



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

**SÍNTESIS Y EVALUACIÓN ANTIDIABÉTICA
DE HIDANTOÍNAS Y BIOISÓSTEROS
ÁCIDOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MAESTRO EN FARMACIA

P R E S E N T A

LF. THALIA DELGADO AGUILAR

DIRECTORES DE TESIS:

Dr. JUAN GABRIEL NAVARRETE VÁZQUEZ

Dr. JULIO CÉSAR RIVERA LEYVA



CUERNAVACA, MORELOS 2019

INDICE DE CONTENIDO

ABREVIATURAS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	X
ÍNDICE DE ESPECTROS	XII
ÍNDICE DE GRÁFICOS	XII
ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS	XIII
RESUMEN	XV
ABSTRACT	XVI
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Definición y estadísticas.....	3
2.2 Clasificación de la Diabetes	5
2.3 Diagnóstico de la diabetes mellitus tipo 2	6
2.4 Complicaciones de la DM2.....	6
2.5 Fisiopatología de la DM2.....	7
2.5.1 Resistencia a la insulina	7
2.5.2 Deterioro en la función de las células β pancreáticas.....	8
2.6 Tratamiento de la DM2.....	8
2.6.1 Biguanidas.....	9
2.6.2 Sulfonilureas.....	9
2.6.3 Glinidas.....	10
2.6.4 Inhibidores de la α -glucosidasa	11
2.6.5 Tiazolidindionas	11
2.6.6 Análogos de amilina	12
2.6.7 Inhibidores de la DPP-4.....	12
2.6.8 Agonistas de GLP-1.....	13
2.6.9 Glifozinas.....	14
2.7 Dianas terapéuticas novedosas en la DM2	15
2.7.1 PTP-1B.....	15
2.7.2 Aldosa reductasa	17
2.7.3 GPR-40.....	19

2.8	Hidantoínas biológicamente activas	21
3.	JUSTIFICACIÓN	23
4.	HIPÓTESIS.....	24
5.	OBJETIVOS	24
6.	CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO MOLECULAR	25
7.	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	30
7.1	Parte química	31
7.2	Síntesis química	32
7.2.1	Metodología para la síntesis general de los compuestos THA 1-3	32
7.2.2	Metodología para la síntesis general de los compuestos THA 4-5	33
7.2.3	Caracterización estructural de los compuestos precursores y compuestos finales	33
7.3	Parte <i>in silico</i>	34
7.3.1	admetSAR	34
7.3.2	PASS online	34
7.3.3	ACD/Tox suite.....	35
7.3.4	DIA-DB	36
7.3.5	SwissTargetPrediction	36
7.3.6	Acoplamiento molecular	37
7.4	Parte <i>in vivo</i>	40
7.4.1	Evaluación biológica en un modelo murino no insulino-dependiente.	40
8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
8.1	Parte química	41
8.1.1	Síntesis de 4'-((4-formilfenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo (THA-11)	41
8.1.2	Síntesis de 4-(naftalen-1-ilmetoxi)benzaldehído (THA-12).....	41
8.1.3	Síntesis del 4-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)benzaldehído (THA-13).....	42
8.1.4	Síntesis del 4'-((4-((2,5-dioximidazolidin-4-iliden)metil)fenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo (THA-1).....	42
8.1.5	Síntesis del 5-(4-(naftalen-1-ilmetoxi)benciliden)imidazolidin-2,4-diona (THA-2)	43
8.1.6	Síntesis del 5-(4-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)benciliden)imidazolidin-2,4-diona (THA-3)	43

8.1.7	Síntesis del 4'-((4-((2,2-dimetil-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5iliden)metil)fenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo (THA-4).....	44
8.1.8	Síntesis del 2,2-dimetil-5-(4-(naftalen-1-ilmetoxi)benciliden)-1,3-dioxan-4,6-diona (THA-5).....	44
8.1.9	Identificación y caracterización estructural de los compuestos sintetizados.....	46
8.2	Parte <i>in silico</i>	63
8.2.1	admetSAR.....	63
8.2.2	PASS online.....	64
8.2.3	ACD/Tox suite.....	66
8.2.4	DIA-DB.....	69
8.2.5	SwissTargetPrediction.....	71
8.2.6	Acoplamiento molecular refinado.....	71
8.2.7	Análisis de consenso farmacológico.....	85
8.3	Parte <i>in vivo</i>	87
8.3.1	Evaluación <i>in vivo</i> del efecto antidiabético del compuesto THA-1	87
8.3.2	Evaluación <i>in vivo</i> del efecto antidiabético del compuesto THA-4	88
9.	CONCLUSIONES	89
10.	PERSPECTIVAS	90
11.	PARTE EXPERIMENTAL	91
11.1	Instrumentación.....	91
11.2	Cromatografía.....	91
11.3	Parte química.....	92
11.3.1	Síntesis del producto final THA-1	92
11.3.2	Síntesis del producto final THA-2	93
11.3.3	Síntesis del producto final THA-3	94
11.3.4	Síntesis del producto final THA-4	95
11.3.5	Síntesis del producto final THA-5	96
11.3.6	Síntesis del precursor THA-11	97
11.3.7	Síntesis del precursor THA-12	98
11.3.8	Síntesis del precursor THA-13	99
12.	ESPECTROS	100
13.	ANEXOS	113

14. BIBLIOGRAFÍA..... 114

ABREVIATURAS

AKR	Aldosa Reductasa
AKT	Proteína quinasa
ATP	Adenosin Trifosfato
CCF	Cromatografía en Capa Fina
cLogP	Logaritmo del coeficiente de partición calculado
CYP450	Citocromo P 450
d	doblete
DAG	Diacilglicerol
dd	doble de dobles
DDP-4	Dipeptilpeptidasa 4
DE ₅₀	Dosis Efectiva media
DL ₅₀	Dosis Letal media
DM	Diabetes Mellitus
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
dt	doble de triples
EC ₅₀	Concentración efectiva media
EM	Espectrometría de Masas
FDA	Food and Drug Administration
FFA-1	Receptor de ácidos grasos libres 1
FFAs	Ácidos grasos libres
FID	Federación Internacional de Diabetes
g	gramo
GAA	Glucosa Anormal en Ayunas
GDP/GTP	Guanosín difosfato/Guanosín trifosfato
GIP	Polipéptido Insulinotrópico Dependiente de Glucosa
GLP-1	Péptido Análogo del Glucagón
GLUT-4	Transportador de Glucosa-4
GPCR	Receptores acoplados a proteína G
GPR-40	Receptor acoplado a proteína G
GSK-3	Glucocinasa 3
hERG	<i>Human ether-a-go-go-related gen</i>
HTS	High throughput screening
IC ₅₀	Concentración Inhibitoria media
IE	Impacto Electrónico
IL-6	Interleucina 6
IP ₃	Inositol 1,4,5-trifosfato
IR	Receptor de Insulina
IRS	Sustrato del receptor de insulina
ITG	Intolerancia a la Glucosa
J	Constante de Acoplamiento
Ki	Constante de inhibición
LogD _{7.4}	Logaritmo de distribución a pH 7.4

m	multiplete
m/z	Relación masa/carga
mg/dL	Miligramo por decilitro
miLogP	Logaritmo del coeficiente de partición calculado por molinspiration
MODY	Diabetes de la edad madura que se presenta en el joven
NAD ⁺	Dinucleótido de nicotinamida y adenina
NADH	Dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
nOHNH	Número de donadores de puentes de hidrógeno
nON	Número de aceptores de puentes de hidrógeno
OECD	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico
OMS	Organización Mundial de la Salud
Pa	Probabilidad de actividad
PDK1	Proteína Kinasa Dependiente de Fosfoinosítido 1
PF	Punto de fusión
Pi	Probabilidad de inactividad
PI3K	Fosfatidilinositol 3-kinasa
PIP ₂	Fosfatidilinositol 4,5-bifosfato
PIP ₃	Fosfatidilinositol Trifosfato
pKa	Logaritmo de la constante de ionización
PLC	Fosfolipasa C
PM	Peso Molecular
PPAR- γ	Receptor Activado de Proliferador de Peroxisoma gamma
ppm	partes por millón
PTGO	Prueba de Tolerancia a la Glucosa Oral
PTP-1B	Proteintirosinfosfatasa 1B
QSAR	Relación estructura-actividad cuantitativa
RI	Resistencia a la insulina
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMSD	Desviación de la raíz cuadrada media de las posiciones atómicas
s	señal simple
SGLT-2	Cotransportador sodio-glucosa 2
S _N 2	Sustitución nucleofílica bimolecular
SUR-1	Receptor de sulfonilurea 1
t	triplete
T	Temperatura
TNF	Factor de Necrosis Tumoral
TPSA	Área total polar superficial
TZD	Tiazolidindiona

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Número estimado de población con DM por región en 2017 y su proyección para el 2045 ²	4
Figura 2. Prevalencia de diagnóstico médico previo de diabetes por sexo y edad ENSANUT 2006, ENSANUT 2012 y ENSANUT MC 2016 ⁸	4
Figura 3. Biguanidas.....	9
Figura 4. Sulfonilureas.....	10
Figura 5. Glinidas	10
Figura 6. Inhibidores de la α -glucosidasa	11
Figura 7. Tiazolidindionas.....	12
Figura 8. Pramlintida, análogo de amilina	12
Figura 9. Inhibidores de la DPP-4.....	13
Figura 10. Inhibidores de GLP-1.....	14
Figura 11. Glifozinas.....	15
Figura 12. Vía de señalización de insulina donde participa PTP-1B (modificado) ²⁹	16
Figura 13. Moléculas desarrolladas en nuestro grupo de trabajo con actividad inhibitoria sobre PTP-1B	17
Figura 14. Vía de los polioles (modificado) ³⁹	18
Figura 15. Algunos inhibidores de aldosa reductasa	19
Figura 16. Mecanismo de liberación de insulina mediado por GPR-4 ⁴⁴	20
Figura 17. Algunos agonistas de GPR-40	21
Figura 18. Fármacos que contienen el anillo de hidantoína	22
Figura 19. Comparación de estructuras entre la molécula 1 y los compuestos THA 1-3	22
Figura 20. Moléculas utilizadas para el diseño de los compuestos THA 1-5 , AMG837 (izquierda) y sorbinilo (derecha).....	25
Figura 21. Farmacóforo unificado para compuestos antidibéticos.....	26
Figura 22. Moléculas sintetizadas en nuestro grupo de trabajo utilizadas en el diseño de lo compuestos THA 1-5	27
Figura 23. Programa Molinspiration Cheminformatics online (http://www.molinspiration.com/)	28
Figura 24. Análisis retrosintético para las moléculas THA 1-3	31
Figura 25. Análisis retrosintético para las moléculas THA 4-5	31
Figura 26. Síntesis general de los compuestos de tipo hidantoína (THA 1-3).....	32
Figura 27. Síntesis de los compuestos de tipo bioisómeros ácidos (THA 4-5).....	33
Figura 28. Interfaz de admetSAR	34
Figura 29. Página web de PASS online.....	35
Figura 30. Programa ACD/Tox suite.....	35
Figura 31. Servidor web DIA-DB	36
Figura 32. Página web de SwissTargetPrediction	37
Figura 33. Programa Autodock vina	39

Figura 34. Programa MOE.....	39
Figura 35. Síntesis del precursor THA-11	41
Figura 36. Síntesis del precursor THA-12	42
Figura 37. Síntesis del precursor THA-13	42
Figura 38. Síntesis del compuesto final THA-1	43
Figura 39. Síntesis del compuesto final THA-2	43
Figura 40. Síntesis del compuesto final THA-3	44
Figura 41. Síntesis del compuesto final THA-4	44
Figura 42. Síntesis del compuesto final THA-5	45
Figura 43. Estructura molecular de THA-5 obtenida por difracción de rayos X de monocristal.....	61
Figura 44. Dímeros generados por las interacciones tipo π - π entre los átomos C4A y C8A con H14 y las interacciones entre los átomos O1-H15 (líneas punteadas azules)	63
Figura 45. Mapa 2D del sitio de unión de C0A con PTP-1B.....	72
Figura 46. Mapa 2D del sitio de unión de 4G7 con Aldosa reductasa ⁷²	75
Figura 47. Mapa 2D del sitio de unión de TAK-875 con GPR-40 ⁷³	77

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de bioisómeros ácidos	25
Tabla 2. Propiedades de los compuestos finales calculados en el programa Molinspiration	29
Tabla 3. Características fisicoquímicas de los compuestos sintetizados	45
Tabla 4. Desplazamientos químicos de los compuestos THA 1-3	53
Tabla 5. Desplazamientos químicos de los compuestos THA 4-5	58
Tabla 6. Datos cristalográficos del compuesto THA-5	61
Tabla 7. Geometría de las interacciones intramoleculares de THA-5	62
Tabla 8. Parámetros del refinamiento de la estructura cristalina	62
Tabla 9. Resultados de admetSAR para los compuestos THA 1-5	64
Tabla 10. Resultados del espectro de actividad de los compuestos THA 1-5 dados por PASS online	65
Tabla 11. Resultados del espectro de actividad del metabolito activo los compuestos THA 4-5 dados por PASS online.....	66
Tabla 12. Probabilidad de bloqueo de los canales hERG de los compuestos THA 1-5	67
Tabla 13. Predicción de la inhibición de algunas isoformas del CYP 450 para los compuestos THA 1-5 ($IC_{50} < 10\mu M$).....	68
Tabla 14. Toxicidad aguda en rata y ratón.....	68
Tabla 15. Scores de unión dados por DIA-DB para los compuestos THA 1-5	69
Tabla 16. Scores de unión dados por DIA-DB para los metabolitos de THA 4a-5a	70
Tabla 17. Predicción del blanco terapéutico dado por SwissTargetPrediction para los compuestos THA 1-3 y THA 4a-5a	71
Tabla 18. Scores de unión y constantes de afinidad del acoplamiento molecular entre PTP-1B con THA 1-3 y THA4a-5a	73
Tabla 19. Diagramas de interacción en 2D de los compuestos THA 1-3 y THA 4a- 5a con la enzima PTP-1B.....	73
Tabla 20. Scores de unión y constantes de afinidad del acoplamiento molecular entre Aldosa Reductasa con THA 1-3 y THA 4a-5a	75
Tabla 21. Diagramas de interacción en 2D de los acoplamientos moleculares entre Aldosa Reductasa con THA 1-3 y THA 4a-5a	76
Tabla 22. Scores de unión y constantes de afinidad del acoplamiento molecular entre GPR-40 con THA 1-3 y THA 4a-5a	77
Tabla 23. Diagramas de interacción en 2D de los acoplamientos moleculares entre GPR-40 y THA 1-3 y THA 4a-5a	78
Tabla 24. Scores de unión y constantes de afinidad del acoplamiento molecular entre PTP-1B con THA 1-3 y THA 4a-5a	79
Tabla 25. Diagramas de interacción en 2D de los acoplamientos moleculares entre PTP-1B con THA 1-3 y THA 4a-5a	80

Tabla 26. Scores de unión y constantes de afinidad del acoplamiento molecular entre Aldosa Reductasa con THA 1-3 y THA 4a-5a	81
Tabla 27. Diagramas de interacción en 2D de los acoplamientos moleculares entre AKR con THA 1-3 y THA 4a-5a	82
Tabla 28. Scores de unión y constantes de afinidad del acoplamiento molecular entre GPR-40 con THA 1-63 y THA 4a-5a	83
Tabla 29. Diagramas de interacción en 2D de los acoplamientos moleculares entre GPR-40 con THA 1-3 y THA 4a-5a	83
Tabla 30. Tabla de análisis de consenso farmacológico para los compuestos THA 1-3	85
Tabla 31. Tabla de análisis de consenso farmacológico para los compuestos THA 4-5	86
Tabla 32. Composición de los sistemas de elución utilizados en la CCF	91

ÍNDICE DE ESPECTROS

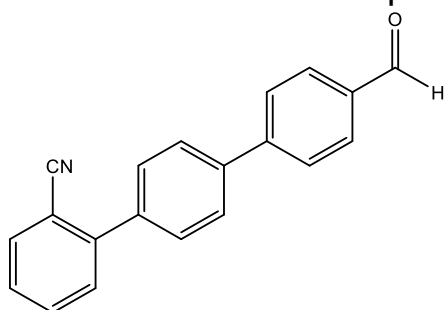
Espectro 1. Espectro de RMN ¹ H del compuesto THA-1	47
Espectro 2. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto THA-1	48
Espectro 3. Espectro de RMN ¹ H del compuesto THA-2	49
Espectro 4. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto THA-2	50
Espectro 5. Espectro de RMN ¹ H del compuesto THA-3	51
Espectro 6. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto THA-3	52
Espectro 7. Espectro de RMN ¹ H del compuesto THA-4	54
Espectro 8. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto THA-4	55
Espectro 9. Espectro de RMN ¹ H del compuesto THA-5	56
Espectro 10. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto THA-5	57
Espectro 11. Espectro de EM para THA-1	59
Espectro 12. Espectro de EM para THA-2	60
Espectro 13. Espectro de EM para THA-3	60
Espectro 14. RMN ¹ H del compuesto THA-1 (600MHz, DMSO-d6).....	100
Espectro 15. RMN ¹³ C del compuesto THA-1 (150MHz, DMSO-d6)	101
Espectro 16. Espectro de EM del compuesto THA-1 (Técnica: IE).....	102
Espectro 17. RMN ¹ H del compuesto THA-2 (600MHz, DMSO-d6).....	103
Espectro 18. RMN ¹³ C del compuesto THA-2 (150MHz, DMSO-d6)	104
Espectro 19. Espectro de EM para el compuesto THA-2 (Técnica: IE)	105
Espectro 20. RMN ¹ H del compuesto THA-3 (600MHz, DMSO-d6).....	106
Espectro 21. RMN ¹³ C del compuesto THA-3 (150MHz, DMSO-d6)	107
Espectro 22. Espectro de EM para el compuesto THA-3 (Técnica: IE)	108
Espectro 23. RMN ¹ H del compuesto THA-4 (600MHz, DMSO-d6).....	109
Espectro 24. RMN ¹³ C del compuesto THA-4 (150MHz, DMSO-d6)	110
Espectro 25. RMN ¹ H del compuesto THA-5 (600MHz, DMSO-d6).....	111
Espectro 26. RMN ¹³ C del compuesto THA-5 (150MHz, DMSO-d6)	112

ÍNDICE DE GRÁFICOS

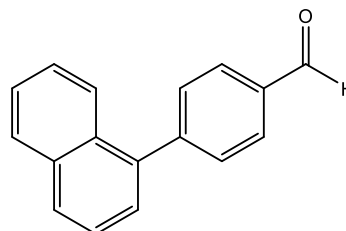
Gráfico 1. Efecto de dosis única de THA-1 (100 mg/kg) en modelo murino no insulino-dependiente	87
Gráfico 2. Efecto de dosis única de THA-4 (100 mg/kg) en modelo murino no insulino-dependiente	88

ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS

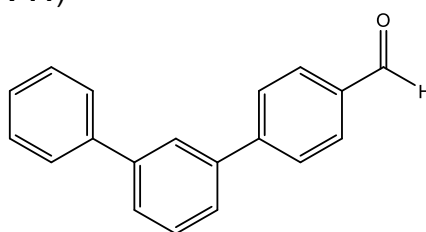
Compuestos precursores



4'-((4-formilfenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo (**THA-11**)

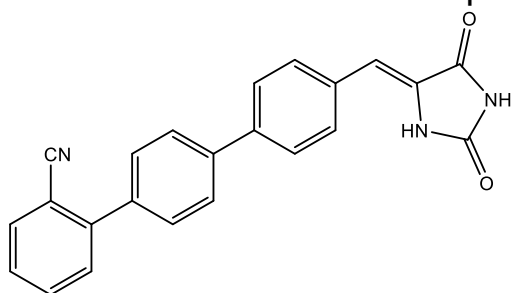


4-(naftalen-1-ilmetoxi)benzaldehído (**THA-12**)

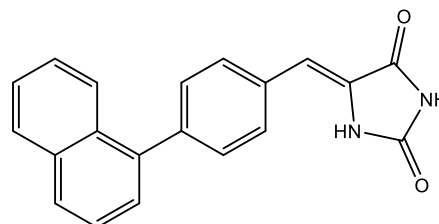


4-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)benzaldehído (**THA-13**)

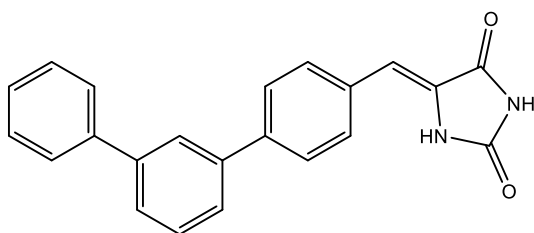
Compuestos finales



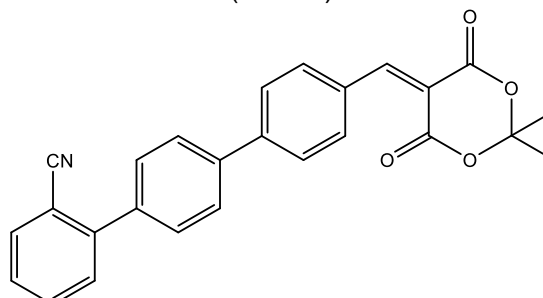
(Z)-4'-((4-((2,5-dioxoimidazolidin-4-iliden)metil)fenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo (**THA-1**)



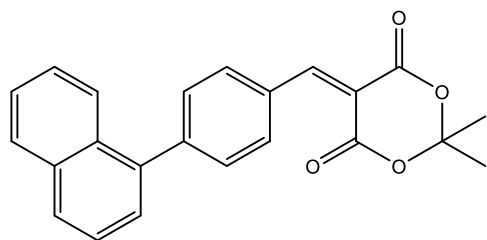
(Z)-5-(4-(naftalen-1-ilmetoxi)enciliden)imidazolidin-2,4-diona (**THA-2**)



(Z)-5-(4-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)enciliden)imidazolidin-2,4-diona (**THA-3**)



4'-((4-((2,2-dimetil-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5-iliden)metil)fenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo (**THA-4**)



2,2-dimetil-5-(4-(naftalen-1-ilmetoksi)benciliden)-1,3-dioxan-4,6-diona (**THA-5**)

RESUMEN

La diabetes mellitus tipo II (DM2) es una enfermedad crónica caracterizada por hiperglucemia y deficiencia en la producción o resistencia a la insulina, y representa el 90% de todos los casos. Actualmente, las moléculas con el anillo de tiazolidin-2,4-diona (TZD) y ácidos carboxílicos han mostrado ser efectivas para el tratamiento de esta enfermedad, actuando sobre diferentes blancos terapéuticos dentro de los que destaca GPR-40; este receptor es clave para la secreción de insulina dependiente de glucosa. Otra diana terapéutica importante es PTP1B, proteína citosólica expresada en hígado, músculo y tejido graso actúa como regulador negativo en las cascadas de señalización de insulina y leptina. Finalmente podemos mencionar a aldosa reductasa que juega un papel crucial en la mediación del estrés oxidativo inducido por hiperglucemia. Es importante destacar que estas 3 dianas terapéuticas además de estar implicadas en el desarrollo de la DM2, también comparten ligandos sintéticos de tipo ácido como las TZD y los ácidos carboxílicos.

Este trabajo tuvo como objetivo generar una serie de moléculas que puedan actuar como secretagogos de insulina dependientes de glucosa por medio de GPR-40, y favorecer positivamente la sensibilidad a la insulina y leptina a partir de la inhibición de PTP-1B y adicionalmente que sea capaz de inhibir a la enzima aldosa reductasa para tratar las complicaciones y así abordar la enfermedad por distintas vías.

Para la síntesis de los compuestos **THA 1-5** se realizaron reacciones de tipo S_N2 para obtener los precursores, posteriormente se les realizó una condensación de Knoevenagel con el anillo de hidantoína (**THA 1-3**) o el ácido de Meldrum (**THA 4-5**) para la obtención de los compuestos finales. Haciendo uso de herramientas quimioinformáticas, se hizo la estimación de propiedades farmacocinéticas (admetSAR, molinspiration), farmacodinámicas (docking, PASS online, SwissTargetPrediction, DIA-DB) y toxicológicas (ACD/Tox Suite, admetSAR) para determinar las moléculas con las mejores características para su evaluación en un ensayo *in vivo*.

Con un análisis de consenso farmacológico se eligieron a los compuestos **THA-1** y **THA-4** para su evaluación *in vivo* en un modelo murino no insulino-dependiente (ratones CD1 diabetizados con estreptozotocina-nicotinamida), donde el compuesto **THA-1** disminuyó de forma estadísticamente significativa la hiperglucemia a partir de la tercera hora, mientras que para el compuesto **THA-4** no se observó una disminución debido a que es necesaria su biotransformación (*O*-desalquilación del ácido de Meldrum) para presentar la actividad antihiperглиcémica.

En conclusión, el compuesto **THA-1** es candidato para seguir siendo estudiado en el tratamiento experimental de la DM2 y para el compuesto **THA-4** es necesario realizar un ensayo subagudo para poder observar si tendrá el efecto terapéutico deseado, así como realizar los ensayos *in vitro* con los blancos terapéuticos propuestos.

ABSTRACT

Type II diabetes mellitus (DM2) is a chronic disease characterised by hyperglycemia and impaired insulin production or resistance, accounting for 90% of all cases. Currently, the molecules with thiazolidin-2,4-dione (TZD) ring and carboxylic acids have been shown to be effective for the treatment of this disease, acting on different therapeutic targets including GPR-40; this receptor is key for the secretion of glucose-dependent insulin. Another important therapeutic target is PTP-1B, a cytosolic protein expressed in liver, muscle and fat tissue that acts as a negative regulator in insulin and leptin signaling cascades. Finally, aldose reductase plays a crucial role in the mediation of oxidative stress induced by hyperglycemia. It is important to highlight that these 3 therapeutic targets, besides being involved in the development of DM2, also share acid type ligands such as TZD and carboxylic acids.

The aim of this work is to generate molecules that can act as glucose-dependent insulin secretagogues by means of GPR-40, and positively favor sensitivity to insulin and leptin from the inhibition of PTP-1B and additionally be able to inhibit the enzyme aldose reductase to treat complications and thus deal the disease in different ways.

For the synthesis of the **THA 1-5** compounds, S_N2 type reactions were carried out to obtain the precursors, then Knoevenagel condensation was performed with the hydantoin ring (**THA 1-3**) or Meldrum acid (**THA 4-5**) to obtain the final compounds. Using chemoinformatic tools, the estimation of pharmacokinetic (admetSAR, molinspiration), pharmacodynamic (docking, PASS online, SwissTargetPrediction, DIA-DB) and toxicological (ACD/Tox Suite, admetSAR) properties were made to determine the molecules with the best characteristics for evaluation in an *in vivo* assay.

With a pharmacological consensus analysis, **THA-1** and **THA-4** compounds were chosen for *in vivo* evaluation in a non-insulin-dependent murine model (CD1 mice diabetized with streptozotocin-nicotinamide), where the compound **THA-1** showed statistically significant decreasing of hyperglycemia starting at the third hour and the compound **THA-4** was not observed a decrease in plasma glycemia due to the fact that it needs biotransformation (O-dealkylation of the Meldrum acid) to present the activity.

In conclusion, the compound **THA-1** is a candidate to continue being studied for the experimental treatment of DM2, whereas for the compound **THA-4** it's necessary to do a subacute test to be able to observe if it will have the desired therapeutic effect, as well as to carry out *in vitro* tests with the proposed therapeutic targets.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente la población mundial se ve afectada por enfermedades tipo crónicas y metabólicas como hipertensión arterial, obesidad y diabetes mellitus. Esta tendencia se ve directamente relacionada con el estilo de vida actual debido a que la alimentación de la mayoría de la población no es adecuada, carece de un balance y aunado a esto la falta de actividad física complementa el sedentarismo de la población.

Según un reporte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) cerca del 80% de las muertes por enfermedades crónicas se dan en los países de ingresos bajos y medios, donde estas muertes afectan en igual número a hombres y mujeres.¹ En la actualidad México es el segundo país con mayor obesidad en el mundo con esto predispone a nuestra sociedad al desarrollo de enfermedades crónico-metabólicas como lo es la diabetes mellitus (DM).

La DM es una enfermedad tipo crónica que afecta al metabolismo de la glucosa, así como su eficaz utilización en el cuerpo. La prevalencia mundial según datos de la Federación Internacional de la Diabetes (FID) para el 2017 fue de 8.8% con 4 millones de muertes causados por esta enfermedad y se estima que existen alrededor de 425 millones de enfermos en el mundo. Cerca del 90% de los casos de diabetes diagnosticados se tratan del tipo 2.²

Bajo este marco es importante llegar a dos cuestiones, la primera es que el sistema de salud implemente un programa de atención eficaz que haga énfasis en la prevención, en dar a conocer los factores de riesgo y las complicaciones que podrían surgir de este padecimiento. La segunda cuestión es seguir realizando investigación acerca de la enfermedad, ya que a pesar de que existen diversas alternativas clínicas para el tratamiento de la DM, no siempre son efectivas en los pacientes. Así como la importancia de explorar nuevos blancos terapéuticos para poder tratar la enfermedad en diferentes etapas con mejor eficiencia.

Actualmente la investigación reciente apunta por algunos blancos terapéuticos como lo es GPR-40, un receptor de membrana acoplado a proteína G, se le conoce como receptor 1 de ácidos grasos libres (FFAR-1), es altamente expresado en células β pancreáticas y es clave para la secreción de insulina mediada por ácidos grasos libres. Los ácidos grasos juegan un papel complejo en la fisiología de la secreción de insulina, que además participan en la irrupción de la función de las células β pancreáticas.³ Se ha determinado que los ligandos con mayor afinidad a GPR-40 son aquellos ácidos grasos que tienen cadena mediana a larga, como el palmitato, el palmitoleato y el oleato. La actividad agonista está dada por la longitud de la cadena policarbonada.⁴

Otra diana terapéutica importante es PTP-1B, proteína citosólica expresada en varias células incluidas las del hígado, músculo y grasa. Esta enzima es conocida por ser un importante regulador negativo en las cascadas de señalización de insulina y leptina.⁵ Finalmente podemos mencionar a aldosa reductasa, una enzima encontrada en el citoplasma de la mayoría de las células, esta juega un papel crucial en la mediación del estrés oxidativo inducido por hiperglucemia y el consiguiente daño tisular y vascular a través de la reducción dependiente de NADPH de la glucosa al sorbitol y las consiguientes modificaciones de la osmolaridad celular y del estado redox.⁶ Esta enzima ha sido vinculada con las múltiples complicaciones que la DM2 provoca en los pacientes, y el único ligando hasta ahora efectivo ha sido el sorbinilo, un fármaco de tipo hidantoína.

Es importante destacar que estas tres dianas terapéuticas además de estar implicadas en el desarrollo de la DM2 también comparten ligandos sintéticos de tipo ácido como las tiazolidindionas y los ácidos carboxílicos que logran activarlas inhibirlas, así generar una respuesta terapéutica favorable que ayude a tratar a la DM2 en sus diferentes estadios.

El propósito de este trabajo fue generar dos series de compuestos que sean bioisómeros ácidos que logran interactuar con todas las dianas terapéuticas propuestas para así poder abordar a la enfermedad por diferentes vías y tener un control terapéutico integral de la DM2.

2. ANTECEDENTES

2.1 Definición y estadísticas

La DM es una enfermedad crónica metabólica caracterizada por la deficiencia en el uso de la glucosa, así también involucra a los mecanismos derivados de la secreción y utilización de la insulina ya que puede ser o no ser producida en el cuerpo, por lo tanto la glucosa sigue circulando en el torrente sanguíneo y los altos niveles de esta nos llevan al daño en diferentes tejidos.⁷

En 2017 según la FID se estimó que existen cerca de 425 millones de adultos que padecen DM y uno de cada dos enfermos se encuentran sin diagnosticar², lo cual resulta ser un problema social y económico. Bajo este tenor se puede analizar la gravedad del problema ya que hoy en día es una de las enfermedades que más costo le genera al sector salud y que ocasiona más muertes. Desgraciadamente la mayoría de los enfermos son diagnosticados y tratados cuando la enfermedad ya está avanzada y por consecuencia el tratamiento terapéutico toma más tiempo en ser efectivo.

En el marco internacional como se observa en la **Figura 1**, China es el país con mayor número de enfermos con una cifra total de 114.4 millones, nuestro país ocupa la quinta posición con 12 millones de diabéticos. Para nuestro país esta cifra es alarmante puesto que en 2016 ocupábamos la sexta posición con 11.5 millones, por lo que la tendencia va a la alza y la predicción para 2045 de 21.8 millones de diabéticos pueda alcanzarse en menor tiempo.²

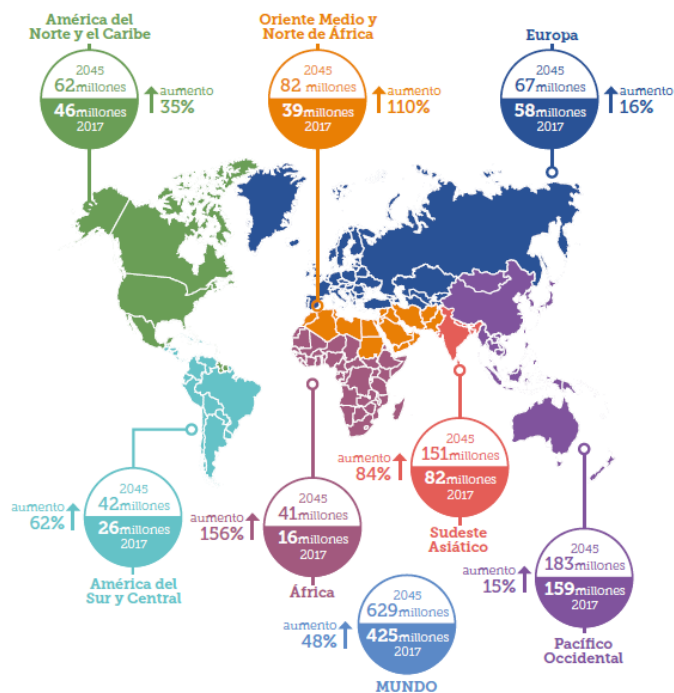


Figura 1. Número estimado de población con DM por región en 2017 y su proyección para el 2045²

Haciendo un análisis más a fondo de la problemática en nuestro país, en 2016 se publicó la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 (ENSANUT MC 2016) donde se observó un aumento en la prevalencia de diabetes por diagnóstico médico previo con respecto a la ENSANUT 2012 (9.2%) y un mayor aumento con respecto a la ENSANUT 2006 (7.2%) como lo podemos observar en la gráfica de la **Figura 2**.⁸ Así también podemos resaltar que las mujeres tienen una mayor prevalencia de padecer la enfermedad y que todas las campañas para prevenir la DM no han sido muy exitosas y es necesario tomar otras medidas de prevención.

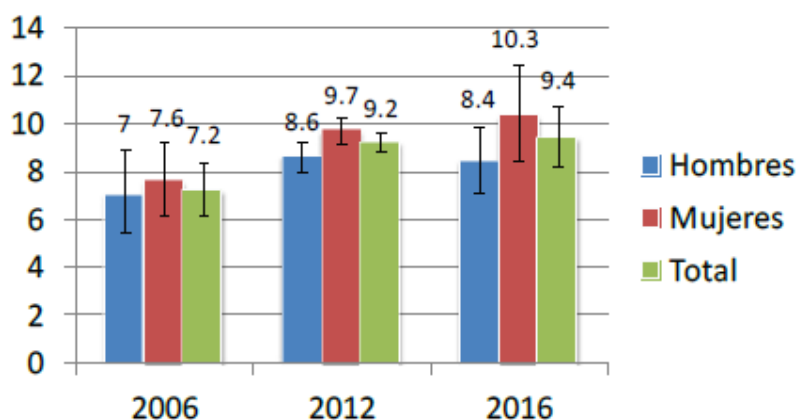


Figura 2. Prevalencia de diagnóstico médico previo de diabetes por sexo y edad ENSANUT 2006, ENSANUT 2012 y ENSANUT MC 2016⁸

2.2 Clasificación de la Diabetes

La diabetes la podemos clasificar en cuatro tipos:

- **Tipo 1:** se caracteriza por hiperglucemia causada por una carencia absoluta de insulina. Este tipo de pacientes necesita de la administración de insulina diaria y de manera crónica. Este tipo de DM también tiene como particularidad que afecta principalmente a niños y jóvenes, regularmente se presenta en personas no mayores a los 30 años, y en la mayoría de los casos es una enfermedad autoinmune que destruye las células β del páncreas.
- **Tipo 2:** Se identifica por hiperglucemia causada por un defecto en la secreción de insulina, habitualmente acompañado de resistencia a esta hormona. Esta enfermedad comúnmente se relaciona con obesidad, mala alimentación y falta de ejercicio, siendo estos los principales factores de riesgo. Estos pacientes son tratados con medicamentos que ayuden a mejorar los síntomas que la DM les causa. Es una enfermedad de la etapa adulta, pero en la actualidad los casos en niños y jóvenes se ha incrementa de manera considerable.
- **Gestacional:** Se caracteriza por hiperglucemia de intensidad variable y se presenta en el periodo del embarazo, hasta el momento no se ha establecido una causa aparente, sin embargo se ha visto que las hormonas interfieren en la acción de la insulina durante el embarazo. Generalmente la enfermedad desaparece después de las 6 semanas de haber dado a luz, pero esto incrementa el riesgo de que en un futuro la mujer y el producto desarrolle DM2.²
- **MODY:** recibe su nombre por la abreviatura de la frase, en inglés, Maturity Onset Diabetes of the Young (diabetes de la edad madura que se presenta en el joven) es una forma autosómica dominante de diabetes que ocurre típicamente antes de los 25 años y es causada por defectos en la secreción primaria de insulina. A pesar de su baja prevalencia, la diabetes MODY no es una entidad única, sino que representa heterogeneidad genética, metabólica y clínica.⁹

Para fines de este trabajo nos enfocaremos en la diabetes DM2 debido a que pesar de ser prevenible en gran medida, la diabetes tipo 2 representa la gran mayoría de los casos de diabetes.

2.3 Diagnóstico de la diabetes mellitus tipo 2

Según la NOM-015-SSA2-2010, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus, se establece el diagnóstico de prediabetes cuando la glucosa de ayuno es igual o mayor a 100 mg/dL y menor o igual de 125 mg/dL (GAA) y/o cuando la glucosa dos horas post-carga oral de 75 g de glucosa anhidra es igual o mayor a 140 mg/dL y menor o igual de 199 mg/dL (ITG).¹⁰ Hoy en día como parte del políticas de prevención de las enfermedad es importante hacer un diagnóstico en personas con antecedentes de padres con DM2 o que presenten alguno de los factores de riesgo (obesidad, sobrepeso, mala alimentación, etc.) para el control de los niveles de glucosa en sangre y evitar la enfermedad.

Para el diagnóstico de la DM II, esta misma Norma marca que se establece el diagnóstico de diabetes si se cumple con los siguientes criterios:

- Presencia de síntomas clásicos
- Glucemia plasmática casual > 200 mg/dL
- Glucemia plasmática en ayuno > 126 mg/dL
- Glucemia >200 mg/dL a las dos horas después de una carga oral de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua ¹⁰

Dentro de los criterios anteriormente mencionados también es importante agregar los valores de hemoglobina glicosilada que según la guía de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento de diabetes mellitus en el adulto mayor vulnerable de la Secretaría de Salud debe de ser mayor o igual a 6.5%.¹¹ Además es importante tomar en cuenta que la prueba de ayuno, la prueba de tolerancia a glucosa oral (PTGO), o en ausencia de síntomas inequívocos de hiperglucemia, estos criterios se deben confirmar repitiendo la prueba en un día diferente,¹⁰ debido a que el paciente se puede encontrar bajo alguna alteración debido a cambios físicos y biológicos, como consecuencia confundir el diagnóstico de DM2.

2.4 Complicaciones de la DM2

Debido a que el desarrollo de esta enfermedad están involucrados múltiples procesos metabólicos, las complicaciones que surgen a partir del descuido del paciente también son variadas. Éstas las podemos dividir en base a su severidad; de tipo agudo, crónico vasculares y no vasculares.¹²

En general las complicaciones de tipo agudo son todas aquellas que con un apropiado cuidado y tratamiento médico pueden ser controladas e incluso erradicadas. Estos cambios metabólicos intracelulares pueden ser reversibles, pero

cuando no son tratadas apropiadamente tienen un efecto acumulativo e irreversible en algunas macromoléculas estables. Dentro de estas complicaciones podemos mencionar a la cetoacidosis, acidosis láctica y coma hiperosmolar.¹³

Las complicaciones crónicas de la DM2 afectan a múltiples órganos y son directamente responsables de la mayor parte de la morbilidad y la mortalidad de la enfermedad. Las complicaciones crónicas pueden dividirse en vasculares y no vasculares. Las complicaciones vasculares se subdividen a su vez en microvasculares (retinopatía, neuropatía y nefropatía) y macrovasculares (cardiopatía isquémica, vasculopatía periférica y enfermedad cerebrovascular). Las complicaciones no vasculares incluyen problemas como gastroparesis, disfunción sexual y cambios en la piel. Como consecuencia de sus complicaciones crónicas, la DM2 es la causa más común de ceguera en adultos, una variedad de neuropatías debilitantes y trastornos cardíacos y cerebrales. Tratar las complicaciones de la diabetes cuesta más que controlar la enfermedad.^{14,15}

El control estricto de la glucosa sanguínea puede reducir las complicaciones significativamente. Se han asociado tres procesos a la hiperglucemia crónica y que están íntimamente relacionados con la patogénesis de las complicaciones diabéticas: la glucosilación no enzimática, la desviación de la glucosa a la vía de los polioles, la activación de la proteína kinasa C y el estrés oxidativo.¹⁵

2.5 Fisiopatología de la DM2

En un organismo donde existe una alteración en el metabolismo de la glucosa se ha reconocido que existen dos eventos principales involucrados que es la deficiencia de la acción de la insulina y la deficiente secreción de la hormona o un efecto compuesto de estas dos características, a partir de esto se puede observar una resistencia a la insulina (RI) y consecuentemente un deterioro marcado de la función de las células β pancreáticas.¹⁶

2.5.1 Resistencia a la insulina

La insulina es una hormona secretada por células β pancreáticas en respuesta a la presencia de glucosa. Su principal función es mantener la homeostasis glucémica y de otros sustratos energéticos. De esta forma, posterior a cada comida la insulina suprime la liberación de ácidos grasos libres mientras que favorece la síntesis de triglicéridos en el tejido adiposo.

Por otra parte, la insulina inhibe la producción hepática de glucosa, mientras que promueve la captación de glucosa por el tejido muscular esquelético y adiposo. En

un estado de RI, la acción de esta hormona a nivel celular está reducida, lo que aumenta la secreción de insulina y esto compensa el defecto en la acción tisular y así poder mantener la homeostasis de la glucosa.¹⁷

Generalmente la resistencia a la insulina es atribuida a una deficiencia en la unión de la insulina a su receptor, pero se cree que es más frecuente que sea a causa de modificaciones posteriores a la unión. Entre las alteraciones más importantes se puede mencionar la disminución en el número de receptores y de su actividad cinasa, un incremento en el estado de fosforilación en residuos Ser/Thr de proteínas clave como el receptor y su sustrato, la disminución de las cinasas PI3K y AKT, defectos en la expresión y función del transportador GLUT-4, entre otros.¹⁸

2.5.2 Deterioro en la función de las células β pancreáticas

A partir de que un individuo se encuentra en un continuo estado alterado del metabolismo de la glucosa y por consecuencia con una marcada resistencia a la insulina, la homeostasis de los ácidos grasos libres en sangre se encuentran incrementados generando una lipotoxicidad.¹⁶

La mayoría de los ácidos grasos se encuentran en el tejido adiposo, este tiene la capacidad de liberar diversas proteínas diabetogénicas como el TNF, la IL-6, adipocitocinas, resistina y leptina, entre otras, esta última es una hormona que actúa en el centro de saciedad localizado en el hipotálamo, donde disminuye el apetito al inducir la sensación de saciedad. En el páncreas la leptina puede inducir apoptosis en las células β porque inhibe la biosíntesis de insulina, incrementa reacciones inflamatorias y produce estrés oxidativo. Por lo consiguiente, es muy probable que el daño inicial sea más un efecto de lipotoxicidad, propia de la liberación de los ácidos grasos libres desde adipocitos resistentes a la insulina, pero que en la medida que avanza la enfermedad se perpetúa por la glucotoxicidad.^{19,20}

2.6 Tratamiento de la DM2

La terapia actual de la DM2 se basa en tres partes fundamentales para el paciente: la primera es implementar una dieta equilibrada, la segunda es adicionar el ejercicio en el estilo de vida del paciente, ya que generalmente son personas con hábitos sedentarios. En una tercera parte se adiciona el tratamiento farmacológico que según la evaluación de un médico determinará que fármaco va mejor con la condición metabólica del paciente. Es importante hacer énfasis que para tener un abordaje terapéutico adecuado y exitoso se tienen que complementar estas tres partes, pero el tratamiento farmacológico es fundamental para mejorar la calidad de

vida del paciente. En la actualidad se conocen múltiples grupos de fármacos para el tratamiento de la DM2, los cuales se mencionarán a continuación.

