀) por la vía de administración oral para el modelo en rata o ratón, así como su categoría en la clasificación de la OECD.

En la **Tabla 7** se encuentran las predicciones del perfil toxicológico de los compuestos **LMH 1-6**, **S1RA** y **haloperidol**. Los compuestos de la serie **LMH 1-3** muestran baja probabilidad de ser cardiotóxicos con menos del 20%, los compuestos de la serie **LMH 4-6** tienen una alta probabilidad de bloqueo de los canales hERG (entre el 76-90%), el compuesto **S1RA** y **haloperidol** muestra una probabilidad moderada entre los 54-66% de ser cardiotóxicos, estos resultados son presentados a concentraciones clínicamente relevantes a 10 µM. Como control positivo se encuentra la **terfenadina** con una probabilidad del 98%, este fármaco

fue retirado del mercado por sus efectos cardiotoxicos. Con estos resultados se puede inferir que los compuestos diseñados **LMH 1-3** presentaron el menor efecto cardiotoxico de los compuestos analizados.

Tabla 7. Bloqueo de canales hERG

Compuesto	Probabilidad de bloqueo de canales hERG [10 μM]
LMH-1	16%
LMH-2	14%
LMH-3	19%
LMH-4	76%
LMH-5	66%
LMH-6	90%
S1RA	66%
Haloperidol	54%
Terfenadina	98%

En la **Tabla 8** se muestra la probabilidad de la inhibición de las diferentes isoformas de la familia del CYP450. La serie **LMH 1-3** presenta una moderada probabilidad de inhibir la isoforma CYP2D6, la serie **LMH 4-6** presenta una moderada a alta probabilidad de inhibir la isoforma CYP2D6; sin embargo, ambas series mostraron bajas probabilidades (menos del 10%) de inhibir la isoforma 3A4, al poseer un menor porcentaje de inhibición podrían tener menos probabilidad de interacción fármaco-fármaco en comparación con el ketoconazol que fue retirado del mercado por la inhibición del CYP450. Cabe mencionar que esta isoforma es la más abundante en el cuerpo humano, así como también es una de las más importantes para el metabolismo de los fármacos, ya que se encarga de metabolizar más del 80% de los fármacos, en comparación con el compuesto **S1RA** que mostró más del 20% de inhibir esta importante isoforma.

Tabla 8. Probabilidad de inhibición de las isoformas del CYP450

Compuestos	Inhibidores de CYP450 [10 µM]				
	3A4	2D6	2C9	2C19	1A2
LMH-1	4	48	5	6	3
LMH-2	5	54	5	5	3
LMH-3	8	65	15	9	5
LMH-4	4	62	3	3	2
LMH-5	3	68	3	4	2
LMH-6	4	82	7	10	4
S1RA	26	16	9	5	55
Haloperidol	5	63	7	6	0
Ketoconazol	93	2	14	13	0

En la **Tabla 9** se muestra la probabilidad de la toxicidad aguda (presencia de efectos tóxicos a una sola administración o administraciones en un rango de 24 horas), mostrando como finalidad el cálculo de la dosis letal media (DL₅₀), observando que el compuesto haloperidol es más probable de ser toxico en comparación con los demás compuestos, cabe mencionar que el resultado predictivo es muy similar a los resultados teóricos mostrados en los antecedentes.

Tabla 9. Probabilidad de toxicidad aguda de los compuestos.

Compuesto	DL ₅₀ (mg/Kg) Vía oral		Categoría OECD
	Ratón	Rata	
	LMH-1	390	
LMH-2	440	430	IV
LMH-3	470	520	IV
LMH-4	400	590	IV
LMH-5	360	390	IV
LMH-6	460	600	IV
S1RA	570	960	IV
Haloperidol	180	170	III

De acuerdo con los datos establecidos por el programa, todos los compuestos entran en la categoría IV establecida por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD). Los compuestos mostraron una toxicidad moderada (DL_{50}) en comparación con **haloperidol** que mostró ser tóxico en la toxicidad aguda de categoría III (**Tabla 10**).

Tabla 10. Clasificación de toxicidad de la OECD.⁶⁵

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

8.2.5 Predicción de metabolitos y sitios metabolizables por MetaPrint2D-React

La predicción del metabolismo de los compuestos sintetizados en este proyecto (**LMH 1-6**) se realizó mediante el servidor MetaPrint2D-React, de igual forma se obtuvieron los resultados para **S1RA** y **haloperidol**. Para la predicción del metabolismo de los compuestos **LMH 1-6**, para todos los casos fueron idénticos, metabolismo de Fase I por 1.- *N*-desalquilaciones y 2.- Hidroxilaciones aromáticas, como ejemplo se observa el metabolismo del compuesto **LMH-1** (**Figura 59**).

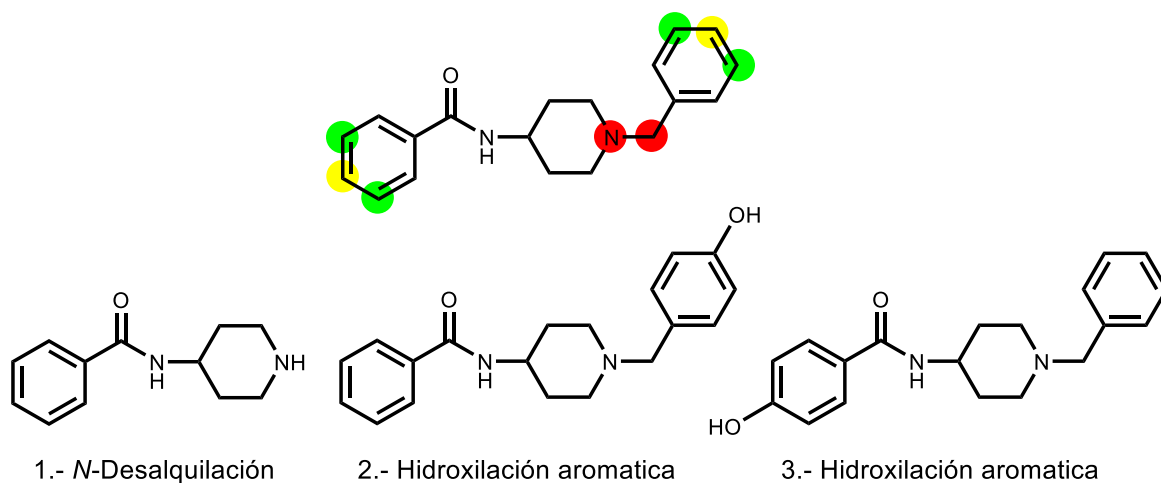


Figura 59. Metabolitos y sitio del metabolismo del compuesto **LMH-1**.

Para la predicción del metabolismo del compuesto **S1RA**, los resultados se muestran en la **Figura 60** donde se observan los metabolitos de (1) *N*-desalquilación de fase I y (2) conjugación con glutatión de fase II.

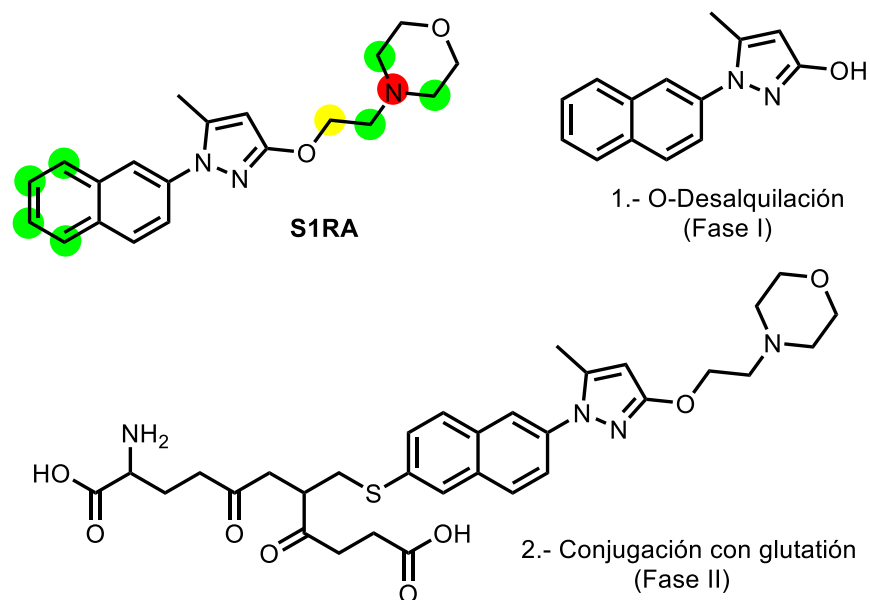


Figura 60. Metabolitos y sitio del metabolismo del compuesto **S1RA**.

Para la predicción del metabolismo del compuesto **haloperidol** los resultados se muestran en la **Figura 61**, donde se observan los metabolitos de (1) *N*-desalquilación y (2) reducción del alcohol adyacente a la piperidina, siendo estas reacciones de fase I.

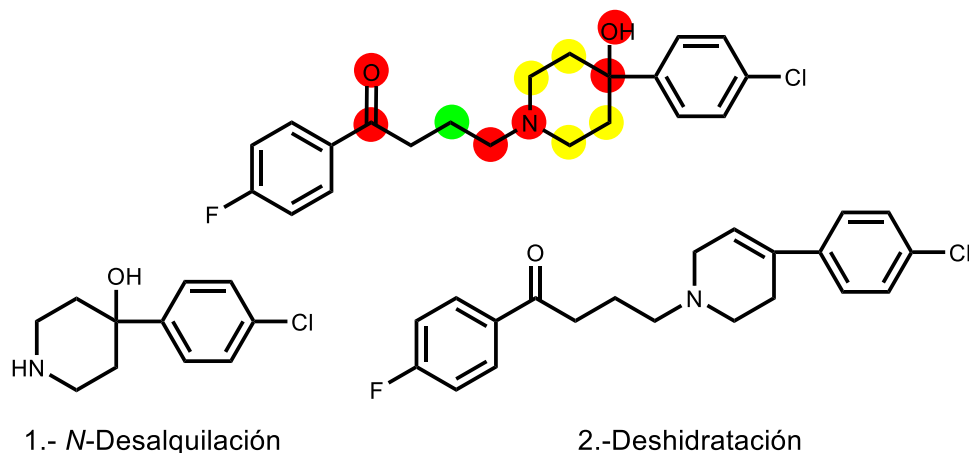
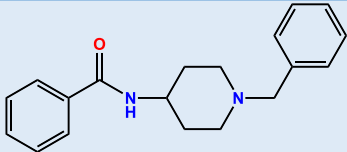
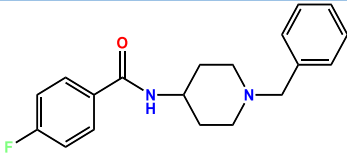
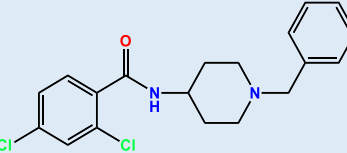
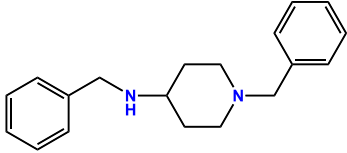
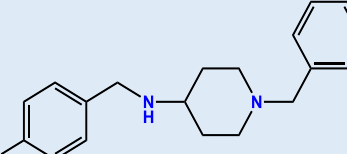
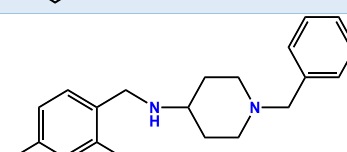
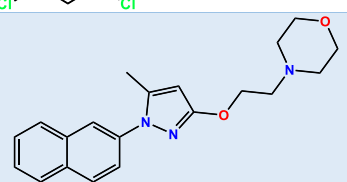
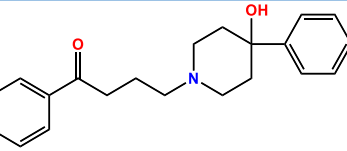


Figura 61. Metabolitos y sitio del metabolismo del compuesto **haloperidol**.

8.3 EVALUACIÓN *in vitro*

En la **Tabla 11** se observan los resultados de la unión de los ligandos **LMH 1-6**, **S1RA** y **haloperidol** sobre el receptor σ_1 (ensayos de unión “binding”), mostrando la constante de afinidad (K_i) de cada uno de los compuestos a dicho receptor.

Tabla 11. Afinidad de los compuestos **LMH 1-6**, **S1RA** y **Haloperidol** sobre el receptor σ_1 .

# Compuesto	Fórmula	K_i (nM)	pK_i
LMH-1		12.6	7.89
LMH-2		6	8.22
LMH-3		2.6	8.58
LMH-4		34	7.47
LMH-5		16	7.79
LMH-6		2	8.70
S1RA		17	7.76
Haloperidol		6.3	8.2

Cómo se observa en la **Tabla 11**, el compuesto **LMH-1** posee una afinidad (K_i) de 12.6 nM para el receptor σ_1 , si se compara con la actividad mostrada por el compuesto **S1RA**, se puede observar un aumento en la afinidad al receptor σ_1 . Si se compara esta afinidad con **haloperidol** se puede ver disminución.

El compuesto **LMH-2** posee una K_i de 6 nM para el receptor σ_1 , obteniendo 2.5 veces el aumento en la afinidad en comparación con **S1RA**, pero teniendo una afinidad semejante con el **haloperidol**.

El compuesto **LMH-3** tiene una K_i de 2.6 nM para el receptor σ_1 , obteniendo 6.5 veces el aumento de la afinidad en comparación con el compuesto **S1RA**, si se compara esta afinidad mostrada por **haloperidol** se puede ver 3 veces el aumento en la afinidad al receptor σ_1 .

El compuesto **LMH-4** tiene una K_i de 34 nM para el receptor σ_1 , si se compara esta afinidad con el compuesto **S1RA** se puede ver 2 veces disminuida, pero si se compara esta afinidad mostrada por **haloperidol** se puede ver 5 veces la disminución en la afinidad al receptor σ_1 .

El compuesto **LMH-5** tiene una K_i de 16 nM para el receptor σ_1 , siendo similar en la afinidad del compuesto **S1RA**, pero si se compara esta afinidad mostrada por el **haloperidol** se puede ver disminución en la afinidad al receptor σ_1 .

El compuesto **LMH-6** tiene una K_i de 2 nM para el receptor σ_1 , obteniendo 8.5 veces el aumento de la afinidad en comparación con el compuesto **S1RA**, pero si se compara esta afinidad mostrada por el **haloperidol** se puede ver 3 veces el aumento en la afinidad al receptor σ_1 .

Como se mencionó, los compuesto **LMH-2**, **LMH-3** y **LMH-6** son las moléculas que mayor afinidad por el receptor σ_1 mostraron, teniendo semejante afinidad entre ellas;

sin embargo, el compuesto **LMH-6** en las predicciones toxicológicas mostró una alta probabilidad de bloqueo de los canales hERG.

8.3.1 Eficiencia del ligando para los compuestos LMH 1-6

EL concepto de Eficiencia del Ligando (LE) es una herramienta útil, pero sobre todo poderosa en el proceso de optimización de los compuestos hits para la detección de compuestos bioactivos, esta combina la potencia (pK_i), lipofilicidad ($\log P$), peso molecular (PM) y recuento de átomos pesados ($\#AP$)⁶⁶ y se define como:

La Eficiencia del Ligando (LE) evalúa el balance farmacológico y fisicoquímico para la optimización de compuestos hits a líderes, se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$LE = \frac{\Delta G \text{ ó } pK_i \text{ ó } pK_d \text{ ó } pIC_{50}}{HA \text{ ó } \# \text{ de Átomos pesados}}$$

Donde la ecuación puede calcularse con la energía libre de unión (ΔG), la constante de afinidad ($-\log K_i = pK_i$), la constante de disociación (pK_d) o la concentración inhibitoria media (IC_{50}), sobre átomos del ligando que no sean hidrógenos (AH) o el número de átomos pesados.⁶⁷

El Índice de Eficacia de Unión (BEI) puede tomarse como índice de eficiencia alternativo, se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$BEI = \frac{\Delta G \text{ ó } pK_i \text{ ó } pK_d \text{ ó } pIC_{50}}{PM \text{ (kDa)}}$$

Este es similar a la eficiencia del ligando; sin embargo, el BEI está dirigido al peso molecular kDa (en Kilo Dalton), ya que se ha demostrado que las afinidades de

unión de ligandos de proteínas están fuertemente influenciadas, así como su variación por el tamaño molecular.⁶⁸

Dentro de los índices de eficiencia relacionados a la lipofilia se encuentran, la Eficiencia Lipofílica que se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\text{LLE} = (\text{p}K_i \text{ ó } \text{pIC}_{50}) - \text{LogP (ó LogD)}$$

La ecuación puede calcularse usando la $\text{p}K_i$ o pIC_{50} menos el coeficiente de partición (LogP) y este intenta incluir efectos hidrofóbicos en los criterios de optimización, el cual se usa comúnmente.⁶⁹

Por otra parte, el índice de lipofilia dependiente de la eficiencia del ligando (LELP), este parámetro se calcula con la siguiente ecuación:

$$\text{LELP} = \frac{\text{LogP}}{\text{LE}}$$

Donde la ecuación puede calcularse mediante el coeficiente de partición sobre la eficiencia del ligando, pueden usarse como guías de índices de lipofilia.⁷⁰

En la **Tabla 12** se muestran los resultados estimados de LE, LLE, LELP y BEI de los compuestos **LMH 1-6**, **S1RA** y **haloperidol** para el receptor σ_1 . Los valores observados indican que solo los compuestos **LMH 1-3** y **LMH-6** tienen un valor LE aceptable y de éstos solo **LMH-2** presenta un valor aceptable de LLE, en ambos casos con respecto a los compuestos de referencia, para LELP los compuestos **LMH 1, 2, 4 y 5** se encuentran en los valores aceptables en comparación con el resto de los compuestos. Por último, para ningún compuesto se alcanzaron los niveles aceptables de BEI. De la **Tabla 12** se concluye que el compuesto **LMH-2** es el compuesto que posee un balance adecuado entre las propiedades fisicoquímicas y la potencia, determinado por los índices de eficiencia de ligando.

Tabla 12. Valores de LE para los compuestos **LMH 1-6**, **S1RA** y **Haloperidol** estimados para una actividad analgésica.

Comp.	pK _i σ_1	cLogP	# AP*	PM	LE >0.36	LLE 5-7	LELP <10	BEI >27
LMH-1	7.89	2.95	22	294	0.36	4.94	8.23	26.84
LMH-2	8.22	3.11	23	312	0.36	5.11	8.70	26.35
LMH-3	8.58	4.23	24	363	0.36	4.35	11.83	23.64
LMH-4	7.47	3.31	21	280	0.35	4.16	9.45	26.67
LMH-5	7.79	3.48	22	298	0.35	4.31	9.94	26.14
LMH-6	8.70	4.60	23	349	0.37	4.1	12.43	24.92
S1RA	7.76	3.33	25	337	0.31	4.43	10.73	23.03
Halo	8.2	4.30	26	375	0.32	3.9	13.63	21.87

8.4 ACOPLAMIENTO MOLECULAR “DOCKING” (*in silico a posteriori*)

8.4.1 Acoplamiento molecular de haloperidol sobre el receptor σ_1

La estructura tridimensional del receptor σ_1 se obtuvo co-cristalizada en la base de datos de PDB bajo el ID: 5HK2 y con este método se realizó el acoplamiento molecular de los compuestos de la serie **LMH 1-6**.

En la **Figura 62** se observan las interacciones del **haloperidol** con el receptor σ_1 obtenidos por acoplamiento molecular (“Docking”). Los resultados fueron ordenados en grupos con $\text{RMSD} < 0.5 \text{ \AA}$. Para este compuesto se puede observar una interacción polar con el residuo de aminoácido Ser117 con el grupo hidroxilo unido al anillo de piperidina (interacciones en 3D). Por otro lado, en las interacciones 2D se observa una interacción π -catión con Phe107 y con el amino ionizable del heterociclo. En total se calculó una energía de unión (ΔG) de -10.7 Kcal/mol y una K_i de 13.4 nM .

