



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

“Síntesis de ácidos 4-arilamidofenilpropiónicos y evaluación de su efecto antidiabético”

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MAESTRA EN FARMACIA**

PRESENTA:

L.F. YELZYN DOLORES GALVÁN CIPRÉS

Director de tesis: Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez



Cuernavaca, Morelos

2020

AGRADECIMIENTOS

A **CONACyT** por el apoyo otorgado para el proyecto de investigación en ciencia básica 2015, número **253814** y por la beca de maestría con el número de CVU **889740**.

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

Al **Dr. Emanuel Hernández Núñez** del Departamento de Recursos de Mar en CINESTAV, unidad Mérida por la colaboración en los análisis espectroscópicos y espectrométricos.

Al **Dr. Elix Alberto Domínguez Mendoza** por su colaboración en los ensayos *in vivo* para este trabajo y su orientación durante la realización de los mismos.

Al **Dr. César Millán Pacheco** por su colaboración para la realización de los cálculos *in silico*.

Los autores agradecen al **Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México** perteneciente a la red de laboratorios nacionales **CONACyT**, por los recursos computacionales, el apoyo y la asistencia técnica.

Al comité revisor: **Dr. Samuel Enoch Estrada Soto, M. en C. Martha Hernández Labra, Dr. Jaime Escalante García, Dr. Jorge Armando Moreno Escobar y Dra. Blanca Iris Colín Lozano** por el apoyo brindado y el tiempo dedicado a realizar las observaciones necesarias.

Finalmente, un agradecimiento especial al **Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez**, quien me brindó su confianza al aceptarme a formar parte del equipo de trabajo del Laboratorio 5 a continuar con posgrado y, día con día me ha impulsado a mejorar y a dar siempre más de mí. Por sus enseñanzas, tiempo e infinita paciencia, ¡gracias! Jamás olvidaré mi estancia en su laboratorio y mucho menos lo olvidaré a usted.

DEDICATORIA

Le dedico este esfuerzo a mi mamá y a mi abuelita, principalmente por haber confiado en mí y aceptar mis ausencias durante fechas difíciles.

De alguna manera, a mi papá aunque ya no esté conmigo. Espero haberlo enorgullecido.

A mi país y a sus contribuyentes. (¿De dónde salió la beca, si no?)

A ese individuo tan importante que me ayudó cuando nadie más lo hacía, me acompañó cuando nadie más se ofrecía y también me regañó cuando nadie más se atrevía.

Y a todos a los en que en algún momento durante estos dos años y poquito más los consideraré mis amigos. No tengo que mencionar ningún nombre, si alguna vez fueron especiales para mí, lo saben.

“... porque veo al final de mi rudo camino

que yo fui el arquitecto de mi propio destino...”

- Amado Nervo, “En Paz”

ABREVIATURAS

ADA	American Diabetes Association
DM	Diabetes mellitus
DMII	Diabetes mellitus tipo II
OMS	Organización Mundial de la Salud
FID	Federación Internacional de la Diabetes
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
EM-EI	Espectrometría de Masas por Impacto Electrónico
OECD	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico
PDB	Protein Data Bank
PPAR	Receptor activado por proliferador de peroxisomas
TZD	1,3-tiazolidin-2,4-diona
PTP	Proteína tirosina fosfatasa
GLUT	Transportador de glucosa
IRS	Sustrato de receptor de insulina
PI3K	Fosfatidilinositol-3-cinasa
SGLT	Transportador de sodio-glucosa
GLP-1	Péptido similar al glucagón
DPP4	Dipeptidilpeptidasa 4
IR	Receptor de insulina
PASS	Predictor del Espectro de Actividad Biológica para Sustancias
QSAR	Relación estructura-actividad cuantitativa
SAR	Relación estructura-actividad
MOE	Molecular Operating Environment
CYP450	Citocromo P450
J	Constante de acoplamiento
Jo	Constante de acoplamiento <i>orto</i>
Jm	Constante de acoplamiento <i>meta</i>

ÍNDICE DE CONTENIDO	
AGRADECIMIENTOS	I
DEDICATORIA	III
ABREVIATURAS	IV
ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS	5
ABSTRACT	9
RESUMEN	10
1. INTRODUCCIÓN	11
1.1. Clasificación actual de la diabetes	11
1.2. Criterios de diagnóstico	12
1.3. Terapia actual.....	13
2. ANTECEDENTES	14
2.1. Derivados del ácido cinámico.....	14
2.2. Blancos terapéuticos	15
2.2.1. Aldosa reductasa.....	15
2.2.2. Inhibidores de aldosa reductasa	16
2.2.3. Proteína Fosfatasa de Tirosina	18
2.2.4. Inhibidores de PTP-1B	19
2.2.5. Receptor de ácidos grasos libres tipo 1	21
2.2.6. Agonistas de FFAR1 o GPR40	22
3. JUSTIFICACIÓN	24
4. HIPÓTESIS	24
5. OBJETIVO GENERAL	24
6. CONSIDERACIONES QUÍMICO-FARMACÉUTICAS PARA EL DISEÑO	25
6.1. Patrón farmacofórico unificado de moléculas antihiperlipemiantes	25
6.2. Reglas de Lipinski	25
7. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	27
7.1. PARTE QUÍMICA	28
7.2. PARTE COMPUTACIONAL (<i>A priori</i>)	32
7.3. PARTE FARMACOLÓGICA.....	36
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
8.1. PARTE QUÍMICA	38
PARTE COMPUTACIONAL: <i>A priori</i>	55
8.2. PARTE FARMACOLÓGICA.....	67
8.3. PARTE COMPUTACIONAL: <i>A posteriori</i>	72
9. CONCLUSIONES	76
10. PERSPECTIVAS	77

11. PARTE EXPERIMENTAL	78
12. ESPECTROS	99
13. BIBLIOGRAFÍA.....	126

ÍNDICE DE DIAGRAMAS Y FIGURAS

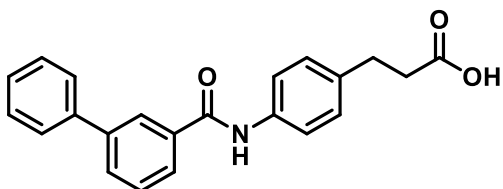
Figura 1. Estimación de número de personas con diabetes por región en el año 2019.....	11
Figura 2. Terapia clásica para el tratamiento de la DT2	13
Figura 3. Estructura del ácido cinámico y sus derivados	14
Figura 4. Efectos del ácido cinámico y sus derivados.....	14
Figura 5. Vía de los polioles	15
Figura 6. Mecanismo de patogenicidad de aldosa reductasa.....	15
Figura 7. Grupos funcionales que han presentado actividad como ARIs	16
Figura 8. Desfosforilación de un residuo de tirosina mediante la triada catalítica	18
Figura 9. Mecanismo de regulación negativa de PTP-1B.....	18
Figura 10. Estructuras químicas de inhibidores de PTP-1B	19
Figura 11. Derivado de ácido 3-fenilpropiónico como inhibidor de PTP-1B	20
Figura 12. Mecanismo de acción de GPR40 en células β -pancreáticas.....	21
Figura 13. Estructuras químicas del DHA y del EPA	22
Figura 14. Patrón farmacofórico unificado de moléculas con actividad antidiabética.....	25
Figura 15. Consideraciones del diseño para la serie YZN	25
Diagrama 1. Análisis retrosintético	28
Diagrama 2. Retrosíntesis del precursor YZN-12	29
Diagrama 3. Nitración para la obtención del precursor YZN-14	30
Diagrama 4. Esterificación para la obtención del precursor YZN-13	30
Diagrama 5. Hidrogenación catalítica para la obtención del precursor YZN-12	30
Diagrama 6. Amidación para la obtención de los precursores YZN 1a – 11a	31
Diagrama 7. Hidrólisis para la obtención de los compuestos finales YZN 1 – 11	31
Figura 16. Optimización de un compuesto bioactivo.....	35
Diagrama 8. Obtención del precursor YZN-14	38
Diagrama 9. Obtención del precursor YZN-13	38
Diagrama 10. Obtención del precursor YZN-12	39
Diagrama 11. Amidación para la obtención de los precursores YZN 1a – 11a	39
Diagrama 12. Hdrólisis para la obtención de los precursores YZN 1 – 11	40
Figura 17. YZN-1: RMN ^1H , 600 MHz, DMSO- d_6	43
Figura 18. YZN-1: RMN ^{13}C , 150 MHz, DMSO- d_6	44
Figura 19. Efecto del pH sobre la lipofilicidad de un compuesto	55
Figura 20. Estructura del compuesto YZN-10 en su forma de carboxilato	56
Figura 21. SNAr en la serie YZN	60
Figura 22. Propiedades que favorecen o desfavorecen la afinidad por los canales hERG.....	61
Figura 23. Propiedades del compuesto YZN-10 a pH fisiológico (7.4)	61
Figura 24. Estructura química de valaciclovir.....	62
Figura 25. Estructura química y propiedades de loperamida.....	63
Figura 26. Estructura química del clotrimazol	64
Figura 28. Prueba de tolerancia a la glucosa	67
Figura 29. Área bajo la curva de los resultados obtenidos	68
Figura 30. Ensayo antidiabético agudo de YZN-10	68
Figura 31. Efecto de los compuestos YZN-5 y YZN-10 sobre el movimiento de $[\text{Ca}^{2+}]_i$	69
Figura 32. Movimiento de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ en células RINm5F de YZN-5 y YZN-10	70
Figura 33. Secreción de insulina en células RINm5F	70
Figura 34. PLIF de YZN-1 sobre FFAR-1	72
Figura 35. Diferentes conformaciones adquiridas por YZN-1	72
Figura 36. Esquema de interacciones 2D de YZN-1 con FFAR-1	73
Figura 37. PLIF de YZN-5 sobre FFAR-1	73
Figura 38. Diferentes conformaciones adquiridas por YZN-5	74
Figura 39. Esquema de interacciones 2D de YZN-5 con FFAR-1	74
Figura 40. PLIF de YZN-10 sobre FFAR-1	74
Figura 41. Diferentes conformaciones adquiridas por YZN-10	75
Figura 42. Esquema de interacciones 2D de YZN-10 con FFAR-1	75

ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICAS

Tabla 1. Clasificación actual de la diabetes de acuerdo con la OMS.....	12
Tabla 2. ARI's derivados del ácido 3-fenilpropiónico.....	17
Tabla 3. Agonistas de FFAR-1 derivados del ácido fenilpropiónico.....	22
Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas calculadas para la serie YZN	26
Tabla 5. Resultados de la síntesis de los compuestos precursores y finales	41
Tabla 6. Rangos de desplazamientos y multiplicidades del núcleo del ácido 3-fenilpropiónico	42
Tabla 7. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento para YZN-1	45
Tabla 8. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento para YZN-2	46
Tabla 9. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento para YZN-3	47
Tabla 10. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento para YZN-4	48
Tabla 11. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento para YZN-5	49
Tabla 12. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento para YZN-6	50
Tabla 13. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento para YZN-7	51
Tabla 14. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento para YZN-8a	52
Tabla 15. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento para YZN-9	53
Tabla 16. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento para YZN-10	54
Tabla 16. Propiedades fisicoquímicas calculadas para la serie YZN	55
Tabla 17. Afinidad de la serie YZN hacia aldosa reductasa, PTP-1B y FFAR-1	57
Tabla 18. Afinidad de la serie YZN hacia aldosa reductasa, PTP-1B y FFAR-1	57
Tabla 19. Resumen farmacodinámico de la serie YZN sobre diversas dianas terapéuticas	58
Tabla 20. Análisis de consenso para la evaluación de riesgo de carcinogenicidad de la serie	59
Tabla 21. Análisis de consenso para la evaluación de riesgo de mutagenicidad de la serie	59
Tabla 22. Análisis de consenso para la evaluación de riesgo de bloqueo de canales hERG	60
Tabla 23. Resumen de la detección de alertas toxicológicas de la serie YZN	61
Tabla 24. Análisis de consenso para la evaluación de la probabilidad de absorción intestinal	62
Tabla 25. Análisis de consenso para la evaluación de la cualidad como sustrato de Pgp	63
Tabla 26. Análisis de consenso para la evaluación de la unión a proteínas plasmáticas.....	64
Tabla 27. Análisis de consenso para la inhibición de CYP450 por la serie YZN	65
Tabla 28. Resumen del análisis de consenso	66
Tabla 29. Sistemas de elución empleados	78
Tabla 30. Relación de costos de los reactivos empleados para el presente proyecto.....	79

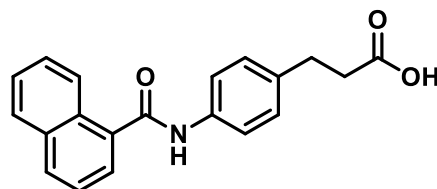
ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS

Compuestos finales



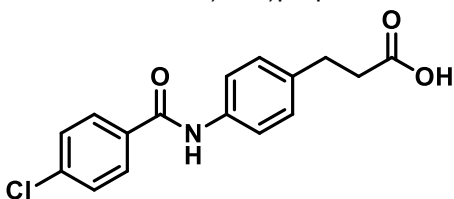
YZN-1

Ácido 3-(4-([1,1'-bifenil]-3-carboxamido)fenil)propiónico



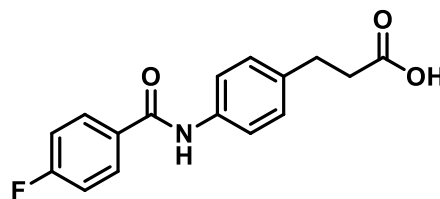
YZN-2

Ácido 3-(4-(1-naftamido)fenil)propiónico



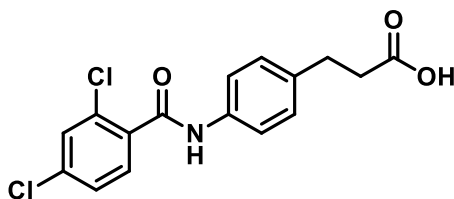
YZN-3

Ácido 3-(4-(4-clorobenzoamido)fenil)propiónico



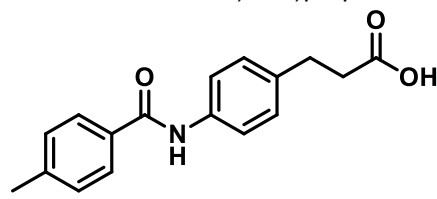
YZN-4

Ácido 3-(4-(4-fluorobenzoamido)fenil)propiónico



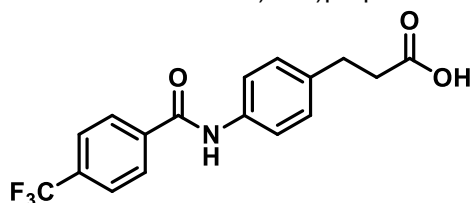
YZN-5

Ácido 3-(4-(2,4-diclorobenzoamido)fenil)propiónico



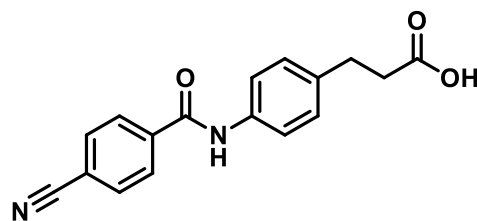
YZN-6

Ácido 3-(4-(4-metilbenzoamido)fenil)propiónico



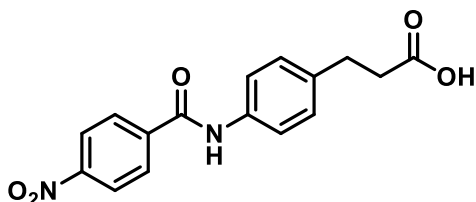
YZN-7

Ácido 3-(4-(4-trifluorometilbenzoamido)fenil)propiónico



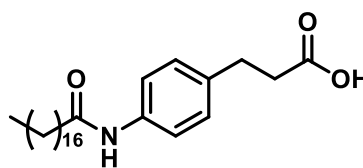
YZN-8

Ácido 3-(4-(4-cianobenzoamido)fenil)propiónico



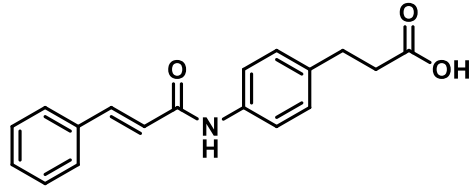
YZN-9

Ácido 3-(4-(4-nitrobenzoamido)fenil)propiónico



YZN-10

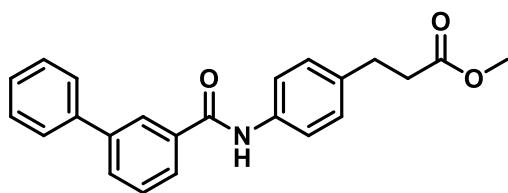
Ácido 3-(4-estereamidofenil)propiónico



YZN-11

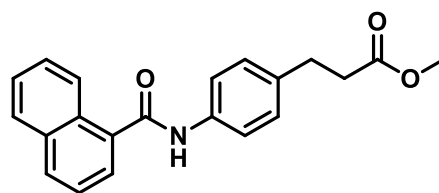
Ácido 3-(4-cinamamidofenil)propiónico

Compuestos precursores



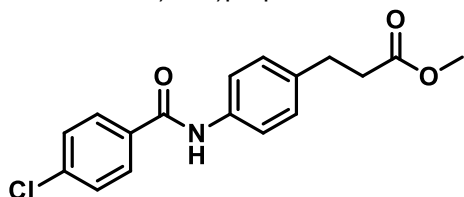
YZN-1a

3-(4-([1,1'-Bifenil]-3-carboxamido)fenil)propionato de metilo



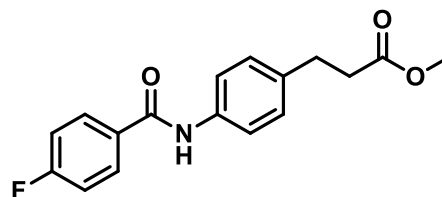
YZN-2a

3-(4-(1-Naftamido)fenil)propionato de metilo



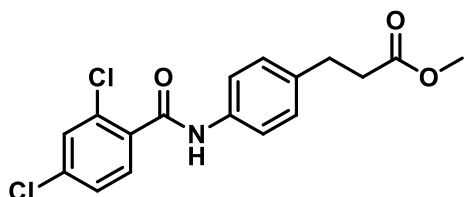
YZN-3a

3-(4-(4-Clorobenzoamido)fenil)propionato de metilo



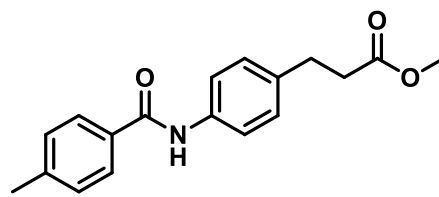
YZN-4a

3-(4-(4-Fluorobenzoamido)fenil)propionato de metilo



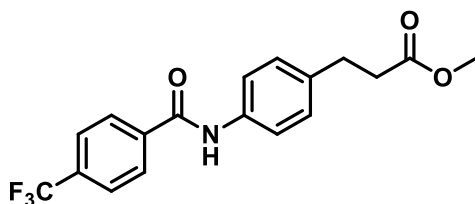
YZN-5a

3-(4-(2,4-Diclorobenzoamido)fenil)propionato de metilo



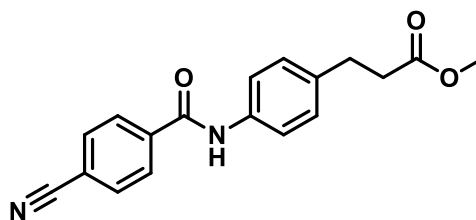
YZN-6a

3-(4-(4-Metilbenzoamido)fenil)propionato de metilo



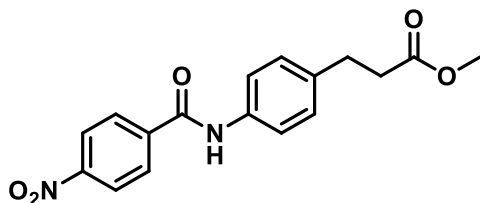
YZN-7a

3-(4-(4-Trifluorometilbenzoamido)fenil)propionato de metilo



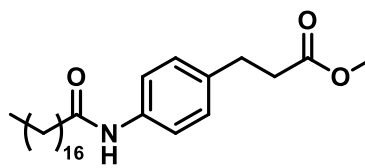
YZN-8a

3-(4-(4-Cianobenzoamido)fenil)propionato de metilo



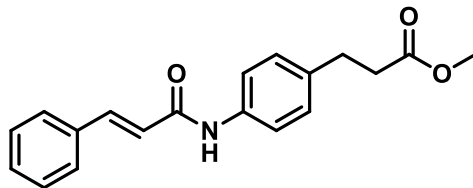
YZN-9a

3-(4-(4-Nitrobenzoamido)fenil)propionato de metilo



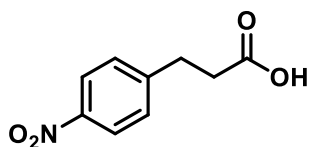
YZN-10a

3-(4-estereamidofenil)propionato de metilo



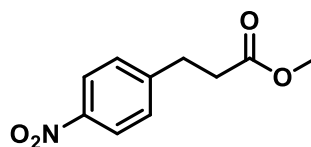
YZN-11a

3-(4-cinamamidofenil)propionato de metilo



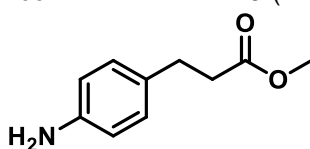
YZN-14

Ácido 3-(4-nitrofenil)propiónico



YZN-13

3-(4-Nitrofenil)propionato de metilo



YZN-12

3-(4-Aminofenil)propionato de metilo

ABSTRACT

Type 2 diabetes (T2D) consists of a metabolic disorder characterized by chronic hyperglycemia resulting from a deficient insulin secretion and/or action and due to both its incidence and prevalence it has become a health emergency. Therefore, for this project a series of 3-(4-aminophenyl)propionic acid amides (**YZN 1 – 11**) was prepared through a synthesis route consisting of five steps, these compounds were purified and characterized by NMR spectroscopy and mass spectrometry.

A Pharmacological Consensus Analysis (PhaCA) was performed using several chemoinformatic tools thus establishing the order or priority in which compounds would be studied. The results allowed us to identify compounds **YZN-1**, **YZN-5** and **YZN-10** as computational hits so these molecules were further evaluated *in vivo* and *in vitro*.

The three selected compounds behaved as antihyperglycemic agents when administered p.o. for an oral glucose tolerance test in mice at 100 mg/kg. When the area under the curve of these results was analyzed, **YZN-10** proved to have a slightly better efficacy than **YZN-1** and **YZN-5**. For this reason, it was decided that further testing was required and so an acute assay in streptozotocin/nicotinamide induced diabetic mice was performed and as a result, **YZN-10** managed to show a decrease of 30 % in blood glucose levels.

On the other hand, compounds **YZN-5** and **YZN-10** were able to also have effects on intracellular calcium and insulin release in RINm5F cells when tested *in vitro* in a manner that could potentially be attributed to FFAR1 (or GPR40) activation. However, more research is needed to confirm this theory.

The findings in this project contribute with important facts that aid in the search for potential bioactive compounds for the management of T2D given that these results along with previous findings in prior theses, allow us to confirm that the inclusion of fatty acid residues to the hydrophobic region improves the probability of obtaining active compounds.

RESUMEN

La Diabetes Tipo 2 (DT2) consiste en un desorden metabólico caracterizado por hiperglicemia crónica como resultado de la incorrecta secreción y/o acción de la insulina y debido a su incidencia y prevalencia ésta se ha convertido en una emergencia de salud. Por lo tanto, para este proyecto se preparó una serie de amidas derivadas del ácido 3-(4-aminofenil)propiónico (**YZN 1 – 11**) mediante una ruta de síntesis de 5 pasos. Posteriormente, estos compuestos fueron purificados y caracterizados mediante técnicas espectrométricas y espectroscópicas.

A la serie propuesta se le realizó un análisis de consenso farmacológico para el cual se utilizaron diversas herramientas quimioinformáticas, identificando así a los compuestos **YZN-1**, **YZN-5** y **YZN-10** como *hits* computacionales y estos fueron ensayados tanto *in vivo* como *in vitro*.

Los tres compuestos seleccionados se comportaron como moléculas antihiperglicemiantes en una prueba de tolerancia a la glucosa oral a una dosis de 100 mg/kg y al analizar el área bajo la curva de estos resultados, el compuesto **YZN-10** demostró una actividad más pronunciada que **YZN-1** y **YZN-5**. Debido a esto, se decidió probarlo en un ensayo antidiabético agudo, en el cual se demostró nuevamente su actividad como antihiperglicemiante al lograr la reducción en los niveles de glucosa en un 30 %.

Adicionalmente, los compuestos **YZN-5** y **YZN-10** lograron influenciar la secreción tanto de calcio intracelular como insulina en células de insulinoma pancreático RINm5F en una manera que podría estar potencialmente atribuida a la activación de FFAR1 o GPR40.

Los hallazgos encontrados en este proyecto significan un aporte importante en la búsqueda de compuestos con potencial acción antihiperglicemiante debido a que unificando estos resultados con los de tesis previamente desarrolladas, hemos confirmado que la inclusión de ácidos grasos saturados como región hidrofóbica aumenta la probabilidad de que estos compuestos presenten actividad.

1. INTRODUCCIÓN

La diabetes es un desorden metabólico de origen multifactorial que comprende un conjunto de alteraciones en el metabolismo, tanto de carbohidratos como de lípidos y proteínas, en respuesta a defectos en la secreción y/o acción de la insulina, lo cual provoca un estado hiperglicémico crónico que, a largo plazo, puede generar alteraciones irreversibles en la función de varios órganos.¹

Como se puede observar en la **Figura 1**, en el 2019, la FID (Federación Internacional de la Diabetes) estimó que 463 millones de adultos presentaban diabetes y que esta cifra podría alcanzar los 700 millones para el año 2045, representando un incremento en la prevalencia del 51%.² Además, la FID también estimó que México ocupa el 6to lugar en número de personas con diabetes con 12.8 millones de individuos diagnosticados, colocándose así esta enfermedad como una emergencia de salud que debe ser atendida.

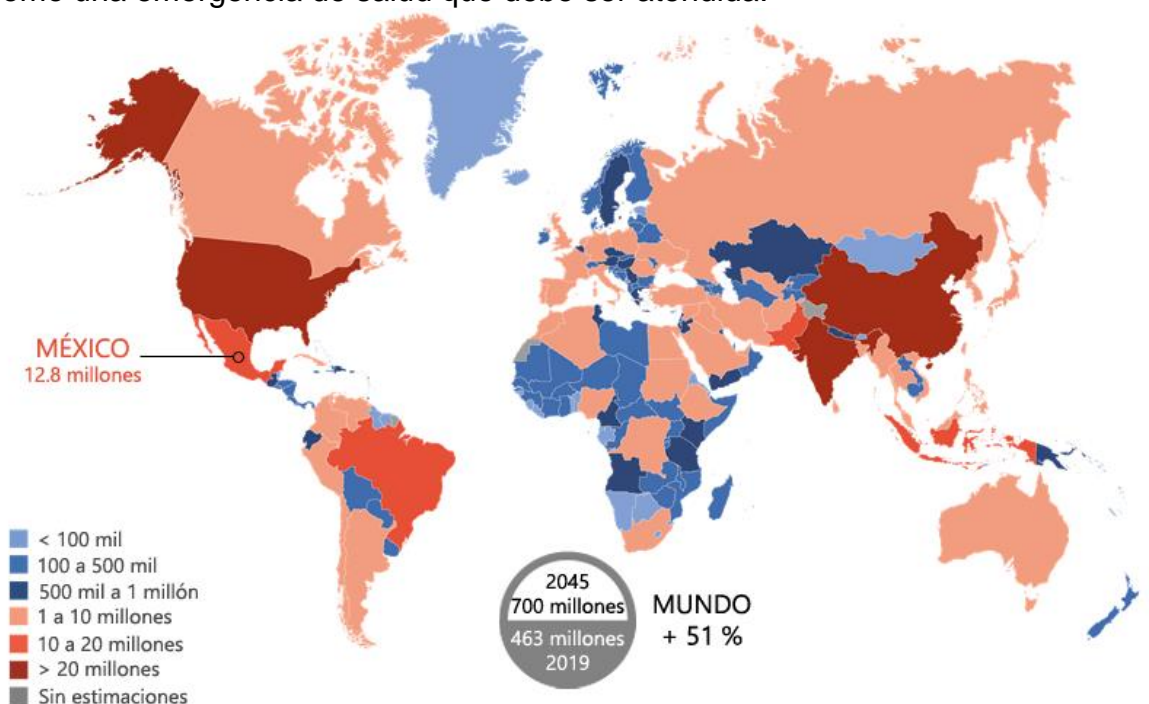


Figura 1. Estimación de número de personas con diabetes por región en el año 2019 y predicciones para el año 2045

1.1. Clasificación actual de la diabetes

A lo largo de los años, ha surgido la necesidad de identificar de manera más concisa a los distintos niveles en que se presentan las alteraciones del control de la glicemia. Debido a esto, en 1999 la Organización Mundial de Salud estableció una clasificación que organiza a estas alteraciones del control glicémico de acuerdo a su origen y a las etapas clínicas en las que se presenta. Este sistema de clasificación se ilustra en la **Tabla 1**, en donde el color azul representa las etapas en que el tipo de diabetes puede incurrir.³

Tabla 1. Clasificación actual de la diabetes de acuerdo con la OMS

Clasificación	Normoglucemia	Hiperglicemia			
		IGT y/o IFG	Diabetes mellitus		
			No requiere insulina	Requiere insulina para control	Requiere insulina para supervivencia
Tipo 1					
Autoinmune					
Idiopática					
Tipo 2					
Resistencia a la insulina					
Defectos en la secreción de insulina					
Hiperglicemia gestacional					

IGT: Del inglés *Impaired Glucose Tolerance* que se traduce como Tolerancia la Glucosa Alterada

IFG: Del inglés *Impaired Fasting Glucose* que se traduce como Glucosa en Ayuno Alterada

La diabetes tipo 2 o también conocida como diabetes no insulino dependiente es la forma más común en la que se presenta esta enfermedad, representando el 90 % de los casos de diabetes diagnosticados actualmente.³

1.2. Criterios de diagnóstico

De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus los criterios de diagnóstico son los siguientes:

- Presencia de síntomas clásicos (poliuria, polidipsia y polifagia) y una glucemia plasmática casual > 200 mg/dL
- Glucemia plasmática en ayuno > 126 mg/dL
- Glucemia > 200 mg/dL dos horas después de una carga oral de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua

Estos criterios se deben confirmar repitiendo la prueba en un día diferente.

1.3. Terapia actual

En la **Figura 2** se ilustra de manera general la terapia actualmente disponible para el tratamiento de la DT2.⁶

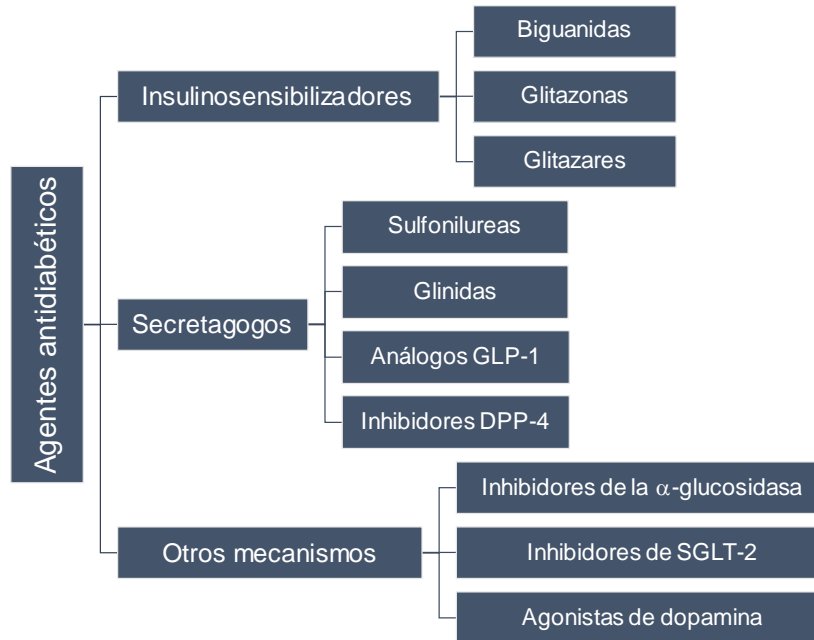


Figura 2. Terapia clásica para el tratamiento de la DT2

2. ANTECEDENTES

2.1. Derivados del ácido cinámico

En años recientes, tanto el ácido cinámico como sus derivados (ilustrados en la **Figura 3**) han captado el interés de varios grupos de investigación debido a las propiedades benéficas que se ha asociado a su consumo en la dieta.

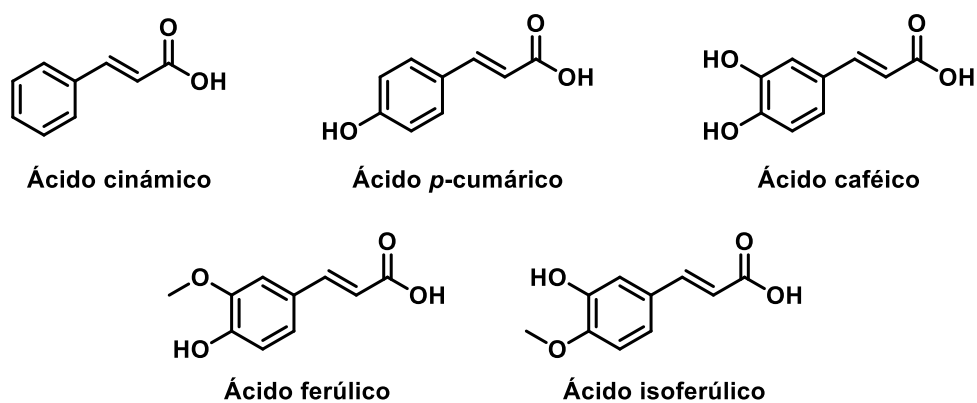


Figura 3. Estructura del ácido cinámico y sus derivados

Diferentes grupos de investigación han reportado los efectos que tienen tanto el ácido cinámico como sus derivados^{7,8} en modelos *in vivo*, *in vitro* y *ex vivo*. Estos efectos se resumen en la **Figura 4**.

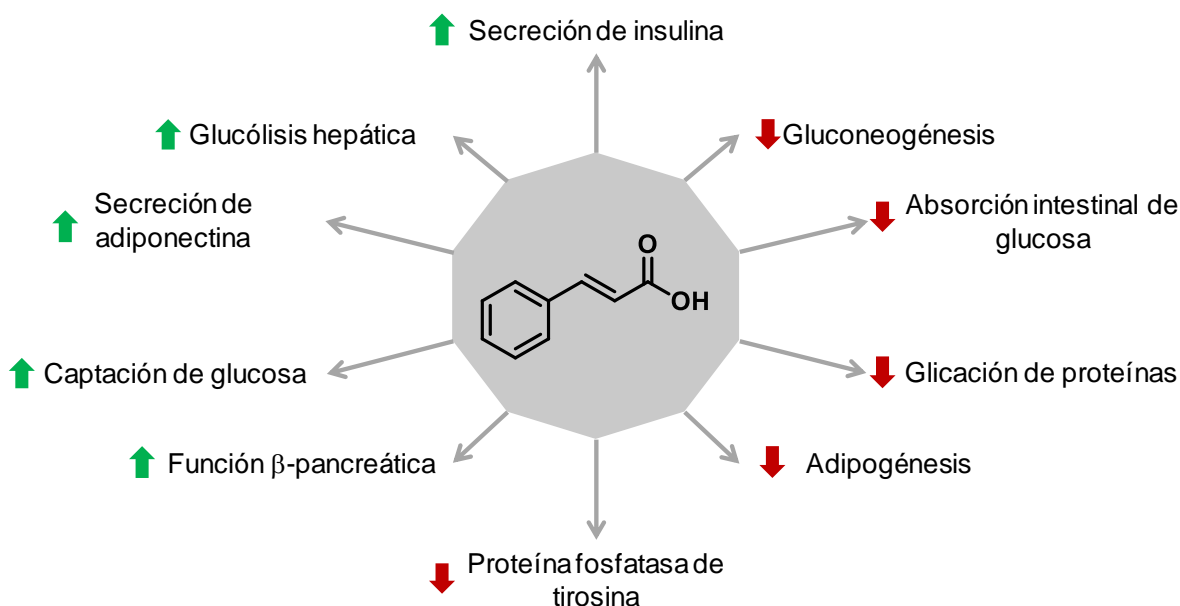


Figura 4. Efectos del ácido cinámico y sus derivados⁸

Por lo tanto, esta molécula de origen natural constituye un bloque de partida importante para la generación de nuevos compuestos bioactivos que puedan ser utilizados para el tratamiento experimental de la DT2.

2.2. Blancos terapéuticos

2.2.1. Aldosa reductasa

A lo largo de los años, se han propuesto varios mecanismos de patogenicidad que podrían originar a las complicaciones de la diabetes, entre los cuales se encuentra la vía de los polioles.⁹ Esta vía se compone por dos pasos; la conversión de glucosa a sorbitol mediada por aldosa reductasa y NADPH y la posterior oxidación del sorbitol a fructosa a través de sorbitol deshidrogenasa y NAD⁺, tal como se presenta en la **Figura 5**.