2.6.1 Biguanidas

Actualmente el único fármaco en el mercado de este tipo es Metformina, en un pasado también podíamos encontrar a fenformina (**Figura 3**) pero fue retirado del mercado por incrementar el riesgo de acidosis láctica en los pacientes. La metformina en un inicio disminuye la producción de glucosa hepática por la inhibición de la gluconeogénesis. Posteriormente mejora la sensibilidad a la insulina periférica en el músculo esquelético por el incremento en la actividad tirosin cinasa del receptor de insulina y la translocación del transportador de glucosa (GLUT-4) a la membrana celular. También mejora la capacidad de respuesta de las células β a una carga de glucosa mediante la corrección de la toxicidad de la glucosa. Además, la metformina aumenta el nivel del péptido endógeno similar al glucagón (GLP-1) entre el doble y el triple, actuando a través de un mecanismo distinto al del inhibidor de la dipeptidil peptidasa 4 (DPP-4).²¹

El mecanismo de acción exacto de la metformina, no se conoce aún del todo. Sin embargo, el mecanismo posiblemente más importante se da al activar a una enzima denominada proteína cinasa activada por adenosín monofosfato (AMPK).²² A nivel subcelular, las biguanidas se fijan a la membrana mitocondrial, donde alteran los sistemas de transporte, este tipo de fármacos no llegan a producir hipoglucemia, sino que reducen la hiperglucemia basal y posprandial.²³

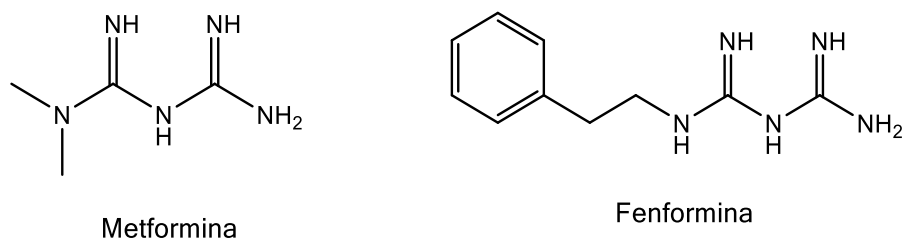


Figura 3. Biguanidas

2.6.2 Sulfonilureas

Derivados de sulfonamidas, este tipo de fármacos son secretagogos de insulina. Se unen al receptor sulfonilurea (SUR-1) en la membrana de células β pancreáticas, cerrando así el canal K^+ sensible al ATP asociado. La inhibición de estos canales conduce a la despolarización de la membrana celular, posterior a la apertura de canales de calcio con voltaje, luego a la fusión de los gránulos de insulina con la membrana celular, llegando así a la liberación de la insulina en la sangre. Este efecto es independiente de las concentraciones de glucosa en plasma, lo que

aumenta el riesgo de hipoglucemia. En la **Figura 4** podemos observar algunos fármacos representativos de este grupo.²¹

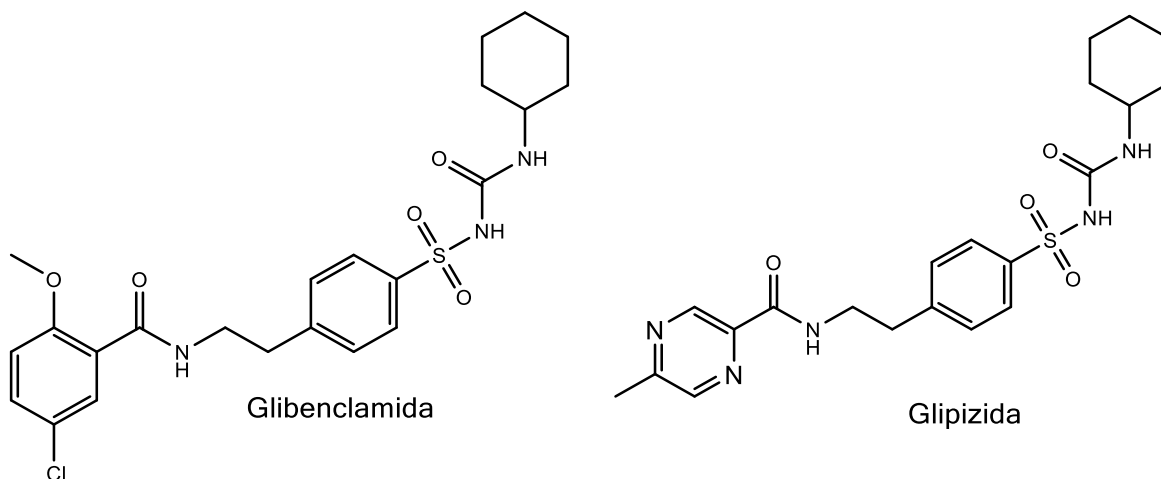


Figura 4. Sulfonilureas

2.6.3 Glinidas

A partir de los años 90's salió a la venta repaglinida y a partir de entonces han sido lanzados otras moléculas pertenecientes a este grupo. Las glinidas actúan de forma similar a las sulfonilureas, ya que se unen al receptor SUR-1, con la diferencia de que se unen en un lugar diferente al de las sulfonilureas). El bloqueo de los canales K⁺ dependientes de ATP conduce a la despolarización de la membrana celular, a la apertura de los canales de calcio y, por lo tanto, a la liberación de insulina. Las glinidas tienen un inicio y una duración de acción más cortos en comparación con las sulfonilureas, debido a su afinidad de unión más débil y a una disociación más rápida del receptor SUR-1.²¹

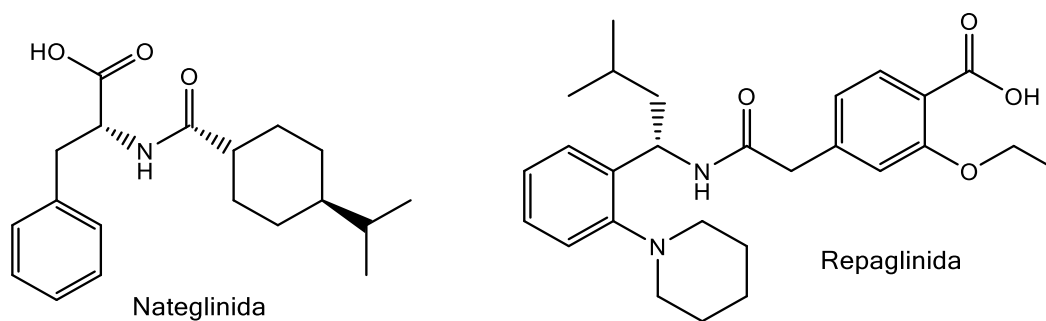


Figura 5. Glinidas

2.6.4 Inhibidores de la α -glucosidasa

Los polisacáridos, oligosacáridos y disacáridos son transformados en monosacáridos mediante la hidrólisis producida por las α -glucosidasas glucoamilasa, sacarasa, maltasa e isomaltasa que se encuentran en la superficie luminal de las microvellosidades intestinales.²³ La acarbosa (**Figura 6**), es el principal inhibidor de la glucosidasa, retarda la digestión de los carbohidratos, retrasando así la absorción de la glucosa y reduciendo los niveles de glucosa postprandiales. Debido a su mecanismo de acción, no causan hipoglucemia.²¹

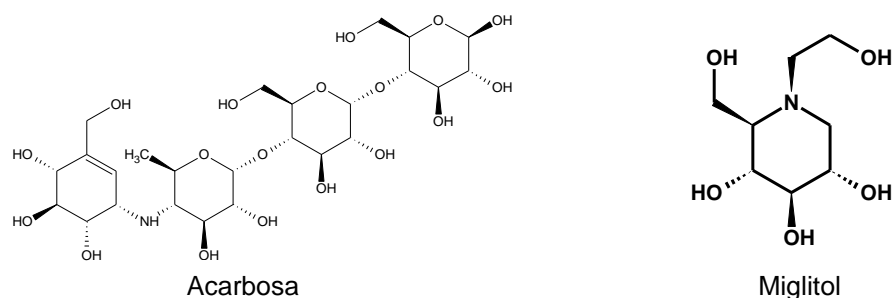


Figura 6. Inhibidores de la α -glucosidasa

2.6.5 Tiazolidindionas

Las tiazolidindionas (TZD) son una clase de fármacos insulinosensibilizadores que se caracterizan por sensibilizar o incrementar la acción de la insulina sin que aumente su secreción, por lo que son útiles en situaciones en que se desarrolla resistencia a la insulina.²³

Las TZD actúan principalmente en el músculo esquelético y el tejido adiposo activando el factor de transcripción nuclear del receptor activado de proliferador de peroxisomas gamma (PPAR- γ), provoca que aumente la absorción de glucosa por el músculo esquelético, mejora la función de las células β pancreáticas y de los receptores de insulina en el tejido adiposo, músculo esquelético e hígado.²¹

Actualmente en el mercado solo podemos encontrar a Pioglitazona (**Figura 7**) debido a que los demás fármacos pertenecientes a este grupo han sido retirados del mercado debido a que se le ha relacionado con cardiotoxicidad.²⁴

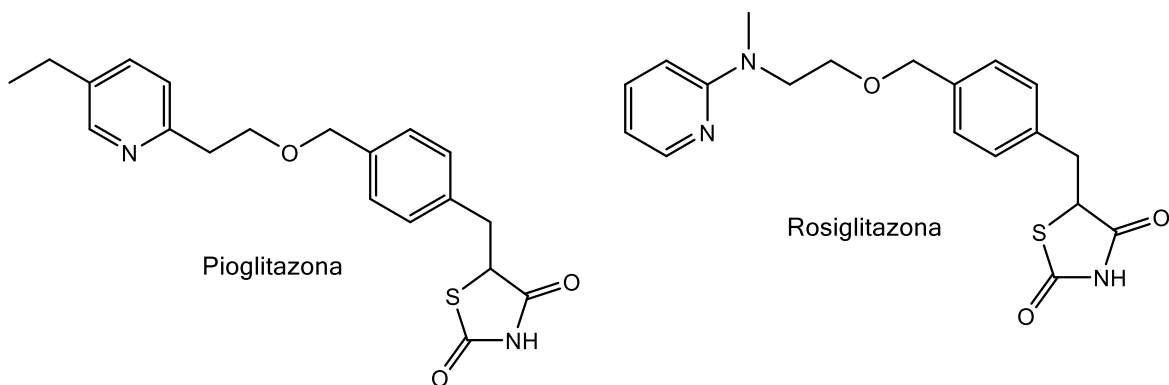


Figura 7. Tiazolidindionas

2.6.6 Análogos de amilina

La amilina es liberada junto con la insulina por las células beta pancreáticas. La disfunción de las células beta resulta en una deficiencia tanto de insulina como de amilina. La amilina disminuye el vaciamiento gástrico, disminuyendo así la velocidad de absorción de los alimentos, un mecanismo posiblemente mediado centralmente. También es posible que aumente la saciedad y disminuya la ingesta calórica.²¹

En el mercado podemos encontrar a Pramlintida (**Figura 8**) que ha sido aprobado por la FDA, para su uso por pacientes diabéticos tipo 1 y tipo 2 que usan insulina. Pramlintida permite a los pacientes usar menos insulina, reduce los niveles de glucosa en sangre y aminora sustancialmente la subida de glucosa posterior a la ingesta de alimentos en los pacientes.²⁵

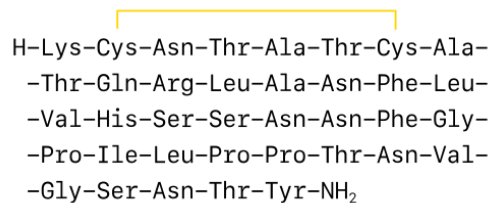


Figura 8. Pramlintida, análogo de amilina

2.6.7 Inhibidores de la DPP-4

La DPP-4 es una enzima de membrana plasmática ampliamente expresada en todo el cuerpo, Los inhibidores del DPP-4 inhiben la degradación enzimática de las incretinas, GLP-1 y el GIP, aumentando así el nivel bioactivo endógeno de GLP-1 en 2-3 veces, esto aumenta la secreción de insulina de forma dependiente de la glucosa, a diferencia de las sulfonilureas, que actúan de forma independiente de la

glucosa por lo que hay un menor riesgo de provocar hipoglicemia y además disminuye la secreción de glucagón.^{21,26}

Los inhibidores de la DPP-4 disponibles en la actualidad incluyen sitagliptina, saxagliptina, linagliptina, vildagliptina y alogliptina (**Figura 9**).

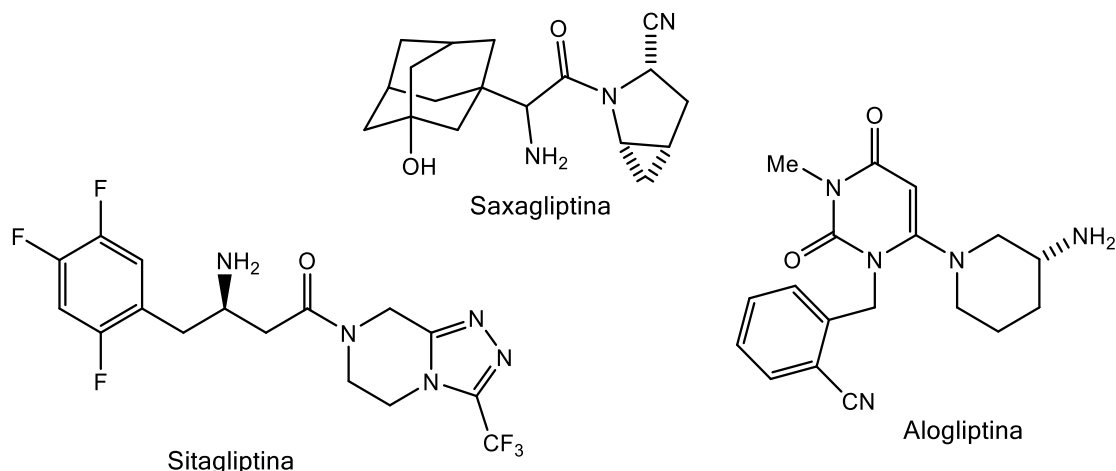


Figura 9. Inhibidores de la DPP-4

2.6.8 Agonistas de GLP-1

La secreción de insulina es estimulada durante la absorción de la ingesta de alimentos por la liberación de hormonas intestinales incretínicas: el péptido similar al glucagón-1 (glucagon-like peptide 1, GLP-1) y el polipéptido inhibidor gástrico (glucose-dependent insulinotropic peptide, GIP). Hasta un 50-70% de la liberación de insulina posprandial se debe al efecto de las incretinas. Además, el GLP-1 suprime la liberación de glucagón por las células α pancreáticas, retarda el vaciamiento gástrico mediante la inhibición de la motilidad gastroduodenal, potenciando la saciedad y reduciendo la ingestión de comida.²⁷

Como terapia existen los GLP-1 miméticos peptídicos se dividen a su vez en análogos basados en GPL-1 (glutidas) y análogos basados en exendina-4 (xenatidas). Del primer grupo tenemos a liraglutida (**Figura 10**) es un agonista GLP-1 de acción prolongada con una homología de 97% de aminoácidos con el GLP-1 endógeno humano, debido a que en su estructura se encuentra un ácido graso de 16 carbonos que se une covalentemente al ácido graso de la albumina que lo protege de la degradación por la DPP-4 por lo cual prologa su vida media. La liraglutida estimula la secreción de insulina dependiente de la glucosa e inhibe la secreción de glucagón.^{21,27}

Por otro lado, tenemos al grupo de análogos basados en exendina-4, el fármaco más conocido es la exenatida (**Figura 10**). Fue el primer fármaco agonista GLP-1 desarrollado y aprobado por la FDA en 2005. Es una forma sintética de exendina-4, originalmente identificado en la saliva del monstruo de Gila, que comparte aproximadamente un 50% de homología secuencial con el GLP-1 endógeno, mientras que posee una vida media más larga, debido a su mayor resistencia a la degradación por DPP-4 y a su mayor afinidad efectiva con los receptores.²¹

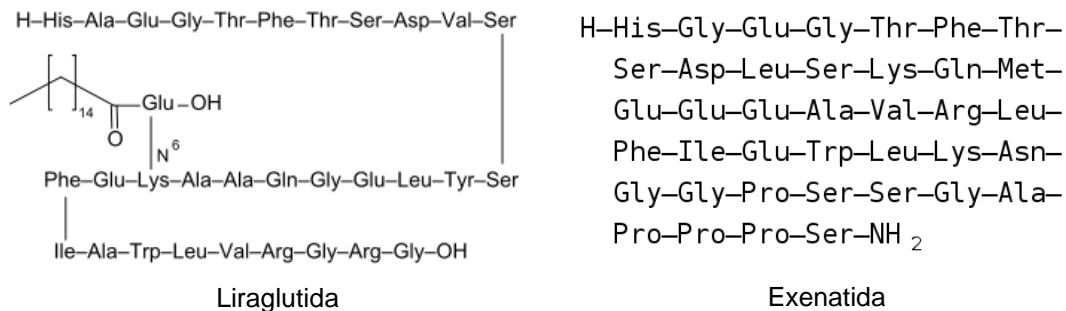


Figura 10. Inhibidores de GLP-1

2.6.9 Glifozinas

La glucosa se filtra libremente por los riñones y se reabsorbe en el túbulo proximal, por lo que se puede alcanzar un máximo de transporte de glucosa. La reabsorción de la glucosa se produce a través del cotransportador sodio-glucosa 2 (SGLT-2), son proteínas transportadoras de alta capacidad, baja afinidad y unidas a la membrana. Los SGLT-2 son responsables de hasta el 90% de la reabsorción de glucosa y actúan independientemente de la insulina. A través de la reabsorción completa, no hay glucosuria, como lo sería en condiciones normales.

Los SGLT-2 están aumentados en los pacientes con DM2, lo que resulta en un aumento del 20% en el transporte máximo de glucosa, aumentando así su reabsorción. Los inhibidores de SGLT-2 son fármacos que bloquean a estos cotransportadores, lo que resulta en una disminución del umbral renal y en el transporte máximo de glucosa, disminuyendo así la reabsorción renal y aumentando la glucosuria. Este tipo de fármacos proporcionan un nuevo objetivo para tratar la hiperglucemia a través de la excreción urinaria de glucosa. Canagliflozina y empagliflozina (**Figura 11**) son algunos de las fármacos pertenecientes a este grupo.²¹

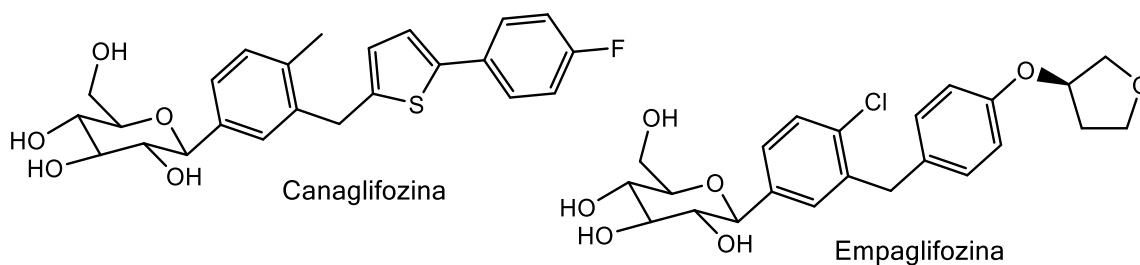


Figura 11. Glifozinas

2.7 Dianas terapéuticas novedosas en la DM2

Como se ha explicado anteriormente la DM2 es una enfermedad metabólica donde se encuentran relacionados variados procesos bioquímicos por lo cual lo hace una enfermedad compleja de entender si se le estudia desde un sólo punto de vista, es por esto que existe una cantidad considerable de fármacos disponibles para su tratamiento, con el fin de combatir tanto las complicaciones y los síntomas en diferentes etapas de la enfermedad.

A pesar de la variedad del tratamiento farmacológico actual, no todos los pacientes responden adecuadamente al tratamiento por lo que es necesario generar nuevas moléculas que sean efectivas en otros blancos terapéuticos relacionados a la DM2, es por lo que a continuación se mencionarán las dianas terapéuticas novedosas, las cuales serán utilizadas en este trabajo.

2.7.1 PTP-1B

Se ha postulado que el grado de activación del receptor de insulina está determinado por acciones opuestas a su fosforilación en residuos de Tyr. Un mecanismo de regulación de la señal de insulina que actualmente es sujeto de estudio, involucra la desfosforilación de residuos claves de Tyr en el asa de activación del receptor por la activación de proteínas tirosin fosfatasas (PTP).¹⁸

Cuando la insulina se une a su receptor, la tirosina cinasa citosólica se activa por la autofosforilación de tres residuos de tirosina agrupados dentro del dominio de la cinasa, que a su vez fosforila las proteínas del sustrato del receptor de insulina (IRS). En su estado fosforilado, el IR recluta y fosforila moléculas citosólicas adicionales como el sustrato receptor de insulina 1 (IRS-1). El IRS-1 fosforilado es reconocido por otras proteínas que contienen dominio SH₂, particularmente el fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3K), que a su vez fosforila otros sustratos como la AKT. Mediante esta cascada, la insulina desencadena numerosos procesos

biológicos como la síntesis de glucógeno y la síntesis de ácidos grasos. El PTP-1B (**Figura 12**) se estableció como una enzima clave en la desfosforilación de los IR, así como su componente de señalización el IRS-1.^{28,29}

Estudios recientes en modelos de ratones knock-out han proporcionado evidencias que relacionan directamente a PTP-1B como regulador específico de la vía de acción de la insulina con influencia en la regulación del peso corporal y en el gasto energético, además también participa en la regulación negativa de la vía de señalización de leptina mediante la desfosforilación de moléculas de las cascadas de señalización previa.²⁸

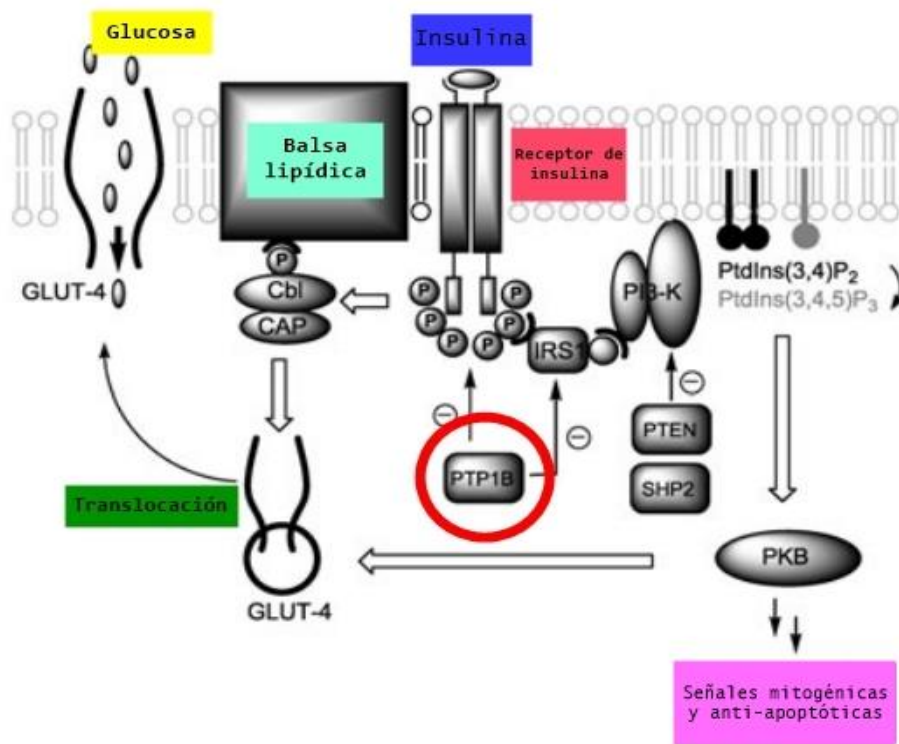


Figura 12. Vía de señalización de insulina donde participa PTP-1B (modificado)²⁹

2.7.1.1 Inhibidores de PTP-1B

El residuo de tirosina es el elemento clave para el reconocimiento del sustrato por PTP-1B. El sitio de unión de PTP-1B se divide en tres: un sitio A (pocket de unión al fosfato primario) que es la zona más polar de la proteína y se encuentra el sitio catalítico donde los iones de fosfato interactúan, después está el sitio B que es el pocket de unión al fosfato secundario que se relaciona con la especificidad del sustrato y por último el sitio C que es una gran región plana donde se pueden acomodar sustitutos con carga negativa o de tipo lipofílica.^{28,30}

Diferentes grupos de trabajo han desarrollado múltiples inhibidores de PTP-1B donde destacan grupos ácidos como el anillo de tiazolidindiona³¹, ácidos 2-carbometoxibenzoicos, ácidos oxalilaminobenzoicos³², derivados de ácido cinámico, tetrazoles y ácidos α -cetocarboxílicos²⁹. En nuestro grupo de trabajo se han desarrollado moléculas con fragmento ácido que han inhibido a PTP-1B como lo son **SER1**, una bencilidentiazolidindiona N-sustituída^{33,34}, **GHA-3**, un derivado de ácido fenilpropanoico³⁵ y **ACB-2**, una bencilidentiazolidindiona³⁶ (**Figura 13**).

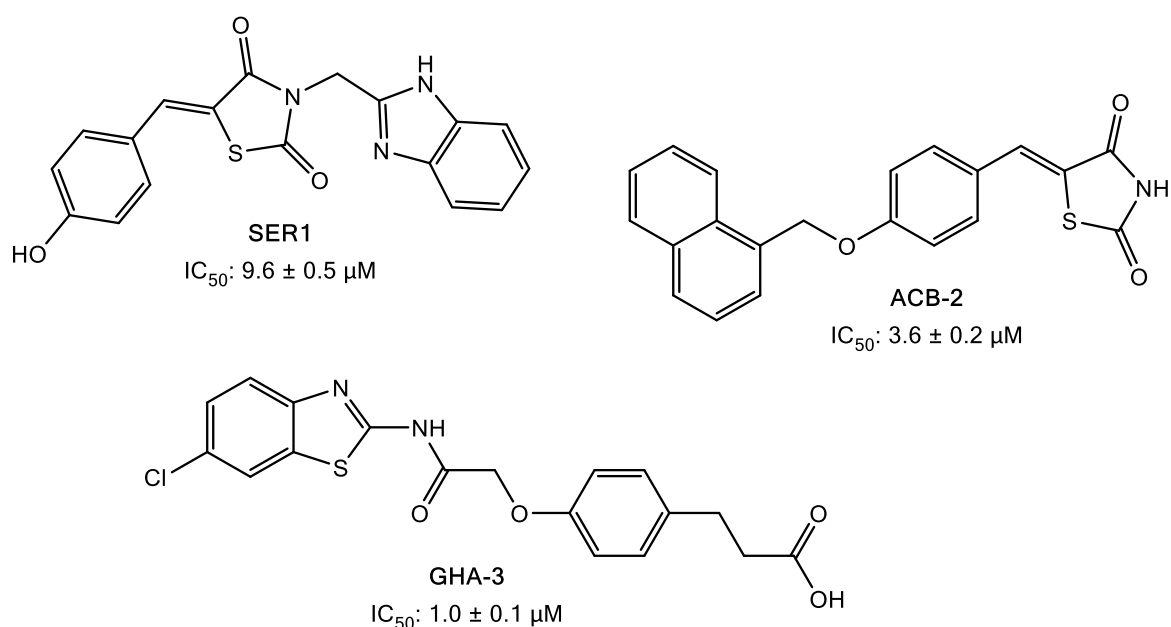


Figura 13. Moléculas desarrolladas en nuestro grupo de trabajo con actividad inhibitoria sobre PTP-1B

2.7.2 Aldosa reductasa

Varios estudios han revelado una relación entre el metabolismo de la glucosa a través de la vía de los polioles y las complicaciones de la DM2 a largo plazo. Aldosa reductasa, (AKR) es la primera enzima en esta vía que reduce la glucosa a sorbitol utilizando como cofactor a NADPH; al mismo tiempo la enzima sorbitol deshidrogenasa oxida al sorbitol en fructosa que utiliza como cofactor al NAD^+ (**Figura 14**). Sin embargo, en condiciones de DM2, el nivel de glucosa en esta vía aumenta y el sorbitol se produce más rápido de lo que se oxida a fructosa. Entonces la glucosa y el sorbitol se acumulan y no pueden atravesar la membrana celular fácilmente, por lo tanto causa hinchazón osmótica y disfunción celular en tejidos como nervios, el cristalino y células glomerulares. Además, hay incremento en la conversión de $NADH/NAD^+$ que resulta en la acumulación de triosas fosfato, lo que

conlleva a la formación de metilglioxal que forma productos de glicación avanzada capaces de causar un grave daño celular.^{37,38}

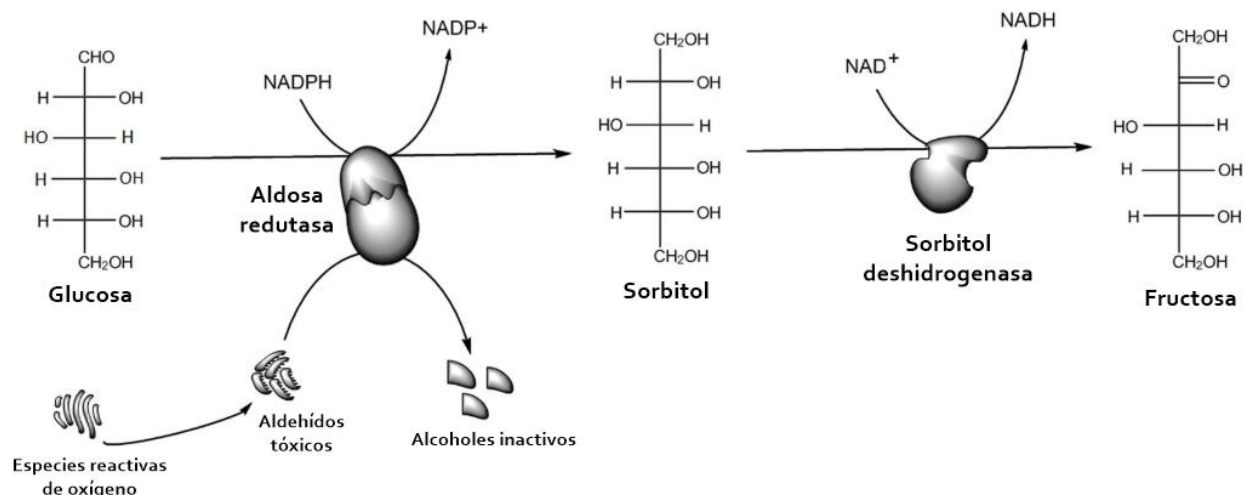


Figura 14. Vía de los polioles (modificado)³⁹

2.7.2.1 Inhibidores de aldosa reductasa

Se sabe que estos resultados metabólicos anormales en la vía de los polioles son responsables de las complicaciones diabéticas que se mencionaron anteriormente como cataratas, retinopatía, neuropatía y nefropatía, por lo tanto la inhibición de esta enzima ha recibido una gran atención como un objetivo terapéutico atractivo para el diseño de fármacos que sean capaces de contrarrestar el desarrollo de complicaciones diabéticas a largo plazo.

En la actualidad el inhibidor más conocido para esta enzima es tolrestat, un ácido carboxílico, que fue retirado del mercado debido al riesgo de toxicidad hepática grave que generaba en los pacientes.⁴⁰ Otro inhibidor conocido es sorbinilo, una espirohidantoína que resultó efectivo en el tratamiento de cataratas pero fue retirado debido a efectos cutáneos severos e hipersensibilidad¹³, en nuestro grupo de trabajo también se han desarrollado moléculas que han mostrado ser buenos inhibidores de AKR como lo es **MGJ-8**, un derivado del ácido 2-(4-hidroxifenoxi) propiónico⁴¹ y **ACB-7 (Figura 15)**, un derivado del ácido fenilpropanoico, que además tuvo un efecto polifarmacológico en otros targets involucrados en la DM2.⁴²

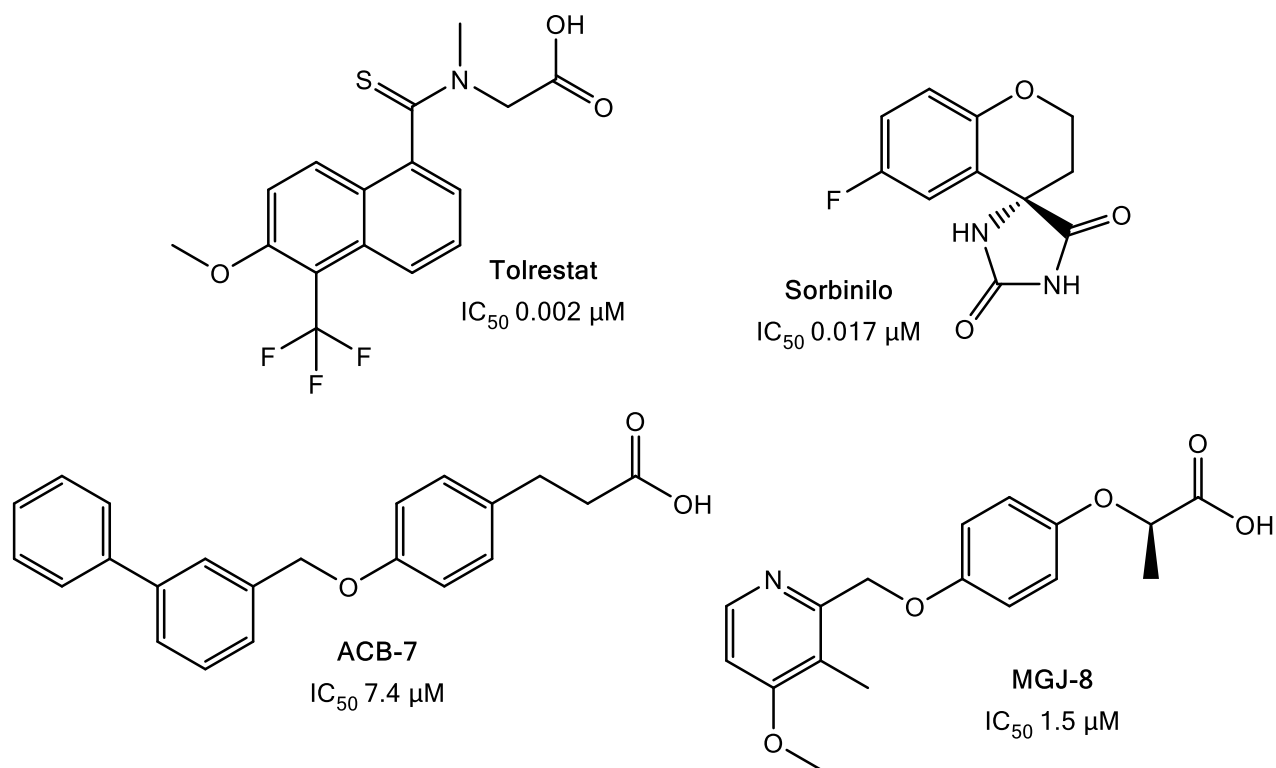


Figura 15. Algunos inhibidores de aldosa reductasa

2.7.3 GPR-40

GPR-40 o también llamado receptor de ácidos grasos libres (FFA1) pertenece a la clase A de la familia de los receptores acoplados a proteína G (GPCR). Se expresa principalmente en las células β pancreáticas y también en células enteroendocrinas. Este receptor no sólo está implicado en la secreción directa de insulina estimulada por la glucosa en las células β, sino que también estimula la liberación de GLP-1 en las células enteroendocrinas. Este mecanismo de acción dual proporciona una justificación para desarrollar agonistas de GPR-40 como secretagogos de insulina dependientes de glucosa para el tratamiento de la DM2.⁴³

Los ácidos grasos libres (FFAs) sólo estimulan la liberación de insulina en presencia de glucosa, en un estado metabólico alterado se tienen altas concentraciones de glucosa y de FFAs. La activación del GPR-40 por FFAs promueve el intercambio GDP/GTP en la subunidad G_{q/11} del receptor, lo que resulta en su desplazamiento de las subunidades β/γ. La subunidad G_{q/11} se une a la fosfolipasa C (PLC), este a su vez hidroliza PIP₂ a DAG e IP₃. El IP₃ se une a su receptor en el retículo endoplásmico y promueve la liberación de calcio intracelular, mientras que el DAG activa la PKD1 y conduce a una liberación posterior de insulina (**Figura 16**).^{3,44}

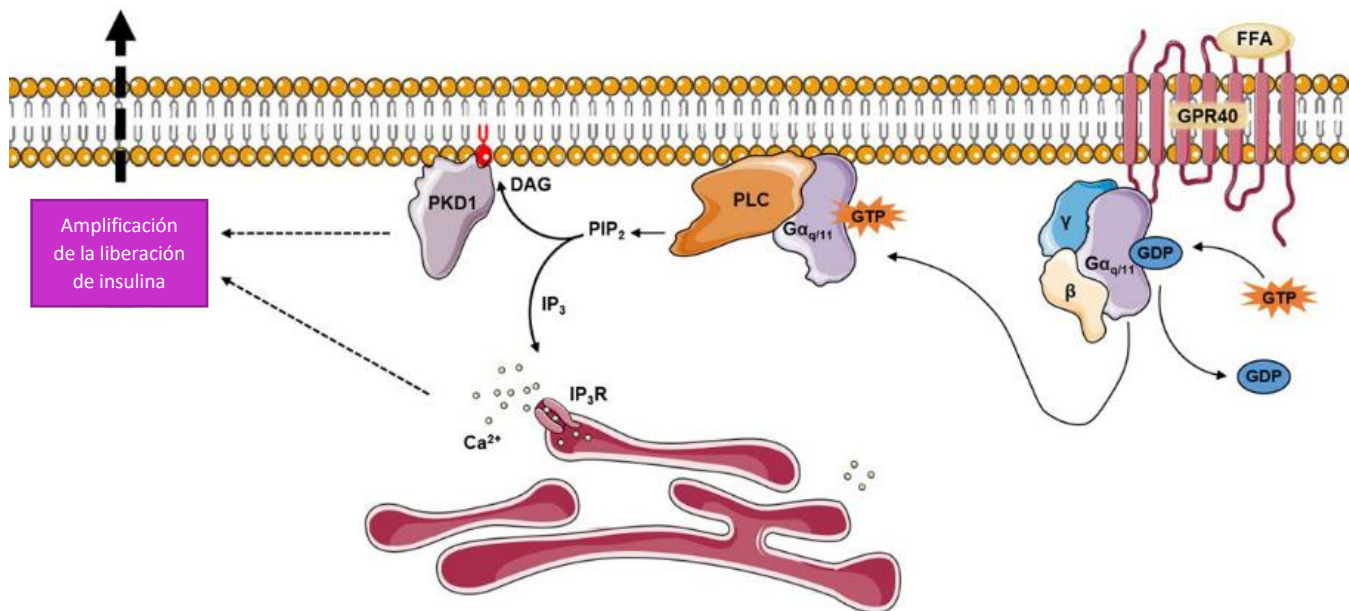


Figura 16. Mecanismo de liberación de insulina mediado por GPR-4 ⁴⁴

2.7.3.1 Agonistas de GPR-40

Los ácidos grasos de cadenas medias y largas son potentes activadores de GPR-40, compuestos que exhiben cambios en el grupo del ácido carboxílico, como los respectivos ésteres metílicos, resultaron inactivos en pruebas *in vitro*, lo que demostró que son necesarias las características ácidas de este grupo funcional para la actividad agonista.⁴⁴ Los agonistas generalmente son moléculas lipofílicas que contienen una funcionalidad de carboxilato o un bioisómero reconocible del mismo. Una característica común en estos agonistas reportados es un anillo arilo situado a dos átomos de distancia de un carboxilato o grupo equivalente.⁴⁵

Se han reportado numerosos agonistas para GPR-40 como lo es **TAK875**, **GW9508** y **AMG837**⁴⁶, los cuales además han tenido un excelente desempeño en pruebas tanto *in vitro* como *in vivo*. En nuestro grupo de trabajo también se han obtenido moléculas capaces de ser agonistas de este receptor como lo es **ACB-7** (**Figura 17**).⁴²

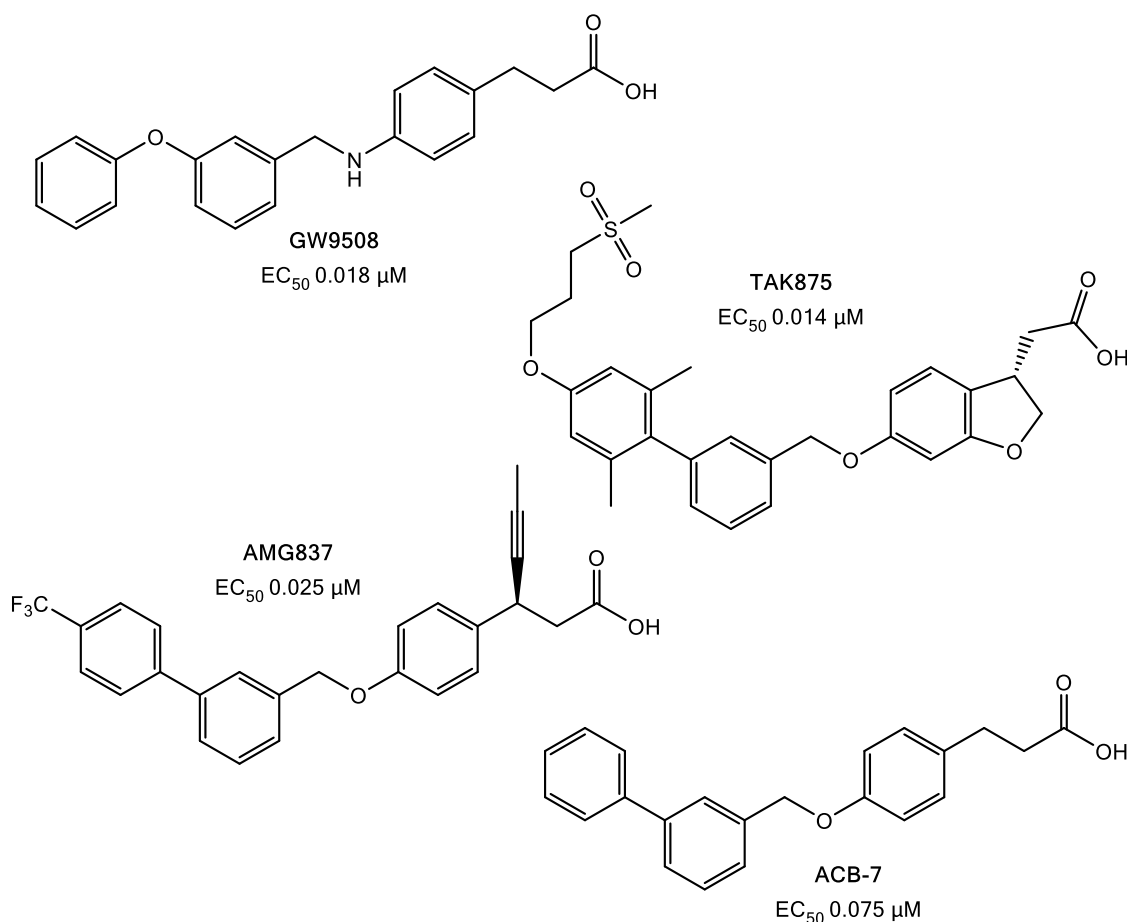


Figura 17. Algunos agonistas de GPR-40

2.8 Hidantoínas biológicamente activas

Diversos estudios han revelado que el anillo de hidantoína tiene actividad sobre múltiples dianas terapéuticas, inclusive se le ha denominado como un scaffold privilegiado⁴⁷, anteriormente se mencionó a sorbinilo (**Figura 18**), potente inhibidor de AKR que dentro de su estructura contiene al anillo de hidantoína, sin embargo su utilización solo quedó en ensayos preclínicos.

En la terapéutica actual podemos encontrar algunos fármacos con este scaffold como lo son la fenitoína y la fosfenitoína ambos utilizados como anticonvulsivos, nilutamida, un antiandrógeno utilizado en el tratamiento del cáncer de próstata, nitrofurantoína, un antimicrobiano utilizado en infecciones urinarias y dantroleno que es utilizado como relajante muscular⁴⁸ (**Figura 18**).

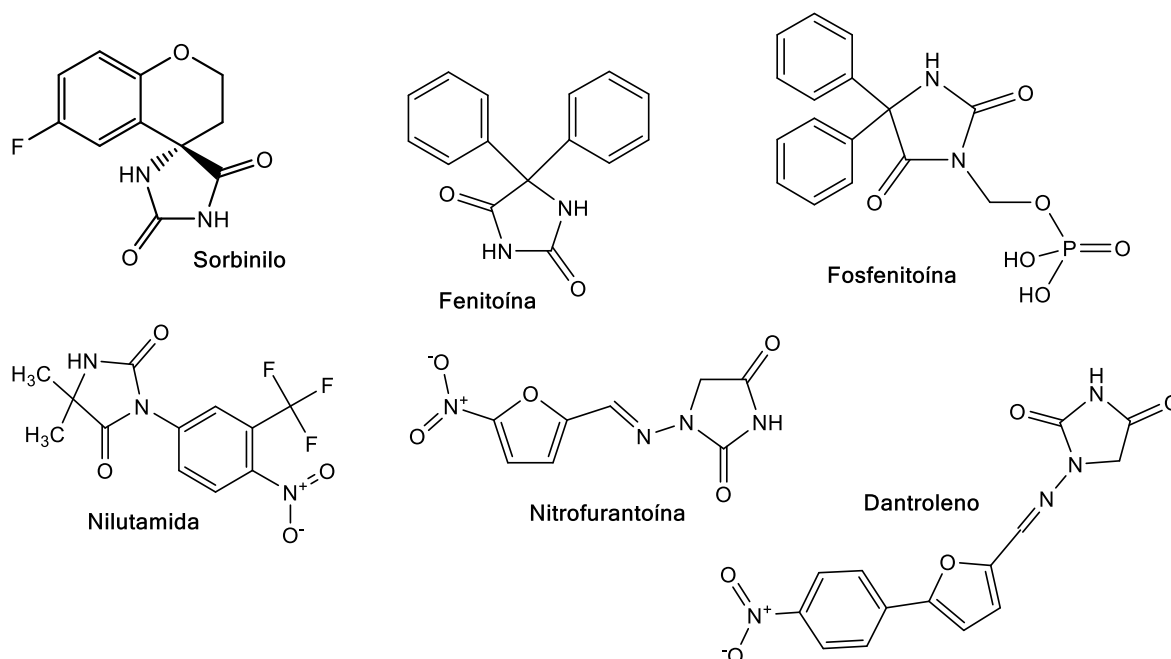


Figura 18. Fármacos que contienen el anillo de hidantoína

Por otro lado, Youssef y colaboradores encontraron hidantoínas con actividad antimicrobiana en una especie de esponja marina (*Hemimycale arabica*), dentro de las moléculas que identificaron como activas está el compuesto **1**, una becilidenhidantoína (**Figura 19**), esta molécula se encuentra presente en los compuestos presentados en este proyecto (**THA 1-3**). Además de que este grupo de trabajo encontró que el compuesto **1** mostró actividad citotóxica moderada contra células HeLa.⁴⁹

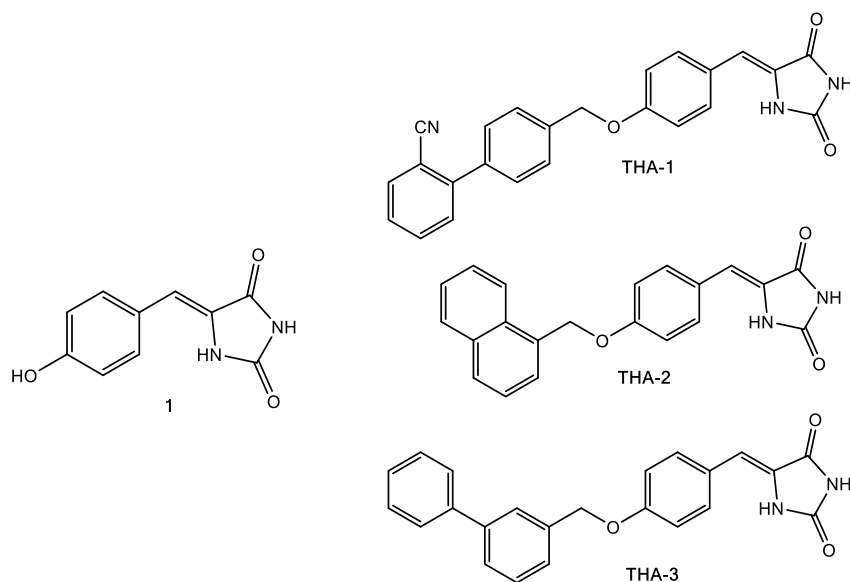


Figura 19. Comparación de estructuras entre la molécula **1** y los compuestos **THA 1-3**

3. JUSTIFICACIÓN

La alta incidencia de la DM2 es debida a los estilos de vida actuales de tipo sedentarios y así como un mal manejo por parte del sector salud hacia las campañas de prevención de la enfermedad. La terapia actual que se utiliza para el tratamiento de la DM2 es efectiva, sin embargo con el paso del tiempo los pacientes van generando una tolerancia al tratamiento y en algunos casos experimentan reacciones adversas graves. Por lo tanto es importante generar investigación sobre nuevas moléculas que puedan actuar sobre diversos blancos terapéuticos para abordar a la enfermedad en distintos estadios y así proveer al paciente una mejor calidad de vida.

Por otro lado, no se ha encontrado una molécula prometedora que pueda actuar como agonista de GPR-40 o como un inhibidor de PTP-1B. En este proyecto se pretende generar moléculas que puedan actuar como secretagogos de insulina dependientes de glucosa por medio de GPR-40, y favorecer positivamente la sensibilidad a la insulina y leptina a partir de la inhibición de PTP-1B y adicionalmente que sea capaz de inhibir a la enzima aldosa reductasa para tratar las complicaciones que se presentan los pacientes y así abordar la enfermedad por distintas vías.

4. HIPÓTESIS

Los compuestos de tipo hidantoína y bioisómeros ácidos serán ligandos de las enzimas PTP-1B y aldosa reductasa, así como del receptor GPR-40 manifestando efectos antidiabéticos.

5. OBJETIVOS

Objetivo particular

- Diseñar, sintetizar y evaluar *in silico* e *in vivo* los compuestos de tipo hidantoína y bioisómeros ácidos como ligandos de las enzimas PTP-1B y aldosa reductasa así como del receptor GPR-40.

Objetivos específicos

- Sintetizar y caracterizar los compuestos de tipo hidantoína y bioisómeros ácidos mediante técnicas espectroscópicas (RMN de ^1H y ^{13}C) y espectrométricas (EM).
- Efectuar ensayos *in silico* para conocer algunas propiedades farmacocinéticas y toxicológicas de los compuestos de tipo hidantoína y bioisómeros ácidos, haciendo uso de herramientas quimioinformáticas
- Realizar ensayos de acoplamiento molecular de los compuestos sobre GPR-40, PTP-1B y aldosa reductasa.
- Efectuar ensayos *in vivo* de los compuestos elegidos mediante el análisis farmacológico de consenso en un modelo murino experimental de diabetes no insulino dependiente.

6. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO MOLECULAR

Para el diseño molecular de los compuestos **THA 1-5**, se utilizaron los siguientes criterios quimio-farmacéuticos:

- Bases para el diseño molecular
- Bioisosterismo
- Reglas de Lipinski

Para este proyecto se tomaron como base dos moléculas, las cuales fueron sorbinilo inhibidor de la enzima aldosa reductasa y **AMG837** potente activador de GPR-40 (**Figura 20**). Estas dos moléculas fueron elegidas debido a su destacada actividad biológica, sorbinilo presenta una IC_{50} de $0.017 \mu M$ como inhibidor de AKR³⁷ y **AMG837** una EC_{50} de $0.025 \mu M$ como agonista de GPR-40⁴⁶, a este tipo de compuestos con actividades menores a $1 \mu M$ se les denomina compuestos *leads*.

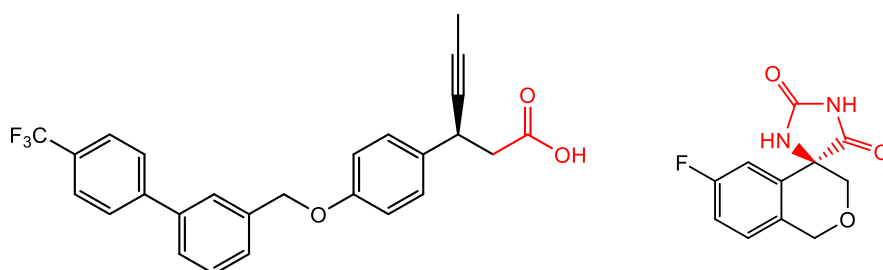
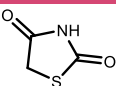

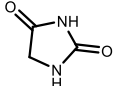


Figura 20. Moléculas utilizadas para el diseño de los compuestos **THA 1-5**, AMG837 (izquierda) y sorbinilo (derecha)

Es importante destacar que ambas moléculas tienen como farmacóforo a un grupo ácido, lo cuales comparten ciertas características fisicoquímicas y por lo tanto se pretende que tengan una actividad biológica parecida, lo cual conocemos como bioisosterismo.⁵⁰ En la **Tabla 1** se muestran algunas propiedades importantes de los bioisómeros ácidos utilizados en el proyecto comparados con el anillo de tiazolidindiona, *scaffold* destacable dentro de los compuestos con actividad antidiabética.⁵¹

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de bioisómeros ácidos

Estructura	pKa	tPSA	cLogP
	6.46	46.17	-0.54
	4.75	37.30	-0.19
	8.93	58.20	-1.69

Posterior a este análisis del grupo ácido, el siguiente paso fue utilizar el farmacóforo unificado para compuestos antidiabéticos que consta de los siguientes componentes (**Figura 21**):

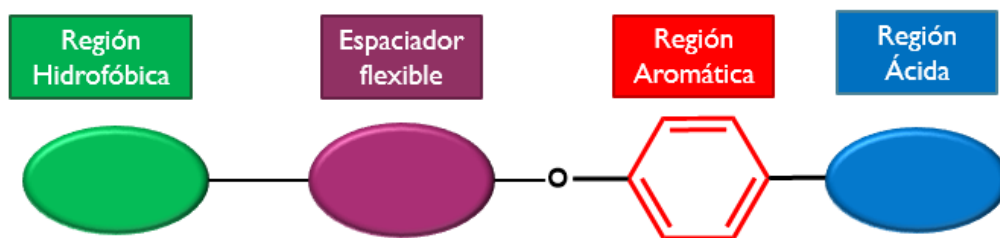


Figura 21. Farmacóforo unificado para compuestos antidiabéticos

Región ácida: es la parte más importante de este farmacóforo ya que mimetiza a los ácidos carboxílicos de los ligandos endógenos que permite interacciones importantes con aminoácidos básicos en los receptores o enzimas para favorecer la unión.

Región aromática: está unido estrechamente con la región ácida y adicionalmente permite interacciones de tipo π - π .

Espaciador flexible: le da la molécula grados de libertad para tomar conformaciones tipo "U" y así poder ensamblar en el sitio activo del blanco terapéutico.

Región hidrofóbica: permite interacciones no polares con algunos residuos del sitio activo y así favorecer la energía de unión.