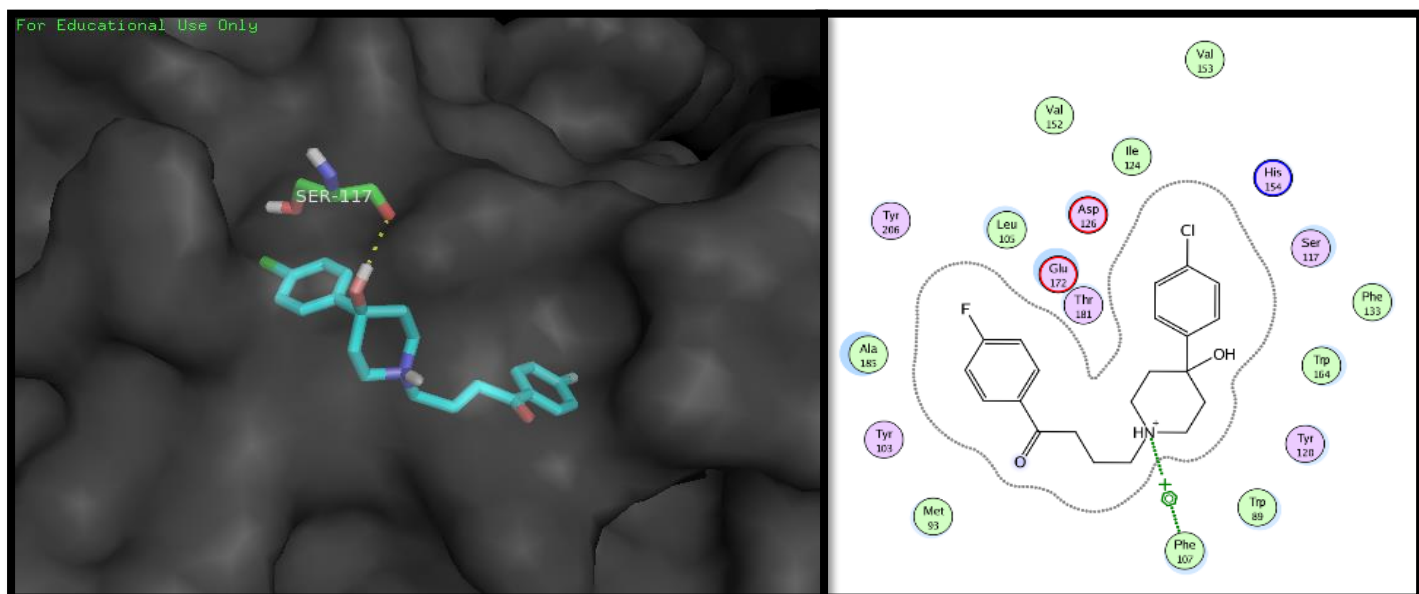


Figura 62. Visualización en 3D y 2D del conformero haloperidol en el sitio de unión del receptor σ_1 .

8.4.2 Acoplamiento molecular de S1RA sobre el receptor σ_1

En la **Figura 63** se observan las interacciones del compuesto **S1RA** con el receptor σ_1 obtenidos por el acoplamiento molecular. Los resultados fueron ordenados en grupos con RMSD <0.5 Å. Este compuesto se observa una interacción en 3D con el residuo de aminoácido Glu172 con el nitrógeno de la morfolina. Las interacciones 2D se observan dos interacciones polares, Ser117 con el oxígeno de la morfolina y con aminoácido Glu172 con el amino ionizable del heterociclo. La energía de unión se calculó de -10.76 Kcal/mol y una K_i de 12.14 nM.

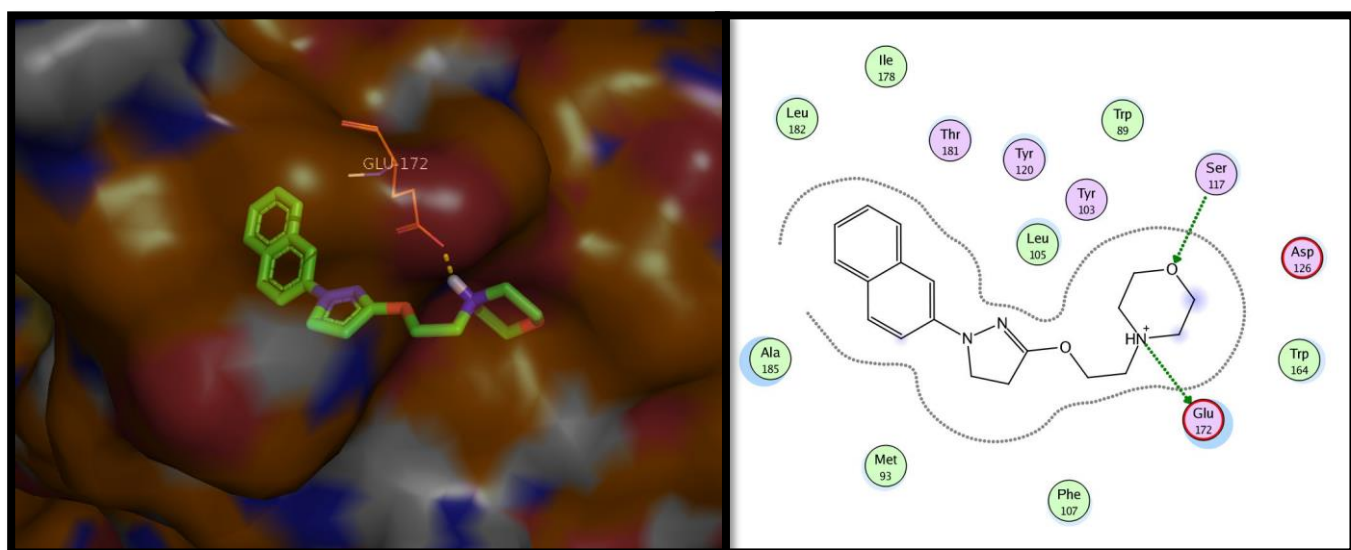


Figura 63. Interacciones 3D y 2D del conformero **S1RA** en el sitio de unión del receptor σ_1 .

8.4.6 Acoplamiento molecular de LMH 4-6 sobre el receptor σ_1

En la **Figura 65** se observan las interacciones de los compuestos **LMH 4-6** con el receptor σ_1 obtenidos por “Docking”. Los resultados fueron ordenados en grupos de $\text{RMSD} < 2.0 \text{ \AA}$. Para los compuestos se observaron las mismas interacciones con los aminoácidos Glu172 y Phe107 en el amino ionizable del heterociclo. Se calcularon las energías de unión y las afinidades para los siguientes conformeros:

- (A) **LMH-4** $\Delta G = -11.88 \text{ Kcal/mol}$ y una K_i de 2.08 nM
- (B) **LMH-5** $\Delta G = -11.80 \text{ Kcal/mol}$ y una K_i de 1.82 nM
- (C) **LMH-6** $\Delta G = -12.85 \text{ Kcal/mol}$ y una K_i de 0.38 nM.

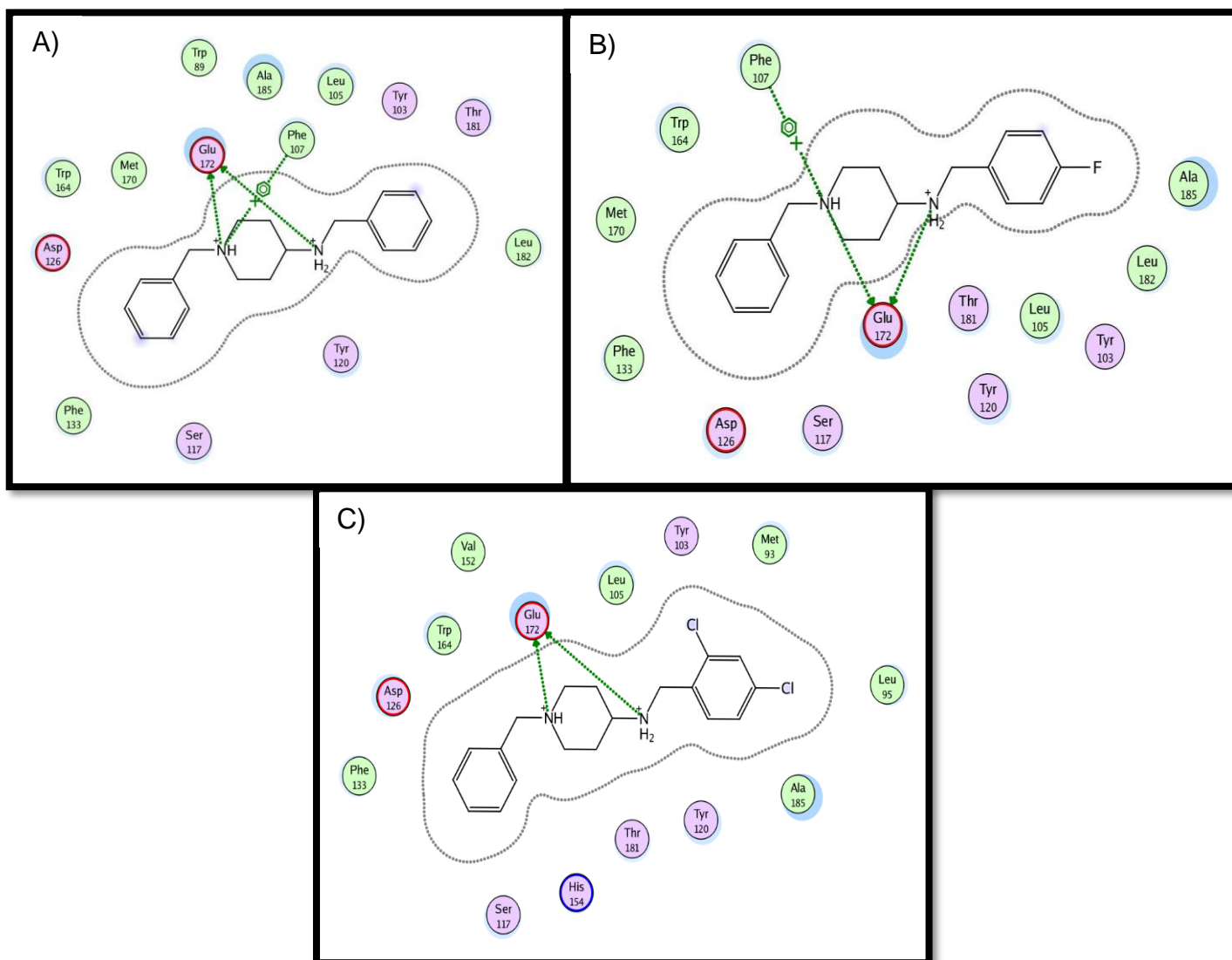


Figura 65. Visualización 2D de a) **LMH-1**, b) **LMH-2** y c) **LMH-3** con el sitio activo del receptor σ_1 .

Los resultados obtenidos en la parte *in silico* pueden ser correlacionados con los ensayos de la evaluación farmacológica (**Tabla 13**), debido a que mostró que el compuesto **LMH-3** y **LMH-6** tiene una menor energía de unión al igual que con el mejor K_i en los resultados *in vitro*.

Tabla 13. Correlación de resultados *in vitro* e *in silico*.

Compuesto	<i>In silico</i> (ΔG)	Afinidad calculada (nM)	Afinidad <i>In vitro</i> (nM)
LMH-1	-10.80	11.34	12.6
LMH-2	-10.85	10.42	6
LMH-3	-12.23	1.01	2.6
LMH-4	-11.88	2.08	34
LMH-5	-11.8	1.82	16
LMH-6	-12.81	0.38	2
S1RA	-10.76	12.14	17
Haloperidol	-10.7	13.4	6.3

8.5 Análisis de consenso farmacológico

El análisis de consenso farmacológico para la selección de un líder computacional seguro combina los resultados de diferentes cálculos realizados *in silico*:

- Predicciones farmacodinámicas (Swisstarjet prediction)
- Predicciones farmacocinéticas (AdmetSAR, Metaprint2D-React, Molinspiration).
- Predicciones toxicológicas (ACD/ToxSuite, Osiris, AdmetSAR).

El argumento del análisis de consenso farmacológico consiste en que cuanto más coinciden los cálculos de que un compuesto es activo, con baja toxicidad y perfil farmacocinético adecuado, más confiable será la selección/discriminación de dicho

compuesto bioactivo (para sintetizarlo y que muestre un comportamiento farmacológico adecuado).

Por lo tanto, un compuesto que tiene puntuaciones altas de una colección de predicciones farmacológicas múltiples es más probable que sea un buen inhibidor/ agonista/ antagonista/ en un ensayo biológico, que un compuesto tiene una puntuación alta de solo una predicción única.

En la **Tabla 14** se muestran los resultados de diferentes programas computacionales quimio-informáticos, se observa que los mejores resultados para el análisis *in vivo* los posee el compuesto **LMH-2**, ya que no mostró alguna alerta, en comparación con los compuestos restantes, que tuvieron dos o más alertas, en farmacocinética y toxicidad. El compuesto **LMH-2** tuvo mejores resultados en comparación que los compuestos **LMH 1, 3-6**, indicando que es el mejor candidato para la evaluación en ensayos *in vivo*.

Tabla 14. Análisis de consenso farmacológico de diferentes programas computacionales.

Parámetro	LMH-1	LMH-2	LMH-3	LMH-4	LMH-5	LMH-6
PM (g/mol)	294	312	363	316	334	385
Docking (ΔG)	-10.8	-10.85	-12.23	-11.88	-11.8	-12.81
K_i (nM) experimental	12.6	6	2.6	34	16	2
K_i (nM) calculada	11.34	10.42	1.01	2.08	1.82	0.38
pKa	8.85	8.85	8.82	9.23	9.23	9.19
logD 7.4	1.66	2.45	2.79	1.49	1.54	3.54
TPSA (\AA^2)	32.34	32.34	32.34	15.27	15.27	15.27
Solubilidad ($\mu\text{g/mL}$)	217.9	113.8	9.1	316	159.8	13.1
Lipinski						
Toxicidad						
Farmacocinética						
LE; LLE; LELP; BEI						

8.6 EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIALODÍNICO Y ANTIHIPERALGÉSICO *in vivo* DEL COMPUESTO LMH-2

8.6.1 Pruebas conductuales

La finalidad del presente proyecto es proponer una serie de moléculas de tipo benzamidas/bencilaminas piperidínicas análogas de haloperidol (antagonista de los receptores σ_1) con propiedades antihiperálgicas y antialodínicas, como alternativa terapéutica para el dolor de tipo neuropático.

Del análisis *in silico* se desprendió la posibilidad de evaluar el compuesto **LMH-2** ya que resultó ser una de las mejores moléculas después del consenso farmacológico. Para lo cual, se seleccionó un modelo experimental en rata que simula al dolor neuropático, y que se conoce también como constricción crónica (CCI) debido a que se realiza una ligadura en el nervio ciático de la rata. La constricción del nervio genera conductas nociceptivas a partir del día 12 postcirugía. Este modelo consiste en evaluar dos conductas; una de lamida, que caracteriza a la alodinia, y una de retiro, que caracteriza a la hiperálgia.

En la **Figura 66A**, se muestra el modelo CCI que se utilizó para establecer el potencial efecto antialodínico y antihiperálgico de **LMH-2**. Se observa que las ratas Sham (a las cuáles se les realiza la incisión quirúrgica sin ligadura del nervio) no incrementaron el tiempo de lamida ante el estímulo frío (acetona) en la pata ipsilateral. Sin embargo, las ratas con CCI y administración de vehículo aumentaron el tiempo de la conducta de lamida a 18.74 ± 0.74 s, este tiempo se consideró como el 100% de efecto alodínico. Por otra parte, en el panel B, se muestra que las ratas con CCI incrementaron el % de respuesta de retiro una vez que se les aplica un estímulo mecánico mediante el filamento de Von Frey de 15 g (10 estímulos), el número de respuestas positivas de una serie de 10 se consideró como el 100% de hiperálgia. Los resultados obtenidos están de acuerdo con lo reportado previamente, en donde se ha utilizado el empleo de acetona y el filamento de Von Frey de 15 g para generar alodinia e hiperálgia.⁷¹⁻⁷³

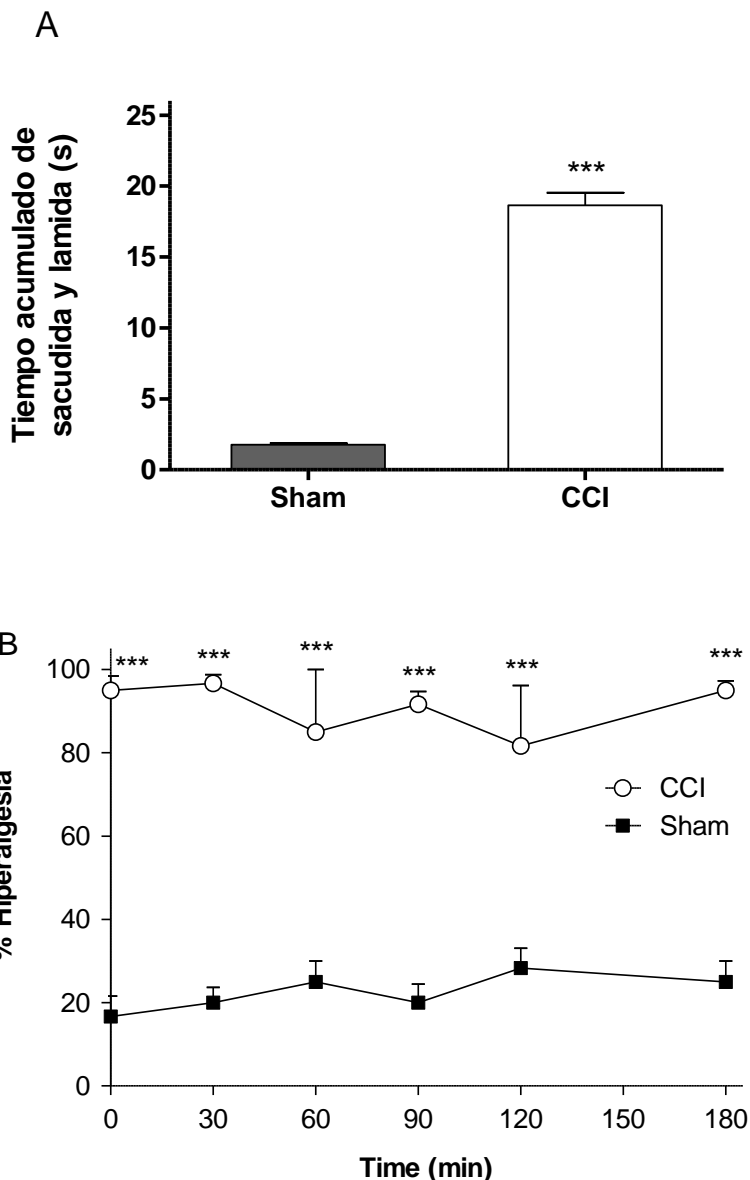


Figura 66.- Efecto alodínico determinado mediante aplicación ipsilateral de un estímulo frío con acetona, la alodinia se mide como tiempo acumulado de lamida en s durante 1 min (panel A). Efecto hiperalgésico establecido con un estímulo mecánico con el filamento de Von Frey de 15 g, la respuesta corresponde al promedio 10 estímulos y se considera como 100% la respuesta máxima (panel B). En ambos paneles las ratas con ligadura en el nervio ciático (CCI) se compararon con respecto a las ratas sometidas a cirugía sin ligadura en el nervio ciático (Sham). Los datos se muestran como un promedio de seis ratas \pm E.E.M. La diferencia estadística se determinó mediante una prueba t' Student ***($p \leq 0.001$) comparando las ratas CCI vs Sham.

Se ha documentado que las conductas que se observan en este modelo experimental son generadas por una cascada de eventos que incian con el daño a los nervios periféricos, particularmente la alodinia táctil esta asociada al sistema de fibras ascendente,^{74,75} en tanto que la persistencia de la alodinia e hiperalgesia depende de la vía descendente a partir de la médula ventral rostral.^{76,77} Al parecer las descargas ectópicas generadas por la ligadura del nervio y que corresponde a una reorganización de canales iónicos como los de Na⁺ y Ca⁺⁺ son los responsables de la hipersensibilidad generada en el animal.⁷⁸ También se ha documentado que en este modelo se genera un fenómeno inflamatorio en donde citocinas como la IL-1 β y TNF- α además de los receptores NK1 y AMPA participan en la degeneración del nervio y sensibilización a nivel central.^{78,79}

Existe poca información relacionada con la participación de antagonistas del receptor σ_1 en la modulación del dolor neuropático. Se han reportado algunos ligandos antagonistas σ_1 relacionados con el efecto antialodínico y antihiperalgésico; (6',7'-dihidro-1'H-espiro[piperidina-4,4'-pirano[4,3-c]pirazoles]) evaluado en la prueba de capsaicina⁸⁰ y (+)-MR200 evaluado en la prueba de la formalina.⁸¹ Un grupo de perhidroquinoxalinas fue diseñado para actuar en el receptor σ_1 , debido a que éstos no pudieron atravesar la barrera hematoencefálica su efecto antinociceptivo se atribuyó a su agonismo κ -opioide.⁸² Recientemente en nuestro grupo de trabajo se diseñó el compuesto 2-(3,4-dichlorofenoxi)-N-(2-morfolin-4-il-etil)acetamida, con alta afinidad por el receptor σ_1 ($K_i=42$ nM), el compuesto mostró actividad en un modelo de dolor inflamatorio a nivel periférico y espinal⁴⁰ en tanto que otro de los compuestos el N-(2-morfolin-4-il-etil)-2-(1-naftiloxi) acetamida mostró efecto antihiperalgésico y antialodínico en el modelo de CCI, debido a que el efecto fue revertido por los agonistas σ_1 (+)-pentazocina y PRE-084, se asume la participación del receptor σ_1 .³⁹

Por otra parte, con la finalidad de redireccionar el efecto antialodínico y antihiperalgésico del haloperidol, antagonista σ_1 , se seleccionó **LMH-2** de una serie de análogos de haloperidol.