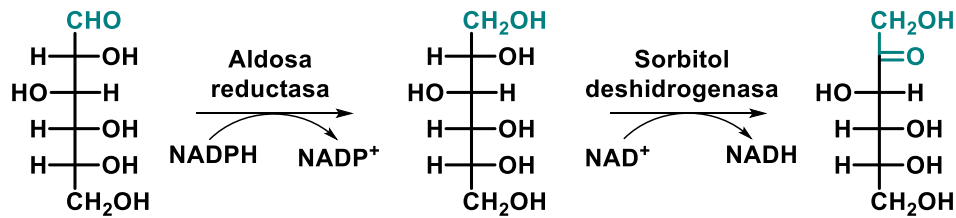


Figura 5. Vía de los polioles

La enzima citosólica aldosa reductasa se encuentra presente en la mayoría de los tejidos que se ven afectados por la diabetes, por lo cual el estudio de su rol en la progresión de las complicaciones de la diabetes ha adquirido gran auge. De manera fisiológica, aldosa reductasa o AR se encarga de reducir a algunos aldehídos tóxicos producidos a partir de especies reactivas de oxígeno (por sus siglas en inglés ROS; *Reactive Oxygen Species*) a sus correspondientes alcoholes inactivos. Sin embargo, en condiciones de hiperglicemia, AR también cataliza la conversión de glucosa a sorbitol (uno de los principales osmorreguladores extracelulares) empleando a NADPH como coenzima y, por lo tanto, provocando una deficiencia en las concentraciones de ésta, cuya presencia es crucial para la producción de glutatión (GSH). Este mecanismo se ilustra en la **Figura 6**.¹⁰

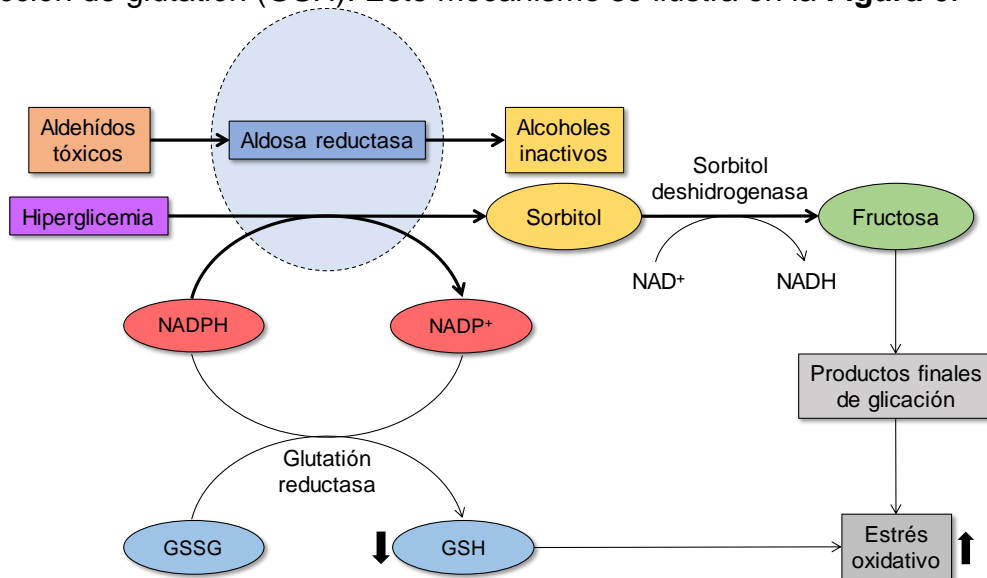


Figura 6. Mecanismo de patogenicidad de aldosa reductasa

Por lo tanto, la actividad exacerbada de AR durante condiciones hiperglicémicas provoca tanto estrés osmótico, debido a la acumulación de sorbitol en el interior de las células (debido a que este poliol no difunde a través de las membranas), como estrés oxidativo al disminuir las proporciones NADPH/NADP⁺, dando origen, de esta manera, a complicaciones microvasculares. Cabe destacar que la posterior conversión del sorbitol a fructosa también contribuye al estrés oxidativo al aumentar los productos avanzados de glicación cuando la fructosa, que es una cetona, reacciona con los grupos amino presentes en las proteínas creando bases de Schiff.

Entonces, la disminución de la actividad de esta enzima mediante su inhibición podría ofrecer una alternativa que nos permita prevenir el desarrollo de las complicaciones clásicas en pacientes diabéticos.

2.2.2. Inhibidores de aldosa reductasa

En un principio se conocía que la enzima AR presentaba una afinidad muy alta hacia los aniones orgánicos por lo que, aunque se han desarrollado ARIs (por sus siglas en inglés *Aldose Reductase Inhibitors*) derivados de estructuras químicas diversas como las que se ejemplifican en la **Figura 7**, los ácidos carboxílicos, que a pH fisiológico de 7.4 se encuentran en su forma de carboxilato, siguen siendo las estructuras base más importantes para lograr la inhibición de esta enzima.

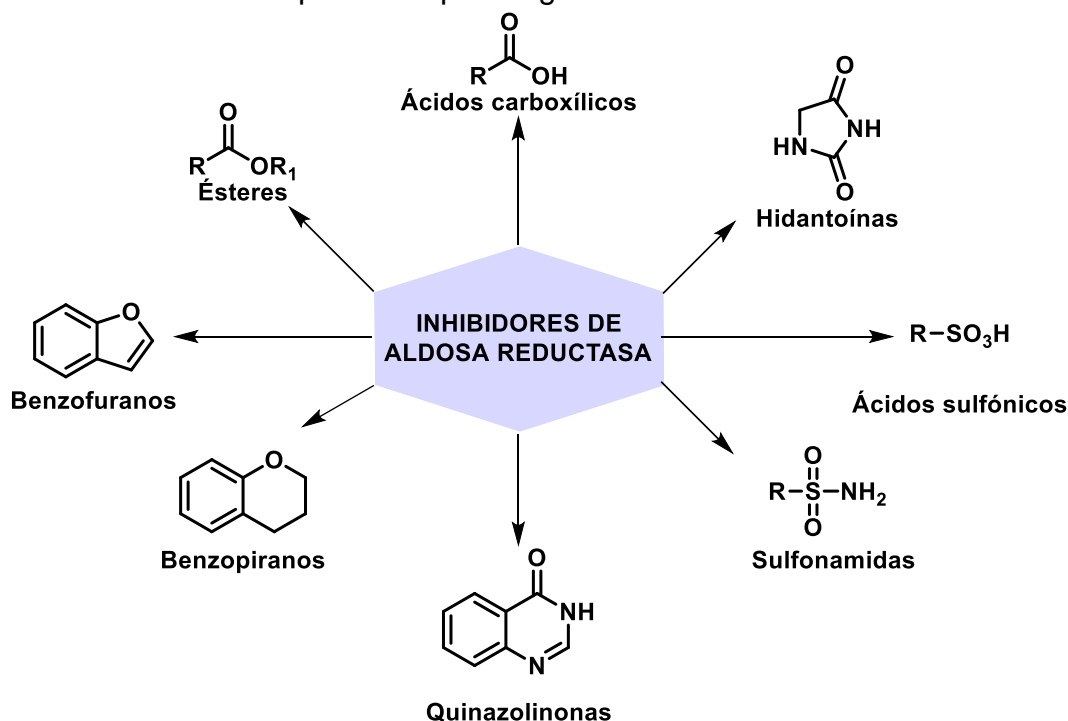
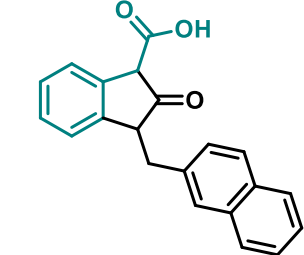
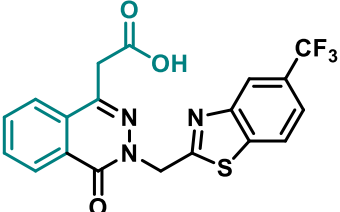
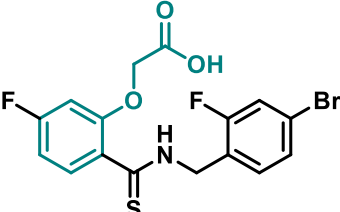
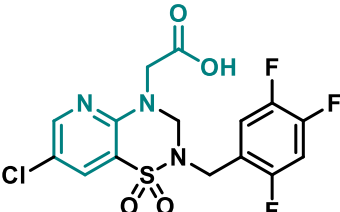
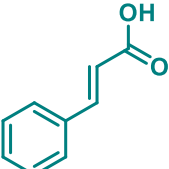
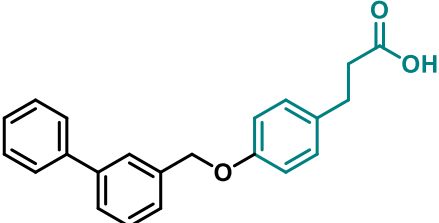


Figura 7. Grupos funcionales que han presentado actividad como ARIs^{11,12}

En particular, en la **Tabla 2** se enlista una quimioteca de derivados del ácido 3-fenilpropiónico o también conocido como ácido dihidrocinámico así como el ácido cinámico (acentuado en verde), que actúan como inhibidores de aldosa reductasa y que para fines de este proyecto se consideran de alta importancia.

Tabla 2. ARI's derivados del ácido 3-fenilpropiónico

NOMBRE IUPAC	ESTRUCTURA	CARACTERÍSTICAS	REFERENCIA
<p>Ácido 2-(3-(naftalen-2-ilmetil)-2-oxo-2,3-dihidro-1<i>H</i>-inden-1-il)acético</p>		<p>Cl₅₀ = 0.12 μM Farmacocinética pobre</p>	<p>13</p>
<p>Ácido 2-(4-oxo-3-((5-(trifluorometil)benzo[d]tiazol-2-il)metil)-2-il)metil)-3,4-dihidroftalazina-1-il)acético (Zopalrestat)</p>		<p>Cl₅₀ = 3.1 nM</p>	<p>14</p>
<p>Ácido 2-((4-bromo-2-fluorobencil)carbamoil)-5-fluorofenoxi)acético</p>		<p>Cl₅₀ = 30 nM</p>	<p>15</p>
<p>Ácido (7-cloro-1,1-dióxido-2-(2,4,5-trifluorobencil)-2,3-dihidro-4<i>H</i>-pirido[2,3-<i>e</i>][1,2,4]tiadiazin-4-il)acético</p>		<p>Cl₅₀ = 380 nM</p>	<p>16</p>
<p>Ácido cinámico</p>		<p>Cl₅₀ = 3 μg/mL</p>	<p>8</p>
<p>Ácido 3-(4-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)fenil)propiónico (ACB-1)</p>		<p>Cl₅₀ = 8.9 μM</p>	<p>17</p>

2.2.3. Proteína Fosfatasa de Tirosina

La enzima proteína fosfatasa de tirosina 1B o, por sus siglas en inglés, PTP-1B se localiza cerca de la superficie citoplasmática del retículo endoplasmático y se expresa de manera ubicua, incluyendo los tejidos sensibles a la insulina. Como su nombre lo indica, esta proteína es responsable de la desfosforilación de los residuos de tirosina presentes en algunas proteínas mediante una triada catalítica de aminoácidos conformado por Cys 215, Arg 221 y Asp 181 que se esquematizan en la **Figura 8**.¹⁸

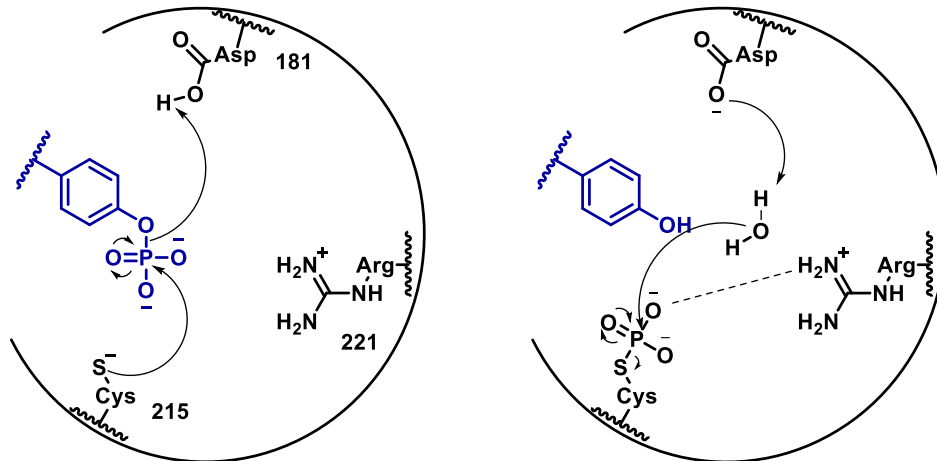


Figura 8. Desfosforilación de un residuo de tirosina mediante la triada catalítica

En diferentes laboratorios de investigación se ha concluido^{19,20} que PTP-1B actúa como un regulador negativo de la vía de señalización tanto de la insulina como de la leptina, debido a su actividad como fosfatasa en puntos críticos de estas vías, como lo son la autofosforilación del receptor de insulina, la fosforilación de sus sustratos (IRS) y la fosforilación de JAK2 para la activación de STAT3 tal y como se muestra en la **Figura 9**.

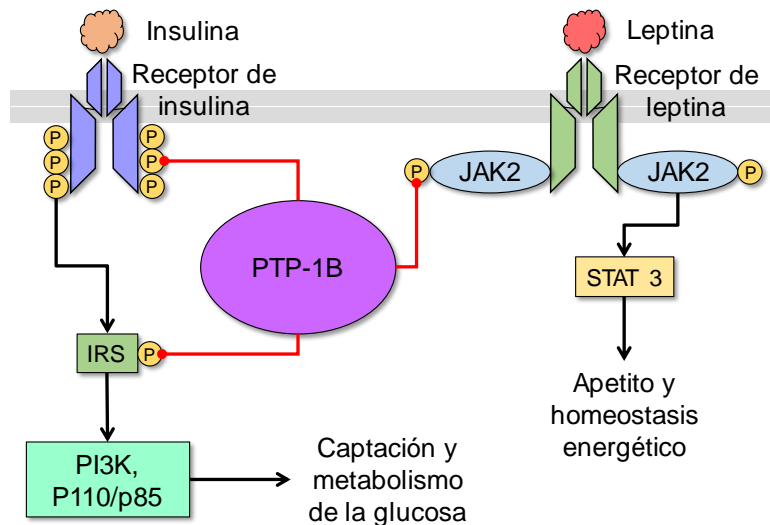


Figura 9. Mecanismo de regulación negativa de PTP-1B²¹

El resultado de esta actividad se traduce como resistencia a la insulina y a la leptina, los cuales son los principales defectos de la diabetes tipo 2. Por lo tanto, la inhibición de esta enzima ofrece un tratamiento atractivo prolongando el tiempo en el que se encuentran activas estas vías.

2.2.4. Inhibidores de PTP-1B

Debido a la naturaleza conservada del sitio catalítico en todas las proteínas fosfatasas de tirosina (PTP's), es difícil conseguir que un compuesto presente selectividad hacia PTP-1B y, por lo tanto, actividad *in vivo*. Como resultado de esto, sólo tres moléculas (**Figura 10**) han alcanzado fases clínicas, aunque su estudio se ha descontinuado debido a que presentan diferentes efectos adversos.

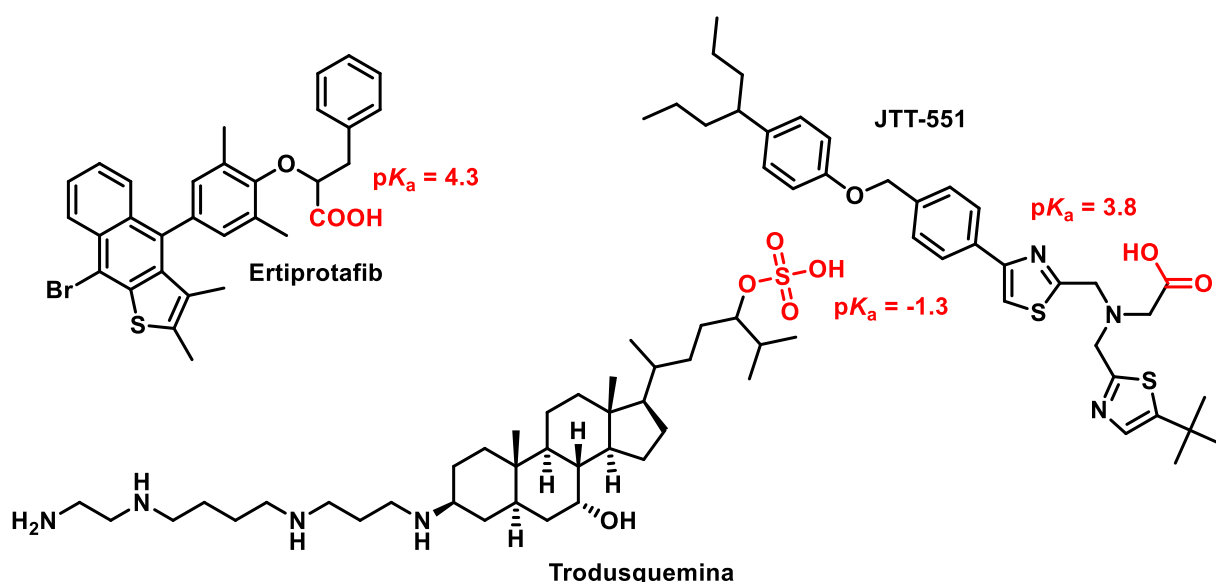


Figura 10. Estructuras químicas de inhibidores de PTP-1B

Una de las propiedades principales que se comparte entre estas moléculas en la **Figura 10** es que contienen grupos funcionales ácidos (**rojo**) que logran mimetizar a la tirosina fosforilada.

Lakshmi y colaboradores⁷ investigaron el efecto del ácido cinámico aislado de *Cinnamomum cassia* como inhibidor de PTP-1B y descubrieron que éste logra hacerlo de manera concentración-dependiente con una CI_{50} de 4.4 μ M. Gracias a este hallazgo, la búsqueda de moléculas derivadas del ácido cinámico adquirió un auge importante para la obtención de compuestos bioactivos con esta cualidad.

En el 2014, Yan-Bo y colaboradores²² reportaron una serie de derivados del ácido 3-fenilpropiónico o ácido dihidrocínámico, cuya estructura de partida se ilustra en la **Figura 11**. Esta molécula actúa como inhibidor de la PTP-1B con una CI_{50} de 10.2 μ M, lo cual lo convierte en un hit experimental.

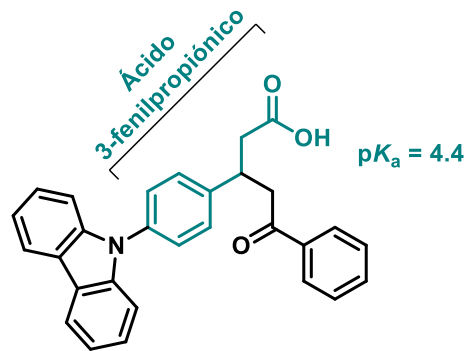


Figura 11. Derivado de ácido 3-fenilpropiónico como inhibidor de PTP-1B

En este estudio concluyeron que el ácido 3-fenilpropiónico constituye un fragmento importante que tomar en cuenta para el diseño de compuestos con actividad inhibitoria sobre PTP-1B.

2.2.5. Receptor de ácidos grasos libres tipo 1

El receptor de ácidos grasos libres tipo 1, por sus siglas en inglés FFAR1 o también conocido como GPR40, pertenece a la familia de los receptores acoplados a proteína G que reconocen a los ácidos grasos y se expresa tanto en células β -pancreáticas como en enterocitos y en el cerebro. Es una diana terapéutica de alta relevancia para el tratamiento de la diabetes tipo 2 debido a que al activarse actúa como secretagogo de insulina en respuesta a la hiperglicemia. Para poder entender cómo es que esto sucede, es importante revisar el mecanismo de secreción de insulina en condiciones normales.²³

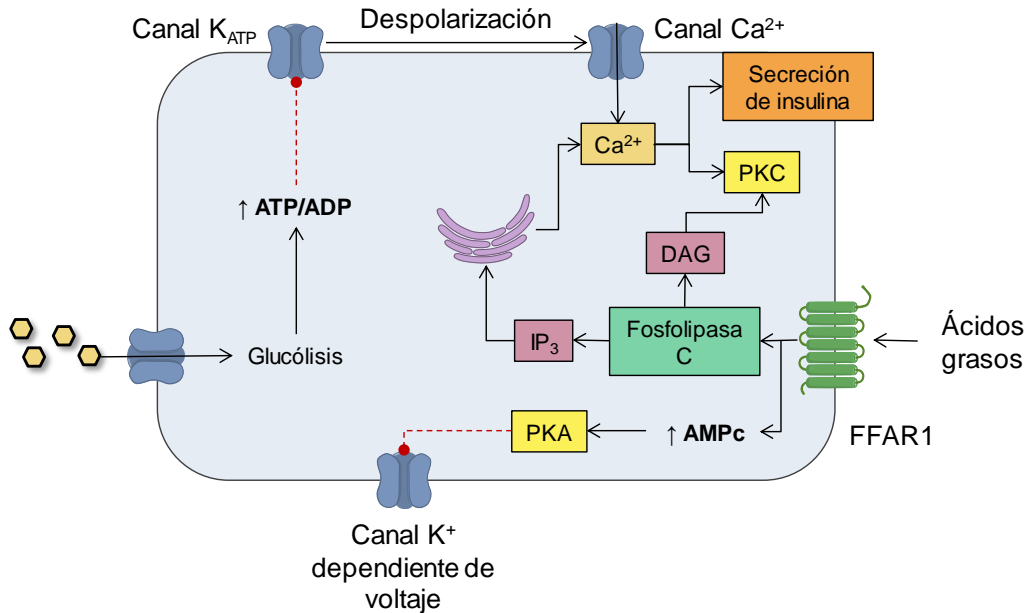


Figura 12. Mecanismo de acción de GPR40 en células β -pancreáticas

Como se esquematiza en la **Figura 12**, cuando la glucosa es internalizada en las células β -pancreáticas mediante el transportador GLUT-2, ésta es metabolizada produciendo ATP. Al aumentarse la relación ATP/ADP, los canales de potasio dependientes de ATP (K_{ATP}) se cierran, provocando la despolarización de la membrana y la consecuente apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje permitiendo así, la entrada de Ca^{2+} para iniciar la exocitosis de los gránulos en los que se encuentra almacenada la insulina. FFAR1, por lo tanto, actúa como potenciador de este mecanismo, ya que al reconocer a su ligando el receptor activa a la fosfolipasa C aumentando las concentraciones de IP₃ y DAG lo que promueve la secreción de Ca^{2+} incrementando la secreción de insulina.

Es debido a esto que moléculas de origen sintético que logren un efecto agonista sobre FFAR1 representan una terapia atractiva para el control del nivel de glucosa en pacientes diabéticos ya que este mecanismo de acción no permite que exista un efecto hipoglucemiante.^{24,25}

2.2.6. Agonistas de FFAR1 o GPR40

Los ligandos endógenos de este receptor consisten en ácidos grasos poliinsaturados de cadena media a larga como lo son el ácido docosahexaenoico (DHA) y el ácido eicosapentaenoico (EPA) (**Figura 13**).²⁶

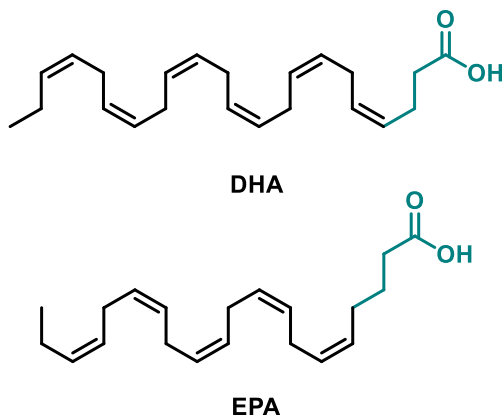
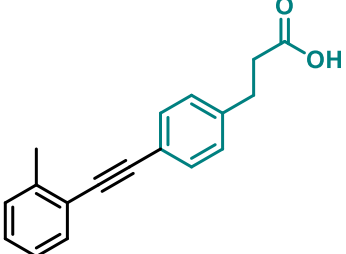
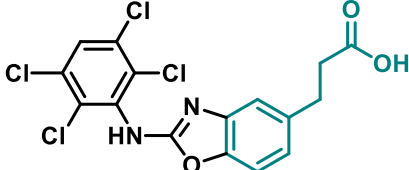
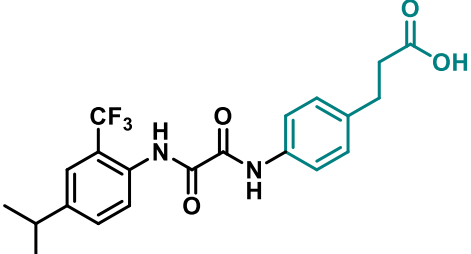
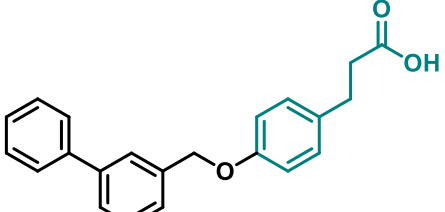


Figura 13. Estructuras químicas del DHA y del EPA

En la **Tabla 3** se enlistan algunos agonistas experimentales que contienen al fragmento de ácido 3-fenilpropiónico. De entre estas moléculas se destaca a GW9508²⁷, ya que esta molécula ha dado origen a estructuras derivadas de ésta que han conservado la actividad sobre FFAR1, como lo es la molécula **ACB-7**.

Tabla 3. Agonistas de FFAR-1 derivados del ácido fenilpropiónico

NOMBRE IUPAC	ESTRUCTURA	CARACTERÍSTICAS	REFERENCIA
Ácido 3-(4-((3-fenoxibencil)amino)fenil)propiónico (GW9508)		CE ₅₀ = 50 nM	28
Ácido 3-(4-((4-(2-(metoxiimino)-2-feniletoksi)bencil)oxi)fenil)propiónico		CE ₅₀ < 10 nM	22

<p>Ácido 3-(4-(<i>o</i>-toluiletinil)fenil)propiónico (TUG-488)</p>		<p>$CE_{50} = 46 \text{ nM}$</p>	
<p>Ácido 3-(2-((2,3,5,6-tetraclorofenil)amino)benzo[d]oxazol-5-il)propiónico</p>		<p>$CE_{50} = 630 \text{ nM}$</p>	<p>22</p>
<p>Ácido 3-(4-(2-((4-isopropil-2-(trifluorometil)fenil)amino)-2-oxoacetamido)fenil)propiónico</p>		<p>$CE_{50} = 4 \text{ nM}$</p>	
<p>Ácido 3-(4-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)fenil)propiónico (ACB-7)</p>		<p>$CE_{50} = 75 \text{ nM}$</p>	<p>17</p>

3. JUSTIFICACIÓN

Debido a que tanto en nuestro país como a nivel mundial existe una alta tasa de morbilidad y mortalidad a causa de la DT2 y a que algunas de las opciones farmacológicas para el tratamiento de esta enfermedad han sido retiradas del mercado por presentar problemas de toxicidad, existe la necesidad de contar con nuevas alternativas farmacológicas para su tratamiento. Por otro lado, en el 2019, la IDF estimó un gasto anual de 760 mil millones de dólares para el abordaje terapéutico de la DT2 y, debido a que su prevalencia va en aumento se espera que esta cantidad incremente.

El empleo de herramientas computacionales y de un diseño racional dirigido a dianas terapéuticas específicas ofrecen una opción para la generación de compuestos más seguros, con mayor probabilidad de presentar actividad y un perfil farmacocinético adecuado, ahorrando recursos de investigación al descartar las moléculas que no cumplen estos criterios.

Por lo tanto, en este proyecto se propone el diseño, síntesis y evaluación *in combo* de una serie de moléculas con potencial acción antidiabética siguiendo una serie de pasos que involucran un análisis de consenso farmacológico para la selección de moléculas líderes seguras.

4. HIPÓTESIS

Los compuestos derivados de ácidos 4-arilamidofenilpropiónicos presentarán efecto antidiabético debido a que comparten el patrón farmacofórico unificado de moléculas antihiperlipemiantes.

5. OBJETIVO GENERAL

Diseñar, sintetizar, caracterizar y evaluar el efecto antidiabético *in combo* de una serie de compuestos (**YZN 1 – 11**) derivados del ácido 4-arilamidofenilpropiónico.

OBJETIVOS PARTICULARES

- I. Diseñar, sintetizar y caracterizar una serie de compuestos (**YZN 1 – 11**) de tipo ácido 4-arilamidofenilpropiónico.
- II. Evaluar *in silico* las propiedades fisicoquímicas, farmacocinéticas, farmacodinámicas y toxicológicas de la serie **YZN**.
- III. Realizar el acoplamiento molecular automatizado de los compuestos propuestos sobre las dianas terapéuticas seleccionadas, además del estudio de sus interacciones.
- IV. Determinar qué compuestos de la serie presentan mejores propiedades mediante un análisis de consenso farmacológico y evaluar su efecto antidiabético *in vivo* tanto en un modelo murino normoglucémico como de diabetes no insulino dependiente.
- V. Analizar el efecto de los compuestos líderes en células RINm5F para cuantificar el movimiento de calcio y la secreción de insulina.

6. CONSIDERACIONES QUÍMICO-FARMACÉUTICAS PARA EL DISEÑO

6.1. Patrón farmacofórico unificado de moléculas antihiperlipemiantes

Para el diseño de las moléculas que conforman la serie **YZN** se tomó en cuenta al patrón farmacofórico unificado de moléculas que presentan actividad antidiabética, el cual se ilustra en la **Figura 14**.

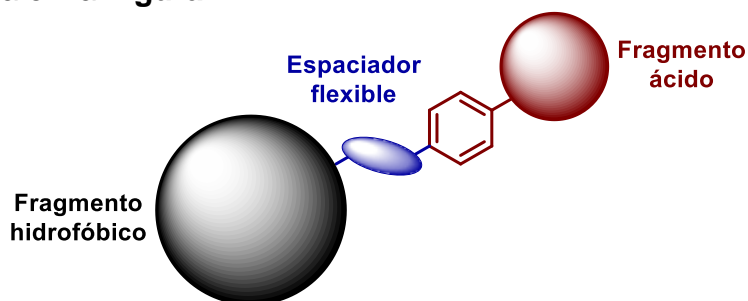
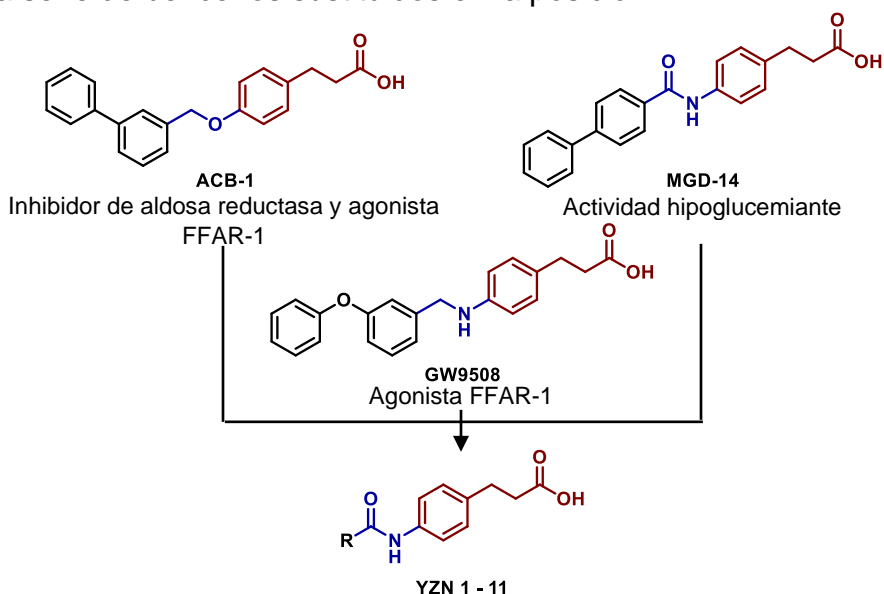


Figura 14. Patrón farmacofórico unificado de moléculas con actividad antidiabética

Para la región ácida se seleccionó al ácido 3-fenilpropiónico tomando en cuenta a las moléculas **GW9508**²⁷ y **ACB-7**¹⁷. Como se observa en la **Figura 15**, además de mantener al biciclo 3-fenilbenzeno de **ACB-7**, se añadió tanto un α -naftaleno como una serie de bencenos sustituidos en la posición 4.



1. R = 3-Bifenilo; 2. R = 1-Naftilo; 3. R = 4-Clorofenilo; 4. R = 4-Fluorofenilo; 5. R = 2,4-Diclorofenilo; 6. R = 4-Metilfenilo; 7. R = 4-Trifluorometilo; 8. R = 4-Cianofenilo; 9. R = 4-Nitrofenilo; 10. R = *n*-Heptadecilo; 11. R = 2-Estirilo

Figura 15. Consideraciones del diseño para la serie **YZN**

6.2. Reglas de Lipinski

Para el diseño racional de compuestos con potencial acción terapéutica se deben considerar ciertos parámetros que, a lo largo del tiempo, se han establecido como reglas básicas para aumentar la probabilidad que las moléculas propuestas

muestren una buena biodisponibilidad tras su administración por vía oral. Las reglas de Lipinski²⁹ o la regla de los 5, consta de 4 parámetros que se enlistan a continuación.

- Un peso molecular menor a 500 g/mol
- Un valor de lipofilidad, expresado como logP menor a 5
- Un número de donadores de puente de hidrógeno menor a 5
- Y un número de aceptores de puentes de hidrógeno menor a 10.

Para la evaluación de estos parámetros se hizo uso del portal quimioinformático Molinspiration³⁰, el cual se encuentra libre para su uso en la dirección <https://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties> y cuenta con varias herramientas de análisis, así como la posibilidad de usarlo a través de códigos SMILES (por sus siglas en inglés, Simplified Molecular Input Line Entry Specification).

Como se puede observar en la **Tabla 4**, ninguno de los compuestos presenta más de 1 violación a las reglas de Lipinski, por lo que no se espera que presenten problemas de absorción y permeabilidad tras su administración vía oral.³¹

Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas calculadas para la serie YZN

Compuesto	Peso molecular	Log P	Aceptores H	Donadores H	Enlaces rotables	TPSA	Violaciones a la regla
YZN-1	345.40	-	4	2	6	66.4	0
YZN-2	319.36	-	4	2	5	66.4	0
YZN-3	303.75	-	4	2	5	66.4	0
YZN-4	287.29	-	4	2	5	66.4	0
YZN-5	338.19	-	4	2	5	66.4	0
YZN-6	283.33	-	4	2	5	66.4	0
YZN-7	337.30	-	4	3	6	66.4	0
YZN-8	294.31	-	5	2	5	90.2	0
YZN-9	314.30	-	7	2	6	112.2	0
YZN-10	431.66	-	4	2	20	66.4	1
YZN-11	295.34	-	4	2	6	66.4	0
Control	361.40	-	5	2	7	75.63	0

7. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Este proyecto se encuentra formado por las siguientes partes:

a) **Parte química**

El diseño y la síntesis de los compuestos **YZN 1 – 11** fue realizada en el Laboratorio 5 de Química Farmacéutica de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (FF-UAEM). El análisis espectroscópico (RMN ^1H y ^{13}C) y el análisis espectrométrico (Masas por Impacto Electrónico) fueron realizados en colaboración con el Dr. Emanuel Hernández Núñez del Departamento de Recursos de Mar en CINVESTAV unidad Mérida.

b) **Parte computacional *a priori***

La cual consta a su vez por la predicción de la actividad biológica utilizando el servidor en línea PASS (por sus siglas en inglés Prediction of Activity Spectra of Substances) y SwissTargetPrediction, además del acoplamiento molecular refinado empleando AutoDock Vina y MOE, la predicción de su perfil toxicológico por ACD/ToxSuite, admetSAR y OSIRIS, y la estimación de propiedades ADMET por admetSAR, preADMET y OSIRIS.

c) **Parte farmacológica.**

Realizada en el Laboratorio 5 de Química Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (FF-UAEM) bajo la dirección del Dr. Elix Alberto Domínguez Mendoza. Además, las pruebas *in vitro* se llevaron a cabo a través de la colaboración con el Dr. Julio César Almanza Pérez del Departamento de Ciencias de la Salud en la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa.

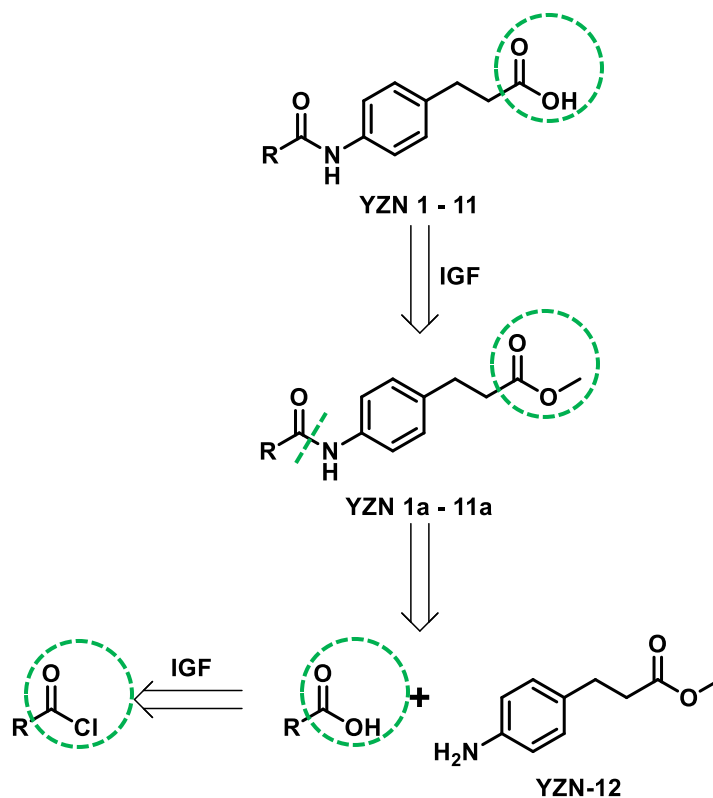
d) **Parte computacional *a posteriori*.**

Esta parte está conformada por el análisis a profundidad de los compuestos más activos sobre FFAR-1, el cual fue realizado bajo la asesoría del Dr. César Millán Pacheco y en colaboración con el Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México.

7.1. PARTE QUÍMICA

Análisis retrosintético

Para poder realizar la síntesis de los compuestos diseñados, se debe llevar a cabo el análisis retrosintético para establecer las materias primas y la ruta de síntesis adecuadas, tal como se ilustra en el **Diagrama 1**.



1. R = 3-Bifenilo; 2. R = 1-Naftilo; 3. R = 4-Clorofenilo; 4. R = 4-Fluorofenilo; 5. R = 2,4-Diclorofenilo; 6. R = 4-Metilfenilo; 7. R = 4-Trifluorometilo; 8. R = 4-Cianofenilo; 9. R = 4-Nitrofenilo; 10. R = n-Heptadecilo; 11. R = 2-Estirilo

Diagrama 1. Análisis retrosintético

Como se esquematiza en el **Diagrama 1**, la retrosíntesis inicia con la interconversión de grupo funcional (IGF) del ácido carboxílico por un éster, posteriormente se realiza una desconexión en el enlace de la amida para obtener el precursor **YZN-12**, así como los ácidos carboxílicos debidamente sustituidos, a los cuales se les realiza una segunda interconversión de grupo funcional de ácido carboxílico a cloruro de ácido, los cuales son materias primas comercialmente disponibles. Por otro lado, al precursor **YZN-12** se le realizó su propio análisis retrosintético para plantear una ruta de obtención apropiada, la cual se ilustra en el **Diagrama 2**.