A partir de los conocimientos descritos anteriormente se realizaron cambios estructurales apropiados utilizando criterios de bioisosterismo que se describirán a continuación. Como se mencionó anteriormente **AMG837** es un agonista del receptor GPR-40 descubierto por la farmacéutica Amgen. Para llegar hasta la molécula final partieron desde un estudio de high-throughput screening (HTS) donde iniciaron explorando la parte ácida de una serie de compuestos fenilpropiónico β -sustituidos, hicieron diferentes sustituciones en la posición β al carbonilo donde obtuvieron que la molécula con el grupo 2-butino unido en esta posición, poseía la mejor actividad sobre el receptor.

Posteriormente se dedicaron a realizar cambios en la parte de la cola hidrofóbica, dentro de los cambios más significativos y con mejores resultados en pruebas *in vitro* fue adicionar un anillo aromático a la cola, donde este segundo anillo se encontrará en posición *meta* y con un grupo trifluorometilo en posición *para*. Así pues se encontró a la molécula **AMG837**, a la cual ya se le ha determinado propiedades farmacocinéticas en rata, ratón, perro y mono, donde presenta una baja depuración, una larga vida media y una alta biodisponibilidad oral en las cuatro especies preclínicas ensayadas.⁴⁵

En adición a la información anterior nuestro grupo de trabajo también ha obtenido moléculas con el grupo fenilpropanoico como **ACB-7**³⁶ y **MGD-14**⁵², así como moléculas derivadas del ácido fenoxipropanoico β -sustituidas como lo es el caso de **MGJ-5**⁴¹ y **AGH-2**³⁵ (**Figura 22**), las cuales mostraron muy buena actividad *in vitro* como *in vivo*. La sustitución de la cola hidrofóbica con dos anillos aromáticos es típicamente usada ya que han sido los compuestos con la mejor actividad biológica como por ejemplo **ACB-7** y **SHF1**.^{34,53}

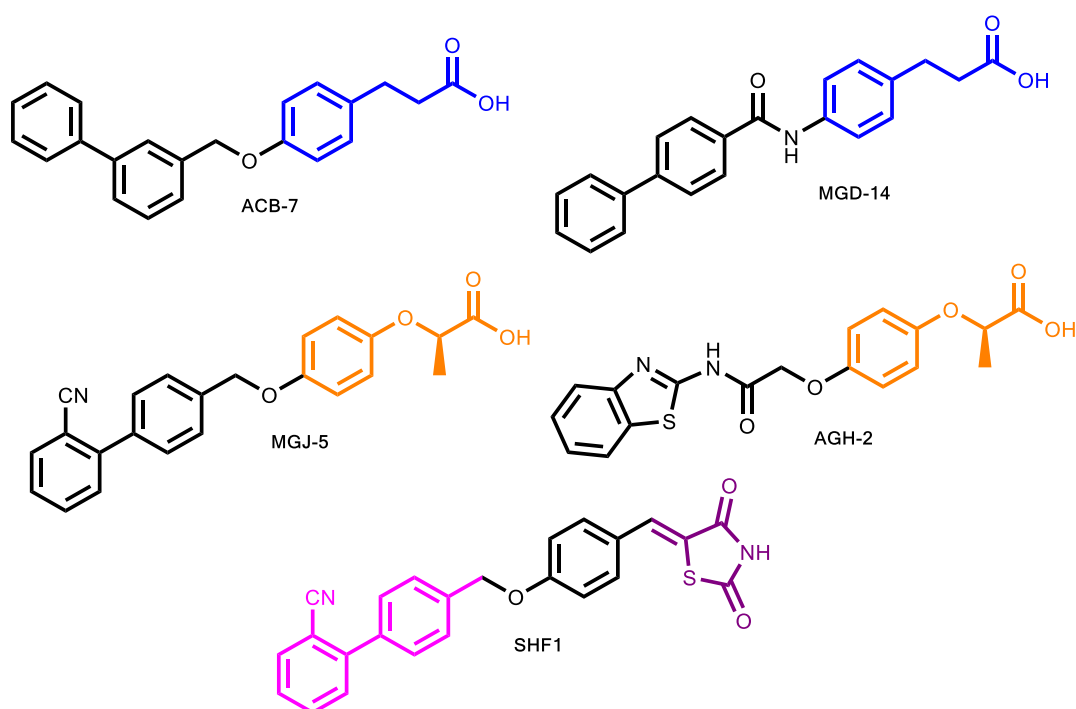


Figura 22. Moléculas sintetizadas en nuestro grupo de trabajo utilizadas en el diseño de los compuestos **THA 1-5**

Teniendo todo el conocimiento anteriormente descrito se determinó realizar dos series de moléculas donde el cambio estructural de mayor impacto estaría dado en la parte ácida. La primera serie (**THA 1-3**) tendría al anillo de hidantoína, debido a que al realizar un reemplazamiento bioisostérico clásico de azufre por nitrógeno en el anillo de TZD, se obtendrían moléculas que podrían interactuar tanto con aldosa reductasa y PTP-1B, con altas probabilidades de ser ligandos de GPR-40 debido a las características del patrón farmacofórico unificado, es importante destacar que anteriormente en nuestro grupo de trabajo se han obtenido moléculas con el ácido barbitúrico, homólogo superior de la hidantoína, que han sido capaces de activar al receptor GPR-40.⁵⁴

Por otro lado, tenemos a la segunda serie (**THA 4-5**) donde serían compuestos derivados del ácido de Meldrum, manteniendo las características ácidas necesarias y además esperando la formación de un profármaco al suceder la *O*-desalquilación del ácido de Meldrum, quedando un fragmento derivado del ácido ferúlico con esto

se estaría buscando una molécula que fuera equipotente a la descubierta por Amgen.

Dentro de los cambios realizados en la parte de la cola hidrofóbica se realizaron de tres tipos, la primera donde se tiene al bifenilcarbonitrilo, fragmento tomado de la molécula **SHF1** que anteriormente ya se mencionó su destacada actividad biológica y bajo el criterio de fusión de anillos se obtiene el fragmento de naftilo.

Posteriormente se utilizaron los criterios de Lipinski para evaluar las propiedades fisicoquímicas de los compuestos **THA 1-5**, con el fin de que estas propiedades cumplan con lo establecido para ser compuestos candidatos a fármaco y así poder garantizar la llegada a su sitio de acción.

Para valorar las propiedades fisicoquímicas de las moléculas **THA 1-5**, se utilizó el programa en línea Molinspiration Cheminformatics⁵⁵ (**Figura 23**) el cual ofrece una variedad de herramientas como la evaluación del espectro de actividad de moléculas, un constructor y visualizador de moléculas, entre otras. Para este caso se utilizó el cálculo de propiedades moleculares donde evalúa los criterios establecidos por las reglas de Lipinski⁵⁶, así como el número de violaciones a estas.

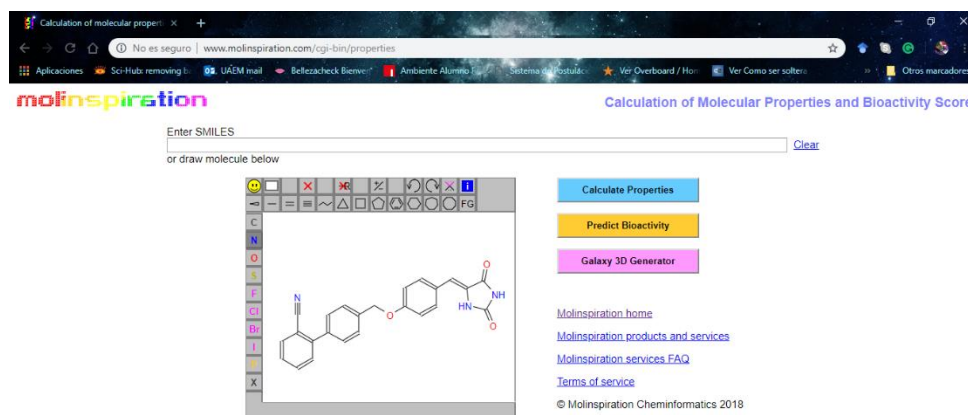
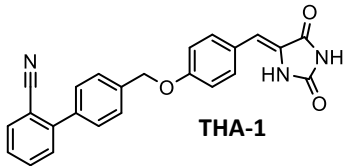
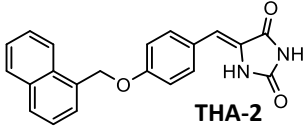
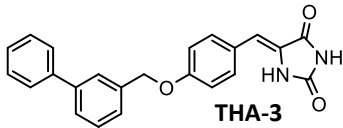
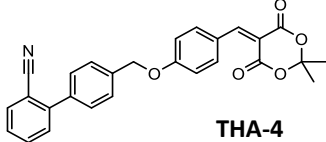
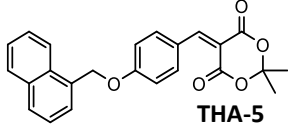


Figura 23. Programa Molinspiration Cheminformatics online (<http://www.molinspiration.com/>)

En la **Tabla 2** se pueden apreciar los resultados arrojados por este programa donde se observa los compuestos con el ácido de Meldrum presentan una violación a las reglas, esto se debe al miLogP que es mayor a 5 pero a pesar de esto se considera que tendrán una buena absorción y serán permeables a la membrana celular, al igual que los demás compuestos.

Tabla 2. Propiedades de los compuestos finales calculados en el programa Molinspiration

Molécula	miLogP	TPSA	PM	nON	nOHNH	No. de violaciones
 <p>THA-1</p>	3.89	98.75	395.42	6	2	0
 <p>THA-2</p>	3.55	74.96	344.37	5	2	0
 <p>THA-3</p>	4.16	74.96	370.41	5	2	0
 <p>THA-4</p>	6.14	85.64	439.47	6	0	1
 <p>THA-5</p>	5.79	61.84	388.42	5	0	1

7. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Este trabajo está dividido en tres partes:

- **Parte química:** Fue realizada en el Laboratorio 5 de Química Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (FF-UAEM). En donde se llevaron a cabo las consideraciones para el diseño de las moléculas a sintetizar, seguido por el análisis retrosintético y la síntesis química. Los análisis de Resonancia Magnética Nuclear: ^1H y ^{13}C y espectrometría de masas (ionización por impacto electrónico) se realizaron en colaboración con el Dr. Emanuel Hernández Núñez del departamento de Recursos del Mar CINVESTAV Unidad Mérida y la cristalografía de Rayos X se realizó en colaboración con el Dr. Hugo Tlahuext Romero del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (CIQ-UAEM).
- **Parte *in silico*:** Está conformada por la predicción de la actividad biológica utilizando el programa PASS (por sus siglas en inglés Prediction of Activity Spectra of Substances: predicción del espectro de actividad de sustancias), estimación de propiedades ADMET (admetSAR), toxicidad aguda (ACD/ToxSuite), docking inverso en 18 dianas terapéuticas importantes en la DM II (DIA-DB) y la predicción del blanco terapéutico en moléculas bioactivas (SwissTargetPrediction).

Se realizaron dos tipos de acoplamiento molecular de los compuestos obtenidos con el receptor GPR-40 y las enzimas aldosa reductasa y PTP-1B, los programas utilizados fueron Autodock Vina y MOE; que fueron llevados a cabo bajo la asesoría del L.F. Edgar Rosales Ortega y el Dr. Gabriel Navarrete Vázquez en el Laboratorio 5 de la Facultad de Farmacia (FF-UAEM).

- **Parte Farmacológica:** Ensayos *in vivo*. Se realizó en colaboración con el Dr. Samuel Enoch Estrada Soto del Laboratorio 12 de la Facultad de Farmacia (FF-UAEM) bajo la asesoría de la cDra. Fabiola Chávez Silva y la L.F. Kathia Gisela Ornelas Mendoza en el animalario de la Facultad de Farmacia (FF-UAEM). También se realizaron bajo la asesoría del Dr. Elix Alberto Domínguez Mendoza del Laboratorio 5 de la Facultad de Farmacia (FF-UAEM) en el animalario de la misma institución.

7.1 Parte química

En la síntesis química es de suma importancia establecer correctamente las rutas de síntesis de los compuestos deseados, es por ello por lo que se debe de realizar un análisis retrosintético para conocer las materias primas a utilizar. En la **Figura 24** podemos observar el análisis para las moléculas **THA 1-3** pertenecientes a la serie hidantoína:

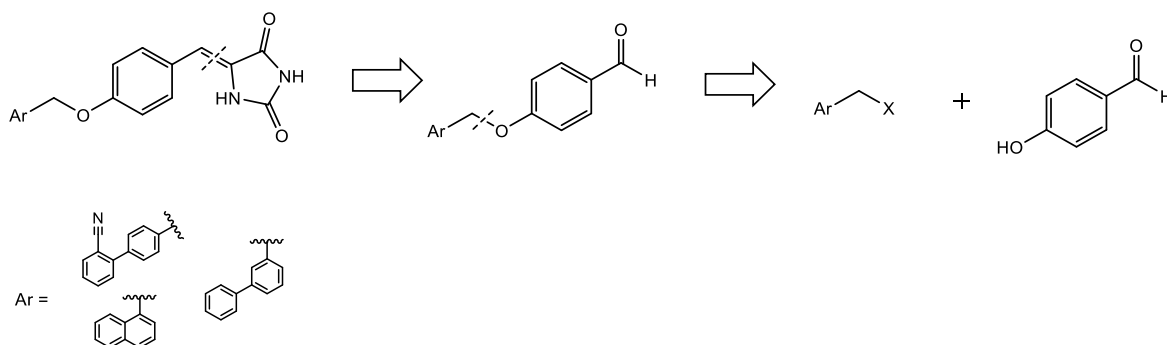


Figura 24. Análisis retrosintético para las moléculas **THA 1-3**

Como primer paso se realizó la desconexión en el bencilideno para obtener el compuesto aldehído-éter y el anillo de hidantoína, seguido se realizó una desconexión entre el carbono y el oxígeno del enlace éter obteniendo al 4-hidroxibenzaldehído y los correspondientes halogenuros de metil arilo, así teniendo materias primas comercialmente disponibles.

En la **Figura 25** podemos observar el análisis retrosintético para las moléculas **THA 4-5** de la serie ácido de Meldrum.

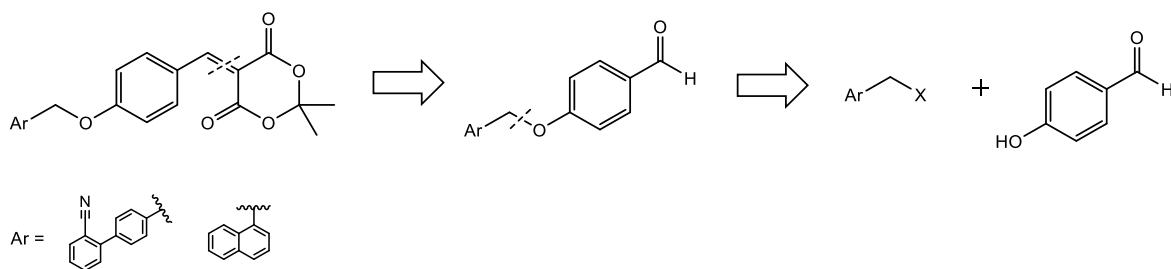


Figura 25. Análisis retrosintético para las moléculas **THA 4-5**

Se inició realizando una desconexión en el anillo bencilideno obteniendo el correspondiente aldehído-éter y el ácido de Meldrum, luego se realizó una desconexión entre el carbono y el oxígeno del enlace éter obteniendo al 4-hidroxibenzaldehído y los correspondientes halogenuros de metilarilo, así teniendo materias primas comercialmente disponibles.

7.2 Síntesis química

La síntesis de los compuestos **THA 1-5** se dividirán en dos series: la primera pertenece a los compuestos con el fragmento hidantoína (**THA 1-3**) y la segunda serie formado por los compuestos con el ácido de Meldrum (**THA 4-5**).

7.2.1 Metodología para la síntesis general de los compuestos **THA 1-3**

Para la primera serie se realizarán reacciones de tipo S_N2 donde se partirá desde el 4-hidroxibenzaldehído (**7**) y los intermediarios **8-10** para obtener los precursores **11-13**, seguido se realizará una condensación de Knoevenagel entre los precursores obtenidos (**11-13**) y el anillo de hidantoína para obtener los compuestos finales **THA 1-3** (Figura 26).

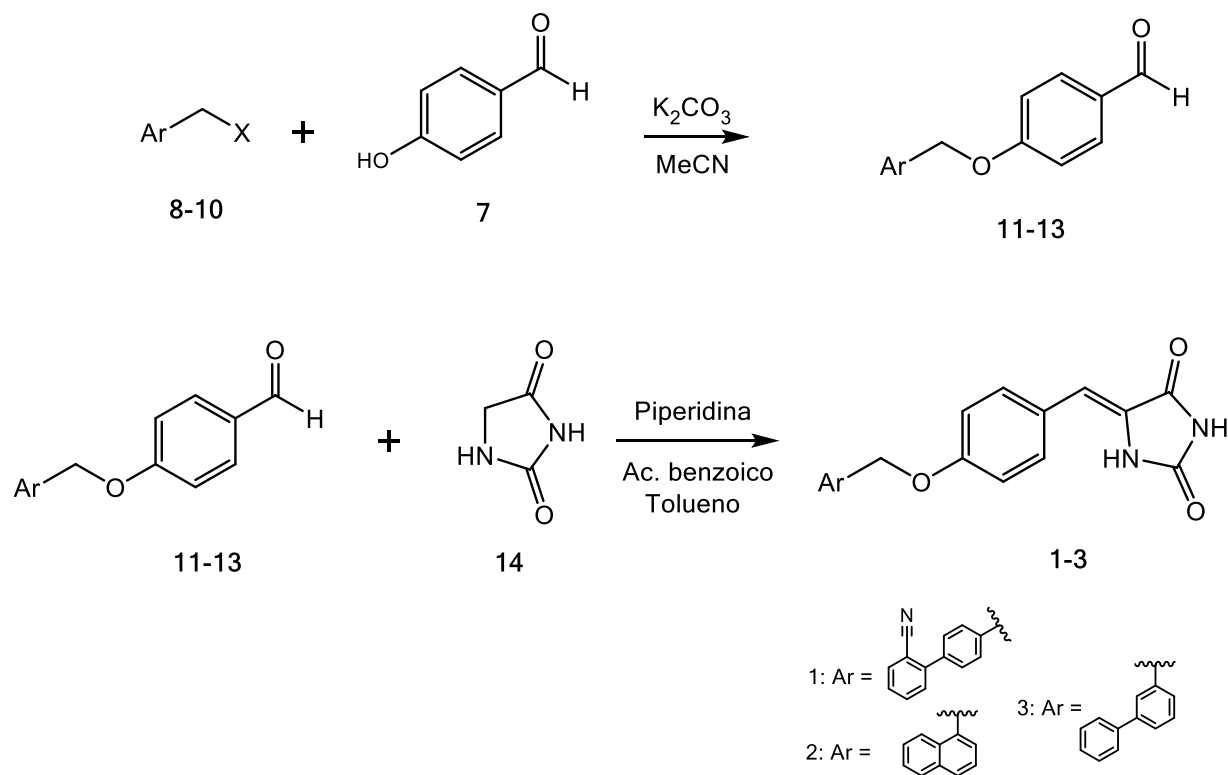


Figura 26. Síntesis general de los compuestos de tipo hidantoína (**THA 1-3**)

7.2.2 Metodología para la síntesis general de los compuestos **THA 4-5**

Para la segunda serie se iniciará con reacciones de tipo S_N2 donde se partirá desde el 4-hidroxibenzaldehído (**7**) y los intermediarios **8-9** para obtener los precursores **11-12**, posteriormente se realizará una condensación de Knoevenagel entre el metileno del ácido de Meldrum (**15**) y el aldehído de los precursores **11-12**. para obtener los compuestos finales **THA 4-5** (**Figura 27**).

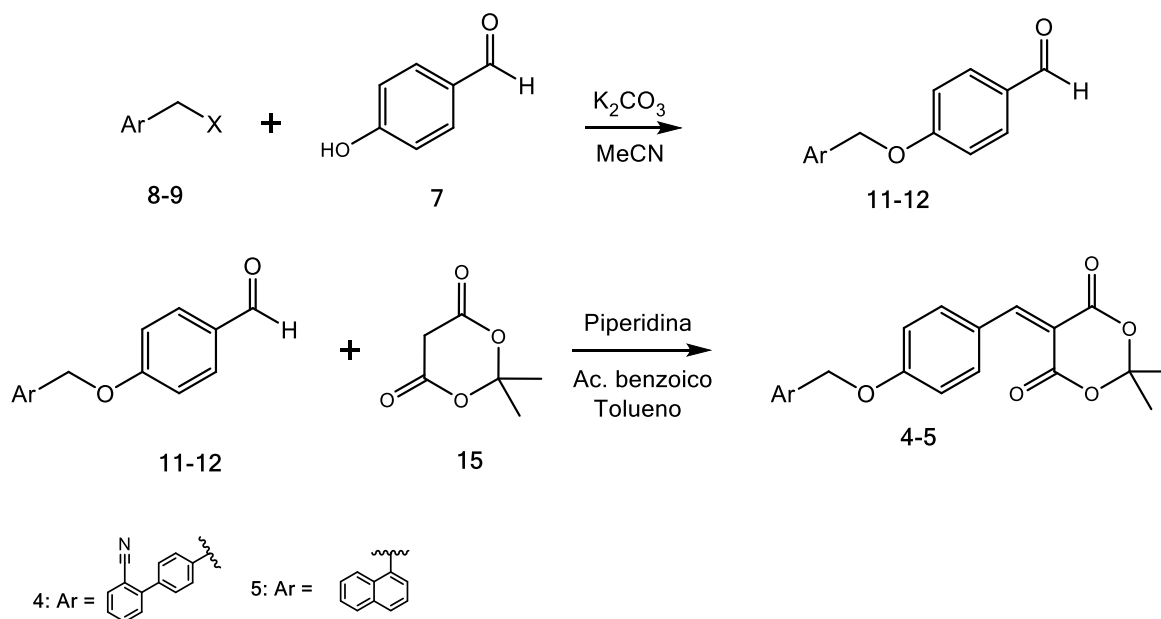


Figura 27. Síntesis de los compuestos de tipo bioisómeros ácidos (**THA 4-5**)

7.2.3 Caracterización estructural de los compuestos precursores y compuestos finales

Los compuestos finales **THA 1-5** sintetizados y purificados fueron identificados y caracterizados estructuralmente mediante Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (^1H y ^{13}C) y Espectrometría de Masas por ionización por impacto electrónico; mientras que para el compuesto **THA-5** debido a su arreglo cristalino fue posible determinar su estructura por medio de cristalografía de rayos X.

7.3 Parte *in silico*

7.3.1 admetSAR

Es importante conocer los procesos involucrados a los cuales una molécula bioactiva es sometida hasta la llegada a su receptor.

El servidor web admetSAR (**Figura 28**) calcula algunos parámetros farmacocinéticos de los compuestos y así mismo brinda información sobre la toxicidad que estos compuestos puedan presentar. Esto lo lleva a cabo a través de un estudio predictivo relación estructura-actividad cuantitativo de alta calidad que puede ser utilizado para evaluar moléculas bioactivas, así como productos químicos ambientales, entre otros.⁵⁷

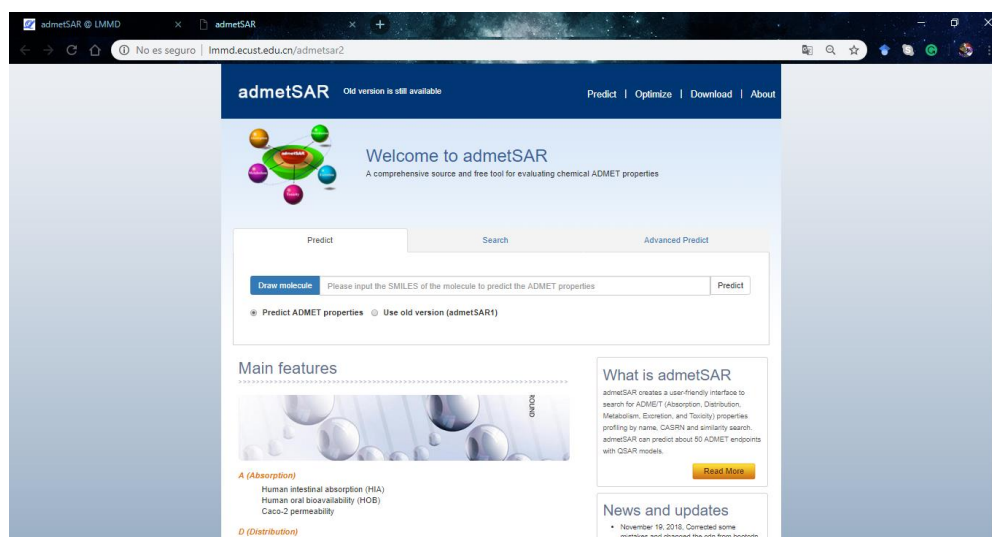


Figura 28. Interfaz de admetSAR

7.3.2 PASS online

El servidor web en línea PASS (**Figura 29**) es un software en línea utilizado como un instrumento para evaluar el potencial biológico general de los compuestos diseñados, además proporciona predicciones simultaneas de múltiples tipos de actividad biológica basado en la estructura de los compuestos orgánicos.

Esta herramienta brinda un pronóstico en más de 4000 tipos de actividades biológicas y se basa en estudios de relación estructura-actividad y se considera como un tipo de target fishing. Es importante mencionar que los resultados son dados en probabilidades de ser activo (P_a) y probabilidades de ser inactivo (P_i) con lo cual se determina la posible actividad de un compuesto.⁵⁸

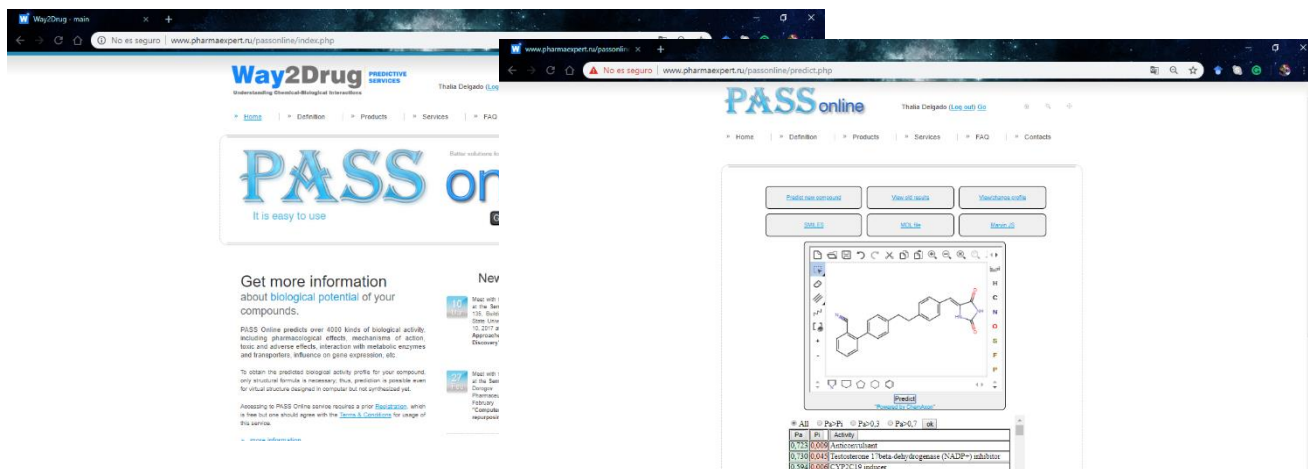


Figura 29. Página web de PASS online

7.3.3 ACD/Tox suite

La toxicidad es una propiedad muy importante cuando se diseñan compuestos bioactivos, por lo que tener un programa que pueda predecir los posibles efectos tóxicos resulta ventajoso ya que nos advertirá si una molécula es potencialmente dañina y por lo tanto detener su investigación.

ACD/ToxSuite (**Figura 30**) es un programa computacional el cual requiere la compra de una licencia. Nos ofrece la posibilidad de calcular algunos datos importantes sobre toxicidad aguda de nuestros compuestos haciendo uso de estudios de relación estructura-actividad cuantitativa (QSAR). Entre sus características calcula el bloqueo sobre los canales hERG, la inhibición de algunas isoformas del CYP450 importantes en el metabolismo de fármacos, además detecta estructuras que generen toxicidad, entre otras funciones.⁵⁹

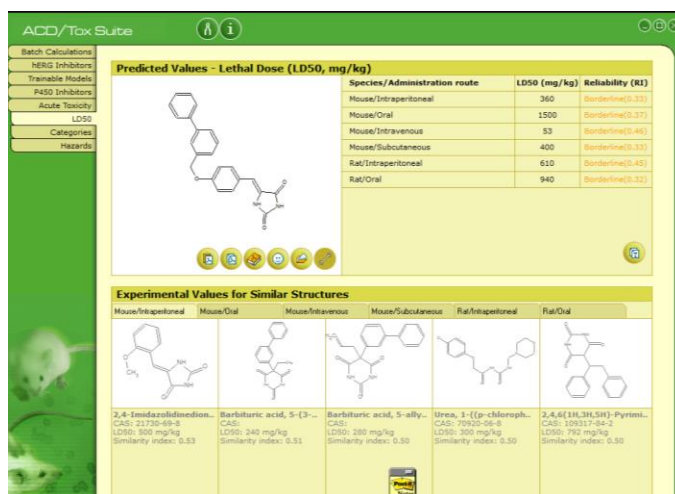


Figura 30. Programa ACD/Tox suite

7.3.4 DIA-DB

Como ya se abordó con anterioridad la DM2 es una enfermedad metabólica donde está comprometida el metabolismo de la glucosa y su utilización, la bioquímica detrás es bastante amplia y compleja ya que existen diversas dianas terapéuticas involucrados en la fisiopatología de la enfermedad. Por tanto, resulta útil conocer si las moléculas diseñadas presentarán afinidad sobre otros targets además de para el cual fueron desarrolladas.

El servidor web DIA-DB (**Figura 31**) se ha desarrollado para encargarse de evaluar compuestos sobre 18 dianas terapéuticas importantes en la DM2 mediante dos enfoques diferentes; por un lado, compara la semejanza de los compuestos a probar con los fármacos ya existentes para el tratamiento de la DM2 y por el otro realiza un screening virtual inverso de los compuestos a probar contra targets identificados como elementos clave en la enfermedad.

Por lo tanto con el uso de esta herramienta, además de confirmar la afinidad que tendrán los compuestos diseñados para su receptor, podemos conocer otros posibles targets involucrados en la patología de la DM2 a los cuales serán afines a nuestras moléculas.⁶⁰

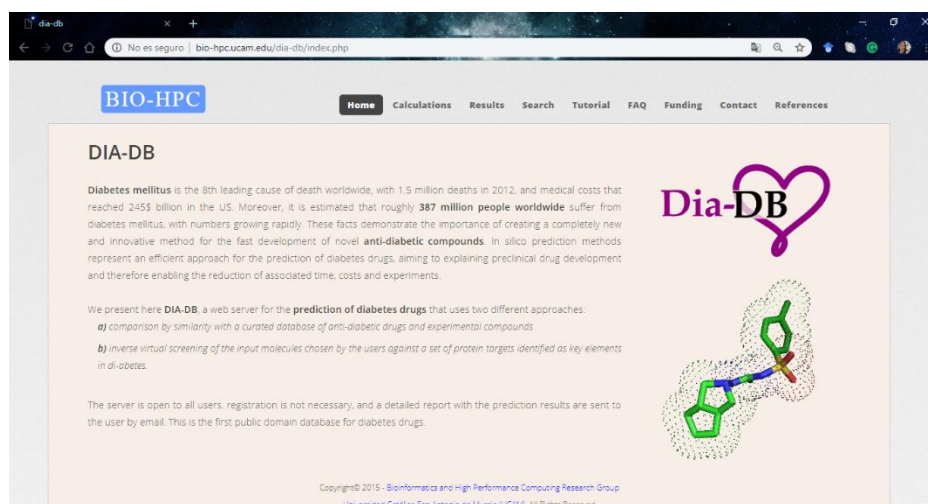


Figura 31. Servidor web DIA-DB

7.3.5 SwissTargetPrediction

Conocer los mecanismos de acción de una molécula bioactiva es de gran importancia ya que con esto se puede predecir ciertos posibles efectos secundarios o reacciones cruzadas. El servidor SwissTargetPrediction (**Figura 32**) ayuda a predecir las dianas terapéuticas de las que los compuestos diseñados podrían ser

ligandos, usando una composición de similitud de criterios en 2D y 3D con ligandos conocidos.

Este servidor tiene la ventaja que ofrece que los compuestos pueden ser evaluados en cinco organismos diferentes (humano, rata, ratón, vaca y caballo). Algunas de las predicciones están basadas en la homología de proteínas y se encuentra habilitada para su estimación en parálogos y ortólogos, por lo que podríamos denominar a este tipo de estudio como un high-throughput screening inverso, la única desventaja es que para moléculas nuevas este programa no es tan preciso debido que solo brinda una información de similitud estructural, mas no un anclaje a la proteína como tal.⁶¹

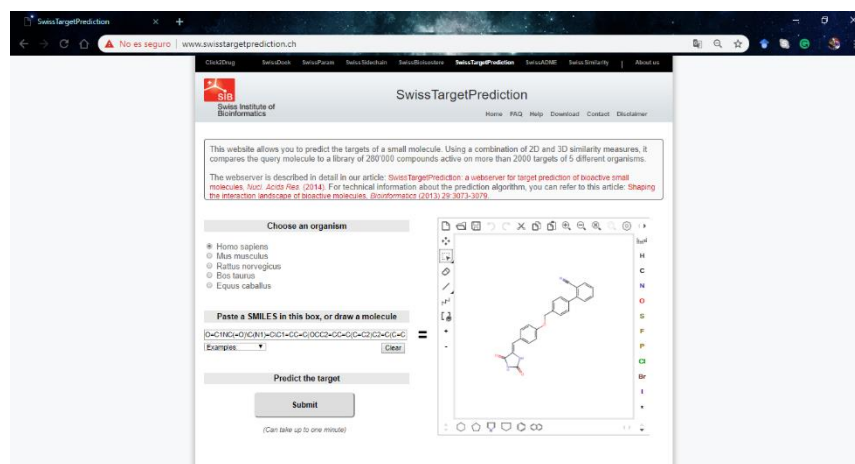


Figura 32. Página web de SwissTargetPrediction

7.3.6 Acoplamiento molecular

El uso del diseño molecular de compuestos bioactivos asistido por computadora para el desarrollo de mejores terapias, una mejor comprensión de la estructura y función de proteínas ya está bien establecida. Estas técnicas han tenido un impacto directo en la creación de nuevos fármacos en el mercado. Estos estudios se han basado en la teoría antigua de “cerradura y llave”, donde se toma la diversidad conformacional del ligando en cuestión, pero el sitio de unión ya sea una enzima o receptor, este se considera rígido.⁶²

El objetivo del acoplamiento molecular es dar una predicción del complejo de ligando-receptor utilizando algunos métodos de cálculo. El docking o acoplamiento molecular se puede lograr a través de dos pasos: el primero, mediante el muestreo de las conformaciones del ligando en el sitio activo de la proteína y el segundo, la clasificación de estas conformaciones a través de una puntuación dada. Idealmente, los algoritmos de muestreo deben ser capaces de reproducir el modo de unión

experimental y la función de puntuación también se deben clasificar más alto entre todas las conformaciones generadas.⁶³

Los programas que realizan acoplamiento molecular tienen en común que buscan esa conformación ideal ligando-proteína, en lo que difieren es en la calificación que otorgan a esta conformación y la energía calculada que tendrá dicha unión. Existen tres tipos de *scoring function* o función de puntuación, la primera es por campos de fuerza que se desarrollan sobre la base de las interacciones atómicas físicas, incluidas las interacciones de van der Waals, las interacciones electrostáticas y las fuerzas de estiramiento, flexión y torsión de la unión, una limitante en las funciones de puntuación del campo de fuerza es cómo tratar el disolvente en la unión de ligandos. Los programas que utilizan este tipo de función son DOCK, Autodock, y GOLD entre otros.

Un segundo tipo son las funciones de puntuación empíricas, que estiman la afinidad de unión de un complejo a partir de un conjunto de términos energéticos ponderados, es decir realiza una sumatoria de diferentes términos energéticos como energía de van der Waals, electrostática, de enlaces de hidrógeno, entropía, hidrofobicidad entre otros para luego ser corregido por un coeficiente calculado a partir de los datos de afinidad de unión de un conjunto de complejos proteína-ligando con estructuras tridimensionales conocidas. En comparación con las funciones de puntuación del campo de fuerza, las funciones de puntuación empírica son mucho más rápidas en los cálculos de puntuación de unión debido a la simplificación de los términos energéticos. Los programas que utilizan este *score function* son FlexX, Glide y MOE por mencionar algunos.

Finalmente tenemos a las funciones de puntuación basadas en el conocimiento o basadas en el potencial estadístico, que emplean potenciales energéticos que derivan de la información estructural incorporada en las estructuras atómicas determinadas experimentalmente. El principio detrás de este tipo de funciones es simple: los potenciales por pares se obtienen directamente de la frecuencia de ocurrencia de los pares de átomos en el sistema. En comparación con el campo de fuerza y las funciones de puntuación empírica, las funciones de puntuación basadas en el conocimiento ofrecen un buen balance entre precisión y velocidad, por lo cual es el método más recomendable de utilizar, programas como ITScore, DrugScore y GOLD/ASP utilizan este tipo de *score function*.⁶⁴

Es recomendable realizar un *scoring* por consenso, es decir, utilizar al menos dos metodologías diferentes para evaluar los acoplamientos moleculares y así dar más robustez al cálculo, por lo tanto si los resultados con ambos programas logran correlacionar en cuanto a las moléculas con el mejor score de unión y las mejores interacciones se aproxima a una mejora en la predicción de la unión del ligando con su receptor.⁶⁵

Para este fin se utilizaron las metodologías de dos programas el primero: Autodock vina (**Figura 33**), este programa tiene la ventaja de que es un proceso rápido y su

score function está basado por campos de fuerza. Este software tiene su versión libre, la única limitante es que para un mejor funcionamiento debe de utilizarse en el sistema operativo Linux y puede ser descargado desde <http://vina.scripps.edu/download.html>.⁶⁶

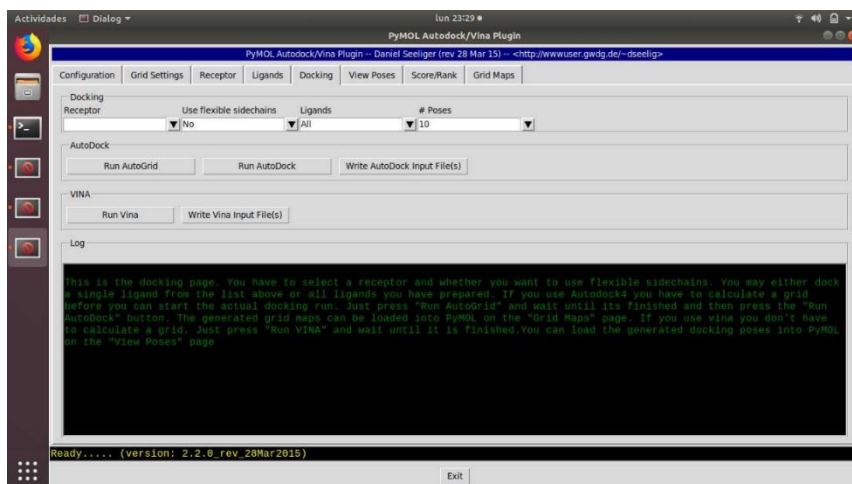


Figura 33. Programa Autodock vina

Como segundo programa se utilizó MOE (Figura 34), el cual requiere de licencia para su uso. Dentro de las ventajas que presenta es que se pueden evaluar bases de datos de conformaciones o moléculas diferentes y opcionalmente, las poses generadas se pueden limitar para satisfacer los requerimientos de un farmacóforo con el fin de sesgar la búsqueda hacia interacciones importantes conocidas. Además posee una interfaz optimizada basada en escenarios para acoplamiento de ligandos covalente y acoplamiento guiado por patrones basado en el conocimiento.⁶⁷

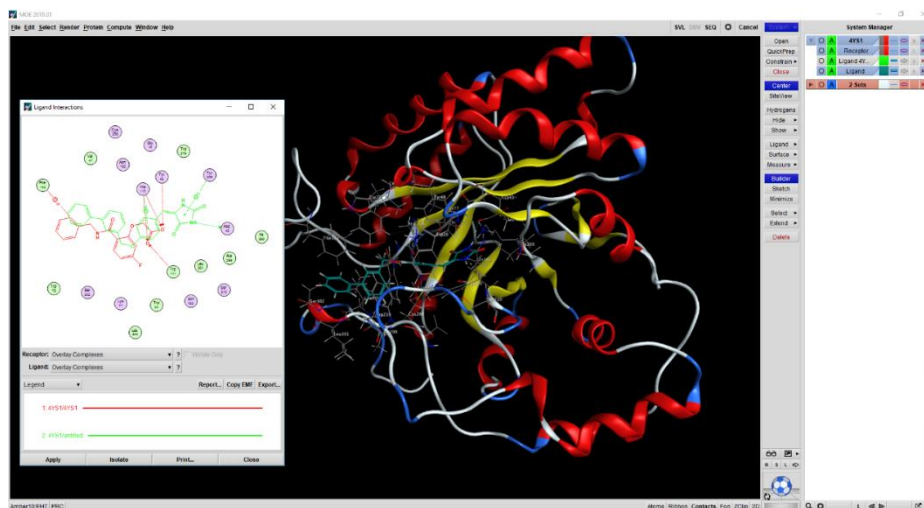


Figura 34. Programa MOE

7.4 Parte *in vivo*

7.4.1 Evaluación biológica en un modelo murino no insulino-dependiente

Se utilizarán ratones ICR (CD1) de 30-40 g, serán mantenidos bajo condiciones estándar de laboratorio (ciclos 12 h día/noche, 25°C, humedad 45-65%). Todos los procedimientos serán conducidos de acuerdo con la NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

La DM2 será inducida por una dosis única de nicotinamida (20mg/kg) disuelta en agua destilada, 15 minutos después se administrará estreptozotocina a una dosis única de 100 mg/kg disuelta en buffer de citratos 1M y pH 4.5. Transcurridas 72 horas, se monitorean los niveles de glucosa utilizando un glucómetro convencional y se tendrá que observar un aumento en la glucemia en ayudo de los ratones en el rango de mayor a 150 mg/dL y menores a 250 mg/dL.

Los ratones se dividirán en 3 grupos (grupo vehículo, control y de prueba), al grupo vehículo se le administrara 0.1 mL de tween 80 al 20%, al grupo control se le administrara Glibenclamida (5mg/kg) y al grupo de prueba se les administrara los compuestos sintetizados a una dosis exploratoria de 100 mg/kg), teniendo en cuenta el análisis de consenso farmacológico.

La glucemia se mide al inicio del experimento (T0) y posteriormente a las 1, 3, 5 y 7 horas de la administración. Los resultados se presentarán en graficas de puntos de dispersión como la variación de glucemia contra el tiempo.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Parte química

Se sintetizaron 8 compuestos en total para este trabajo, siendo 5 productos finales (**THA 1-5**) y 3 precursores (**THA 11-13**). A continuación, se describe el proceso de síntesis de cada compuesto.

8.1.1 Síntesis de 4'-((4-formilfenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo (**THA-11**)

Para la obtención del precursor **THA-7 (Figura 35)** se llevó a cabo una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular entre el 4-hidroxibenzaldehído (**7**) y el 4-bromometil-1-bifenil-4-carbonitrilo (**8**). En un matraz de 10 mL se puso a reaccionar el 4-hidroxibenzaldehído con el carbonato de potasio para formar el fenóxido por media hora en acetonitrilo a temperatura ambiente con agitación magnética, posteriormente se agregó el 4-clorometil-1-bifenil-4-carbonitrilo y se calentó con baño maría a 60°C por 4h acoplado a un refrigerante, como catalizador se agregó yoduro de potasio.

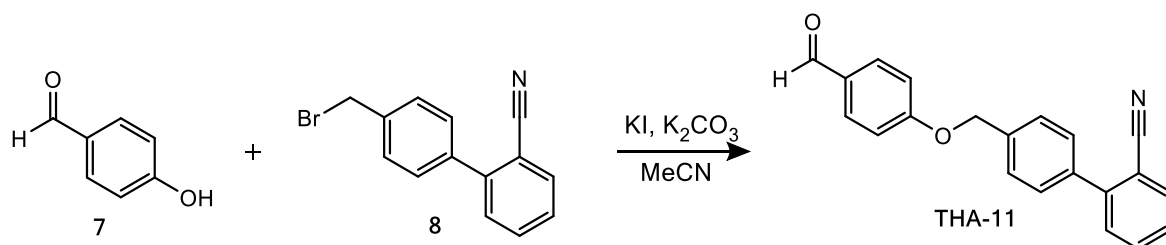


Figura 35. Síntesis del precursor **THA-11**

8.1.2 Síntesis de 4-(naftalen-1-ilmetoxi)benzaldehído (**THA-12**)

Para la obtención del precursor **THA-12 (Figura 36)** se llevó a cabo una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular entre el 4-hidroxibenzaldehído (**7**) y el 1-clorometilnaftaleno (**9**). En un matraz de 10 mL se puso a reaccionar el 4-hidroxibenzaldehído con el carbonato de potasio para formar el fenóxido por media hora en acetonitrilo a temperatura ambiente con agitación magnética, posteriormente se agregó el 1-clorometilnaftaleno y se calentó con baño maría a 60°C por 6h acoplado a un refrigerante, como catalizador se agregó yoduro de potasio.

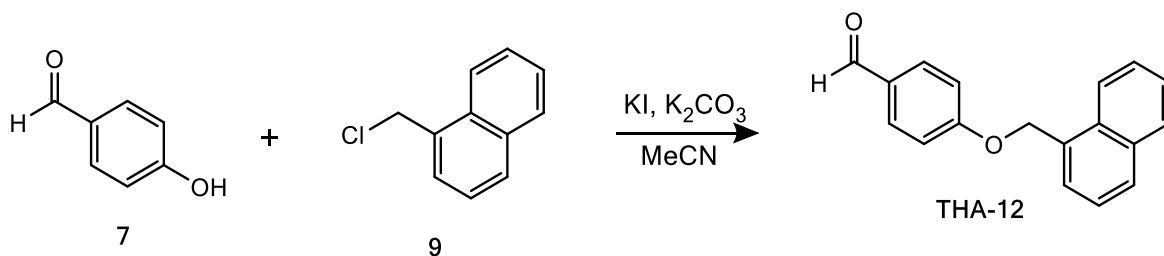


Figura 36. Síntesis del precursor **THA-12**

8.1.3 Síntesis del 4-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)benzaldehído (**THA-13**)

Para la obtención del precursor **THA-13** (**Figura 37**) se llevó a cabo una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular entre el 4-hidroxibenzaldehído (**7**) y el bromuro de 3-fenilbencilo (**10**). En un matraz de 10 mL se puso a reaccionar el 4-hidroxibenzaldehído con el carbonato de potasio para formar el fenóxido por media hora en acetonitrilo a temperatura ambiente con agitación magnética, posteriormente se agregó el bromuro de 3-fenilbencilo y se calentó con baño maría a 60°C por 8h acoplado a un refrigerante, como catalizador se agregó yoduro de potasio.

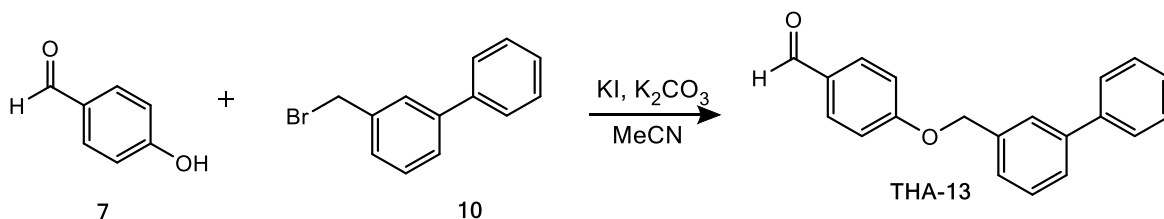


Figura 37. Síntesis del precursor **THA-13**

8.1.4 Síntesis del 4'-((4-((2,5-dioxoimidazolidin-4-iliden)metil)fenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo (**THA-1**)

Para la obtención del compuesto final **THA-1** (**Figura 38**) se llevó a cabo una reacción de tipo condensación de Knoevenagel. En un matraz de 25 mL se puso el precursor **THA-11** con la hidantoína (**14**) en tolueno suficiente y agitación magnética para homogeneizar durante 45 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se agregó el ácido benzoico y la reacción se calentó hasta 90°C en baño de aceite hasta observar ebullición dentro del matraz, llegando a este punto se agregó la piperidina gota a gota y se acopló la trampa Dean-Stark con el refrigerante. La reacción se mantuvo por 8h a temperatura constante de ~90°C.

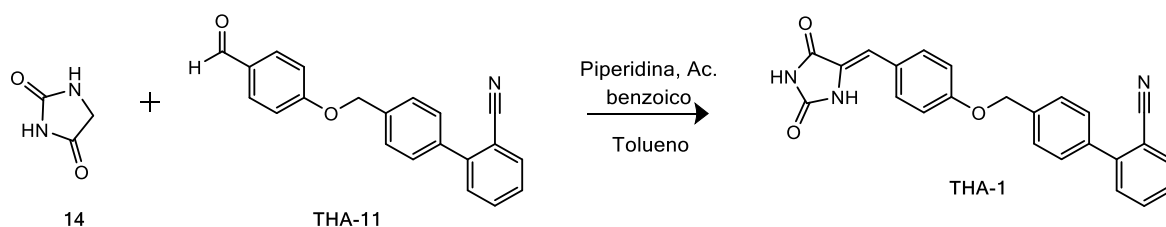


Figura 38. Síntesis del compuesto final **THA-1**

8.1.5 Síntesis del 5-(4-(naftalen-1-ilmetoxi)benciliden)imidazolidin-2,4-diona (**THA-2**)

Para la obtención del compuesto final **THA-2** (**Figura 39**) se llevó a cabo una reacción de tipo condensación de Knoevenagel. En un matraz de 25 mL se puso el precursor **THA-12** con la hidantoína (**14**) en tolueno suficiente y agitación magnética para homogeneizar durante 45 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se agregó el ácido benzoico y la reacción se calentó hasta 90°C en baño de aceite hasta observar ebullición dentro del matraz, llegando a este punto se agregó la piperidina gota a gota y se acoplo la trampa Dean-Stark con el refrigerante. La reacción se mantuvo por 8h a temperatura constante de ~90°C.