En la **Figura 67A** se observa el curso temporal del efecto antialodínico al administrar dosis logarítmicas del compuesto **LMH-2** (0.1, 1, 3.1, 10, 31.6, 100 mg/kg, s.c.), se observa que la dosis más baja administrada (0.1 mg/kg) no produce efecto antialodínico hasta el final del ensayo, las dosis de 1 mg/kg produce 20% de efecto antinociceptivo, el cual no es estadísticamente significativo con respecto a la administración de vehículo (ANOVA 1 vía, seguido de *post hoc* de Dunnett con $p \leq 0.05$ comparando vs vehículo). Es hasta la dosis de 3.1 mg/kg que se produce 40% de efecto antialodínico que es estadísticamente significativo con respecto a la administración del vehículo, el efecto inicia a los 30 min y se mantiene a lo largo de la evaluación. Con las dosis más altas evaluadas (10, 31.6 y 100 mg/kg) se observó un efecto antialodínico de 70% en los primeros 30 min, siendo la dosis de 10 mg/kg la que mantiene su efecto hasta el final del ensayo, a la dosis de 31.6 mg/kg se observó un 90% del efecto a los 90 min pero disminuyó hasta el 70% al final del ensayo; por último, a la dosis de 100 mg/kg aumentó su efecto al 90% a los 60 min el cual permaneció hasta los 120 min, después disminuyó hasta el 80% al final del ensayo.

En la **Figura 67B** se muestra el efecto antihiperálgico de **LMH-2**. La dosis de 0.1 mg/kg no produjo efecto antihiperálgico, la dosis de 1 y 3.1 mg/kg generaron de 10 a 30% de respuesta a los 90 min de haber sido administrado y su efecto disminuye gradualmente. En la dosis de 10 mg/kg se observa como mantienen un gran efecto del 70% para después terminar con un 60% del efecto hasta finalizar el ensayo, en las dosis de 31.6 y 100 mg/kg el efecto se eleva hasta un 90% en los primeros 60 min para posteriormente disminuir al 70% al final del ensayo, de igual forma se mostró un efecto antihiperálgico significativo comparado con el vehículo a la tercera hora de evaluación.

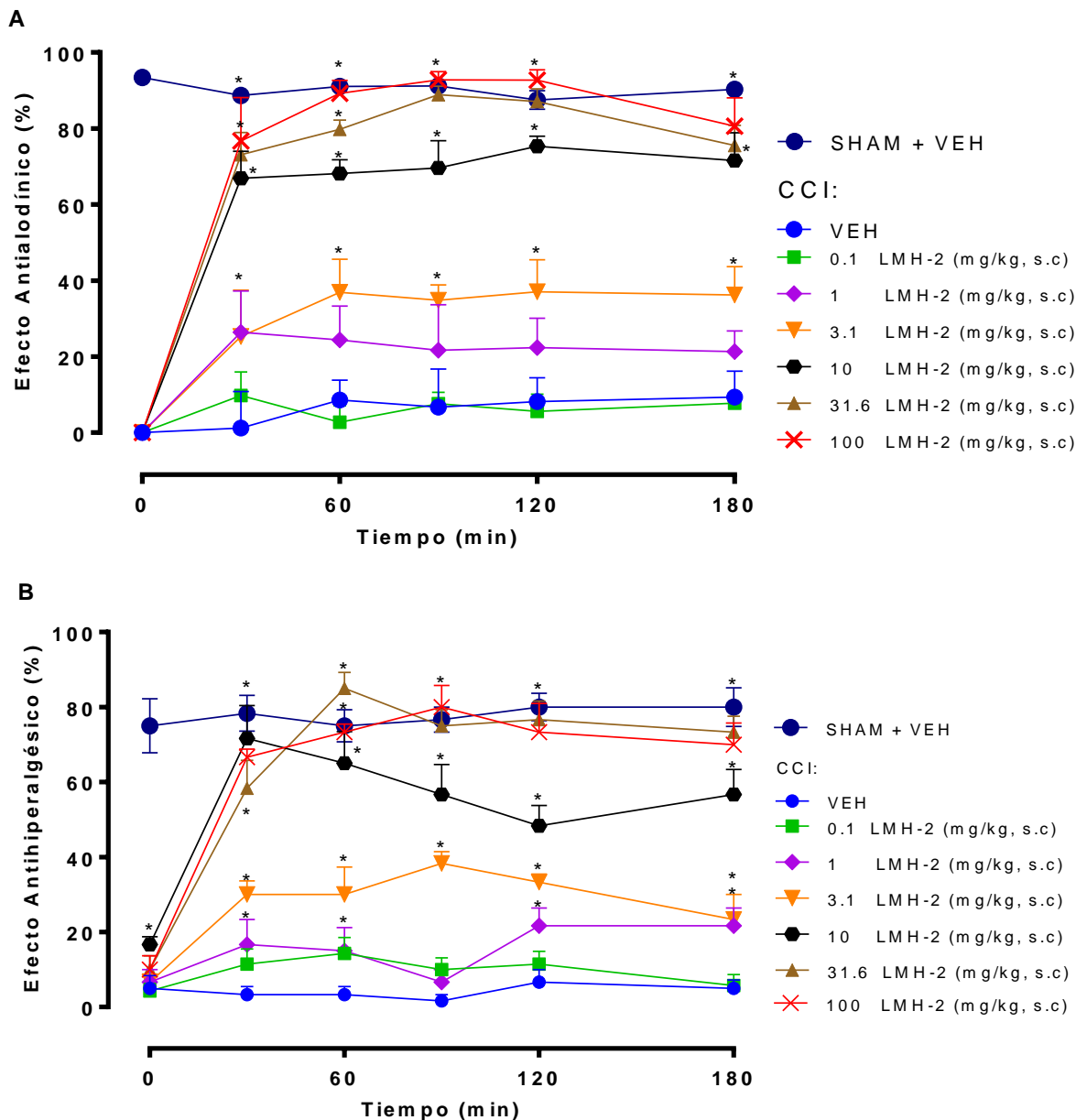


Figura 67. Curso temporal del efecto antialodínico (2A) y antihiperalgésico (2B) de la administración de LMH-2 (0.1-100 mg/kg, s.c.) en ratas con CCI. El grupo de ratas Sham + vehículo no tienen cirugía del nervio ciático. Cada punto experimental representa el promedio de seis ratas \pm E.E.M. La diferencia estadística se estableció con respecto a la administración de Vehículo en ratas con CCI utilizando un ANOVA de una vía, seguido de una prueba *post hoc* de Dunnett con $p \leq 0.05$, la comparación es de las diferentes dosis de LMH-2 vs vehículo en ratas CCI.

El hecho de que **LMH-2** tenga un efecto antihiperalgésico y antialodínico contribuye al conocimiento de que los antagonistas a los receptores σ_1 pueden ser de utilidad terapéutica para el tratamiento del dolor neuropático. En el presente trabajo no se pudo establecer si el efecto de **LMH-2** es revertido por un agonista σ_1 , por lo que queda como perspectiva para establecer la real interacción con este receptor. Sin embargo, se ha documentado que la actividad antinociceptiva del haloperidol se debe a la activación del receptor σ_1 más que a una actividad dopaminérgica⁸³ y como **LMH-2** es un análogo de haloperidol podría interactuar también solo en el receptor σ_1 , pero se requieren más evidencias de su mecanismo transduccional.

8.6.2 Comparación del efecto antialodínico y antihiperalgésico de **LMH-2** y gabapentina

Los fármacos más ampliamente utilizados en la clínica para el tratamiento del dolor neuropático es la pregabalina y la gabapentina, éstos no eliminan el dolor, sin embargo, clínicamente tienen alta eficacia antialodínica y antihiperalgésica comparado con otras alternativas como anticonvulsivantes, anestésicos y benzodiazepinas entre otros.^{84,85} Por lo anterior, en el presente trabajo se comparó el efecto antialodínico y antihiperalgésico de **LMH-2** con respecto al efecto de gabapentina. En la **Figura 68** se muestra el efecto de **LMH-2** expresado como % de respuesta, la curva dosis respuesta (CDR) de **LMH-2** se compara con respecto a la administración de gabapentina por la misma vía de administración (s.c). Se puede establecer que el efecto de **LMH-2** y gabapentina es dependiente de la dosis debido a que hay diferencia estadística entre las dosis evaluadas (ANOVA de una vía seguida de una *post hoc* Tukey con una $p \leq 0.05$), tanto en el efecto antihiperalgésico (**Figura 68A**) como antialodínico (**Figura 68B**).

Como se puede observar en la **Figura 68** gabapentina tiene mayor eficacia, ya que con la dosis de 100 mg/kg tiene un efecto antihiperalgésico = 95.9 ± 3.8 % y antialodínico = 90.23 ± 4.04 %; en tanto que, **LMH-2** a la misma dosis generó un efecto antihiperalgésico = 66.02 ± 6.9 % y antialodínico = 78.37 ± 4.6 %. Sin embargo, cuando se compara la potencia de los efectos se puede observar que el

nuevo compuesto diseñado **LMH-2** es más potente que gabapentina debido a que su DE_{50} es menor con respecto a gabapentina, tanto en el efecto antihiperálgico (**LMH-2**, $DE_{50} = 14.78 \pm 2.7$; gabapentina, $DE_{50} = 29.93 \pm 1.15$) como en el efecto antialodínico (**LMH-2**, $DE_{50} = 9.0 \pm 1.4$; gabapentina, $DE_{50} = 35.32 \pm 2.3$) esto significa que se requiere de una dosis menor para que LMH-2 genere la misma respuesta antihiperálgica y antialodínica que gabapentina en el modelo de CCI. Estos resultados sugieren que **LMH-2** es una nueva entidad química con potencial utilidad terapéutica en el tratamiento del dolor neuropático. Evidentemente hace falta seguir explorando su actividad farmacológica no solo en el modelo CCI sino en otros modelos de nocicepción, además de caracterizar su mecanismo transduccional es interesante determinar sus efectos adversos y toxicidad a corto y largo plazo.

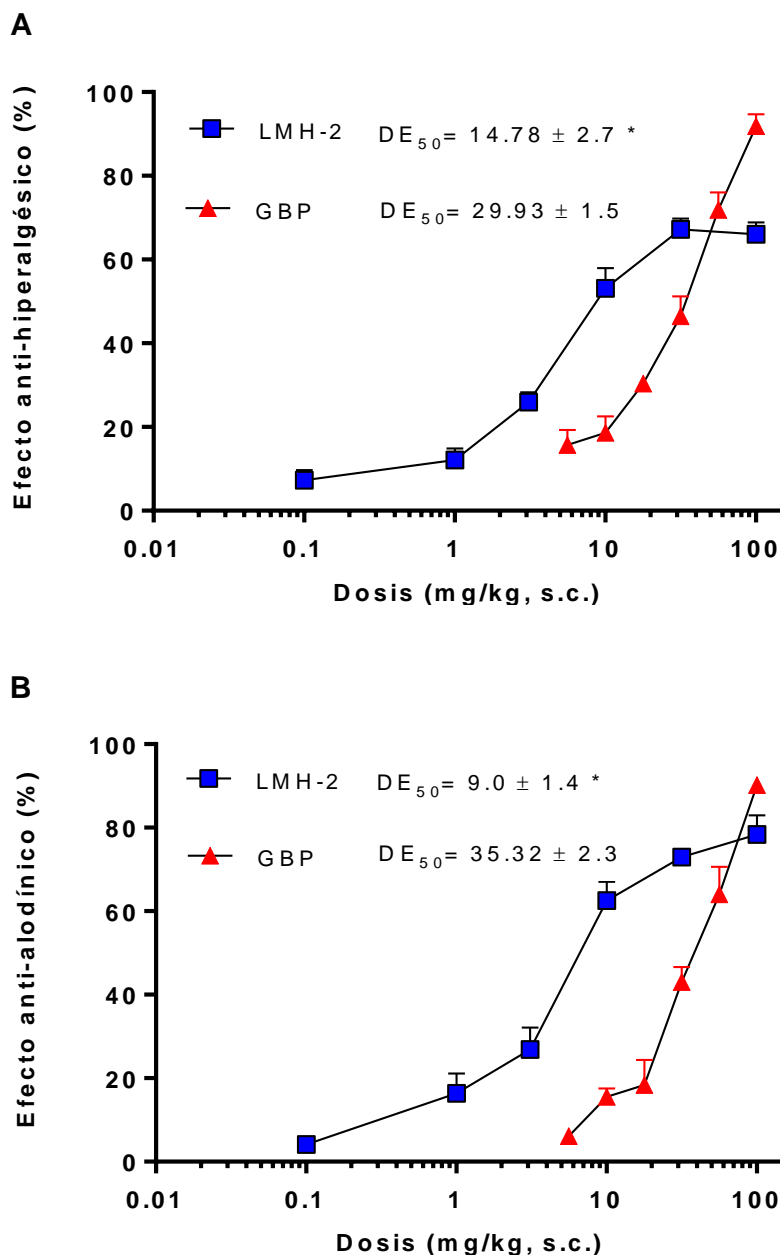


Figura 68. Curva dosis respuesta del efecto antihiperalgésico (A) y antialodínico (B) de la administración de **LMH-2** (0.1-100.0 mg/kg, s.c.) y de gabapentina (5.6-100.0 mg/kg, s.c.). Cada punto experimental se muestra como el % de respuesta del promedio de 6 animales experimentales \pm E.E.M. La DE_{50} se determinó mediante el método lineal logarítmico y la diferencia estadística es el efecto de **LMH-2** vs Gabapentina utilizando una prueba t-Student ($p \leq 0.05$).

9. CONCLUSIONES

- * Se obtuvieron seis compuestos sintetizados y caracterizados, donde el análisis *in silico* muestra adecuadas propiedades farmacocinéticas, metabólicas y toxicológicas, observando toxicidad baja calculada y buenas calificaciones cuasi-fármaco para los análogos de haloperidol (**LMH 1-6**).
- * Los compuestos **LMH-2**, **LMH-3** y **LMH-6** fueron los más afines al receptor σ_1 en el estudio *in vitro* con una $K_i = 6, 2.6$ y 2 nM, respectivamente.
- * Los compuestos **LMH 1-6** mantuvieron las mismas interacciones que **haloperidol** en el estudio “docking” y con menor energía de unión ($\Delta G < -10.8$).
- * El Análisis de Consenso Farmacológico indicó como líder computacional seguro al compuesto **LMH-2** para el análisis farmacológico *in vivo*.
- * El compuesto **LMH-2** produjo efecto antialodínico y antihiperalgésico dependiente de la dosis en un modelo *in vivo* de CCI en rata, siendo más potente que gabapentina (fármaco utilizado en la terapéutica), por lo que se sugiere seguir analizándolo farmacológicamente como una posible alternativa terapéutica para el tratamiento del dolor neuropático.

10. PERSPECTIVAS

- * Realizar las pruebas *in vivo* en modelo murino del compuesto **LMH-4** para la comparación con los resultados del compuesto **LMH-2**, con la presencia y ausencia del carbonilo, así como también realizar el ensayo con los compuestos **LMH-3** y **LMH-6** para corroborar lo observado del análisis de consenso farmacológico.

- * Diseñar otros derivados de los compuestos con diferentes sustituyentes en los grupos arilos para observar la relación estructura-actividad sobre los receptores σ_1 .

- * Realizar los estudios de farmacocinética, toxicología aguda, subcrónica y citotoxicidad de los compuestos evaluados en las pruebas *in vivo*.

11. PARTE EXPERIMENTAL

11.1 Instrumentación

Para la síntesis de los compuestos **LMH 1-6** se utilizaron reactivos de marca SIGMA-ALDRICH® y MERK®. Para el calentamiento y la agitación magnética se utilizó una parrilla de la marca CIMAREC® y matraz Bola de 25 mL acoplados con agitación magnética, refrigerante en posición vertical y Nitrógeno para aislar las reacciones con el medio ambiente. Además de usar un tubo lavador con trampa de gases para la formación de amidas. Para el monitoreo de las reacciones se utilizaron cromatografías en capa fina (CCF) de placas de aluminio de 2.5 X 4 cm cubiertas con gel de sílice. Para correr las placas se utilizó una cámara de elución de vidrio. Para la elución de las placas se utilizaron los sistemas observados en la siguiente **Tabla 15**.

Tabla 15. Sistemas utilizados como fase móvil para CCF

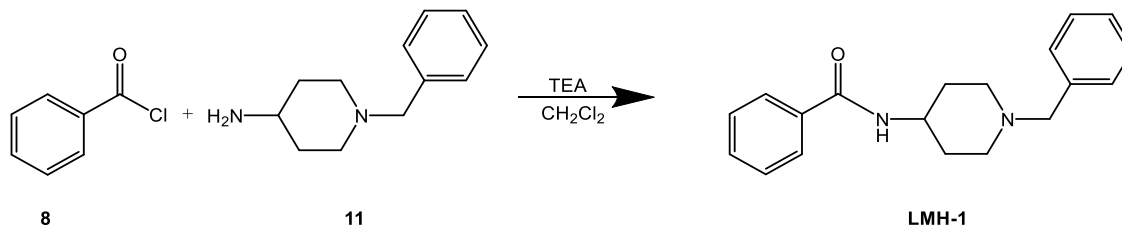
Sistema	Comparación	Proporción
I	CH ₂ Cl ₂ :MetOH	90:10
II	CH ₂ Cl ₂ :MetOH	95:5

Para revelar las CCF se utilizó una lámpara UV marca ENTELA modelo UVGL-25 con longitud de onda de 254-365nm. Para evaporar los disolventes utilizados se utilizó un Rotaevaporador marca BÜCHI R-200 conectado a una bomba de vacío marca Vacuubrand® ME 2C. Para alto vacío se utilizó con una bomba marca BÜCHI V-700. El punto de fusión (p.f.) se determinó con un aparato Stanford Research System, modelo EZ-Melt. El pH se midió con tiras reactivas de la marca CRISA.

Todos los programas fueron utilizados y/o corridos sobre una laptop Acer modelo E5-551-85R3 con Sistema Operativo: Windows 10 de 64 bits, procesador AMD A8-7100 Radeon R5, procesador de gráficos AMD Radeon™ R5 Graphics y 8 GB de memoria RAM.

11.2 Parte química

11.2.1 Síntesis de *N*-(1-bencilpiperidin-4-il)benzamida (LMH-1)



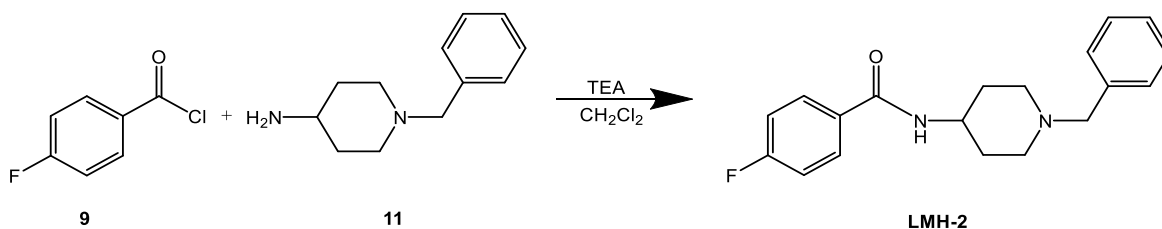
En un matraz bola de 25 mL equipado con agitación magnética, una trampa de gases y un embudo de adición de líquidos de presiones igualadas, se colocó 0.3 g (0.00158 mol) de 4-amino-1-bencilpiperidina (**11**) y se añadió 0.241 mL (0.00174 mol) de trietilamina en adición lenta (gota a gota), se dejó en agitación con 3 mL de diclorometano seco (CH₂Cl₂) durante 15 minutos. Transcurrido el tiempo se colocó en baño de hielo (0-5°C) para añadir 0.201 mL (0.0174 mol) de cloruro de benzoilo (**8**), posteriormente permaneció a temperatura ambiente y se dejó en agitación durante 9 h. Utilizando el sistema I se realizó una CCF, revelando la ausencia de la materia prima, se rotaevaporó todo el diclorometano hasta sequedad se realizaron extracciones con 10 mL de agua y 10 mL de acetato de etilo (por triplicado). La fase orgánica se concentró en el rotavapor, para asegurar la ausencia de agua, se agregó acetona en el compuesto y se volvió a rotaevaporar, se dejó reposar hasta obtener un sólido, se recristalizó con etanol obteniendo cristales blancos, un peso de 0.42 g, un punto de fusión de 171.7-173.9 °C y un rendimiento de 90%.

RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 1.58 y 1.77 (c, d, 2H, H-9, H-11), 2.01 y 2.82 (t, d, 2H, H-8, H-12), 3.46 (s, 2H, H-13), 3.73-3.81 (m, 5H, H-10), 7.23-7.27 (m, 3H, H-4), 7.29-7.34 (m, 5H, H-2', H-3', H-5', H-6'), 7.43-7.46 (m, 3H, H-3, H-5), 7.49-7.53 (m, 3H, H-4), 7.83 (dd, 2H, H-2, H-6, *J_m*=1.4, *J_o*=8 Hz)

RMN ¹³C (125 MHz, DMSO-d₆) δ: 31.9 (C-9, C-11), 47.3 (C-10), 52.7 (C-8, C-12), 62.2 (C-13), 124.8 (C-4'), 127.3 (C-2', C-6'), 127.7 (C-3', C-5'), 128.1 (C-2, C-6), 129.6 (C-3, C-5), 131.4 (C-4), 135.2 (C-1'), 139.1 (C-1), 166.0 (C=O)

EM (IE) m/z 294 (100 %, M⁺)

11.2.2 Síntesis de *N*-(1-bencilpiperidin-4-il)-4-fluorobenzamida (LMH-2)



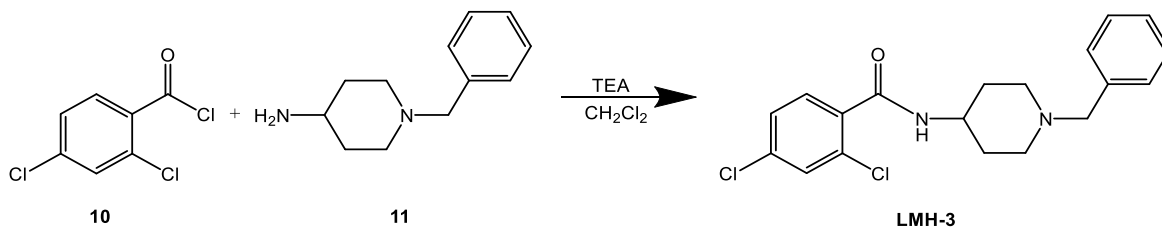
En un matraz bola de 25 mL equipado con agitación magnética, una trampa de gases y un embudo de adición de líquidos de presiones igualadas, se colocó 0.3 g (0.00158 mol) de 4-amino-1-bencilpiperidina (**11**) y se añadió 0.241 mL (0.00174 mol) de trietilamina en adición lenta (gota a gota), se dejó en agitación con 3 mL de diclorometano seco (CH₂Cl₂) durante 15 minutos. Transcurrido el tiempo se colocó en baño de hielo (0-5°C) para añadir 0.2 mL (0.0174 mol) de cloruro de 4-fluorobenzilo (**9**), posteriormente permaneció a temperatura ambiente y se dejó en agitación durante 6 h. Utilizando el sistema I se realizó una CCF, revelando la ausencia de la materia prima. Todo el diclorometano se rotaevaporó hasta sequedad realizando extracciones por triplicado con 10 mL de agua y 10 mL de acetato de etilo. La fase orgánica se concentró en el rotavapor. Para asegurar la ausencia de agua, se agregó acetona en el compuesto y se volvió a rotaevaporar, se dejó reposar hasta obtener un sólido. Con etanol se recristalizó obteniendo cristales blancos con un peso de 0.51 g, un punto de fusión de 160.5-161.9 °C y un rendimiento de 95%.

RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ: 1.55 y 2.00 (c, d, 2H, H-9, H-11), 2.16 y 2.84 (t, d, 2H, H-8, H-12), 3.51 (s, 2H, H-13), 3.95-4.02 (m, 5H, H-10), 7.07-7.10 (m, 2H, H-3, H-5, $J_m=2$, $J_o=8.6$ Hz), 7.23-7.35 (2H, H-2', H-6'), 7.74-7.76 (m, 2H, H-2, H-6, $J_o=8.2$ Hz, $J_m=5.2$ Hz con el heteroátomo F)

RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃) δ: 32.2 (C-9, C-11), 47.5 (C-10), 52.5 (C-8, C-12), 63.0 (C-13), 114.9 (C-4'), 127.5 (C-2', C-6'), 128.4 (C-3', C-5'), 128.6 (C-2, C-6), 129.5 (C-3, C-5), 130.9 (C-1'), 138 (C-1), 164.6 (d, C-F, $J_{cf}=248.5$), 165.7 (C=O)

EM (IE) m/z 312 (20 %, M⁺)

11.2.3 Síntesis de *N*-(1-bencilpiperidin-4-il)-2,4-diclorobenzamida (LMH-3)



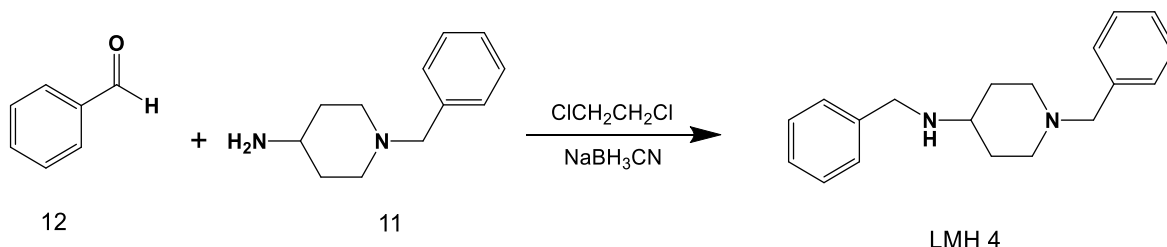
En un matraz bola de 25 mL equipado con agitación magnética, una trampa de gases y un embudo de adición de líquidos de presiones igualadas, se colocó 0.3 g (0.00158 mol) de 4-amino-1-bencilpiperidina (**11**) y se añadió 0.241 mL (0.00174 mol) de trietilamina en adición lenta (gota a gota), se dejó en agitación con 3 mL de diclorometano seco (CH_2Cl_2) durante 15 minutos. Transcurrido el tiempo se colocó en baño de hielo ($0-5^\circ\text{C}$) para añadir 0.243 mL (0.0174 mol) de cloruro de 2,4-diclorobenzoilo (**10**), posteriormente permaneció a temperatura ambiente y se dejó en agitación durante 4 h. Utilizando el sistema I se realizó una CCF, revelando la ausencia de la materia prima. Todo el diclorometano se rotaevaporó hasta sequedad realizando extracciones por triplicado con 10 mL de agua y 10 mL de acetato de etilo. La fase orgánica se concentró en el rotavapor. Para asegurar la ausencia de agua, se agregó acetona en el compuesto y se volvió a rotaevaporar, se dejó reposar hasta obtener un sólido. Con etanol se recristalizó para obtener cristales blancos, con un peso de 0.57 g, un punto de fusión de $144.2-145.9^\circ\text{C}$ y un rendimiento de 91%.

RMN ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) δ : 1.48 y 1.79 (c, d, 2H, H-9, H-11), 2.03 y 2.77 (t, d, 2H, H-8, H-12), 3.45 (s, 1H, H-13), 3.67-3.75 (m, 5H, H-10) 7.23-7.42 (m, 2H, H-2', H-6'), 7.48 (dd, 3H, H-5 $J_m=2$ $J_o=8.2$ Hz), 7.68 (d, 2H, H-3 $J_m=2$ Hz) 8.42 (d, 2H, H-6 $J_o=7.8$ Hz)

RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO-d_6) δ 31.7 (C-9, C-11), 47.1 (C-10), 52.3 (C-8, C-12), 62.6 (C-13), 127.3 (C-5), 127.7 (C-4'), 128.6 (C-3', C-5'), 129.1 (C-2', C-6') 129.4 (C-6), 130.6 (C-3), 131.5 (C-1'), 134.6 (C-4), 136.5 (C-2), 139.1 (C-1) 165.1 (C=O)

EM (IE) m/z 363 (100 %, M^+)

11.2.4 Síntesis de N,1-dibencilpiperidin-4-amida (LMH-4)



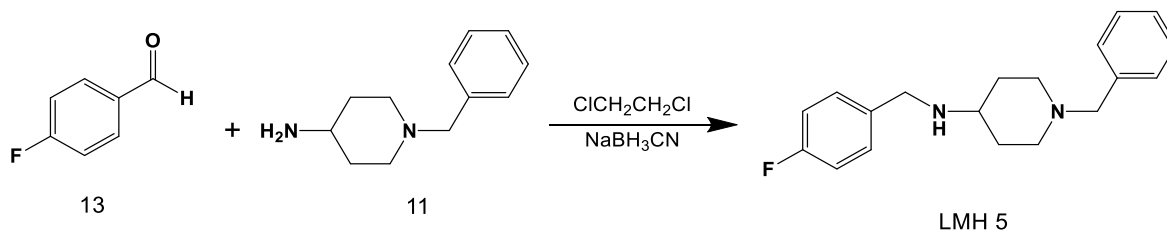
En un matraz bola de 25 mL, equipado con agitación magnética, baño de hielo, atmósfera de nitrógeno y un embudo de adición de líquidos de presiones igualadas, se colocó 0.3 g (0.001 mol) de 4-amino-1-bencilpiperidina (**11**), se añadió 0.18 mL (0.00174 mol) de benzaldehído (**12**), *in situ* se agregó 0.109 g (0.0174 mol) de NaBH₃CN en 5 mL de dicloroetano (ClCH₂CH₂Cl) posteriormente se dejó en agitación durante 72 h. Transcurrido el tiempo se realizó una CCF utilizando el sistema II, revelando la ausencia de materias primas. Todo el dicloroetano se rotaevaporó hasta sequedad. Las extracciones se realizaron por triplicado con 10 mL de agua y 10 mL de acetato de etilo. La fase orgánica se concentró en el rotavapor. Para asegurar la ausencia de agua se agregó acetona en el compuesto y se volvió a rotaevaporar, se dejó reposar hasta obtener un líquido, se hizo clorhidrato con una mezcla HCl:EtOH (50:50) para obtener la sal, con un peso de 0.34 g, un punto de fusión de 295.7-297.3 °C y un rendimiento de 62%.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.51 y 1.89 (c, d, 4H, H-10, H-12), 1.98 (s, 1H, NH), 2.03 y 2.88 (d, d, 4H, H-9, H-13), 2.52-2.59 (m, 1H, H-11), 3.53 (s, 2H, H-14), 3.81 (s, 2H, H-7), 7.25-7.27 (m, 10H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-2', H-3', H-4', H-5' H-6')

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 31.7 (C-10, C-12), 50.2 (C-7), 51.9 (C-9, C-13), 53.7 (C-11), 62.6 (C-14), 127.1 (C-4, C-4'), 128.2 (C-2', C-3', C-5', C-6'), 128.4 (C-2, C-6), 129.3 (C-3, C-5), 137.6 (C-1'), 139.4 (C-1).

EM (IE) m/z 281 (1 %, M⁺¹)

11.2.5 Síntesis de 1-bencil-N-(4-fluorobencil)piperidin-4-amina (LMH-5)



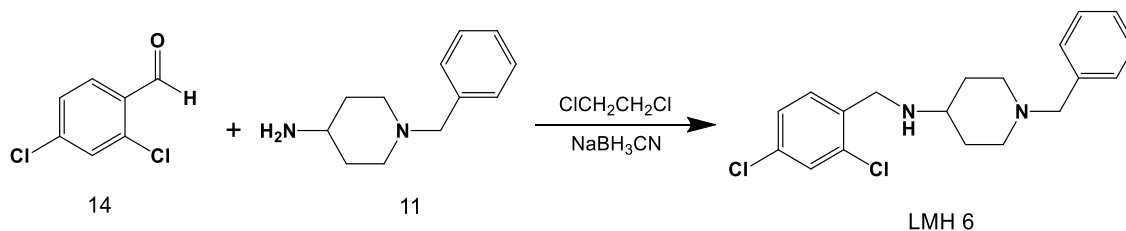
En un matraz bola de 25 mL equipado con agitación magnética, baño de hielo, atmósfera de nitrógeno y un embudo de adición de líquidos de presiones igualadas, se colocó 0.3 g (0.001 mol) de 4-amino-1-bencilpiperidina (**11**), se añadió 0.19 mL (0.00174 mol) de 4-fluorobenzaldehído (**13**), *in situ* se agregó 0.109 g (0.0174 mol) de NaBH₃CN en 5 mL de dicloroetano (ClCH₂CH₂Cl) posteriormente se dejó en agitación durante 72 h. Transcurrido el tiempo, utilizando el sistema II se realizó una CCF, revelando la ausencia de materias primas. Todo el dicloroetano se rotaevaporó hasta sequedad. Se realizaron extracciones por triplicado con 10 mL de agua y 10 mL de acetato de etilo. La fase orgánica se concentró en el rotavapor. Para asegurar la ausencia de agua se agregó acetona en el compuesto y se volvió a rotaevaporar, se dejó reposar hasta obtener un líquido, se hizo clorhidrato con una mezcla HCl:EtOH (50:50) para obtener la sal, con un peso de 0.26 g, un punto de fusión de ↑300 °C y un rendimiento de 45%.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.54 y 1.87 (c, d, 4H, H-10, H-12), 1.99 (s, 1H, NH), 2.03 y 2.85 (d, d, 4H, H-9, H-13), 2.49-2.56 (m, 1H, H-11), 3.58 (s, 2H, H-14), 3.77 (s, 2H, H-7), 6.96-7.01 (m, 2H, H-2, H-6), 7.25-7.30 (m, 4 H-3, H-5, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6').

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 31.9 (C-10, C-12), 49.6 (C-7), 51.6 (C-9, C-13), 53.8 (C-11), 64.6 (C-14), 115.2 (C-2, C-6), 127.1 (C-4'), 128.2 (C-2', C-6'), 129.3 (C-3', C-5'), 130.0 (C-3, C-5), 135.4 (C-1'), 137.6 (C-4), 161.9 (d, C-F, *J_{C-F}* = 324.5)

EM (IE) m/z 298 (1 %, M⁺)

11.2.6 Síntesis de 1-bencil-N-(2,4-diclorobencil)piperidin-4-amina (LMH-6)



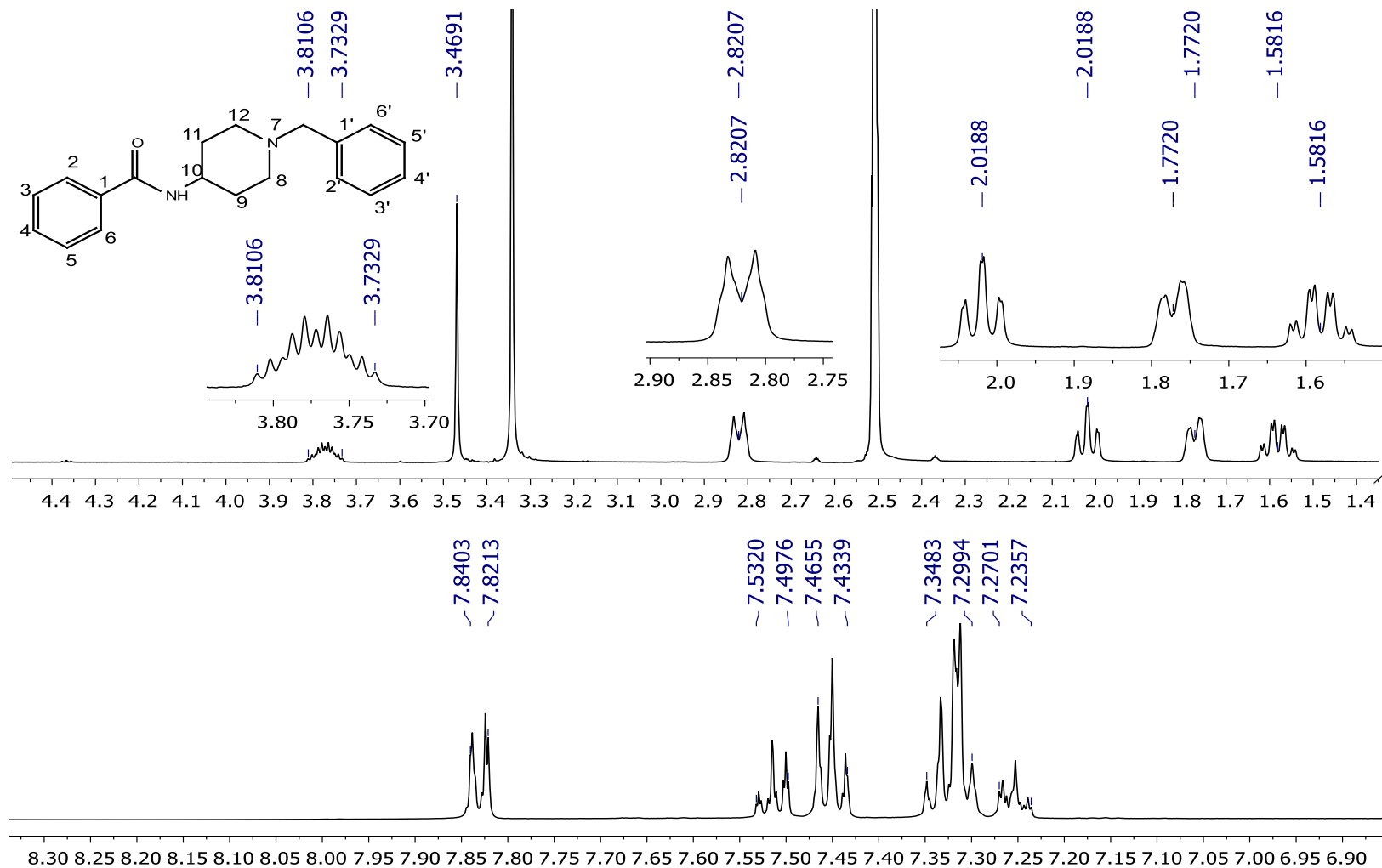
En un matraz bola de 25 mL equipado con agitación magnética, baño de hielo, atmósfera de nitrógeno y un embudo de adición de líquidos de presiones igualadas, se colocó 0.3 g (0.001 mol) de 4-amino-1-bencilpiperidina (**11**), se añadió 0.30 g (0.00174 mol) de 2,4-diclorobenzaldehído (**14**), *in situ* se agregó 0.109 g (0.0174 mol) de NaBH₃CN en 5 mL de dicloroetano (ClCH₂CH₂Cl) posteriormente se dejó en agitación durante 72 h. Transcurrido el tiempo se realizó una CCF utilizando el sistema II, revelando la ausencia de materias primas. Todo el dicloroetano se rotaevaporó hasta sequedad. Se realizaron extracciones por triplicado con 10 mL de agua y 10 mL de acetato de etilo. La fase orgánica se concentró en el rotavapor. Para asegurar la ausencia de agua se agregó acetona en el compuesto y se volvió a rotaevaporar, se dejó reposar hasta obtener un líquido se hizo clorhidrato con una mezcla HCl:EtOH (50:50) para obtener la sal, con un peso de 0.38 g, un punto de fusión de 273.9-276.5 °C y un rendimiento de 57%.

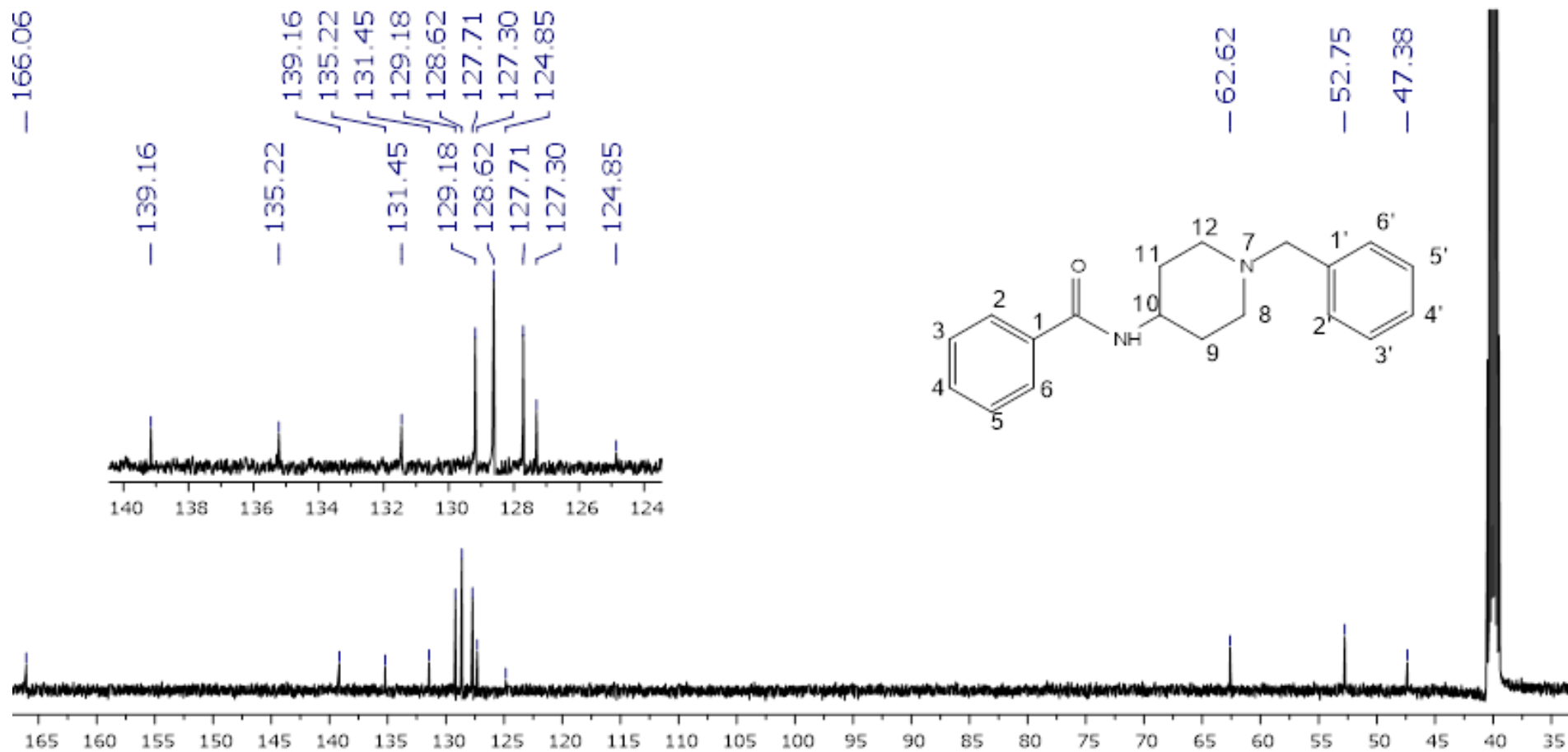
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 1.52 y 1.91 (c, d, 4H, H-10, H-12), 2.02 (s, 1H, NH), 2.02 y 2.96 (t, d, 4H, H-9, H-13), 2.51-2.58 (m, 1H, H-11), 3.62 (s, 2H, H-14), 3.85 (s, 2H, H-7), 7.19-7.36 (m, 8H, H-2, H-5, H-6, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6')