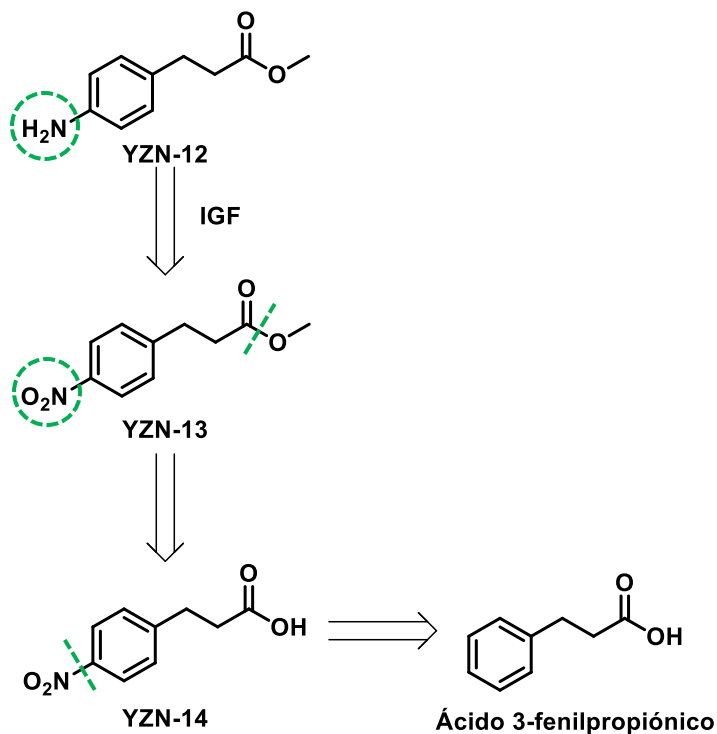


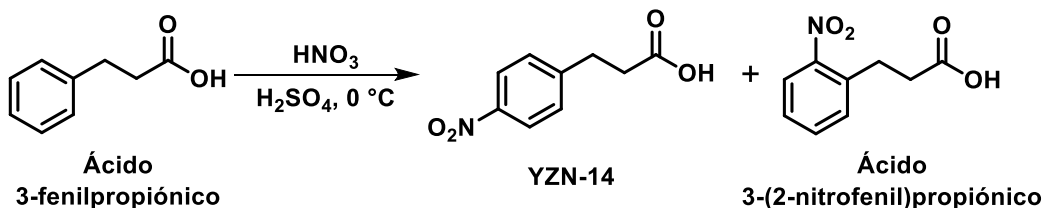
Diagrama 2. Retrosíntesis del precursor **YZN-12**

Esta retrosíntesis inicia con la interconversión del grupo funcional de la amina por un grupo nitro, seguida por una desconexión del enlace éster para la obtención del ácido carboxílico precursor **YZN-14** y metanol. Posteriormente se realizó una desconexión del grupo nitro y el anillo de benceno para obtener a la materia prima el ácido 3-fenilpropiónico, el cual es comercialmente disponible.

Síntesis química

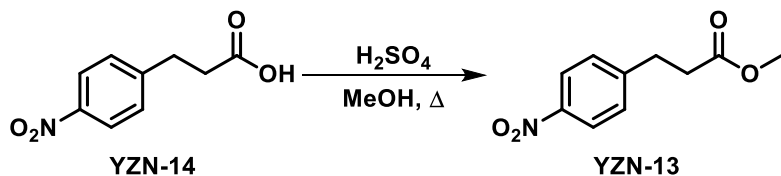
Síntesis del ácido 3-(4-nitrofenil)propiónico (YZN-14)

Mediante una sustitución electrofílica aromática, se puso en reacción al ácido 3-fenilpropiónico (1 equivalente) con el electrófilo ion nitronio (NO_2^+) (1.1 equivalentes) preparado in situ a partir de ácido nítrico y ácido sulfúrico en frío (**Diagrama 3**), para la obtención de la mezcla de los productos de nitración en *orto* y *para*, los cuales fueron separados por cromatografía de columna.



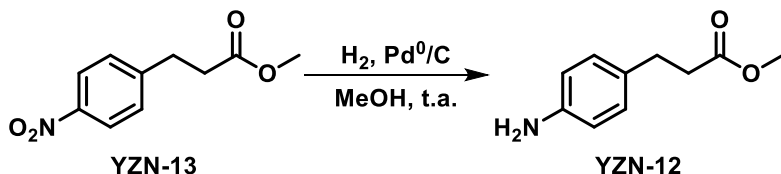
Síntesis del 3-(4-nitrofenil)propionato de metilo (YZN-13)

Mediante una esterificación de Fischer se puso en reacción el precursor **YZN-14** con metanol y ácido sulfúrico concentrado para la obtención del éster metílico precursor **YZN-13** (**Diagrama 4**).



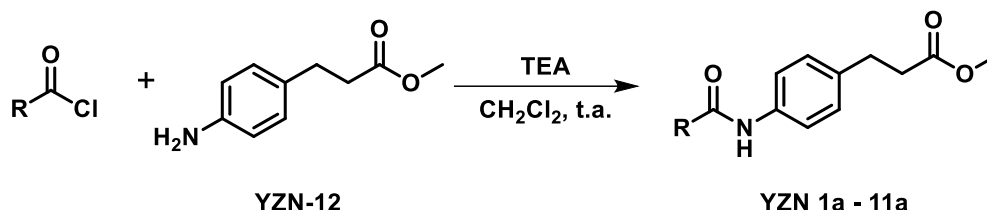
Síntesis del 3-(4-aminofenil)propionato de metilo (YZN-12)

Mediante hidrogenación catalítica, se puso en reacción el precursor **YZN-13** con hidrógeno gas y paladio sobre carbono (Pd^0/C) para la obtención de la amina precursora **YZN-12** (**Diagrama 5**).



Síntesis de los precursores YZN 1a – 11a

Mediante un acoplamiento de Schotten-Baumann se puso en reacción el precursor **YZN-12** con los correspondientes cloruros de ácido en diclorometano seco como disolvente a temperatura ambiente y se empleó trietilamina como base (**Diagrama 6**). Cuando era necesario, se añadió DMAP (4-dimetilaminopiridina) como catalizador (amidación de Steglich).

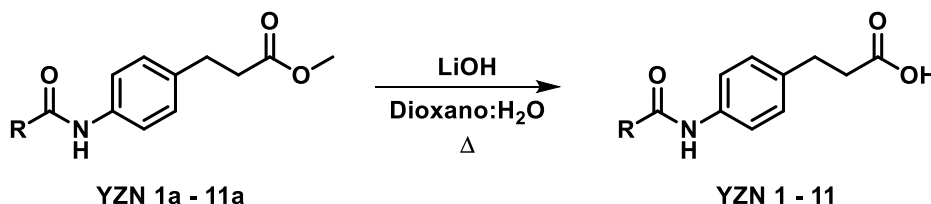


1. R = 3-Bifenilo; 2. R = 1-Naftilo; 3. R = 4-Clorofenilo; 4. R = 4-Fluorofenilo; 5. R = 2,4-Diclorofenilo; 6. R = 4-Metilfenilo; 7. R = 4-Trifluorometilo; 8. R = 4-Cianofenilo; 9. R = 4-Nitrofenilo; 10. R = *n*-Heptadecilo; 11. R = 2-Estirilo

Diagrama 6. Amidación para la obtención de los precursores **YZN 1a – 11a**

Síntesis de los compuestos finales YZN 1 - 11

Se llevó a cabo la hidrólisis de los precursores **YZN 1a – 11a** utilizando LiOH como base y una mezcla de dioxano con agua (3:1) como disolvente a reflujo para la obtención de los compuestos finales **YZN 1 – 11** (**Diagrama 7**).



1. R = 3-Bifenilo; 2. R = 1-Naftilo; 3. R = 4-Clorofenilo; 4. R = 4-Fluorofenilo; 5. R = 2,4-Diclorofenilo; 6. R = 4-Metilfenilo; 7. R = 4-Trifluorometilo; 8. R = 4-Cianofenilo; 9. R = 4-Nitrofenilo; 10. R = *n*-Heptadecilo; 11. R = 2-Estirilo

Diagrama 7. Hidrólisis para la obtención de los compuestos finales **YZN 1 – 11**

7.2. PARTE COMPUTACIONAL (*A priori*)

Predicciones farmacodinámicas

SwissTargetPrediction

El servidor en línea SwissTargetPrediction,³² disponible en <http://www.swisstargetprediction.ch/>, es útil para predecir los blancos a los que los compuestos diseñados podrían ser afines, usando una combinación de similitud de criterios en dos y tres dimensiones con moléculas de actividad reportada.

Este portal incluye predicciones sobre cinco modelos diferentes, humano, ratón, rata, vaca y caballo. En total, esta base de datos incluye 280381 moléculas que interactúan con 2686 dianas, de las cuales el 66% provienen de humano.

PassOnline

PASS³³ es una herramienta quimioinformática disponible en línea (<http://www.way2drug.com/PASSOnline>) de acceso libre que predice posibles efectos tanto farmacológicos como tóxicos basándose en la relación estructura actividad de compuestos ya reportados en la literatura. Esta predicción está dada por un análisis de la similitud por fragmentos del compuesto ingresado al sistema con aquellos que ya han sido reportados que presentan cierta actividad biológica.

Los resultados arrojados por este servidor consisten en una lista de diferentes actividades biológicas organizadas de mayor a menor en función de Pa , el cual indica la probabilidad de que el compuesto presente la actividad en cuestión. Valores de $Pa > 0.7$ indican una buena probabilidad mientras que valores de Pa entre 0.5 a 0.7 indican una probabilidad mediana y, por último, valores por debajo de 0.5 indican una probabilidad más bien discreta de presentarla. Complementando esta información, también se genera un valor Pi que indica la probabilidad de que el compuesto sea inactivo.

Acoplamiento Molecular Automatizado

El acoplamiento molecular³⁴ o *docking*, es una técnica computacional utilizada para la predicción de la conformación y orientación de una molécula pequeña dentro de una zona delimitada en una proteína de estructura 3D previamente determinada experimentalmente, ya sea por métodos cristalográficos, RMN o modelados por homología.

Predicciones farmacocinéticas

admetSAR 2

admetSAR ²³⁵ es otra herramienta quimioinformática en línea (<http://lmm.d.ecust.edu.cn:8000>) de libre acceso que permite llevar a cabo predicciones de las propiedades fisicoquímicas, farmacocinéticas y de toxicidad de los compuestos ingresados a la base. Este tipo de cribado es muy importante debido a que muchos candidatos a fármaco no llegan al mercado debido a pobres perfiles farmacocinéticos y propiedades tóxicas inaceptables. Esto resulta en un alto gasto de recursos que podrían ser dirigidos en el desarrollo de moléculas candidatas bien diseñadas desde un principio.

PreADMET

Este sitio, al igual que admetSAR, es una aplicación en la que se pueden llevar a cabo predicciones farmacocinéticas, toxicológicas y de cuasifármaco. PreADMET³⁶ se encuentra disponible para su libre uso en <https://preadmet.bmdrc.kr/>. Éste realiza los cálculos basándose en descriptores moleculares en dos y tres dimensiones. Incorpora tres rubros de análisis predictivos, el cálculo de propiedades como cuasi-fármaco, evaluación del perfil farmacocinético y evaluación del perfil toxicológico. Dentro del cálculo de propiedades como cuasi-fármaco se incluyen los criterios CMC, Lipinski, LDL, MDDR y WDI, los cuales se explican en la sección de resultados. En cuanto al perfil farmacocinético se incluye la inhibición de los citocromos, así como de glucoproteína P y en el perfil toxicológico se evalúa la probabilidad de bloqueo de canales hERG, toxicidad de AMES y probabilidad de carcinogenicidad en ratas y ratones.

Detección de alertas toxicológicas

ACD/ToxSuite

El programa ACD/ToxSuite, comprende una colección de módulos creados para la predicción cuantitativa de algunos parámetros de evaluación básica de la toxicidad aguda. Ésta se lleva a cabo mediante la relación estructura-actividad de las moléculas a analizar con la actividad biológica asociada a fragmentos pertenecientes a la base de datos de este programa, obteniendo como resultados valores numéricos para pruebas como:

- Dosis letal media o DL₅₀, el cual es un indicador de la toxicidad de un compuesto.
- Inhibición del citocromo P450, que indica el riesgo de que otros fármacos co-administrados no se metabolicen de manera adecuada, se bioacumulen y exista una potencial interacción tóxica entre ellos.
- Bloqueo de canales hERG (human Ether-a-go-go-Related Gene), que se encuentran en el corazón y cuyo bloqueo provoca el síndrome del alargamiento de la onda QT, que se traduce como el retardo de la repolarización de los ventrículos resultando en arritmias cardíacas.

Estos resultados son útiles como criterio de selección al momento de invertir recursos en el desarrollo de moléculas propuestas, que forma parte del análisis consensado.

Análisis de Consenso Farmacológico

La selección del compuesto evaluado *in vivo* se basó en un análisis de consenso farmacológico, el cual combina los resultados de diferentes cálculos realizados *in silico*. Éste se compone de:

- Predicciones farmacodinámicas
- Predicciones farmacocinéticas
- Predicciones toxicológicas

El argumento del análisis de consenso farmacológico es que cuantos más cálculos coincidan en que un compuesto es activo, con baja toxicidad y con un perfil farmacocinético adecuado, más confiable es la selección/discriminación de dicho compuesto bioactivo.

Por lo tanto, un compuesto que presenta puntuaciones altas en una colección de predicciones farmacológicas tiene mayor probabilidad de ser un buen inhibidor/agonista/antagonista en un ensayo biológico que un compuesto que sólo tiene una puntuación alta en una predicción única.^{17,37}

Esta propuesta se esquematiza con la **Figura 16** en la que se muestra cómo la optimización de todos los parámetros es lo que nos permite obtener moléculas con mayor potencial de ser utilizadas como fármacos.

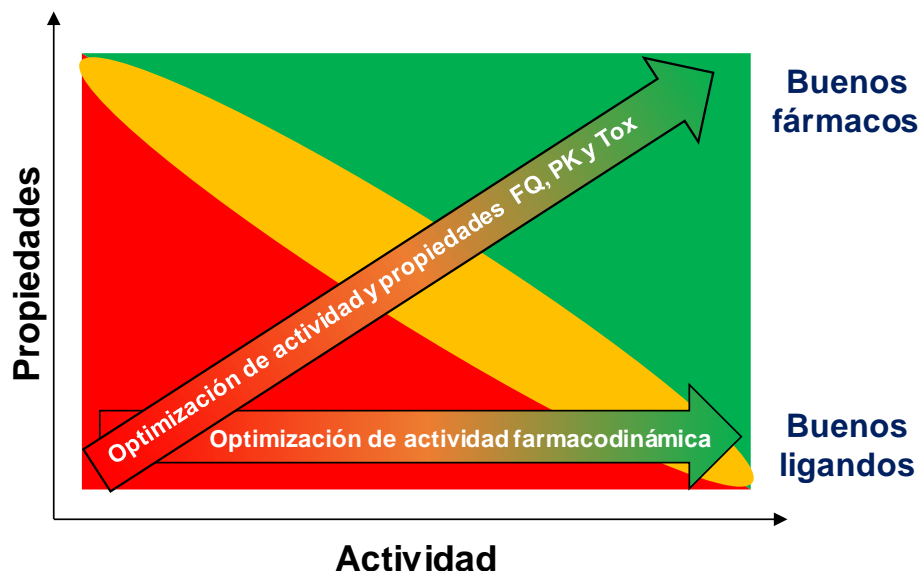


Figura 16. Optimización de un compuesto bioactivo³⁸

7.3. PARTE FARMACOLÓGICA

Prueba de Tolerancia a la Glucosa Oral (PTGO)

Para este ensayo se emplearon ratones macho de la cepa ICR de 4 a 5 semanas de edad y cuyos pesos rondaban entre los 20 y 30 g, los cuales se mantuvieron en condiciones de acuerdo con la **NOM-062-ZOO-1999** *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*, es decir ciclos de luz/oscuridad de 12 horas, a 25 °C y acceso a alimento y agua *ad libitum*.

Se formaron diferentes grupos con una N = 6 para ser administrados con el vehículo (Tween 80 10 %), el control positivo (glibenclamida 5 mg/kg) y los compuestos seleccionados del análisis de consenso farmacológico a 100 mg/kg (dosis exploratoria).

Estos grupos fueron puestos en un ayuno de 12 horas, tras lo cual fueron pesados y se les administraron las cantidades adecuadas de cada una de las sustancias de prueba y control por vía oral mediante una sonda esofagogástrica. Se dejaron pasar 30 minutos para administrar la carga oral de dextrosa a 2g/kg y se empezó a contar el tiempo, midiendo los niveles de glucosa a los minutos 0, 30, 60, 90 y 120 realizando una punción en la cola de cada ratón con una lanceta y utilizando un glucómetro portátil de la marca AccuCheck. Posterior a esto, los resultados fueron analizados mediante el programa estadístico GraphPad Prism 7.0.

Obtención de un modelo murino de diabetes no insulino dependiente (DNID)

Para la generación del modelo experimental, una camada diferente de ratones de la cepa ICR de 4 – 5 semanas de edad, los cuales se mantuvieron con agua y comida *ad libitum* y en ciclos de 12 h luz/oscuridad, fueron puestos en ayuno de 8 horas. Transcurrido este período, se les administró por vía intraperitoneal (IP) una dosis de 40 mg/kg de nicotinamida disuelta en agua inyectable y 15 minutos después, nuevamente por vía IP, se le administró una dosis de 100 mg/kg de estreptozotocina disuelta en un buffer de citratos frío (ácido cítrico-citrato de sodio 1:1, 0.05M a pH de 4.5). Después de 5 días se realizó la determinación de los niveles de glucosa en sangre periférica mediante una pequeña punción en la cola y midiendo con un glucómetro portátil. Para determinar daño pancreático se observa un aumento de la glucosa sanguínea en ayuno > 150 mg/dL. Para el ensayo antidiabético agudo fueron empleados ratones que cumplieran este parámetro.^{39,40,41}

Ensayo Antidiabético Agudo (EAA)

Para realizar este ensayo agudo se utilizaron ratones ICR macho previamente tratados con nicotinamida y estreptozotocina. Se les colocó en ayuno de 10 horas y, transcurrido este período, se hizo la medición de los niveles de glucosa al tiempo cero (G₀). Posteriormente, se dividieron en tres grupos de prueba; el primer grupo, denominado control, fue tratado con sólo el vehículo por vía oral el cual es una solución de Tween 80 al 10 %, el segundo se trató con glibenclamida por vía oral a una dosis de 20 mg/kg y al tercer grupo se le trató con el compuesto

seleccionado de con base en los resultados de la PTGO a una dosis exploratoria de 100 mg/kg. De igual manera, para determinar los niveles de glucosa sanguínea se hizo una punción en la cola de cada ratón con una lanceta a las horas 0, 1, 3, 5 y 7 y se usó un glucómetro portátil para la medición.

El porcentaje de variación de los niveles plasmáticos de glucosa fue calculado con respecto a los niveles iniciales del experimento aplicando la siguiente formula:

$$\% \text{ Variación de glucemia} = \frac{G_t - G_0}{G_0} * 100$$

Donde G_0 representa los valores de glucosa inicial y G_t los valores determinados a las horas anteriormente establecidas.

Movimiento de $[Ca^{2+}]_i$ en células RINm5F

Para la realización de esta prueba se emplearon células RINm5F de insulinoma pancreático las cuales, fueron compradas de la American Tissue Culture Collection (ATCC). Éstas (1×10^5 células por pozo) se mantuvieron en medio RPMI 1640 suplementado con FBS 10 % (v/v), L-glutamina a 0.002 M, piruvato de sodio a 0.001 M, 20 mg/L de gentamicina y la temperatura (37 °C), CO_2 (5 %) y humedad (95 %) se mantuvieron constantes. Los compuestos fueron disueltos en DMSO 0.1 % y evaluados a 10 μ M. Como control positivo se utilizó glibenclamida a 400 μ M y como control negativo DMSO 0.1 %.

El movimiento de calcio intracelular se midió con el tinte fluorescente sensible a calcio Fluo-4-AM, para lo cual las células fueron previamente incubadas durante 30 minutos en medio RPMI 1640 adicionado con 4 μ g del tinte a 37 °C. Las longitudes de onda de excitación fueron a 310 y 380 nm, y se detectó la emisión de fluorescencia a 510 nm registrando las señales una vez por segundo. Las imágenes fueron obtenidas mediante un microscopio multifotónico (Carl Zeiss LSM-780 NLO).⁴²

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. PARTE QUÍMICA

Se sintetizaron veinticuatro compuestos en total, catorce de estos siendo precursores (YZN 1a – 11a y YZN 12 – 14) y cuatro compuestos finales (YZN 1 – 11), cuyas rutas de síntesis se ilustran a continuación.

Síntesis del ácido 3-(4-nitrofenil)propiónico (YZN-14)

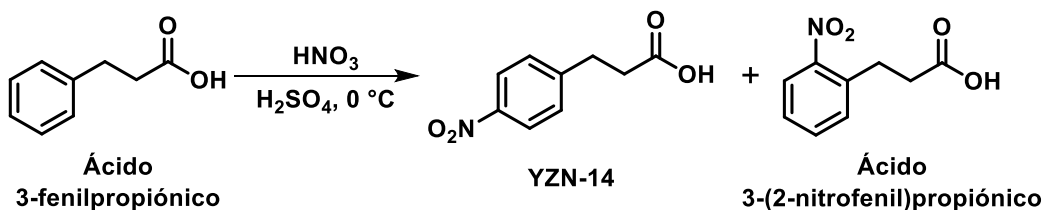


Diagrama 8. Obtención del precursor YZN-14

En un matraz de 25 mL de una boca, acoplado con columna Vigreux, agitación magnética y baño de hielo con sal, fue añadido 1 equivalente (5 g, 0.0333 mol) del ácido 3-fenilpropiónico en 2 mL de H_2SO_4 . A esta solución se le fue añadiendo gota a gota la mezcla sulfonítrica (1.1 equivalentes) preparada *in situ* a 0°C y se dejó en agitación durante 30 minutos, después se detuvo la reacción vertiendo el contenido del matraz sobre agua hielo obteniéndose un sólido blanco que contenía tanto al producto de nitración en *para* como en *orto* el cual, fue filtrado. Se aisló el compuesto de interés mediante cromatografía de columna empleando como sistema Hex:AcOEt. Se obtuvo un sólido blanco que presentó un intervalo de punto de fusión de $164.0 - 165.9^\circ\text{C}$, que coincide con lo reportado en la literatura, con un rendimiento del 80 % y proporción del producto de nitración en *para* con respecto al producto en *orto* de 8:2.

Síntesis del 3-(4-nitrofenil)propionato de metilo (YZN-13)

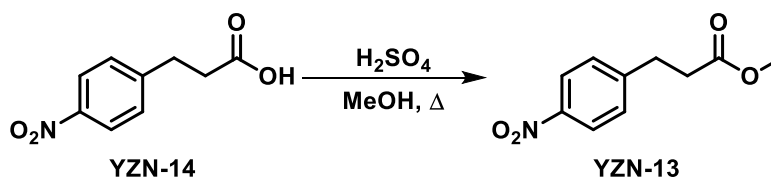


Diagrama 9. Obtención del precursor YZN-13

En un matraz de 5 mL de una boca, acoplado con refrigerante, agitación magnética y baño de agua, fue añadido 1 equivalente (5 g, 0.0256 mol) del ácido 3-(4-nitrofenil)propiónico en 2 mL de MeOH . A esta solución se le añadió 1 gota de H_2SO_4 (10 % w/w) y se inició el calentamiento a reflujo dejando en agitación durante 1 hora, después se detuvo la reacción y se rotaevaporó el MeOH usando vacío obteniendo un sólido blanco al cual se le realizó una extracción con AcOEt.

El sólido recuperado fue recristalizado en MeOH obteniendo cristales amarillos cúbicos con un punto de fusión de 70.0 – 70.4 °C y rendimiento del 76 %.

Síntesis del 3-(4-nitrofenil)propionato de metilo (YZN-12)

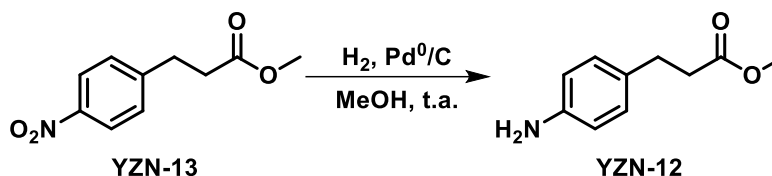
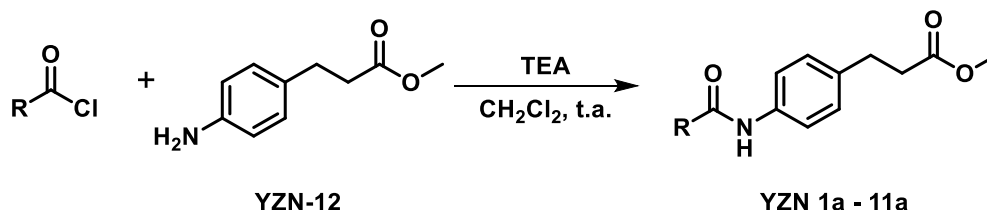


Diagrama 10. Obtención del precursor YZN-12

En una botella de hidrogenación se añadió 1 equivalente (1 g, 0.005 mol) de la materia prima **YZN-13** disuelto en 150 mL de MeOH y 10 % w/w de Pd⁰/C 5 %. Se tapó la botella y se procedió a purgarla con nitrógeno, tras lo cual se acopló al hidrogenador. El reservorio se cargó con 30 psi de gas hidrógeno y se purgó de nueva cuenta la botella 3 veces con 10 psi del gas. Después de esto se volvió a cargar el reservorio con 30 psi de H₂ y se inició la agitación. Se dejó proseguir la reacción durante 1 hora y transcurrido este tiempo, se detuvo el vaivén y se filtró el Pd⁰/C recuperando el MeOH el cual se llevó a sequedad obteniendo un sólido de color amarillo el cual se purificó mediante recristalización en MeOH obteniendo cristales de color blanco con un punto de fusión de 162.7 – 163.8 °C y un rendimiento del 97 %.

Método general de síntesis de los precursores YZN 1a – 11a



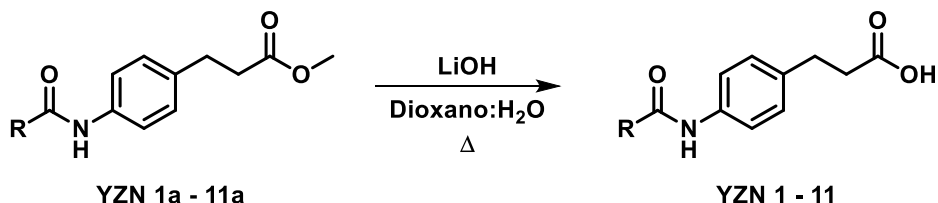
1. R = 3-Bifenilo; 2. R = 1-Naftilo; 3. R = 4-Clorofenilo; 4. R = 4-Fluorofenilo; 5. R = 2,4-Diclorofenilo; 6. R = 4-Metilfenilo; 7. R = 4-Trifluorometilo; 8. R = 4-Cianofenilo; 9. R = 4-Nitrofenilo; 10. R = n-Heptadecilo; 11. R = 2-Estirilo

Diagrama 11. Amidación para la obtención de los precursores YZN 1a – 11a

En un matraz bola de 10 mL de una boca acoplado con embudo de adición por presiones igualadas, baño de hielo y agitación magnética se añadió 1 equivalente del precursor 3-(4-aminofenil)propionato de metilo (**YZN-12**) disuelto en 1 mL de CH₂Cl₂ y 1.1 equivalentes de trietilamina. Por otro lado, al embudo de adición se le añadieron 1.1 equivalentes del cloruro de ácido correspondiente disueltos en 0.5 mL de CH₂Cl₂ seco. Se inició la adición y se mantuvo por alrededor de 40 minutos. Una vez terminada la adición, se retiró el baño de hielo y se dejó proseguir la reacción durante 3 horas cambiando el embudo de adición por una columna Vigreux. Cuando se observaba que la reacción no procedía se añadía 10 % de DMAP y concluida la reacción se rotaevaporó el disolvente obteniendo a los

compuestos en sus estados sólido (a excepción del compuesto **YZN-11a** que se obtuvo en forma de resina).

Método general de síntesis de los compuestos finales **YZN 1 – 11**



1. R = 3-Bifenilo; 2. R = 1-Naftilo; 3. R = 4-Clorofenilo; 4. R = 4-Fluorofenilo; 5. R = 2,4-Diclorofenilo; 6. R = 4-Metilfenilo; 7. R = 4-Trifluorometilo; 8. R = 4-Cianofenilo; 9. R = 4-Nitrofenilo; 10. R = *n*-Heptadecilo; 11. R = 2-Estirilo

Diagrama 12. Hldrólisis para la obtención de los precursores **YZN 1 – 11**

En un matraz bola de 10 mL de una boca, acoplado con agitación magnética, parrilla de calentamiento y refrigerante en posición de reflujo se añadió 1 equivalente de los precursores **YZN 1a - 11a** disuelto en 1 mL de dioxano. Posteriormente, se añadieron 6 equivalentes de LiOH y 5 gotas de agua. Una vez concluida la adición se inició el calentamiento hasta llegar a reflujo y se mantuvo la temperatura a 90 °C durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo se detuvo el calentamiento y una vez a temperatura ambiente se filtró un precipitado blanco que se formó conforme se enfriaba la reacción. El sólido recuperado se dejó secar durante 24 horas, tras lo cual se pasó a un matraz bola de 10 mL de una boca, acoplado con baño de hielo y agitación magnética y se le añadió alrededor de 1 mL de agua fría para llevar la solución a un pH de 4 añadiendo gota por gota una solución de HCl al 30 % v/v. Una vez alcanzado este pH se dejó en agitación durante 20 minutos y después se filtraron los compuestos obtenidos en su estado sólido.

Tabla 5. Resultados de la síntesis de los compuestos precursores y finales

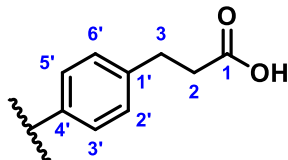
Compuesto	Peso molecular (g/mol)	Tiempo de reacción (h)	Rendimiento (%)	Estado físico	Punto de fusión (°C)	Lit*
YZN-14	195	0.5	80	Cristales blancos	164.0 – 165.9	164
YZN-13	209	1	76	Cristales cúbicos	70.0 – 70.4	70
YZN-12	179	1.5	97	Cristales blancos	162.7 – 163.8	165
YZN-11a	446	3	ND	Resina ámbar	ND	N/A
YZN-11	432	-	-	-	-	N/A
YZN-10a	446	14	72	Cristales blancos	87.0 – 88.5	N/A
YZN-10	432	0.5	75	Sólido blanco	239.4 (desc)	N/A
YZN-9a	328	3	96	Cristales amarillos	165.0 – 167.9	N/A
YZN-9	314	0.5	75	Sólido amarillo claro	206.4 (desc)	N/A
YZN-8a	308	3	90	Sólido blanco	136.0 -138.3	N/A
YZN-8	294	0.5	77	Sólido blanco	254.5 – 257.0	N/A
YZN-7a	351	3	94	Sólido blanco	129.1 – 129.9	N/A
YZN-7	337	0.5	52	Sólido blanco	>280	N/A
YZN-6a	297	3	78	Sólido blanco	117.8 – 119.5	N/A
YZN-6	283	0.5	86	Cristales blancos	201.0 – 202.5	N/A
YZN-5a	352	3	96	Sólido blanco	90.8 – 92.1	N/A
YZN-5	338	0.5	75	Sólido blanco	201.0 – 202.5	N/A
YZN-4a	301	3	96	Sólido blanco	110.7 – 113.0	N/A
YZN-4	287	0.5	75	Sólido blanco	228.2 – 230.0	N/A
YZN-3a	318	3	86	Sólido blanco	146.4 – 147.9	N/A
YZN-3	304	0.5	75	Sólido blanco	255.5 – 257.8	N/A
YZN-2a	333	3	86	Sólido blanco	116.8 – 121.4	N/A
YZN-2	319	1	75	Sólido blanco	>280	N/A
YZN-1a	359	6	82	Cristales blancos	77.3 – 80.8	N/A
YZN-1	345	1	69	Sólido blanco	234.3 – 235.1	232

*Con reporte por SynQuest Laboratories⁴³

Caracterización estructural de los compuestos finales sintetizados

Tras haber sintetizado y purificado los compuestos **YZN 1 – 11**, estos fueron caracterizados mediante Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C , en la **Tabla 6** resumen las señales que tienen en común todos los compuestos obtenidos.

Tabla 6. Rangos de desplazamientos y multiplicidades del núcleo del ácido 3-fenilpropiónico obtenidos de los compuestos **YZN 1 – 11**



Posición	^1H		^{13}C
	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)
1	-	-	173.1 – 175.6
2	2.72 – 3.34	7.8	30.2 – 32.4
3	2.28 – 3.13	7.8	34.1 – 40.3
1'	-	-	136.7 – 137.9
2'	7.62 – 8.20	8.4	120.9 – 129.1
3'	7.16 – 7.71	8.4	120.2 – 128.7
4'	-	-	129.7 – 137.3
5'	7.16 – 7.71	8.4	120.2 – 129.1
6'	7.62 – 8.20	8.4	120.9 – 129.1

Asignación de los desplazamientos de ^1H y ^{13}C del ácido 3-(4-([1,1'-bifenil]-3-carboxamido)fenil)propiónico (YZN-1)

En la **Figura 17** se representa el espectro de resonancia magnética nuclear de protón del compuesto **YZN-1**.

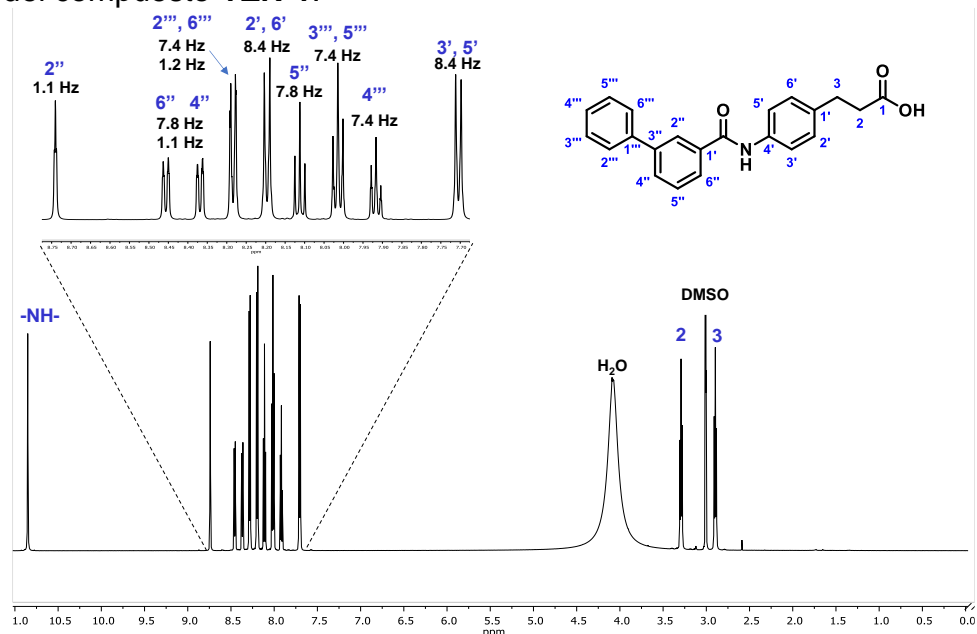


Figura 17. YZN-1: RMN ^1H , 600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$

En radiofrecuencias bajas se observan las señales correspondientes a los metilenos del fragmento de ácido propiónico a 3.29 (*t*, 2H, **H2**) y 2.89 ppm (*t*, 2H, **H3**) con una constante de acoplamiento de 7.8 Hz. En la zona aromática aparecen las señales del anillo aromático del núcleo, a 7.7 ppm se encuentra el doble de dobles correspondiente a **H3'** y **H5'** con una constante de acoplamiento *orto* de 8.4 ppm y el doble de dobles correspondiente a **H2'** y **H6'**. Además, se muestran las señales del residuo de bifenilo en posición *meta*. Por último, a 10.85 ppm aparece un singlete que le pertenece al protón de la amida.

Por otro lado, en la **Figura 18**, en el espectro ^{13}C , correspondiente a **YZN-1** en las que se pudieron observar 18 señales.

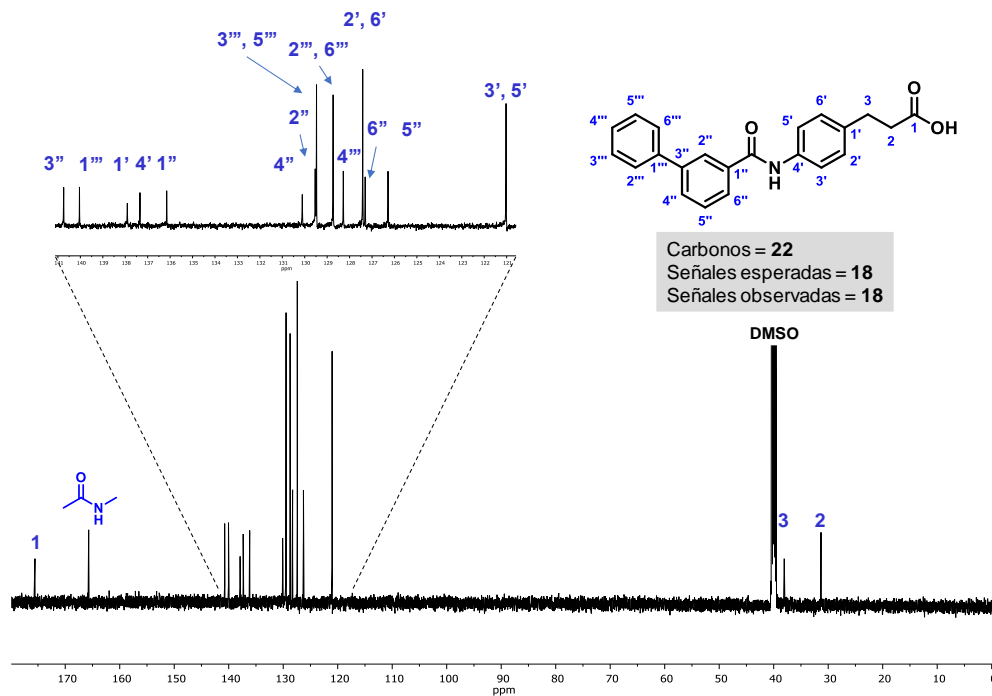
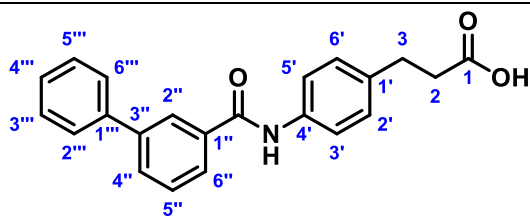


Figura 18. YZN-1: RMN ^{13}C , 150 MHz, DMSO- d_6

De este espectro se destacan las señales que corresponden a los carbonos **2** y **3** a 31.3 y 38.3 ppm respectivamente, la señal a 165.7 ppm correspondiente al carbono del carbonilo de la amida y la señal a 175.6 ppm que corresponde al carbono del ácido carboxílico.