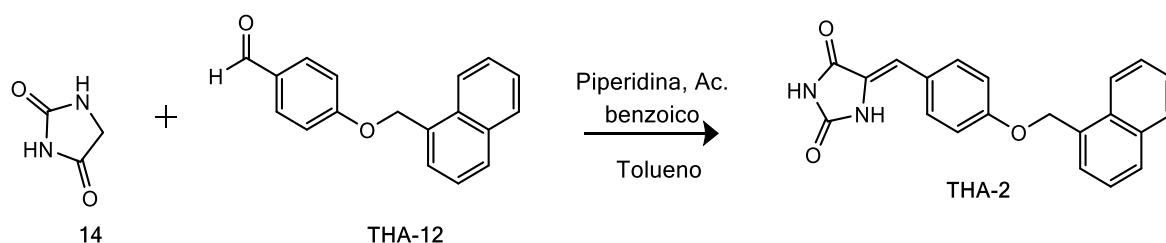


Figura 39. Síntesis del compuesto final **THA-2**

8.1.6 Síntesis del 5-(4-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)benciliden)imidazolidin-2,4-diona (**THA-3**)

Para la obtención del compuesto final **THA-3** (**Figura 40**) se llevó a cabo una reacción de tipo condensación de Knoevenagel. En un matraz de 25 mL se puso el precursor **THA-13** con la hidantoína (**14**) en tolueno suficiente y agitación magnética para homogeneizar durante 45 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se agregó el ácido benzoico y la reacción se calentó hasta 90°C en baño de aceite hasta observar ebullición dentro del matraz, llegando a este punto se agregó la piperidina gota a gota y se acoplo la trampa Dean-Stark con el refrigerante. La reacción se mantuvo por 9h a temperatura constante de ~90°C.

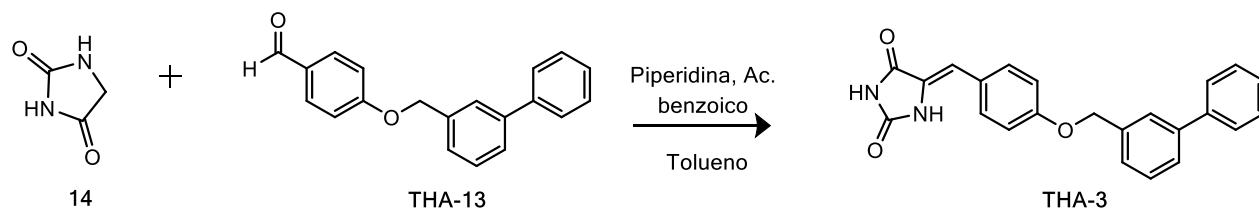


Figura 40. Síntesis del compuesto final **THA-3**

8.1.7 Síntesis del 4'-((4-((2,2-dimetil-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5iliden)metil)fenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo (**THA-4**)

En un matraz de 10 mL se puso a reaccionar a **THA-10** (**Figura 41**) con el ácido de Meldrum (**15**) en ~10 mL de tolueno seco, posteriormente se agregó el ácido benzoico y se inició con el calentamiento a 90°C. Cuando se observó el reflujo dentro del matraz se agregó la piperidina y se colocó la trampa Dean-Strak. Al cabo de 48h se para la reacción.

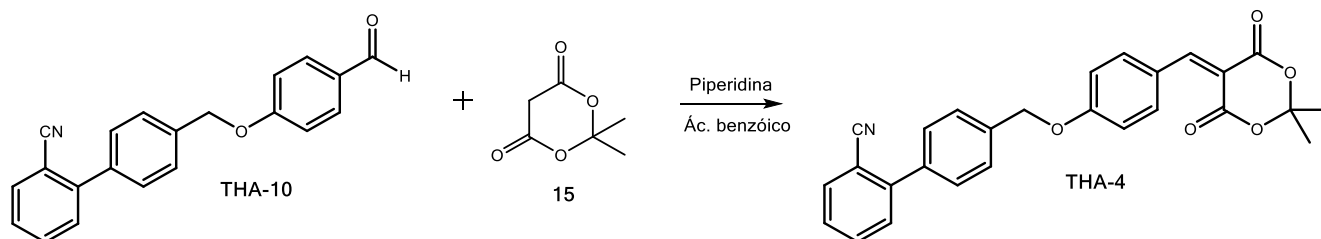


Figura 41. Síntesis del compuesto final **THA-4**

8.1.8 Síntesis del 2,2-dimetil-5-(4-(naftalen-1-ilmetoxi)benciliden)-1,3-dioxan-4,6-diona (**THA-5**)

En un matraz de 10 mL se puso a reaccionar a **THA-11** (**Figura 42**) con el ácido de Meldrum (**15**) en ~10 mL de tolueno seco, posteriormente se agregó el ácido benzoico y se inició con el calentamiento a 90°C. Cuando se observó el reflujo dentro del matraz se agregó la piperidina y se colocó la trampa Dean-Strak. Al cabo de 3 días de tiempo de reacción se paró la reacción.

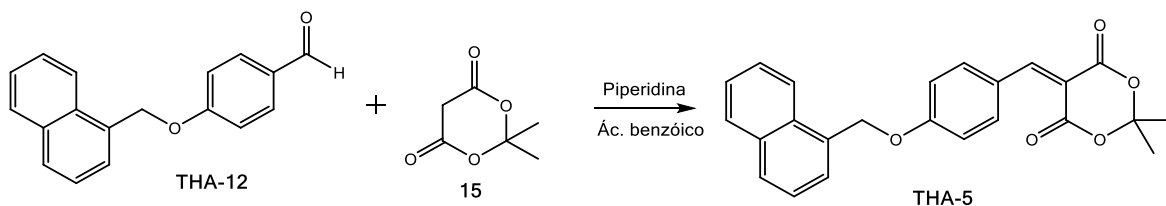


Figura 42. Síntesis del compuesto final **THA-5**

En la **Tabla 3**, se observan las características fisicoquímicas de los compuestos finales sintetizados, así como de los precursores:

Tabla 3. Características fisicoquímicas de los compuestos sintetizados

Compuesto	Estructura	Forma física	Tiempo de reacción (h)	Rendimiento (%)	Punto de fusión (°C)
THA-1		Polvo amarillo	8	70.94	239.7*
THA-2		Polvo amarillo pálido	8	60.87	219.4*
THA-3		Polvo amarillo	9	45.80	208.9*
THA-4		Cristales amarillos	48	83.91	206.1 - 208.5
THA-5		Cristales romboidales	144	72.20	124.2 - 128.7
THA-11		Cristales algodonosos	4	94.17	145.6 - 146.5
THA-12		Cristales en forma de hojuelas	6	98.28	105.8 - 107.1
THA-13		Cristales de tipo aguja	8	85.42	67.3 - 67.7

* Punto de descomposición

Como se puede apreciar en la tabla anterior, todos los compuestos fueron obtenidos de manera sólida algunos en forma de cristal, los compuestos con el ácido de Meldrum (**THA 4-5**) presentaron tiempos de reacción muy largos a comparación de sus precursores o de los compuestos de la serie hidantoína (**THA 1-3**). Adicionalmente los compuestos de la serie hidantoína (**THA 1-3**) presentaron puntos de fusión con descomposición. Los precursores y los compuestos finales de la serie de ácido de Meldrum presentan puntos de fusión con intervalos característicos de pureza, el compuesto **THA-5** en su forma sólida presentó un arreglo característico de un cristal difractable por rayos X, el cual fue analizado por esta técnica.

8.1.9 Identificación y caracterización estructural de los compuestos sintetizados

Posterior a la síntesis química, se realizó la identificación estructural de los compuestos finales mediante resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , espectrometría de masas por impacto electrónico (EM) y difracción de rayos X.

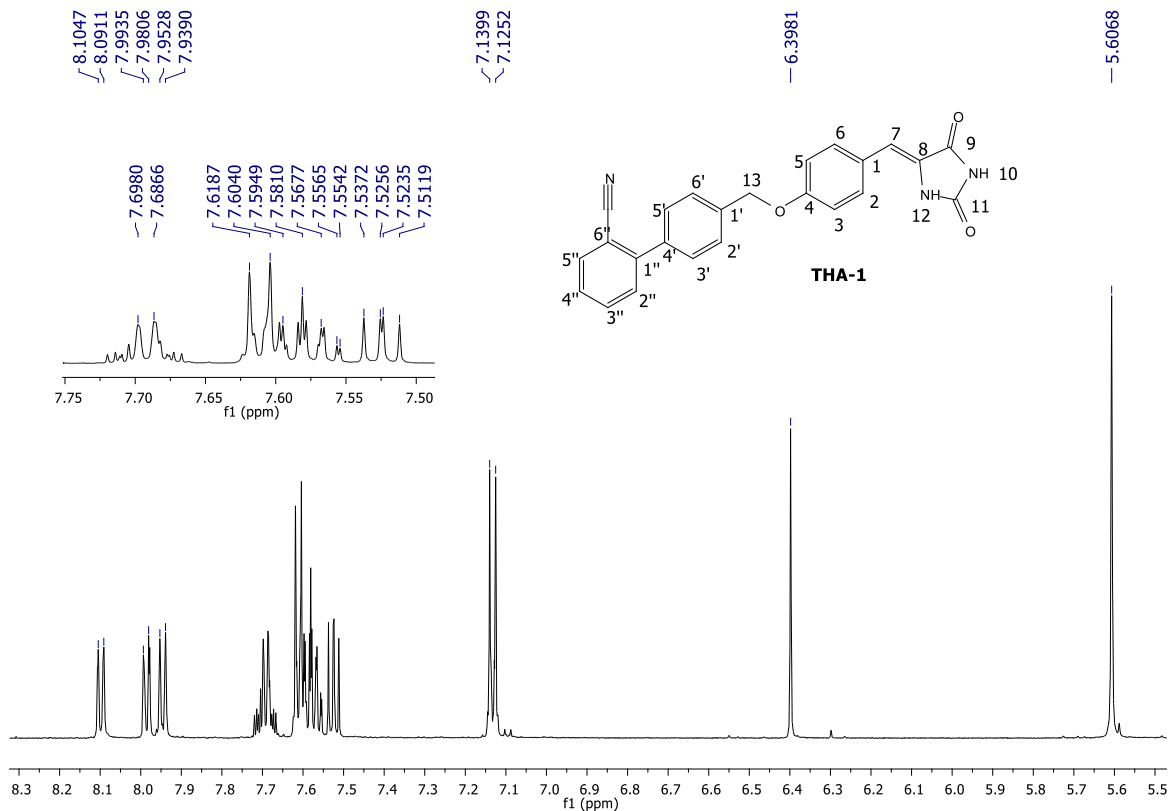
Para el análisis de RMN ^1H y ^{13}C así como la EM se realizó en colaboración con el Dr. Emanuel Hernández Núñez del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN unidad Mérida.

El estudio de difracción de rayos X del compuesto **THA-5** se realizó en colaboración con el Dr. Hugo Tlahuext Romero del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (CIQ-UAEM).

8.1.9.1 Espectroscopía de RMN de ^1H y ^{13}C

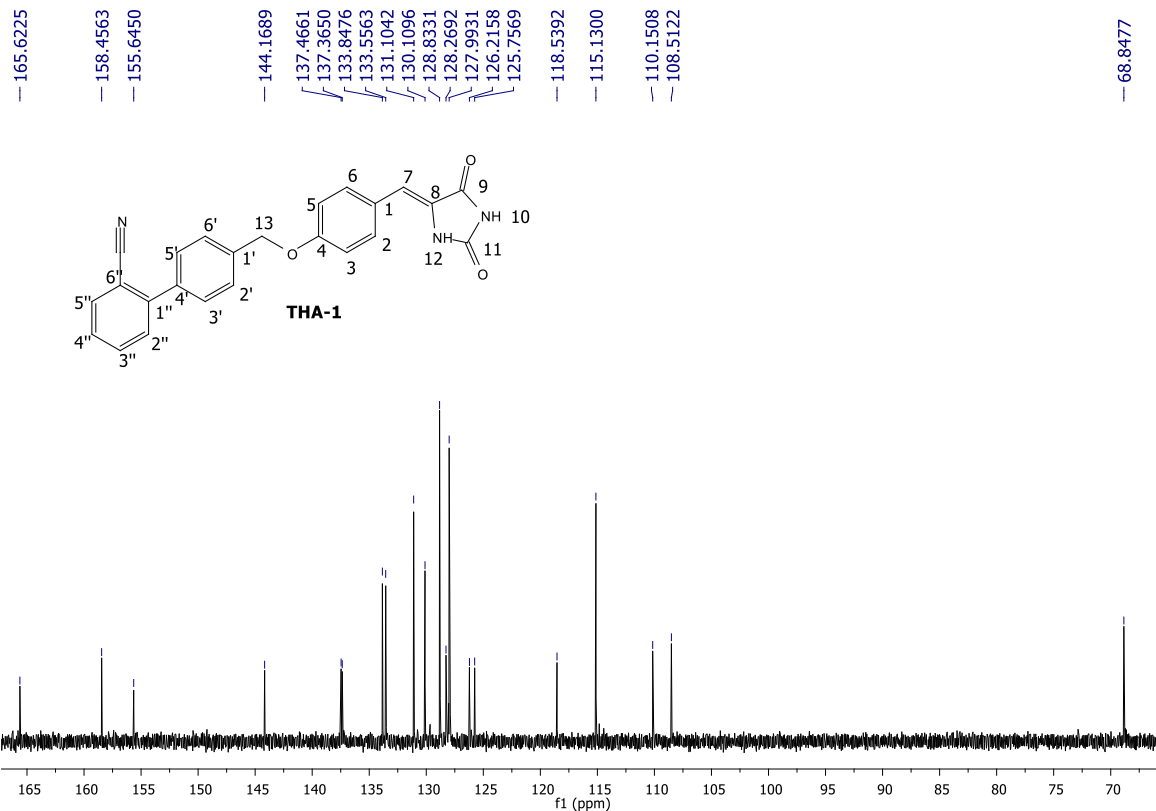
Los compuestos finales **THA 1-5** solo fueron caracterizados por esta técnica, debido a que todos los precursores ya han sido sintetizados y caracterizados en nuestro grupo de trabajo así que solo fueron identificados por medio de su punto de fusión, los cuales coinciden correctamente.

En el **Espectro 1** se puede observar las señales de RMN ^1H del compuesto **THA-1** de RMN ^1H , donde en un desplazamiento químico de 5.60 ppm se puede observar la señal característica de la posición 13 que corresponde al metileno del éter, seguido se observa la señal correspondiente a la posición 7 del doble enlace a 6.39 ppm, luego se observa un doblete a 7.13 ppm ($J=8.82$) que corresponden a los hidrógenos 3 y 5 del anillo aromático, después en el intervalo que va desde 7.52 a 7.69 ppm se observan las señales que corresponden a la región del bifenil carbonitrilo y finalmente a 7.96 y 8.11 ppm se observan las señales de las posiciones 10 y 12 respectivamente.



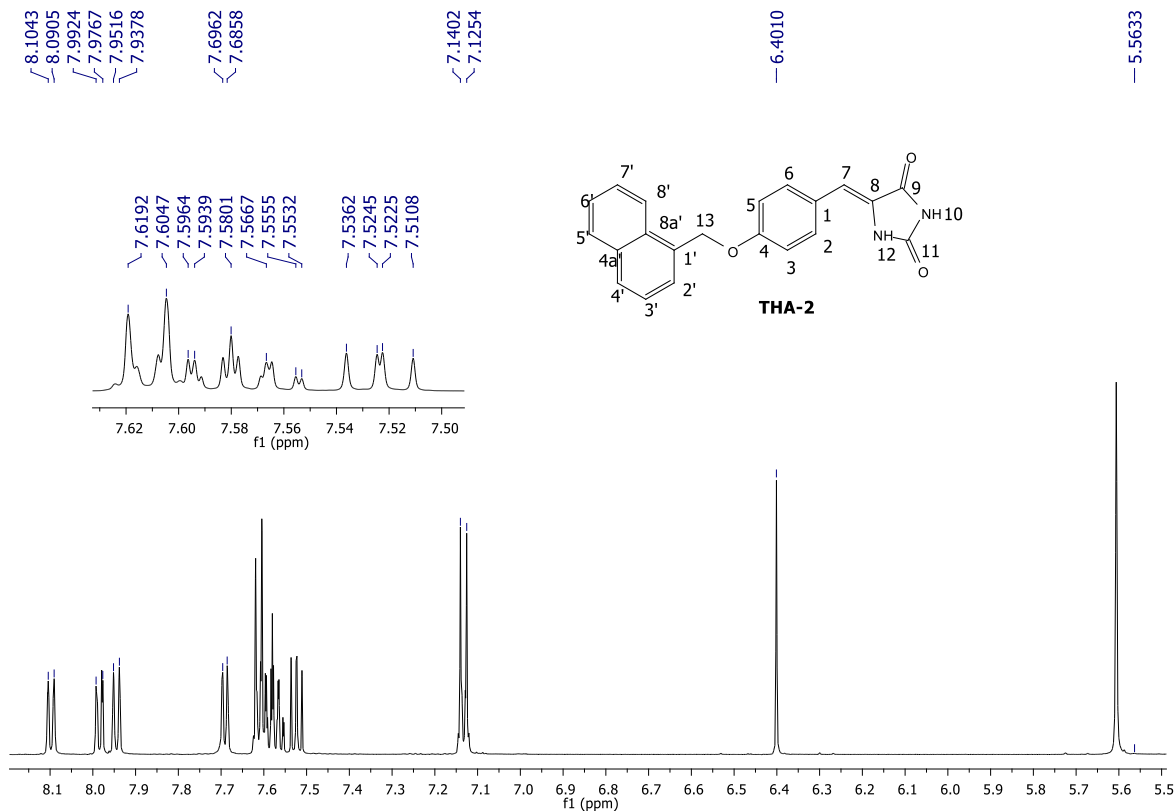
Espectro 1. Espectro de RMN ^1H del compuesto **THA-1**

En el **Espectro 2**, se observa las señales de RMN ^{13}C obtenidas para el compuesto **THA-1** de RMN ^{13}C , donde podemos observar a 68.8 ppm la señal característica para la posición 13 que corresponde al metileno del éter, posteriormente a 108.5 ppm se observan la señal que corresponde al C7, seguido 110.1 ppm se observa la señal para el C6'', a 115.1 ppm se observa la señal para los carbonos 3 y 5, a 118.5 ppm se observa la señal para el carbonitrilo, a 125.7 se tiene la señal para el C8, a 126.2 ppm se logra ver la señal para el C2'', a 127.9 ppm la señal que corresponde a los carbonos 2' y 6', seguido a 128.2 ppm una señal para el C1, a 128.8 ppm la señal para el C2, a 130.1 ppm la señal para el C4'', posteriormente a 131.1 ppm la señal que es para los carbonos 2' y 5', a 133.5 ppm la señal para la posición 5'', seguido a 133.8 ppm se observa la señal para el C3'', a 137.3 ppm se observa la señal para la posición 1', a 137.4 ppm para el C4', a 144.1 ppm un señal para el C1'', a 155.6 ppm la señal para la posición 11, a 158.4 ppm la señal para el carbono 4 y finalmente a 165.6 ppm la señal para el carbonilo de la posición 9.



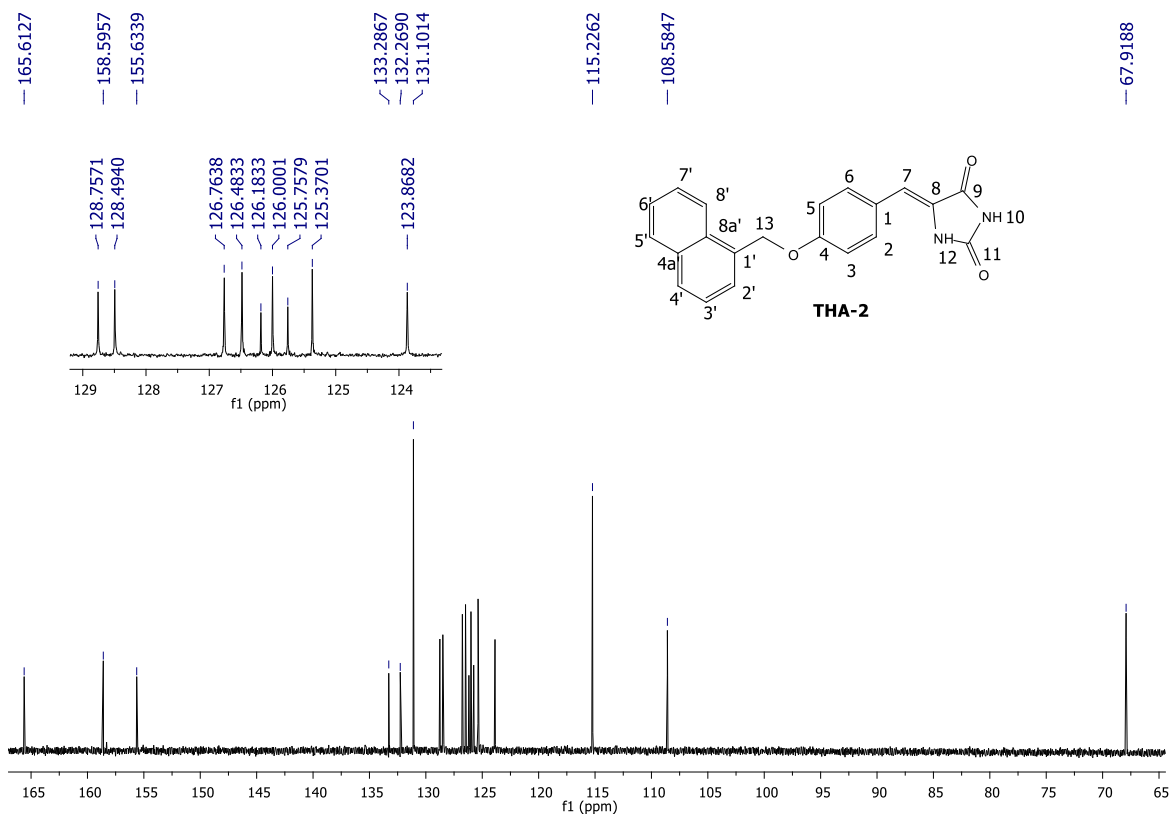
Espectro 2. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **THA-1**

En el **Espectro 3** se puede observar las señales de RMN ^1H del compuesto **THA-2**, donde a 5.56 ppm se puede observar la señal característica de la posición 13 que corresponde al metileno del éter, seguido se observa la señal correspondiente a la posición 7 del doble enlace a 6.40 ppm, luego se observa un doblete a 7.13 ppm ($J=8$) que corresponden a los hidrógenos 3 y 5, posteriormente a 7.52 ppm ($J=7$) se observa una señal doble de dobles que corresponde a los hidrógenos de las posiciones 2' y 3', a 7.57 ppm ($J=8, 1.8$) se observa una señal múltiple que corresponde a la posiciones 2 y 6, después a 7.61 ppm ($J=8.2$) se observa un doble triplete que corresponde a la posición 6', seguido a 7.69 ppm ($J=6$) se observa un doblete que corresponde al hidrogeno de la posición 7', a 7.94 ppm ($J=8$) se aprecia otra señal doble que corresponde para la posición 4', a 7.98 ppm ($J=9$) se muestra una señal doble que corresponde para el hidrogeno 5' y por ultimo a 8.09 ppm ($J=8$) la señal para la posición 8'.



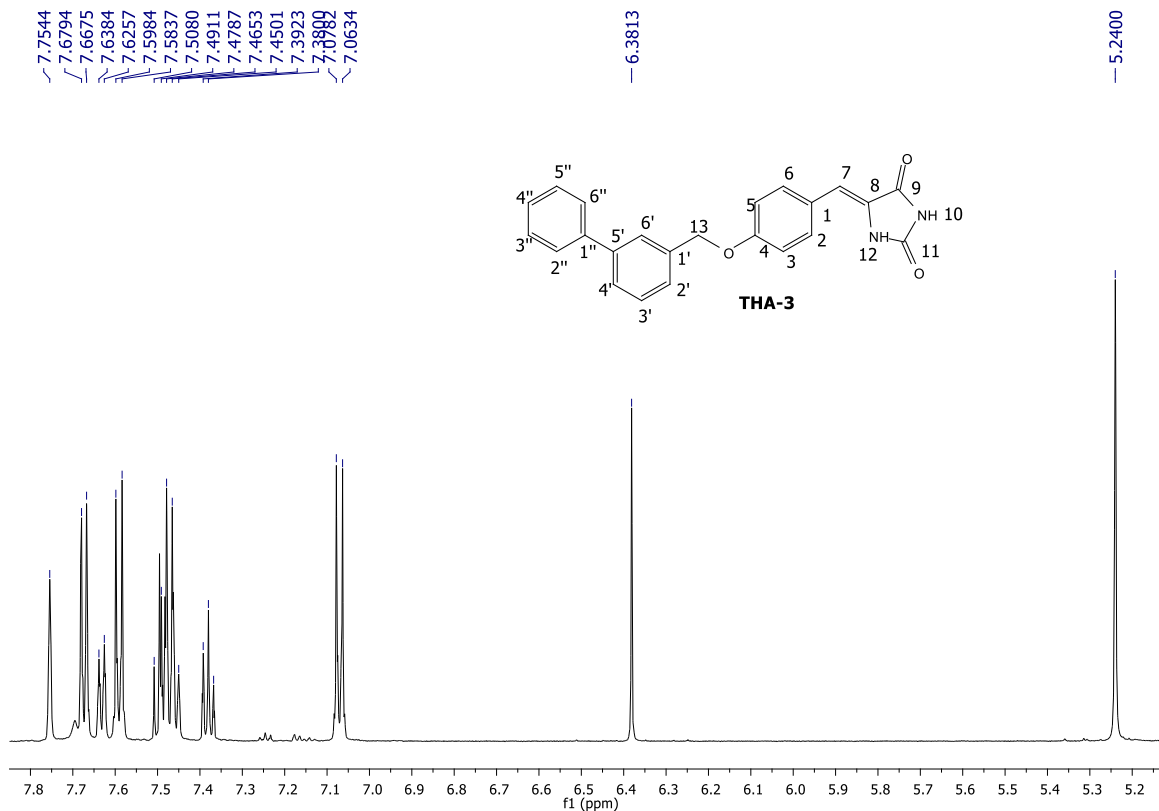
Espectro 3. Espectro de RMN ^1H del compuesto **THA-2**

En el **Espectro 4**, se observa las señales de RMN ^{13}C obtenidas para el compuesto **THA-2**, donde podemos observar a 67.9 ppm la señal característica para la posición 13 que corresponde al metileno del éter, posteriormente a 108.5 ppm se observan la señal que corresponde al C7, posteriormente a 115.2 ppm se ve una señal más intensa que corresponde para los carbonos 3 y 5, a 123.8 ppm se distingue una señal para la posición 8', a 125.3 ppm la señal que corresponde al C3', a 125.7 ppm la señal para el C6', a 126.0 ppm la señal para el carbono 4', a 126.1 ppm se ve una señal para la posición 8, a 126.4 ppm se logra apreciar una señal para el C1, a 126.7 ppm se logra ver una señal para la posición 5, a 128.4 ppm aparece la señal para el C7', a 128.7 ppm se aprecia la señal para la posición 2', a 155.6 ppm se observa la señal para el carbonilo de la posición 11, a 158.5 ppm se observa una señal para el C4 y por último se ve la señal para el carbonilo 9 a 165.6 ppm.



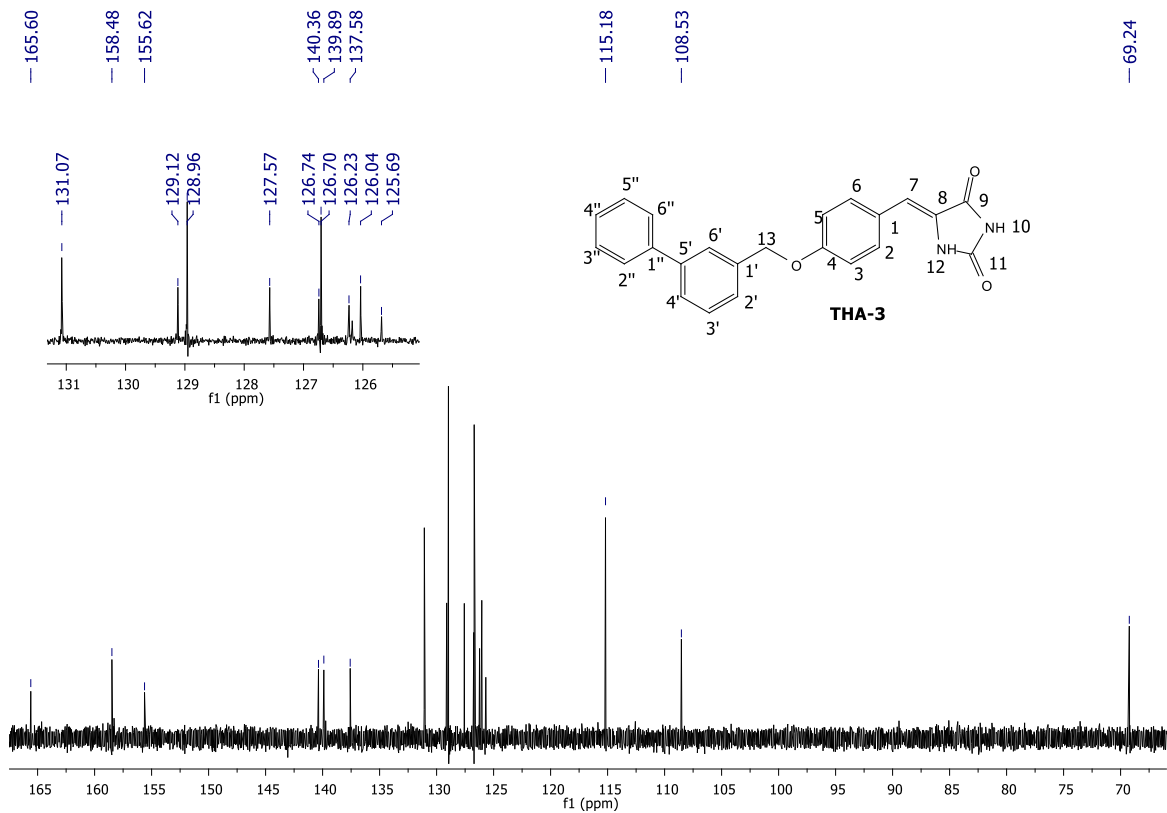
Espectro 4. Espectro de RMN ¹³C del compuesto **THA-2**

En el **Espectro 5** se puede observar las señales de RMN ¹H del compuesto **THA-3**, donde a 5.24 ppm se puede observar la señal característica de la posición 13 que corresponde al metileno del éter, seguido se observa la señal correspondiente a la posición 7 del doble enlace a 6.38 ppm, luego se observa a 7.07 ppm ($J=8$) una señal doble que corresponde a las posiciones 3 y 5, seguido a 7.38 ppm ($J=1.3$) se logra distinguir una señal triple de triples la cual corresponde a los hidrógenos de las posiciones 4'' y 2', seguido a un intervalo de 7.45 ppm a 7.50 ppm se observa un multiplete que corresponde para las posiciones 5'', 3'' y 3', luego a 7.59 ppm ($J=8, 2$) se observa una señal doble de triples que corresponde a 6 y 2, seguido se encuentra una señal doble de triples a 7.63 ppm ($J=1$) que corresponde a 4', después a un desplazamiento químico de 7.67 ppm ($J=2, 10$) se distingue una señal doble de triples para las posiciones 2'' y 6'', finalmente a 7.75 ppm se observa una señal simple para el hidrógeno de la posición 6'.



Espectro 5. Espectro de RMN ^1H del compuesto **THA-3**

En el **Espectro 6**, se observa las señales de RMN ^{13}C obtenidas para el compuesto **THA-3**, donde podemos observar a 69.2 ppm la señal característica para la posición 13 que corresponde al metileno del éter, posteriormente a 108.5 ppm se observan la señal que corresponde al C7, posteriormente a 115.1 ppm se ve una señal más intensa que corresponde para los carbonos 3 y 5, seguido a 125.4 ppm se observa la señal para el C4', a 126.0 se observa la señal para el C6', a un desplazamiento químico de 126.2 ppm se observa la señal para la posición 8, a 126.7 se observa la señal para las posiciones 2'', 6'' y 3', después a 126.7 ppm se observa la señal para el C1, a 127.5 ppm se distingue la señal para el C4'', luego a 128.9 ppm se observa la señal para las posiciones 6 y 2, a 129.1 ppm se observa la señal para el C2', a 131.0 ppm se distingue la señal para los carbonos 5'' y 3'', a 137.5 ppm se ve la señal para el C1', posteriormente a 139.8 ppm se observa la señal para el C1'', a 140.3 ppm podemos ver la señal para el C5', a 155.6 ppm se observa la señal para el carbonilo de la posición 11, a 158.4 ppm se distingue la señal para el C4 y finalmente a 165.5 ppm se observa la señal para el carbonilo de la posición 9.



Espectro 6. Espectro de RMN ¹³C del compuesto THA-3

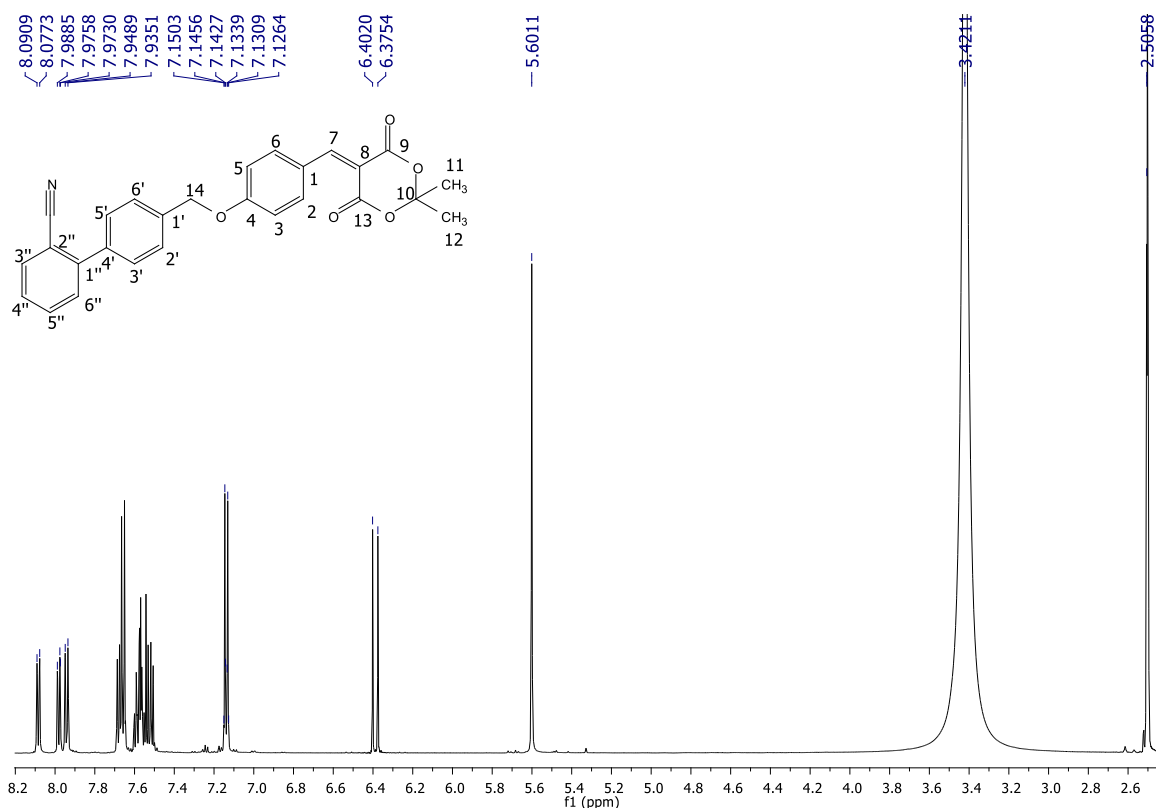
En la **Tabla 4** se encuentran todos los desplazamientos químicos de las moléculas **THA 1-3** de ^1H y ^{13}C , así como sus multiplicidades y constantes de acoplamiento (J).

Tabla 4. Desplazamientos químicos de los compuestos **THA 1-3**

Posición	THA-1 (600 MHz, DMSO-D ₆)		THA-2 (600 MHz, DMSO-D ₆)		THA-3 (600 MHz, DMSO-D ₆)	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
1	--	128.2	--	126.4	--	126.4
2	7.55 ($J=2$, d)	128.8	7.57 ($J=8$, 1.8, d)	131.1	7.59 ($J=8$, 2, dt)	128.9
3	7.13 ($J=8.82$, d)	115.1	7.13 ($J=8$, dt)	115.2	7.07 ($J=8$, d)	115.1
4	--	158.4	--	158.5	--	128.4
5	7.13 ($J=8.82$, d)	115.1	7.13 ($J=8$, dt)	115.2	7.07 ($J=8$, d)	115.1
6	7.55 ($J=2$, d)	128.8	7.57 ($J=8$, 1.8, d)	131.1	7.59 ($J=8$, 2, dt)	128.9
7	6.39 (s)	108.5	6.40 (s)	108.5	6.38 (s)	108.5
8	--	125.7	--	126.1	--	126.2
9	--	165.6	--	165.6	--	165.6
10	8.09 (s)	--	--	--	--	--
11	--	155.6	--	155.6	--	155.6
12	8.10 (s)	--	--	--	--	--
13	5.60 (s)	68.8	5.53 (s)	67.9	5.24 (s)	69.2
1'	--	137.3	--	132.2	--	137.5
2'	7.52 ($J=7$, dd)	127.9	7.52 ($J=7$, dd)	128.7	7.38 ($J=1.3$ tt)	129.1
3'	7.61 ($J=7$, dt)	131.1	7.52 ($J=7$, dd)	125.3	7.45 ($J=8$, 10, m)	126.7
4'	--	137.4	7.94 ($J=8$, d)	126.0	7.63 ($J=1$, 10, dt)	125.6
4a'	--	--	--	131.1	--	--
5'	7.61 ($J=7$, dt)	131.1	7.98 ($J=9$, d)	126.7	--	140.3
6'	7.52 ($J=7$, dd)	127.9	7.61 ($J=8.2$, dt)	125.7	7.75 (s)	126.0
7'	--	--	7.69 ($J=6$, d)	128.4	--	--
8'	--	--	8.09 ($J=8$, d)	123.8	--	--
8a'	--	--	--	133.2	--	--
1''	--	144.1	--	--	--	139.8
2''	7.69 (m)	126.2	--	--	7.67 ($J=2$, 10, dt)	126.7
3''	7.69 (m)	133.8	--	--	7.45 ($J=8$, 10, m)	131.0
4''	7.58 (tt)	130.1	--	--	7.38 ($J=1.3$ tt)	127.5
5''	7.69 (m)	133.5	--	--	7.45 ($J=8$, 10, m)	131.0
6''	--	110.1	--	--	7.67 ($J=2$, 10, dt)	126.7
C=N	--	118.5	--	--	--	--

En el Espectro 7 se puede apreciar las señales de RMN de ^1H del compuesto **THA-4** donde a 2.50 ppm se observa la señal para los hidrógenos de las posiciones 11 y 12, seguido a 5.60 ppm se tiene la señal correspondiente al metileno 14, a 6.40 ppm se observa una señal simple que pertenece a los hidrógenos 3 y 5, posteriormente se aprecia una señal doble de triples a 7.14 ppm ($J=8$, 2) que corresponde a las posiciones 2, 6, 2' y 6', después a 7.51 ppm ($J=7$, 1) se muestra un doble de dobles perteneciente a la posición 4', posterior a 7.56 ppm podemos observar una señal múltiple que corresponde a los hidrógenos 3' y 5', a 7.66 ppm se observa otra señal múltiple perteneciente al hidrógeno 5'', en 7.96 ppm ($J=8$, 4) se aprecia una señal

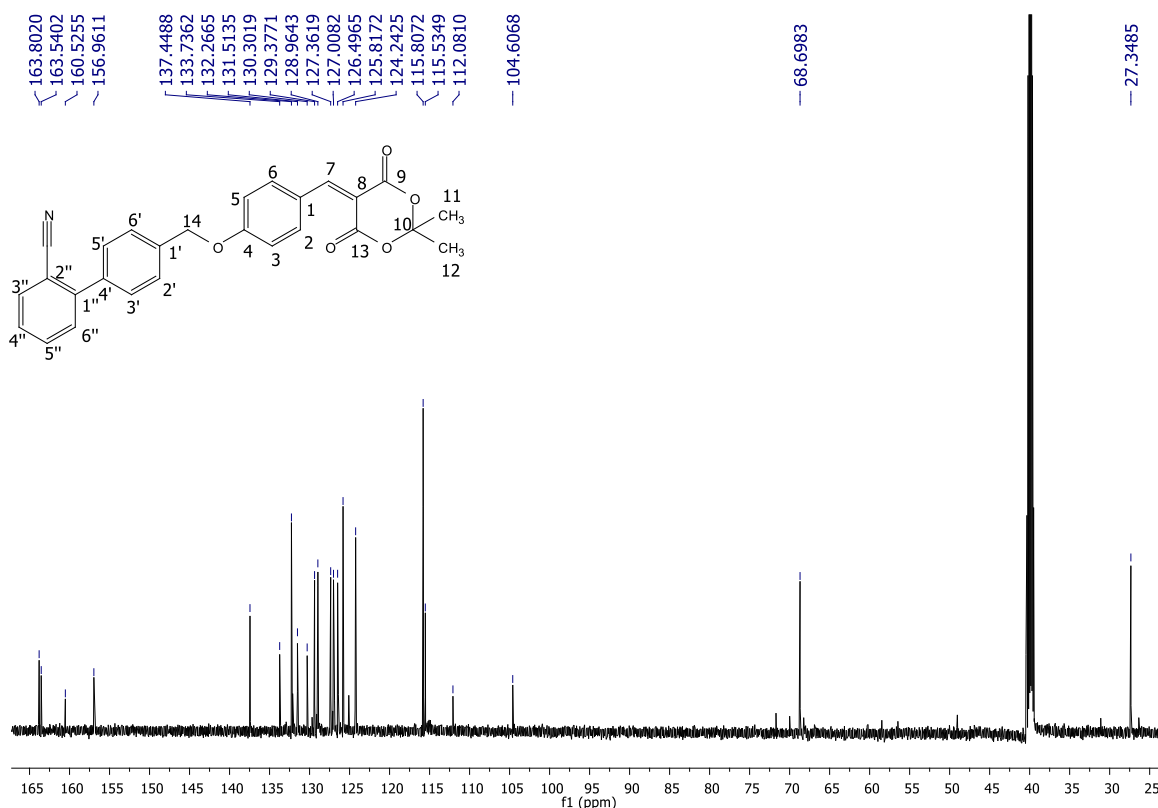
doble que corresponde a la posición 3'', a 8.07 ppm se aprecia una señal simple para la posición 6'' y finalmente a 8.09 ppm se observa la señal para el doble enlace de la posición 7.



Espectro 7. Espectro de RMN ^1H del compuesto **THA-4**

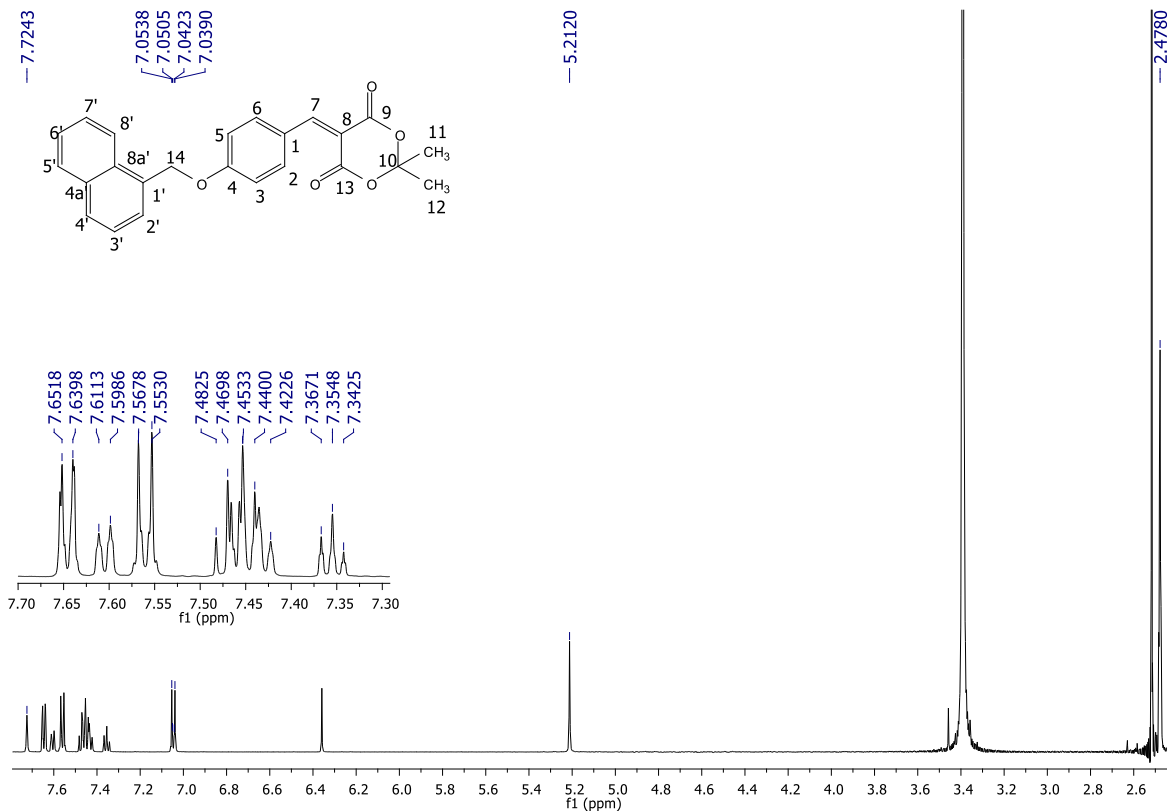
En el siguiente **Espectro 8** se pueden distinguir las señales de RMN de ^{13}C para el compuesto **THA-4** donde a 27.3 ppm podemos apreciar la señal para los carbonos 11 y 12, seguido 68.6 ppm se observa la señal para el C14, seguido a 104.6 ppm se distingue la señal para la posición 10, en 112.0 ppm logramos apreciar una señal para el carbono 2'', después a 115.5 ppm se observa la señal para el CN, en 115.8 ppm se observa una señal intensa correspondiente a los carbonos 3 y 5, a 124.2 ppm podemos ver la señal para C8, posterior a 125.8 ppm se observa una señal intensa para los carbonos aromáticos 2' y 6', seguido a 126.4 ppm se aprecia la señal para el C1, en 127.0 ppm se observa la señal correspondiente al carbono 6'', después a 127.3 ppm podemos ver la señal para la posición 4'', posteriormente a 128.9 ppm se aprecia la señal para las posiciones 3' y 5', en 129.3 ppm se observa la señal para C3'', en 130.3 ppm se tiene la señal para el carbono 5'', en 131.5 ppm se aprecia la señal para el carbono 1', en 132.2 ppm podemos ver la señal para los carbonos 2 y 6, posterior a 133.7 ppm se aprecia una señal que corresponde a 4', en 137.4 ppm se tiene la señal para el C1'', en 156.9 ppm se logra ver la señal para

la posición 4, en 160.5 ppm tenemos la señal para el carbono 7 y finalmente a 163.8 y 163.5 ppm se observan las señales para los carbonilos 13 y 9 respectivamente.



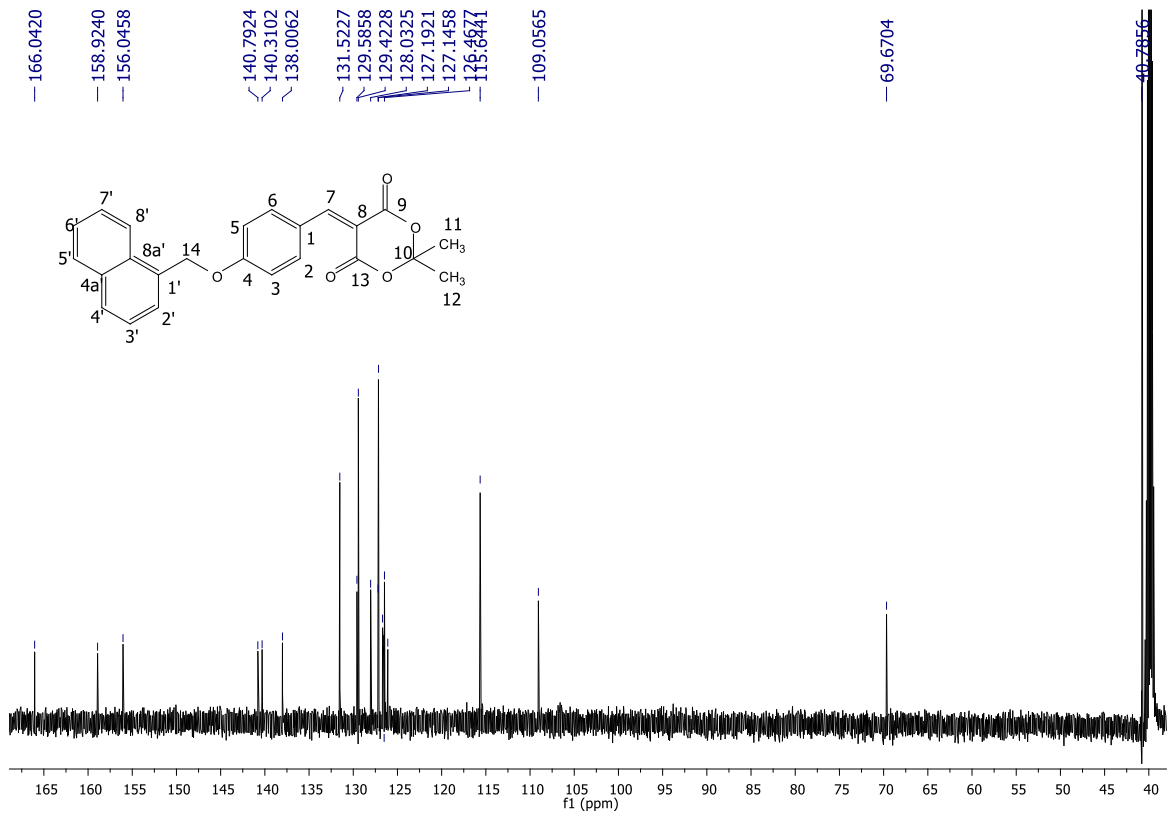
Espectro 8. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **THA-4**

En el **Espectro 9** se pueden apreciar las señales de RMN de ^1H para el compuesto **THA-5** donde a 2.47 ppm se aprecia una señal intensa correspondiente a los metilo del fragmento del ácido de meldrum, a 5.21 ppm se observa una señal simple que pertenece a la posición 14, después se aprecia un doble de dobles correspondiente a los hidrógenos de la posiciones 3 y 5 en 7.04 ppm ($J=8, 2$), seguido se observa un triplete a 7.36 ppm que corresponde a los hidrógenos de las posiciones 2' y 3', posterior se observa una señal múltiple a 7.45 ppm que pertenece a las posiciones 2, 6, 6' y 7'. Posteriormente a 7.55 ppm ($J=8, 2$) se aprecia una señal doble de triples correspondiente a 4', seguido 7.60 ppm ($J=7$) se observa un doblete que corresponde a 5', a 7.64 ppm ($J=7, 1$) se observa una señal doble para el hidrógeno de la posición 8' y finalmente a 7.72 ppm se observa la señal que pertenece al metino de la posición 7.