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 25.1 (C-10, C-12), 43.8 (C-7), 49.3 (C-9, C-13), 52.4 (C-11), 58.6 (C-14), 127.5 (C-6), 128.6 (C-3', C-5'), 128.9 (C-2', C-6'), 129.0 (C-1), 129.4 (C-4'), 131.5 (C-2), 133.6 (C-5), 134.5 (C-3), 134.7 (C-4), 141.2 (C-1')

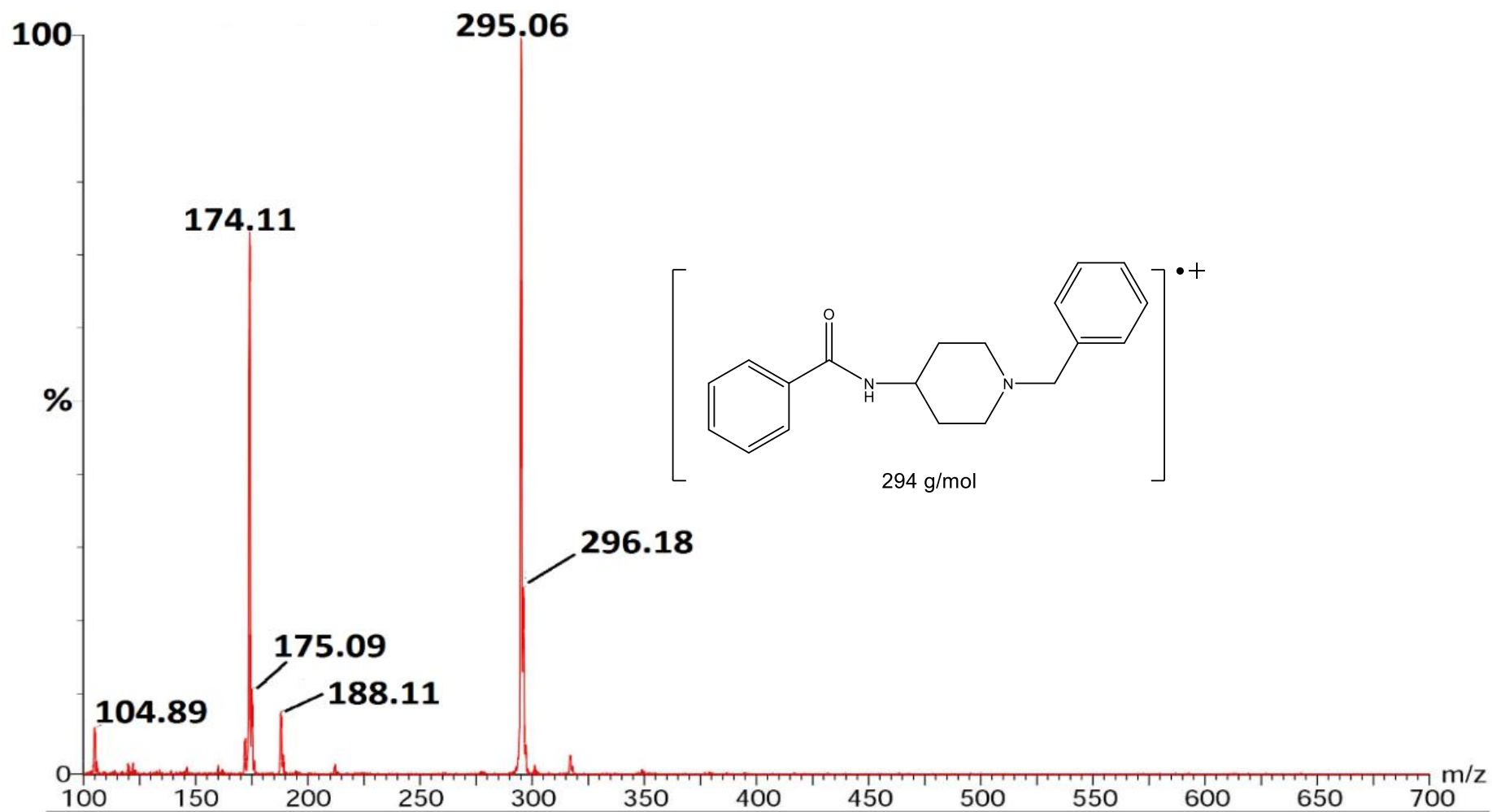
EM (IE) m/z 349 (4 %, M⁺)

12. ESPECTROS

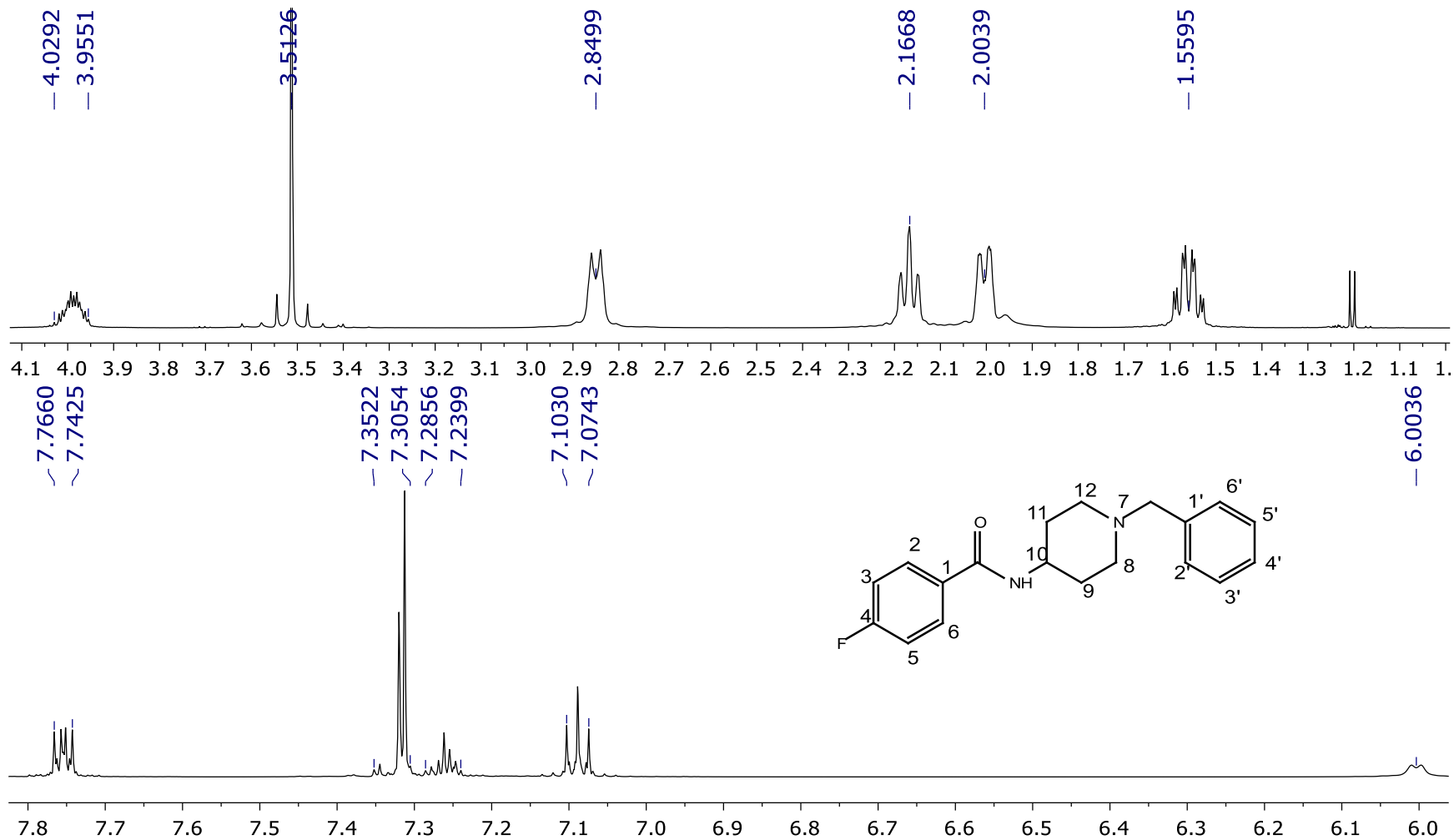
Espectro 1. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) del compuesto final LMH-1.



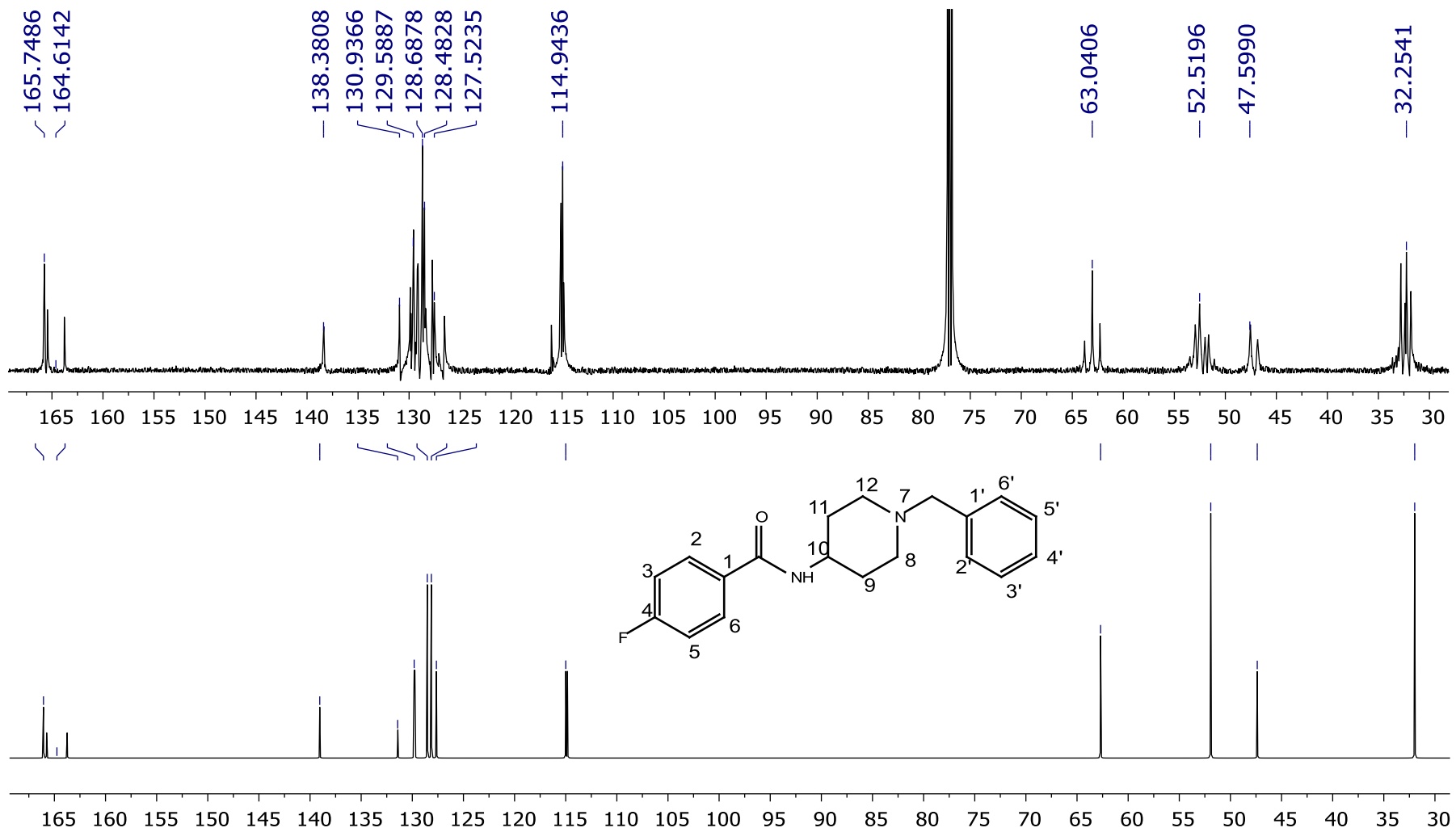
Espectro 2. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) del compuesto final **LMH-1**.



Espectro 3. Espectro de masas de LMH-1 con 295 m/z.

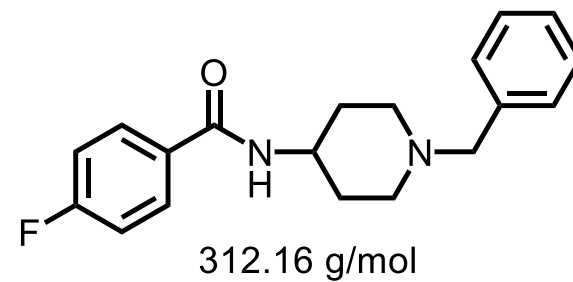
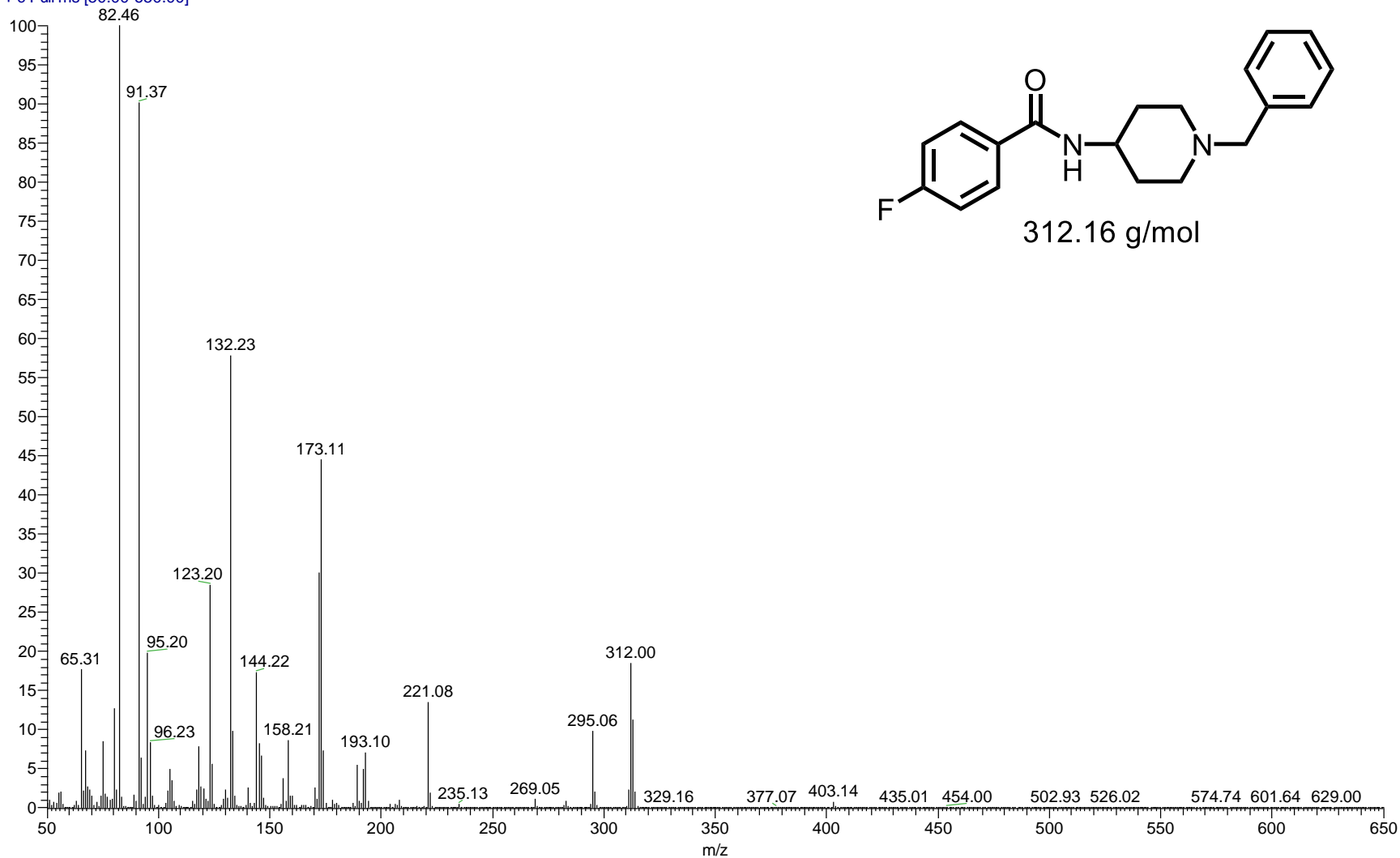


Espectro 4. Espectro de RMN ¹H (600 MHz) del compuesto **LMH-2**.

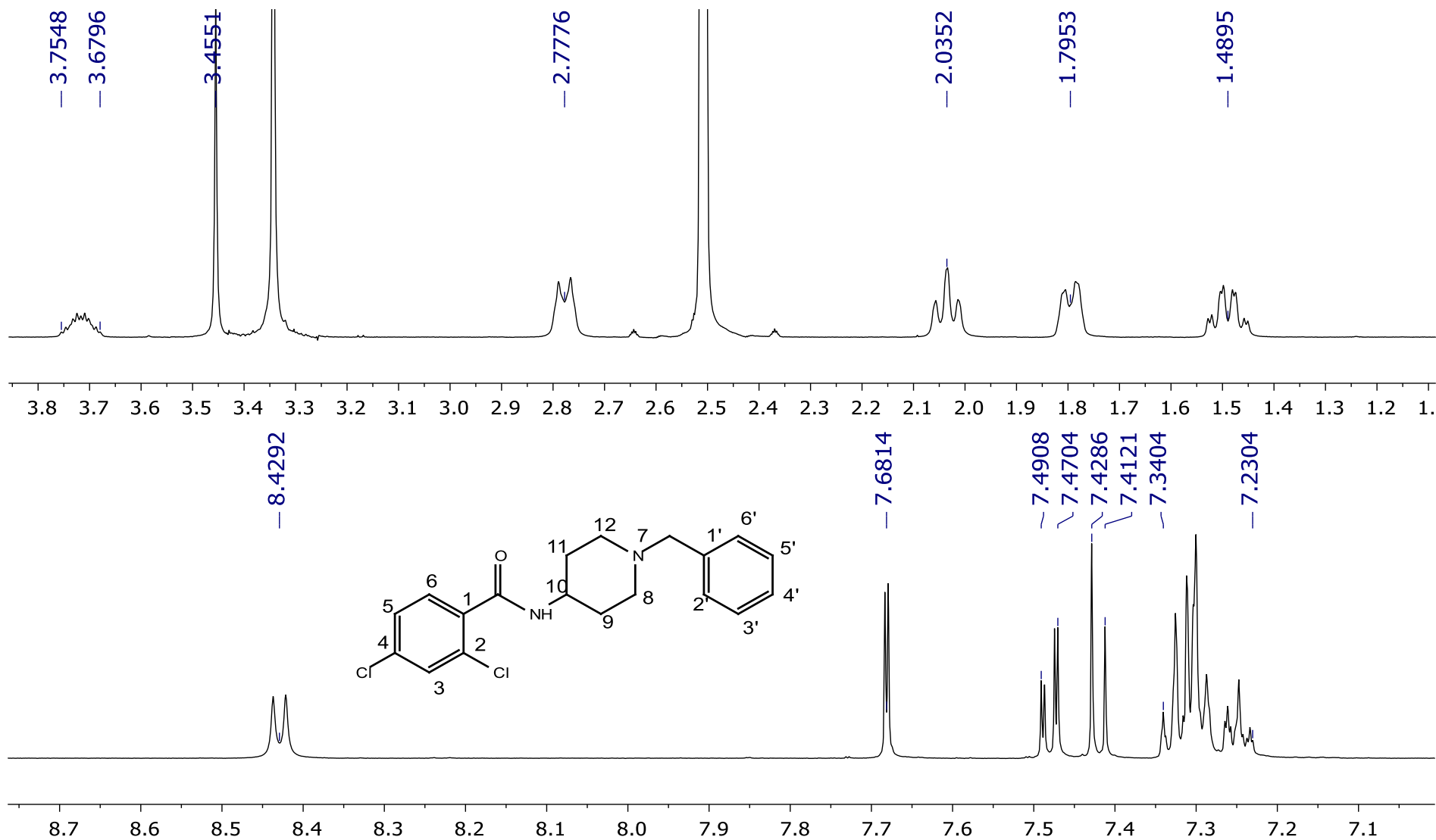


Espectro 5. Espectro de RMN ^{13}C (150 MHz, arriba acoplado, abajo predictivo) del compuesto **LMH-2**.