Tabla 7. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento de ^1H y ^{13}C para **YZN-1**



YZN-1

Posición	^1H		^{13}C
	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)
1	-	-	175.6
2	3.29 (<i>t</i> , 2H)	7.8	31.3
3	2.89 (<i>t</i> , 2H)	7.8	38.1
1'	-	-	137.9
2'	8.19 (<i>d</i> , 2H)	8.4	127.4
3'	7.70 (<i>d</i> , 2H)	8.4	121.0
4'	-	-	137.3
5'	7.70 (<i>d</i> , 2H)	8.4	121.0
6'	8.19 (<i>d</i> , 2H)	8.4	127.4
1''	-	-	136.2
2''	8.74 (<i>d</i> , 1H)	1.1	129.5
3''	-	-	140.7
4''	8.37 (<i>dd</i> , 1H)	1.1, 7.8	130.1
5''	8.11 (<i>dd</i> , 1H)	7.8	126.3
6''	8.45 (<i>dd</i> , 1H)	1.1, 7.8	127.3
1'''	-	-	140.0
2'''	8.28 (<i>dd</i> , 2H)	1.2, 7.4	128.7
3'''	8.01 (<i>dd</i> , 2H)	7.4	129.5
4'''	7.92 (<i>ddd</i> , 1H)	1.2, 7.4	128.3
5'''	8.01 (<i>dd</i> , 2H)	7.4	129.5
6'''	8.28 (<i>dd</i> , 2H)	1.2, 7.4	128.7
C=O	-	-	165.7
-NH-	10.85 (<i>s</i> , 1H)	-	-

Asignación de los desplazamientos de ^1H y ^{13}C del ácido 3-(4-(1-naftamido)fenil)propiónico (YZN-2)

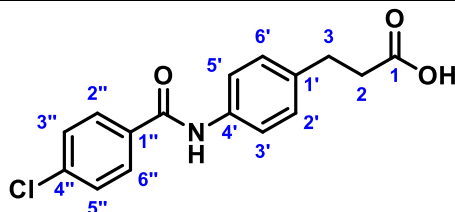
Tabla 8. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento de ^1H y ^{13}C para YZN-2

YZN-2

Posición	^1H		^{13}C
	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)
1	-	-	-
2	2.72 (<i>t</i>)	7.9	32.4
3	2.18 (<i>t</i>)	7.9	40.3
1'	-	-	137.2
2'	7.65 (<i>d</i>)	8.2	128.8
3'	7.16 (<i>d</i>)	8.2	120.2
4'	-	-	135.4
5'	7.16 (<i>d</i>)	8.2	120.2
6'	7.65 (<i>d</i>)	8.2	128.8
1''	-	-	130.1
2''	8.15 (<i>dd</i>)	2.9, 8.2	125.8
3''	7.99 (<i>dd</i>)	2.9, 8.2	125.6
4''	8.04 (<i>d</i>)	8.2	130.4
5''	-	-	128.7
6''	7.54 – 7.59 (<i>m</i>)	-	127.4
7''	7.54 – 7.59 (<i>m</i>)	-	125.5
8''	7.54 – 7.59 (<i>m</i>)	-	133.6
9''	7.70 (<i>d</i>)	8.2	120.2
10''	-	-	126.8
C=O	-	-	167.5
-NH-	10.46 (<i>s</i>)	-	-

Asignación de los desplazamientos de ^1H y ^{13}C del ácido 3-(4-(4-clorobenzamido)fenil)propiónico (YZN-3)

Tabla 9. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento de ^1H y ^{13}C para YZN-3



YZN-3

Posición	^1H		^{13}C
	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)
1	-	-	174.8
2	2.76 (<i>t</i>)	7.4	30.9
3	2.40 (<i>t</i>)	7.4	40.1
1'	-	-	136.7
2'	7.95 (<i>d</i>)	8.5	120.9
3'	7.56 (<i>d</i>)	8.5	128.7
4'	-	-	134.1
5'	7.56 (<i>d</i>)	8.5	128.7
6'	7.95 (<i>d</i>)	8.5	120.9
1''	-	-	137.6
2''	7.17 (<i>d</i>)	7.5	130.1
3''	7.62 (<i>d</i>)	7.5	130.0
4''	-	-	137.2
5''	7.62 (<i>d</i>)	7.5	130.0
6''	7.17 (<i>d</i>)	7.5	130.1
C=O	-	-	164.7
-NH-	10.24 (<i>s</i>)	-	-

Asignación de los desplazamientos de ^1H y ^{13}C del ácido 3-(4-(4-fluorobenzamido)fenil)propiónico (YZN-4)

Tabla 10. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento de ^1H y ^{13}C para YZN-4

YZN-4

Posición	^1H		^{13}C	
	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)	J (Hz)
1	-	-	174.3	-
2	2.77 (<i>t</i>)	7.7	30.3	-
3	2.49 (<i>t</i>)	7.7	35.9	-
1'	-	-	137.5	-
2'	7.62 (<i>d</i>)	8.5	129.1	-
3'	7.17 (<i>d</i>)	8.5	128.5	-
4'	-	-	136.7	-
5'	7.17 (<i>d</i>)	8.5	128.5	-
6'	7.62 (<i>d</i>)	8.5	129.1	-
1''	-	-	131.9 (<i>d</i>)	3.2
2''	8.00 (<i>dd</i>)	3.3, 8.9	130.7 (<i>d</i>)	8.9
3''	7.33 (<i>dd</i>)	8.9	115.7 (<i>d</i>)	21.2
4''	-	-	164.5 (<i>d</i>)	248.6
5''	7.33 (<i>dd</i>)	8.9	115.7 (<i>d</i>)	21.2
6''	8.00 (<i>d</i>)	3.3, 8.9	130.7 (<i>d</i>)	8.9
C=O	-	-	164.7	-
-NH-	10.17 (<i>s</i>)	-	-	-

Asignación de los desplazamientos de ^1H y ^{13}C del ácido 3-(4-(2,4-diclorobenzamido)fenil)propiónico (YZN-5)

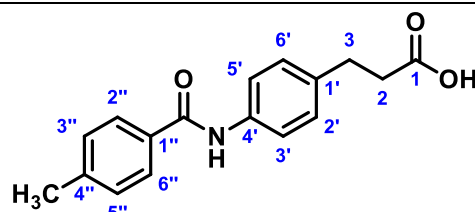
Tabla 11. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento de ^1H y ^{13}C para **YZN-5**

YZN-5

Posición	^1H		^{13}C
	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)
1	-	-	174.2
2	3.30 (<i>t</i>)	7.5	30.4
3	3.01 (<i>t</i>)	7.5	35.9
1'	-	-	137.2
2'	8.10 (<i>d</i>)	8.4	129.0
3'	7.71 (<i>d</i>)	8.4	120.1
4'	-	-	136.4
5'	7.71 (<i>d</i>)	8.4	120.1
6'	8.10 (<i>d</i>)	8.4	129.0
1''	-	-	135.2
2''	-	-	137.1
3''	8.25 (<i>d</i>)	2.0	129.6
4''	-	-	131.7
5''	8.05 (<i>dd</i>)	2.0, 8.2	127.9
6''	8.11 (<i>d</i>)	8.2	130.8
C=O	-	-	164.3
-NH-	10.93 (<i>s</i>)	-	-

Asignación de los desplazamientos de ^1H y ^{13}C del ácido 3-(4-(4-metilbenzamido)fenil)propiónico (YZN-6)

Tabla 12. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento de ^1H y ^{13}C para **YZN-6**

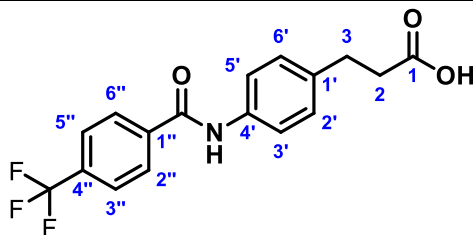


YZN-6

Posición	^1H		^{13}C
	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)
1	-	-	174.2
2	3.30 (<i>t</i>)	7.7	30.4
3	3.03 (<i>t</i>)	7.7	35.9
1'	-	-	137.7
2'	8.20 (<i>d</i>)	8.5	128.7
3'	7.69 (<i>d</i>)	8.5	121.0
4'	-	-	136.5
5'	7.69 (<i>d</i>)	8.5	121.0
6'	8.20 (<i>d</i>)	8.5	128.7
1''	-	-	132.5
2''	8.40 (<i>d</i>)	8.1	128.2
3''	7.81 (<i>d</i>)	8.1	129.3
4''	-	-	141.9
5''	7.81 (<i>d</i>)	8.1	129.3
6''	8.40 (<i>d</i>)	8.1	128.2
C=O	-	-	165.7
-NH-	10.67 (<i>s</i>)	-	-
-CH₃	2.88 (<i>s</i>)	-	21.5

Asignación de los desplazamientos de ^1H y ^{13}C del ácido 3-(4-(4-(trifluorometil)benzamido)fenil)propiónico (YZN-7)

Tabla 13. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento de ^1H y ^{13}C para **YZN-7**

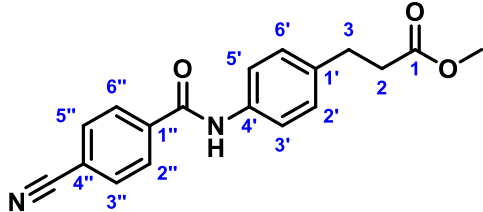


YZN-7

Posición	^1H		^{13}C	
	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)	J (Hz)
1	-	-	174.6	-
2	3.30 (<i>t</i>)	7.8	30.7	-
3	2.99 (<i>t</i>)	7.8	31.1	-
1'	-	-	137.6	-
2'	8.18 (<i>d</i>)	8.4	129.0	-
3'	7.72 (<i>d</i>)	8.4	128.8	-
4'	-	-	137.2	-
5'	7.72 (<i>d</i>)	8.4	128.8	-
6'	8.18 (<i>d</i>)	8.4	129.0	-
1''	-	-	139.3 (<i>d</i>)	-
2''	8.65 (<i>d</i>)	8.4	121.0 (<i>s</i>)	-
3''	8.40 (<i>d</i>)	8.4	125.8 (<i>q</i>)	3.4
4''	-	-	131.7 (<i>q</i>)	32.3
5''	8.40 (<i>d</i>)	8.4	125.8 (<i>q</i>)	3.4
6''	8.65 (<i>d</i>)	8.4	121.0 (<i>s</i>)	-
C=O	-	-	164.7	-
-NH-	10.91 (<i>s</i>)	-	-	-
-CF₃	10.91 (<i>s</i>)	-	124.4 (<i>q</i>)	270.4

Asignación de los desplazamientos de ^1H y ^{13}C del 3-(4-(4-(cianobenzamido)fenil)propionato de metilo (YZN-8a)

Tabla 14. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento de ^1H y ^{13}C para YZN-8a



YZN-8a

Posición	^1H		^{13}C
	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)
1	-	-	173.1
2	3.34 (<i>t</i>)	7.5	30.2
3	3.13 (<i>t</i>)	7.5	35.4
1'	-	-	137.3
2'	8.18 (<i>d</i>)	8.7	128.9
3'	7.72 (<i>d</i>)	8.7	121.0
4'	-	-	136.8
5'	7.72 (<i>d</i>)	8.7	121.0
6'	8.18 (<i>d</i>)	8.7	128.9
1''	-	-	139.5
2''	8.61 (<i>d</i>)	8.7	129.0
3''	8.51 (<i>d</i>)	8.7	132.9
4''	-	-	114.3
5''	8.51 (<i>d</i>)	8.7	132.9
6''	8.61 (<i>d</i>)	8.7	129.0
C=O	-	-	164.4
-NH-	10.90 (<i>s</i>)	-	-
-CN	-	-	118.8
-OCH₃	4.09 (<i>s</i>)	-	51.7

Asignación de los desplazamientos de ^1H y ^{13}C del ácido 3-(4-(4-nitrobenzamido)fenil)propiónico (YZN-9)

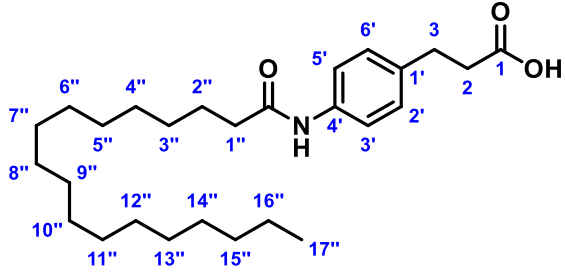
Tabla 15. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento de ^1H y ^{13}C para **YZN-9**

YZN-9

Posición	^1H		^{13}C
	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)
1	-	-	174.2
2	2.78 (<i>t</i>)	7.6	30.3
3	2.50 (<i>t</i>)	7.6	35.8
1'	-	-	137.2
2'	7.65 (<i>d</i>)	8.5	128.6
3'	7.20 (<i>d</i>)	8.5	123.9
4'	-	-	129.7
5'	7.20 (<i>d</i>)	8.5	123.9
6'	7.65 (<i>d</i>)	8.5	128.6
1''	-	-	141.1
2''	8.15 (<i>d</i>)	9.0	129.2
3''	8.34 (<i>d</i>)	9.0	124.1
4''	-	-	149.5
5''	8.34 (<i>d</i>)	9.0	124.1
6''	8.15 (<i>d</i>)	9.0	129.2
C=O	-	-	164.1
-NH-	10.48 (<i>s</i>)	-	-

Asignación de los desplazamientos de ^1H y ^{13}C del ácido 3-(4-estearamidofenil)propiónico (YZN-10)

Tabla 16. Desplazamientos, multiplicidades y constantes de acoplamiento de ^1H y ^{13}C para YZN-10



YZN-10

Posición	^1H		^{13}C
	δ (ppm)	J (Hz)	δ (ppm)
1	-	-	174.9
2	3.26 (<i>t</i>)	7.6	31.8
3	2.68 (<i>t</i>)	7.6	34.1
1'	-	-	137.9
2'	7.97 (<i>d</i>)	8.2	128.8
3'	7.62 (<i>d</i>)	8.2	119.6
4'	-	-	131.3
5'	7.62 (<i>d</i>)	8.2	119.6
6'	7.97 (<i>d</i>)	8.2	128.8
1''	2.77	7.5	31.1
2''	1.74 (<i>s</i>)	-	25.0
3''	1.74 (<i>s</i>)	-	29.0
4''	1.74 (<i>s</i>)	-	29.2
5''	1.74 (<i>s</i>)	-	29.3
6''	1.74 (<i>s</i>)	-	29.5
7''	1.74 (<i>s</i>)	-	29.5
8''	1.74 (<i>s</i>)	-	29.5
9''	1.74 (<i>s</i>)	-	29.5
10''	1.74 (<i>s</i>)	-	29.5
11''	1.74 (<i>s</i>)	-	29.5
12''	1.74 (<i>s</i>)	-	29.5
13''	1.74 (<i>s</i>)	-	29.5
14''	1.74 (<i>s</i>)	-	29.5
15''	1.74 (<i>s</i>)	-	29.6
16''	1.74 (<i>s</i>)	-	22.5
17''	1.36 (<i>t</i>)	7.5	14.4
C=O	-	-	180.5
-NH-	10.24 (<i>s</i>)	-	-

PARTE COMPUTACIONAL: A priori

Propiedades fisicoquímicas

En la **Tabla 16** se resumen los resultados obtenidos de las predicciones de las propiedades fisicoquímicas seleccionadas para los compuestos **YZN 1 – 11**.

Tabla 16. Propiedades fisicoquímicas calculadas para la serie **YZN**

YZN	Peso molecular (g/mol)	log $D_{7.4}$	Solubilidad en agua ($\mu\text{g/mL}$)	Calificación
1	345	1.31	1.98	Verde
2	319	0.78	4.54	Amarillo
3	304	- 0.01	19.0	Verde
4	287	- 0.23	62.2	Verde
5	338	0.17	1.53	Amarillo
6	283	0.01	33.0	Verde
7	337	0.62	11.3	Verde
8	294	- 0.81	51.2	Verde
9	314	- 0.41	14.5	Verde
10	432	6.52	1.18e ⁻⁰⁵	Amarillo
11	295	0.67	10.7	Verde
Ideal	> 500	1 - 3	5 - 50	Verde

Verde: Muy satisfactorio; **Amarillo:** Satisfactorio; **Rojo:** Poco satisfactorio

La lipofilidad de un compuesto a pH 7.4 afecta de manera muy importante la potencia, distribución y eliminación de éste una vez administrado. Anteriormente en los postulados de Lipinski se estipulaba que un log P menor a 5 favorecía la absorción de un compuesto tras su administración por vía oral, sin embargo, hoy en día se conoce que es más importante conocer el logaritmo de distribución a pH fisiológico del compuesto debido a que, como se ilustra en la **Figura 19**, cuando una molécula ionizable entra en contacto con soluciones a diferentes pH, su log D se ve afectado.

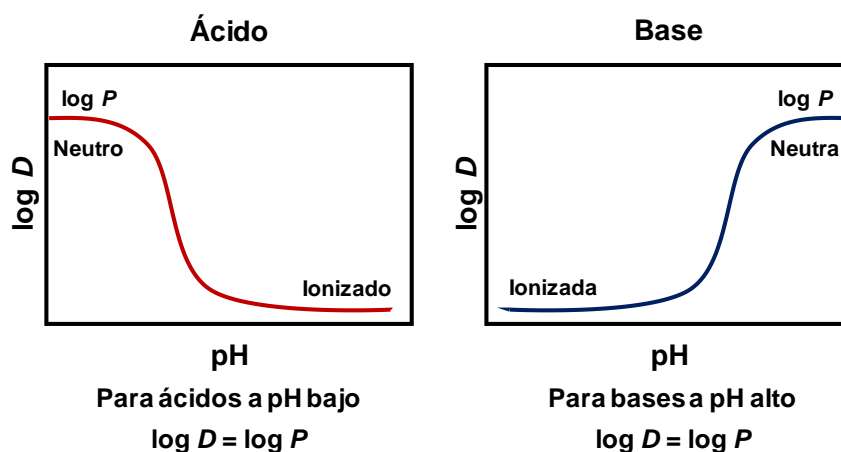


Figura 19. Efecto del pH sobre la lipofilidad de un compuesto

Una molécula de carácter ácido presentará un log D más bajo al encontrarse en su forma de base conjugada a un pH elevado, por el contrario, cuando un compuesto

de carácter básico se encuentra en su forma de ácido conjugado a un pH disminuido, su $\log D$ se ve disminuido.

Como se puede observar en la **Tabla 16**, un valor ideal se encuentra entre 1 y 3, criterio que sólo se cumple para **YZN-1**, mientras que el resto de los compuestos presentan valores muy bajos, lo que indica que estos podrían potencialmente tener poca absorción y baja biodisponibilidad, así como un volumen de distribución disminuido. Por el lado contrario, el compuesto **YZN-10** presenta un resultado muy elevado, lo cual podría suponer que esta molécula no se absorba de manera correcta por vía oral y tenga un alto volumen de distribución.

Por otro lado, la solubilidad acuosa también es una propiedad fisicoquímica muy importante debido a que un compuesto bioactivo no podrá ejercer su efecto terapéutico si es completamente insoluble en agua. De nueva cuenta se puede observar en la **Tabla 16** que un valor ideal se encuentra entre los 5 y 50 $\mu\text{g/mL}$, criterio que se cumple para la mayoría de los compuestos a excepción de **YZN-10**, recordando que esta molécula está compuesta por un fragmento de ácido esteárico como región hidrofóbica (**Figura 20**).

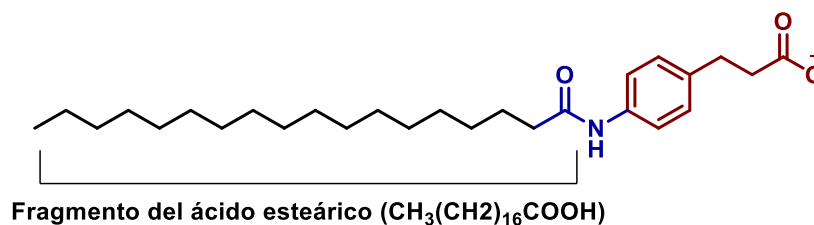


Figura 20. Estructura del compuesto **YZN-10** en su forma de carboxilato

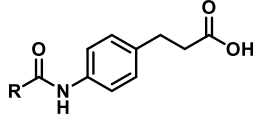
Por lo tanto, tomando en cuenta todo lo anterior, se asignó una calificación en la que, si se cumplen 2 o 3 criterios, se considera un compuesto con un perfil muy satisfactorio, si sólo cumple con 1 se considera satisfactorio y si no cumple con ninguno se considera poco satisfactorio.

En conclusión, la mayoría de los compuestos propuestos presentaron cualidades fisicoquímicas muy satisfactorias.

Perfil farmacodinámico

En la **Tabla 17** se muestran las afinidades de los ácidos **YZN 1 – 11** hacia los blancos terapéuticos elegidos, mediante acoplamiento clásico con Vina.⁴⁴

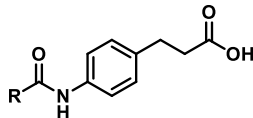
Tabla 17. Afinidad de la serie **YZN** hacia aldosa reductasa, PTP-1B y FFAR-1



YZN	R	AR		FFAR-1		PTP-1B	
		ΔG° (kcal/mol)	K_i (μ M)	ΔG° (kcal/mol)	K_i (nM)	ΔG° (kcal/mol)	K_i (μ M)
1	3-Bifenilo	-10.2	0.03	-11.0	8.08	-8.7	0.40
2	1-Naftilo	-9.2	0.17	-11.4	4.11	-8.7	0.40
3	4-Clorofenilo	-8.3	0.78	-10.2	31.34	-8.3	0.78
4	4-Fluorofenilo	-8.3	0.78	-10.2	31.34	-8.0	1.30
5	2,4-Diclorofenilo	-8.4	0.66	-10.6	15.92	-8.4	0.66
6	4-Metilfenilo	-8.4	0.66	-10.3	26.46	-8.1	1.10
7	4-Trifluorometilfenilo	-9.0	0.24	-10.2	31.34	-7.9	1.54
8	4-Cianofenilo	-8.4	0.66	-10.4	22.34	-8.1	1.10
9	4-Nitrofenilo	-8.4	0.66	-10.0	43.98	-7.4	3.60
10	n-Heptadecilo	-7.5	3.04	-7.3	>100	-6.0	38.55
11	2-Estirilo	-9.2	0.17	-9.9	52.10	-8.2	0.93
GW9508	-	-10.2	0.03	-10.1	37.13	-8.4	0.66

Como se puede observar, los compuestos **1, 2, 3, 5** y **11** presentan constantes de afinidad *in silico* en el orden nanomolar hacia los tres *targets*, por lo que se pueden considerar *leads* computacionales. Por otro lado, también se llevó a cabo el análisis de acoplamiento molecular mediante el programa MOE, para tener un consenso en los resultados de esta sección. Estos resultados se resumen en la **Tabla 18**.

Tabla 18. Afinidad de la serie **YZN** hacia aldosa reductasa, PTP-1B y FFAR-1



YZN	R	AR		FFAR-1		PTP-1B	
		ΔG° (kcal/mol)	K_i (μ M)	ΔG° (kcal/mol)	K_i (μ M)	ΔG° (kcal/mol)	K_i (μ M)
1	3-Bifenilo	-8.4 ± 0.09	0.66	-7.8 ± 0.30	1.83	-6.4 ± 0.16	19.57
2	1-Naftilo	-7.4 ± 0.12	3.60	-7.8 ± 0.10	1.83	-6.1 ± 0.15	32.54
3	4-Clorofenilo	-7.2 ± 0.22	5.04	-7.2 ± 0.17	5.04	-5.9 ± 0.07	45.66
4	4-Fluorofenilo	-7.3 ± 0.21	4.32	-7.1 ± 0.18	5.98	-5.8 ± 0.09	54.09
5	2,4-Diclorofenilo	-7.4 ± 0.16	3.60	-7.4 ± 0.20	3.60	-5.9 ± 0.10	45.66
6	4-Metilfenilo	-7.5 ± 0.32	3.04	-7.2 ± 0.20	5.04	-5.8 ± 0.07	54.09
7	4-Trifluorometilfenilo	-7.2 ± 0.23	5.04	-7.2 ± 0.27	5.04	-6.0 ± 0.05	38.55
8	4-Cianofenilo	-7.4 ± 0.21	3.60	-7.2 ± 0.25	5.04	-5.9 ± 0.10	45.66
9	4-Nitrofenilo	-7.7 ± 0.32	2.16	-7.2 ± 0.26	5.04	-6.1 ± 0.11	32.54
10	n-Heptadecilo	-10.4 ± 0.3	0.02	-8.7 ± 0.38	0.40	-7.4 ± 0.24	3.60
11	2-Estirilo	-7.6 ± 0.21	2.56	-7.1 ± 0.25	5.98	-6.0 ± 0.04	38.55
GW9508	-	-10.2	0.03	-10.1	37.13	-8.4	0.66

Con base en los resultados obtenidos, se llevó a cabo el consenso del acoplamiento molecular, cuando ambos programas calculaban constantes de afinidad en el orden nanomolar, se asignaba un acierto lo cual corresponde a un resultado muy satisfactorio (color verde) como se observa en la **Tabla 19**.

Tabla 19. Resumen farmacodinámico de la serie **YZN** sobre diversas dianas terapéuticas

YZN	Método de búsqueda	Calidad como compuesto líder			Resultado
		ALR	FFAR-1	PTP-1B	
1	Estocástico Empírico	✓	✓	✓	Verde
2	Estocástico Empírico	✓	✓	✓	Verde
3	Estocástico Empírico	✓	✓	✓	Verde
4	Estocástico Empírico	✓	✓		Amarillo
5	Estocástico Empírico	✓	✓	✓	Verde
6	Estocástico Empírico	✓	✓		Amarillo
7	Estocástico Empírico	✓	✓		Amarillo
8	Estocástico Empírico	✓	✓		Amarillo
9	Estocástico Empírico	✓	✓		Amarillo
10	Estocástico Empírico				Rojo
11	Estocástico Empírico	✓	✓	✓	Verde

Verde: Muy satisfactorio; **Amarillo:** Satisfactorio; **Rojo:** Poco satisfactorio

Detección de alertas toxicológicas

En las **Tablas 20 – 22**, se resumen los resultados consenso del perfil toxicológico de la serie **YZN** para observar si existe una tendencia a que las estructuras propuestas se vean asociadas a bioactividades no deseables.

Tabla 20. Análisis de consenso para la evaluación de riesgo de carcinogenicidad de la serie **YZN** por algunos programas quimioinformáticos

YZN	Carcinogenicidad			Resultado
	admetSAR	PreADMET	OSIRIS	
1	✓	✓	✓	Verde
2	✓	✓		
3	✓	✓	✓	
4	✓	✓	✓	
5	✓	✓	✓	
6	✓	✓	✓	
7	✓	✓	✓	
8	✓	✓	✓	
9		✓	✓	
10			✓	
11			✓	
GW9508	✓	✓	✓	Verde
Terfenadina	✓	✓	✓	

Verde: Muy satisfactorio; **Amarillo:** Satisfactorio; **Rojo:** Poco satisfactorio

Mientras en la **Tabla 20** se observa que todos los compuestos cumplen con un riesgo bajo o nulo de ser carcinogénicos de manera muy satisfactoria, en la **Tabla 21** se observa que los compuestos **3, 9, 10** y **11** presentaron altas probabilidades de ser mutagénicos, considerando su calificación como poco satisfactoria. Por otro lado, los compuestos **4, 6, 7** y **8**, presentan un riesgo moderado.

Tabla 21. Análisis de consenso para la evaluación de riesgo de mutagenicidad de la serie **YZN** por algunos programas quimioinformáticos

YZN	Mutagenicidad			Resultado
	admetSAR	PreADMET	OSIRIS	
1	✓		✓	Verde
2	✓		✓	
3				Rojo
4	✓			
5	✓		✓	Verde
6	✓			
7	✓			Amarillo
8	✓			
9				Rojo
10			✓	
11			✓	
GW9508	✓		✓	Verde
Clorfenamina	✓		✓	

Verde: Muy satisfactorio; **Amarillo:** Satisfactorio; **Rojo:** Poco satisfactorio

Los resultados asociados a una posible actividad mutagénica para los compuestos podrían estar relacionados a la presencia de un grupo electroattractor en posición *para* con respecto a un carbonilo, lo que provocaría que la posición 4 del anillo sea susceptible a una sustitución nucleofílica aromática, como se ilustra en la **Figura 21**. Sin embargo, debido al fragmento de ácido fenilpropiónico enlazado mediante una amida, es poco probable que ese tipo de reacción ocurra al no haber posibilidad de que por resonancia se expulse al sustituyente electroattractor (cloro o flúor)

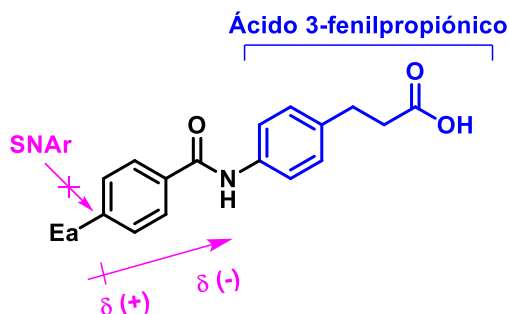


Figura 21. SNAr en la serie YZN

Por otro lado, en la **Tabla 22** se observa que la mayoría de los compuestos cumplen con un perfil muy satisfactorio al no verse asociados con el riesgo de ser bloqueadores de canales hERG en comparación con clorfenamina, el cual es un fármaco actualmente indicado para la terapia crónica del asma y cuya actividad como bloqueador de estos canales se encuentra reportada por Hong y colaboradores.⁴⁵

Tabla 22. Análisis de consenso para la evaluación de riesgo de bloqueo de canales hERG de la serie YZN por algunos programas quimioinformáticos

YZN	Bloqueo de canales hERG			Resultado	
	admetSAR 2.0	PreADMET	ACD/ToxSuite		
1	✓		✓	Verde	
2	✓		✓		
3	✓		✓		
4	✓		✓		
5	✓		✓		
6	✓		✓		
7	✓		✓		
8	✓		✓		
9	✓		✓		
10	✓	✓			Amarillo
11	✓		✓		Verde
GW9508	✓		✓	Verde	
Clorfenamina				Rojo	

Verde: Muy satisfactorio; **Amarillo:** Satisfactorio; **Rojo:** Poco satisfactorio

Actualmente se cuentan con algunas pautas a seguir para mejorar las probabilidades de que un compuesto no sea bloqueador de canales hERG, estas pautas son las siguientes (**Figura 22**):

Propiedades que favorecen la afinidad por canales hERG	Propiedades que desfavorecen la afinidad por canales hERG
Aminas básicas de $pK_a > 7.3$	Grupos ionizables negativamente
Sub-estructuras lipofílicas con un $ClogP > 3.27$	Oxígenos aceptores de puentes de hidrógeno
Por lo menos un anillo aromático	Grupos polares
Espaciadores flexibles	
De 3 a 4 grupos hidrofóbicos	

Figura 22. Propiedades que favorecen o desfavorecen la afinidad por los canales hERG

Como se discutió anteriormente, el compuesto **10** es una estructura que posee un fragmento de ácido esteárico, por lo que su $\log P$ calculado es de 7.6, aumentando su riesgo de ser bloqueador, sin embargo, también se puede observar que este es un compuesto ácido, que a pH fisiológico se encuentra en su forma de carboxilato (**Figura 23**), desfavoreciendo su posible afinidad hacia los canales hERG.

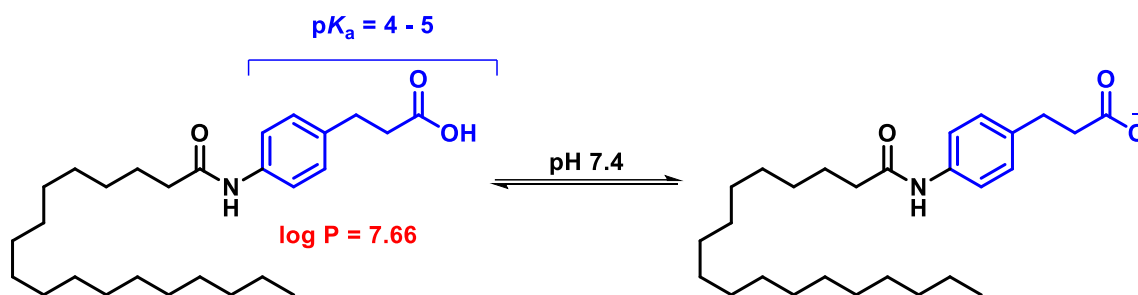


Figura 23. Propiedades del compuesto **YZN-10** a pH fisiológico (7.4)

Finalmente, en la **Tabla 23** se asignó la calificación consenso de la detección de alertas toxicológicas, concluyendo que los compuestos **1**, **2** y **5** son los que presentan un perfil muy satisfactorio.

Tabla 23. Resumen de la detección de alertas toxicológicas de la serie **YZN**

YZN	Mutagenicidad*	Carcinogenicidad#	Bloqueo de canales hERG	Resultado
1	Green	Green	Green	Green
2	Green	Green	Green	Green
3	Red	Green	Green	Yellow
4	Yellow	Green	Green	Yellow
5	Green	Green	Green	Green
6	Yellow	Green	Green	Yellow
7	Yellow	Green	Green	Yellow
8	Yellow	Green	Green	Yellow
9	Red	Green	Green	Yellow
10	Red	Green	Green	Yellow
11	Red	Green	Green	Yellow
GW9508	Green	Green	Yellow	Yellow
Terfenadina	Green	Green	Red	Yellow

Perfil farmacocinético

En las **Tablas 24 – 27**, se resumen los resultados consenso del perfil farmacocinético de la serie **YZN** para establecer si estas moléculas cuentan con propiedades adecuadas.

Tabla 24. Análisis de consenso para la evaluación de la probabilidad de absorción intestinal de la serie **YZN** por algunos programas quimioinformáticos

YZN	Absorción intestinal			Resultado
	admetSAR 2.0	SwissADME	PreADMET	
1	✓	✓	✓	Verde
2	✓	✓	✓	
3	✓	✓	✓	
4	✓	✓	✓	
5	✓	✓	✓	
6	✓	✓	✓	
7	✓	✓	✓	
8	✓	✓	✓	
9		✓	✓	
10	✓		✓	
11	✓	✓	✓	
GW9508	✓	✓	✓	Rojo
Valaciclovir	✓			

Verde: Muy satisfactorio; Amarillo: Satisfactorio; Rojo: Poco satisfactorio

Para esta prueba se añadieron dos controles; **GW9508**, una de las moléculas en las cuales se basó el diseño de la serie **YZN** y valaciclovir (**Figura 24**). Este último es un fármaco indicado para el tratamiento de enfermedades virales como la causada por el virus del herpes simple y no se absorbe por la vía oral.

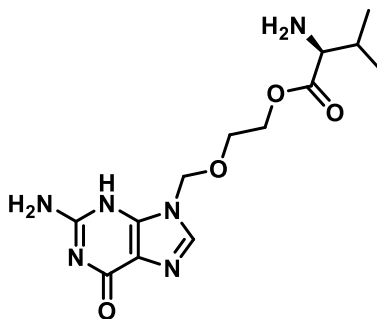


Figura 24. Estructura química de valaciclovir

Como se puede observar en la **Tabla 25**, todos los compuestos presentaron una calificación muy satisfactoria por lo cual, se espera que sean absorbidos por esta vía. Es importante destacar que el análisis de consenso predijo una calificación poco satisfactoria para valaciclovir, lo cual coincide con lo reportado por la literatura, aportando validez así a estos resultados.

Por otro lado, también se llevó a cabo el análisis de la cualidad como sustrato de la glucoproteína P para la serie **YZN**. En este caso se mantuvo a **GW9508** como control, pero se cambió a valaciclovir por loperamida debido a que este es un sustrato de Pgp ya conocido. Loperamida es un fármaco antidiarreico de origen sintético y su estructura se ilustra en la **Figura 25**.

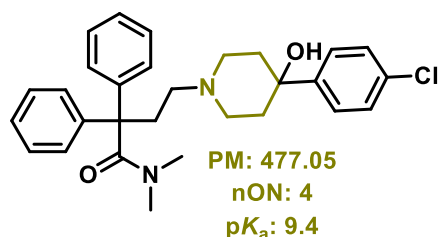


Figura 25. Estructura química y propiedades de loperamida

Como se puede observar, loperamida contiene en su estructura a la piperidina (**verde**), lo cual le confiere un carácter básico con un pK_a calculado de 9.4. Se ha establecido en la literatura que compuestos que cumplan con la “regla de los 4” (nON ≥ 8, PM > 400 y pK_a > 4) son más propensos a ser sustratos de Pgp. Debido a que en las estructuras propuestas para la serie **YZN** no hay aminas básicas sino, por el contrario, ácidos carboxílicos, en la **Tabla 25** se muestran resultados muy satisfactorios para estos compuestos.

Tabla 25. Análisis de consenso para la evaluación de la cualidad como sustrato de Pgp de la serie **YZN** por algunos programas quimioinformáticos

YZN	Sustrato de glucoproteína P			Resultado
	admetSAR	SwissADME	admetSAR 2.0	
1	✓	✓	✓	Verde
2	✓	✓	✓	
3	✓	✓	✓	
4	✓	✓	✓	
5	✓	✓	✓	
6	✓	✓	✓	
7	✓	✓	✓	
8	✓	✓	✓	
9	✓	✓	✓	
10	✓	✓	✓	
11	✓	✓	✓	
GW9509	✓	✓	✓	Rojo
Loperamida				

Verde: Muy satisfactorio; **Amarillo:** Satisfactorio; **Rojo:** Poco satisfactorio

De nueva cuenta, vale la pena destacar que en este análisis se obtuvo un resultado poco satisfactorio para loperamida, coincidiendo con lo reportado en la literatura, lo cual sirve para validar los resultados que se obtienen de estos consensos.

También se llevó a cabo el análisis de la unión a proteínas mediante el servidor PreADMET. Para este ensayo se asignó el código de colores de la siguiente manera: si se calcula una unión a proteína mayor o igual a 90 % se considera muy satisfactorio, si es entre 50 y 90 % se considera satisfactorio y por último si se calcula una unión menor a 50 % se considera poco satisfactorio.

Tabla 26. Análisis de consenso para la evaluación de la unión a proteínas plasmáticas de la serie YZN por algunos programas quimioinformáticos

YZN	Unión a proteínas plasmáticas	
	PreADMET (%)	Resultado
1	92	Verde
2	90	Amarillo
3	96	Verde
4	88	Amarillo
5	96	Verde
6	90	Amarillo
7	87	Amarillo
8	86	Amarillo
9	84	Amarillo
10	94	Verde
11	97	Verde
GW9509	99	Verde

Verde: > 90 %; Amarillo: 50 - 90 %; Rojo: 0 - 50 %

En la **Tabla 26** se observa que se calculan valores adecuados para todos los compuestos. Esto nos indica que los compuestos propuestos presentarían una eficacia adecuada *in vivo* si es que resultan bioactivos.