Espectro 9. Espectro de RMN ^1H del compuesto **THA-5**

En el **Espectro 10** se pueden distinguir las señales de RMN de ^{13}C para el compuesto **THA-5** donde a 40.7 ppm se observa una señal intensa que pertenece a los metilos del ácido de meldrum, a 69.6 ppm se distingue una señal para la posición 14, en 109.0 ppm se aprecia la señal para el carbono 10, a 115.6 ppm se observa una señal correspondiente a las posiciones 3 y 5, a 126.0 ppm se observa la señal para C8, a 126.4 ppm podemos observar la señal para C8', en 126.5 ppm se aprecia una señal correspondiente al carbono 4', a 126.58 ppm se observa la señal para el C6', seguido a 126.6 ppm se distingue la señal para la posición 1, después la señal a 127.1 ppm pertenece a la posición 4', a 127.19 ppm se observa la señal para C7', en 128.0 ppm se aprecia la señal para C2', posterior podemos ver una señal a 129.4 ppm que pertenece a las posiciones 2 y 6, a 129.5 ppm se distingue una señal para la posición C5', después a 131.5 ppm podemos observar la señal para el carbono 4a', a 138.0 ppm se aprecia la señal que corresponde a C1', en 140.3 ppm se puede observar una señal que corresponde al carbono 8a', seguido a 140.7 ppm se observa una señal para C4, a 156.0 ppm se aprecia una señal para el metino de la posición 7, por último a 158.9 y 166.0 ppm se observan las señales para los carbonilos C9 y C13 correspondientemente.



Espectro 10. Espectro de RMN ¹³C del compuesto THA-5

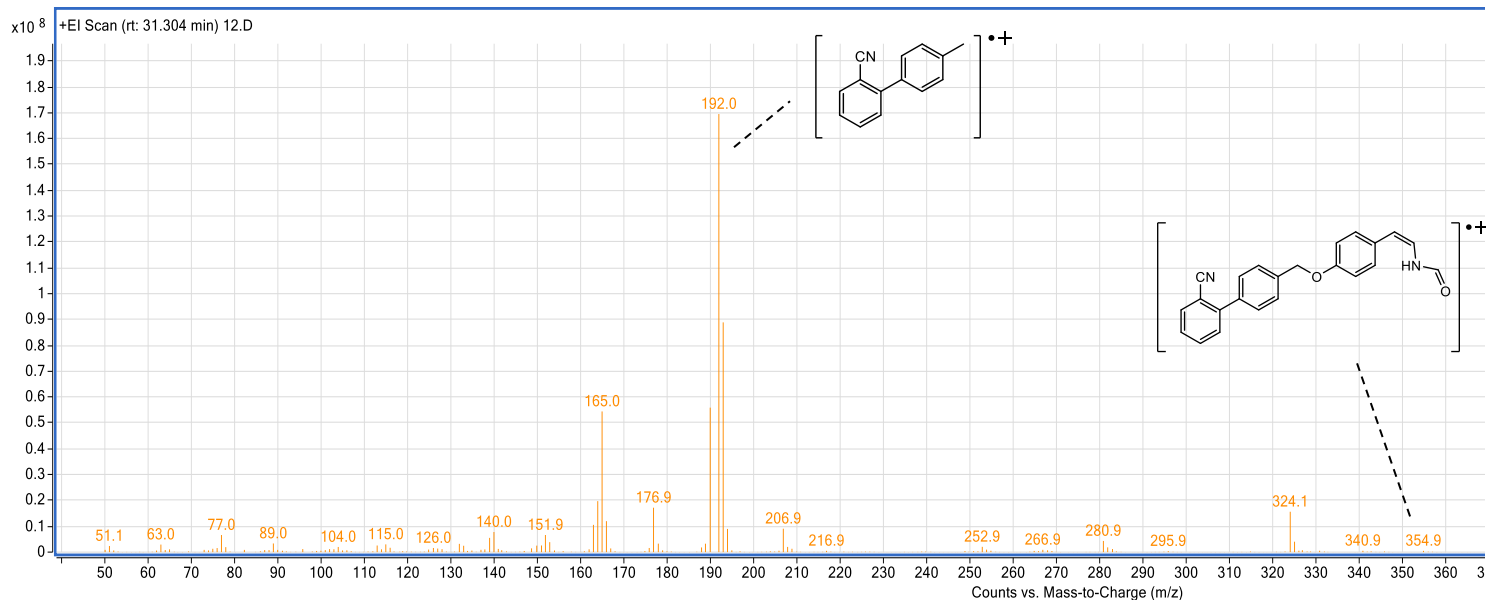
En la **Tabla 5** se encuentran todos los desplazamientos químicos de las moléculas **THA-4** y **THA-5** de ^1H y ^{13}C , así como sus multiplicidades y constantes de acoplamiento (J).

Tabla 5. Desplazamientos químicos de los compuestos **THA 4-5**

Posición	THA-4 (600 MHz, DMSO-D ₆)		THA-5 (600 MHz, DMSO-D ₆)	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
1	--	126.4	--	126.6
2	7.14 ($J=8, 2, dt$)	128.8	7.45 (m)	129.4
3	6.40 (s)	115.8	7.04 ($J=8, 2, dd$)	115.6
4	--	156.9	--	140.7
5	6.40 (s)	115.8	7.04 ($J=8, 2, dd$)	115.6
6	7.14 ($J=8, 2, dt$)	126.4	7.45 (m)	129.4
7	8.09 (s)	160.5	7.72 (s)	156.0
8	--	124.2	--	126.0
9	--	163.5	--	158.9
10	--	104.6	--	109.0
11	2.50 (s)	27.3	2.47 (s)	40.7
12	2.50 (s)	27.3	2.47 (s)	40.7
13	--	163.8	--	166.0
14	5.60 (s)	68.6	5.21 (s)	69.6
1'	--	131.5	--	138.0
2'	7.14 ($J=8,2 dt$)	125.8	7.36 (t)	128.0
3'	7.56 (m)	128.9	7.36 (t)	126.5
4'	--	133.7	7.55 ($J=8, 2, dt$)	127.1
4a'	--	--	--	131.5
5'	7.56 (m)	128.9	7.60 ($J=7, d$)	129.5
6'	7.14 ($J=8,2 dt$)	125.8	7.61 ($J=8.2, dt$)	125.7
7'	--	--	7.45 (m)	127.1
8'	--	--	7.64 ($J=7,1, dt$)	126.4
8a'	--	--	--	140.3
1''	--	131.4	--	--
2''	--	112.0	--	--
3''	7.96 ($J=8,4, dd$)	129.3	--	--
4''	7.51 ($J=7, 1 dd$)	127.3	--	--
5''	7.66 (m)	130.3	--	--
6''	8.07 (s)	127.0	--	--
C≡N	--	115.5	--	--

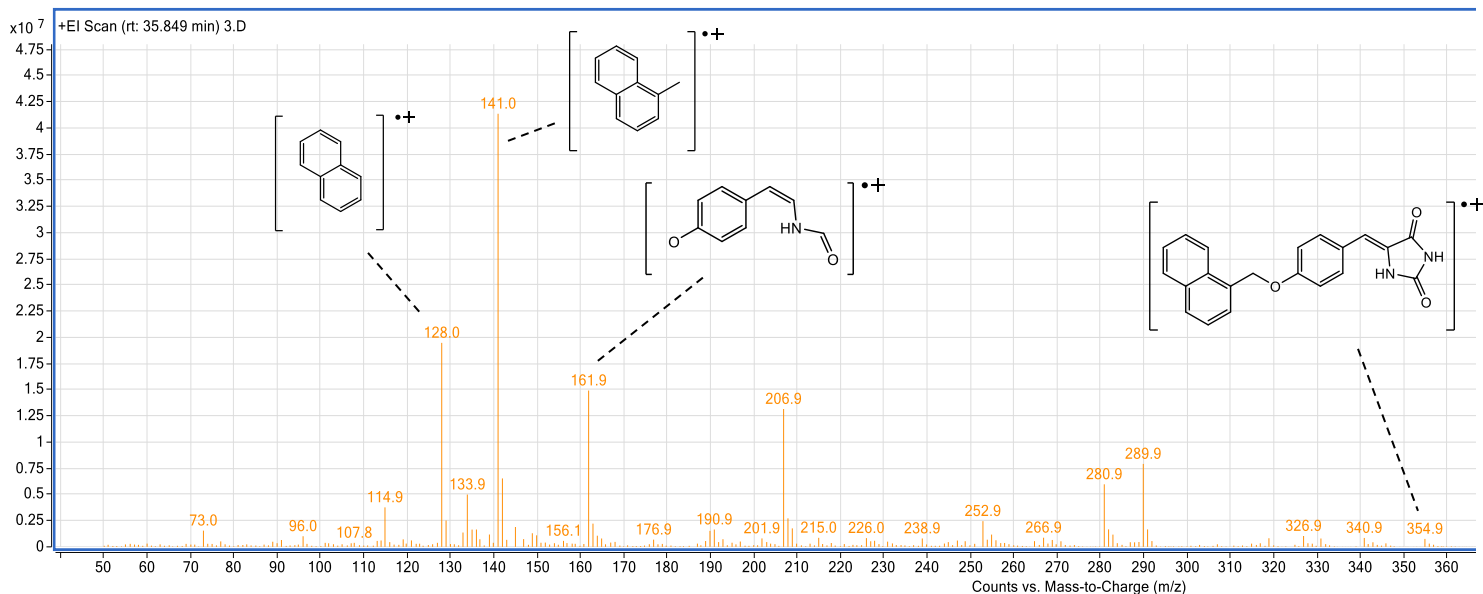
8.1.9.2 Espectrometría de masas

En el **Espectro 11** de EM de ionización por impacto electrónico para el compuesto **THA-1** no se logra observar el ion molecular debido a la poca estabilidad de la molécula, pero si le logra observar un pico a $m/z=354.9$ con una abundancia relativa al 1% que pertenece a la fragmentación del anillo de hidantoína. Seguido a una $m/z=192$ se observa el pico base para la fragmentación del enlace éter entre el anillo central de benceno y el bifenilcarbonitrilo.



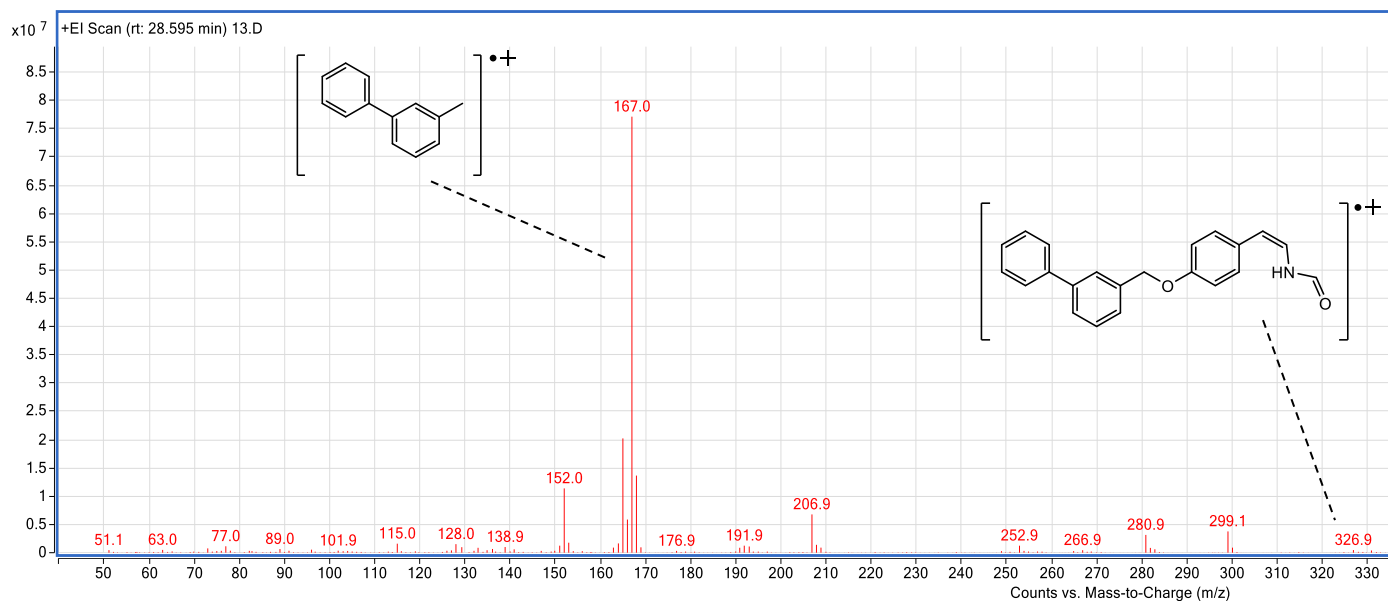
Espectro 11. Espectro de EM para **THA-1**

En el **Espectro 12** de EM de ionización por impacto electrónico para el compuesto **THA-1** se logra observar el ion molecular a $m/z=354.9$ con una abundancia relativa del 1%, seguido se aprecia un pico a una $m/z=161.9$ con una abundancia relativa del 30% la fragmentación del anillo de hidantoína y del enlace éter, después observamos el pico base a una $m/z=141.0$ correspondiente al fragmento metilnaftaleno y finalmente a una $m/z=128.0$ se observa el pico característico para el fragmento de naftaleno con una abundancia relativa del 50%.



Espectro 12. Espectro de EM para THA-2

En el **Espectro 13** de EM de ionización por impacto electrónico para el compuesto **THA-3** no se logra observar el ion molecular debido a la poca estabilidad de la molécula, pero si le logra observar un pico a $m/z=326$ con una abundancia relativa del 1%. Seguido a una $m/z=167.0$ se observa el pico base que corresponde al fragmento de 3-metil-bifenilo.



Espectro 13. Espectro de EM para THA-3

8.1.9.3 Cristalografía de Rayos X

Como se mencionó anteriormente el compuesto **THA-5** al ser purificado por cristalización se observó que los cristales tenían características de ser difractables. Este se obtuvo por evaporación lenta de acetato de etilo a temperatura ambiente. En la **Figura 43** se muestra la estructura obtenida por difracción de rayos X para este compuesto.

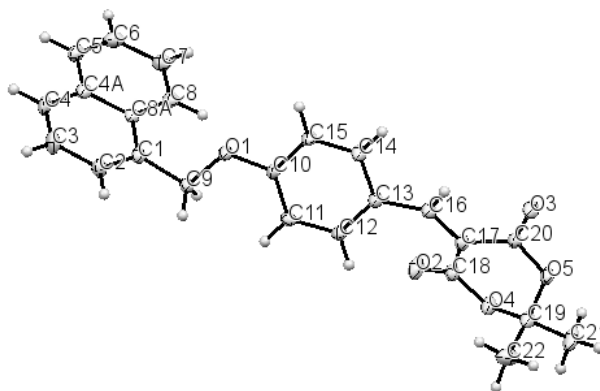


Figura 43. Estructura molecular de **THA-5** obtenida por difracción de rayos X de monocristal

Los datos más relevantes obtenidos por la difracción rayos X se encuentran en la **Tabla 6**, en la **Tabla 7** los datos de las interacciones intramoleculares y en la **Tabla 8** los datos del refinamiento.

Tabla 6. Datos cristalográficos del compuesto **THA-5**

$C_{24}H_{20}O_5$	$F_{000} = 4073$
$Mr = 225.20$	$D_x = 1.320$
Triclínico, P^{-1}	PF: 397 K
Hall symbol: -P1	Radiación Mo Ka
$a = 8.8866 (3) \text{ \AA}$	$\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$
$b = 9.7214 (4) \text{ \AA}$	Parámetros de celda de 6670 reflexiones
$c = 12.8725 (5) \text{ \AA}$	$\Theta = 3.23\text{-}28.99 \text{ mm}^{-1}$
$\alpha = 85.953 (3) \text{ \AA}$	$\mu = 106.32 \text{ }^\circ$
$\beta = 85.508 (3) \text{ \AA}$	$T = 100.0 (3) \text{ K}$
$\gamma = 84.385 (3) \text{ \AA}$	Incoloro
$V = 1101.14 (7) \text{ \AA}^3$	$0.35 \times 0.23 \times 0.12 \text{ mm}$
	$Z = 2$

Tabla 7. Geometría de las interacciones intramoleculares de **THA-5**

Átomo 1	Átomo 2	Longitud	Simetría
H3	O5	2.673	$x, -1+y, -1+z$
C6	H12	2.826	$x, -1+y, z$
O2	H6	2.505	$1-x, -y, -z$
C12	H6	2.851	$1-x, -y, -z$
O4	H9A	2.707	$1-x, -y, -z$
C8A	H21B	2.752	$1-x, -y, -z$
C4A	H21B	2.723	$1-x, -y, -z$
O1	H15	2.704	$2-x, -y, -z$
C8A	H14	2.860	$2-x, -y, -z$
H14	C4A	2.729	$2-x, -y, -z$
O3	H9B	2.589	$2-x, -y, -z$

Tabla 8. Parámetros del refinamiento de la estructura cristalina

Refinamiento sobre F^2	Posicionamiento de H: inferido de los grupos vecinos
Matriz de mínimos cuadrados: completa	Átomo de H tratados con una mezcla de refinamiento independiente y restringido
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.065$	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0689P) + 2.0562 P]$ donde $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
$wR(F^2) = 0.163$	$(\Delta/\sigma)_{\max} < 0.001$
$S = 1.12$	$\Delta\rho_{\max} = 0.23 \text{ e } \text{Å}^{-3}$
1920 reflexiones	$\Delta\rho_{\min} = -0.22 \text{ e } \text{Å}^{-3}$
152 parámetros	Corrección de la extinción: SHELXTL-NT (Sheldrick, 2008) $F_c = kF_c[1+0.001xF_c^2\lambda/\sin(2\theta)]^{-1/4}$
Ubicación primaria atómica: métodos directos de estructura invariante	Coefficiente de extinción: 0.020 (2)
Ubicación secundaria atómica: mapa de Fourier diferencial	

La estructura cristalina se encuentra estabilizada por interacciones fuentes de tipo π -H entre los átomos H3 y O5, así también una interacción de tipo π - π T-shape con los átomos C4A y C8A con el H21B y una interacción entre los átomos O1 y H15 esto lo podemos observar en la **Figura 44**.

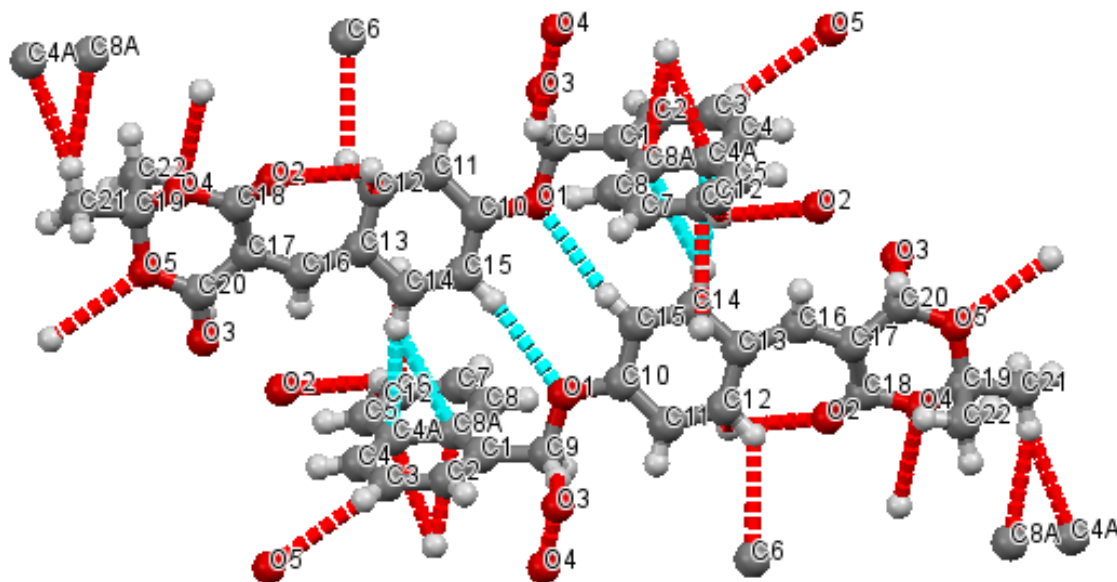


Figura 44. Dímeros generados por las interacciones tipo π - π entre los átomos C4A y C8A con H14 y las interacciones entre los átomos O1-H15 (líneas punteadas azules)

8.2 Parte *in silico*

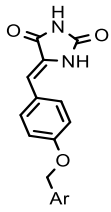
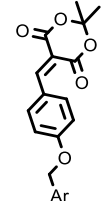
Para que una molécula pueda ser considerada como compuesto bioactivo, se tiene que someter a varios estudios para validar su actividad biológica, muchas de las veces los compuestos suelen tener muy buenas propiedades farmacológicas, pero no cumplen con los requisitos para ser bien absorbidos en el cuerpo o muestran algún tipo de efecto tóxico, por lo tanto es de suma importancia realizar estudios *in silico* que nos puedan predecir tanto su espectro de actividad, así como propiedades ADME y de toxicidad.

8.2.1 admetSAR

Es importante conocer los procesos a los cuales una molécula bioactiva es sometida hasta la llegada a su sitio de acción, ya que durante este proceso podría ser metabolizada a productos inactivos o incluso tóxicos. Lo anterior permite conocer

algunas propiedades ADMET de las moléculas antes de ser sintetizadas o probadas en ensayos *in vitro* e *in vivo*, el servidor en línea admetSAR nos ayuda en la predicción de estas propiedades, las cuales se muestran en la **Tabla 9**:

Tabla 9. Resultados de admetSAR para los compuestos **THA 1-5**

Molécula	Absorción en el intestino humano	Inhibidor de glicoproteína-P	Canales hERG	Toxicidad de AMES	Carcinógeno	Biodisponibilidad oral en humanos
	THA-1 Ar: Bifenilcarbonitrilo HIA+ 0.9966	No inhibidor 0.8384	Bloqueador débil 0.8940	No tóxico 0.6854	No carcinógeno 0.8796	HOB+ 0.5857
	THA-2 Ar: Naftilo HIA+ 0.9967	No inhibidor 0.4631	Bloqueador débil 0.7270	No tóxico 0.6041	No carcinógeno 0.9139	HOB+ 0.5429
	THA-3 Ar: 3-fenilmetilo HIA+ 0.9965	No inhibidor 0.8792	No Bloqueador 0.8732	No tóxico 0.6955	No carcinógeno 0.8667	HOB+ 0.7286
	THA-4 Ar: Bifenilcarbonitrilo HIA+ 0.9919	No inhibidor 0.8982	Bloqueador débil 0.9691	No tóxico 0.6100	No carcinógeno 0.8320	HOB+ 0.5143
	THA-5 Ar: Naftilo HIA+ 0.9972	No inhibidor 0.8285	Bloqueador débil 0.7278	No tóxico 0.7100	No carcinógeno 0.9017	HOB+ 0.6143

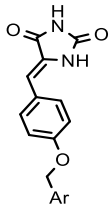
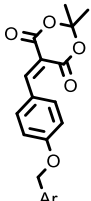
Como se muestra en la tabla anterior podemos observar que todos los compuestos tienen altas probabilidades de ser bien absorbidos en el intestino por lo que podrán ser antidiabéticos orales, esto también lo podemos observar en que presentan de medias a altas probabilidades de tener una buena biodisponibilidad oral en humanos.

Además tienen altas probabilidades de no ser inhibidores de la glicoproteína-P no presentan riesgo de genotoxicidad ni de ser carcinógenos, pero tienen probabilidades altas de ser bloqueadores de canales hERG, estos canales están involucrados en la cardiotoxicidad de fármacos,⁶⁸ se tendrían que realizar pruebas *in vitro* posteriores para corroborar este efecto. A partir de estos resultados se puede decir que los compuestos **THA 1-5** tienen buenas propiedades farmacocinéticas y con ello tendrán amplias posibilidades de llegar a la diana terapéutica en cuestión.

8.2.2 PASS online

En la **Tabla 10** se muestran los resultados dados por este programa para los compuestos **THA1-5**:

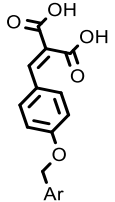
Tabla 10. Resultados del espectro de actividad de los compuestos **THA 1-5** dados por PASS online

Molécula	Tratamiento en los síntomas de la diabetes		Ligando de aldosa reductasa		Inhibidor de PTP		Antidiabético		
	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	
	THA-1 Ar: Bifenilcarbonitrilo	0.305	0.037	0.258	0.025	0.129	0.050	--	--
	THA-2 Ar: Naftilo	0.407	0.012	0.316	0.014	0.114	0.060	--	--
	THA-3 Ar: 3-fenilmetilo	0.384	0.015	0.293	0.018	0.187	0.035	--	--
	THA-4 Ar: Bifenilcarbonitrilo	0.328	0.027	--	--	0.187	0.035	0.361	0.055
	THA-5 Ar: Naftilo	0.462	0.009	--	--	0.139	0.044	0.315	0.075

La **Tabla 10** solo presenta los resultados de dianas terapéuticas relacionadas con la DM2, como podemos observar los compuestos de la serie hidantoína (**THA 1-3**) tienen probabilidades discretas de ser ligandos de aldosa reductasa e inhibidores de PTP, además tienen probabilidades medias de ser utilizados en el tratamiento de los síntomas de la diabetes, esto correlaciona con los targets planteados por lo que se puede decir que estos compuestos serán afines a PTP y aldosa reductasa.

En cuanto a los compuestos con el ácido de Meldrum (**THA 4-5**), podemos distinguir que tienen probabilidades discretas de ser usados como antidiabéticos y así también de ser utilizados en el tratamiento de los síntomas de la diabetes, pero como estos compuestos se diseñaron para ser profármacos se evaluó también en su forma metabolizada, en la **Tabla 11** se aprecia los resultados que arrojó el programa para estos compuestos donde podemos observar que las probabilidades de ser promotores de insulina aumentaron considerablemente y así también se observa que pudieran ser utilizados como agonistas de GLP-1 lo cual se relacionaría con la actividad predicha anterior. Es importante mencionar que el espectro de actividad de todos los compuestos no es tan amplio debido a que este programa se basa en estudios de estructura-actividad y probablemente en su biblioteca de compuestos no existan moléculas parecidas a las de este proyecto, pero no por esto se descarta que presenten la actividad antidiabética.

Tabla 11. Resultados del espectro de actividad del metabolito activo los compuestos **THA 4-5** dados por PASS online

Molécula	Promotor de insulina		Agonista de GLP-1		Ligando de AKR		Antidiabético	
	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
 <p>THA-4a Ar: Bifenilcarbonitrilo</p>	0.521	0.025	0.374	0.009	--	--	0.317	0.073
<p>THA-5a Ar: Naftilo</p>	0.678	0.007	0.273	0.038	0.215	0.044	--	--

8.2.3 ACD/Tox suite

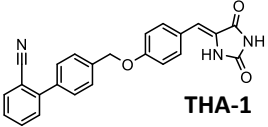
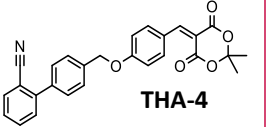
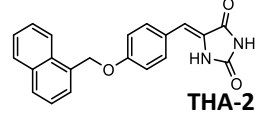
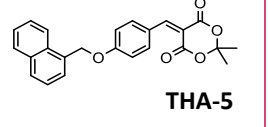
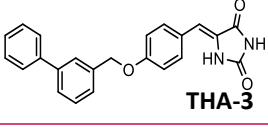
Los canales hERG (human *ether-a-go-go-related* gen) son esenciales para la actividad eléctrica normal en el corazón. Mutaciones hereditarias en el gen *HERG* causan el síndrome de QT largo (LQTS), un trastorno de repolarización cardíaca que predispone a las personas afectadas a sufrir arritmias.⁶⁹ Estos canales pueden ser bloqueados por diversos grupos de fármacos lo cual ocasionan el desarrollo de arritmias e inclusive la muerte, es por esto que tiene una alta relevancia dentro de los estudios preclínicos de una molécula.

A pesar de que se ha comprobado que estos canales tienen una afinidad promiscua se ha logrado determinar algunos farmacóforos y ciertas características que promueven el bloqueo de estos canales y por lo tanto nos dan un valor predictivo para evitar la toxicidad en las moléculas diseñadas.⁶⁸

Los resultados del programa ACD/Tox suite se aprecian en la **Tabla 12** donde se pueden observar dos tendencias, la primera es que los compuestos con el anillo de hidantoína (**THA 1-3**) tienen probabilidades altas de bloquear este tipo de canales esto se puede deber a que las moléculas presentan un valor de ClogP mayor a 3.7, esta característica se conoce que promueve la afinidad de una molécula por los canales hERG. También se sabe que la presencia de al menos un anillo aromático y la presencia de aminas en estructuras cíclicas favorecen esta afinidad.⁶⁸

Por otro lado, al observar las probabilidades de los compuestos **THA 4-5** que contienen el fragmento de ácido carboxílico, se aprecia como disminuye drásticamente el valor de la probabilidad ya que no presentan ni el 20% de posibilidad de bloquear estos canales, por lo que se puede concluir que el programa le atribuye esta afinidad al núcleo de hidantoína debido a la presencia de nitrógenos, el par de electrones de los nitrógenos se encuentran comprometidos en resonancia y con esto a sus hidrógenos les confiere una particularidad ácida, así que se considera que el bloqueo de estos canales no será tan alto como lo predice el programa, habría que realizar ensayos *in vitro* especializados para poder confirmar este hecho.

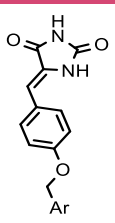
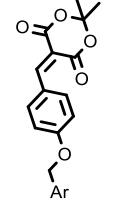
Tabla 12. Probabilidad de bloqueo de los canales hERG de los compuestos **THA 1-5**

Molécula	Probabilidad de bloqueo de canales hERG	Molécula	Probabilidad de bloqueo de canales hERG
 <p>THA-1</p>	77%	 <p>THA-4</p>	14%
 <p>THA-2</p>	53%	 <p>THA-5</p>	5%
 <p>THA-3</p>	63%	Terfenadina	98%

Dentro del metabolismo de un compuesto bioactivo se tienen dos principales procesos involucrados: los de fase I y fase II, en estos procesos se ven implicados múltiples transformaciones químicas llevadas a cabo por diferentes enzimas. Existe un grupo de enzimas que se destaca por la capacidad de biotransformar múltiples xenobióticos para que nuestro cuerpo las excrete, el cual es la familia del Citocromo P450.

Conocer que isoforma del CYP450 metabolizará a los compuestos diseñados es de gran ayuda debido a que con esto podemos saber si será muy metabolizado y como consecuencia ser fácilmente excretado por el cuerpo o si existe la posibilidad de generar riesgos de interacciones medicamentosas y con esto un ajuste de dosis, en la **Tabla 13** se observan los resultados de la predicción de inhibición de las principales isoformas de CYP450 dados por el programa para los compuestos de este proyecto, donde podemos distinguir que todas las moléculas tiene probabilidades de medias a bajas de ser inhibidores de alguna isoforma a comparación de Clotrimazol, fármaco antifúngico bien conocido por ser inhibidor del CYP450.

Tabla 13. Predicción de la inhibición de algunas isoformas del CYP 450 para los compuestos **THA 1-5** ($IC_{50} < 10\mu M$)

Molécula	Probabilidad de inhibición de la isoforma del CYP450					
	CYP3A4	CYP2D6	CYP2C9	CYP2C19	CYP1A2	
	THA-1 Ar: bifenilcarbonitrilo	0.23	0.05	0.11	0.08	0.17
	THA-2 Ar: naftilo	0.22	0.09	0.17	0.16	0.65
	THA-3 Ar: 3-fenilmetilo	0.25	0.10	0.12	0.20	0.29
	THA-4 Ar: bifenilcarbonitrilo	0.15	0.01	0.11	0.06	0.02
	THA-5 Ar: naftilo	0.14	0.03	0.09	0.09	0.13
Clotrimazol	0.85	0.07	0.41	0.80	0.12	

Una de las características más importantes de los fármacos antidiabéticos es que son administrados vía oral, el programa ACD/Tox Suite nos ofrece la posibilidad de evaluar la dosis letal por esta vía en rata y ratón y determinar en qué categoría de toxicidad aguda de la OECD entraría el compuesto evaluado, los resultados para los compuestos de este proyecto los podemos ver en la **Tabla 14**:

Tabla 14. Toxicidad aguda en rata y ratón

Molécula		DL ₅₀ (mg/kg) Especie y Vía de admón.				Categoría OECD
		Ratón IP	Ratón Oral	Rata IP	Rata Oral	
	THA-1 Ar: bifenilcarbonitrilo	670	490	810	860	3-4
	THA-2 Ar: naftilo	580	1200	370	440	3-4
	THA-6 Ar: 3-fenilmetilo	360	1500	610	940	3-4
	THA-4 Ar: bifenilcarbonitrilo	520	730	450	2200	3-4
	THA-5 Ar: naftilo	350	300	250	1600	3-4
TAK-875		350	2400	170	1500	4

Categoría 1 OECD: $DL_{50} \leq 5$ mg/Kg Altamente tóxico
 Categoría 2 OECD: $5 \text{ mg/Kg} < DL_{50} \leq 50$ mg/Kg Muy tóxico
 Categoría 3 OECD: $> 50 DL_{50} \leq 300$ mg/Kg Tóxico
 Categoría 4 OECD: $> 300 DL_{50} \leq 2000$ mg/Kg Toxicidad moderada
 Categoría 5 OECD: $>2000 DL_{50} \leq 5000$ mg/Kg Sin peligro

Como podemos apreciar en tabla anterior todos los compuestos resultan tener una DL_{50} mayor a **TAK875** de administración por vía intraperitoneal tanto en ratón como en rata. En cuanto a la administración oral las DL_{50} resultan muy diversas pero ninguna menor a 200 mg/kg por lo cual podríamos decir que son moléculas seguras, esto también se puede constatar con la categoría de la OECD a la que pertenecen que es entre 3-4 y que a pesar de estar categorizados como tóxicos, la mayor parte de fármacos se encuentran dentro de estas dos categorías, así que su uso según la predicción del programa será seguro.

8.2.4 DIA-DB

En la **Tabla 15** se pueden observar los scores de unión del acoplamiento molecular inverso dados por el servidor web DIA-DB:

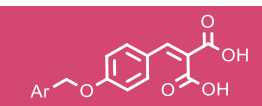
Tabla 15. Scores de unión dados por DIA-DB para los compuestos **THA 1-5**

Diana Terapéutica	Score (Kcal/mol)				
	THA-1	THA-2	THA-3	THA-4	THA-5
Aldosa reductasa	-12.1	-13.6	-13.3	-10.1	-12.1
GPR-40	-10.7	-11.8	-10.6	-11.0	-11.7
Isozima 1 Corticosteroide 11- β -deshidrogenasa	-10.6	-10.7	-11.1	-9.1	-11.1
PPAR- γ	-10.5	-11.0	-11.4	-11.6	-9.5
PPAR- δ	-10.4	-10.1	-10.5	-10.9	-11.1
Glucokinasa	-10.2	-10.5	-10.2	-8.7	-11.4
DPP-4	-10	-9.5	-10.1	-9.6	-10.5
Maltasa-glucoamilasa intestinal	-9.2	-9.9	-10.2	-8.0	-7.6
Receptor nuclear subfamilia 5 grupo A miembro 2	-9.1	-8.4	-9.0	-8.9	-8.9
Precursor de α -amilasa pancreática	-9.1	-9.6	-10.0	-9.8	-9.2
PPAR- α	-8.8	-9.4	-9.7.0	-9.8	-9.1
Receptor α -retinoide x	-8.7	-10.7	-10.9	-9.3	-10.1
Precursor mitocondrial de Piruvato deshidrogenasa	-8.1	-8.1	-8.7	-8.6	-8.4
Glicógeno fosforilasa	-8.1	-8.7	-8.8	-8.7	-8.4
Precursor del receptor de insulina	-8.0	-8.8	-8.4	-8.5	-8.7
PTP-1B	-8.0	-8.8	-8.2	-8.7	-9.1
Precursor de unión a retinol 4	-6.9	-11.1	-9.8	-7.2	-9.3
Fructosa-1-6-bifosfatasa 1	-6.2	-6.2	-6.5	-6.4	-6.5

Como se observa en la tabla anterior, las dianas terapéuticas que resultaron con mejor calificación de unión fueron aldosa reductasa y GPR-40, PPAR- γ resultó ser el tercer receptor con mejor score de unión, sin embargo, PTP-1B resultó con calificaciones menores a -8.0, lo que nos lleva a pensar que los compuestos pueden ser activos sobre esta enzima pero con baja afinidad de unión, con estos resultados podemos corroborar que los compuestos sintetizados tienen buenas probabilidades de ser activos en las dianas propuestas ya que tuvieron los scores de unión más altos.

Como se mencionó antes los compuestos con el fragmento de ácido de Meldrum están diseñados para ser profármacos, por lo cual se evaluaron las propiedades de sus metabolitos que se espera sean activos, las cuales las podemos apreciar en la **Tabla 16**:

Tabla 16. Scores de unión dados por DIA-DB para los metabolitos de **THA 4a-5a**

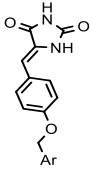
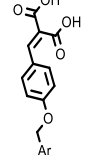
Diana Terapéutica		
	THA-4a	THA-5a
Aldosa reductasa	-11.0	-12.2
GPR-40	-10.0	-10.6
Isozima 1 Corticosteroide 11- β -deshidrogenasa	-10.0	-9.7
PPAR- γ	-9.6	-9.7
PPAR- δ	-9.5	-8.4
Glucokinasa	-8.4	-9.3
DPP-4	-8.9	-9.1
Maltasa-glucoamilasa intestinal	-8.4	-8.9
Receptor nuclear subfamilia 5 grupo A miembro 2	-8.0	-7.5
Precursor de α -amilasa pancreática	-7.9	-8.2
PPAR- α	-8.2	-8.7
Receptor α -retinoide x	-9.3	-10.1
Precursor mitocondrial de Piruvato deshidrogenasa	-8.2	-7.8
Glicógeno fosforilasa	-8.0	-8.2
Precursor del receptor de insulina	-8.0	-7.6
PTP-1B	-8.0	-8.2
Precursor de unión a retinol 4	-6.5	-10.8
Fructosa-1-6-bifosfatasa 1	-6.0	-5.6

Como se puede observar los scores más altos siguen siendo para GPR-40 y aldosa reductasa, incluso para esta última se incrementan. Con base en lo anterior se puede decir que las moléculas en su forma no metabolizada y como en la forma de metabolito activo tendrán altas posibilidades de ser activas y generar la respuesta biológica esperada.

8.2.5 SwissTargetPrediction

En la **Tabla 17** se encuentran los resultados dados por la página web:

Tabla 17. Predicción del blanco terapéutico dado por SwissTargetPrediction para los compuestos **THA 1-3** y **THA 4a-5a**

Molécula	FFA-1	PPAR- γ	PPAR- δ	PPAR- α	GSK-3	AKR	PTP-1B	
	THA-1 Ar: bifenilcarbonitrilo	--	--	--	--	0.30	--	--
	THA-2 Ar: naftilo	--	--	--	--	0.90	--	--
	THA-6 Ar: 3-fenilmetilo	--	--	--	--	0.80	--	--
	THA-4a Ar: bifenilcarbonitrilo	--	0.30	0.30	0.30	--	0.25	0.10
	THA-5a Ar: naftilo	--	0.45	0.45	0.45	--	0.50	0.10

Con base en la tabla anterior, los compuestos de la serie hidantoína tienen de medias a altas probabilidades de unirse a la GSK-3, enzima implicada en otros aspectos de la homeostasis de la glucosa, incluida la fosforilación del receptor de insulina. Los compuestos con el fragmento de ácido de Meldrum fueron evaluados en su forma de metabolito activo únicamente y resultaron tener probabilidades medias de ser activadores de las tres isoformas de PPAR, receptores involucrados en la regulación y metabolismo de carbohidratos y lípidos⁷⁰, lo que correlaciona debido a que los ligandos endógenos de estos receptores son ácidos carboxílicos, además estos compuestos tienen medias probabilidades de ser inhibidores de aldosa reductasa, con esto de nuevo corroboramos de que los compuestos tienen altas probabilidades de activar estas dianas terapéuticas propuestas con anterioridad.

8.2.6 Acoplamiento molecular refinado

Para fines de este proyecto se realizaron los acoplamientos moleculares en el programa de Autodock Vina que eficientiza el método de docking convencional y en MOE, programa que limita las poses generadas para satisfacer las características del farmacóforo con el fin de sesgar la búsqueda hacia las interacciones de importancia biológica.

8.2.6.1 Acoplamiento molecular con Autodock Vina

Autodock Vina permite realizar el acoplamiento molecular del ligando con una función de puntuación basado en campos de fuerza. A manera de preparación de los cálculos, se retiran las moléculas de agua y disolventes presentes en la estructura cristalográfica, así como el ligando co-cristalizado, C0A en el caso de PTP-1B, TAK-875 en el caso de GPR-40 y 4G7 para aldosa reductasa. AutoDock Vina da la ventaja de optimizar el proceso de docking, haciéndolo más rápido y eficiente su ejecución al tener predeterminado los algoritmos, la preparación de la proteína y del grid a utilizar.

El programa auxiliar AutoGrid que está integrado generó los mapas electrostáticos de la red, cuyas coordenadas se hicieron coincidir con el ligando co-cristalizado. Las dimensiones de la red fueron 25x25x25 Å con un espacio de malla de 1.0 Å.

Para proceder a realizar los cálculos con las diferentes moléculas a usar, la validación debe tener como resultado un RMSD <2 Å.

A continuación se muestra en la **Figura 45** el diagrama en 2D de PTP-1B con del ligando co-cristalizado C0A (PDB: 4Y14), donde las interacciones más importantes están con el grupo fosfato del ligando con los residuos Gly220A, Ile219A, Cys215A, Arg221A, Ala217A y Ser216A donde forman múltiples puentes de hidrogeno los cuales favorecen la inhibición de la enzima y así se obtiene el efecto terapéutico deseado.⁷¹

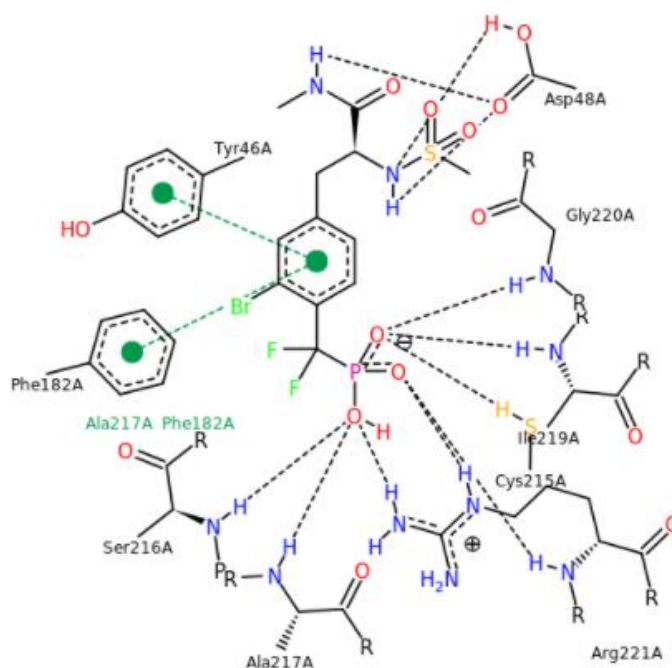


Figura 45. Mapa 2D del sitio de unión de C0A con PTP-1B

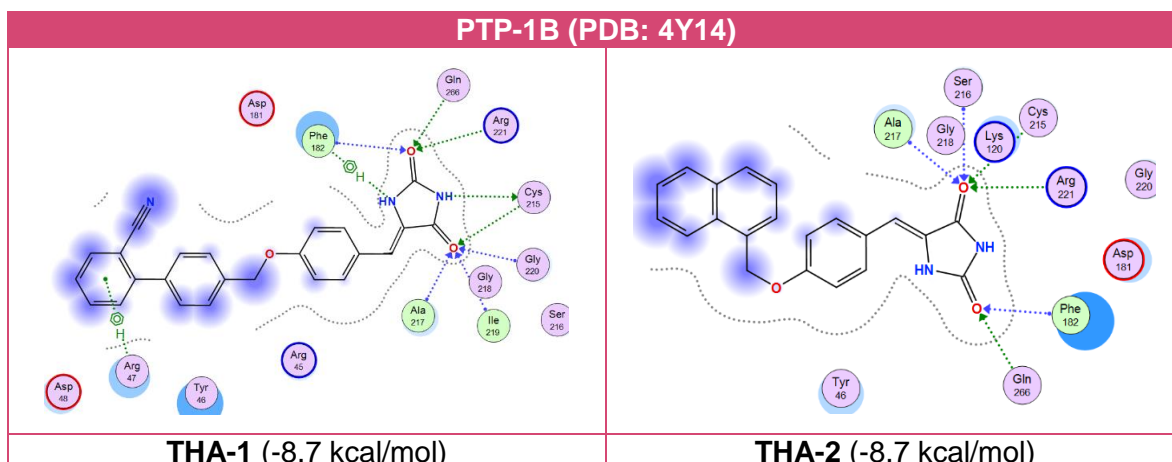
En la **Tabla 18** se muestran los scores de unión, las constantes de inhibición calculadas y la eficiencia del ligando entre la enzima PTP-1B y los ligandos diseñados para trabajo, así como la validación con el ligando co-cristalizado COA:

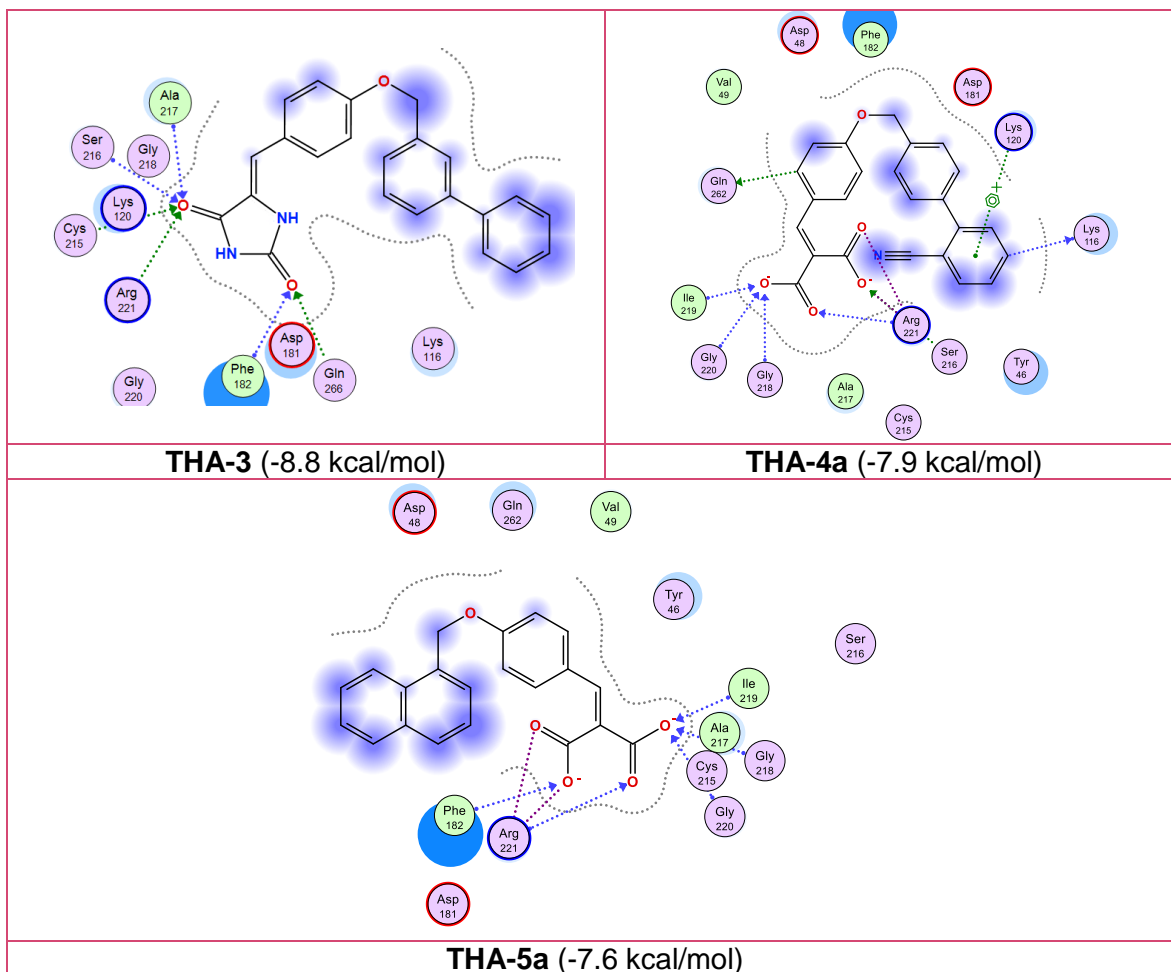
Tabla 18. Scores de unión y constantes de afinidad del acoplamiento molecular entre PTP-1B con **THA 1-3** y **THA4a-5a**

Molécula	Score de unión (kcal/mol)	Ki (μM)	Eficiencia del ligando
THA-1	-8.7	0.39	0.29
THA-2	-8.7	0.39	0.33
THA-3	-8.8	0.33	0.31
THA-4a	-7.9	1.54	0.26
THA-5a	-7.6	2.56	0.29
COA (RMSD= 1.98)	-8.0	1.30	0.37

En la **Tabla 19** se observan las interacciones que presenta los compuestos diseñados con la enzima PTP-1B, para los compuestos de la serie hidantoína (**THA 1-3**) se observa la formación de puentes de hidrógeno entre los residuos Ala217, Ile219 y Gly220 donde el carbonilo de los compuestos se comporta como aceptor, estas interacciones son las que están reportadas en literatura como importantes para que ocurra la actividad biológica, es decir la inhibición de la enzima.