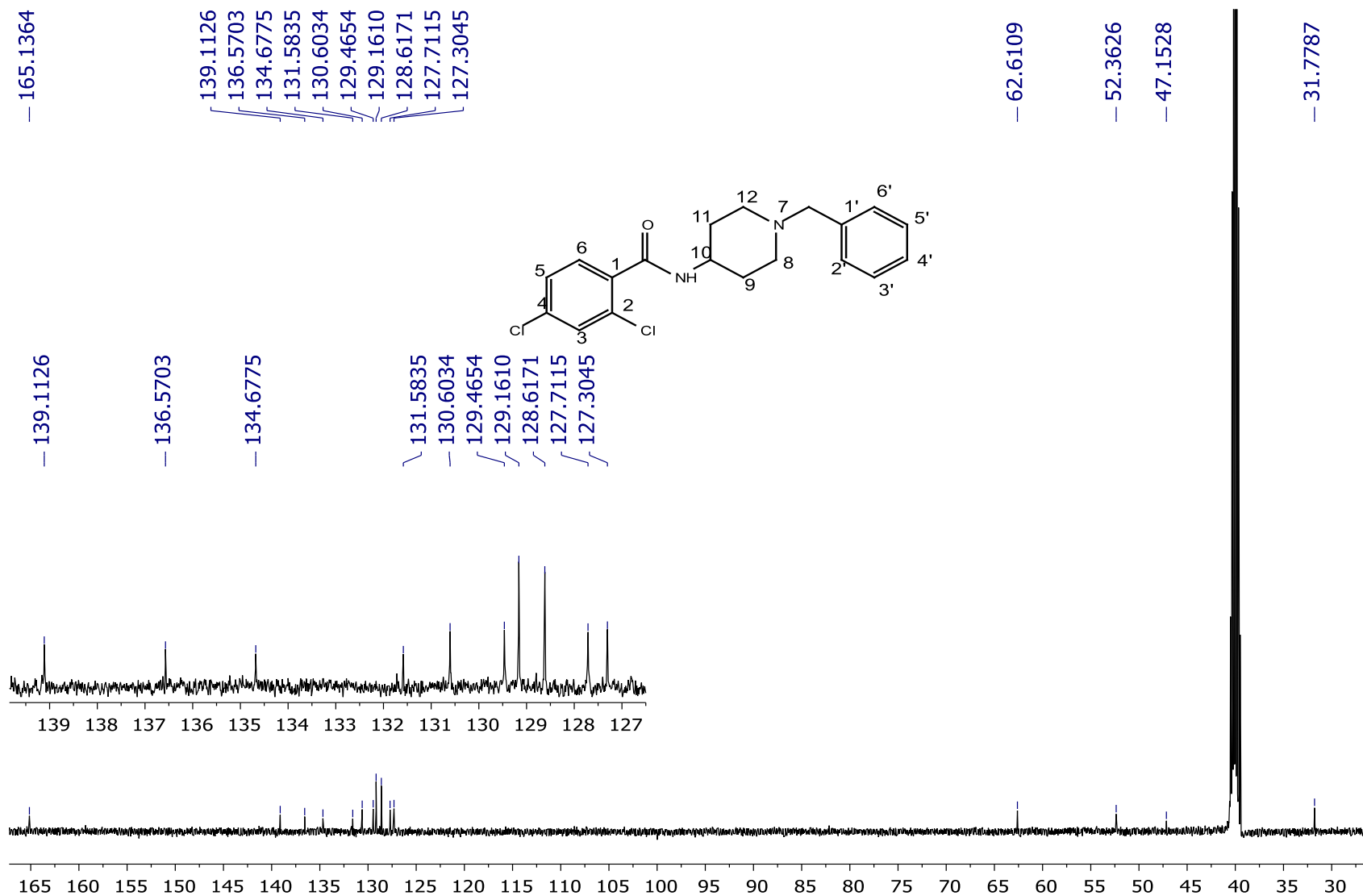
HAL-1 #1795-1853 RT: 24.12-24.64 AV: 59 SB: 1582 25.16-33.52 , 17.20-23.81 NL: 3.93E7
T: + c Full ms [50.00-650.00]



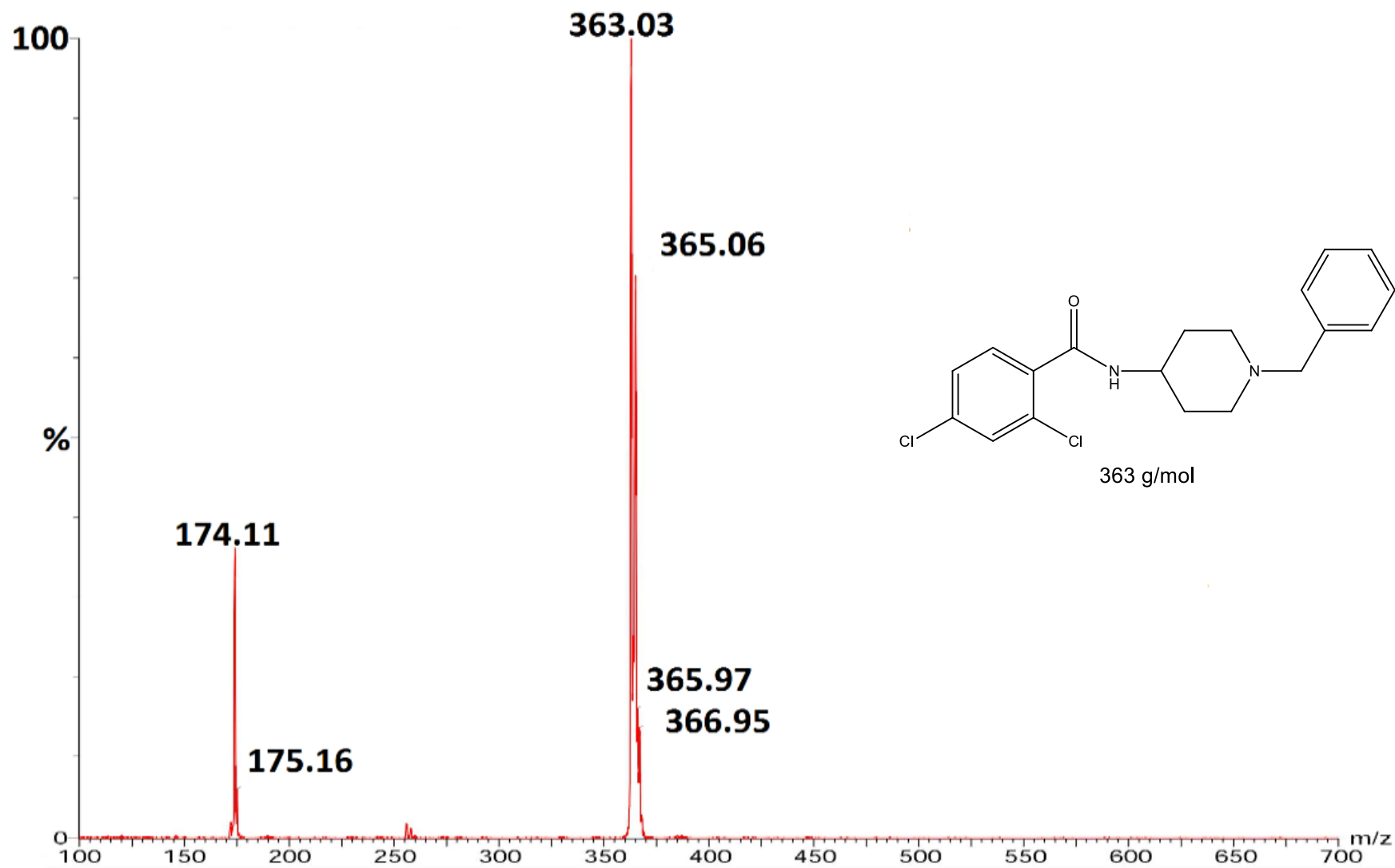
Espectro 6. Espectro de masas (IE) del compuesto **LMH-2**.



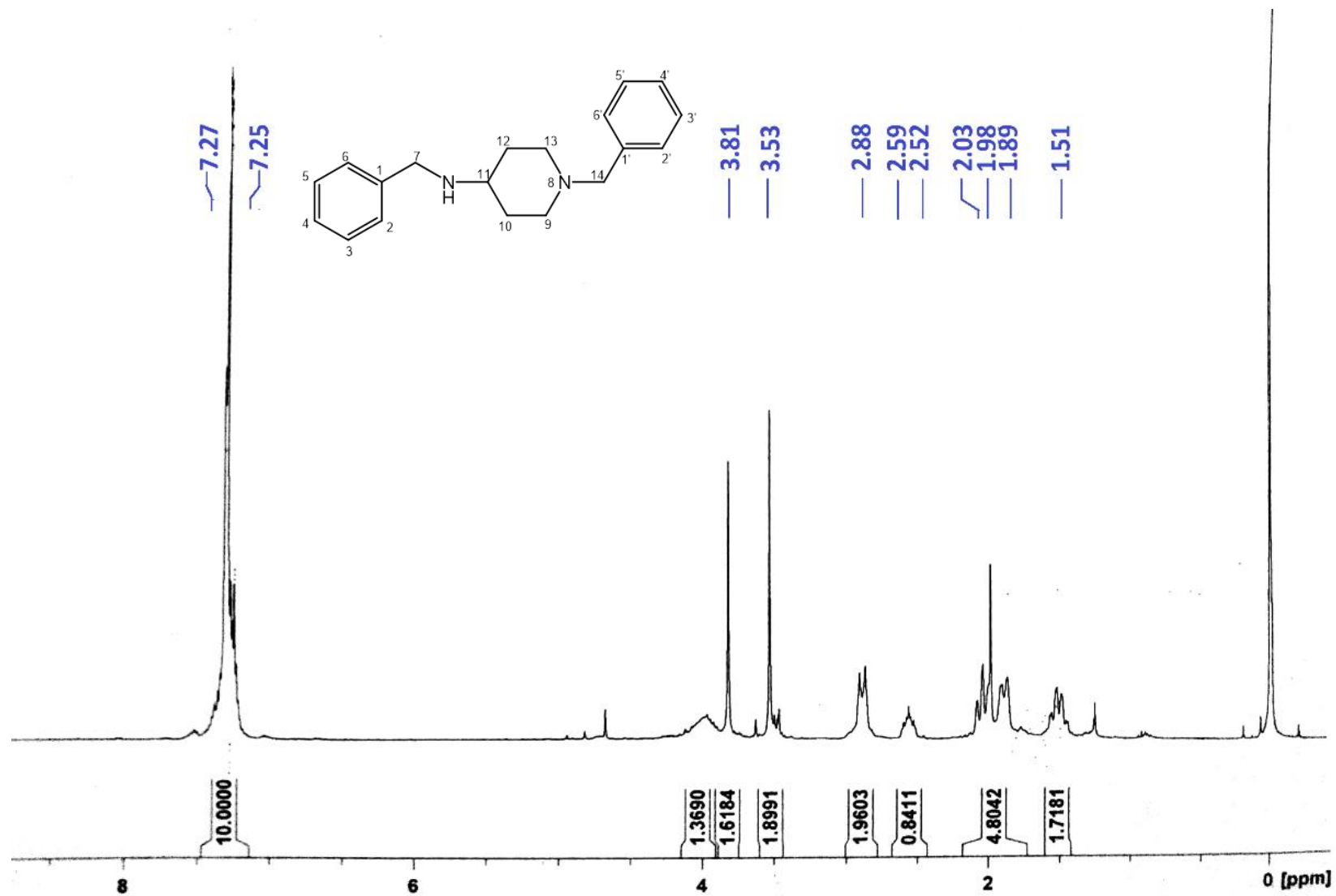
Espectro 7. Espectro de RMN ¹H (500 MHz) del compuesto **LMH-3**.



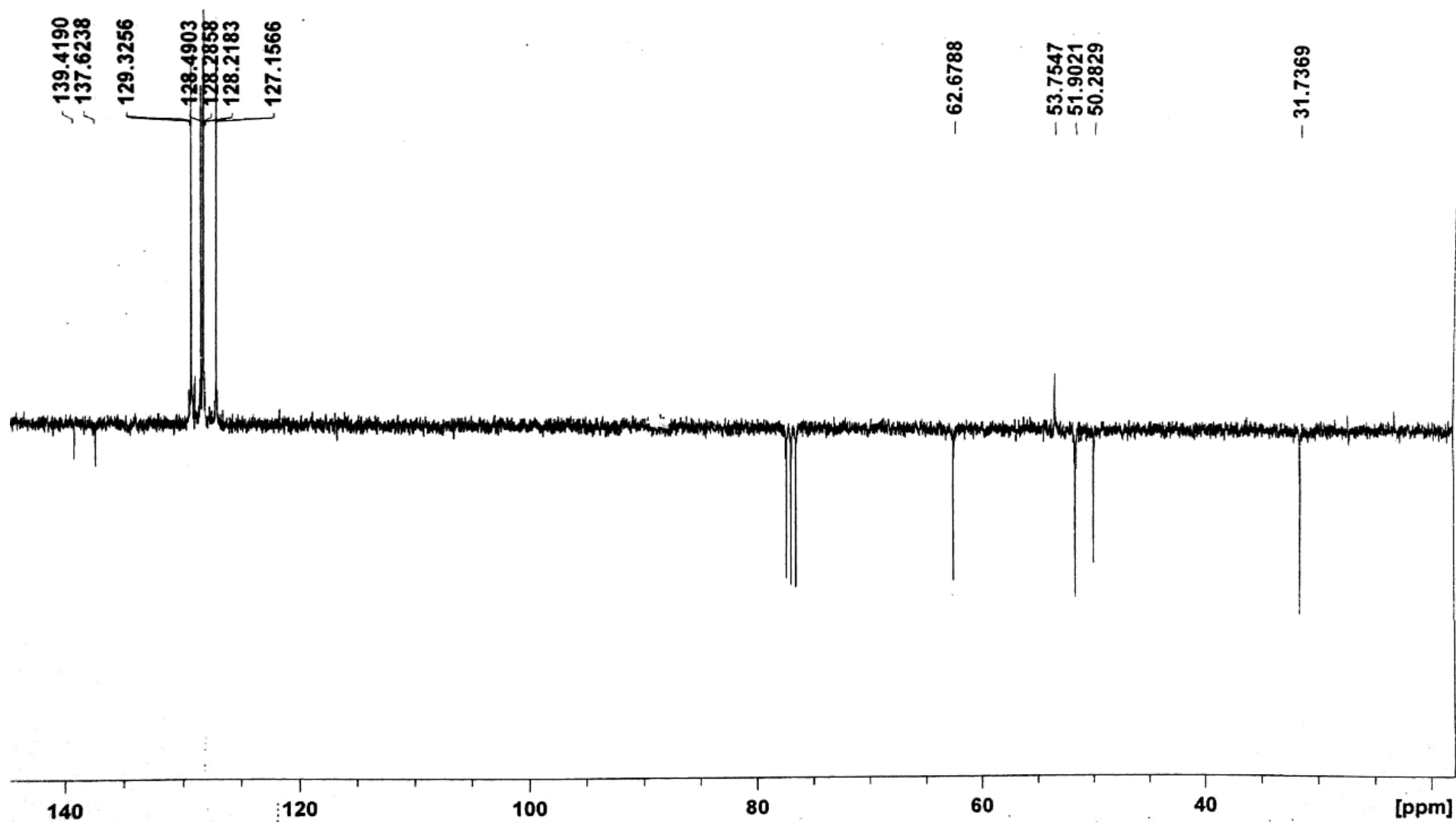
Espectro 8. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) del compuesto **LMH-3**.



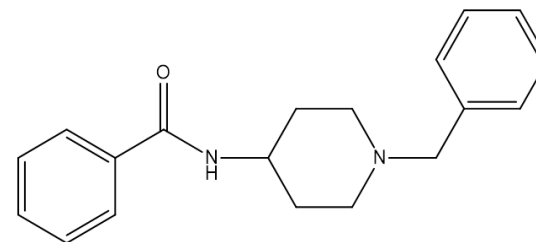
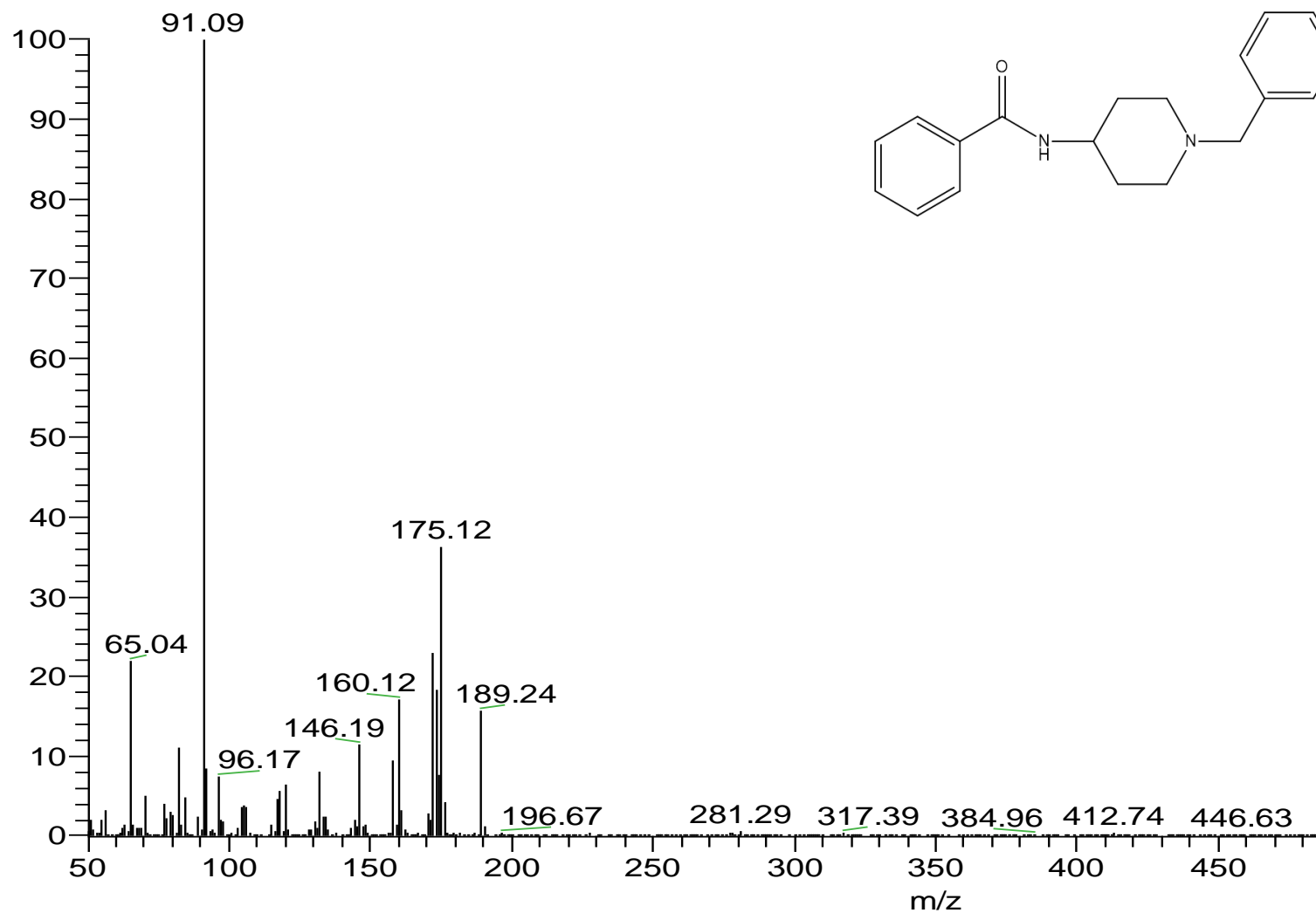
Espectro 9. Espectro de masas (IE) del compuesto LMH-3.



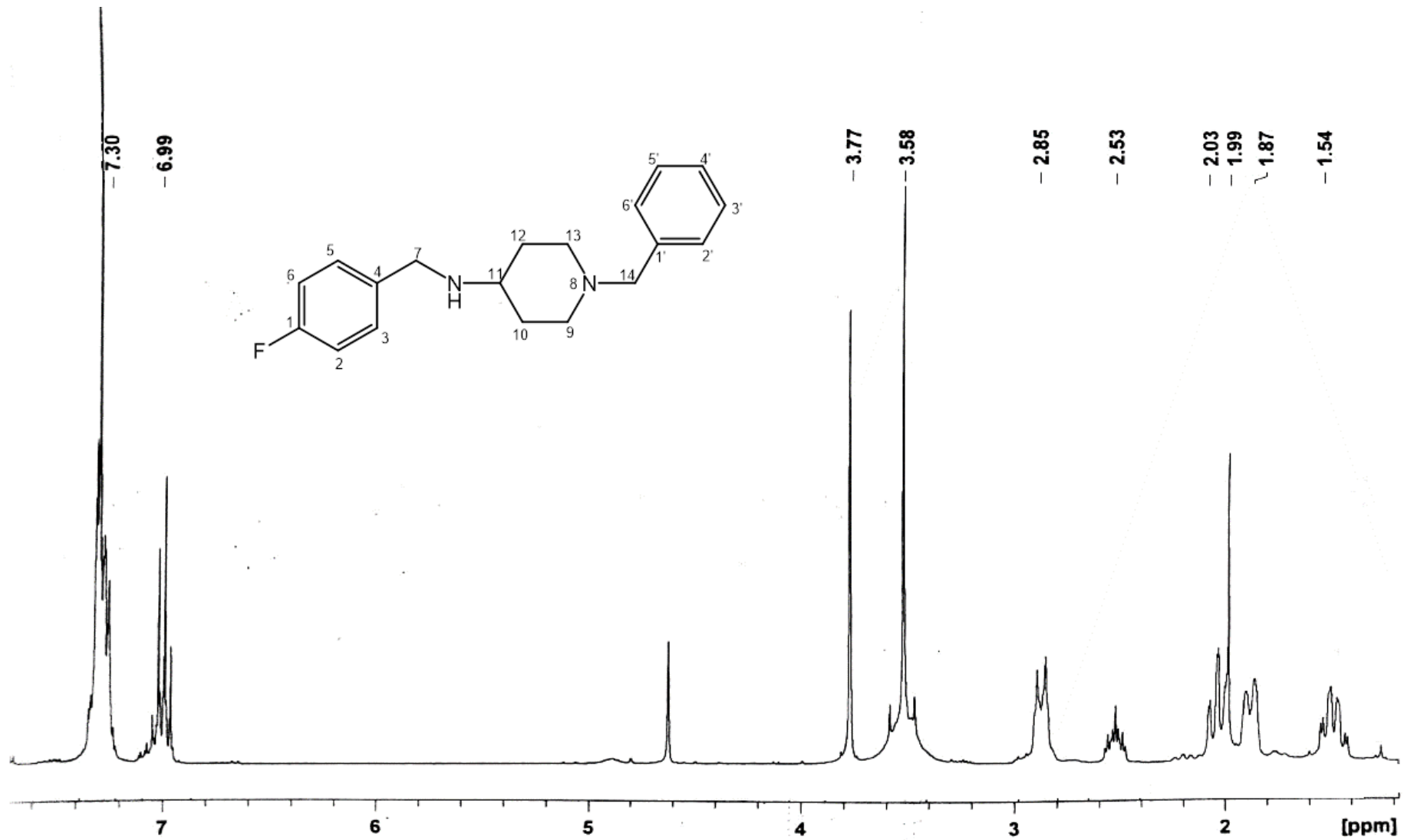
Espectro 10. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) del compuesto **LMH-4**.