Pasando a la parte de metabolismo, se evaluó el riesgo de que los compuestos propuestos para este proyecto sean inhibidores de las isoformas más importantes del CYP450. En este caso se eligió a clotrimazol (**Figura 26**) como fármaco de referencia debido a que éste es un inhibidor de las familias 2 y 3 del CYP450.

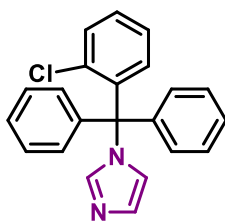


Figura 26. Estructura química del clotrimazol

El clotrimazol es un agente antifúngico derivado del imidazol (morado), y es gracias a este heterociclo que esta molécula es capaz de coordinarse con el Fe^{3+} presente en el grupo hemo.

Tabla 27. Análisis de consenso para la inhibición de CYP450 por la serie **YZN** por algunos programas quimioinformáticos

YZN	CYP	Inhibidor de CYP3A4			Resultado
		ACD/ToxSuite	SwissADME	PreADMET	
1	3A4	✓	✓	✓	
	2D6	✓	✓	✓	
	2C9	✓	✓	✓	
2	3A4	✓	✓	✓	
	2D6	✓		✓	
	2C9	✓		✓	
3	3A4	✓	✓	✓	
	2D6	✓		✓	
	2C9	✓	✓	✓	
4	3A4	✓	✓	✓	
	2D6	✓	✓	✓	
	2C9	✓	✓	✓	
5	3A4	✓	✓	✓	
	2D6	✓	✓	✓	
	2C9	✓		✓	
6	3A4	✓	✓	✓	
	2D6	✓		✓	
	2C9	✓	✓	✓	
7	3A4	✓	✓	✓	
	2D6	✓	✓	✓	
	2C9	✓	✓	✓	
8	3A4	✓	✓	✓	
	2D6	✓	✓	✓	
	2C9	✓	✓	✓	
9	3A4	✓	✓	✓	
	2D6	✓	✓	✓	
	2C9	✓	✓	✓	
10	3A4	✓		✓	
	2D6	✓	✓		
	2C9	✓		✓	
11	3A4	✓	✓	✓	
	2D6	✓	✓	✓	
	2C9	✓	✓	✓	
GW9509	3A4	✓	✓	✓	
	2D6	✓	✓	✓	
	2C9	✓	✓	✓	
Clotrimazol	3A4				
	2D6				
	2C9				

Verde: Muy satisfactorio; Amarillo: Moderado; Rojo: Poco satisfactorio

Como se puede observar en la **Tabla 27** no se calcula riesgo de inhibición hacia las isoformas seleccionadas por parte de la serie **YZN**, por lo cual no se espera que estas moléculas se vean asociadas a interacciones fármaco-fármaco dada su administración con algún otro agente terapéutico.

Análisis de consenso farmacológico

En la **Tabla 28** se resumen los resultados previamente discutidos, además se incluyen antecedentes de compuestos análogos a los propuestos, los cuales se ilustran en la **Figura 27**.

Tabla 28. Resumen del análisis de consenso

YZN	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Propiedades fisicoquímicas											
Log D _{7.4}	1.31	0.78	- 0.01	- 0.23	0.17	0.01	0.62	- 0.81	- 0.41	6.52	0.67
Solubilidad en agua											
Peso molecular											
Perfil farmacodinámico (Acoplamiento Molecular Automatizado)											
PTP-1B											
AR											
FFAR-1											
Perfil toxicológico											
Mutagenicidad											
Carcinogenicidad											
Bloqueo de canales hERG											
Perfil farmacocinético											
Absorción											
Sustrato de Pgp											
Inhibidor de CYP2C9											
Inhibidor de CYP2D6											
Inhibidor de CYP3A4											
Antecedentes experimentales de compuestos análogos											
Ensayo <i>in vivo</i>	Activo	Inactivo	No	No	Inactivo	No	No	No	No	Activo	No
Calificación											
Resultado											

Como se puede observar, las regiones hidrofóbicas de los compuestos seleccionados están conformados por un bifenilo en posición *meta*, un benceno 2,4-diclorado y por el ácido esteárico.

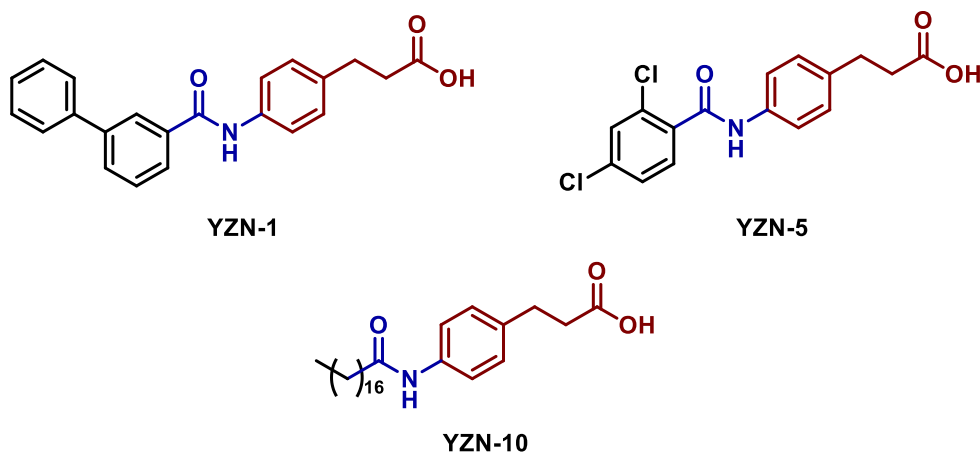


Figura 27. Estructuras de los compuestos con mayor prioridad

8.2. PARTE FARMACOLÓGICA

Una vez conociendo los compuestos líderes de la serie **YZN** mediante el análisis de consenso farmacológico y concluida su síntesis, purificación y asignación estructural mediante RMN, se llevó a cabo la evaluación de los compuestos mediante una prueba de tolerancia a la glucosa oral en ratones macho ICR.

Efecto antihiperglucemiante de los compuestos YZN-1, YZN-5 y YZN-10

En la **Figura 28** se muestran las actividades graficadas de los compuestos **1**, **5** y **10**, además del control negativo (Tween 80 al 10 %) y glibenclamida a una dosis de 5 mg/kg, destacando que los tres compuestos presentaron diferencias estadísticamente significativas en el minuto 30, abatiendo el pico hiperglucémico presentado en el grupo control.

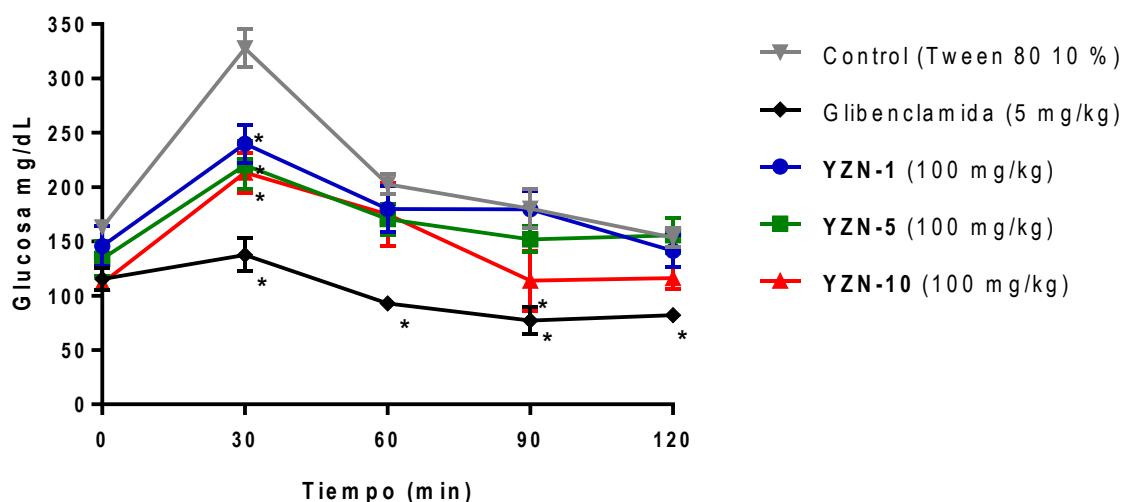


Figura 28. Prueba de tolerancia a la glucosa
ANOVA de dos vías, *post hoc* Dunnett ($n = 6 \pm \text{EEM}$, $p < 0.05$)

Cabe destacar que, graficando los resultados como área bajo la curva (**Figura 29**), el compuesto **10** es el que presentó la mejor actividad antihiperglucemiante, razón por la cual se decidió evaluar su efecto antidiabético mediante un ensayo agudo en un modelo murino de diabetes no insulino dependiente.

Aunque en las horas 1 y 3 la variación de glucemia con el compuesto **YZN-10** no mostró diferencia con el control, a las horas 5 y 7 se puede observar una diferencia estadísticamente significativa, logrando la disminución de los niveles de glucosa en un 30 % de manera similar a la glibenclamida. Debido a estos resultados, se tomó la decisión de evaluar el efecto tanto del compuesto **10** como del **5** mediante un ensayo *in vitro* de medición de movimiento de calcio en células de insulinoma pancreático.

Efecto en células de insulinoma pancreático

En la **Figura 31** se muestran las fotografías obtenidas del ensayo en las cuales es posible distinguir como el tinte Fluo-4AM emite mayor fluorescencia con los compuestos **YZN-5** y **YZN-10** que con glibenclamida y que con el control.

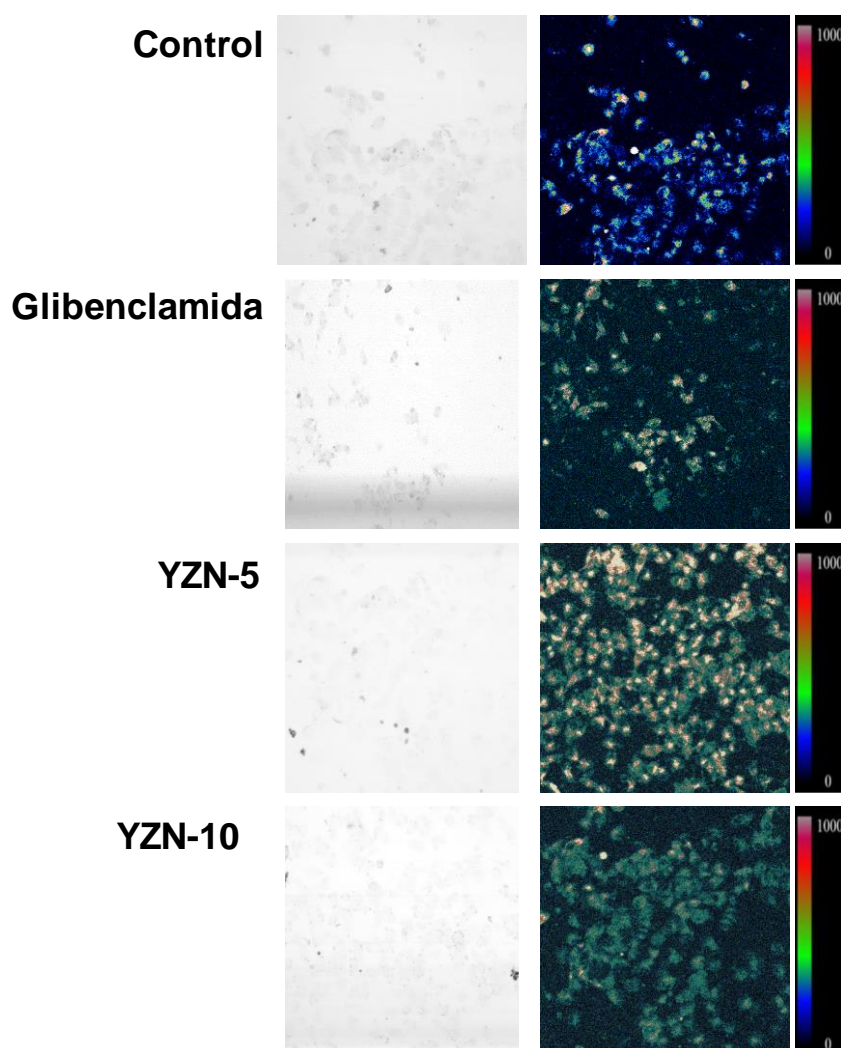


Figura 31. Efecto de los compuestos **YZN-5** y **YZN-10** sobre el movimiento de $[Ca^{2+}]_i$ en células de insulinoma pancreático

Para explicar de manera más clara estos resultados, en las **Figuras 32 – 33** se muestran los resultados cuantitativos del ensayo.

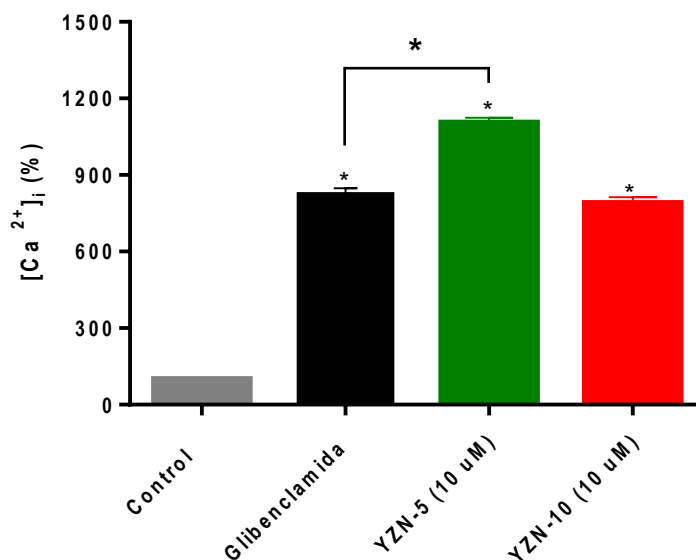


Figura 32. Movimiento de $[Ca^{2+}]_i$ en células RINm5F de YZN-5 y YZN-10
ANOVA de una vía, *post hoc* Dunnett (n = 5, \pm EEM, p < 0.05)

En la **Figura 32** se encuentran graficados los resultados en los cuales se puede observar que ambos compuestos presentaron una diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control. Además, el compuesto **YZN-5** tuvo un efecto más marcado que la glibenclamida, presentando una diferencia estadísticamente significativa.

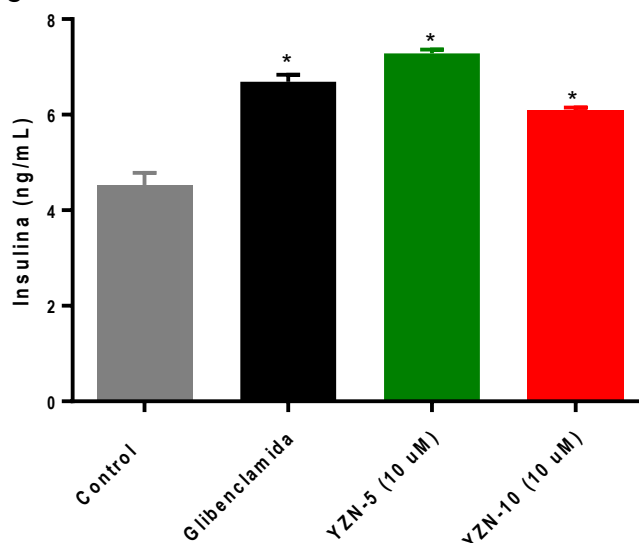


Figura 33. Secreción de insulina en células RINm5F
ANOVA de una vía, *post hoc* Dunnett (n = 5, \pm EEM, p < 0.05)

Por otro lado, también se evaluó la influencia en la secreción de la insulina de los compuestos **YZN-5** y **YZN-10**, resultados que se grafican en la **Figura 33**. En este caso, se puede observar que ambos compuestos lograron presentar un efecto

secretagogo de insulina similar a glibenclamida, estos tres presentando una diferencia estadísticamente significativa con el control. Estos hallazgos podrían indicar que el mecanismo de acción mediante el cual demostraron un efecto antihiperlicemiante *in vivo* posiblemente se encuentre ligado con la activación de FFAR-1, presente en células beta-pancreáticas, lo que corroboraría lo predicho por el análisis de consenso farmacológico y la hipótesis propuesta.

8.3. PARTE COMPUTACIONAL: *A posteriori*

Análisis de interacciones proteína-ligando

Posterior a los correspondientes análisis *in vitro* e *in vivo*, se llevó a cabo el análisis de los Protein-Ligand Interaction Fingerprint (PLIFs) de los compuestos más activos de la serie (**1**, **5** y **11**) sobre FFAR-1.

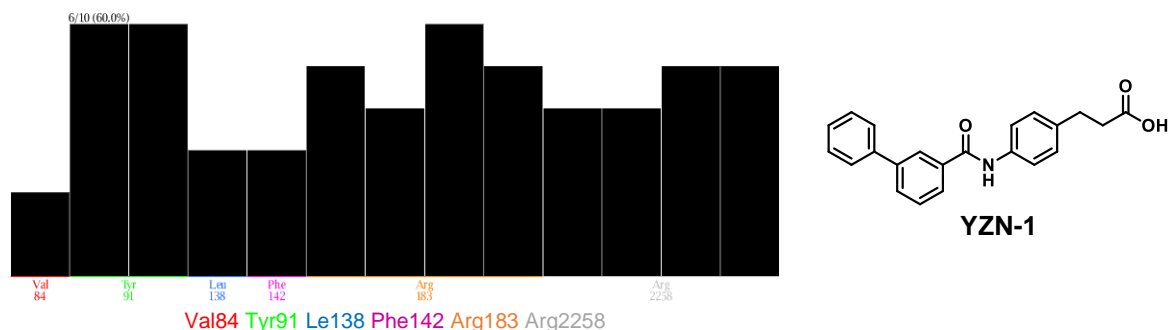


Figura 34. PLIF de YZN-1 sobre FFAR-1

Como se puede observar en la **Figura 34**, el compuesto **YZN-1** al adquirir diversas conformaciones (**Figura 35**) dentro de la proteína alcanza a conservar en un 60 % interacciones con Tyr91 y Arg183. Es importante recordar que estos aminoácidos pertenecen a lista de interacciones importantes que presenta este receptor con agonistas experimentales, por lo que el hecho de que las mantenga es de alta importancia para compuestos agonistas de este receptor.

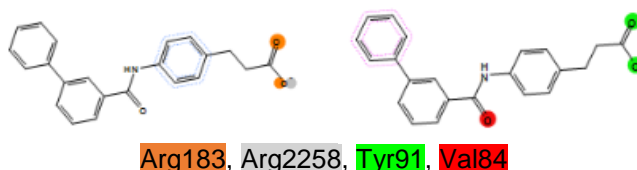


Figura 35. Diferentes conformaciones adquiridas por YZN-1 en el sitio de reconocimiento de FFAR-1

Por otro lado, en la **Figura 36** se observa la conformación más recurrente que adquirió **YZN-1** realizando el acoplamiento molecular tanto con AutoDock Vina con MOE en la que además de los aminoácidos previamente destacados, se observa una interacción π -H con Phe142, lo cual permite que la interacción con este receptor se vea aún más favorecida.

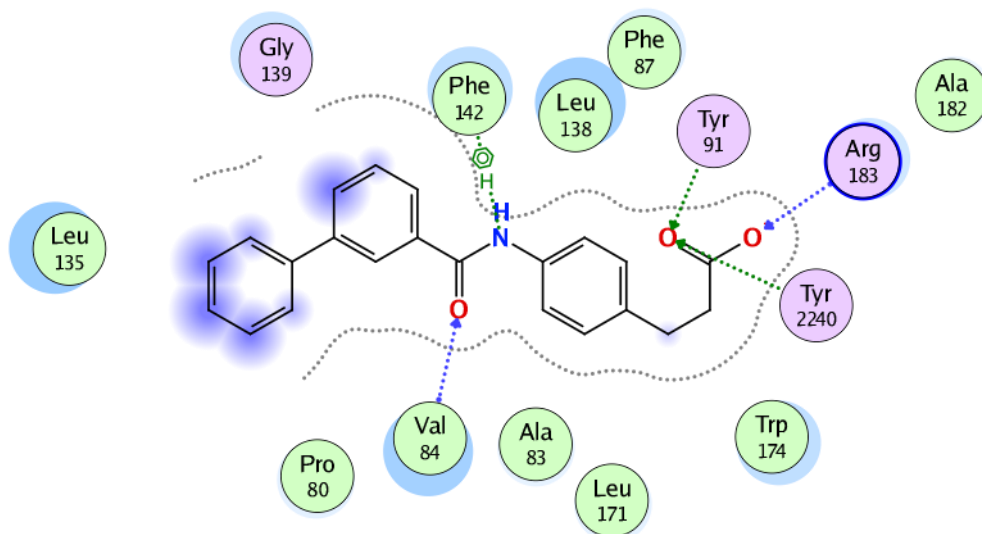


Figura 36. Esquema de interacciones 2D de **YZN-1** con FFAR-1

En la **Figura 37** se muestra el PLIF de **YZN-5** en el cual se puede observar que este compuesto conservó dos tipos de interacciones con Arg183 con un 80 % de retención.

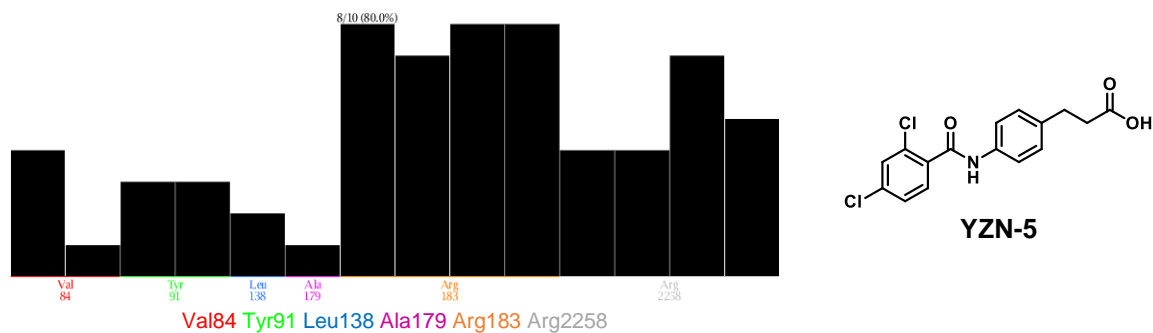


Figura 37. PLIF de **YZN-5** sobre FFAR-1

De igual manera la mayoría de las poses (**Figura 38**) conservan las interacciones con el residuo Arg183.

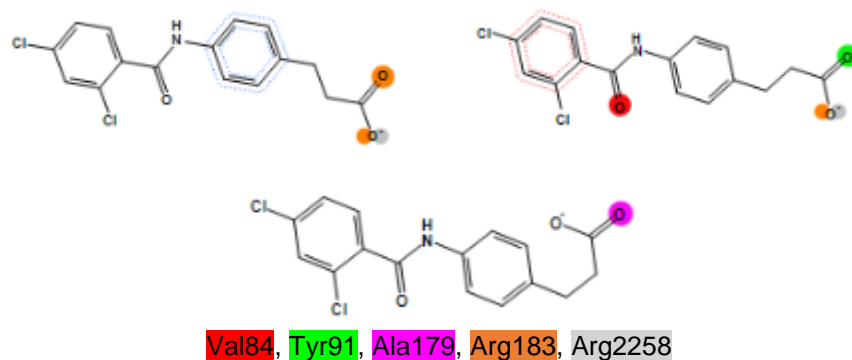


Figura 38. Diferentes conformaciones adquiridas por **YZN-5** en el sitio de reconocimiento de FFAR-1

Como se puede observar, las interacciones con los aminoácidos previamente discutidos se conservan. Esto también se encuentra reflejado en el diagrama de interacciones de la pose más recurrente calculada por ambos programas (**Figura 39**).

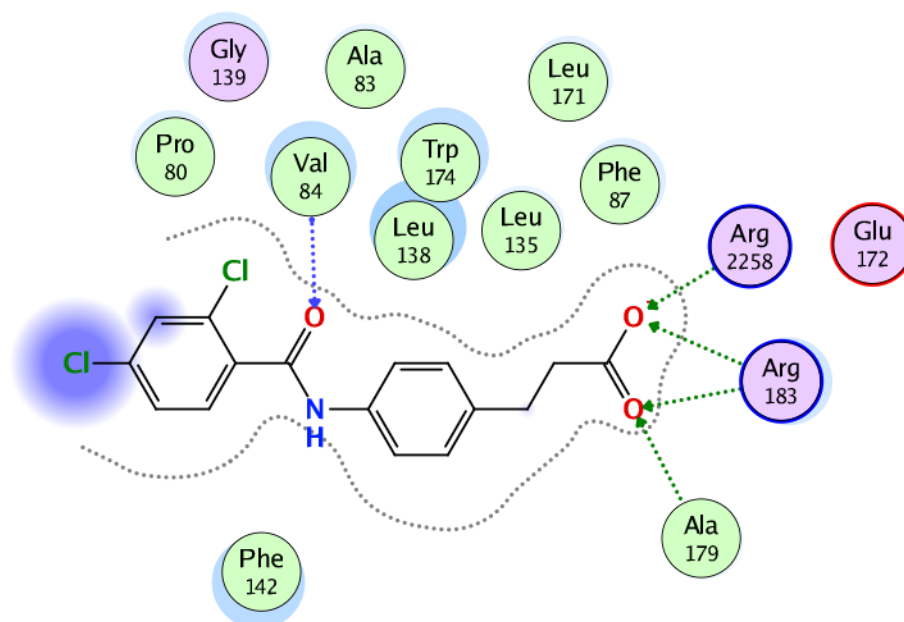


Figura 39. Esquema de interacciones 2D de **YZN-5** con FFAR-1

Por último, en la **Figura 40** se muestra el PLIF de **YZN-10** en el cual se puede observar que este compuesto conservó interacciones con Arg183 y Arg2258 con un 66.7 % de retención.

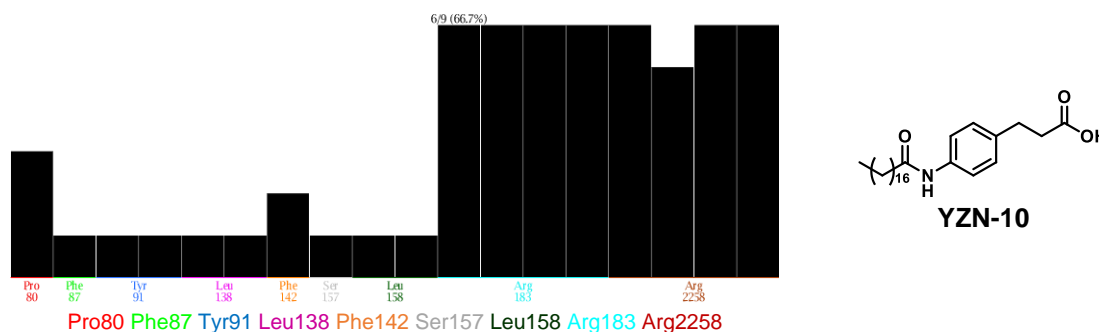
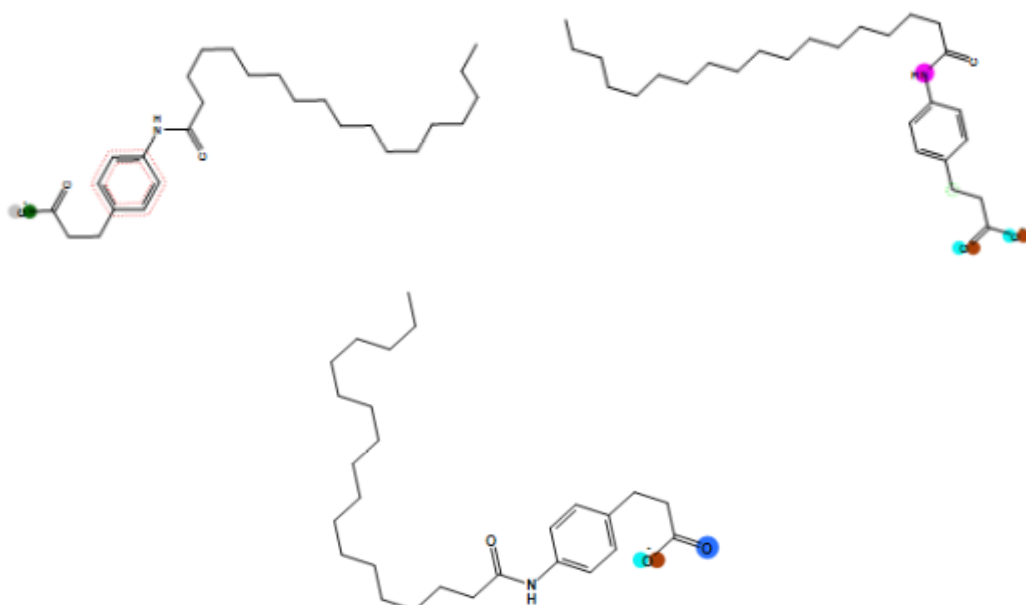


Figura 40. PLIF de **YZN-10** sobre FFAR-1

De igual manera la mayoría de las poses (**Figura 41**) conserva la interacción con el residuo Arg183.



Tyr91, Leu138, Leu158, Arg183, Arg2258

Figura 41. Diferentes conformaciones adquiridas por YZN-10 en el sitio de reconocimiento de FFAR-1

Como se puede observar, las interacciones con los aminoácidos previamente discutidos se conservan. Esto también se encuentra reflejado en el diagrama de interacciones de la pose más recurrente calculada por ambos programas (**Figura 42**).

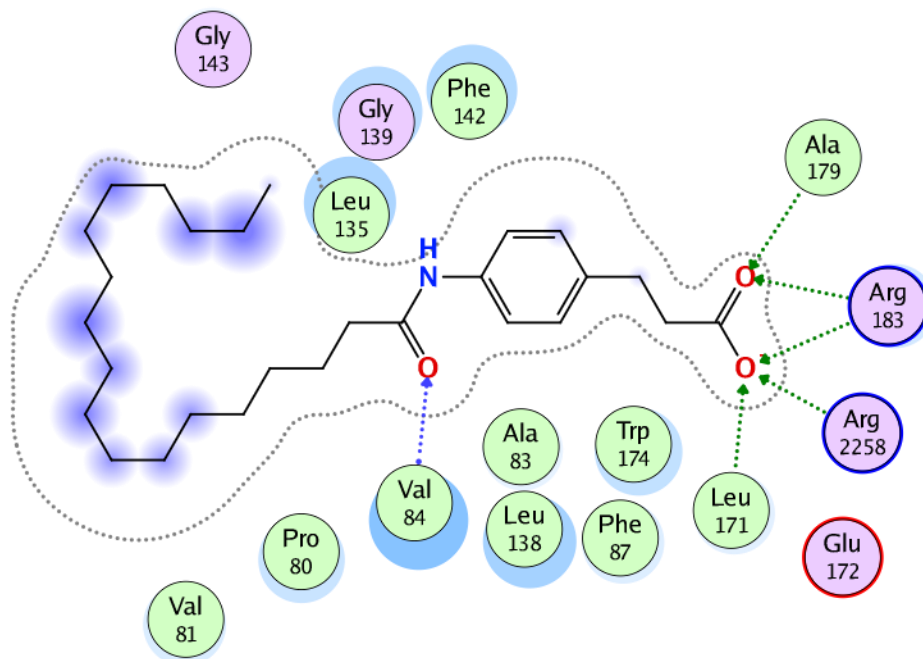


Figura 42. Esquema de interacciones 2D de YZN-10 con FFAR-1

9. CONCLUSIONES

- Se sintetizaron y caracterizaron los compuestos finales **YZN 1 – 10** con rendimientos buenos e intervalos de punto de fusión característicos de pureza.
- De acuerdo con el análisis de consenso farmacológico, los compuestos **YZN-1**, **YZN-5** y **YZN-10** son los candidatos computacionales seguros de la serie y se seleccionaron para pruebas *in vitro* e *in vivo*.
- Se corroboró el estatus de *hits* experimentales de los compuestos **YZN-1**, **YZN-5** y **YZN-10** mediante pruebas de tolerancia a la glucosa oral en ratones macho ICR normoglucémicos.
- El compuesto **YZN-10** presentó actividad como antihiper glucemiante en un ensayo antidiabético en ratones macho ICR inducidos con estreptozotocina y nicotinamida.
- Los compuestos **YZN-5** y **YZN-10** aumentaron tanto el movimiento de calcio intracelular, como la secreción de insulina en células RINm5F de insulinoma pancreático de manera estadísticamente significativa.
- Los resultados predichos *in silico* por el análisis de consenso farmacológico tuvieron una correlación alta con los ensayos experimentales realizados.

10.PERSPECTIVAS

- Corroborar el perfil toxicológico de los compuestos **YZN-1**, **YZN-5** y **YZN-10** de manera experimental.
- Obtener la DE_{50} del compuesto **YZN-10** en un modelo murino DNID.
- Realizar un ensayo sub-crónico para analizar el comportamiento a mediano plazo del compuesto **YZN-10**.
- Explorar más compuestos derivados del ácido 3-(4-aminofenil)propiónico con fragmentos de ácidos grasos como regiones hidrofóbicas.

11. PARTE EXPERIMENTAL

11.1. Instrumentación

Para llevar a cabo las reacciones necesarias para la síntesis de los compuestos, se requirió de una parrilla de calentamiento equipada con agitación magnética de la marca Science Med y matraces bola de 5, 10, y 50 mL acoplados con agitadores y refrigerantes en posición de reflujo.

Para las reacciones de hidrogenación se empleó un reactor de la marca Parr Instruments®. Además, para evaporar los disolventes empleados se le dio uso a un rotaevaporador marca Büchi® acoplado a vacío con una bomba marca Felisa® y una de alto vacío, cuando fuese necesario, de la marca BÜCHI®.

Finalmente, los puntos de fusión se determinaron en un aparato Stanford Research System, modelo EZ-Melt®.

Los espectros de resonancia magnética nuclear y de masas se obtuvieron gracias a la colaboración con el Dr. Emanuel Hernández Núñez del Departamento de Recursos del Mar, CINVESTAV, unidad Mérida y la Dra. Gabriela Ávila Villarreal de la Universidad Autónoma de Nayarit.

Todos los programas utilizados, a excepción de ACD/ToxSuite y MOE, que requieren una licencia disponible en el laboratorio 5, fueron instalados o ejecutados en una laptop Lenovo® modelo ideapad® 500 con SO: Windows 7 y Linux de 64 bits, procesador Intel® core i7.

Los cálculos que requirieron del uso de supercómputo se llevaron a cabo en colaboración con el Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México (LNS), el cual cuenta con 3 servidores IBM AC922 Power9, 2 procesadores Power9 de 20 cores, 1024 GB de memoria RAM, 2 discos duros SSD SATA de 1.9 TB, 4 tarjetas NVIDIA Volta V100 con NVLINK.

11.2. Cromatografía de capa fina y en columna

Para el seguimiento de las reacciones se empleó la técnica de cromatografía por capa fina. Además, para la purificación de algunos compuestos se llevó a cabo cromatografías de columna utilizando los sistemas de elución que se muestran en la **Tabla 29**.

Tabla 29. Sistemas de elución empleados

Sistema	Proporción	Composición
I	9:1	Hex:AcOEt
II	8:2	Hex:AcOEt
III	7:3	Hex:AcOEt
IV	6:4	Hex:AcOEt
V	1:1	Hex:AcOEt

11.3. Reactivos y costo

Para sintetizar los compuestos de la serie **YZN** se emplearon los siguientes (**Tabla 30**) reactivos adquiridos de la casa química Sigma-Aldrich®, ahora Merck®.

Tabla 30. Relación de costos de los reactivos empleados para el presente proyecto

Nombre	CAS	Costo (MXN)*	Cantidad
Ácido 3-fenilpropiónico	501-52-0	\$1,525.00	100 g
Cloruro de 3-fenilbenzoilo	42498-44-2	\$1,432.00	1 g
Cloruro de 1-naftoilo	879-18-5	\$988.00	10 g
Cloruro de 4-clorobenzoilo	122-01-0	\$742.00	100 g
Cloruro de 4-fluorobenzoilo	403-43-0	\$3,138.00	100 g
Cloruro de 2,4-diclorobenzoilo	89-75-8	\$1,414.00	100 g
Cloruro de 4-metilbenzoilo	874-60-2	\$596.00	100 g
Cloruro de 4-cianobenzoilo	6068-72-0	\$2,105.00	5 g
Cloruro de 4-(trifluorometil)benzoilo	329-15-7	\$692.00	1 g
Cloruro de 4-nitrobenzoilo	122-04-3	\$927.00	50 g
Cloruro de estearoilo	112-76-5	\$2,291.00	5 g
Cloruro de cinamoilo	102-92-1	\$814.00	100 g

*Al año 2019

11.4. Parte química

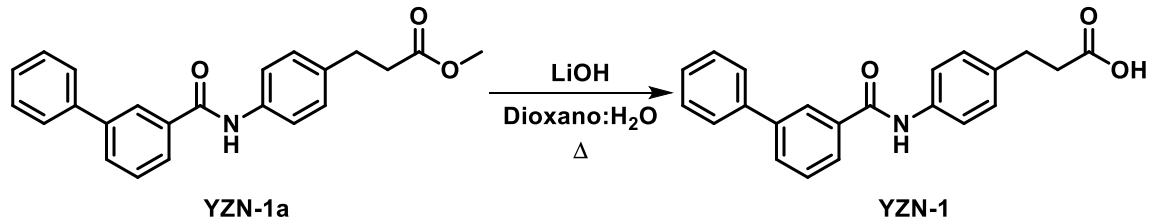
Metodología general de hidrólisis de ésteres mediante el uso de LiOH

En un matraz bola de 10 mL de una boca, acoplado con agitación magnética, parrilla de calentamiento y refrigerante en posición de reflujo se añadió 1 equivalente del precursor **YZN 1 – 11a** disuelto en 1 mL de dioxano. Posteriormente, se añadieron 6 equivalentes de LiOH y 5 gotas de agua. Una vez concluida la adición se inició el calentamiento hasta llegar a reflujo y se mantuvo la temperatura a 90 °C durante 1 hora.

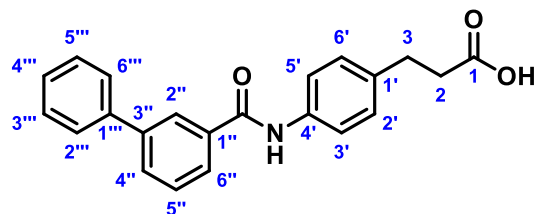
Se llevó a cabo el monitoreo de la reacción mediante cromatografía de capa fina empleando el sistema de elución **III** y al observar que sólo se formaba una mancha diferente a la del precursor, se detuvo el calentamiento y una vez a temperatura ambiente se filtró un precipitado blanco que se formó conforme se enfriaba la reacción.