Tabla 19. Diagramas de interacción en 2D de los compuestos **THA 1-3** y **THA 4a-5a** con la enzima PTP-1B





Para todos los docking realizados, los compuestos de la serie de ácido de Meldrum fueron evaluados en su forma de metabolito activo. Las interacciones más importantes son con ambos carboxilatos de los compuestos con los residuos Gly 220, Ile 219 y Arg221 es importante mencionar que todas estas interacciones están reportadas en literatura como las importantes para la inhibición de PTP-1B. Para esta enzima el compuesto con el mejor score de unión fue **THA-3**, esto se debe a las múltiples interacciones que tienen los carbonilos con los residuos polares del sitio de inhibición de la enzima, además este compuesto tuvo un valor de la constante de inhibición menor a la del ligando co-cristalizado, por lo que lo hace más afín al ligando.

En la siguiente figura (**Figura 46**) se muestra el diagrama en 2D del sitio de unión de Aldosa reductasa (PDB: 4YS1) con su ligando co-cristalizado, donde podemos ver una triada catalítica con los residuos Tyr48, His110 y Phe122, donde se forman tres puentes de hidrogeno con los dos primeros residuos y una interacción de tipo π - π con el residuo aromático.⁷²

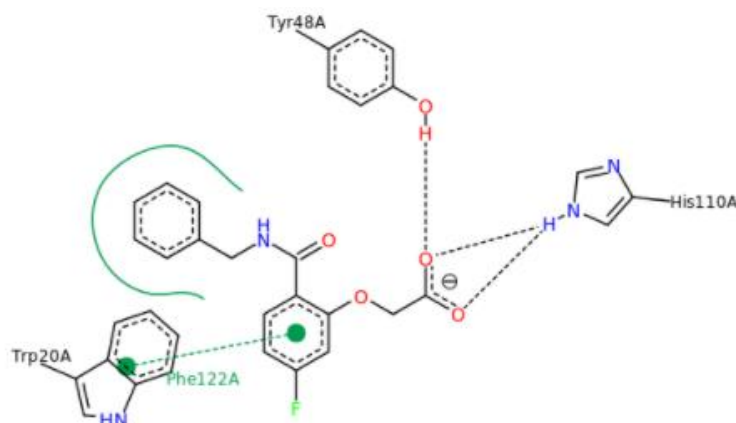


Figura 46. Mapa 2D del sitio de unión de 4G7 con Aldosa reductasa ⁷²

En la **Tabla 20** se muestra los scores de unión, la constante de inhibición calculada y la eficiencia del ligando entre la enzima Aldosa reductasa y los ligandos diseñados para trabajo, así como la validación con el ligando co-cristalizado 4G7:

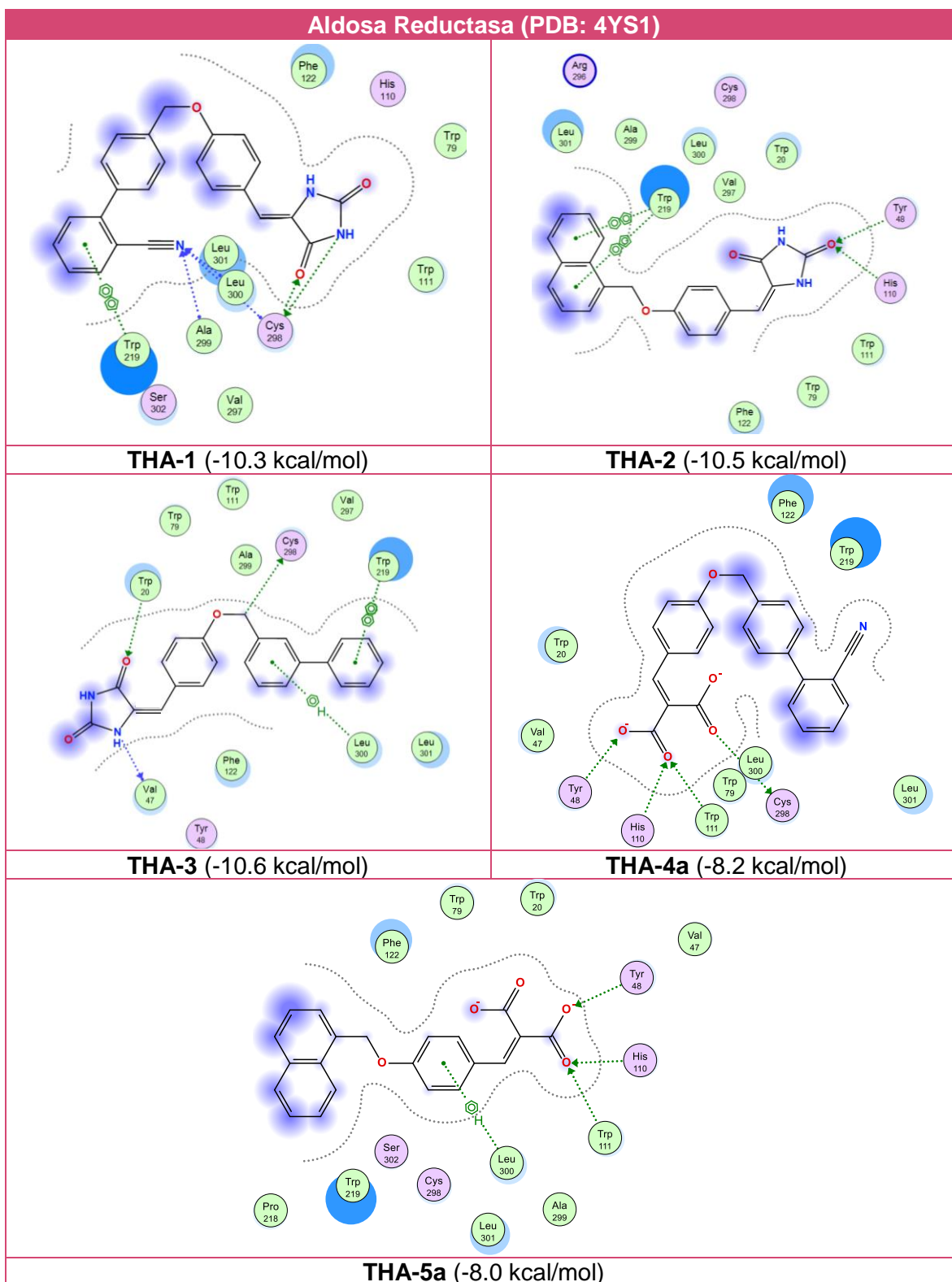
Tabla 20. Scores de unión y constantes de afinidad del acoplamiento molecular entre Aldosa Reductasa con **THA 1-3** y **THA 4a-5a**

Molécula	Score de unión (kcal/mol)	Ki (μM)	Eficiencia del ligando
THA-1	-10.3	0.02	0.34
THA-2	-10.5	0.01	0.40
THA-3	-10.6	0.01	0.37
THA-4a	-8.2	0.92	0.27
THA-5a	-8.0	1.30	0.30
4G7 (RMSD=1.22)	-8.0	1.30	0.36

En la **Tabla 21** se observan los mapas de interacción en 2D de los compuestos diseñados con la enzima Aldosa reductasa. Para la serie de los compuestos de tipo hidantoína se presentan interacciones de tipo puente de hidrogeno con los residuos polares Cys298, His110, Tyr48, además se presentan interacciones de tipo π-π con el residuo Trp219 con la parte hidrofóbica de los compuestos, a partir de esto se cree que los compuestos **THA 1-3** tendrán altas probabilidades de ser inhibidores de esta enzima. El compuesto **THA-3** tuvo el mejor score de unión de los 6 compuestos, se cree que se debe a la conformación espacial que toma dentro del sitio de unión, así como las interacciones extra que tiene la parte lipofílica del compuesto con residuos lipofílicos.

Para los compuestos de la serie de ácido de Meldrum, tienen interacciones de tipo puente de hidrógeno con los residuos Tyr48 e His110 que son importantes en la actividad biológica según lo reportado en literatura. Esta serie presentó los scores de unión más bajos, pero una KI mayor a la del ligando co-cristalizado por lo que no se descarta que puedan ser buenos inhibidores de la enzima.

Tabla 21. Diagramas de interacción en 2D de los acoplamientos moleculares entre Aldosa Reductasa con **THA 1-3** y **THA 4a-5a**



En la siguiente figura (**Figura 47**) se muestra el diagrama en 2D del sitio de unión de GPR-40 (PDB: 4PHU) con su ligando co-cristalizado TAK-875, donde se pueden observar la formación de puentes de hidrogeno con los residuos Tyr91, Arg183 y Arg2258 con la parte ácida de TAK-875, estas interacciones son las más importantes para la activación de GPR-40.⁷³

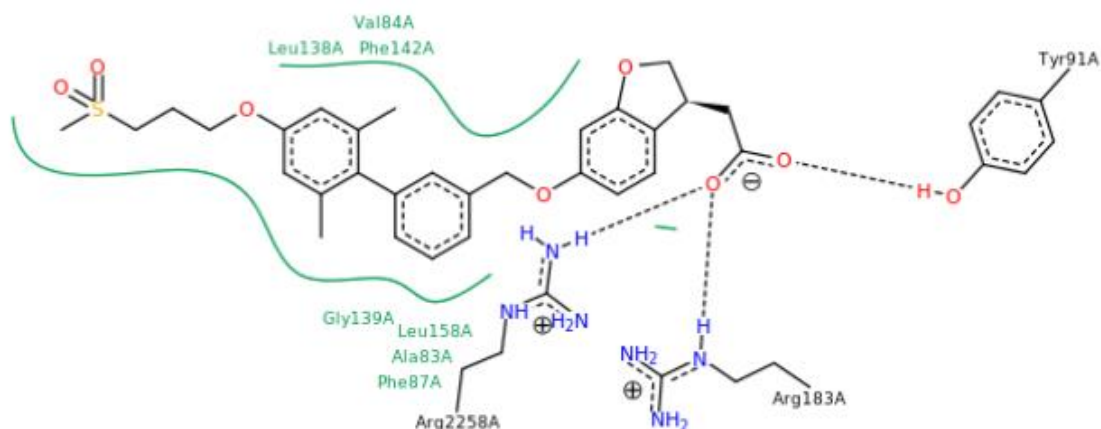


Figura 47. Mapa 2D del sitio de unión de TAK-875 con GPR-40 ⁷³

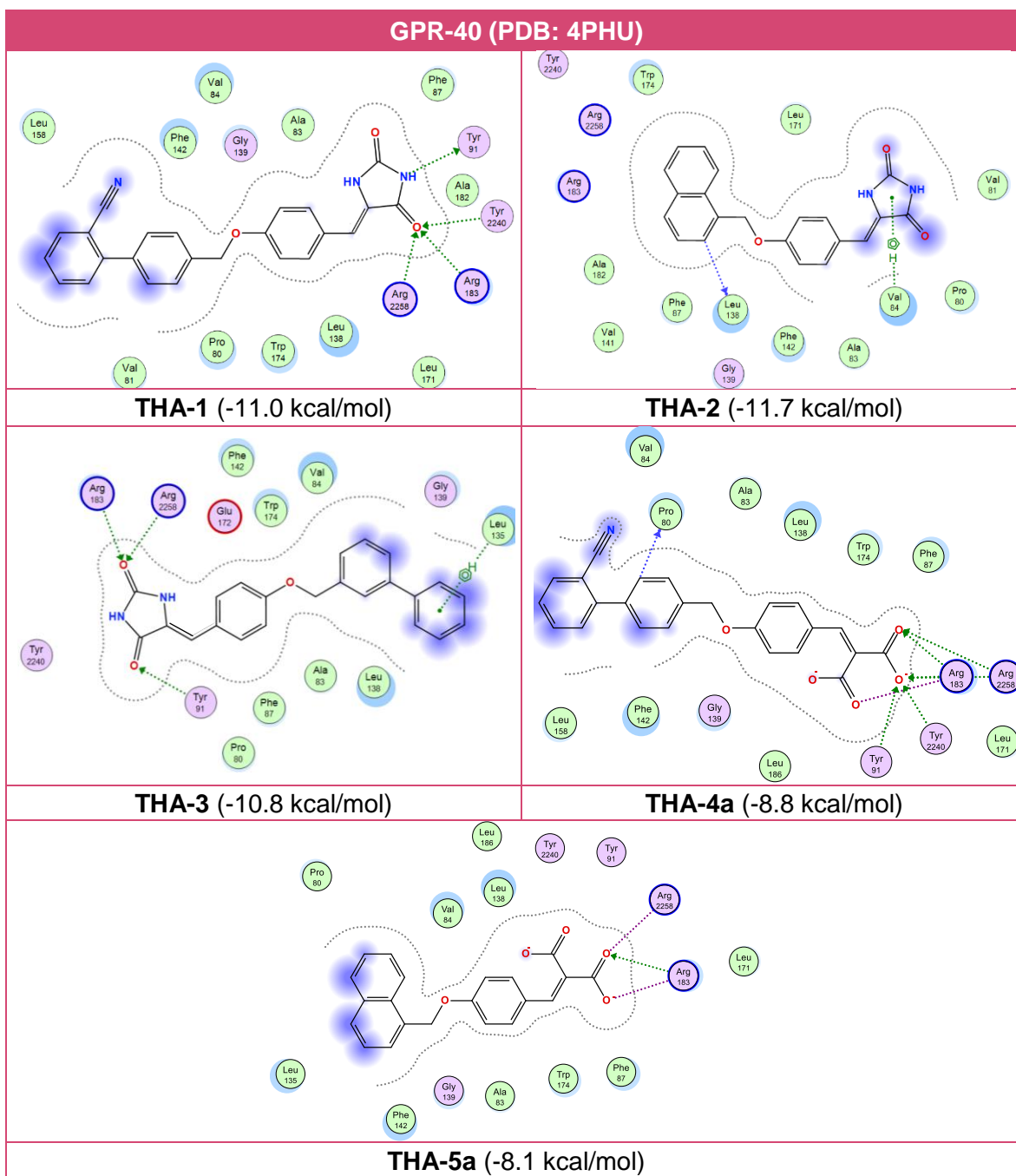
En la **Tabla 22** se aprecian los scores de unión y la constante de inhibición calculada entre el receptor GPR-40 y los ligandos diseñados para este trabajo, así como la validación con el ligando co-cristalizado TAK-875:

Tabla 22. Scores de unión y constantes de afinidad del acoplamiento molecular entre GPR-40 con **THA 1-3** y **THA 4a-5a**

Molécula	Score de unión (kcal/mol)	Ki (nM)	Eficiencia del ligando
THA-1	-11.0	8.08	0.36
THA-2	-10.8	11.34	0.41
THA-3	-11.7	2.47	0.41
THA-4a	-8.8	335.80	0.29
THA-5a	-8.1	1099.15	0.31
TAK-875 (RMSD=1.45)	-10.1	37.13	0.27

En la **Tabla 23** se observan los mapas de interacción en 2D de los compuestos diseñados con el receptor GPR-40. Para la serie de los compuestos de tipo hidantoína se aprecia que se forman puentes de hidrógenos con los residuos Arg2258 y Arg183 en la parte del carbonilo del anillo de hidantoína, el compuesto con el mejor score de unión y constante de inhibición es **THA-3**, además de las interacciones que mencioné antes, presenta otra interacción de tipo puente de hidrogeno con Tyr91 y el otro carbonilo, así como una interacción π -H entre el bifenilo y Leu135.

Tabla 23. Diagramas de interacción en 2D de los acoplamientos moleculares entre GPR-40 y **THA 1-3** y **THA 4a-5a**



Para la serie de ácido carboxílico se puede observar las interacciones con los residuos Arg183 y Arg2258 con la parte ácida de los compuestos, el compuesto con mejor score de unión es **THA-4** además de las interacciones ya mencionadas se presentó una interacción π -H entre Leu138. A partir de esto se cree que todos los compuestos tendrán altas probabilidades de ser activadores de GPR-40 debido a

que son ácidos carboxílicos como los ligandos endógenos de este receptor ya que tuvieron buenos scores de unión muy altos y las interacciones presentadas correlacionan con los descrito en literatura.

8.2.6.2 Acoplamiento molecular con MOE

El programa MOE permite realizar el acoplamiento molecular a partir de una base de datos, simplificando la preparación de la proteína y evalúa las funciones de puntuación por medio de conocimiento empírico. A manera de preparación de los cálculos, se realiza una corrección de errores y protonación de la proteína con la función QuickPrep en la estructura cristalográfica y solo se deja el ligando co-cristalizado, C0A en el caso de PTP-1B, 4G7 para aldosa reductasa y TAK-875 en el caso de GPR-40. MOE da la ventaja de optimizar el proceso de docking, haciéndolo más rápido y eficiente al tener predeterminado los algoritmos y la preparación de la proteína, así como del grid a utilizar.

Para proceder a realizar los cálculos con las diferentes moléculas a usar, la validación debe tener como resultado un RMSD <2 Å.

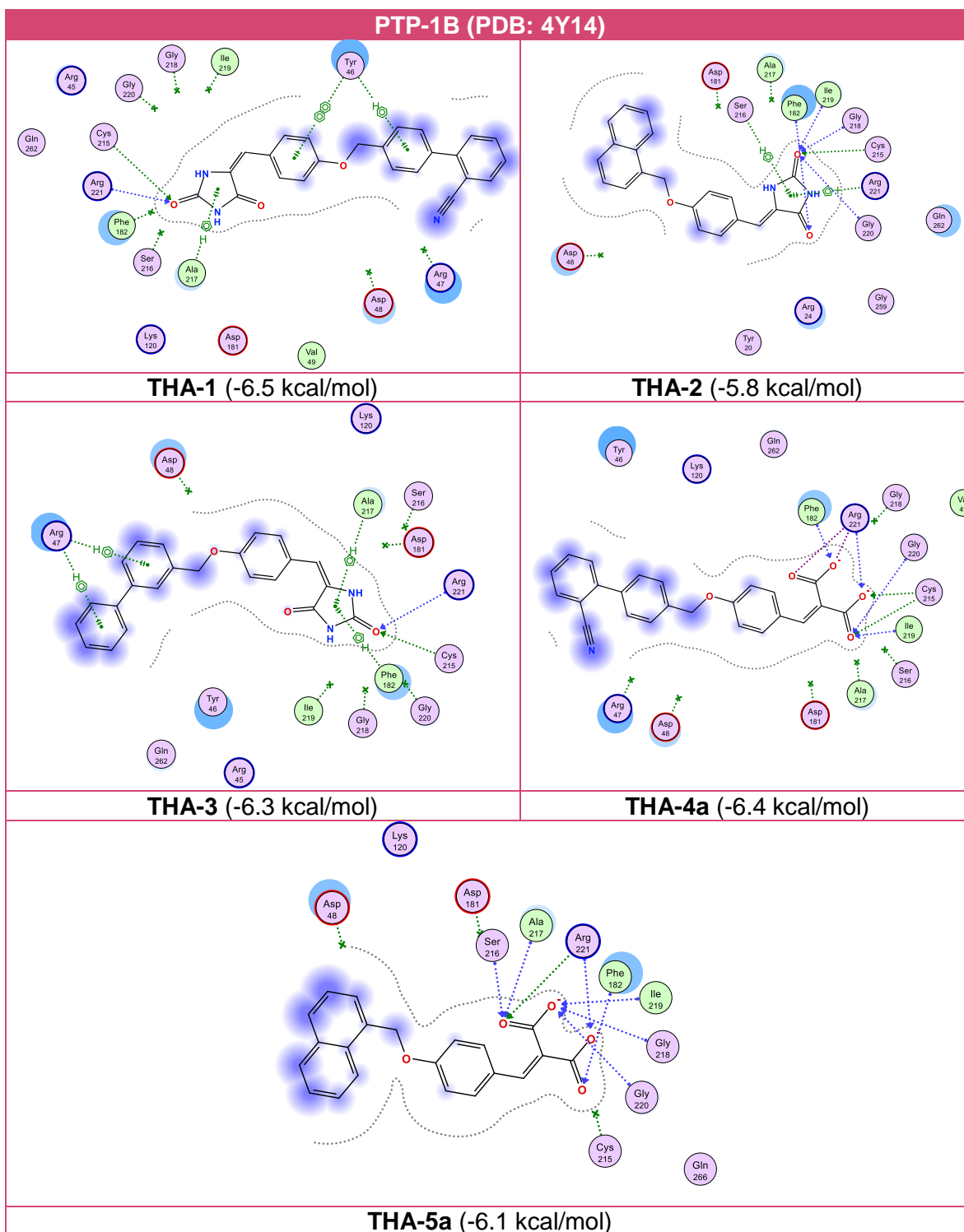
En la **Tabla 24** se muestran los scores de unión, la constante de inhibición calculada y la eficiencia del ligando entre la enzima PTP-1B y los ligandos diseñados para trabajo, así como la validación con el ligando co-cristalizado C0A:

Tabla 24. Scores de unión y constantes de afinidad del acoplamiento molecular entre PTP-1B con **THA 1-3** y **THA 4a-5a**

Molécula	Score de unión (kcal/mol)	Ki (µM)	Eficiencia del ligando
THA-1	-6.5	16.52	0.21
THA-2	-5.8	54.08	0.22
THA-3	-6.3	23.18	0.22
THA-4a	-6.4	19.57	0.21
THA-5a	-6.1	32.53	0.23
C0A (RMSD= 0.98)	-6.4	19.57	0.25

Además en la **Tabla 25** se pueden apreciar los mapas de interacción en 2D de los compuestos diseñados con la enzima, dentro de las interacciones más importantes para la serie de hidantoína tenemos que se generan múltiples puentes de hidrogeno entre los residuos Cys 215 y Arg 221 con el anillo de hidantoína, el compuesto con el mejor score fue **THA-1** se cree que esto se debe a la interacción extra que presenta en la zona lipofílica de su farmacóforo con el residuo Tyr46.

Tabla 25. Diagramas de interacción en 2D de los acoplamientos moleculares entre PTP-1B con **THA 1-3** y **THA 4a-5a**



Para los compuestos de ácido de Meldrum, al igual que en el acoplamiento molecular con Autodock Vina, los compuestos **THA 4a-5a** se evaluaron en su forma

de metabolito activo. Como se aprecia en los diagramas de la **Tabla 24** se observan múltiples puentes de hidrógeno formados entre los residuos Ile219, Gly220 y Arg221 con el grupo carboxilato de todos los compuestos, es importante observar que la cola hidrofóbica de los compuestos se encuentra fuera de la cavidad de la enzima por lo cual no se observan interacciones significativas.

En la **Tabla 26** se muestra los scores de unión, la constante de inhibición calculada y la eficiencia del ligando entre la enzima Aldosa reductasa y los ligandos diseñados para trabajo, así como la validación con el ligando co-cristalizado 4G7:

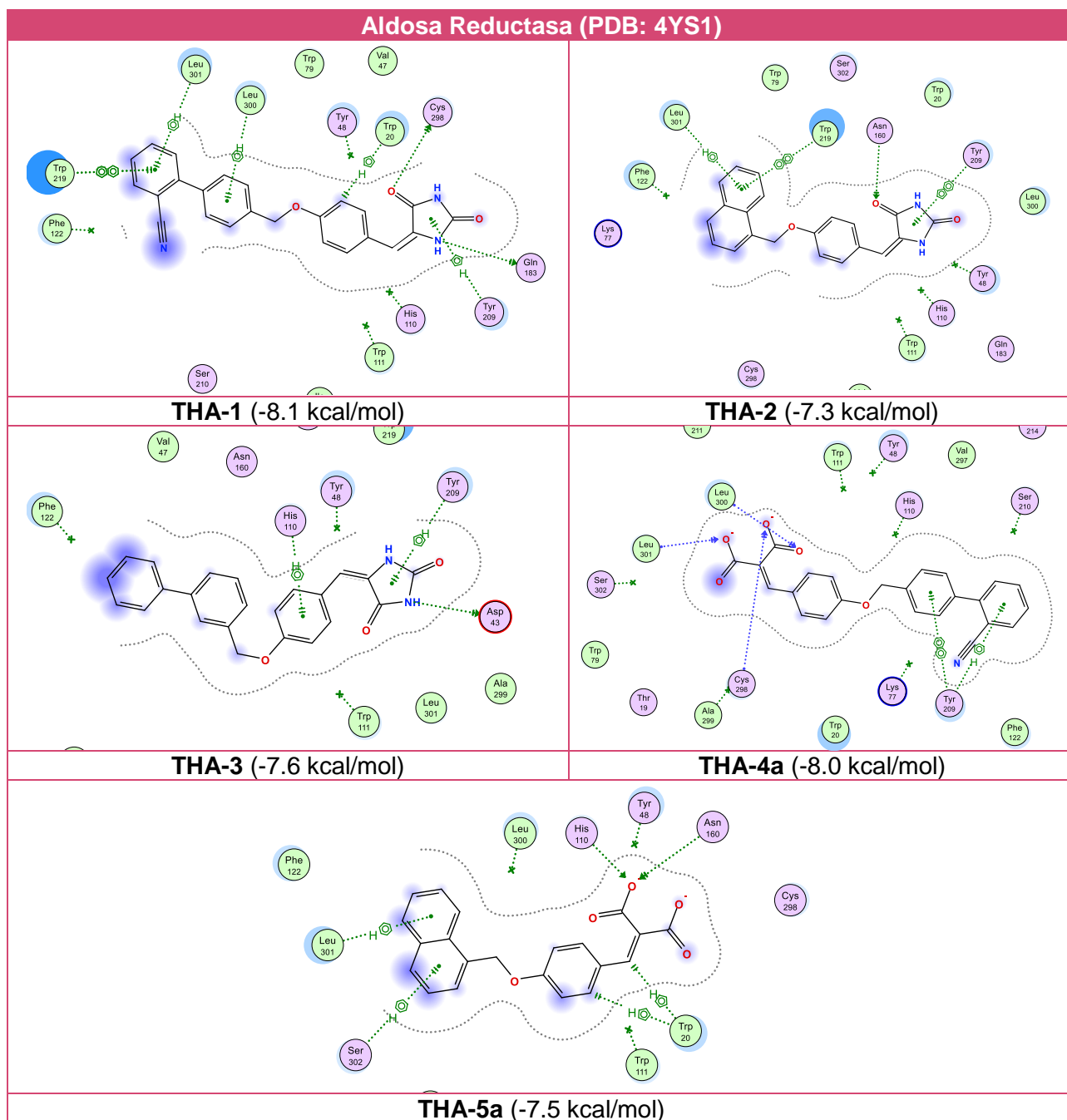
Tabla 26. Scores de unión y constantes de afinidad del acoplamiento molecular entre Aldosa Reductasa con **THA 1-3** y **THA 4a-5a**

Molécula	Score de unión (kcal/mol)	Ki (μ M)	Eficiencia del ligando
THA-1	-8.1	1.09	0.27
THA-2	-7.3	4.26	0.28
THA-3	-7.6	2.56	0.27
THA-4a	-8.0	1.30	0.26
THA-5a	-7.5	3.03	0.28
4G7 (RMSD=1.22)	-8.0	1.30	0.36

En la **Tabla 27** se muestran los diagramas en 2D de las interacciones dentro del sitio de unión entre los compuestos diseñados y la enzima AKR, para los compuestos de tipo hidantoína se puede apreciar que las interacciones más frecuentes son de tipo π - π entre los anillos de benceno y residuos aromáticos y a pesar de que las interacciones importantes para la actividad biológica no se dan de tipo puente de hidrógeno como lo reportado en literatura, si se encuentran presentes pero de tipo electrostáticas. El compuesto con el mejor score es **THA-1** debido a los puentes de hidrogeno formados entre los residuos Gln183 y Cys298 y las múltiples interacciones tipo π - π y π -Sp₃ entre la parte hidrofóbica del compuesto y los residuos aromáticos.

Los compuestos **THA 4a-5a** (ácido de Meldrum) presentan nuevas interacciones con la enzima donde destacan la formación de puentes de hidrógeno con leucinas y serinas, así también destacan la formación de al menos dos interacciones de tipo π -H entre los anillos aromáticos con residuos alifáticos y aromáticos.

Tabla 27. Diagramas de interacción en 2D de los acoplamientos moleculares entre AKR con **THA 1-3** y **THA 4a-5a**



En la **Tabla 28** se muestra los scores de unión y la constante de inhibición entre el receptor GPR-40 y los ligandos diseñados para este trabajo, así como la validación con el ligando co-cristalizado TAK875:

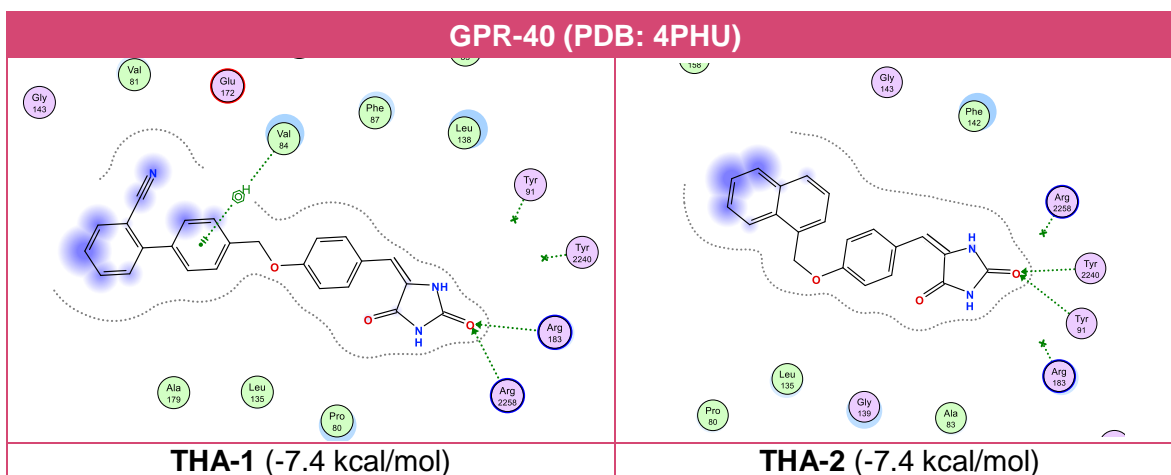
Tabla 28. Scores de unión y constantes de afinidad del acoplamiento molecular entre GPR-40 con **THA 1-63** y **THA 4a-5a**

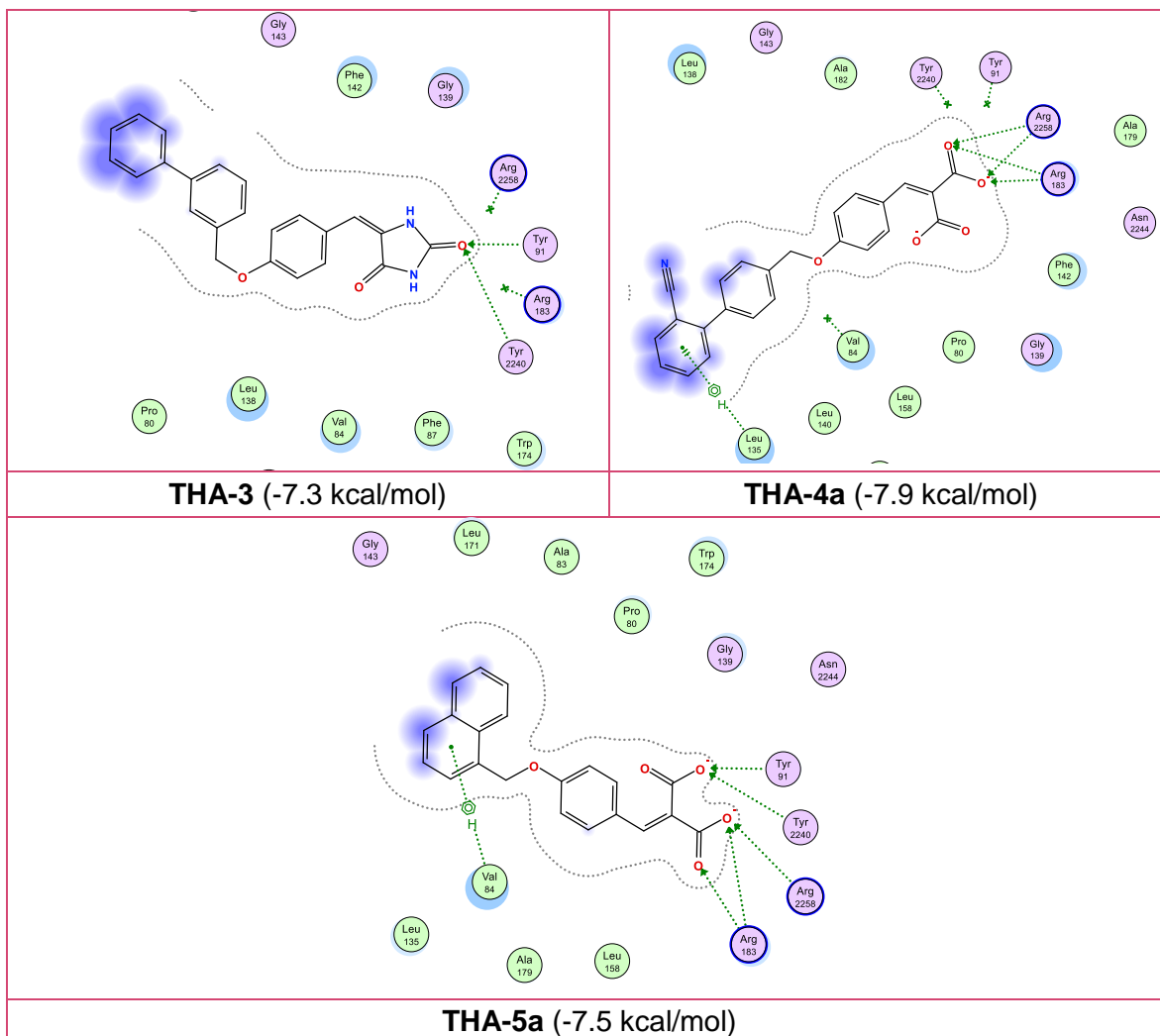
Molécula	Score de unión (kcal/mol)	Ki (μM)	Eficiencia del ligando
THA-1	-7.4	3.59	0.24
THA-2	-7.1	5.98	0.28
THA-3	-7.0	7.08	0.26
THA-4a	-7.9	1.54	0.26
THA-5a	-7.5	1.54	0.28
TAK875(RMSD=1.84)	-9.6	0.08	0.23

En la **Tabla 29** se muestran los diagramas en 2D de las interacciones de los compuestos diseñados con GPR-40, para los compuestos de la serie hidantoína se puede apreciar que se presentan pocas interacciones, pero son con los residuos importantes para la activación del receptor como lo son Arg183, Tyr91 y Tyr2240 según lo reportado en literatura.

Para los compuestos con el ácido de Meldrum se puede apreciar que se generan más interacciones con el grupo carboxilato de tipo puente de hidrógeno y todas estas interacciones esta involucradas en la actividad biológica por lo que se cree que estos compuestos tengan un buen desempeño en pruebas *in vitro* como *in vivo*.

Tabla 29. Diagramas de interacción en 2D de los acoplamientos moleculares entre GPR-40 con **THA 1-3** y **THA 4a-5a**





Con base en lo anterior es importante mencionar dos cuestiones, la primera es que no podemos comparar los scores de unión de ambos programas porque evalúan las poses desde diferentes perspectivas, así pues lo que es necesario es observar si eligen un compuesto con mejor calificación en común. La segunda es tomar en cuenta las interacciones que se presentan y con ello elegir al mejor compuesto que tendría mejores probabilidades de ser activo en alguna diana terapéutica.

Tomando en cuenta lo anterior ambos docking realizados correlacionan eligiendo a **THA-4a** como el compuesto con mejor score de unión e interacciones relevantes en PTP-1B y GPR-40, para los compuestos de la serie de hidantoína difieren los resultados debido a que Autodock vina no internaliza dentro del sitio de unión a los compuestos de igual manera que MOE, esto se puede observar con la sombra azul en los diagramas 2D esto seguramente se deba a que Autodock vina evalúa con un disolvente implícito y solo agrega una constante al cálculo en cambio MOE si evalúa con el disolvente presente y lo toma en cuenta dentro de los cálculos.

8.2.7 Análisis de consenso farmacológico

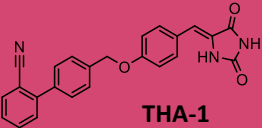
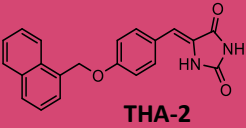
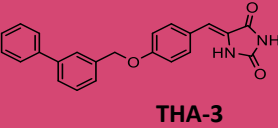
El análisis de consenso farmacológico combina los resultados de diferentes cálculos realizados *in silico*:

- Predicciones farmacodinámicas (Docking, PASS, SwissTargetPrediction, y DIA-DB)
- Predicciones farmacocinéticas (AdmetSar y molinspiration)
- Predicciones toxicológicas (ACD/Toxsuite, y admetSAR)

El argumento del análisis de consenso farmacológico es que cuantos más cálculos coinciden en que un compuesto es activo, con baja toxicidad y perfil farmacocinético adecuado, más confiable es 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 que tiene una puntuación alta de solo una predicción única. En la **Tabla 30**, se muestran los parámetros calculados para los compuestos **THA 1-3**:

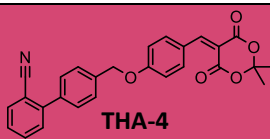
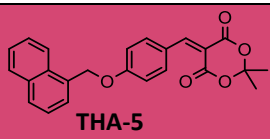
Tabla 30. Tabla de análisis de consenso farmacológico para los compuestos **THA 1-3**

	 THA-1	 THA-2	 THA-3
PM	395.42	344.37	370.41
cLogP	3.89	3.55	4.16
LogD_{7.4}	4.26	4.48	5.01
TPSA	98.75	74.96	74.96
Solubilidad (g/L)	3.2x10 ⁻⁴	1.4x10 ⁻⁴	8x10 ⁻⁴
PASS Online	Aldosa Reductasa:0.258 Inhibidor de PTP:0.129	Aldosa Reductasa:0.316 Inhibidor de PTP:0.114	Aldosa Reductasa:0.293 Inhibidor de PTP:0.187
SwissTargetPrediction	Glucokinasa 3: 0.3	Glucokinasa 3: 0.9	Glucokinasa 3: 0.8
admetSAR			
ACD/Tox Suite			
DIA-DB (kcal/mol)	PTP-1B: -8.0 AKR: -12.1 GPR-40: -10.7	PTP-1B: -8.8 AKR: -13.6 GPR-40: -11.8	PTP-1B: -8.2 AKR: -13.3 GPR-40: -10.6
Docking con Autodock Vina (kcal/mol)	PTP-1B: -8.7 AKR: -10.3 GPR-40: -11.0	PTP-1B: -8.7 AKR: -10.5 GPR-40: -10.8	PTP-1B: -8.8 AKR: -10.6 GPR-40: -11.7
Docking con MOE (kcal/mol)	PTP-1B: -6.5 AKR: -8.1 GPR-40: -7.4	PTP-1B: -5.8 AKR: -7.3 GPR-40: -7.4	PTP-1B: -6.3 AKR: -7.6 GPR-40: -7.3

Con base a la tabla anterior se elige a **THA-1** como el compuesto con el mejor desempeño en las pruebas *in silico* realizadas debido a que tiene los mejores scores de unión e interacciones relevantes con los dockings realizados tanto en Autodock vina y MOE, también es elegido debido al fragmento bifenilcarbonitrilo que en otras moléculas sintetizadas en nuestro grupo de trabajo han tenido un muy buen desempeño en pruebas *in vitro* e *in silico*.

En la **Tabla 31**, se muestran los parámetros calculados para los compuestos **THA 4-5**:

Tabla 31. Tabla de análisis de consenso farmacológico para los compuestos **THA 4-5**

	 THA-4	 THA-5
PM (g/mol)	439.47	388.42
cLogP	6.14	5.79
LogD_{7.4}	3.48	3.70
TPSA	85.64	61.84
Solubilidad (g/L)	4.7x10 ⁻⁴	5.2x10 ⁻³
PASS Online	Inhibidor de PTP:0.187	AKR: 0.215 Inhibidor de PTP:0.139
SwissTargetPrediction	PPAR (α,δ,γ): 0.30 AKR:0.25 PTP-1B: 0.10	PPAR (α,δ,γ): 0.45 AKR: 0.50 PTP-1B: 0.10
admetSAR		
ACD/Tox Suite		
DIA-DB (kcal/mol)	PTP-1B: -8.0 AKR: -11.0 GPR-40: -10.0	PTP-1B: -8.2 AKR: -12.2 GPR-40: -10.6
Docking con Autodock Vina (kcal/mol)	PTP-1B: -7.9 AKR: -8.2 GPR-40: -8.8	PTP-1B: -7.6 AKR: -8.0 GPR-40: -8.1
Docking con MOE (kcal/mol)	PTP-1B: -6.4 AKR: -8.0 GPR-40: -7.9	PTP-1B: -6.1 AKR: -7.5 GPR-40: -7.5

En el caso de los compuestos con el fragmento de ácido de Meldrum los resultados apuntan hacia dos moléculas: **THA-4** debido a su desempeño en los acoplamientos moleculares refinados y **THA-5** que presenta las predicciones de actividad más altas en los servidores web utilizados, pero se elige a **THA-4** ya que como se mencionó anteriormente presenta el grupo bifenilcarbonitrilo que ya se ha probado anteriormente en nuestro grupo de trabajo con excelentes resultados.

8.3 Parte *in vivo*

Se evaluó la actividad antidiabética de los compuestos **THA-1** y **THA-4** usando un modelo de ratón no insulino-dependiente con estreptozotocina-nicotinamida, para ambos ensayos se utilizaron 8 animales.

8.3.1 Evaluación *in vivo* del efecto antidiabético del compuesto **THA-1**

Para este ensayo como control hipoglucémico fue utilizada glibenclamida y como control euglicémico a pioglitazona, esta última debido al parecido estructural con el compuesto **THA-1**.

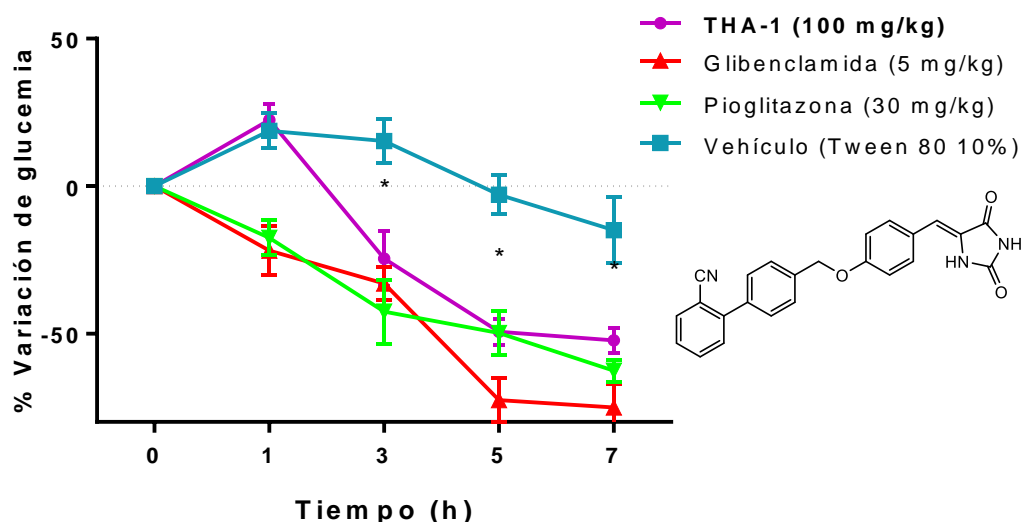


Gráfico 1. Efecto de dosis única de **THA-1** (100 mg/kg) en modelo murino no insulino-dependiente

El compuesto **THA-1** mostró un aumento en los niveles de glucosa en la primera hora del experimento, se cree que esto se debe a que estos compuestos con el fragmento de hidantoína tendrán muy buena afinidad con la enzima aldosa reductasa según los ensayos *in silico* efectuados, esta enzima en condiciones normales cataliza la reducción de glucosa a sorbitol y al verse inhibida por el compuesto no logra realizar su función y en consecuencia los niveles de glicemia aumentan, sin embargo a partir de la 3ra hora podemos apreciar una reducción en la glicemia plasmática estadísticamente significativa, efecto que se mantiene hasta la 7ma hora del ensayo mostrando un comportamiento euglicémico muy parecido al de pioglitazona.

8.3.2 Evaluación *in vivo* del efecto antidiabético del compuesto **THA-4**

Para la realización de este experimento como control hipoglucémico se utilizó a glibenclamida únicamente.

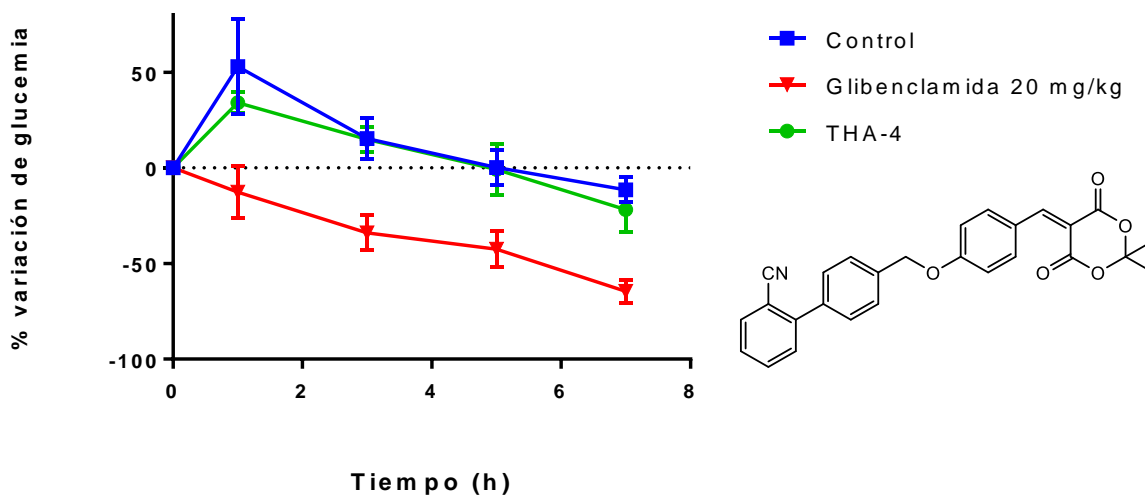


Gráfico 2. Efecto de dosis única de **THA-4** (100 mg/kg) en modelo murino no insulino-dependiente

Como se aprecia en el gráfico de arriba, el compuesto **THA-4** no mostró una disminución de los niveles de hiperglicemia, esto se debe a que el compuesto tiene que sufrir de una *O*-desalquilación en el anillo de ácido de Meldrum para obtener un doble ácido carboxílico, el cual ya tendría una mejor afinidad por los blancos terapéuticos propuestos. Por lo tanto tiene sentido que este compuesto no haya sido activo, se cree que el efecto se verá a partir de la octava o novena hora posterior a su administración pero esto con un ensayo agudo de este tipo no puede ser evaluado.

9. CONCLUSIONES

Se realizó un estudio detallado de todas las propiedades farmacológicas para los compuestos diseñados y sintetizados **THA 1-6** con herramientas computacionales con lo cual se determinó que los compuestos **THA-1 y THA-4** tienen las mejores características para ser evaluados en ensayos *in vitro* e *in vivo*.

Al ser evaluados en un modelo murino no insulino-dependiente, **THA-1** disminuyó la glicemia plasmática en las primeras horas posterior a su administración única y **THA-4** no lo hizo en el ensayo agudo debido a la biotransformación que tiene que sufrir para que pueda ser activo.

Se puede concluir que las herramientas quimioinformáticas son de gran ayuda para evaluar posibles compuestos bioactivos, ya que nos permiten explorar las propiedades farmacocinéticas, farmacodinámicas y toxicológicas de los candidatos a fármaco sin necesidad de gastar muchos recursos y dirigiéndonos hacia compuestos más activos en ensayos *in vitro* como *in vivo*.

10. PERSPECTIVAS

- Evaluar los compuestos **THA 1-6** en un ensayo *in vitro* sobre el receptor GPR-40 y las enzimas PTP-1B y aldosa reductasa
- Realizar estudios de toxicidad aguda para determinar la dosis letal media (DL₅₀), así como la dosis efectiva media (DE₅₀) del compuesto **THA-1**
- Evaluar el compuesto **THA-4** en un ensayo subagudo en un modelo murino no insulino-dependiente donde la duración sea más prolongada para observar si existe el efecto hipoglucemiante.

11. PARTE EXPERIMENTAL

11.1 Instrumentación

Para realizar la síntesis de los compuestos **THA 1-6** se utilizaron reactivos adquiridos de la empresa SIGMA-ALDRICH®.

Además se hizo uso de una parrilla de calentamiento con agitación magnética marca IKA® C-MAG HS4. Matraces bola de 10 y 25 mL acoplados con agitación magnética, refrigerante en posición de reflujo y se utilizó una trampa Dean-Stark para la condensación de Knoevenagel.