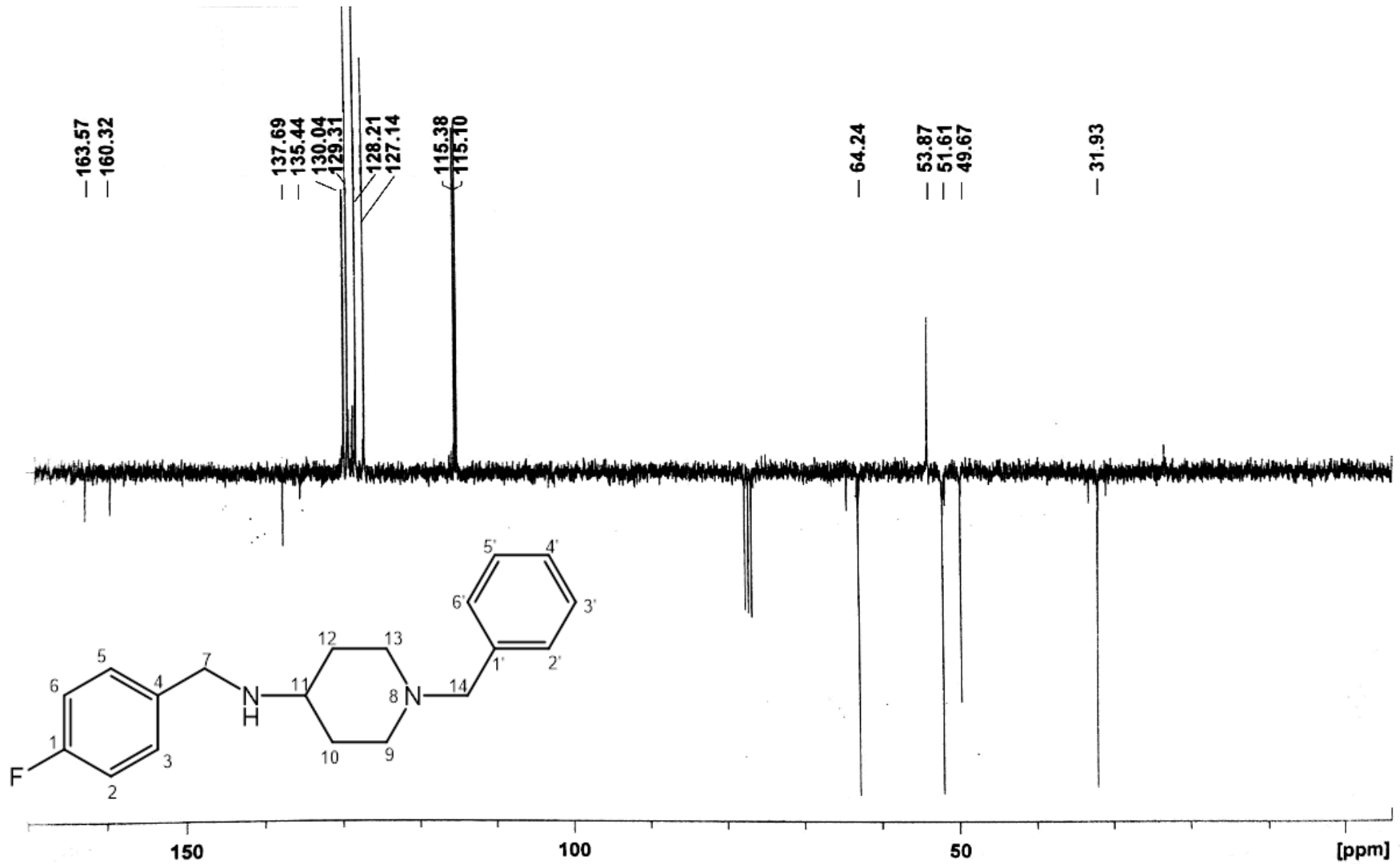
Espectro 11. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) del compuesto LMH-4.



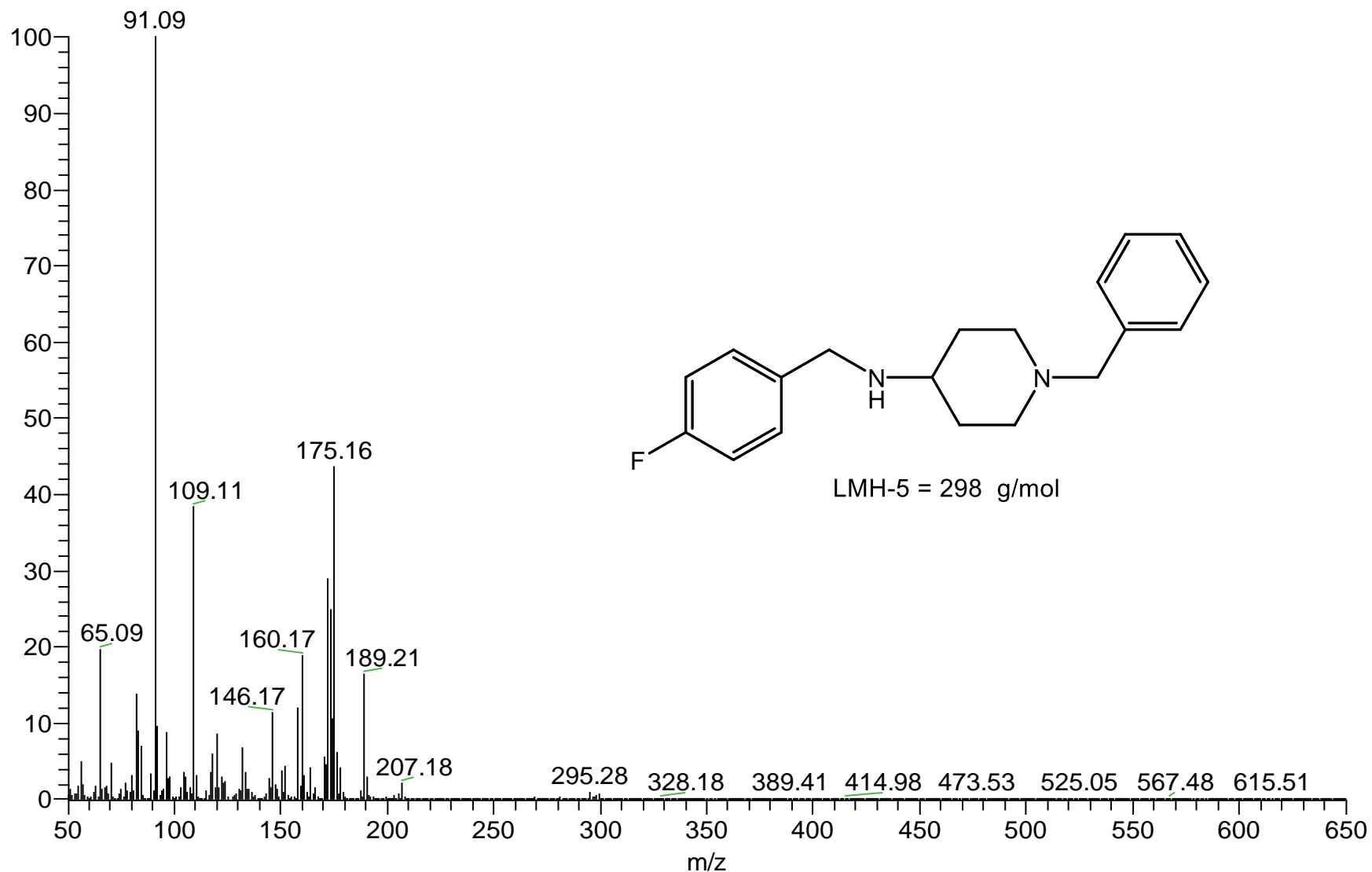
Espectro 12. Espectro de masas (IE) del compuesto **LMH-4**.



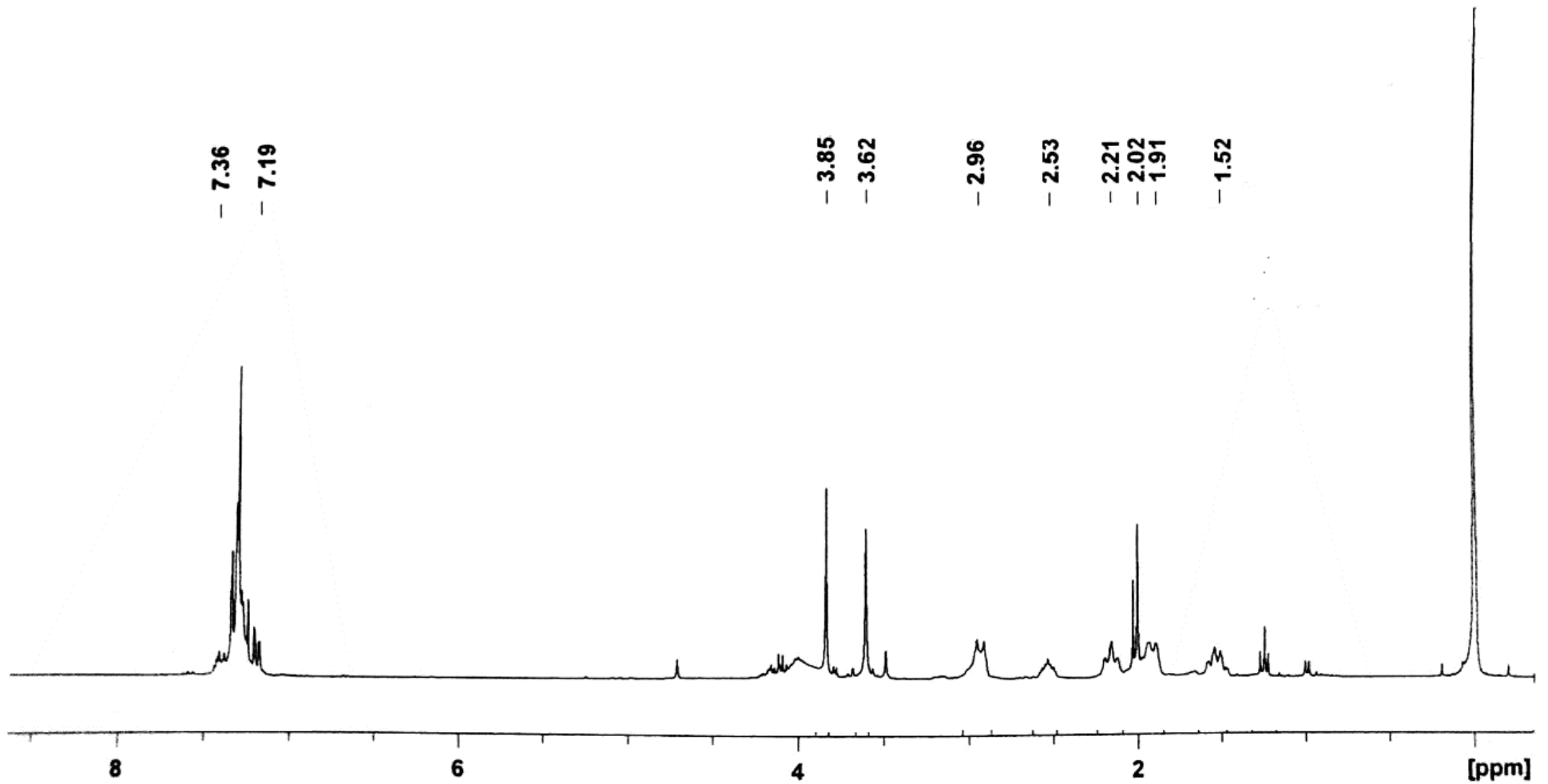
Espectro 13. Espectro de RMN ¹H (400MHz) del compuesto LMH-5.



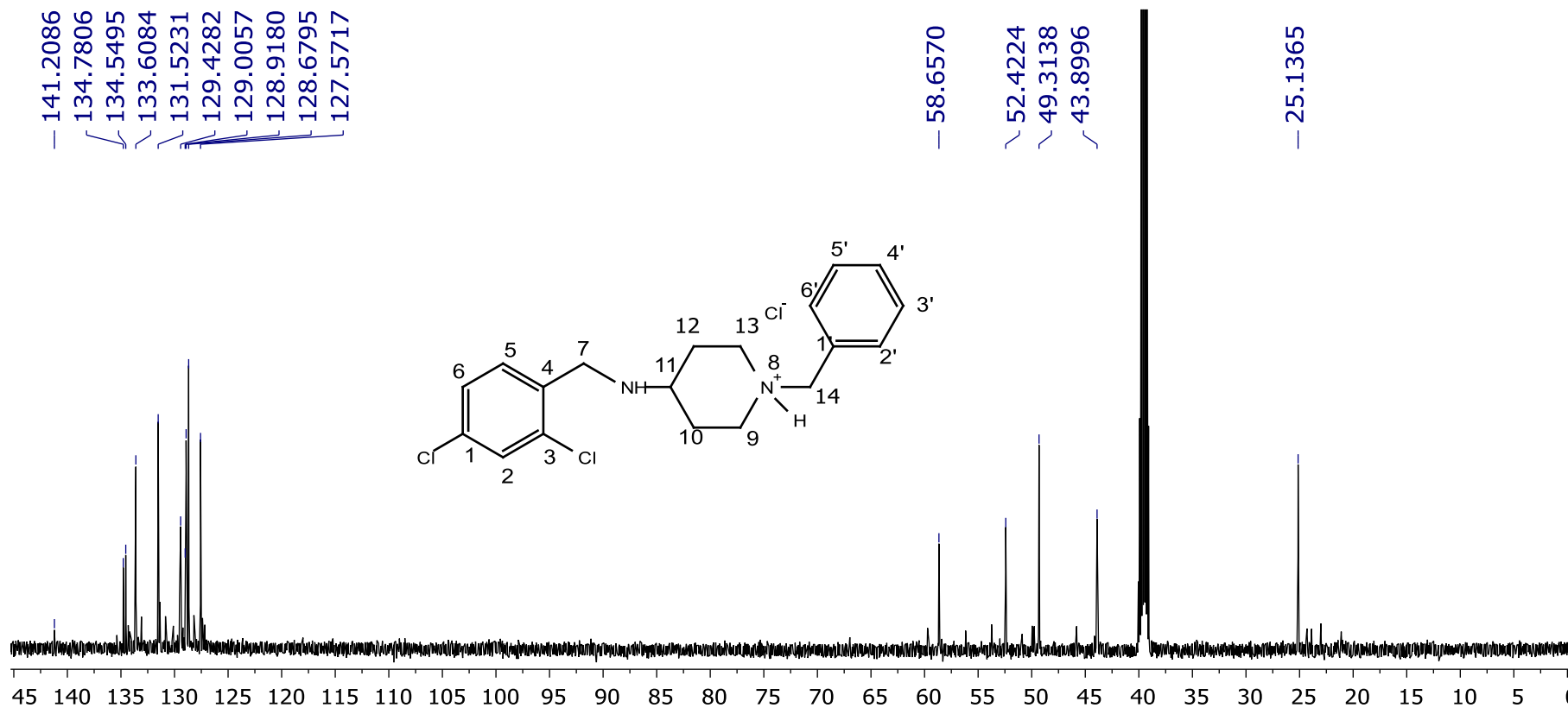
Espectro 14. Espectro de RMN ^{13}C (100MHz) del compuesto LMH-5.



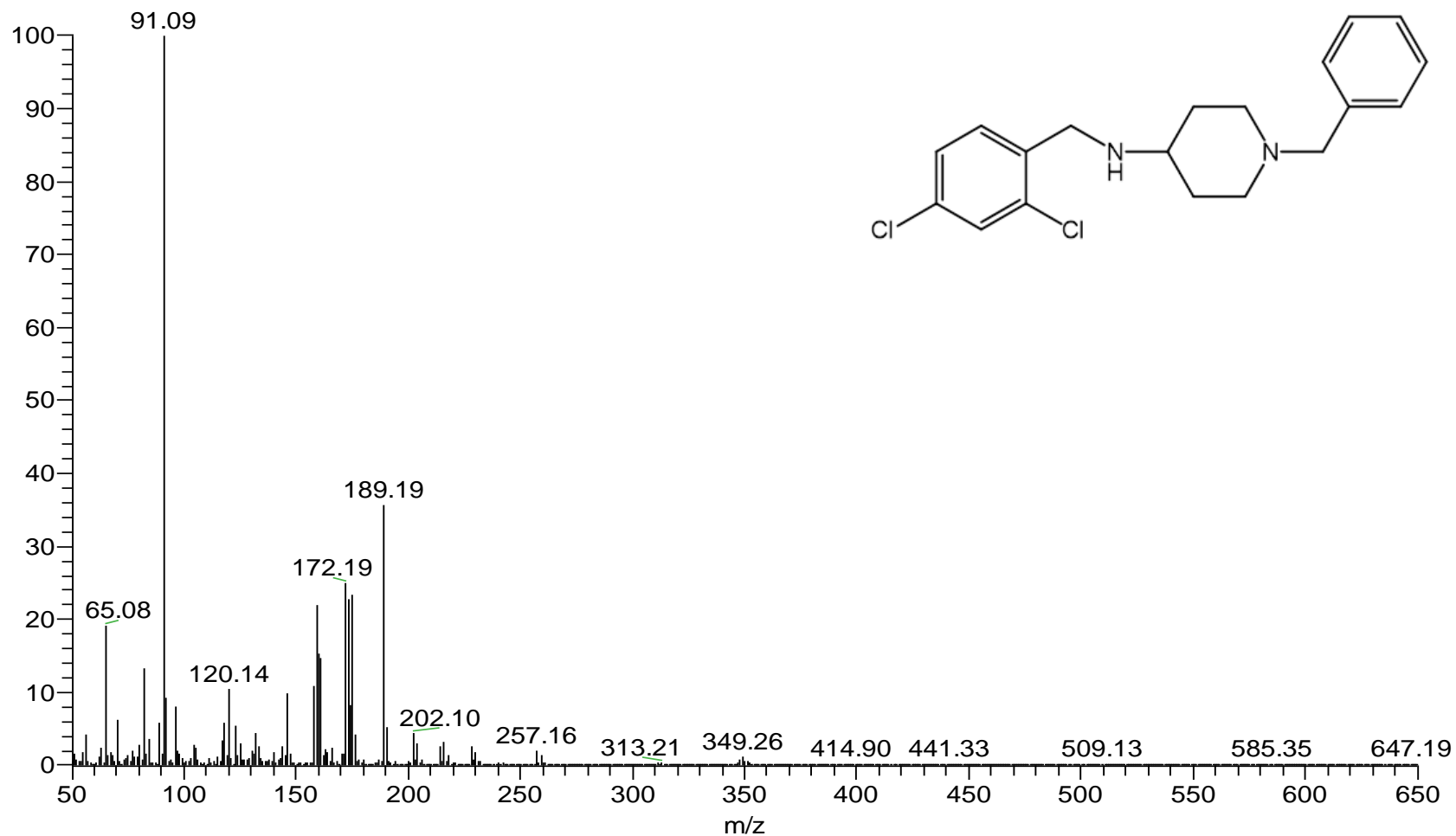
Espectro 15. Espectro de masas (IE) del compuesto **LMH-5**.



Espectro 16. Espectro de RMN ^1H (400MHz) del compuesto **LMH-6**.



Espectro 17. Espectro de RMN ^{13}C (150 MHz) del compuesto LMH-6.



Espectro 18. Espectro de masas (IE) del compuesto **LMH-6**.