El sólido recuperado se dejó secar durante 24 horas, tras lo cual se pasó a un matraz bola de 10 mL de una boca, acoplado con baño de hielo y agitación magnética y se le añadió alrededor de 1 mL de agua fría para llevar a un pH ácido de 4 añadiendo gota por gota una solución de HCl al 30 % v/v partiendo de un pH inicial básico de 14. Una vez alcanzado este pH se dejó en agitación durante 20 minutos y después se filtró un sólido.

Obtención del ácido 3-(4-([1,1'-bifenil]-3-carboxamido)fenil)propiónico (YZN-1)



Mediante la metodología general de hidrólisis de ésteres mediante LiOH se obtuvo un sólido blanco con un punto de fusión de 234.3 – 235.1 °C y con un rendimiento del 69 %.

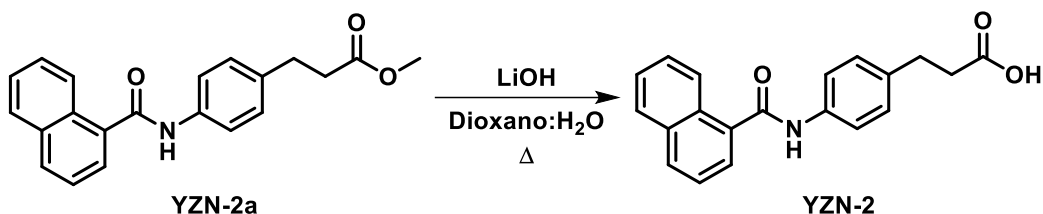


RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.85 (s, 1H, NH), 8.74 (dd, *J* = 1.1 Hz, 1H, H2''), 8.45 (dd, *J* = 7.8, 1.1 Hz, 1H, H6''), 8.37 (dd, *J* = 7.8, 1.1 Hz, 1H, H4''), 8.28 (dd, *J* = 7.4, 1.2 Hz, 2H, H2''', H6'''), 8.19 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H2', H6'), 8.11 (dd, *J* = 7.8 Hz, 1H, H5''), 8.01 (dd, *J* = 7.4 Hz, 2H, H3''', H5'''), 7.92 (ddd, *J* = 7.4, 1.2 Hz, 1H, H4'''), 7.70 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H3', H5'), 3.29 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, H2), 2.89 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, H3).

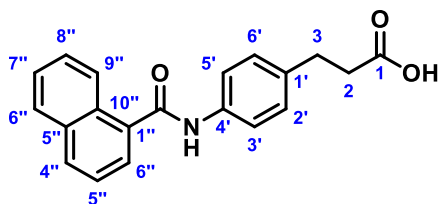
RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 175.6 (C1), 165.7 (C=O), 140.7 (C3''), 140.0 (C1'''), 137.9 (C1'), 137.3 (C4'), 136.2 (C1''), 130.1 (C4''), 129.5 (C2''), 129.5 (C3''', C5'''), 128.7 (C2''', C6'''), 128.3 (C4'''), 127.4 (C2', C6'), 127.3 (C6''), 126.3 (C5''), 121.0 (C3', C5'), 38.1 (C3), 31.3 (C2).

EM (IE): *m/z* (% int. rel). 359 (M⁺, 35 %), 184 (100 %), 152 (40 %).

Obtención del ácido 3-(4-(1-naftamido)fenil)propiónico (YZN-2)



Mediante la metodología general de hidrólisis de ésteres mediante LiOH se obtuvo un sólido blanco con un punto de fusión de $> 280\text{ }^{\circ}\text{C}$ y con un rendimiento del 75 %.

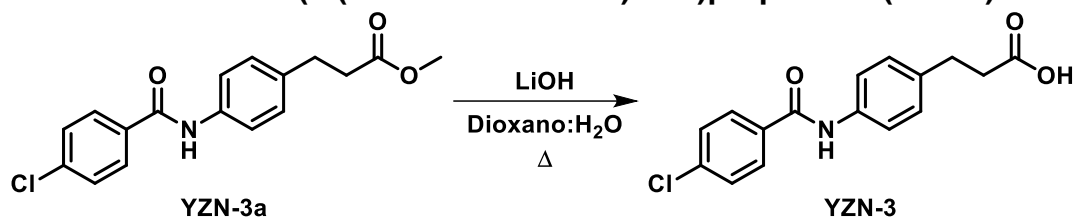


RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.46 (s, 1H, NH), 8.15 (dd, $J = 8.2, 2.9$ Hz, 1H, H2''), 8.04 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H4''), 7.99 (dd, $J = 8.2, 2.9$ Hz, 1H, H3''), 7.70 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H9''), 7.65 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H2', H6'), 7.59 – 7.54 (m, 3H, H6'', H7'', H8''), 7.16 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H3', H5'), 2.72 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H, H2), 2.18 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H, H3).

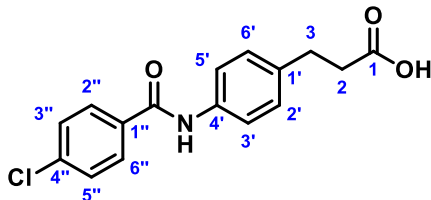
RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 167.5 (C=O), 135.4 (C4'), 133.6 (C8''), 130.4 (C4''), 130.1 (C1''), 128.8 (C2', C6'), 128.7 (C5''), 127.4 (C6''), 126.8 (C10''), 125.8 (C2''), 125.6 (C3''), 125.5 (C7''), 120.2 (C3', C5'), 40.3 (C3), 32.38 (C2).

EM (IE): m/z (% int. rel). 333 (M^+ , 25 %), 155 (100 %), 127 (50 %).

Obtención del ácido 3-(4-(4-clorobenzamido)fenil)propiónico (YZN-3)



Mediante la metodología general de hidrólisis de ésteres mediante LiOH se obtuvo un sólido blanco con un punto de fusión de 255.5 – 257.8 °C y con un rendimiento del 75 %.

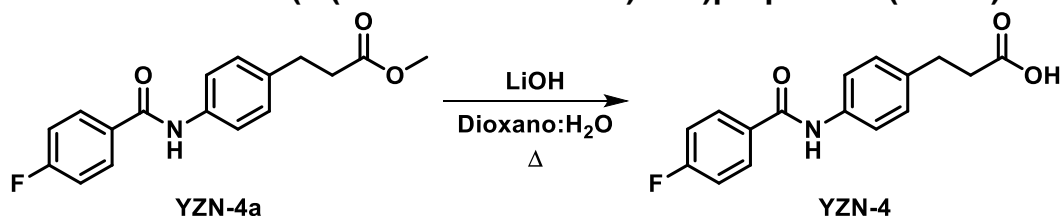


RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.24 (s, 1H, NH), 7.95 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H2', H6'), 7.62 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H, H3'', H5''), 7.56 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H3', H5'), 7.17 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H, H2'', H6''), 2.76 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, H2), 2.40 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, H3).

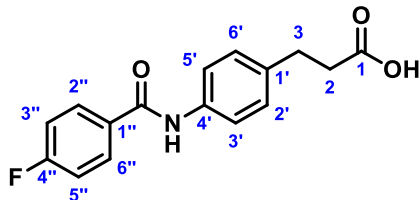
RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 174.8 (C1), 164.7 (C=O), 137.6 (C1''), 137.2 (C4''), 136.7 (C1'), 130.1 (C2''), 130.0 (C3''), 128.7 (C3', C5'), 120.9 (C2', C6'), 40.1 (C3), 30.9 (C2).

EM (IE): m/z (% int. rel). 317 (M+, 10 %), 139 (100 %), 111 (35 %).

Obtención del ácido 3-(4-(4-fluorobenzamido)fenil)propiónico (YZN-4)



Mediante la metodología general de hidrólisis de ésteres mediante LiOH se obtuvo un sólido blanco con un punto de fusión de 228.2 – 230.0 °C y con un rendimiento del 75 %.

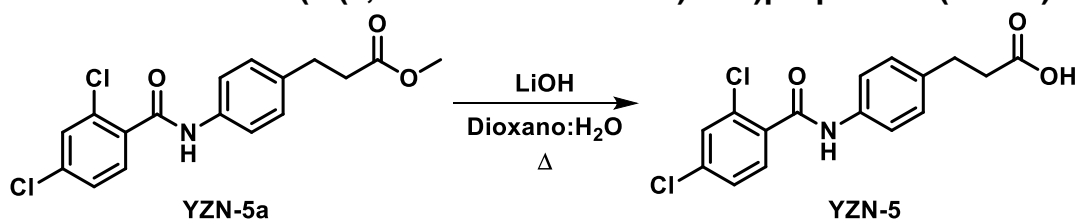


RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.17 (s, 1H, NH), 8.00 (dd, $J = 8.9, 3.3$ Hz, 2H, H2'', H6''), 7.62 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H2', H6'), 7.33 (dd, $J = 8.9$ Hz, 2H, H3'', H5''), 7.17 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H3', H5'), 2.77 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H, H2), 2.49 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, H3).

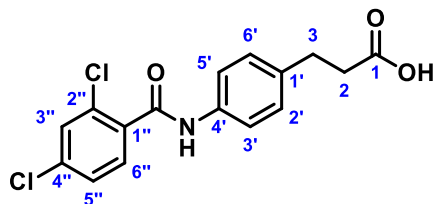
RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 174.3 (C1), 164.7 (C=O), 164.5 (d, $J = 248.6$, C4''), 137.5 (C1'), 136.7 (C4'), 131.9 (d, $J = 3.2$, C1''), 130.7 (d, $J = 8.9$, C2'', C6''), 129.1 (C2', C6'), 128.5 (C3', C5'), 115.7 (d, $J = 21.2$, C3'', C5''), 35.9 (C3), 30.3 (C2).

EM (IE): m/z (% int. rel). 301 (M^+ , 55 %), 123 (100 %), 95 (35 %).

Obtención del ácido 3-(4-(2,4-diclorobenzamido)fenil)propiónico (YZN-5)



Mediante la metodología general de hidrólisis de ésteres mediante LiOH se obtuvo un sólido blanco con un punto de fusión de 201.0 – 202.5 °C y con un rendimiento del 75 %.

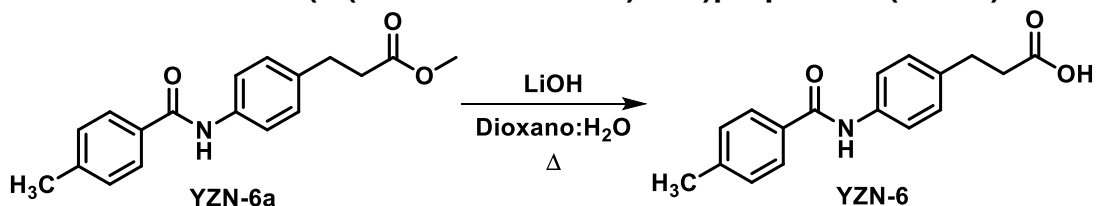


RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.93 (s, 1H, NH), 8.25 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H3''), 8.11 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, H6''), 8.10 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H2', H6'), 8.05 (dd, *J* = 8.2, 2.0 Hz, 1H, H5''), 7.71 (d, *J* = 8.4, 2H, H3', H5'), 3.30 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H2), 3.02 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H3).

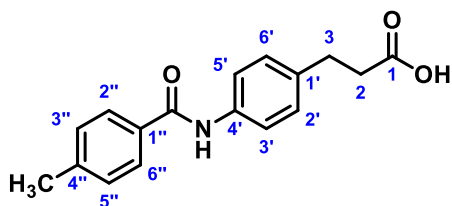
RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 174.2 (C1), 164.3 (C=O), 137.2 (C1'), 137.1 (C2''), 136.4 (C4'), 135.2 (C1''), 131.7 (C4''), 130.8 (C6''), 129.6 (C3'', C5''), 129.0 (C2', C6'), 127.9 (C5''), 120.1 (C3', C5'), 35.9 (C3), 30.4 (C2).

EM (IE): *m/z* (% int. rel). 337 (M⁺, 10 %), 173 (100 %), 145 (30 %).

Obtención del ácido 3-(4-(4-metilbenzamido)fenil)propiónico (YZN-6)



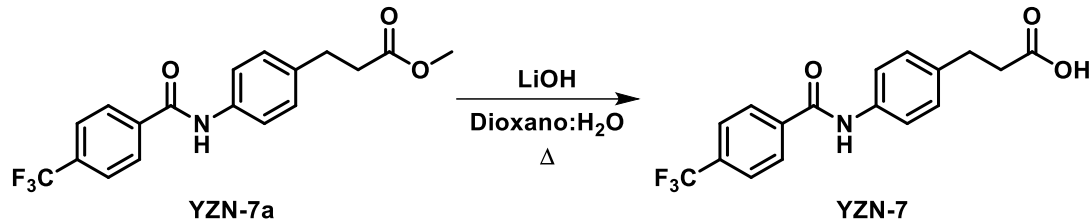
Mediante la metodología general de hidrólisis de ésteres mediante LiOH se obtuvo un sólido blanco que fue recristalizado con MeOH obteniendo cristales blancos con un punto de fusión de 201.0 – 202.5 °C y con un rendimiento del 86 %.



RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.67 (s, 1H, NH), 8.40 (d, J = 8.1 Hz, 2H, H2'', H6''), 8.20 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H2', H6'), 7.81 (d, J = 8.1 Hz, 2H, H3'', H5''), 7.69 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H3', H5'), 3.30 (t, J = 7.7 Hz, 2H, H2), 3.03 (t, J = 7.7 Hz, 2H, H3), 2.88 (s, 3H, CH₃).

RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 174.2 (C1), 165.7 (C=O), 141.9 (C4''), 137.7 (C1'), 136.5 (C4'), 132.5 (C1''), 129.3 (C3'', C5''), 128.7 (C2'), 128.2 (C2'', C6''), 121.0 (C3', C5'), 35.9 (C3), 30.4 (C2), 21.5 (CH₃).

Obtención del ácido 3-(4-(4-(trifluorometil)benzamido)fenil)propiónico (YZN-7)

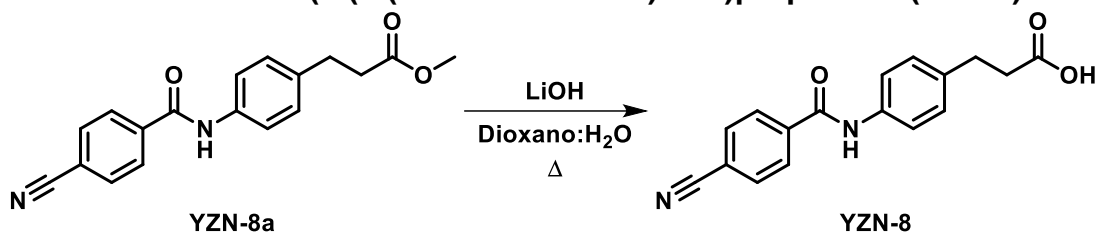


Mediante la metodología general de hidrólisis de ésteres mediante LiOH se obtuvo un sólido blanco que fue recristalizado con MeOH obteniendo un sólido blanco con un punto de fusión mayor a 280 °C y con un rendimiento del 52 %.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.67 (s, 1H, NH), 8.40 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, H2'', H6''), 8.20 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H2', H6'), 7.81 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, H3'', H5''), 7.69 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H3', H5'), 3.30 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, H2), 3.03 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, H3), 2.88 (s, 3H, CH₃).

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 174.2 (C1), 165.7 (C=O), 141.9 (C4''), 137.7 (C1'), 136.5 (C4'), 132.5 (C1''), 129.3 (C3'', C5''), 128.7 (C2'), 128.2 (C2'', C6''), 121.0 (C3', C5'), 35.9 (C3), 30.4 (C2), 21.5 (CH₃).

Obtención del ácido 3-(4-(4-(cianobenzamido)fenil)propiónico (YZN-8)



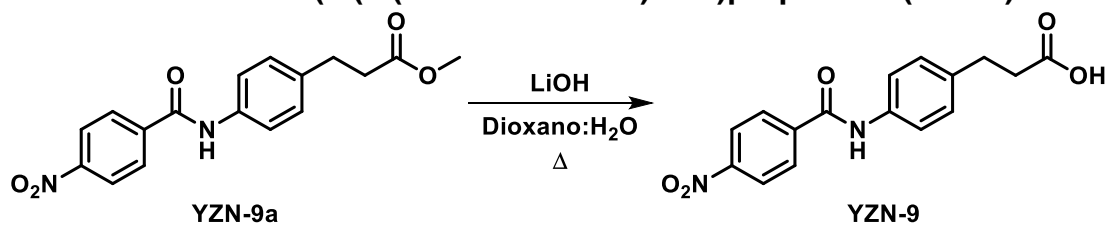
Mediante la metodología general de hidrólisis de ésteres mediante LiOH se obtuvo un sólido blanco con un punto de fusión de 254.5 – 257.0 °C y con un rendimiento del 77 %.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.93 (s, 1H, NH), 8.25 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H3''), 8.11 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, H6''), 8.10 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H2', H6'), 8.05 (dd, *J* = 8.2, 2.0 Hz, 1H, H5''), 7.71 (d, *J* = 8.4, 2H, H3', H5'), 3.30 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H2), 3.02 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H3).

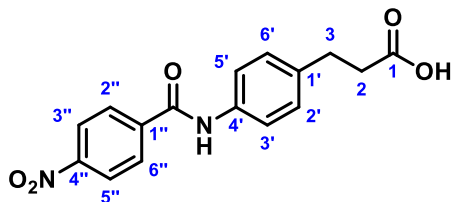
RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 174.2 (C1), 164.3 (C=O), 137.2 (C1'), 137.1 (C2''), 136.4 (C4'), 135.2 (C1''), 131.7 (C4''), 130.8 (C6''), 129.6 (C3'', C5''), 129.0 (C2', C6'), 127.9 (C5''), 120.1 (C3', C5'), 35.9 (C3), 30.4 (C2).

EM (IE): *m/z* (% int. rel). 308 (M⁺, 45 %), 130 (100 %), 102 (50 %).

Obtención del ácido 3-(4-(4-(nitrobenzamido)fenil)propiónico (YZN-9)



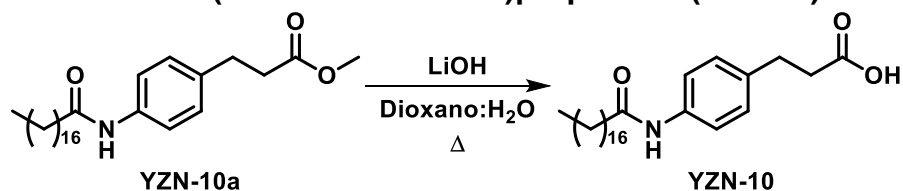
Mediante la metodología general de hidrólisis de ésteres mediante LiOH se obtuvo un sólido amarillo con un punto de descomposición de 206.4 °C y con un rendimiento del 75 %.



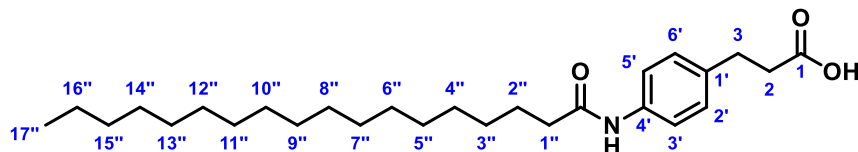
RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.48 (s, 1H, NH), 8.34 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, H3'', H5''), 8.15 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, H2'', H6''), 7.65 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H2', H6'), 7.20 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H3', H5'), 2.78 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, H2), 2.50 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, H3).

RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 174.2 (C1), 164.1 (C=O), 149.5 (C4''), 141.1 (C1''), 137.2 (C1'), 129.7 (C4'), 129.2 (C2'', C6''), 128.6 (C2', C6'), 124.1 (C3'', C5''), 123.9 (C3', C5'), 35.8 (C3), 30.3 (C2).

Obtención del ácido 3-(4-estearamidofenil)propiónico (YZN-10)



Mediante la metodología general de hidrólisis de ésteres mediante LiOH se obtuvo un sólido blanco con un punto de descomposición de 239.4 °C y con un rendimiento del 71 %.



RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.67 (s, 1H, NH), 8.40 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, H2'', H6''), 8.20 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H2', H6'), 7.81 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, H3'', H5''), 7.69 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H3', H5'), 3.30 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, H2), 3.03 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, H3), 2.88 (s, 3H, CH₃).

RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 174.2 (C1), 165.7 (C=O), 141.9 (C4''), 137.7 (C1'), 136.5 (C4'), 132.5 (C1''), 129.3 (C3'', C5''), 128.7 (C2'), 128.2 (C2'', C6''), 121.0 (C3', C5'), 35.9 (C3), 30.4 (C2), 21.5 (CH₃).

Metodología general de obtención de amidas a partir de cloruros de ácido

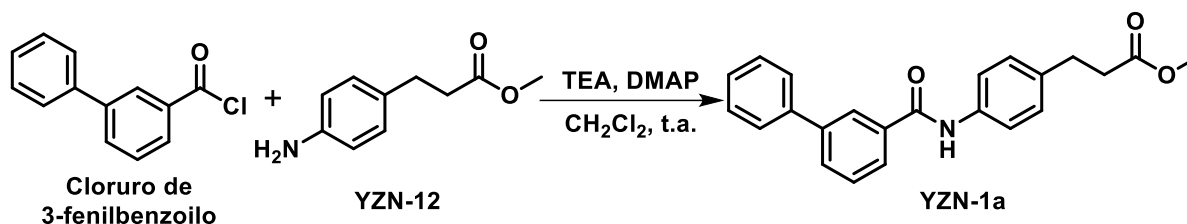
En un matraz bola de 10 mL de una boca acoplado con embudo de adición por presiones igualadas, baño de hielo y agitación magnética se añadió 1 equivalente del precursor 3-(4-aminofenil)propionato de metilo (**YZN-12**) disuelto en 1 mL de CH_2Cl_2 y 1.1 equivalentes de trietilamina. Esta mezcla se dejó en agitación durante 15 minutos.

Por otro lado, al embudo de adición se le añadieron 1.1 equivalentes del cloruro de ácido disueltos en 0.5 mL de CH_2Cl_2 seco. Se inició la adición y se mantuvo por alrededor de 40 minutos. Una vez completada, se retiró el baño de hielo y se dejó proseguir la reacción durante 3 horas cambiando el embudo de adición por una columna Vigreux.

Se llevó a cabo el control de proceso mediante cromatografía de capa fina empleando el sistema de elución I observando la completa desaparición de las materias primas y la formación de una mancha correspondiente al producto, tras lo cual se detuvo la agitación y se rotaevaporó el disolvente.

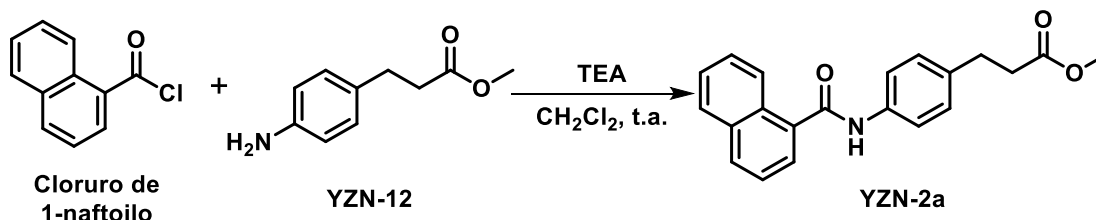
Una vez obtenido un sólido, este fue tratado con agua fría y se filtró.

Obtención del 3-(4-([1,1'-bifenil]-3-carboxamido)fenil)propionato de metilo (YZN-1a)



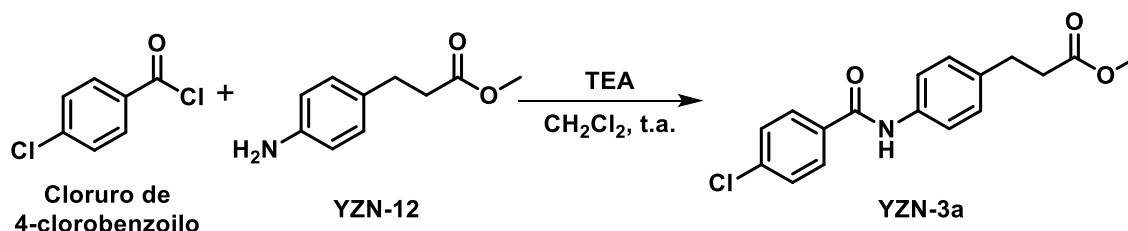
Mediante la metodología general de obtención de amidas a partir de cloruros de ácidos se obtuvo un sólido blanco que fue purificado mediante recrystalización con MeOH obteniendo unos cristales blancos de hojuela con un punto de fusión de 77.3 – 80.8 °C y con un rendimiento del 82 %.

Obtención del 3-(4-(1-naftamido)fenil)propionato de metilo (YZN-2a)



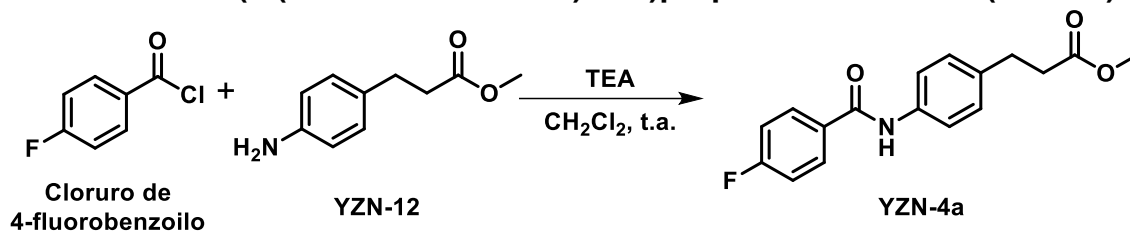
Mediante la metodología general de obtención de amidas a partir de cloruros de ácidos se obtuvo un sólido blanco que fue purificado mediante repulpados con MeOH obteniendo un sólido blanco con un punto de fusión de 116.8 – 121.4 °C y con un rendimiento del 86 %.

Obtención del 3-(4-(4-clorofenil)benzamido)propionato de metilo (YZN-3a)



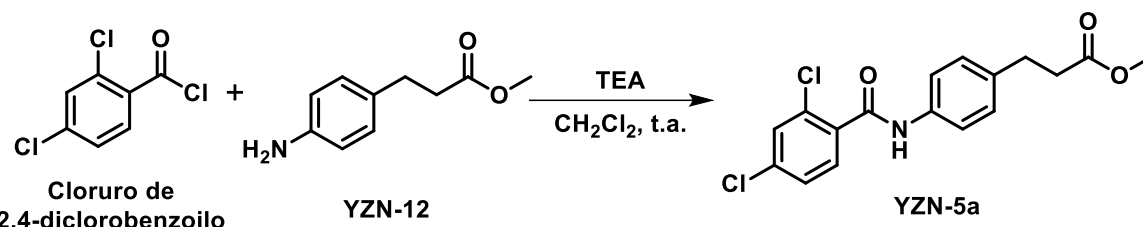
Mediante la metodología general de obtención de amidas a partir de cloruros de ácidos se obtuvo un sólido blanco que fue purificado mediante repulpados con MeOH obteniendo un sólido blanco con un punto de fusión de 146.4 – 147.9 °C y con un rendimiento del 86 %.

Obtención del 3-(4-(4-fluorobenzamido)fenil)propionato de metilo (YZN-4a)



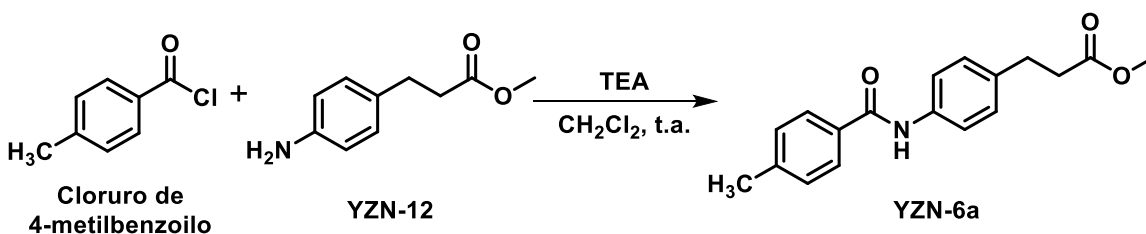
Mediante la metodología general de obtención de amidas a partir de cloruros de ácidos se obtuvo un sólido blanco que fue purificado mediante repulpados con MeOH obteniendo un sólido blanco con un punto de fusión de 110.7 – 113.0 °C y con un rendimiento del 96 %.

Obtención del 3-(4-(2,4-diclorobenzamido)fenil)propionato de metilo (YZN-5)



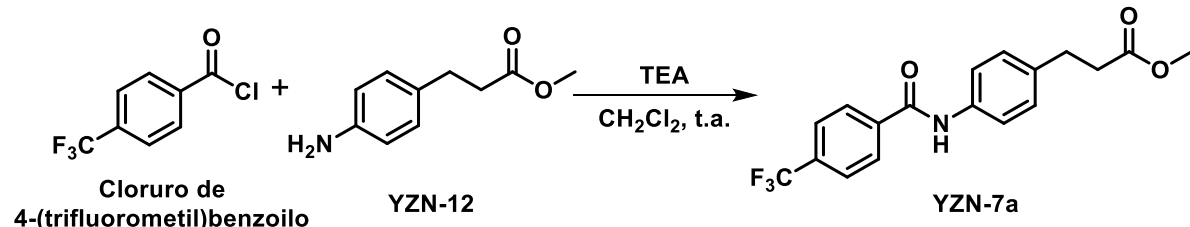
Mediante la metodología general de obtención de amidas a partir de cloruros de ácidos se obtuvo un sólido blanco que fue purificado mediante repulpados con MeOH obteniendo un sólido blanco con un punto de fusión de 90.8 – 92.1 °C y con un rendimiento del 96 %.

Obtención del 3-(4-(4-metilbenzamido)fenil)propionato de metilo (YZN-6a)



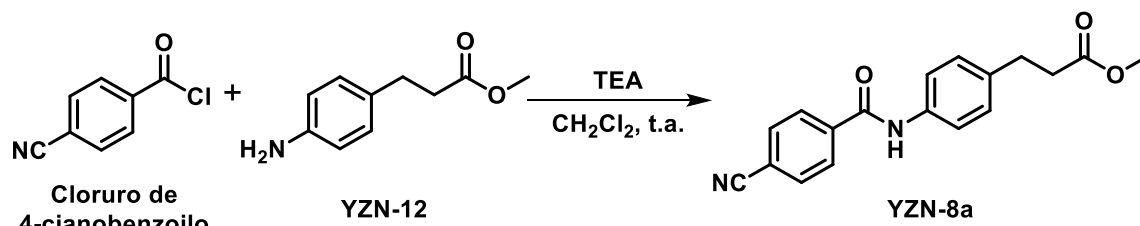
Mediante la metodología general de obtención de amidas a partir de cloruros de ácidos se obtuvo un sólido blanco que fue purificado mediante repulpados con MeOH obteniendo un sólido blanco con un punto de fusión de 117.8 – 119.5 °C y con un rendimiento del 78 %.

Obtención del 3-(4-(4-(trifluorometil)benzamido)fenil)propionato de metilo (YZN-7a)



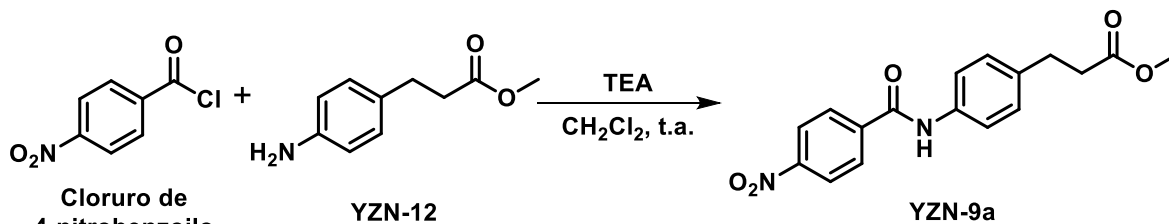
Mediante la metodología general de obtención de amidas a partir de cloruros de ácidos se obtuvo un sólido blanco que fue purificado mediante repulpados con MeOH obteniendo un sólido blanco con un punto de fusión de 117.8 – 119.5 °C y con un rendimiento del 78 %.

Obtención del 3-(4-(4-(cianobenzamido)fenil)propionato de metilo (YZN-8a)



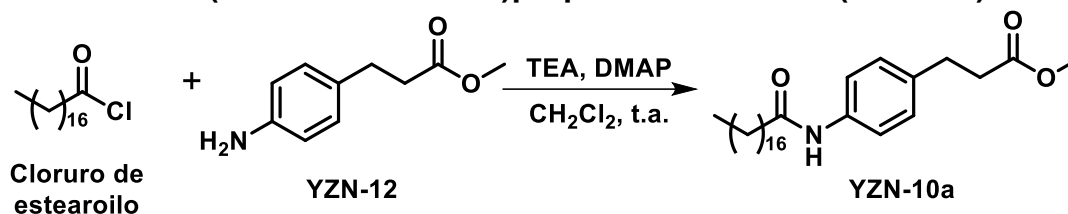
Mediante la metodología general de obtención de amidas a partir de cloruros de ácidos se obtuvo un sólido blanco que fue purificado mediante repulpados con MeOH obteniendo un sólido blanco con un punto de fusión de 117.8 – 119.5 °C y con un rendimiento del 78 %.

Obtención del 3-(4-(4-(nitrobenzamido)fenil)propionato de metilo (YZN-9a)



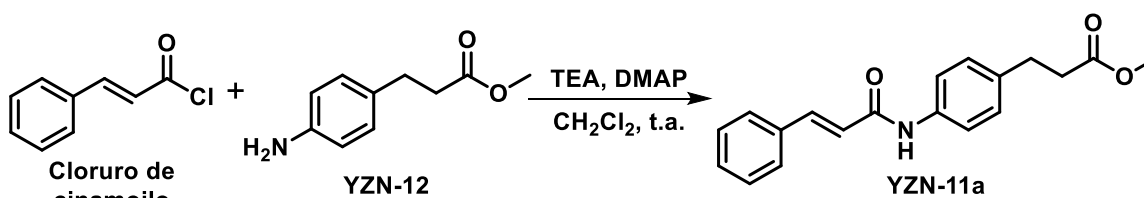
Mediante la metodología general de obtención de amidas a partir de cloruros de ácidos se obtuvo un sólido blanco que fue purificado mediante repulpados con MeOH obteniendo un sólido blanco con un punto de fusión de 117.8 – 119.5 °C y con un rendimiento del 78 %.

Obtención del 3-(4-estearamidofenil)propionato de metilo (YZN-10a)



Mediante la metodología general de obtención de amidas a partir de cloruros de ácidos se obtuvo un sólido blanco que fue purificado mediante repulpados con MeOH obteniendo un sólido blanco con un punto de fusión de 117.8 – 119.5 °C y con un rendimiento del 78 %.

Obtención del 3-(4-cinamamidofenil)propionato de metilo (YZN-11a)

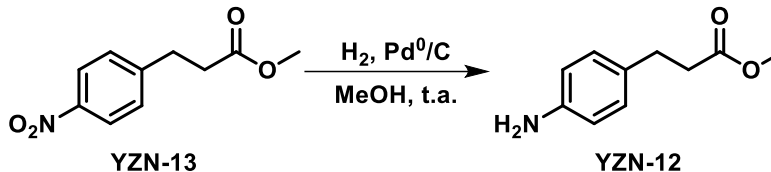


En un matraz bola de 10 mL de una boca acoplado con embudo de adición por presiones igualadas, baño de hielo y agitación magnética se añadió 1 equivalente del precursor 3-(4-aminofenil)propionato de metilo (YZN-12) disuelto en 1.5 mL de CH₂Cl₂ y 1.1 equivalentes de trietilamina. Esta mezcla se dejó en agitación durante 15 minutos.

Por otro lado, al embudo de adición se le añadieron 1.1 equivalentes del cloruro de 4-cianobenzoilo disueltos en 0.5 mL de CH₂Cl₂ seco. Se inició la adición y se mantuvo por alrededor de 40 minutos. Una vez completada, se retiró el baño de hielo y se dejó proseguir la reacción durante 3 horas cambiado el embudo de adición por una columna Vigreux.

Se llevó a cabo el control de proceso mediante cromatografía de capa fina empleando el sistema de elución III observando la completa desaparición de las materias primas y la formación de una mancha correspondiente al producto, tras lo cual se detuvo la agitación y se rotaevaporó el disolvente obteniendo una miel ámbar.

Obtención del 3-(4-aminofenil)propionato de metilo (YZN-12)



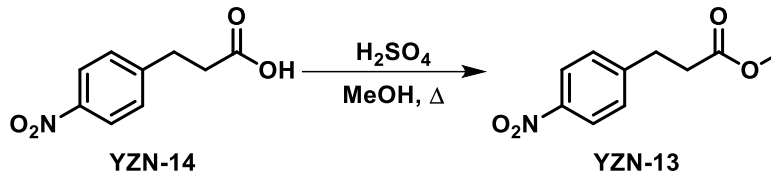
En una botella de hidrogenación se añadió 1 equivalente de la materia prima **YZN-13** disuelto en 150 mL de MeOH y 10 % w/w de Pd⁰/C 5 %. Se tapó la botella y se procedió a purgarla con nitrógeno, tras lo cual se acopló al hidrogenador.

El reservorio se cargó con 30 psi de gas hidrógeno y se purgó de nueva cuenta la botella 3 veces con 10 psi del gas. Después de esto se volvió a cargar el reservorio con 30 psi de H₂ y se inició la agitación.

Se dejó proseguir la reacción durante 30 minutos y se llevó a cabo el control del proceso mediante CCF empleando el sistema de elución I, y al observarse la desaparición de la mancha correspondiente a la materia prima, se dejó proseguir la hidrogenación durante 30 minutos adicionales para eliminar productos parciales de reducción.

Transcurrido este tiempo, se detuvo el vaivén y se filtró el Pd⁰/C recuperando el MeOH el cual se llevó a sequedad obteniendo un sólido amarillento el cual se purificó mediante recristalización en MeOH obteniendo cristales de color blanco con un punto de fusión de 162.7 – 163.8 °C y un rendimiento del 97 %.

Obtención del 3-(4-nitrofenil)propionato de metilo (YZN-13)



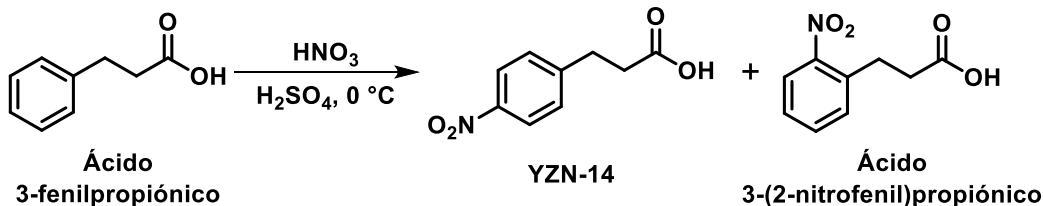
En un matraz de 5 mL de una boca, acoplado con refrigerante, agitación magnética y baño de agua, fue añadido 1 equivalente del ácido 3-(4-nitrofenil)propiónico en 2 mL de MeOH. A esta solución se le añadió 1 gota de H₂SO₄ (10 % w/w) y se inició el calentamiento a reflujo dejando en agitación durante 1 hora.