Para evaporar los disolventes se utilizó un Rotavaporador marca BÜCHI B-490 acoplado a vacío con una bomba marca NOVATECH® y cuando se requirió de alto vacío se usó una bomba marca BÜCHI V-700.

Los puntos de fusión de los compuestos sólidos se determinaron utilizando un aparato Stanford Research System, modelo EZ-Melt®

Las páginas web y los programas mencionados en la parte *in silico* (a excepción de ACD/Toxsuite) fueron ejecutados en una laptop Lenovo modelo G50 con sistema operativo Windows 10 procesador Intel® Celeron® CPU N2840 @ 2.16GHz y 4 GB de memoria RAM.

11.2 Cromatografía

El monitoreo de las reacciones se llevó a cabo mediante cromatografía de capa fina (CCF), utilizando placas de aluminio de 2.5 x 4 cm cubiertas con sílice Alugram. Los compuestos se eluyeron utilizando una cámara de elución de vidrio con los sistemas siguientes (**Tabla 32**):

Tabla 32. Composición de los sistemas de elución utilizados en la CCF

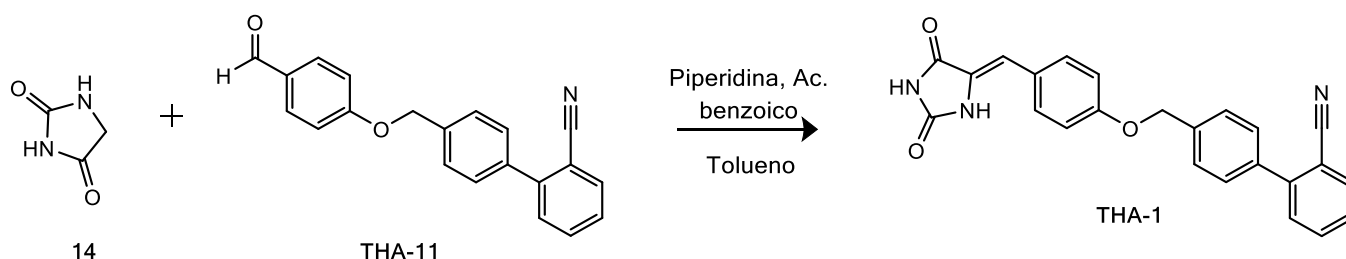
Sistema	Proporción	Composición
I	70:30	AcOEt:MeOH
II	85:15	Hex: AcOEt
III	70:30	Hex: AcOEt
IV	75:25	Hex: AcOEt

La visualización de los compuestos en CCF se realizó en una cámara de luz ultravioleta UV-254/366 nm.

11.3 Parte química

11.3.1 Síntesis del producto final **THA-1**

(Z)-4'-((4-((2,5-dioxoimidazolidin-4-iliden)metil)fenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo



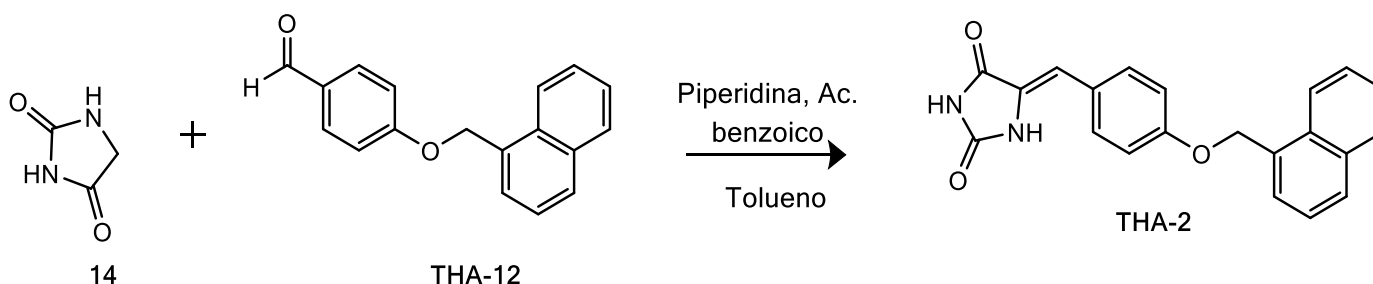
En un matraz bola de 25 mL de una boca equipado con calentamiento, agitación magnética, trampa Dean-Stark y refrigerante en posición de reflujo se colocaron 200 mg (0.00063 mol, 1 equiv) de **THA-11**, 83 mg (0.00082 mol, 1.3 equiv) de hidantoína, y 23 mg (0.00019 mol, 0.3 equiv) de ácido benzoico en 10 mL de tolueno seco, esta mezcla se mantuvo a ~70°C durante 30 minutos. Completado este tiempo se añadieron 15 µL (16 mg, 0.00019 mol, 0.3 equiv) de piperidina y la temperatura se elevó hasta los ~90°C manteniendo agitación constante. La reacción se monitoreó utilizando CCF cada dos horas, para esto se tomó una gota directa de la reacción y se colocó en una placa de toque, donde se esperó hasta que se evaporara todo el disolvente y se agregó una gota de acetona, posteriormente se tomó la muestra para la elución de la placa, frente a **THA-11**. Se observó la formación de un producto diferente al precursor, y al cabo de 8 horas la reacción se completó. La reacción se detuvo y se esperó hasta que se enfriara la mezcla. Se filtró todo el disolvente obteniéndose un sólido amarillo. A continuación, este sólido se purificó por repulpado donde se agregaron 10 mL de agua fría a un matraz con el sólido en agitación constante. Finalmente, este precipitado fue recuperado por filtrado al vacío dejándose secar por 12h. El producto final fue un polvo color amarillo con un peso de 0.1790 g, un rendimiento de 70.94% y presentó un punto de fusión con descomposición experimental de 239.7°C. Las placas de CCF fueron eluidas con el sistema I. Rendimiento global 66.80%.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.55 (d, J=2, H₂ H₆), 7.13 (d, J=8.82, H₃ H₅), 6.39 (s, H₇), 8.09 (s, H₁₀), 8.10 (s, H₁₂), 5.60 (s, H₁₃), 7.52 (dd, J=7, H_{2'} H_{6'}), 7.61 (dt, J=7, H_{3'} H_{5'}), 7.69 (m, H_{2''} H_{3''} H_{5''}), 7.58 (tt, H_{4''}).

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 128.2 (C₁), 128.8 (C₂ C₆), 115.1 (C₃ C₅), 158.4 (C₄), 108.5 (C₇), 125.7 (C₈), 165.6 (C₉), 155.6 (C₁₁), 68.8 (C₁₃), 137.3 (C_{1'}), 127.9 (C_{2'}), 131.1 (C_{3'}), 137.4 (C_{4'}), 131.1 (C_{5'}), 127.9 (C_{6'}), 144.1 (C_{1''}), 126.2 (C_{2''}), 133.8 (C_{3''}), 130.1 (C_{4''}), 133.5 (C_{5''}), 110.1 (C_{6''}), 118.5 (CN). **EM** (IE): m/z=354.9

11.3.2 Síntesis del producto final **THA-2**

(Z)-5-(4-(naftalen-1-ilmetoxi)benciliden)imidazolidin-2,4-diona



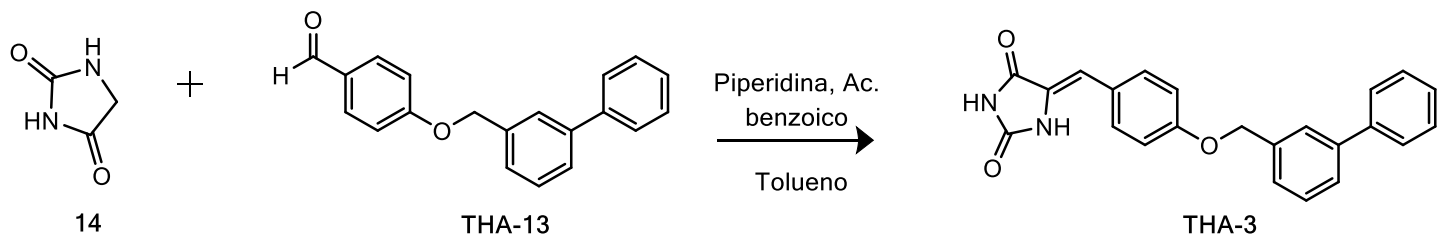
En un matraz bola de 25 mL de una boca equipado con calentamiento, agitación magnética, trampa Dean-Stark y refrigerante en posición de reflujo se colocaron 200 mg (0.00038 mol, 1 equiv) de **THA-12**, 99 mg (0.00099 mol, 1.3 equiv) de hidantoína, y 27 mg (0.00027 mol, 0.3 equiv) de ácido benzoico en 10 mL de tolueno seco, esta mezcla se mantuvo a ~70°C durante 30 minutos. Completado este tiempo se añadieron 30 µL (32 mg, 0.00038 mol, 0.3 equiv) de piperidina y la temperatura se elevó hasta los ~90°C manteniendo agitación constante. La reacción se monitoreó utilizando CCF cada dos horas, para esto se tomó una gota directa de la reacción y se colocó en una placa de toque, donde se esperó hasta que se evaporara todo el disolvente y se agregó una gota de acetona, posteriormente se tomó la muestra para la elución de la placa, frente a **THA-12**. Se observó la formación de un producto diferente al precursor, y al cabo de 8 horas la reacción se completó. La reacción se detuvo y se esperó hasta que se enfriara la mezcla. Se extrajo todo el disolvente en un rotavaporador acoplado a una bomba de alto vacío, obteniéndose un sólido amarillo. A continuación, se agregaron 10 mL de agua fría al matraz con el sólido en agitación constante, formándose un precipitado color amarillo. Finalmente, este precipitado fue recuperado por filtrado al vacío dejándose secar por 12h. El producto final fue un polvo color amarillo oscuro purificado con lavados en etanol, con un peso de 0.1598 g, un rendimiento de 60.87% y presentó un punto de fusión con descomposición experimental de 219.4°C. Las placas de CCF fueron eluidas con el sistema II. Rendimiento global 59.82%.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.57 (d, J=8, 1.8, H₂ H₆), 7.13 (dt, J=8, H₃ H₅), 6.40 (s, H₇), 5.53 (s, H₁₃), 7.52 (dd, J=7, H₂' H₃'), 7.54 (d, J=8, H₄'), 7.98 (d, J=9, H₅'), 7.61 (dt, J=8, 2, H₆'), 7.69 (d, J=6, H₈'), 8.09 (d, J=8, H₈').

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 126.4 (C₁), 131.1 (C₂ C₆), 115.2 (C₃ C₅), 158.5 (C₄), 108.5 (C₇), 126.1 (C₈), 165.6 (C₉), 155.6 (C₁₁), 67.9 (C₁₃), 132.2 (C₁'), 128.7 (C₂'), 125.3 (C₃'), 126.0 (C₄'), 131.1 (C_{4a}'), 126.7 (C₅'), 125.7 (C₆'), 128.4 (C₇'), 123.8 (C₇'), 133.2 (C_{8a}').

11.3.3 Síntesis del producto final **THA-3**

(Z)-5-(4-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)benciliden)imidazolidin-2,4-diona



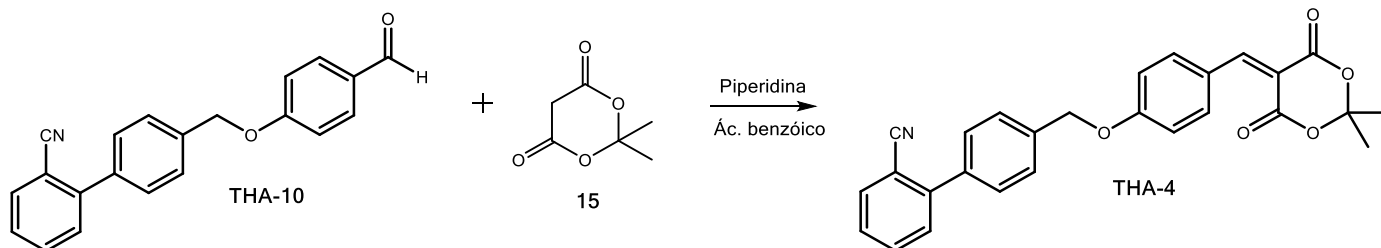
En un matraz bola de 25 mL de una boca equipado con calentamiento, agitación magnética, trampa Dean-Stark y refrigerante en posición de reflujo se colocaron 100 mg (0.00034 mol, 1 equiv) de **THA-13**, 48 mg (0.00048 mol, 1.3 equiv) de hidantoína, y 16 mg (0.00013 mol, 0.3 equiv) de ácido benzoico en 10 mL de tolueno seco, esta mezcla se mantuvo a $\sim 70^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos. Completado este tiempo se añadieron 14 μL (14 mg, 0.00017 mol, 0.3 equiv) de piperidina y la temperatura se elevó hasta los $\sim 90^{\circ}\text{C}$ manteniendo agitación constante. La reacción se monitoreó utilizando CCF cada dos horas, para esto se tomó una gota directa de la reacción y se colocó en una placa de toque, donde se esperó hasta que se evaporara todo el disolvente y se agregó una gota de acetona, posteriormente se tomó la muestra para la elución de la placa, frente a **THA-13**. Se observó la formación de un producto diferente al precursor, y al cabo de 8 horas la reacción se completó. La reacción se detuvo y se esperó hasta que se enfriara la mezcla. Se filtró todo el disolvente obteniéndose un sólido amarillo crema. A continuación, este sólido se purificó por repulpado donde se agregaron 10 mL de agua fría a un matraz con el sólido en agitación constante. Finalmente, este precipitado fue recuperado por filtrado al vacío dejándose secar por 12h. El producto final fue un polvo color amarillo crema con un peso de 0.0501 g, un rendimiento de 45.80% y presentó un punto de fusión con descomposición experimental de 208.9°C . Las placas de CCF fueron eluidas con el sistema III. Rendimiento global 39.12%.

RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.59 (dt, $J=8$, 2 H₂ H₆), 7.07 (d, $J=8$, H₃ H₅), 6.89 (s, H₇), 5.24 (s, H₁₃), 7.38 (tt, $J=1.3$, H_{2'} H_{4''}), 7.45 (m, $J=8$, 10 H_{3'} H_{3''}), 7.63 (dt, $J=1$, 10 H_{4'}), 7.75 (s, H_{6'}), 7.67 (dt, $J=2$, 10 H_{2''} H_{6''}), 7.45 (m, $J=8$, 10 H_{3''} H_{5''}), 7.38 (tt, $J=1.3$ H_{4''})

RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 126.4 (C₁), 128.9 (C₂ C₆), 115.1 (C₃ C₅), 108.5 (C₇), 126.2 (C₈), 165.6 (C₉), 155.6 (C₉), 69.2 (C₁₃), 137.5 (C_{1'}), 129.1 (C_{2'}), 126.7 (C_{3'}), 125.6 (C_{4'}), 140.3 (C_{5'}), 126.0 (C_{6'}), 139.8 (C_{1''}), 126.7 (C_{2''} C_{6''}), 131.0 (C_{3''} C_{5''}), 127.5 (C_{4''})

11.3.4 Síntesis del producto final **THA-4**

4'-((4-((2,2-dimetil-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5-iliden)metil)fenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo



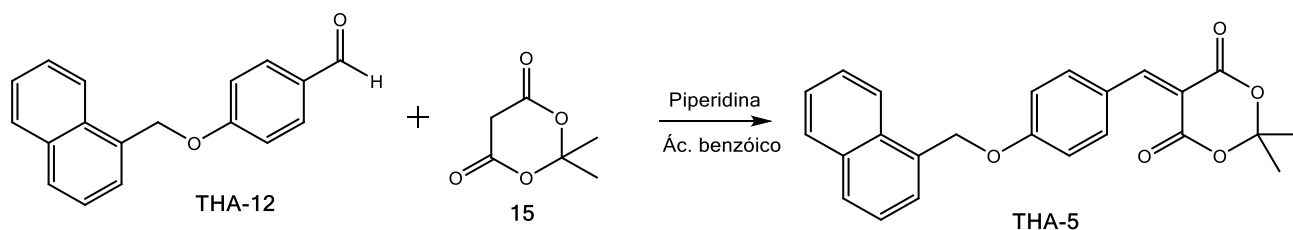
En un matraz bola de 25 mL de una boca equipado con calentamiento, agitación magnética, trampa Dean-Stark y refrigerante en posición de reflujo se colocaron 200 mg (0.00063 mol, 1 equiv) de **THA-11**, 163 mg (0.00076 mol, 1.2 equiv) de ácido de meldrum, y 23 mg (0.00019 mol, 0.3 equiv) de ácido benzoico en 10 mL de tolueno seco, esta mezcla se mantuvo a $\sim 70^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos. Completado este tiempo se añadieron 15 μL (0.0431 g, 0.00019 mol, 0.3 equiv) de piperidina y la temperatura se elevó hasta los 90°C exactamente manteniendo agitación constante. La reacción se monitoreó utilizando CCF cada dos horas, para esto se tomó una gota directa de la reacción y se colocó en una placa de toque, donde se esperó hasta que se evaporara todo el disolvente y se agregó una gota de acetona, posteriormente se tomó la muestra para la elución de la placa, frente a **THA-13**. Se observó la formación de un producto diferente al precursor, y al cabo de 48 horas la reacción se completó. La reacción se detuvo y se esperó hasta que se enfriara la mezcla. Se extrajo todo el disolvente en un rotavaporador acoplado a una bomba de alto vacío, obteniéndose una resina amarilla oscura. A continuación, se agregaron 10 mL de acetato de etilo al matraz con el crudo de reacción en agitación constante, formándose un precipitado color amarillo. Finalmente, este precipitado fue recuperado por filtrado al vacío dejándose secar por 12h. El producto final se cristalizó en metanol obteniéndose cristales tipo hojuelas color amarillo, con un peso de 0.2353 g, un rendimiento de 83.91% y presentó un punto de fusión experimental de $206.1\text{-}208.5^{\circ}\text{C}$. Las placas de CCF fueron eluidas con el sistema IV. Rendimiento global 79.01%.

RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.14 (dt, $J=8$, 2 H2 H6 H2' H6'), 6.40 (s, H3 H5), 8.09 (s, H7), 2.50 (s, H11 H12), 5.60 (s, H14), 7.56 (m, H3' H5'), 7.96 (dd, $J=8$, 4 H3''), 7.51 (dd, $J=1$, 7 H4''), 7.66 (m, H5''), 8.07 (s, H6'')

RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 126.4 (C1), 128.8 (C2 C6), 115.8 (C3 C5), 156.9 (C4), 160.5 (C7), 124.2 (C8), 163.5 (C9), 104.6 (C10), 27.3 (C11 C12), 163.8 (C13), 68.6 (C14), 131.5 (C1'), 125.8 (C2' C6'), 128.9 (C3' C5'), 131.4 (C1''), 112.0 (C2''), 129.3 (C3''), 127.3 (C4''), 130.3 (C5''), 127.0 (C6''), 115.5 (CN)

11.3.5 Síntesis del producto final **THA-5**

2,2-dimetil-5-(4-(naftalen-1-ilmetoxi)benciliden)-1,3-dioxan-4,6-diona



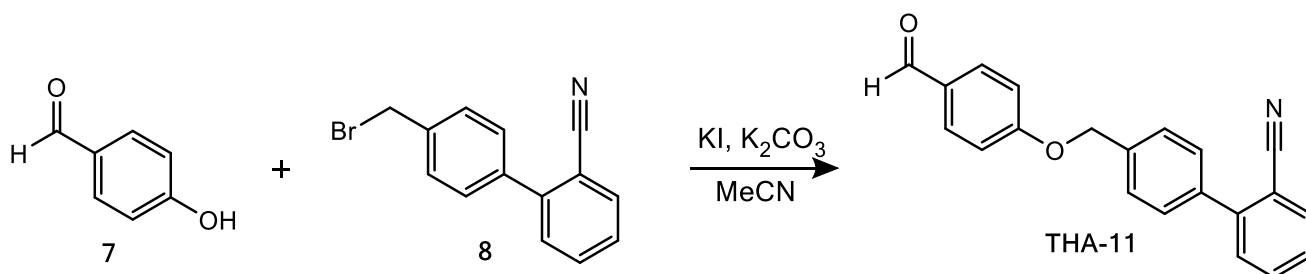
En un matraz bola de 25 mL de una boca equipado con calentamiento, agitación magnética, trampa Dean-Stark y refrigerante en posición de reflujo se colocaron 300 mg (0.0011 mol, 1 equiv) de **THA-12**, 163 mg (0.0013 mol, 1.1 equiv) de ácido de meldrum, y 0.061 g (0.0005 mol, 0.4 equiv) de ácido benzoico en 10 mL de tolueno seco, esta mezcla se mantuvo a $\sim 70^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos. Completado este tiempo se añadieron 50 μL (0.0431 g, 0.0005 mol, 0.4 equiv) de piperidina ($\rho = 0.8622 \text{ g/mL}$) y la temperatura se elevó hasta los 90°C exactamente manteniendo agitación constante. La reacción se monitoreó utilizando CCF cada dos horas, para esto se tomó una gota directa de la reacción y se colocó en una placa de toque, donde se esperó hasta que se evaporara todo el disolvente y se agregó una gota de acetona, posteriormente se tomó la muestra para la elución de la placa, frente a **THA-12**. Se observó la formación de un producto diferente al precursor, y al cabo de 8 horas la reacción se completó. La reacción se detuvo y se esperó hasta que se enfriara la mezcla. Se extrajo todo el disolvente en un rotavaporador acoplado a una bomba de alto vacío, obteniéndose una resina amarilla oscura. A continuación, se agregaron 10 mL de acetato de etilo al matraz con el crudo de reacción en agitación constante, formándose un precipitado color amarillo. Finalmente, este precipitado fue recuperado por filtrado al vacío dejándose secar por 12h. El producto final se cristalizó en metanol obteniéndose cristales tipo hojuelas color amarillo, con un peso de 0.2353 g, un rendimiento de 83.91% y presentó un punto de fusión experimental de $124.2\text{-}128.7^{\circ}\text{C}$. Las placas de CCF fueron eluidas con el sistema IV. Rendimiento global 82.46%.

RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.45 (m, H2 H6 H7'), 7.04 (dd, $J=2$, 8 H3 H5), 7.72 (s, H7), 2.47 (s, H11 H12), 5.21 (s, H14), 7.36 (t, H2' H3'), 7.55 (dt, $J=2$, 8 H4'), 7.60 (d, $J=7$, H5'), 7.61 (dt, $J=2$, 8, H6'), 7.64 (dt, $J=1$, 7, H8')

RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 126.6 (C1), 129.4 (C2 C6), 115.6 (C3 C5), 140.7 (C4), 156.0 (C7), 126.0 (C8), 159.8 (C9), 109.0 (C10), 40.7 (C11 C12), 166.0 (C13), 69.6 (C14), 138.0 (C1'), 128.0 (C2''), 126.5 (C3'), 127.1 (C4' C7'), 131.5 (C4a'), 129.5 (C5'), 125.7 (C6'), 126.4 (C8'), 140.3 (C8a')

11.3.6 Síntesis del precursor **THA-11**

4'-((4-formilfenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo

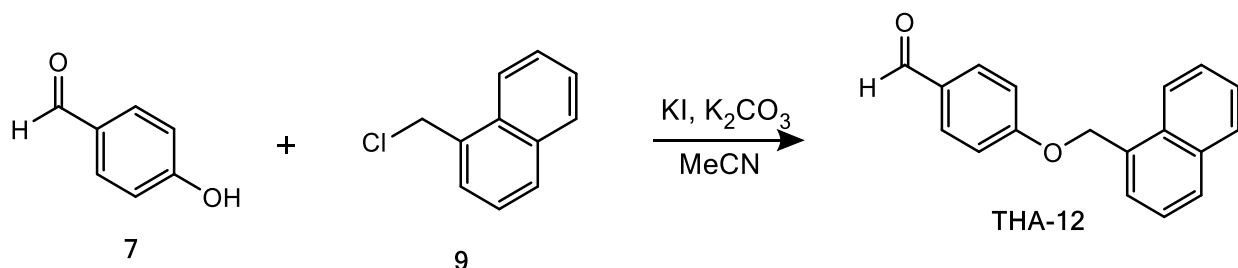


En un matraz bola de 25 mL de una boca equipado con calentamiento, agitación magnética y refrigerante se colocaron 579 mg (0.0016 mol, 1.3 equiv) de 4-bromometil bifenilcarbonitrilo con 701 mg de carbonato de potasio (0.0034 mol, 2.1 equiv) en 10mL de Acetonitrilo a temperatura ambiente por media hora; además se agregó yoduro de potasio como catalizador. Transcurrido el tiempo se adicionó 200 mg de 4-hidroxibenzaldehído (0.0016 mol, 1 equiv) y se calentó la reacción a ~ 65°C. La reacción se monitoreó utilizando CCF cada dos horas, para esto se tomó una gota directa de la reacción y se colocó en un tubo de ensayo con agua y 3 gotas de acetato de etilo; generando la separación de la fase orgánica de la cual se tomó una muestra para la elución de la placa, frente a 4-hidroxibenzaldehído. Una vez hecho esto, se observó la formación de un producto diferente al precursor, y al cabo de 4 horas se observó la desaparición de la mancha del 4-hidroxibenzaldehído, y la presencia de una mancha con un R_f diferente. La reacción se detuvo y se esperó hasta que se enfriara la mezcla. Se extrajo $\frac{3}{4}$ partes del disolvente en un rotavaporador acoplado a una bomba de vacío, observándose un precipitado blanco con un ligero tono café. Seguido se agregaron 10mL de agua fría y se mantuvo en agitación por media hora hasta notarse la formación de un precipitado blanco, este precipitado se recrystalizó en metanol, obteniéndose cristales blancos en forma de aguja con un peso de 0.4232 g y un rendimiento de 94.17%. Las placas de CCF fueron eluidas con el sistema I.

PF:145.6-146.5°C

11.3.7 Síntesis del precursor **THA-12**

4-(naftalen-1-ilmetoxi)benzaldehído

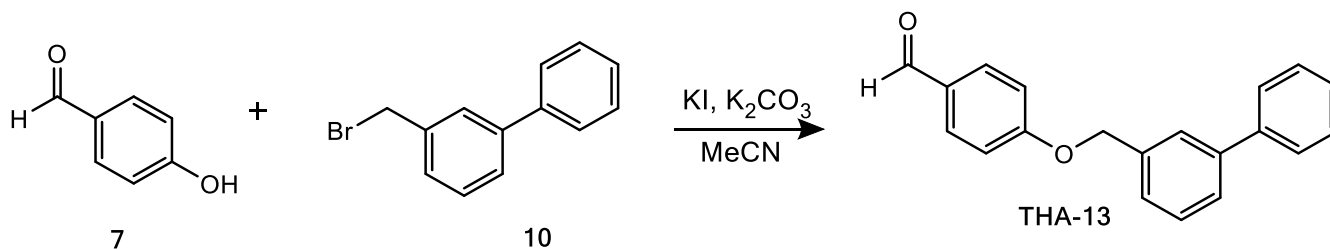


En un matraz bola de 25 mL de una boca equipado con calentamiento, agitación magnética y refrigerante se colocaron 449 mg (0.0059 mol, 1.3 equiv) de 4-hidroxibenzaldehído con 821 mg de carbonato de potasio (0.0059 mol, 2.1 equiv) en 5 mL DMSO a temperatura ambiente por media hora; además se agregó yoduro de potasio como catalizador. Transcurrido el tiempo se adicionó 500 mg del 1-clorometilnaftaleno (0.0028 mol, 1 equiv) y se calentó la reacción a ~ 65°C. La reacción se monitoreó utilizando CCF cada dos horas, para esto se tomó una gota directa de la reacción y se colocó en un tubo de ensayo con agua y 3 gotas de acetato de etilo; generando la separación de la fase orgánica de la cual se tomó una muestra para la elución de la placa, frente a 4-hidroxibenzaldehído. Una vez hecho esto, se observó la formación de un producto diferente al precursor, y al cabo de 6 horas se observó la desaparición de la mancha de 4-hidroxibenzaldehído, y la presencia de una mancha con un R_f diferente. La reacción se detuvo y se esperó hasta que se enfriara la mezcla. Se extrajo $\frac{3}{4}$ partes del disolvente en un rotavaporador acoplado a una bomba de vacío, observándose un precipitado blanco con un ligero tono café. Seguido se agregaron 10mL de agua fría y se mantuvo en agitación por media hora hasta notarse la formación de un precipitado blanco, este precipitado se recristalizó en etanol, obteniéndose cristales blancos en forma de hojuelas con un peso de 0.8027 g y un rendimiento de 98.28%. Las placas de CCF fueron eluidas con el sistema III.

PF: 105.8-107.1 °C

11.3.8 Síntesis del precursor **THA-13**

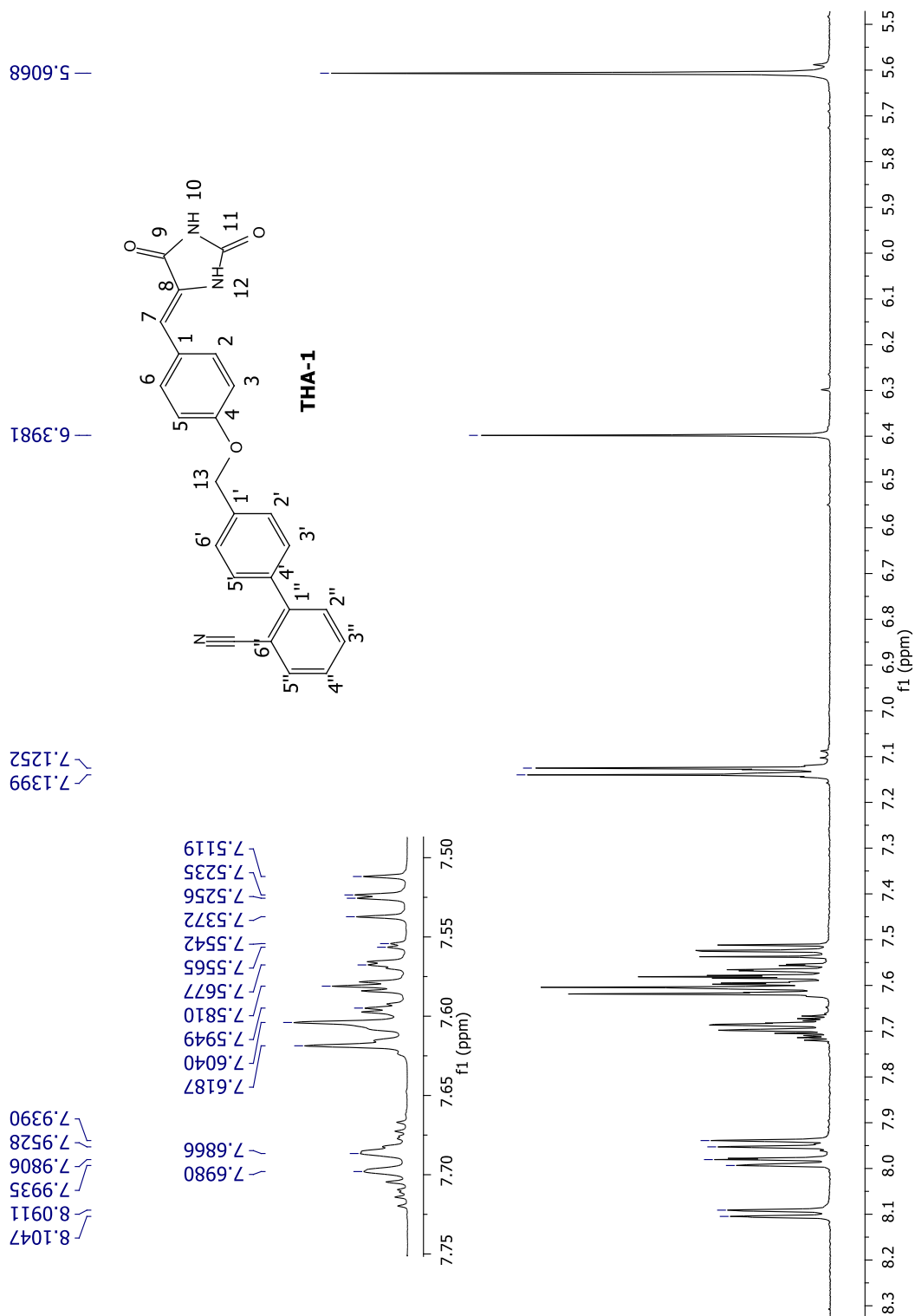
4-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)benzaldehído



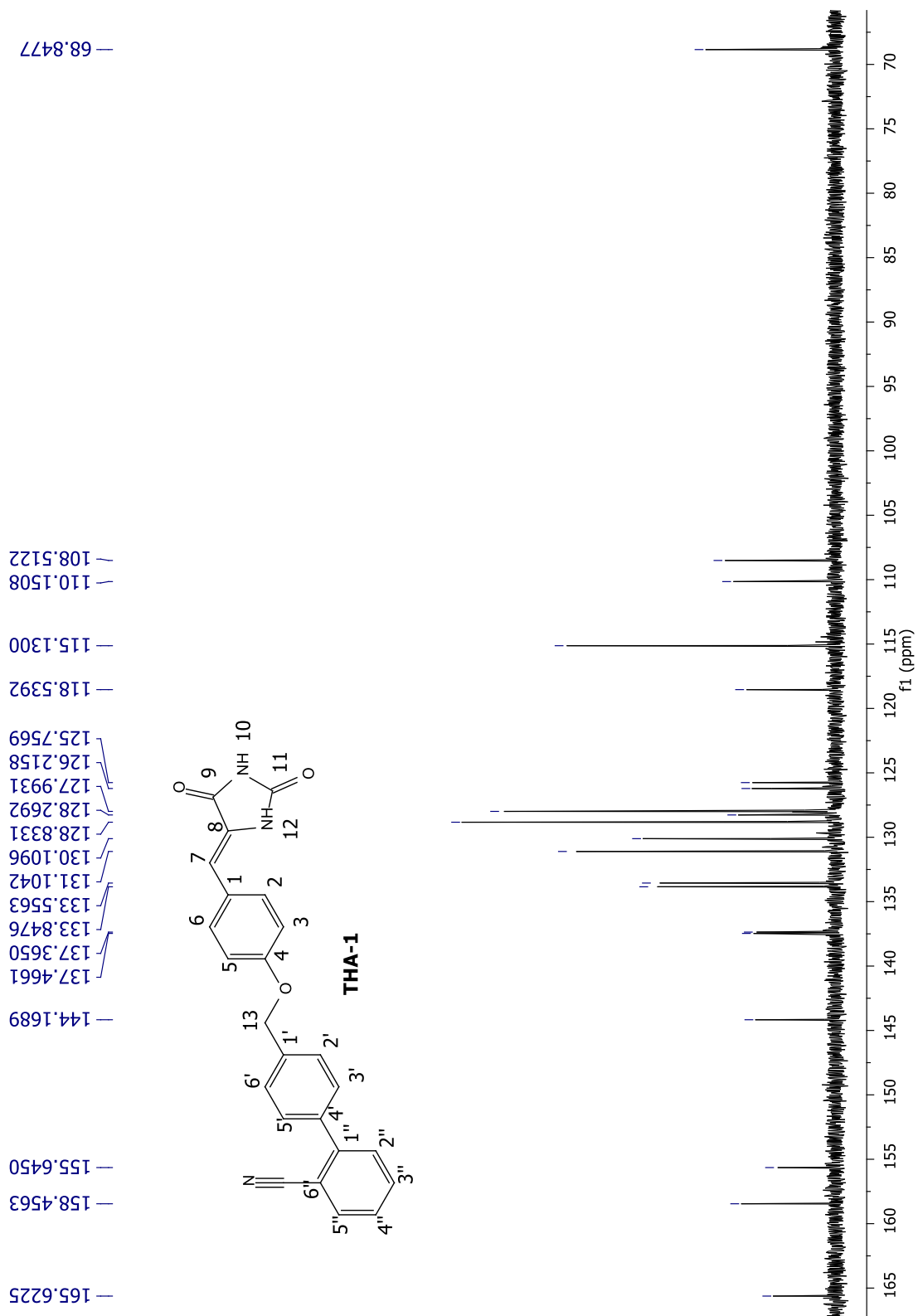
En un matraz bola de 25 mL de una boca equipado con calentamiento, agitación magnética y refrigerante se colocaron 128 mg (0.0010 mol, 1.3 equiv) de 4-hidroxibenzaldehído con 234 mg de carbonato de potasio (0.0010 mol, 2.1 equiv) en 10mL de Acetonitrilo a temperatura ambiente por media hora; además se agregó yoduro de potasio como catalizador. Transcurrido el tiempo se adicionó 200 mg del bromuro de 3-fenilbencilo (0.0008 mol, 1 equiv) y se calentó la reacción a ~ 65°C. La reacción se monitoreó utilizando CCF cada dos horas, para esto se tomó una gota directa de la reacción y se colocó en un tubo de ensayo con agua y 3 gotas de acetato de etilo; generando la separación de la fase orgánica de la cual se tomó una muestra para la elución de la placa, frente a 4-hidroxibenzaldehído. Una vez hecho esto, se observó la formación de un producto diferente al precursor, y al cabo de 8 horas se observó la desaparición de la mancha de 4-hidroxibenzaldehído, y la presencia de una mancha con un R_f diferente. La reacción se detuvo y se esperó hasta que se enfriara la mezcla. Se extrajo $\frac{3}{4}$ partes del disolvente en un rotavaporador acoplado a una bomba de vacío, observándose un precipitado blanco con un ligero tono café. Seguido se agregaron 10mL de agua fría y se mantuvo en agitación por media hora hasta notarse la formación de un precipitado blanco, este precipitado se recristalizó en metanol, obteniéndose cristales blancos romboidales con un peso de 0.1993 g y un rendimiento de 85.42%. Las placas de CCF fueron eluidas con el sistema III.

PF: 67.3-67.7°C

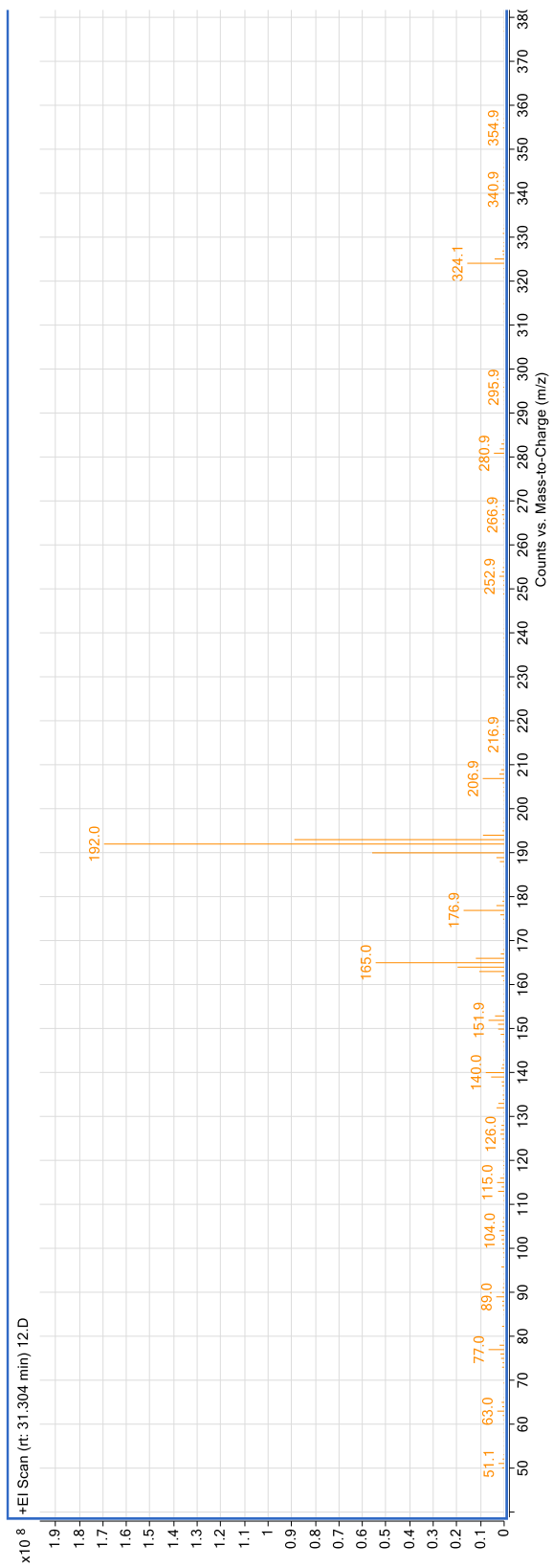
12. ESPECTROS



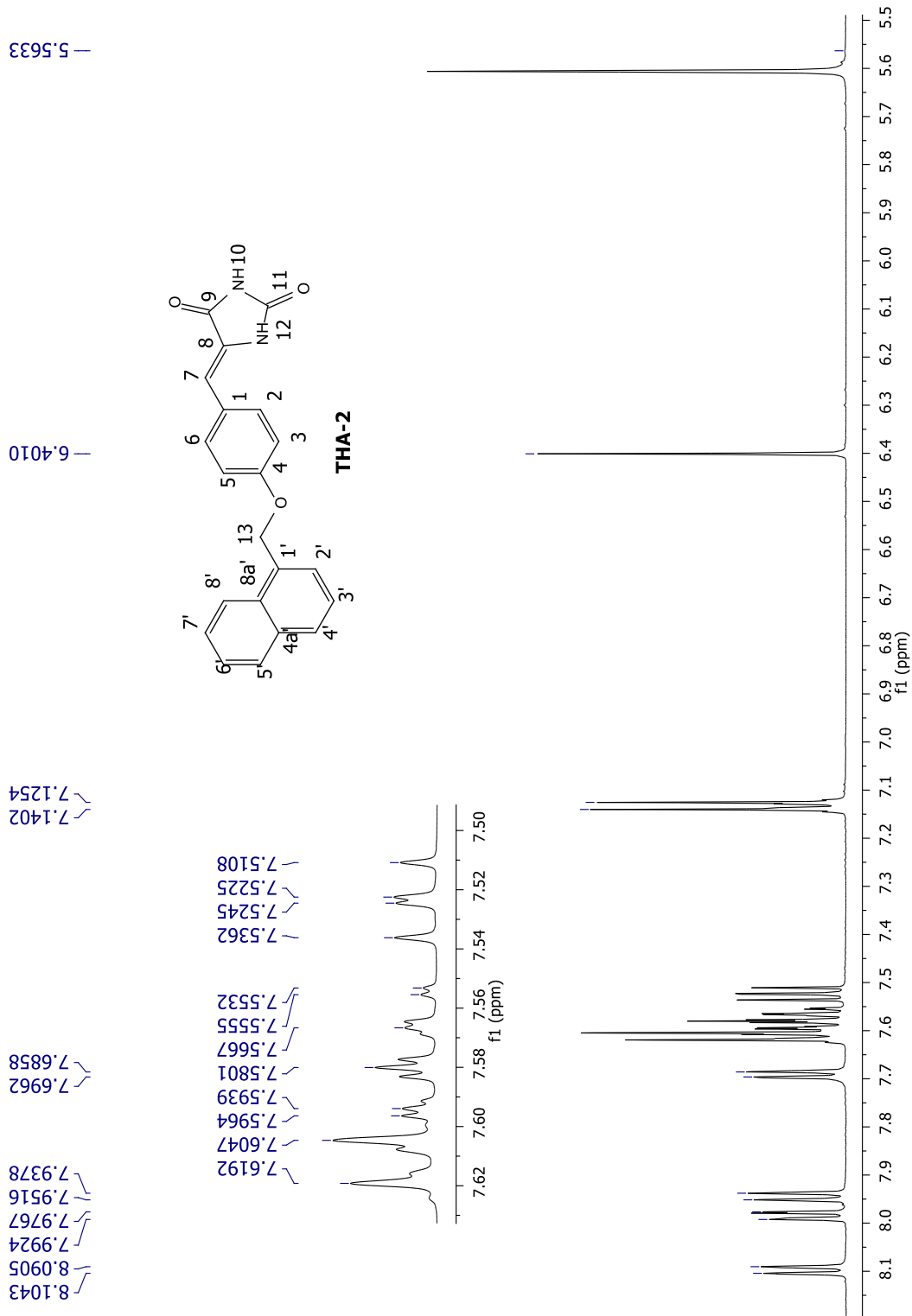
Espectro 14. RMN ¹H del compuesto THA-1(600MHz, DMSO-d6)



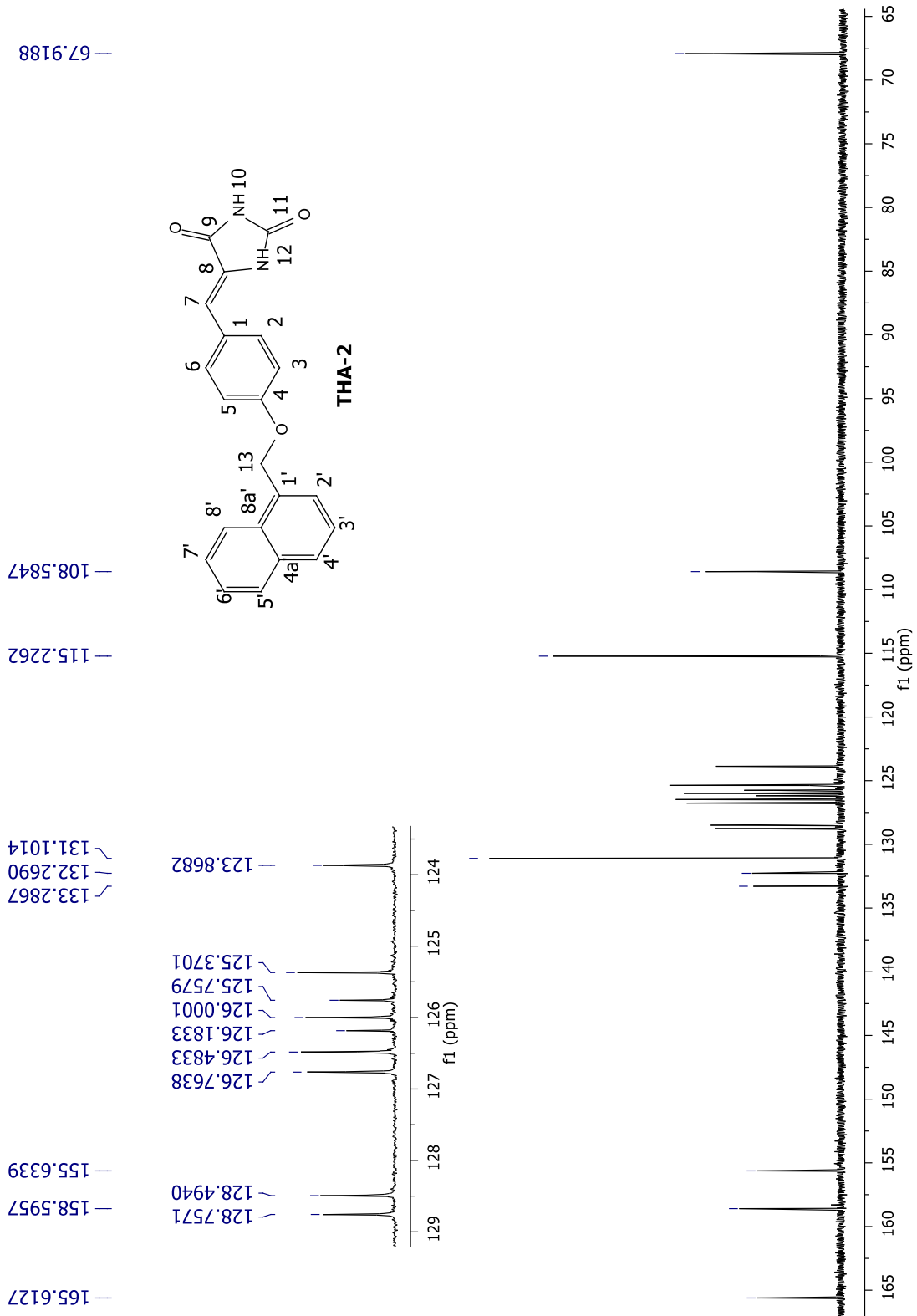
Espectro 15. RMN ¹³C del compuesto **THA-1**(150MHz, DMSO-d₆)



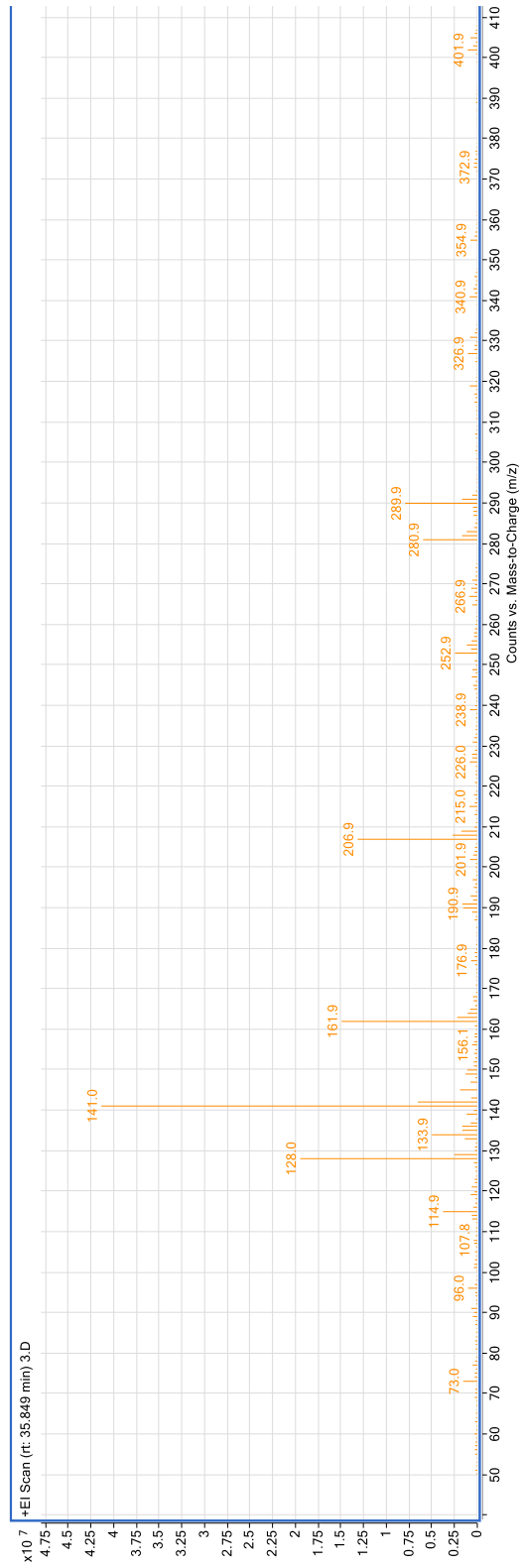
Espectro 16. Espectro de EM del compuesto **THA-1** (Técnica: IE)