13. REFERENCIAS Y FUENTES DE INFORMACIÓN CONSULTADAS

1. Guía de práctica clínica GPC, Tratamiento farmacológico del dolor neuropático en mayores de 18 años, México: Instituto Mexicano del Seguro Social, **2010**.
2. Espinosa-Juárez, J. V.; Jaramillo-Morales, O. A.; López-Muñoz, F. J. Haloperidol decreases hyperalgesia and allodynia induced by chronic constriction injury. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **2017**, 121 (6), 471–479.
3. Internal Association for the Study of Pain. Neuropathic pain <http://www.iasppain.org/Taxonomy?navItemNumber=576#> Revisado el día 2 de agosto **2016**
4. Muriel-Villoria C, Blanco Tarrío Guillermo E, B. P. E. A. Dolor neuropático. Reunión de expertos. *Cátedra Extraordinaria del Dolor Univ. Salamanca* **2002**, 108.
5. Dolor <https://www.dolor.com/dolor-neuropatico.html> Revisado el día 2 de noviembre **2016**.
6. Dworkin, R. H.; Backonja, M.; Rowbotham, M. C.; Allen, R. R.; Argoff, C. R.; Bennett, G. J.; Bushnell, M. C.; Farrar, J. T.; Galer, B. S.; Haythornthwaite, J. A.; Hewitt, D. J.; Loeser, J. D.; Max, M. B.; Saltarelli, M.; Schmader, K. E.; Stein, C.; Thompson, D.; Turk, D. C.; Wallace, M. S.; Watkins, L. R.; Weinstein, S. M. Advances in neuropathic pain. *Arch. Neurol.* **2003**, 60 (11), 1524.
7. Costigan, M.; Scholz, J.; Woolf, C. J. Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. *Annu. Rev. Neurosci.* **2009**, 32 (1), 1–32.
8. Barón, R. Mechanisms of disease: neuropathic pain a clinical perspective. *Nat. Clin. Pract. Neurol.* **2006**, 2 (2), 95–106.
9. Barón, R.; Binder, A.; Wasner, G. Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment. *Lancet neurol.* **2010**, 9 (8), 807–819.
10. Kraychete, D. C.; Sakata, R. K. Neuropatías periféricas dolorosas. *Rev. Bras. Anesthesiol.* **2011**, 61 (5), 641–658.

11. Gottschalk A. New concepts in acute pain therapy: preemptive analgesia. *Am Fam Physician* **2001**; 63(10):1979-84
12. Cerveró, F. Neuroplasticidad y dolor. *Rev. El Dolor* **2008**, 50 (Figura 1), 44–48.
13. Velasco, M. Dolor neuropático. *Rev. Médica Clínica Condes* **2015**, 25 (4), 625–634.
14. Covarrubias-Gómez, A.; Guevara-López, U.; Gutiérrez-Salmerón, C.; Betancourt-Sandoval, J. a; Córdova-Domínguez, J. a. Epidemiología del dolor crónico en México. *Rev. Mex. Anestesiología*. **2010**, 33 (4), 207–213.
15. Correa-Illanes, G. Dolor neuropático, clasificación y estrategias de manejo para médicos generales. *Rev. Médica Clínica Las Condes* **2014**, 25 (2), 189–199.
16. Iglesias, P. B.; Durán, C. C.; Soto, G. N. Q. B. V. G. Dolor neuropático: diagnóstico, mecanismos fisiopatológicos y tratamiento. *El residente* **2011**, 6 (2), 96–104.
17. Ji, R.; Xu, Z.; Gao, Y. Emerging targets in neuroinflammation-driven chronic pain. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2014**, 13 (7), 533–548.
18. Alegre de Miquel, C. Mecanismos periféricos y centrales del dolor. I Simposio de dolor en reumatología. *Reum. Clin* **2006**, 2 (1), 55–66.
19. Del Pozo, E. Fisiopatología del dolor neuropático. *Manual práctico dolor neuropático* **2009**, 15–33.
20. Woolf, C. J. Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain* **2012**, 152 (3 Supplemental), 1–31.
21. Woolf, C. J.; Salter, M. W. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science* **2000**, 288 (5472), 1765–1769.
22. Basbaum, A. I.; Bautista, D. M.; Scherrer, G.; Julius, D. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell* **2009**, 139 (2), 267–284.
23. Flórez, S.; León, M.; Torres, M.; Reyes, F.; Camilo, J. Manejo farmacológico del dolor neuropático; Pharmacological management of neuropathic pain. *Rev. Col. Anest* **2010**, 37 (4), 358–374.

24. Dworkin, R. H.; O'Connor, A. B.; Backonja, M.; Farrar, J. T.; Finnerup, N. B.; Jensen, T. S.; Kalso, E. A.; Loeser, J. D.; Miaskowski, C.; Nurmikko, T. J.; Portenoy, R. K.; Rice, A. S. C.; Stacey, B. R.; Treede, R.-D.; Turk, D. C.; Wallace, M. S. Pharmacologic management of neuropathic pain: evidence-based recommendations. *Pain* **2007**, 132 (3), 237–251.
25. López A, Iturralde F, Clerencia M, G. J. Dolor. *Tratado Geriatría para Resid.* **2006**, capítulo 7, 721–731.
26. Correa-Illanes, G. Dolor neuropático, clasificación y estrategias de manejo para médicos generales. *Rev. Médica Clínica Las Condes* **2014**, 25 (2), 189–199.
27. Pérez, I. Ayuga, F. Dolor neuropático. *Serv. Neurol. del Hosp. Virgen de la Salud de Toledo* **2009**, 5–8.
28. Melo, L. Síntesis de *N*-[2-(morfolin-4-il)etil]-2-(naftalen-1(2)-iloxi)acetamidas y predicción de su afinidad sobre el receptor σ_1 mediante anclaje molecular automatizado, Tesis de Licenciatura en Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, **2015**.
29. Adams, S. E. Molecular similarity and xenobiotic metabolism. Ph. D. Thesis, University, Camdridge, Trinity College, **2010**.
30. Smith, S. B. Introduction to sigma receptors: their role in disease and as therapeutic targets; **2017**; Vol. 964.
31. Huang, Y.-S.; Lu, H.-L.; Zhang, L.-J.; Wu, Z. Sigma-2 receptor ligands and their perspectives in cancer diagnosis and therapy. *Med. Res. Rev.* **2014**, 34 (3), 532–566.
32. Cobos, E.; Entrena, J.; Nieto, F.; Cendan, C.; Pozo, E. Pharmacology and therapeutic potential of sigma1 receptor ligands. *Curr. Neuropharmacol.* **2008**, 6 (4), 344–366.
33. Schmidt, H. R.; Zheng, S.; Gurpinar, E.; Koehl, A.; Manglik, A.; Kruse, A. C. Crystal structure of the human σ_1 receptor. *Nature* **2016**, 532 (7600), 527–530.
34. Katz, J. L.; Hong, W. C.; Hiranita, T.; Su, T.; Sections, C. P.; Services, H. A Role for σ Rs in stimulant self-administration and addiction. *HHS Public Access* **2017**, 27, 100–115.

35. Hayashi, T. Conversion of psychological stress into cellular stress response: Roles of the sigma-1 receptor in the process. *Psychiatry Clin Neurosci*, **2015**, 69: 179–19
36. Kourrich, S.; Su, T.-P.; Fujimoto, M.; Bonci, A. The sigma-1 receptor: roles in neuronal plasticity and disease. *Trends Neurosci*. **2012**, 35 (12), 762–771.
37. Shenuarin, B.; Fukunaga, K. Targeting sigma-1 receptor signaling by endogenous ligands for cardioprotection. *Expert Opin*. **2011**, 145–155.
38. Vela, J. M.; Merlos, M.; Almansa, C. Investigational sigma-1 receptor antagonists for the treatment of pain. *Expert Opin. Investig. Drugs* **2015**, 1–14.
39. García-Martínez, B. A.; Jaramillo-Morales, O. A.; Espinosa-Juárez, J. V.; Navarrete-Vázquez, G.; Melo-Hernández, L. A.; Medina-López, J. R.; Domínguez-Ramírez, A. M.; Schepmann, D.; Wünsch, B.; López-Muñoz, F. J. Antinociceptive effects of a new sigma-1 receptor antagonist (*N*-(2-morpholin-4-yl-ethyl)-2-(1-naphthyloxy)acetamide) in two types of nociception. *Eur. J. Pharmacol*. **2016**, 771, 10–17.
40. Navarrete-Vázquez, G.; Austrich-Olivares, A.; Godínez-Chaparro, B.; Hidalgo-Figueroa, S.; Estrada-Soto, S.; Hernández-Núñez, E.; Torres-Gómez, H.; Schepmann, D.; Wünsch, B. Discovery of 2-(3,4-Dichlorophenoxy)-*N*-(2-morpholin-4-ylethyl)acetamide: a selective σ_1 receptor ligand with antinociceptive effect. *Biomed. Pharmacother*. **2016**, 79 (April), 284–293.
41. Granger, B. [The discovery of haloperidol]. *Encephale*. **1999**, 25 (1), 59–66.
42. Drugbank-Haloperidol <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00502> revisado el 5 de noviembre del **2017**
43. Cobos, E. J.; Pozo, E. Del; Baeyens, J. M. Irreversible blockade of sigma-1 receptors by haloperidol and its metabolites in guinea pig brain and sh-sy5y human neuroblastoma cells. *J. Neurochem*. **2007**, 102 (3), 812–825.
44. Bowen, W. Moses E, Tolentino, P. Walke, r J. Metabolites of haloperidol display preferential activity at σ receptors compared to dopamine D₂ receptors. *Eur. J. Pharmacol*. **1990** 177 pp 111-118.
45. Espinoza, J. “Caracterización del efecto anti-nociceptivo de un nuevo antagonista de los receptores sigma-1 y análisis de asociaciones de

- antagonistas sigma-1 con quercetina en un modelo de dolor neuropático”, Tesis de Doctorado en Ciencias, Centro de Investigación y Estudios Avanzados. **2018**
46. Austrich-Olivares, A. “Diseño, síntesis y evaluación in combo del compuesto 2-(3,4-diclorofenoxi)-N-(2-morfolin-4-iletíl)acetamida como ligando del receptor sigma-1 para el tratamiento experimental del dolor”, Tesis de Licenciatura en Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, **2015**.
47. Glennon, R. Pharmacophore Identification for Sigma-1 (σ1) Receptor binding: application of the “deconstruction - reconstruction - elaboration” approach. *Mini- Rev. Med. Chem.* **2005**, 5 (10), 927–940
48. Di, L. Kerns, E. Drug-Like properties: concepts, structure design and methods from adme to toxicity optimization, Academic Press, New York. 2008. ISBN 978-0-1236-9520-8. *J. Med. Chem.* **2008**, 51 (20), 6619–6619
49. Molinspiration. <http://www.molinspiration.com> Revisado el 2 de agosto del 2017
50. Swiss target prediction. <http://www.swisstargetprediction.ch/> Revisado el 2 de agosto del **2017**
51. Gatnik, M. F. Review of software tools for toxicity prediction. **2010**, 1–22
52. Organic-chemistry. Osiris <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>. Revisado el 10 de agosto del **2017**
53. Organic-chemistry. Drug likeness <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/druglikeness.html>. Revisado el 10 de agosto del **2017**
54. Organic-chemistry. DrugScore <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/drugScore.html>. Revisado el 10 de agosto **2017**
55. Adams, S. E. Molecular similarity and xenobiotic metabolism. Ph. D. Thesis, University, Camdridge, Trinity College, **2010**.
56. Metaprint. Metabolic . <http://www-metaprint2d.ch.cam.ac.uk/> Revisado el 12 de agosto del 2017
57. 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.

58. Gibaldi M. Estimation of area under the curve. in: philadelphia, editor. biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics. 4th. ed. 1991. p. 377–378.
59. Goodsell, D. S.; Olson, A. J. Automated docking of substrates to proteins by simulated annealing. *Proteins* **1990**, 8, 195-202.
60. Molecular operating environment (MOE), 2013.08; Chemical computing group ULC, 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, **2017**.
61. The PyMOL molecular graphics system, version 2.0 Schrödinger, LLC. <https://pymol.org/2/>
62. Protein data bank. <https://www.rcsb.org/structure/5hk2>. Revisado el 20 de junio del **2016**
63. The ChemBioOffice, version 12 cambridgesoft, <http://www.cambridgesoft.com/support/ProductHomePage.aspx?KBCatID=109>
64. Santos, L.; López, E.; Feltrinelli, M. Acoplamiento 13C-19F (JC-F): Sensibilidad y especificidad en la detección de flúor en principios activos farmacéuticos. 5° *Jornadas desarrollo e innovación* **2004**, 13–14.
65. OECD. acute oral toxicity – acute toxic class method. *Oecd Guidel. Test. Chem.* **2001**, No. December, 1–14.
66. Nava-Zuazo, C. Diseño y síntesis de híbridos 2-acilamino con 5-nitrotiazol/benzotiazol como agentes antiprotozoarios: estudios in silico, in vitro y análisis de eficiencia del ligando, Tesis de Doctorado en Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, **2014**.
67. Abad-Zapatero, C. The variables. Ligand efficient indices. *Drug Discov.* **2013**, 21–36.
68. Velvadapu, V.; Farmer, B. T.; Reitz, A. B. Fragment-based drug discovery. *Pract. Med. Chem.* **2015**, 161–180.
69. Abad-Zapatero, C. Fragment-based strategies ligand efficient índices. *Drug Discov.* **2013**, 81–89.

70. Schultes, S.; De Graaf, C.; Haaksma, E. E. J.; De Esch, I. J. P.; Leurs, R.; Krämer, O. Ligand efficiency as a guide in fragment hit selection and optimization. *Drug Discov. Today Technol.* **2010**, 7 (3), 157–162.
71. De la O-Arciniega, M.; Díaz-Reval, M. I.; Cortés-Arroyo, A. R.; Domínguez-Ramírez, A. M.; López-Muñoz, F. J. Antinociceptive synergism of morphine and gabapentin in neuropathic pain induced by chronic constriction injury. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2009**, 92 (3), 457–464.
72. Corona-Ramos, J. N.; De la O-Arciniega, M.; Déciga-Campos, M.; Medina-López, J. R.; Domínguez-Ramírez, A. M.; Jaramillo-Morales, O. A.; Espinosa-Juárez, J. V.; López-Muñoz, F. J. The antinociceptive effects of tramadol and/or gabapentin on rat neuropathic pain induced by a chronic constriction injury. *Drug Dev. Res.* **2016**, 77 (5), 217–226.
73. Déciga-Campos, M.; Ortiz-Andrade, R.; Sanchez-Recillas, A.; Flores-Guido, J. S.; Ramírez Camacho, M. A. Antinociceptive and antihyperalgesic activity of a traditional maya herbal preparation composed of pouteria campechiana, chrysophyllum cainito, citrus limonum, and annona muricata. *Drug Dev. Res.* **2017**, 78 (2), 91–97.
74. Miki, K.; Iwata, K.; Tsuboi, Y.; Morimoto, T.; Kondo, E.; Dai, Y.; Ren, K.; Noguchi, K. Dorsal column-thalamic pathway is involved in thalamic hyperexcitability following peripheral nerve injury: a lesion study in rats with experimental mononeuropathy. *Pain* **2000**, 85 (1–2), 263–271.
75. Sun, H.; Ren, K.; Zhong, C. M.; Ossipov, M. H.; Malan, T. P.; Lai, J.; Porreca, F. Nerve injury-induced tactile allodynia is mediated via ascending spinal dorsal column projections. *Pain* **2001**, 90 (1–2), 105–111.
76. Sung, B.; Na, H. S.; Kim, Y. I.; Yoon, Y. W.; Han, H. C.; Nahm, S. H.; Hong, S. K. Supraspinal involvement in the production of mechanical allodynia by spinal nerve injury in rats. *Neurosci. Lett.* **1998**, 246 (2), 117–119.
77. Ossipov, M. H.; Hong Sun, T.; Malan, P.; Lai, J.; Porreca, F. Mediation of spinal nerve injury induced tactile allodynia by descending facilitatory pathways in the dorsolateral funiculus in rats. *Neurosci. Lett.* **2000**, 290 (2), 129–132.
78. Bridges, D.; Thompson, S.; Rice, A. Mechanisms of neuropathic pain. *Nervenheilkunde* **2004**, 23 (5), 251.

79. Jergova, S. Neuropathic pain following nerve injury. In *Basic Principles of Peripheral Nerve Disorders*; InTech, 2012.
80. Schläger, T.; Schepmann, D.; Lehmkuhl, K.; Holenz, J.; Vela, J. M.; Buschmann, H.; Wünsch, B. Combination of two pharmacophoric systems: synthesis and pharmacological evaluation of spirocyclic pyranopyrazoles with high σ 1 receptor affinity. *J. Med. Chem.* **2011**, *54* (19), 6704–6713.
81. Parenti, C.; Marrazzo, A.; Aricò, G.; Parenti, R.; Pasquinucci, L.; Ronsisvalle, S.; Ronsisvalle, G.; Scoto, G. M. The antagonistic effect of the sigma 1 receptor ligand (+)-mr200 on persistent pain induced by inflammation. *Inflamm. Res.* **2014**, *63* (3), 231–237.
82. Bourgeois, C.; Werfel, E.; Galla, F.; Lehmkuhl, K.; Torres-Gómez, H.; Schepmann, D.; Kögel, B.; Christoph, T.; Straßburger, W.; Englberger, W.; Soeberdt, M.; Hüwel, S.; Galla, H.-J.; Wünsch, B. Synthesis and pharmacological evaluation of 5-pyrrolidinylquinoxalines as a novel class of peripherally restricted κ -opioid receptor agonists. *J. Med. Chem.* **2014**, *57* (15), 6845–6860.
83. Cendán, C. M.; Pujalte, J. M.; Portillo-Salido, E.; Baeyens, J. M. Antinociceptive effects of haloperidol and its metabolites in the formalin test in mice. *Psychopharmacology (Berl)*. **2005**, *182* (4), 485–493.
84. Nishikawa, N.; Nomoto, M. Management of neuropathic pain. *J. Gen. Fam. Med.* **2017**, *18* (2), 56–60.
85. Serpell, M.; Latymer, M.; Almas, M.; Ortiz, M.; Parsons, B.; Prieto, R. Neuropathic pain responds better to increased doses of pregabalin: an in-depth analysis of flexible-dose clinical trials. *J. Pain Res.* **2017**, *Volume 10*, 1769–1776



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS



Secretaría de Innovación, Ciencia y Tecnología

La Universidad Autónoma del Estado de Morelos a través de la Facultad de Farmacia otorga la presente

CONSTANCIA

a: **Melo-Hernández, Luis Alberto; Déciga-Campos, Myrna; Torres-Gómez, Héctor; Wünsch, Bernhard; Schepmann, Dirk; Navarrete-Vázquez, Gabriel**

Por su participación en la presentación de trabajo libre en la modalidad de cartel con el título: **SÍNTESIS Y EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTINOCEPTIVO DE BENZAMIDAS PIPERIDINICAS Y MORFOLÍNICAS**

durante el **12° 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»



MT04478

Sello Digital:

U09DMM1cF4FmCfP6Kx6bWams3u8WcaIxxXI+JmNinJUSVTPfMqps+788hdRp287KrrmKCUfL84XaKdLReIz3M377P6KdngTYVILcPp7y0BfJd4fcD1c6BcFPBwTfW6P/17C8H8QLQsp/1U8H1U8bMaNc0N0Nc28BcCLL8Byk1d1N-

Cuernavaca, Morelos, México





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



a: *Luis Alberto Melo Hernández*

Por haber obtenido el 2do. LUGAR en la categoría de maestría,

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

«SÍNTESIS Y EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO
DE BENZAMIDAS PIPERIDÍNICAS Y MORFOLÍNICAS»,

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»



Dr. Efrén Hernández Baltazar
Director de la Facultad de Farmacia

Cuernavaca, Morelos, México





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

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




Hace constar que el:

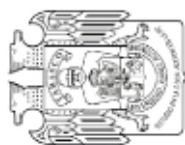
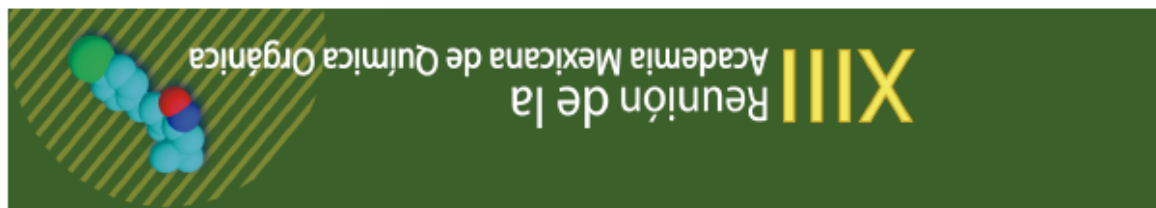
L. F. Luis Alberto Melo Hernández

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

"SÍNTESIS Y EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTINOCICEPTIVO DE BENZAMIDAS PIPERIDÍNICAS Y MORFOLÍNICAS".

Cuernavaca, Morelos a 13 de febrero de 2017.


Dr. Efraín Hernández Baltazar
Director de la Facultad de Farmacia



La Academia Mexicana de Química Orgánica



otorga la presente

CONSTANCIA

a:

**Luis Melo Hernández, Myrna Déciga Campos, Héctor Torres-Gómez,
Bernhard Wünsch, Dirk Schepmann y Gabriel Navarrete Vázquez**

Por presentar el cartel:

**“Síntesis de benzamidas piperidínicas análogos de haloperidol y su afinidad
in vitro e *in silico* sobre el receptor σ_1 ”**

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.

Willahermosa, Tabasco, a 6 de abril de 2017.



Dr. J. Martín Torres Valencia
Presidente de la AMQO

AMQO17-C25



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Química



Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

A:
Luis Alberto Melo Hernández

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:

Síntesis de benzamidas piperidinicas análogas de haloperidol y su afinidad in vitro e in silico sobre el receptor $\sigma 1$

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

"Por mi raza hablará el espíritu"

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



Dr. Alfonso Sebastián Lira Rocha
Comité Organizador



Dr. Andrés Navarrete Castro
Jefe del Departamento de Farmacia