Se monitoreó el avance de la reacción mediante cromatografía de capa fina, utilizando el sistema de elución I y al observarse que la mancha correspondiente a la materia prima había desaparecido se detuvo la reacción.

Se rotaevaporó el MeOH usando vacío y después de obtener un sólido blanco, a éste se le realizó una extracción con AcOEt para retirar el ácido sulfúrico remanente (3 x 25 mL) y las fases orgánicas fueron rotaevaporadas obteniendo un aceite amarillo, el cual solidificó a temperatura ambiente.

Este sólido fue recristalizado en MeOH obteniendo cristales amarillos cúbicos con un punto de fusión de 70.0 – 70.4 °C y rendimiento del 76 %.

Obtención del ácido 3-(4-nitrofenil)propiónico (YZN-14)



En un matraz de 25 mL de una boca, acoplado con columna vigreux, agitación magnética y baño de hielo con sal, fue añadido 1 g del ácido 3-fenilpropiónico (0.007 mol) en 2 mL de H_2SO_4 . A esta solución se le fue añadiendo gota a gota la mezcla sulfonítrica (1.1 eq) preparada *in situ* a $0\text{ }^\circ\text{C}$ y se dejó en agitación durante 30 minutos.

Se monitoreó el avance de la reacción mediante cromatografía de capa fina, utilizando un sistema de elución III y, tras observar la desaparición de la materia prima, se detuvo la reacción vertiendo el contenido del matraz sobre agua hielo. Se obtuvo un sólido blanco que contenía tanto al producto de nitración en para como en orto el cual, fue filtrado.

Se aisló el compuesto de interés mediante cromatografía de columna empleando como sistema Hex:AcOEt. Se obtuvo un sólido blanco que presentó un intervalo de punto de fusión de $164.0 - 165.9\text{ }^\circ\text{C}$, que coincide con lo reportado en la literatura, con un rendimiento del 80 % y una proporción de isómeros *para* con respecto a *orto* de 5:1.

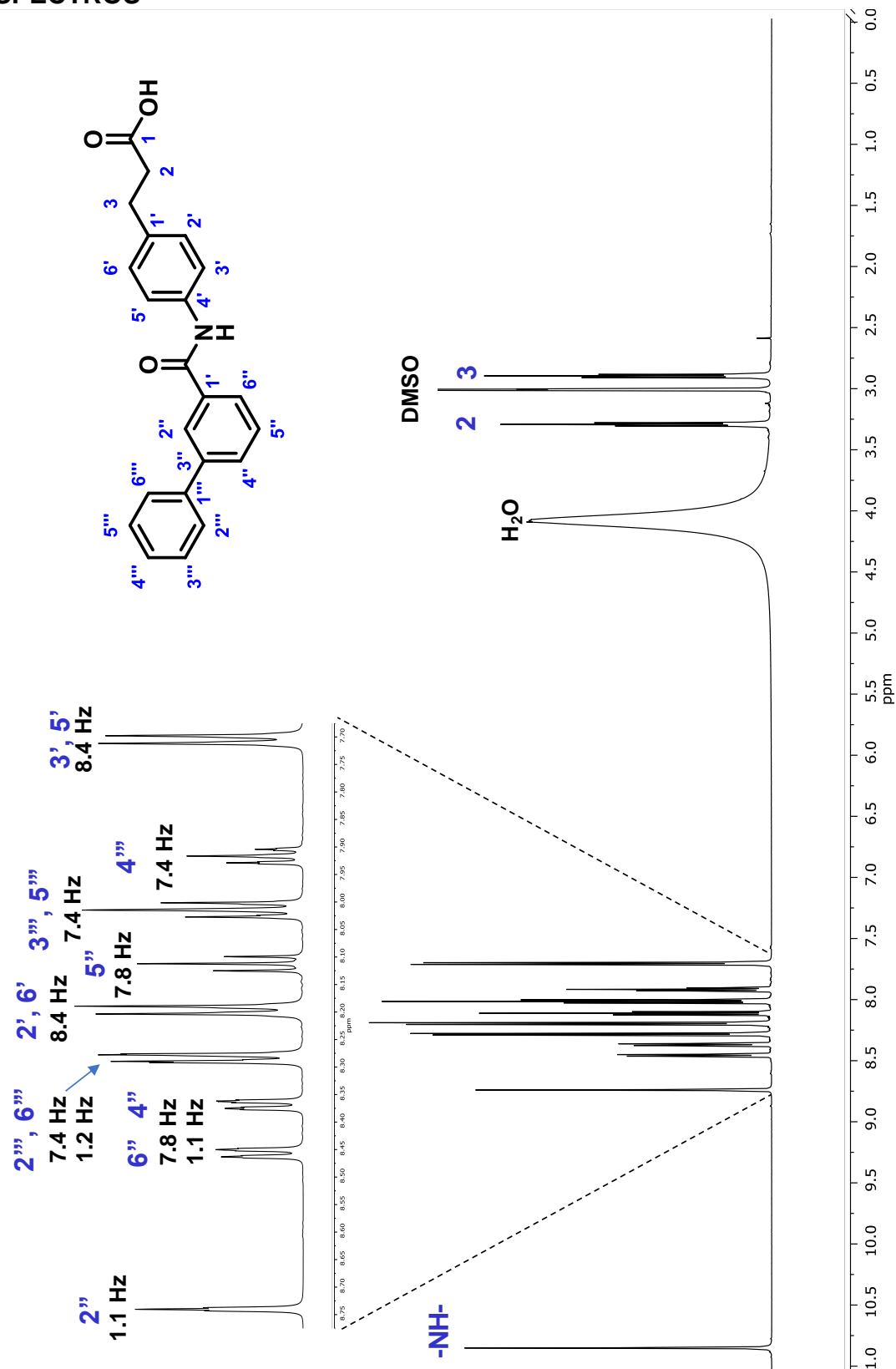
Ácido 3-(*p*-nitrofenil)propiónico

RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 8.14 (d, $J = 8.7\text{ Hz}$, 2H, H2', H6'), 7.53 (d, $J = 8.7\text{ Hz}$, 2H, H3', H5'), 2.97 (t, $J = 7.4\text{ Hz}$, 2H, H2), 2.64 (t, $J = 7.4\text{ Hz}$, 2H, H3).

Ácido 3-(*o*-nitrofenil)propiónico

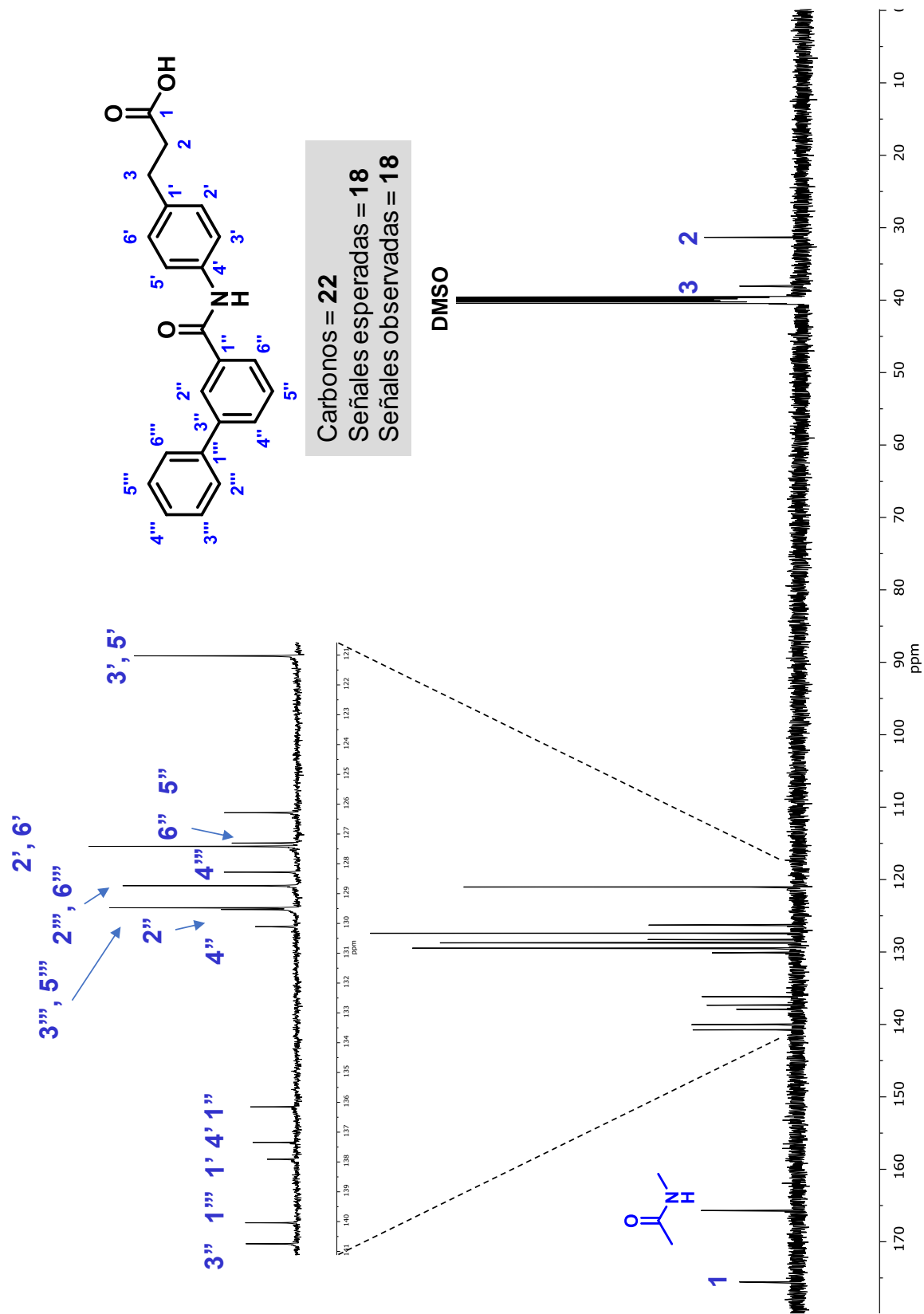
RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.93 (dd, $J = (d, J = 8.7\text{ Hz}, J = 1.4\text{ Hz}, 1\text{H}, \text{H6}')$), 7.67 (ddd, $J = 8.7, J = 1.4\text{ Hz}, 1\text{H}, \text{H3}')$), 7.25 (ddd, $J = 8.7\text{ Hz}, J = 1.4\text{ Hz}, 2\text{H}, \text{H4}', \text{H5}'$), 3.07 (t, $J = 7.4\text{ Hz}, 2\text{H}, \text{H2}$), 2.84 (t, $J = 7.4\text{ Hz}, 2\text{H}, \text{H3}$).

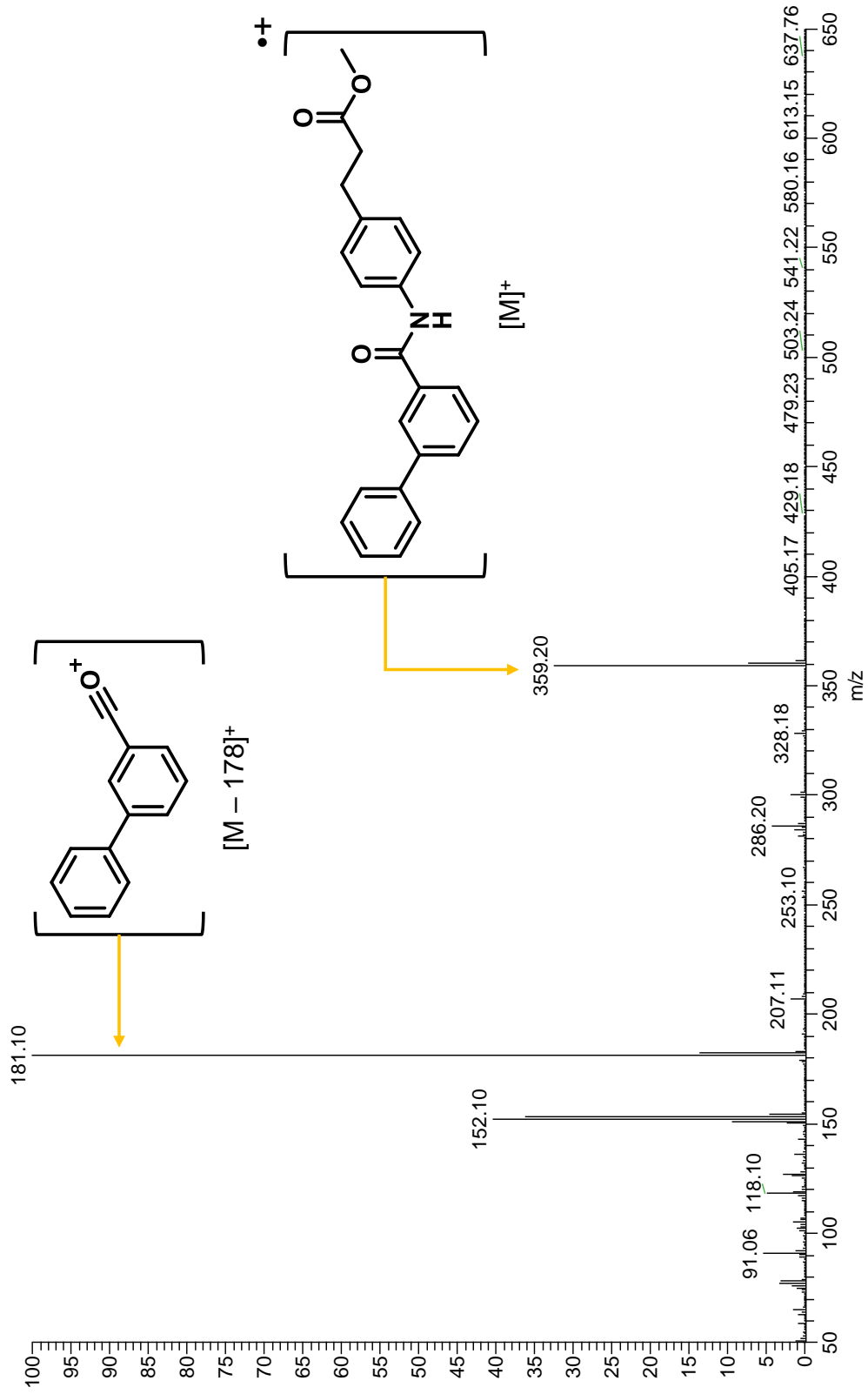
12. ESPECTROS



Espectro 1. YZN-1: RMN ^1H , 600 MHz, DMSO-d_6

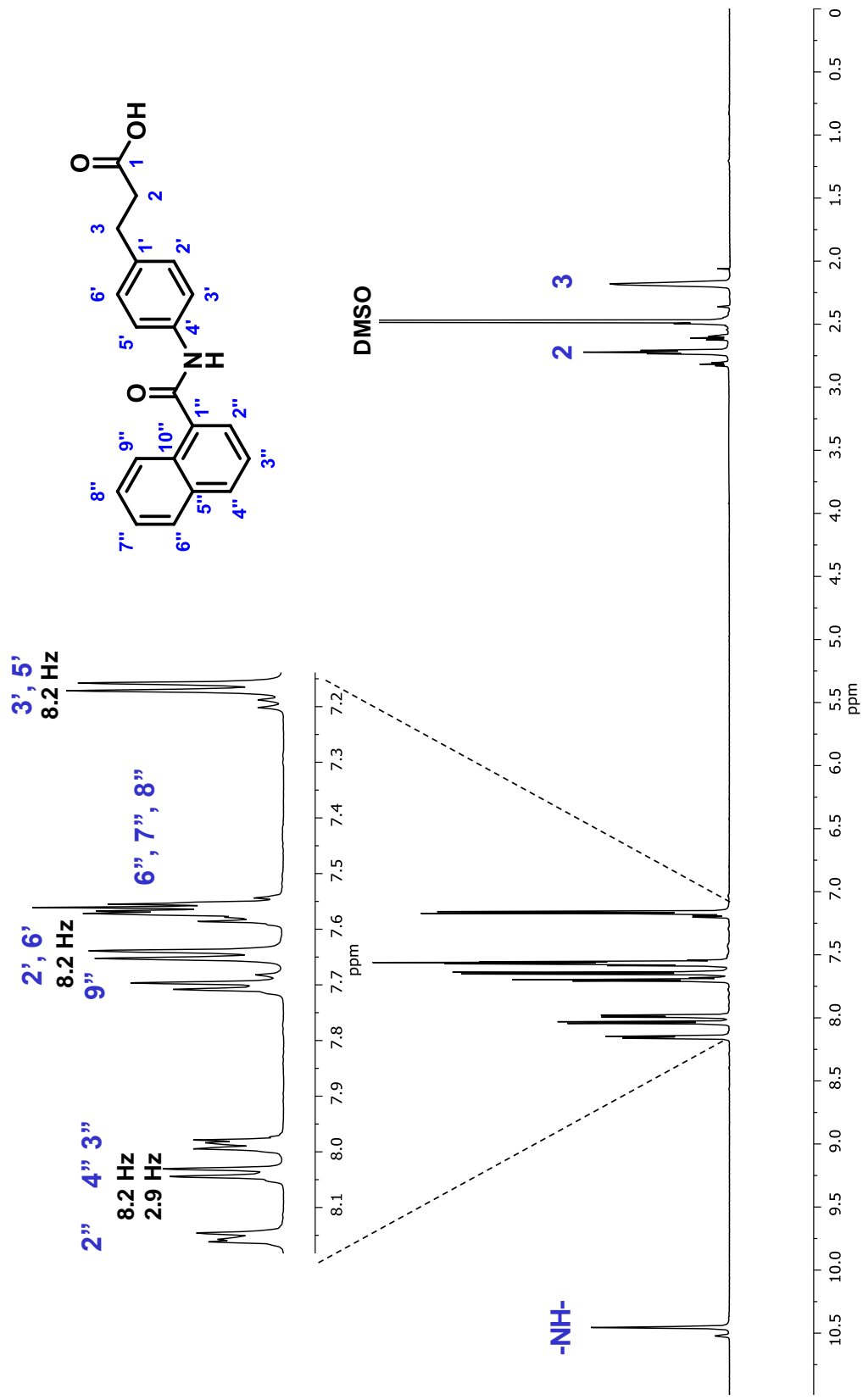
Espectro 2. YZN-1: RMN ¹³C, 150 MHz, DMSO-d₆





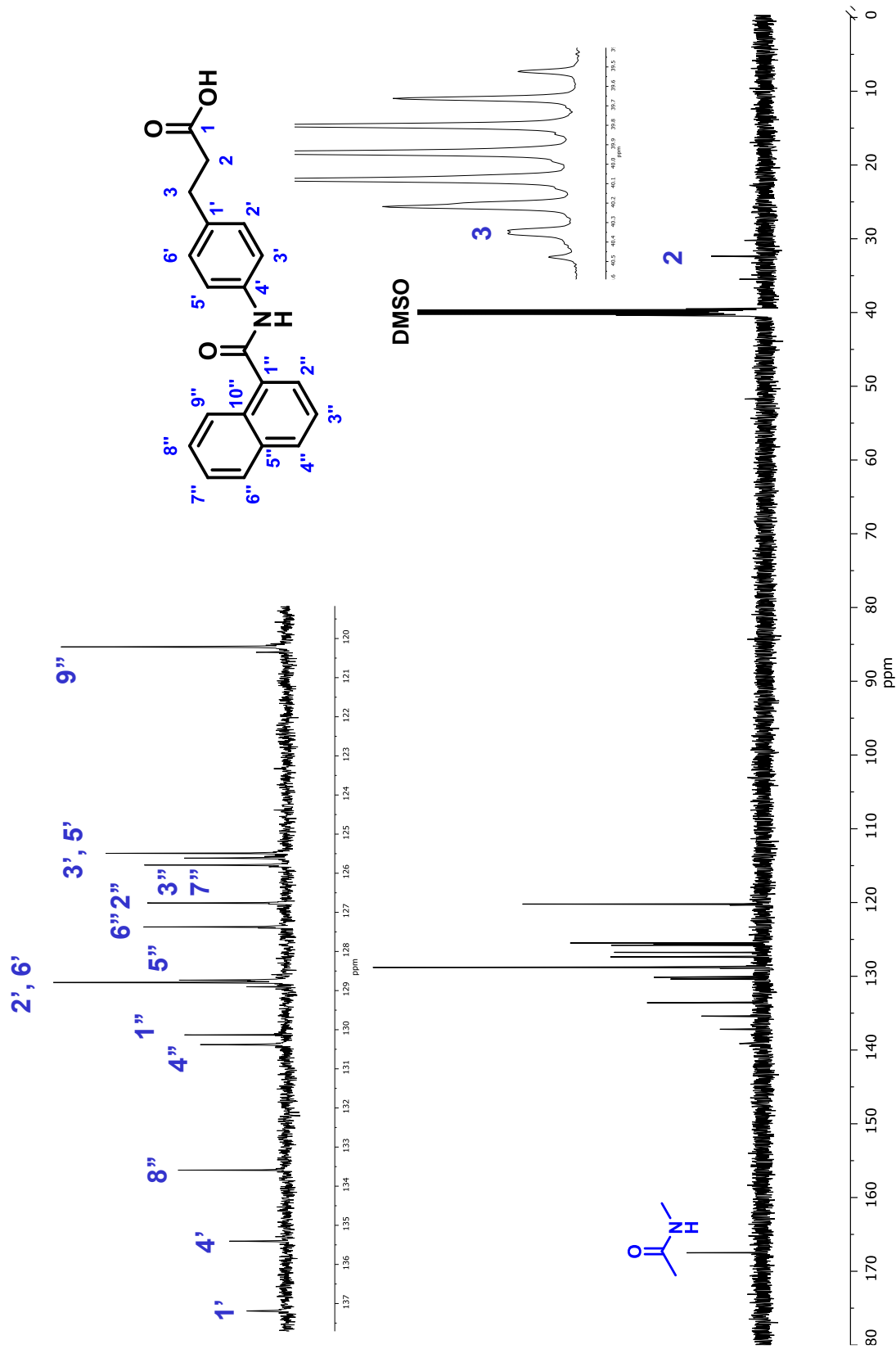
Espectro 3. YZN-1a: EM-IE

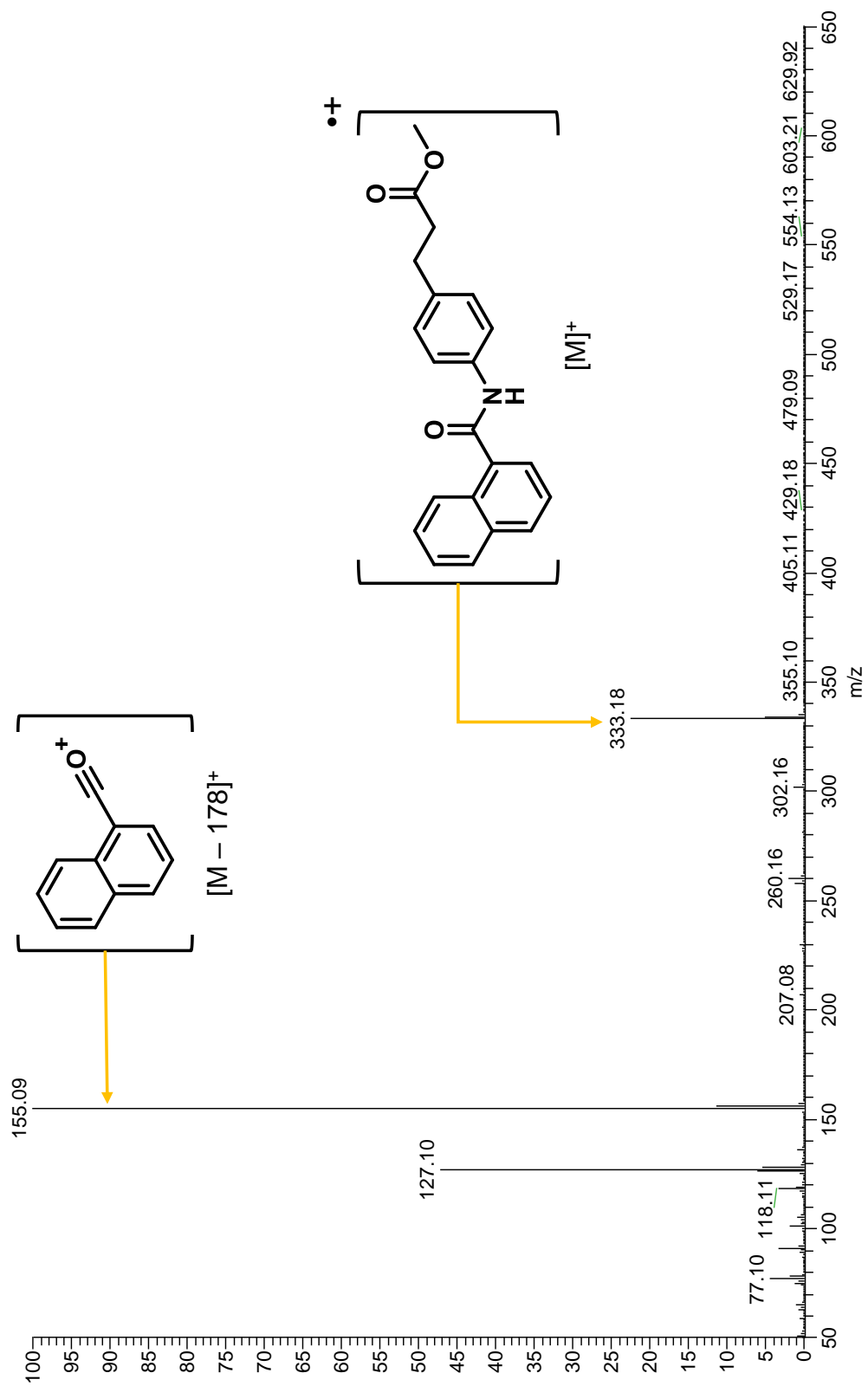
1H_preset_YZN-2_17102018
YZN-2



Espectro 4. YZN-2: RMN ^1H , 600 MHz, DMSO- d_6

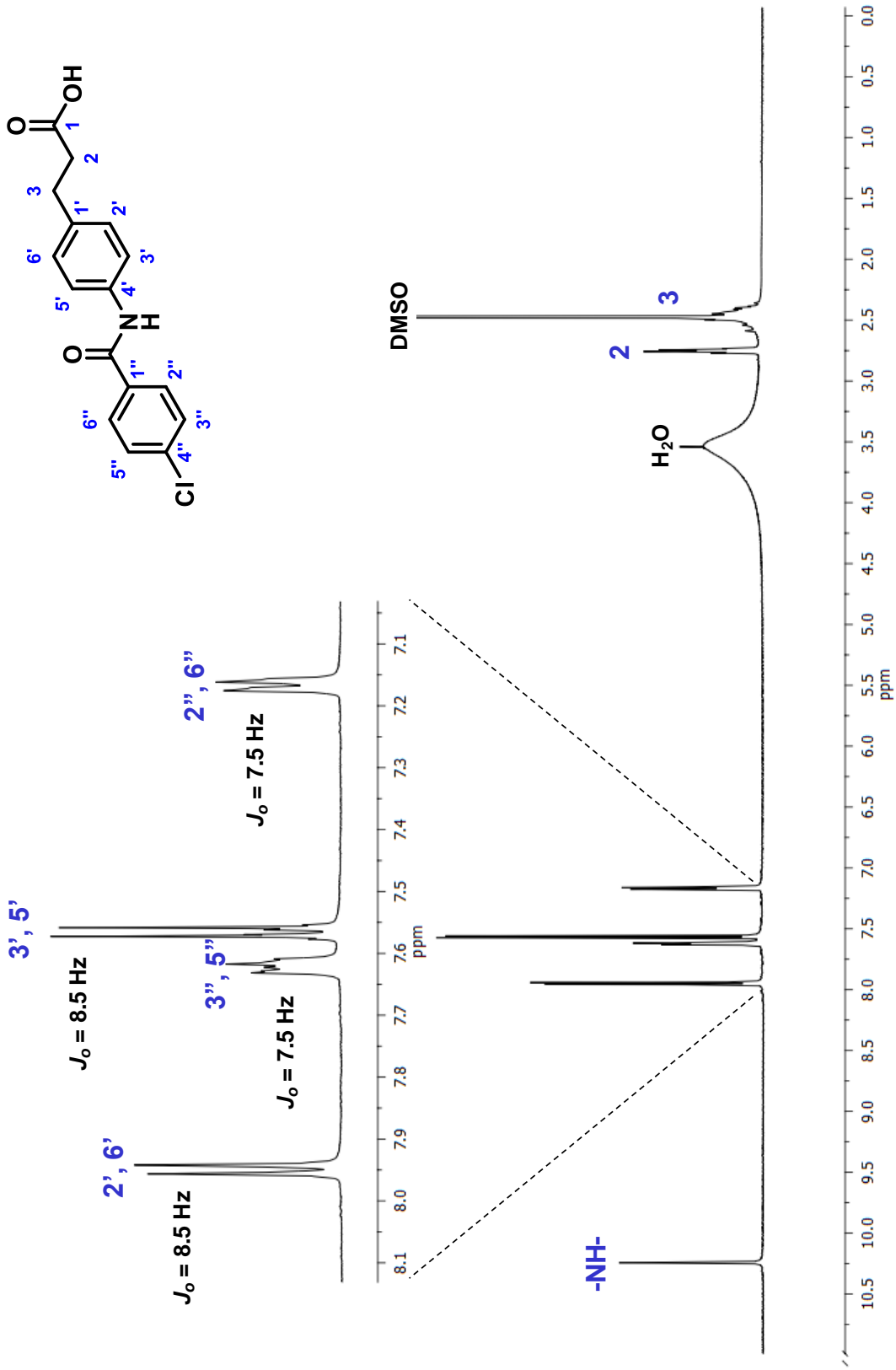
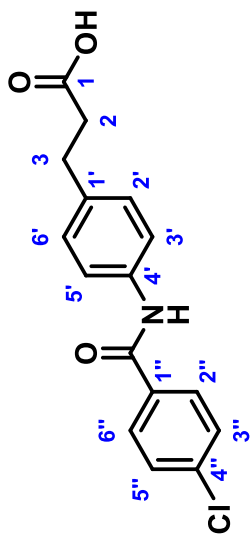
Espectro 5. YZN-2: RMN ¹³C, 150 MHz, DMSO-d₆