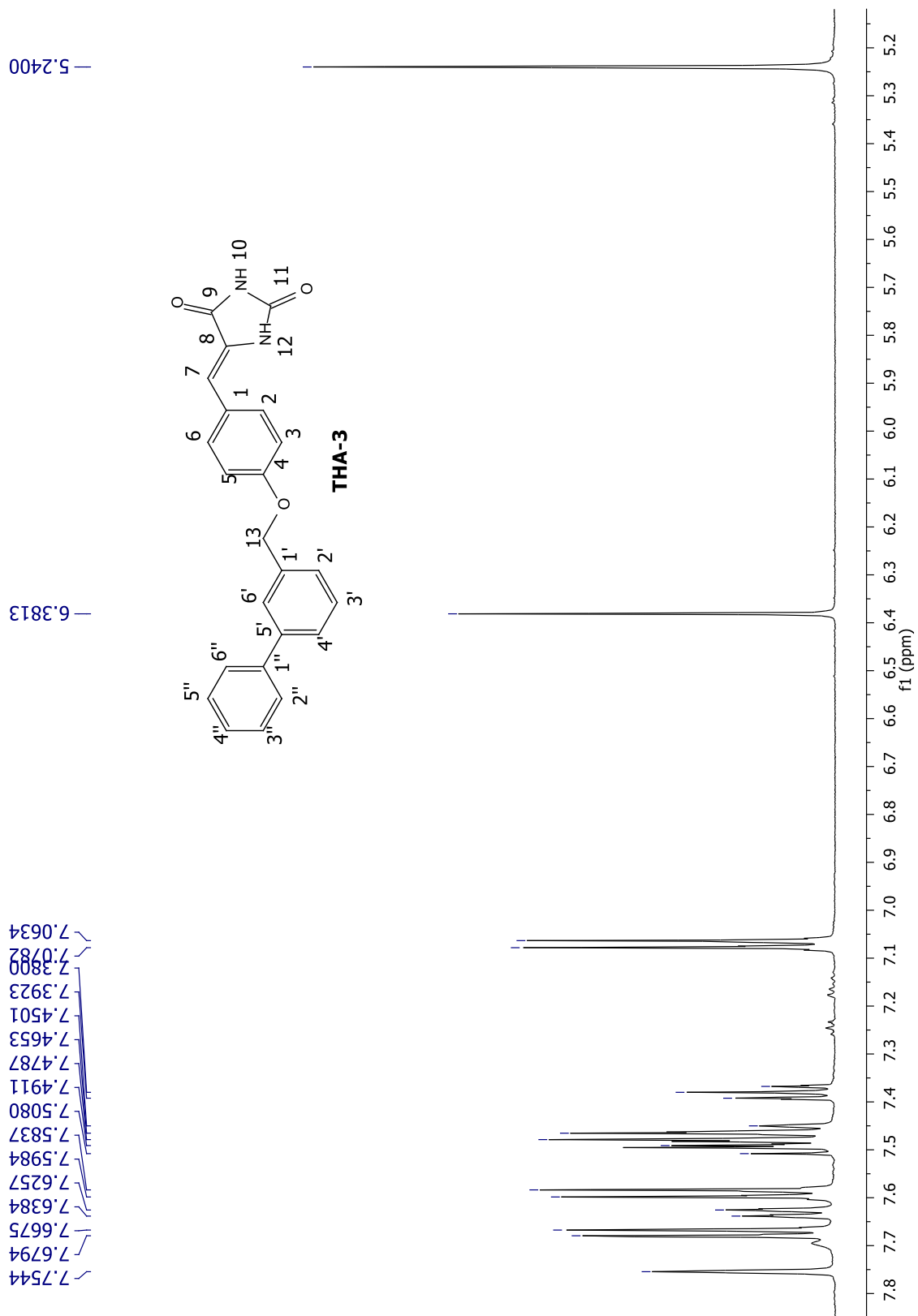
Espectro 17. RMN ¹H del compuesto **THA-2** (600MHz, DMSO-d6)



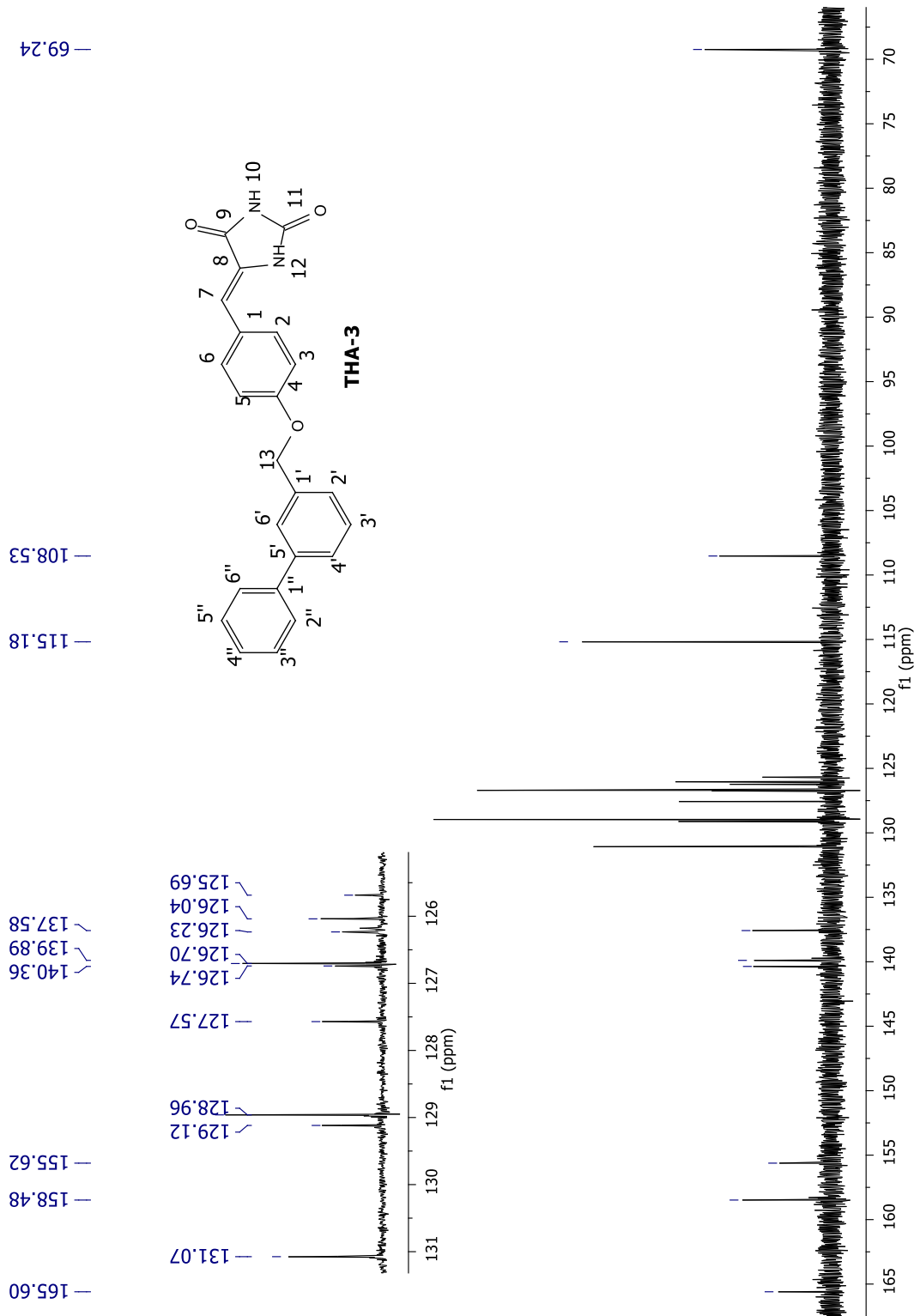
Espectro 18. RMN ^{13}C del compuesto **THA-2** (150MHz, DMSO- d_6) (9p)



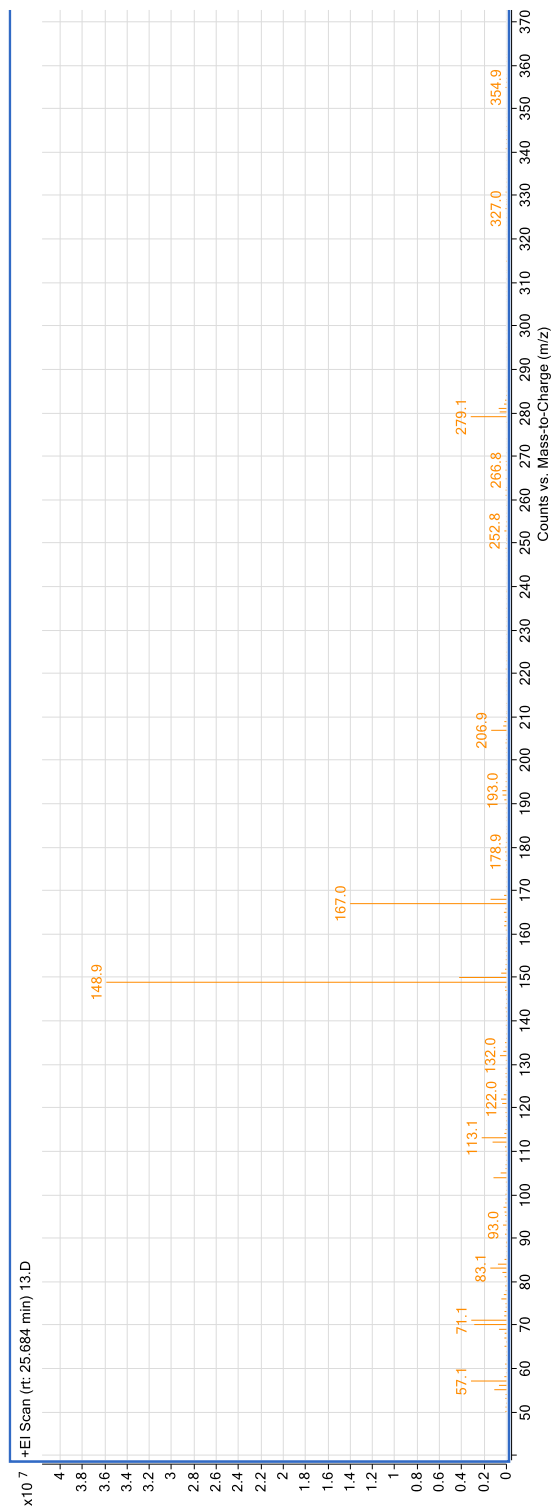
Espectro 19. Espectro de EM para el compuesto **THA-2** (Técnica: IE)



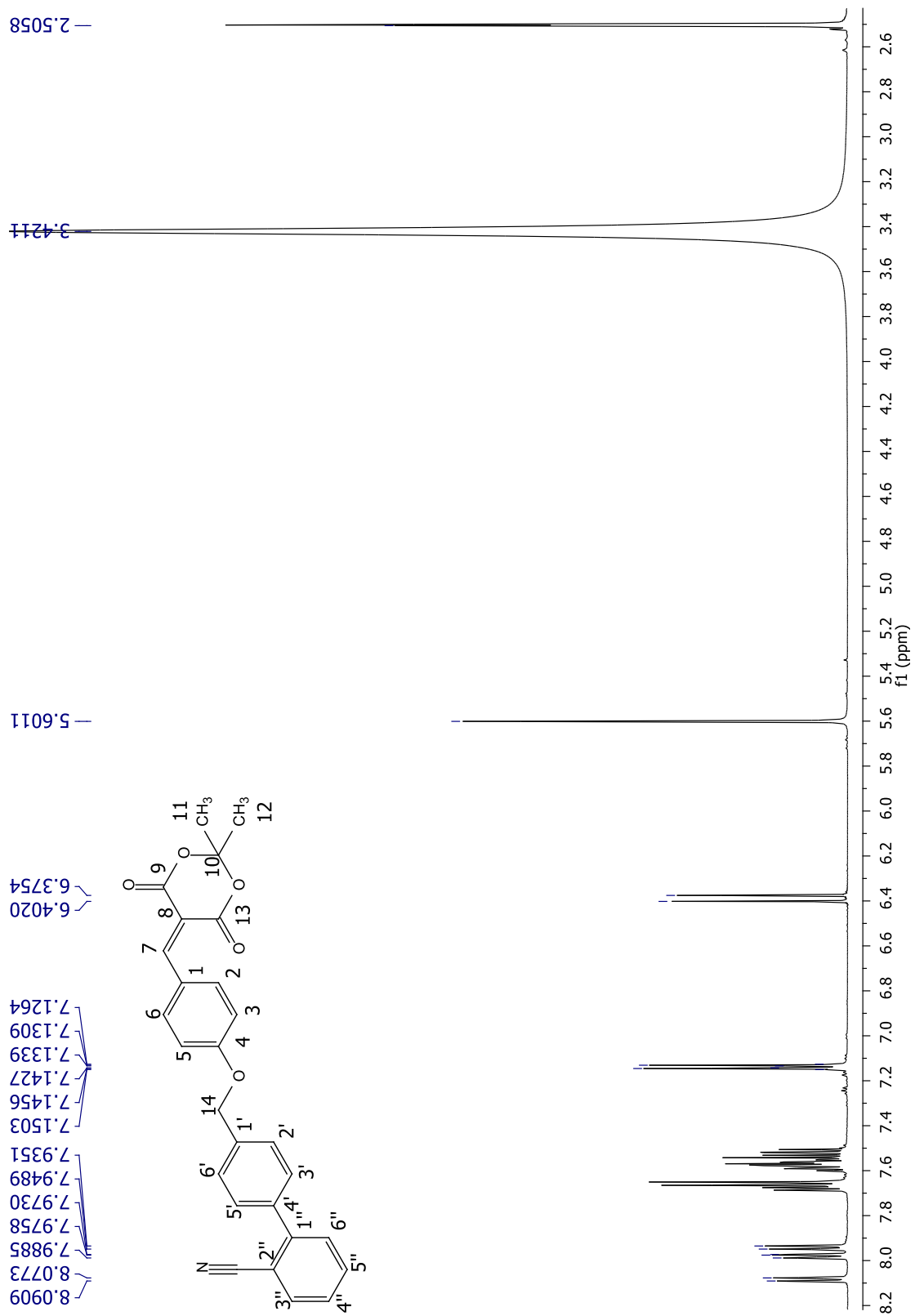
Espectro 20. RMN ¹H del compuesto **THA-3** (600MHz, DMSO-d₆)



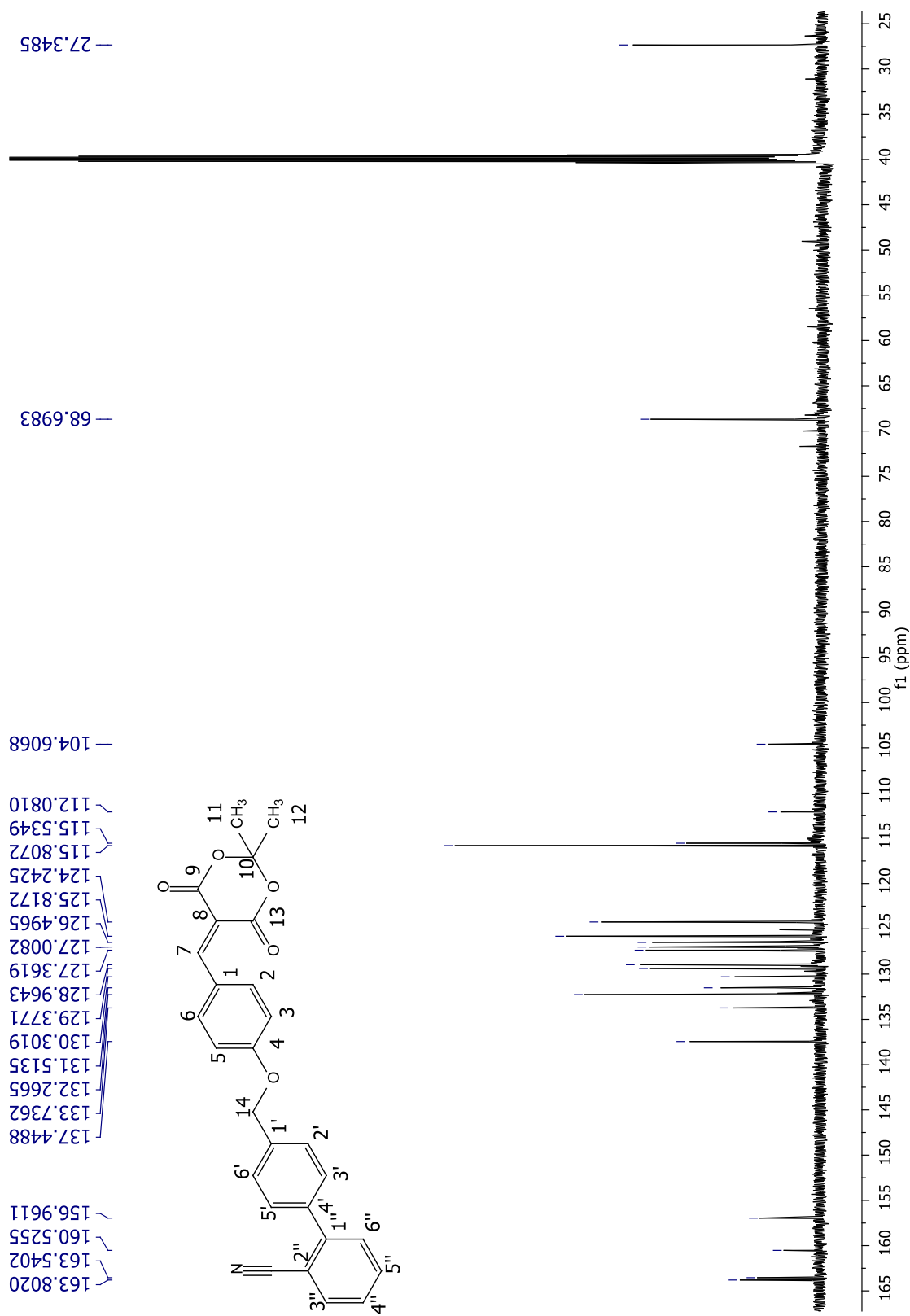
Espectro 21. RMN ¹³C del compuesto **THA-3** (150MHz, DMSO-d6)



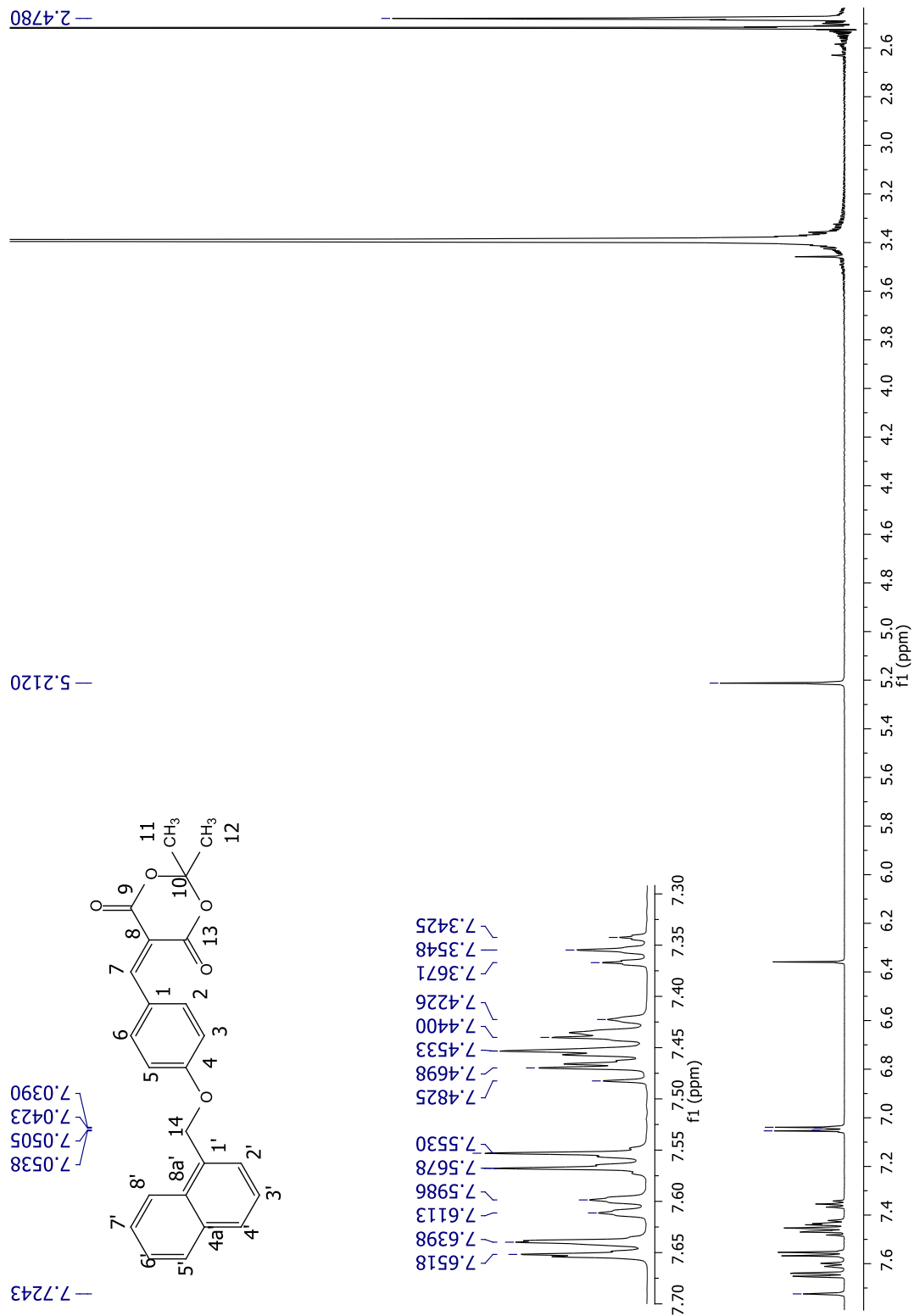
Espectro 22. Espectro de EM para el compuesto **THA-3** (Técnica: IE)



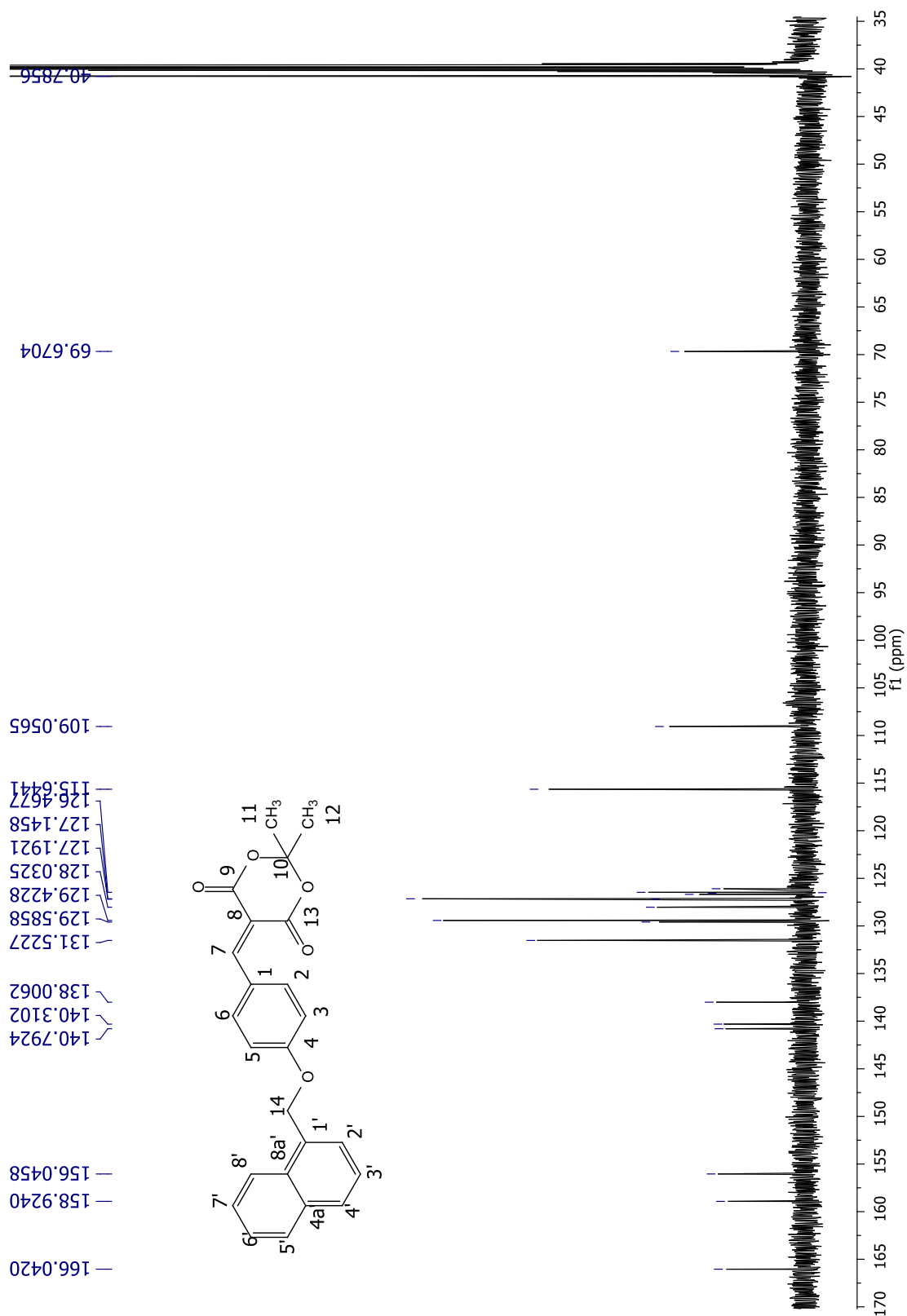
Espectro 23. RMN ¹H del compuesto **THA-4** (600MHz, DMSO-d₆)



Espectro 24. RMN ^{13}C del compuesto **THA-4** (150MHz, DMSO- d_6)



Espectro 25. RMN ¹H del compuesto **THA-5** (600MHz, DMSO-d₆)



Espectro 26. RMN ¹³C del compuesto **THA-5** (150MHz, DMSO-d6)

13. ANEXOS

CARTELES Y ASISTENCIA A CONGRESOS RELACIONADOS CON EL DESARROLLO Y APLICACIÓN DE ESTE PROYECTO

- Asistencia y presentación de cartel en el XXVI Congreso Nacional de Educación Química Farmacéutica Biológica y XXII Reunión Nacional de Estudiantes de Farmacia los días 7, 8 y 9 de febrero de 2018 en la Facultad de Farmacia, UAEM
- Asistencia y presentación de cartel en el Cuarto Simposio de Tendencias actuales en la búsqueda y desarrollo de fármacos los días 13, 14 y 15 de junio del 2018 en la Facultad de Química, UNAM



El Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C.

y la Universidad Autónoma del Estado de Morelos

Otorgan la presente

CONSTANCIA

a: *Thalia Delgado Aguilar, Gabriel Navarrete Vázquez, Julio César Rivera Leyva.*

Por su participación como PONENTES del trabajo titulado: « SÍNTESIS Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE HIDANTOÍNAS Y BIOISÓSTEROS ÁCIDOS », en el XXVI Congreso Nacional de Educación Química Farmacéutica Biológica y XXII Reunión Nacional de Estudiantes de Farmacia.

Cuernavaca, Morelos, a 07, 08 y 09 de febrero de 2018.

DESS Rodoifo Cruz Rodríguez
Presidente del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C.

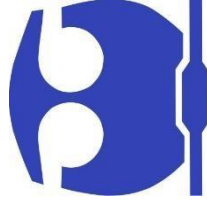
M. en C. Kenneth Rubio Carrasco
Presidente de la Comisión de Reunión Nacional de Estudiantes de Farmacia del CNQFEBM, A.C.

Dra. María Estela Meléndez Camargo
Presidenta de la Comisión de Educación del CNQFEBM, A.C.

Dr. Efrén Hernández Baltazar
Director de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Química



Otorga la presente:

Constancia

A:

Thalia Delgado Aguilar, Julio César Rivera Leyva, Gabriel Navarrete Vázquez

Por su participación en la exposición de carteles del IV Simposio "Tendencias actuales en la búsqueda y desarrollo de fármacos" con el trabajo titulado:

"Síntesis y evaluación biológica de hidantoínas y bioisómeros ácidos"

Realizado los días 13, 14 y 15 de junio de 2018 en la Facultad de Química

"Por Mi Raza Hablará El Espíritu"

Ciudad Universitaria, CdMx, a 14 de junio de 2018.

Dr. Andrés Navarrete Castro
Jefe Depto. De Farmacia

Dr. Alfonso S. Lira Rocha
Comité Organizador

14. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Organización Mundial de la Salud. *Enfermedades crónicas y promoción de la salud*; **2015**.
- (2) International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas de la FID*; **2018**.
- (3) Burant, C. F. Activation of GPR40 as a therapeutic target for the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Care* **2013**, 36 (SUPPL.2), 175-179.
- (4) Araki, T.; Hirayama, M.; Hiroi, S.; Kaku, K. GPR40-induced insulin secretion by the novel agonist TAK-875: first clinical findings in patients with type 2 diabetes. *Diabetes. Obes. Metab.* **2012**, 14 (3), 271-278.
- (5) Bhattarai, B. R.; Kafle, B.; Hwang, J.-S.; Ham, S. W.; Lee, K.-H.; Park, H.; Han, I.-O.; Cho, H. Novel thiazolidinedione derivatives with anti-obesity effects: dual action as PTP1B inhibitors and PPAR- γ activators. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, 20 (22), 6758-6763.
- (6) Maccari, R.; Ottanà, R.; Ciurleo, R.; Rakowitz, D.; Matuszczak, B.; Laggner, C.; Langer, T. Synthesis, induced-fit docking investigations, and in vitro aldose reductase inhibitory activity of non-carboxylic acid containing 2,4-thiazolidinedione derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16 (11), 5840-5852.
- (7) Organización Mundial de la Salud. Diabetes <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>. (consultado oct 8, 2018)
- (8) Hernández Avila, M.; Dommarco, J. R.; Shamah Levy, T.; Cuevas Nasu, L.; Gómez Acosta, L. M.; Gaona Pineda, E. B.; Romero Martínez, M.; Mendez Gómez-Humaran, I.; Saturno Hernández, P.; Villalpando Hernández, S.; Gutiérrez, J. P.; Ávila Arcos, M. A.; Mauricio López, E. R.; Marítez Domínguez, J.; García Lopez, D. E. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. *Inst. Nac. Salud Pública* **2016**, 2016, 49.
- (9) O'Neill, Marla J. F., Hamosh, A. MATURITY-ONSET DIABETES OF THE YOUNG; MODY <https://www.omim.org/entry/606391> (consultado oct 9, 2018).
- (10) Secretaría de Salud. *NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-015-SSA2-2010, PARA LA PREVENCIÓN, TRATAMIENTO Y CONTROL DE LA DIABETES MELLITUS*; México, **2015**.
- (11) Secretaría de Salud. Diagnóstico y Tratamiento de Diabetes Mellitus en el Adulto Mayor Vulnerable. *Guía Pract. Clin.* **2013**, 1-25.
- (12) Tripathi, B. K., & Srivastava, A. K. Diabetes mellitus: Complications and therapeutics. *Med. Sci. Monit.* **2006**, 12 (7), RA130-RA147.
- (13) Díaz-Flores, M.; Baiza-Gutman, L. A.; Ibáñez-Hernández, M. A.; Pascoe-Lira, D.; Guzmán-Greenfel, A. M.; Kumate-Rodríguez, J. Aspectos moleculares del daño tisular inducido por la hiperglucemia crónica. *Gac. Med. Mex.* **2004**, 140 (4), 437-447.

- (14) Miladinova, V. Complicaciones crónicas de la Diabetes Mellitus tipo 2, Universidad Complutense, **2012**.
- (15) Forbes, J. M.; Cooper, M. E. Mechanisms of Diabetic Complications. *Physiol. Rev.* **2013**, 93 (1), 137-188.
- (16) Pérez, F. Epidemiología Y Fisiopatología De La Diabetes Mellitus Tipo 2. *Rev. Médica Clínica Las Condes* **2009**, 20 (5), 565-571.
- (17) Carrasco, F.; Galgani, J. E.; Reyes, M. Síndrome de resistencia a la insulina. Estudio y Manejo. *Rev. Médica Clínica Las Condes* **2013**, 24 (5), 827-837.
- (18) Olivares Reyes, J. A.; Arellano Plancarte, A. Bases moleculares de las acciones de la insulina. *Rev. Educ. Bioquímica* **2008**, 27 (1), 9-18.
- (19) Cervantes, R. D.; Presno, J. M. Fisiopatología de la diabetes y los mecanismos de muerte de las células β pancreáticas. *Rev. Endocrinol. y Nutr.* **2013**, 21 (3), 98-106.
- (20) Castillo Barcias, J. A. Fisiopatología de la Diabetes Mellitus Tipo 2 http://www.endocrino.org.co/wp-content/uploads/2015/10/Fisiopatologia_de_la_Diabetes_Mellitus_Tipo_2_J_Castillo.pdf (consultado nov 7, 2018).
- (21) Upadhyay, J.; Polyzos, S. A.; Perakakis, N.; Thakkar, B.; Paschou, S. A.; Katsiki, N.; Underwood, P.; Park, K. H.; Seufert, J.; Kang, E. S.; Sternthal, E.; Karagiannis, A.; Mantzoros, C. S. Pharmacotherapy of type 2 diabetes: An update. *Metabolism*. **2018**, 78, 13-42.
- (22) Guitérrez-Lara, E. J. Caracterización química y farmacodinámica de análogos cíclicos y aromáticos de Metformina, UAEM, **2014**.
- (23) Flórez, J. *Farmacología humana*; Masson, **2003**.
- (24) Kole, L.; Sarkar, M.; Deb, A.; Giri, B. Pioglitazone, an anti-diabetic drug requires sustained MAPK activation for its anti-tumor activity in MCF7 breast cancer cells, independent of PPAR- γ pathway. *Pharmacol. Reports* **2016**, 68 (1).
- (25) Ryan, G. J.; Lynetta, J. J.; Martin, R. Pramlintide in the treatment of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Clin. Ther.* **2005**, 27 (10), 1500-1512.
- (26) López-Jaramillo, P.; Velandia, C.; Castillo, G.; Sánchez, T.; Álvarez, J. Análogos de incretina e inhibidores de la DPP-4: ¿qué papel desempeñan en la prevención primaria de las enfermedades cardiovasculares? *Rev. Colomb. Cardiol.* **2013**, 20 (5), 287-299.
- (27) Jódar, E. Características y tipos de agonistas del receptor de GLP-1. Una oportunidad más para la individualización terapéutica. *Med. Clin. (Barc)*. **2014**, 143 (Supl 2), 12-17.
- (28) Cho, H. *Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) And Obesity*, 1.^a ed.; Elsevier Inc., **2013**; Vol. 91.

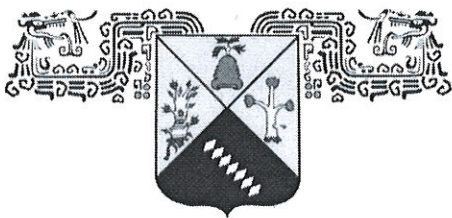
- (29) Bialy, L.; Waldmann, H. Inhibitors of protein tyrosine phosphatases: Next-generation drugs? *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2005**, *44* (25), 3814-3839.
- (30) Balaramnavar, V. M.; Srivastava, R.; Rahuja, N.; Gupta, S.; Rawat, A. K.; Varshney, S.; Chandasana, H.; Chhonker, Y. S.; Doharey, P. K.; Kumar, S.; Gautam, S.; Srivastava, S. P.; Bhatta, R. S.; Saxena, J. K.; Gaikwad, A. N.; Srivastava, A. K.; Saxena, A. K. Identification of novel PTP1B inhibitors by pharmacophore based virtual screening, scaffold hopping and docking. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *87*, 578-594.
- (31) Chadha, N.; Bahia, M. S.; Kaur, M.; Silakari, O. Thiazolidine-2,4-dione derivatives: Programmed chemical weapons for key protein targets of various pathological conditions. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23* (13), 2953-2974.
- (32) Johnson, T. O.; Ermolieff, J.; Jirousek, M. R. Protein Tyrosine Phosphatase 1B Inhibitors for Diabetes. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2002**, *1* (September), 696-709.
- (33) Hidalgo-Figueroa, S. Diseño, síntesis, bioevaluación y estudios de acoplamiento molecular de aza y tiazaheterociclos para el tratamiento experimental de la diabetes e hipertensión, UAEM, **2013**.
- (34) Navarrete-Vázquez, G.; Torres-Gómez, H.; Hidalgo-Figueroa, S.; Ramírez-Espinosa, J. J.; Estrada-Soto, S.; Medina-Franco, J. L.; León-Rivera, I.; Alarcón-Aguilar, F. J.; Almanza-Pérez, J. C. Synthesis, in vitro and in silico studies of a PPAR γ and GLUT-4 modulator with hypoglycemic effect. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 4575-4579.
- (35) Gutiérrez-Hernández, A. Síntesis y evaluación antibiabética de derivados de los ácidos 3-fenilpropanoico y 2-fenoxipropanoico como potenciales ligandos multitarget, UAEM, **2017**.
- (36) Colín-Lozano, B. Diseño, síntesis y bioevaluación antidiabética in combo de benciliden-1,3-tiazolidin-2,4-dionas y derivados del ácido fenilpropanoico., UAEM, **2018**.
- (37) Maccari, R.; Ottanà, R. Targeting Aldose Reductase for the Treatment of Diabetes Complications and Inflammatory Diseases: New Insights and Future Directions. *J. Med. Chem.* **2014**, *58*, 2047-2067.
- (38) Dods, R. F. *Understanding Diabetes*; Wiley: Estados Unidos, **2013**.
- (39) Vyas, B.; Singh, M.; Kaur, M.; Bahia, M. S.; Jaggi, A. S.; Silakari, O.; Singh, B. Aldose reductase inhibitors for diabetic complications: Receptor induced atom-based 3D-QSAR analysis, synthesis and biological evaluation. *J. Mol. Graph. Model.* **2015**, *59*, 59-71.
- (40) IUPHAR/BPS Guide to PHARMACOLOGY. Oxidoreductases: aldo-keto reductase family 1 member B <http://www.guidetopharmacology.org/GRAC/ObjectDisplayForward?objectId=2768> (consultado nov 28, 2018).
- (41) Gutiérrez-Jaimes, M.-L. Diseño y síntesis de derivados del ácido 2-(4-

hidroxifenoxi) propiónico como agentes para el tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo 2, UAEM, **2016**.

- (42) Colín-Lozano, B.; Estrada-Soto, S.; Chávez-Silva, F.; Gutiérrez-Hernández, A.; Cerón-Romero, L.; Giacomani-Martínez, A.; Almanza-Pérez, J. C.; Hernández-Núñez, E.; Wang, Z.; Xie, X.; Cappiello, M.; Balestri, F.; Mura, U.; Navarrete-Vazquez, G. Design, synthesis and in combo antidiabetic bioevaluation of multitarget phenylpropanoic acids. *Molecules* **2018**, *23* (2), 1-16.
- (43) Du, X.; Dransfield, P. J.; Lin, D. C. H.; Wong, S.; Wang, Y.; Wang, Z.; Kohn, T.; Yu, M.; Brown, S. P.; Vimolratana, M.; Zhu, L.; Li, A. R.; Su, Y.; Jiao, X.; Liu, J.; Swaminath, G.; Tran, T.; Luo, J.; Zhuang, R.; Zhang, J.; Guo, Q.; Li, F.; Connors, R.; Medina, J. C.; Houze, J. B. Improving the pharmacokinetics of GPR40/FFA1 full agonists. *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5* (4), 384-389.
- (44) Rodrigues, D. A.; Pinheiro, P. de S. M.; Ferreira, T. T. da S. C.; Thota, S.; Fraga, C. A. M. Structural basis for the agonist action at free fatty acid receptor 1 (FFA1R or GPR40). *Chem. Biol. Drug Des.* **2017**, N.º March, 1-13.
- (45) Houze, J. B.; Zhu, L.; Sun, Y.; Akerman, M.; Qiu, W.; Zhang, A. J.; Sharma, R.; Schmitt, M.; Wang, Y.; Liu, J.; Liu, J.; Medina, J. C.; Reagan, J. D.; Luo, J.; Tonn, G.; Zhang, J.; Lu, J. Y. L.; Chen, M.; Lopez, E.; Nguyen, K.; Yang, L.; Tang, L.; Tian, H.; Shuttleworth, S. J.; Lin, D. C. H. AMG 837: A potent, orally bioavailable GPR40 agonist. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2012**, *22* (2), 1267-1270.
- (46) Christiansen, E.; Urban, C.; Grundmann, M.; Due-Hansen, M. E.; Hagesaether, E.; Schmidt, J.; Pardo, L.; Ullrich, S.; Kostenis, E.; Kassack, M.; Ulven, T. Identification of a potent and selective free fatty acid receptor 1 (FFA1/GPR40) agonist with favorable physicochemical and in vitro ADME properties. *J. Med. Chem.* **2011**, *54* (19), 6691-6703.
- (47) Mendgen, T.; Steuer, C.; Klein, C. D. Privileged Scaffolds or Promiscuous Binders: A Comparative Study on Rhodanines and Related Heterocycles in Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (2), 743-753.
- (48) Konnert, L.; Lamaty, F.; Martinez, J.; Colacino, E. Recent Advances in the Synthesis of Hydantoins: The State of the Art of a Valuable Scaffold. *Chem. Rev.* **2017**, *117* (23), 13757-13809.
- (49) Youssef, D. T. A.; Shaala, L. A.; Alshali, K. Z. Bioactive hydantoin alkaloids from the Red Sea marine sponge *Hemimycale arabica*. *Mar. Drugs* **2015**, *13* (11), 6609-6619.
- (50) Avedaño-Lopez, M. del C. *Introducción a la Química Farmacéutica*, 1ra ed.; McGraw-Hill interamericana: Madrid, **1993**.
- (51) Asati, V.; Mahapatra, D. K.; Bharti, S. K. Thiazolidine-2,4-diones as multi-targeted scaffold in medicinal chemistry: Potential anticancer agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *87*, 814-833.

- (52) Mosso-González, M. D. Diseño y síntesis de híbridos basados en ácido fenilpropiónico como agonistas duales PPAR α/γ , UAEM, **2018**.
- (53) Herrera-Rueda, M. Á.; Tlahuext, H.; Paoli, P.; Giacomani-Martínez, A.; Almanza-Pérez, J. C.; Pérez-Sánchez, H.; Gutiérrez-Hernández, A.; Chávez-Silva, F.; Dominguez-Mendoza, E. A.; Estrada-Soto, S.; Navarrete-Vazquez, G. Design, synthesis, in vitro, in vivo and in silico pharmacological characterization of antidiabetic N-Boc-L-tyrosine-based compounds. *Biomed. Pharmacother.* **2018**, *108* (September), 670-678.
- (54) Delgado-Aguilar, T. Síntesis y evaluación virtual e in vitro de la afinidad de barituros y tiazolidindionas sobre GPR-40, UAEM, **2016**.
- (55) Molinspiration Cheminformatics. República de Eslovaquia **2016**.
- (56) Leeson, P. Box 1: The Lipinski rule of five http://www.nature.com/nature/journal/v481/n7382/box/481455a_BX1.html. (consultado 10 oct, 2018)
- (57) Yang, H.; Lou, C.; Sun, L.; Li, J.; Cai, Y.; Wang, Z.; Li, W.; Liu, G.; Tang, Y. admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties. *Bioinformatics* **2018**, N.º August, 2016-2017.
- (58) Way2Drug. PASS on line. Department for Bioinformatics, Laboratory for Structure-Function Based Drug Design, IBMC: Moscú **2016**.
- (59) ACD/Labs. ACD/ToxSuite. Advanced Chemistry Development **2016**.
- (60) Pérez Sánchez, H. DIA-DB. Bioinformatics and High Performance Computing Research Group, UCAM: Murcia **2016**.
- (61) Gfeller, D.; Grosdidier, A.; Wirth, M.; Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. SwissTargetPrediction: A web server for target prediction of bioactive small molecules. *Nucleic Acids Res.* **2014**, *42* (W1), 1-7.
- (62) Garner, J.; Deadman, J.; Rhodes, D.; Griffith, R.; Keller, P. A. A new methodology for the simulation of flexible protein-ligand interactions. *J. Mol. Graph. Model.* **2007**, *21* (1), 363-373.
- (63) Meng, X.-Y.; Zhang, H.-X.; Mezei, M.; Cui, M. Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Curr. Comput. Aided. Drug Des.* **2011**, *7* (2), 146-157.
- (64) Huang, S. Y.; Grinter, S. Z.; Zou, X. Scoring functions and their evaluation methods for protein-ligand docking: Recent advances and future directions. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12* (40), 12899-12908.
- (65) Arciniega, M.; Lange, O. F. Improvement of virtual screening results by docking data feature analysis. *J. Chem. Inf. Model.* **2014**, *54* (5), 1401-1411.
- (66) Trott, O.; Olson, A. J. AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *J. Comput. Chem.* **2009**, *31* (2), 455-461.

- (67) Chemical Computing Group ULC. Molecular Operating Environment (MOE). Montreal **2013**.
- (68) Di, L.; Kerns, E. H. hERG Blocking. En *Drug-like Properties*; Elsevier: London, **2016**; pp 243-250.
- (69) Sanguinetti, M. C.; Tristani-Firouzi, M. hERG potassium channels and cardiac arrhythmia. *Nature* **2006**, *440* (7083), 463-469.
- (70) Yasmin, S.; Jayaprakash, V. Thiazolidinediones and PPAR orchestra as antidiabetic agents: From past to present. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**.
- (71) Krishnan, N.; Krishnan, K.; Connors, C. R.; Choy, M. S.; Page, R.; Peti, W.; Van Aelst, L.; Shea, S. D.; Tonks, N. K. PTP1B inhibition suggests a therapeutic strategy for Rett syndrome. *J. Clin. Invest.* **2015**, *125* (8), 3163-3177.
- (72) Rechlin, C., Heine, A., Klebe, G. Human Aldose Reductase complexed with a ligand with an IDD structure (2) at 1.07 Å <https://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=4YS1> (consultado nov 29, 2017).
- (73) Srivastava, A.; Yano, J.; Hirozane, Y.; Kefala, G.; Gruswitz, F.; Snell, G.; Lane, W.; Ivetac, A.; Aertgeerts, K.; Nguyen, J.; Jennings, A.; Okada, K. High-resolution structure of the human GPR40 receptor bound to allosteric agonist TAK-875. *Nature* **2014**, *513*, 124–127.



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Thalia Delgado Aguilar

Título de la tesis: "Síntesis y evaluación antidiabética de hidantoínas y bioisómeros ácidos".

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Samuel Enoch Estrada Soto

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

- Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

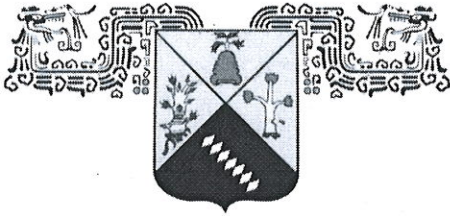
Observaciones (solo en caso de rechazo):

Firma del miembro del jurado Fecha

Firma del miembro de jurado

28/01/2019

Fecha



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Thalia Delgado Aguilar

Título de la tesis: "Síntesis y evaluación antidiabética de hidantoínas y bioisómeros ácidos".

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Germán Bernal Fernández

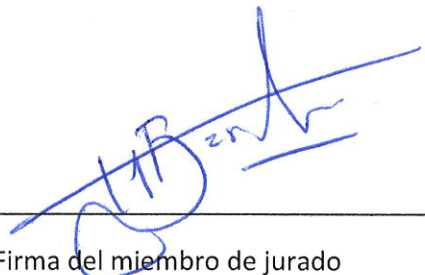
La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

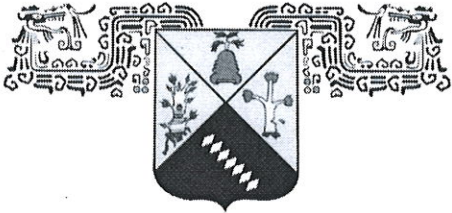
- Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

Firma del miembro del jurado Fecha


Firma del miembro de jurado

28/01/2019
Fecha



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Thalia Delgado Aguilar

Título de la tesis: "Síntesis y evaluación antidiabética de hidantoínas y bioisómeros ácidos".

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. José Luis Viveros Ceballos

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

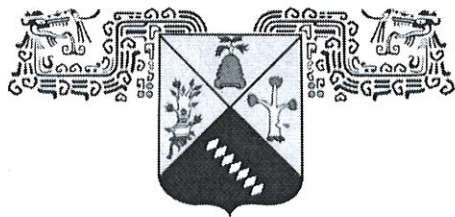
- Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

Firma del miembro del jurado Fecha


Firma del miembro de jurado

28-01-2019
Fecha



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Thalia Delgado Aguilar

Título de la tesis: "Síntesis y evaluación antidiabética de hidantoínas y bioisómeros ácidos".

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. Blanca Iris Colín Lozano

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

- Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

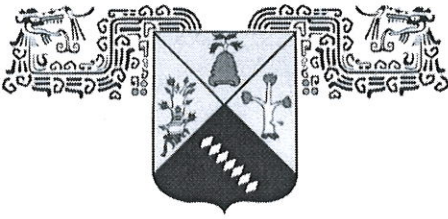
Observaciones (solo en caso de rechazo):

Firma del miembro del jurado Fecha

Firma del miembro de jurado

29-01-19

Fecha



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Thalia Delgado Aguilar

Título de la tesis: "Síntesis y evaluación antidiabética de hidantoínas y bioisómeros ácidos".

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. Yoshajandith Aguirre Vidal

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

- Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

Firma del miembro del jurado Fecha


Firma del miembro de jurado

29/01/19
Fecha