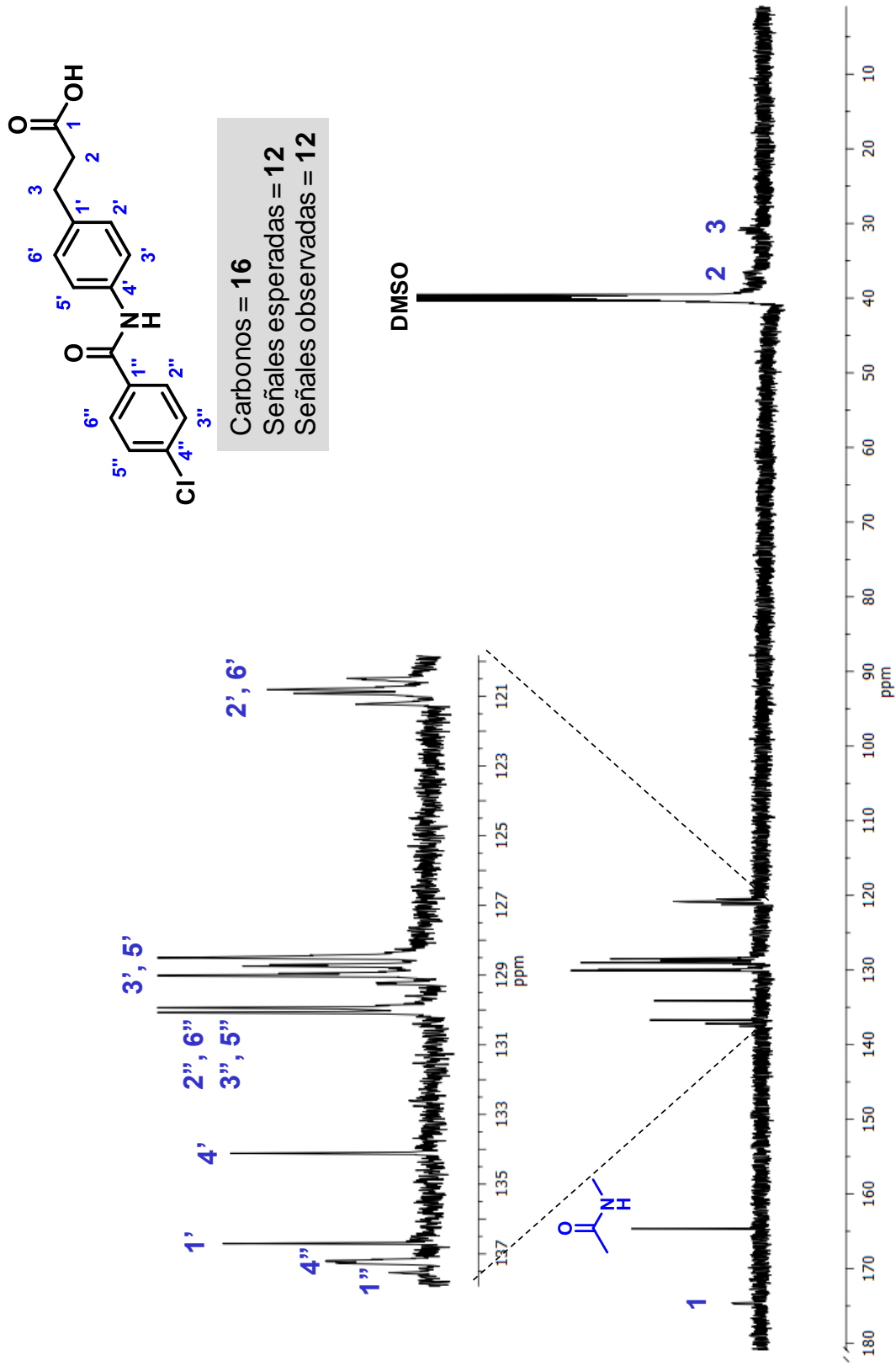
Espectro 6. YZN-2a: EM-IE

1H_YZN-3_14082018
YZN-3

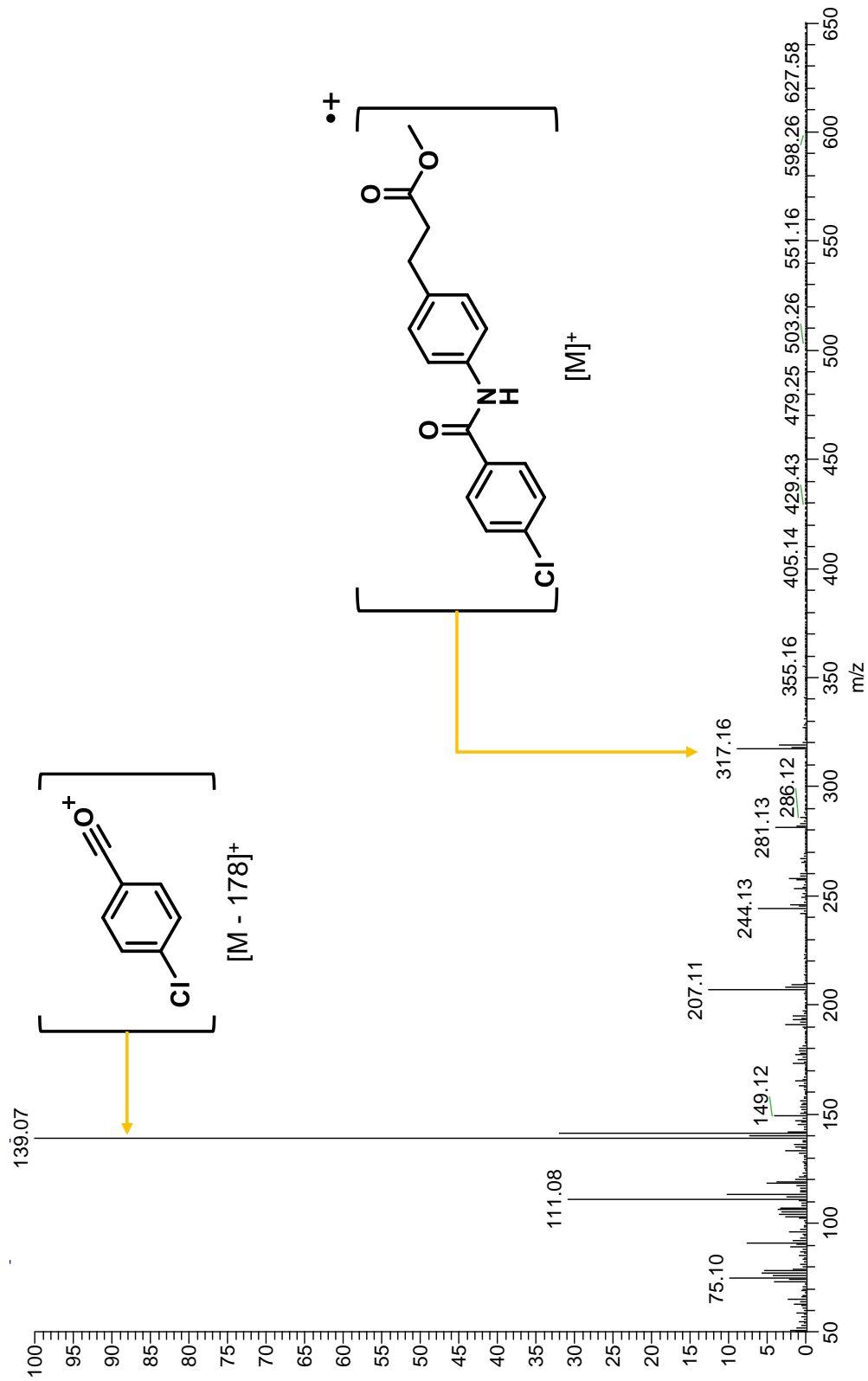


Espectro 7. YZN-3: RMN ¹H, 600 MHz, DMSO-d₆

13C_YZN-3_14082018
YZN-3

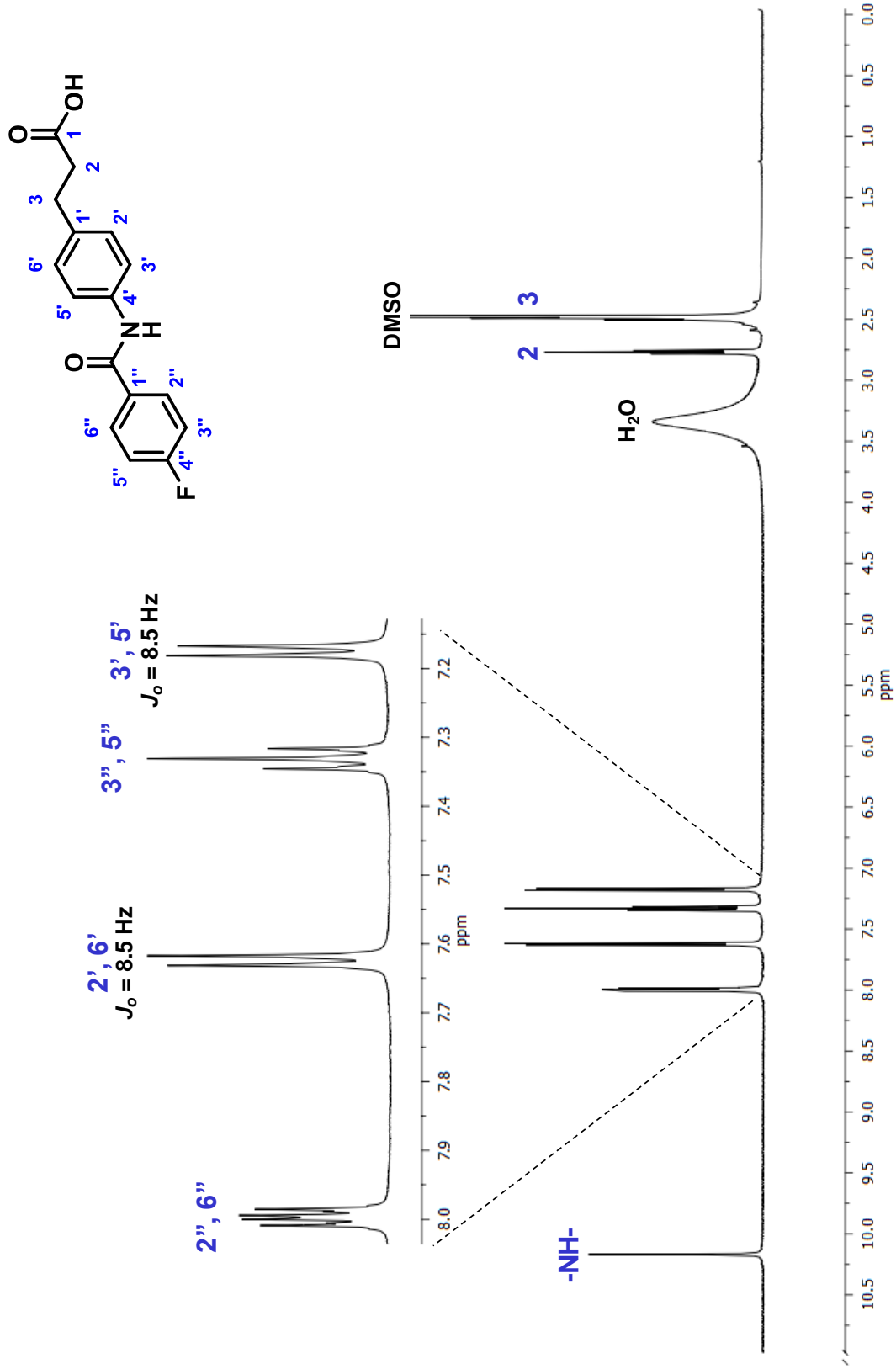


Espectro 8. YZN-3: RMN ^{13}C , 150 MHz, DMSO- d_6



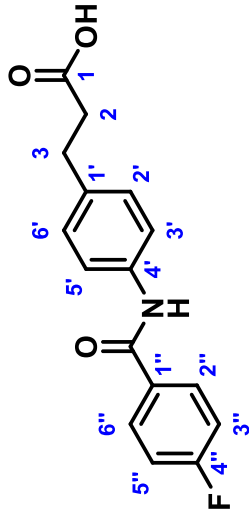
Espectro 9. YZN-3a: EM-IE

1H_YZN-4_14082018
YZN-4

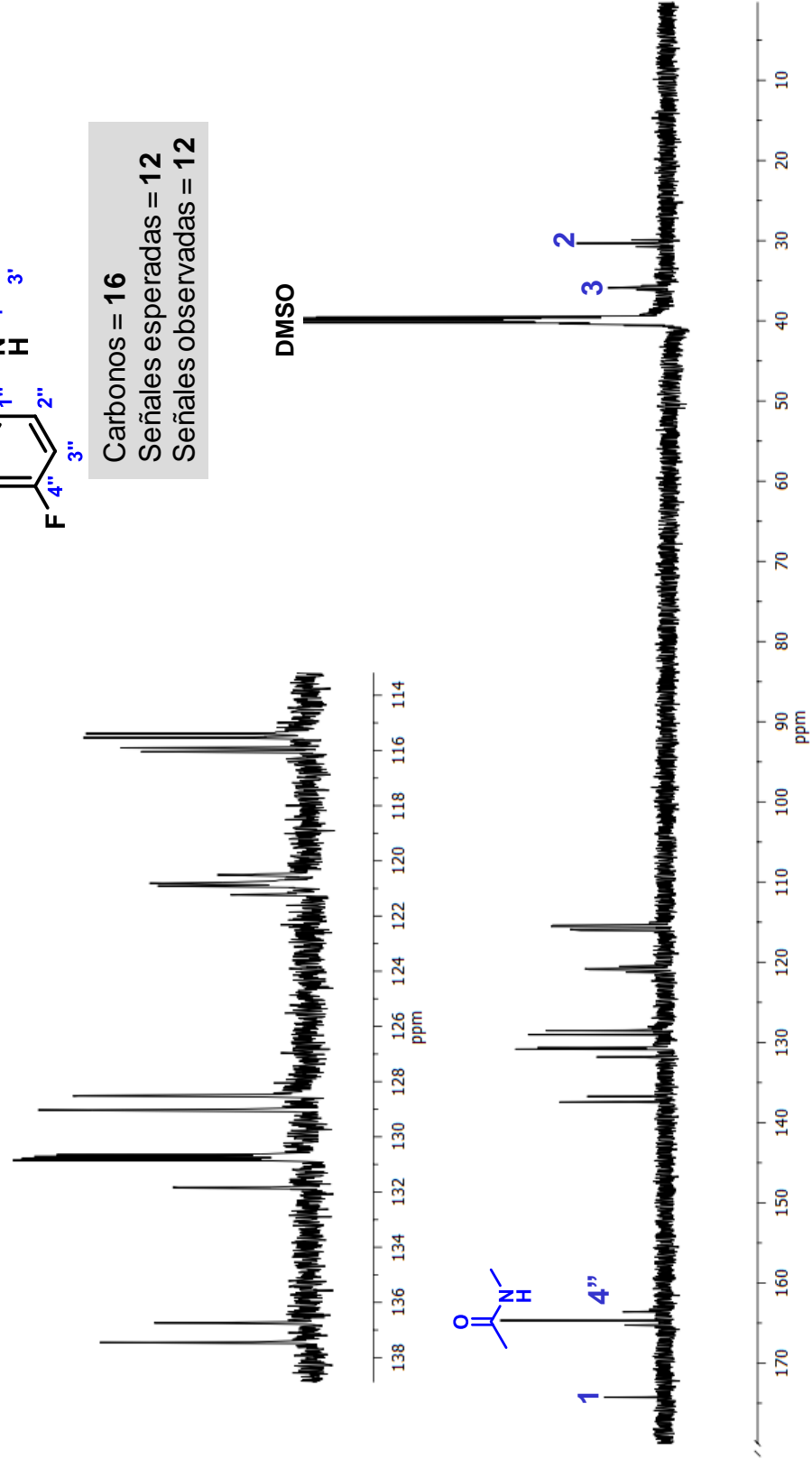


Espectro 10. YZN-4: RMN ^1H , 600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$

13C_YZN-4_14082018
YZN-4

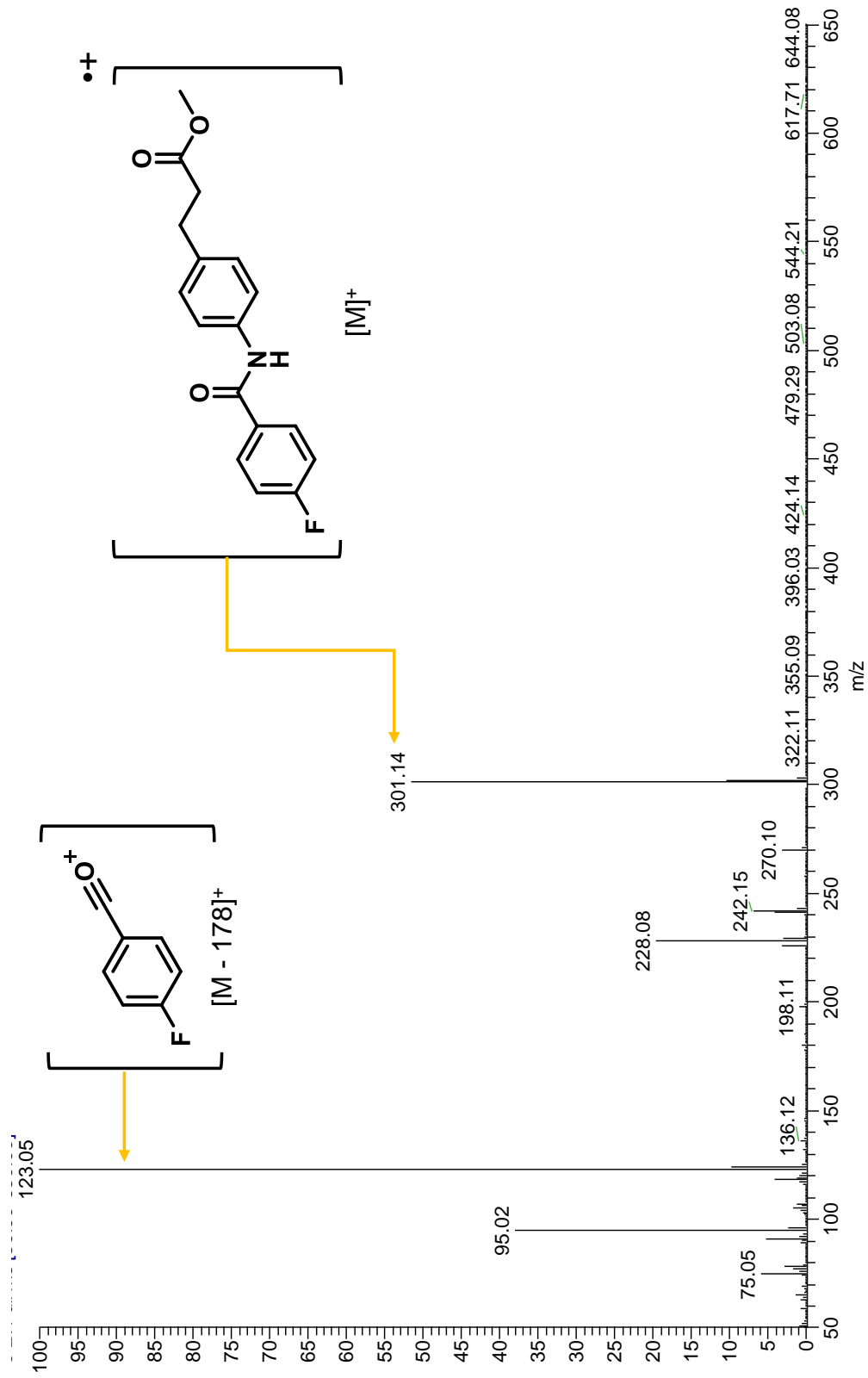


Carbonos = 16
Señales esperadas = 12
Señales observadas = 12

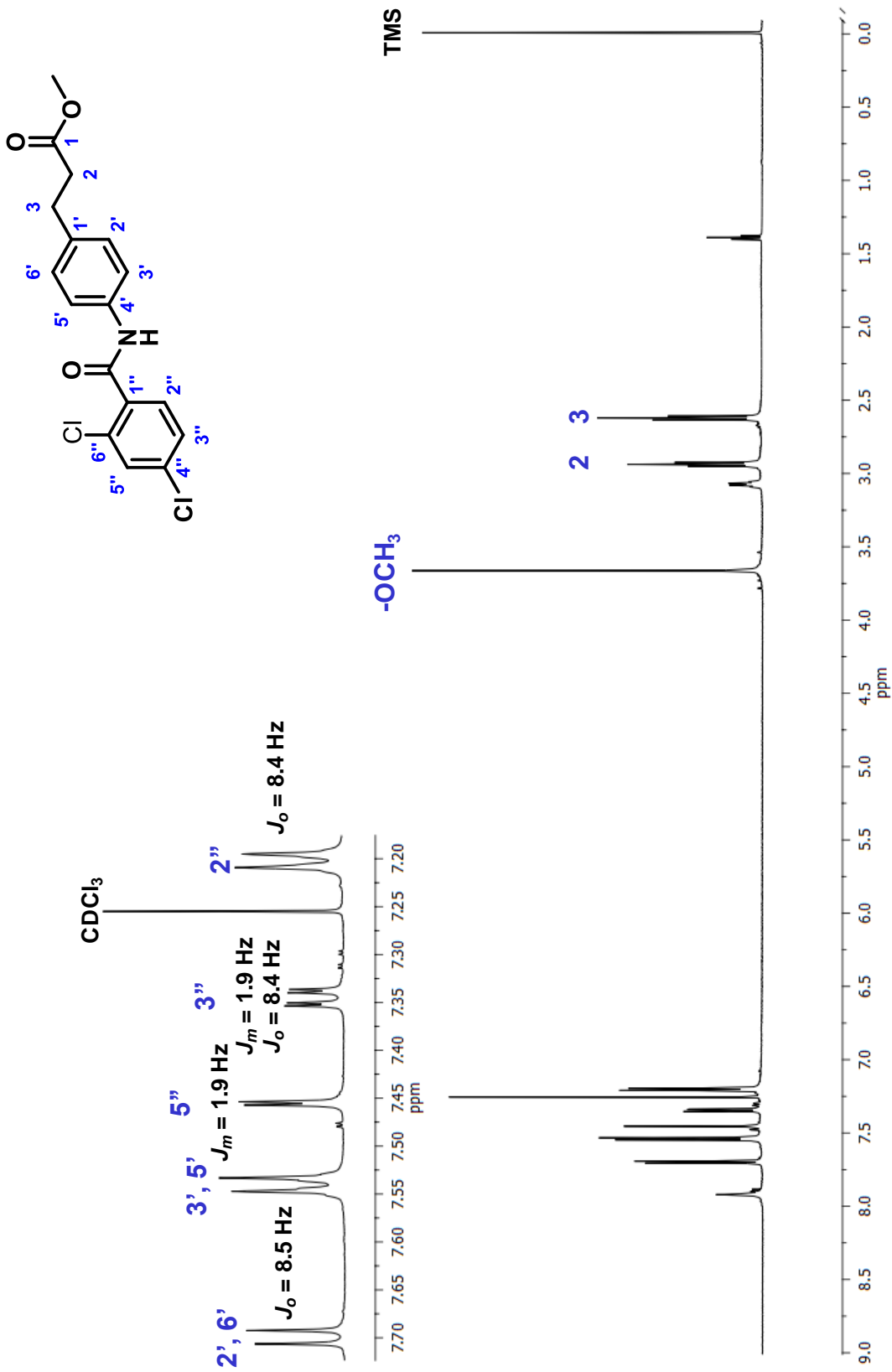


Espectro 11. YZN-4: RMN ¹³C, 150 MHz, DMSO-*d*₆

Espectro 12. YZN-4a: EM-IE

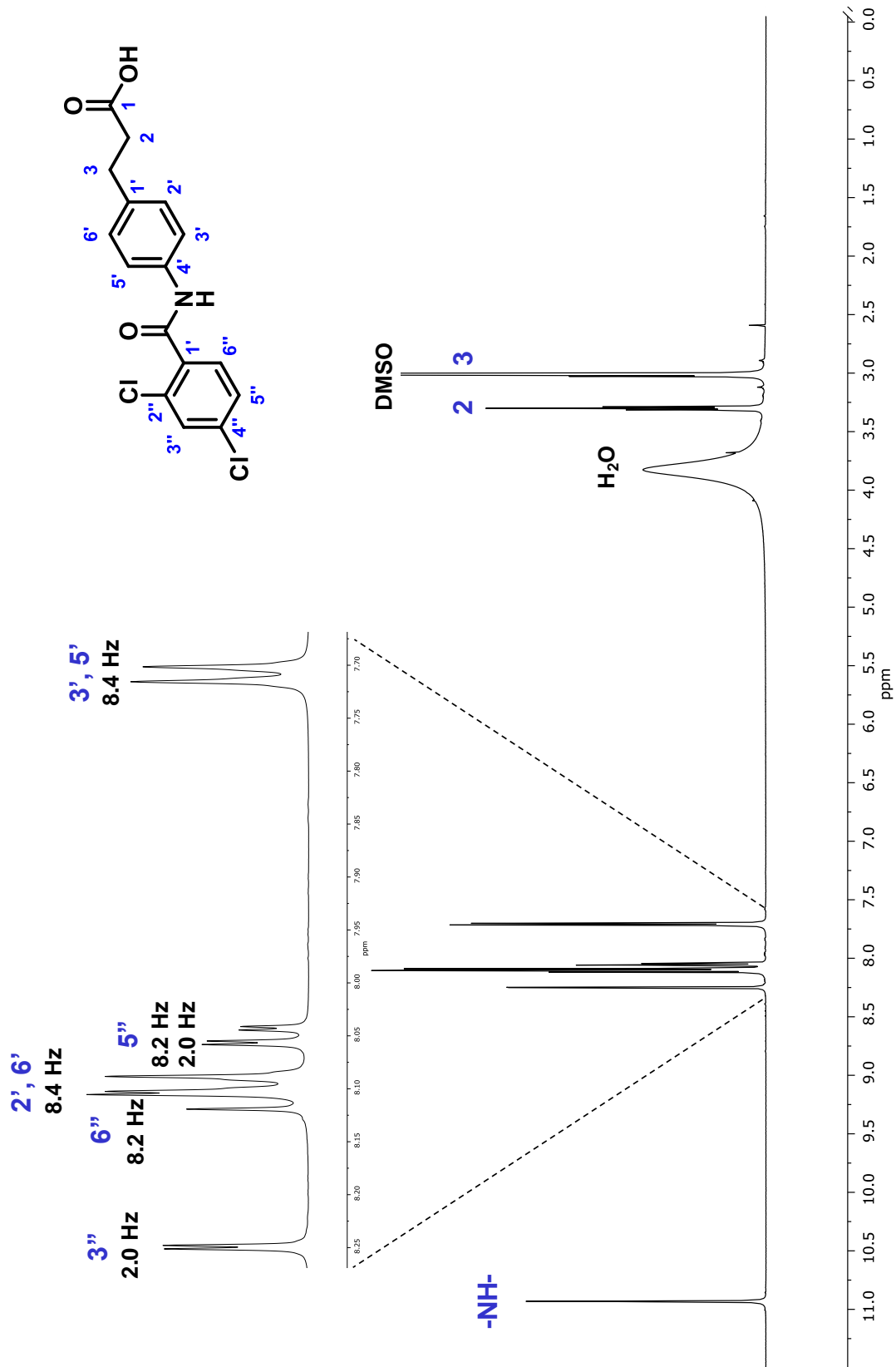


1H_YZN-5_13082018
YZN-5

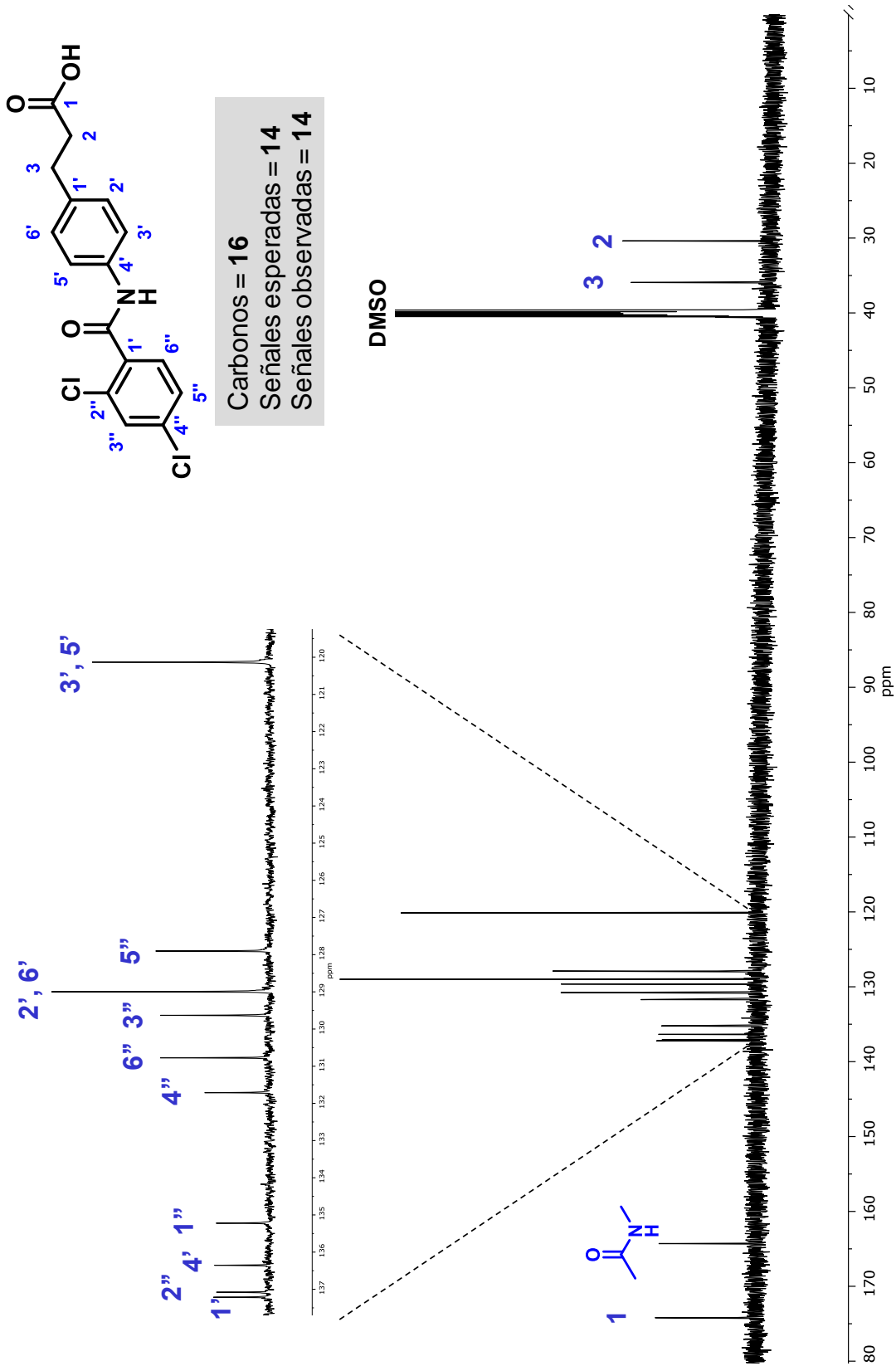


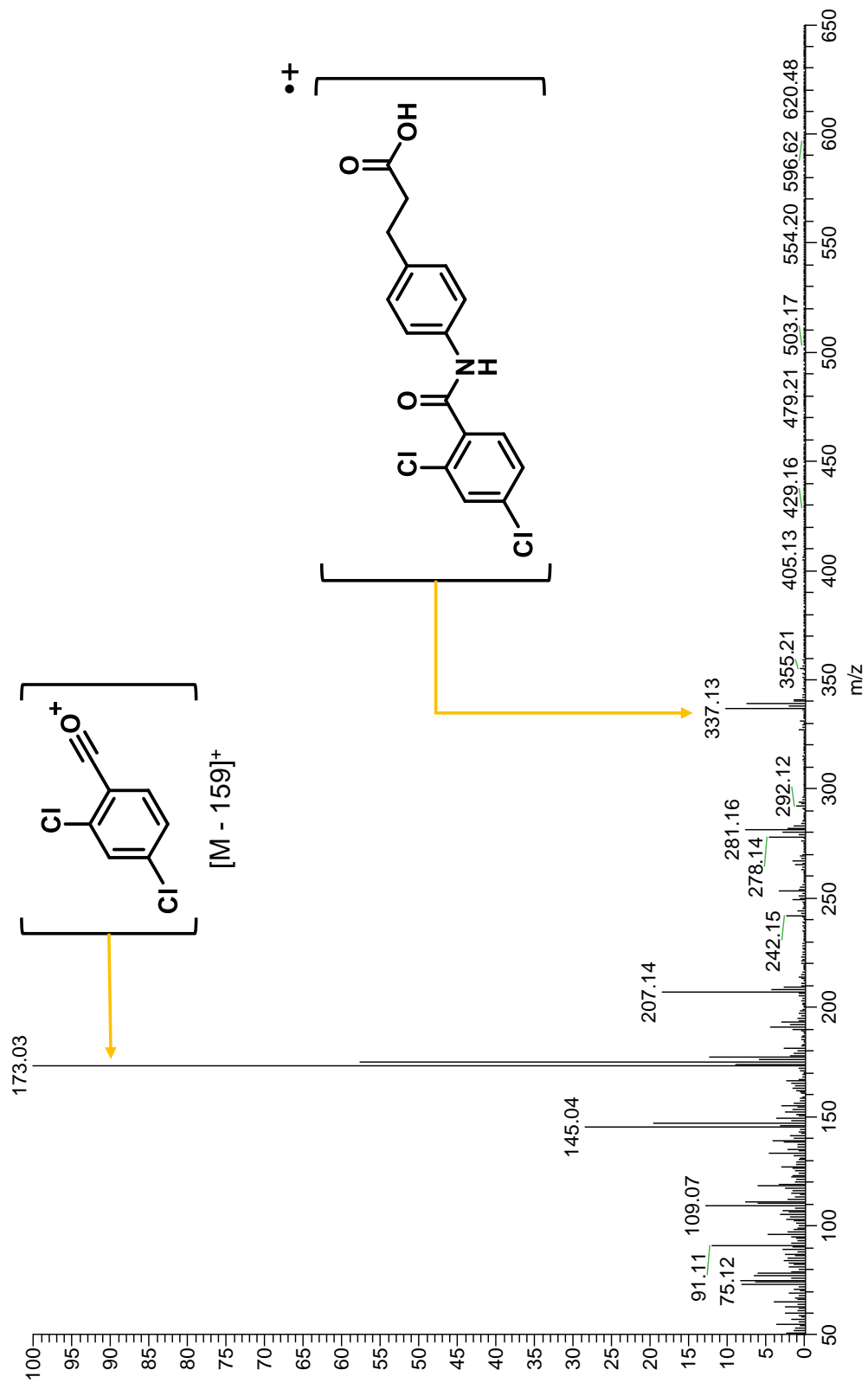
Espectro 13. YZN-5a: RMN ¹H, 600 MHz, DMSO-*d*₆

Espectro 14. YZN-5: RMN ^1H , 600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$

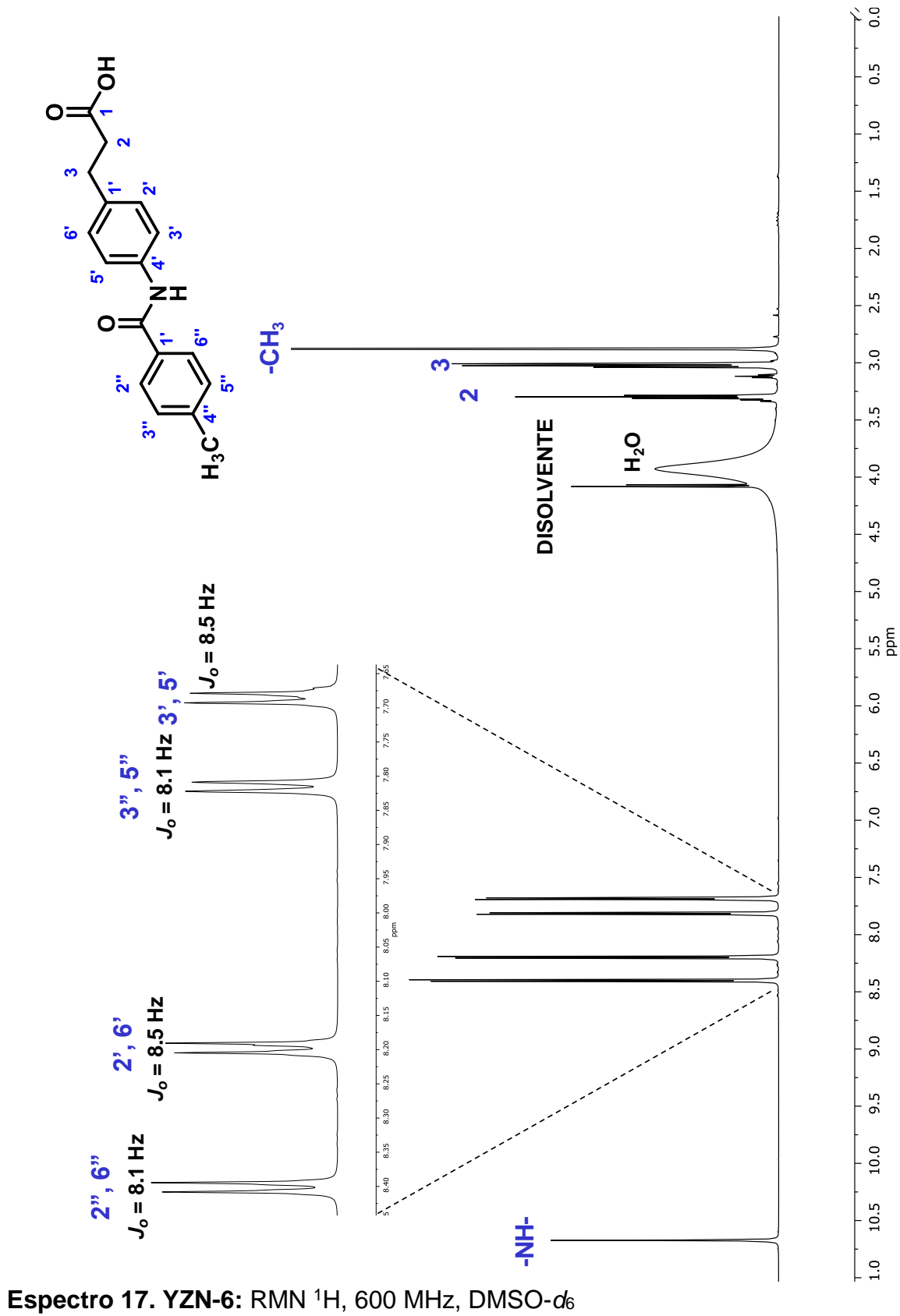


Espectro 15. YZN-5: RMN ^{13}C , 150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$

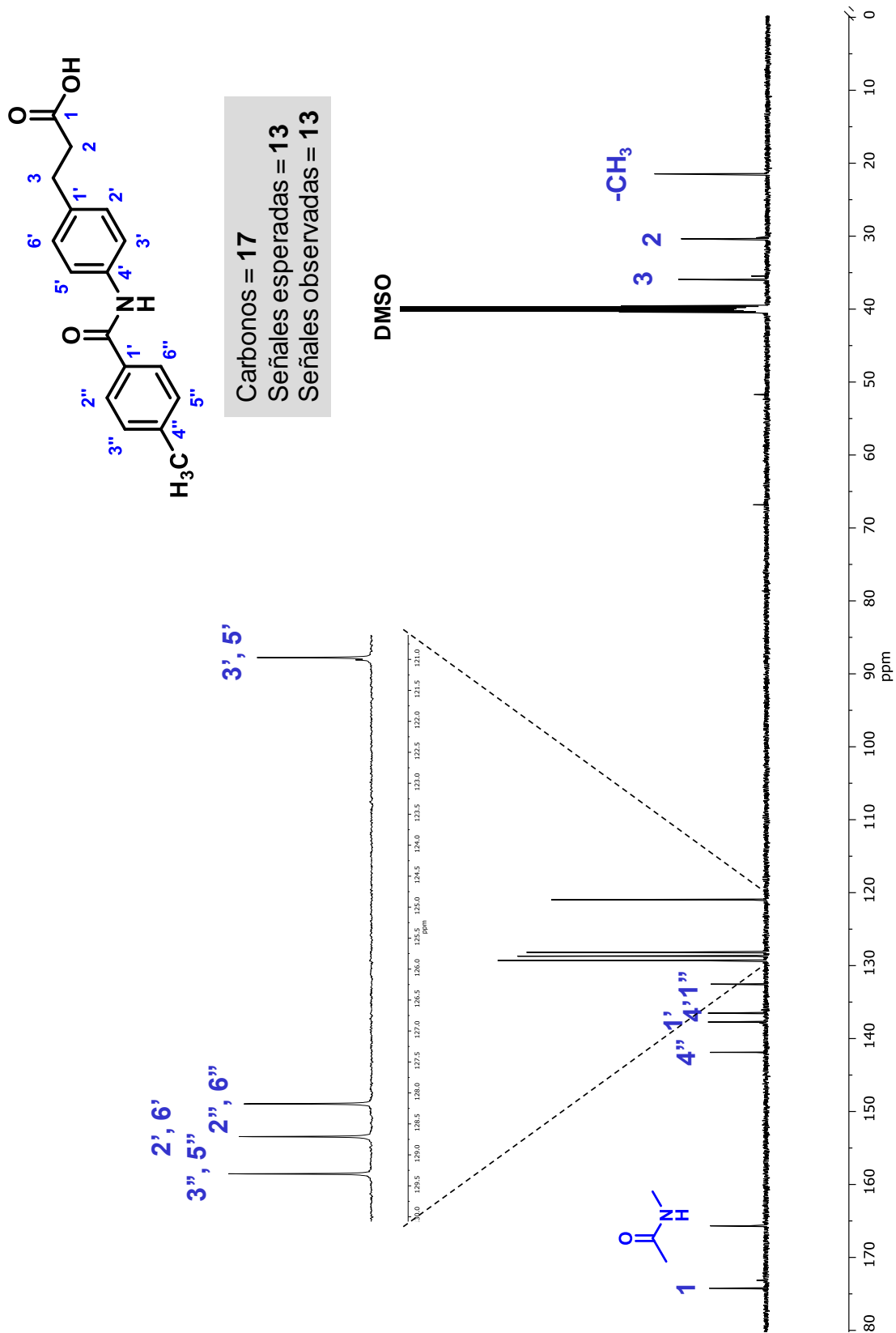


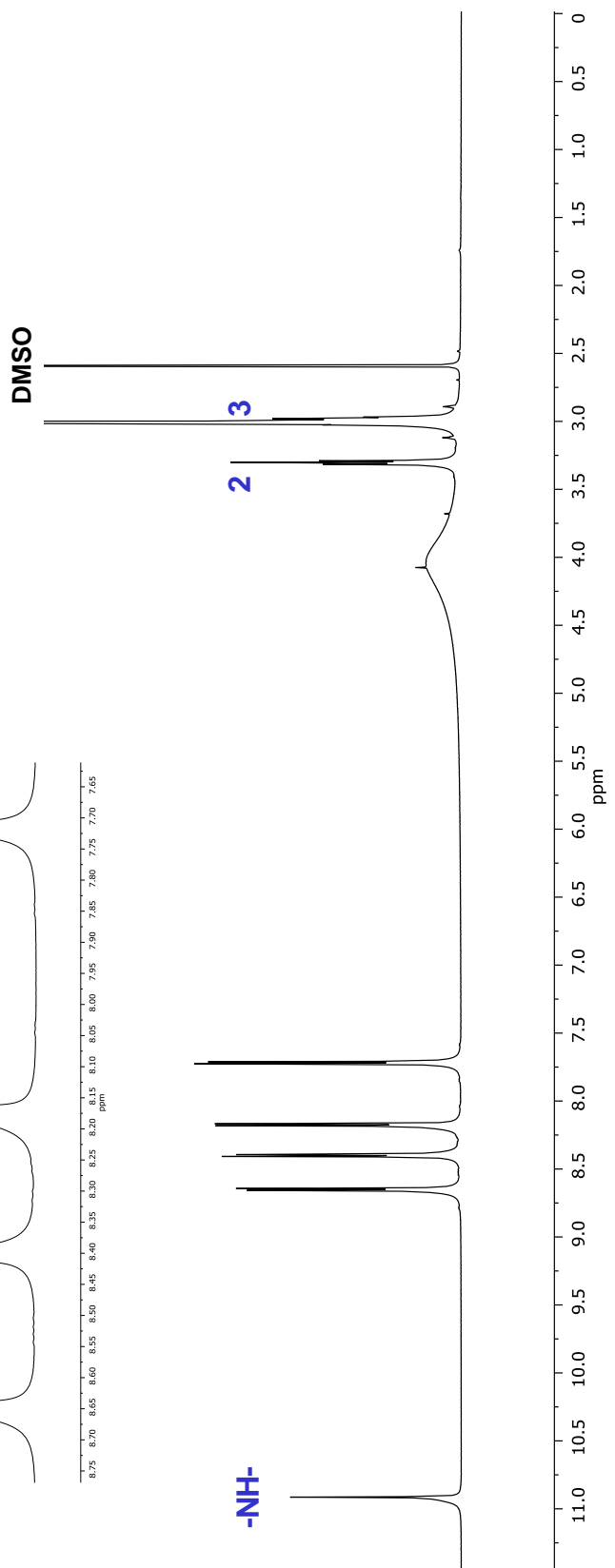
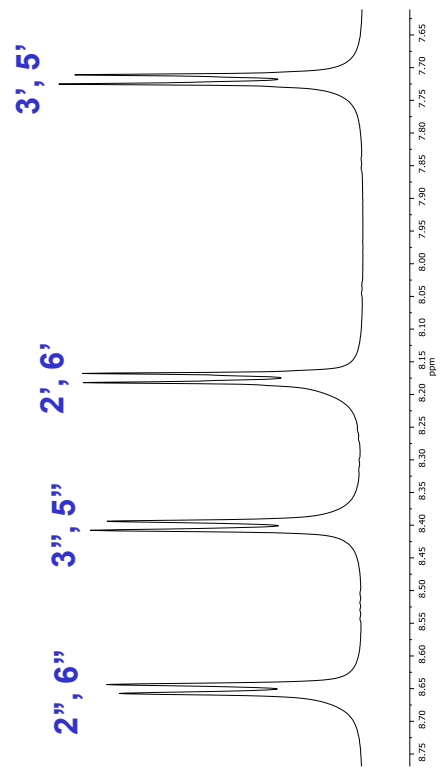
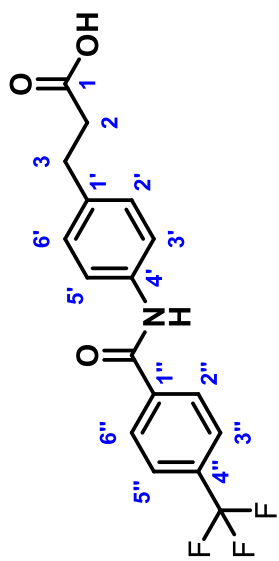


Espectro 16. YZN-5: EM-IE



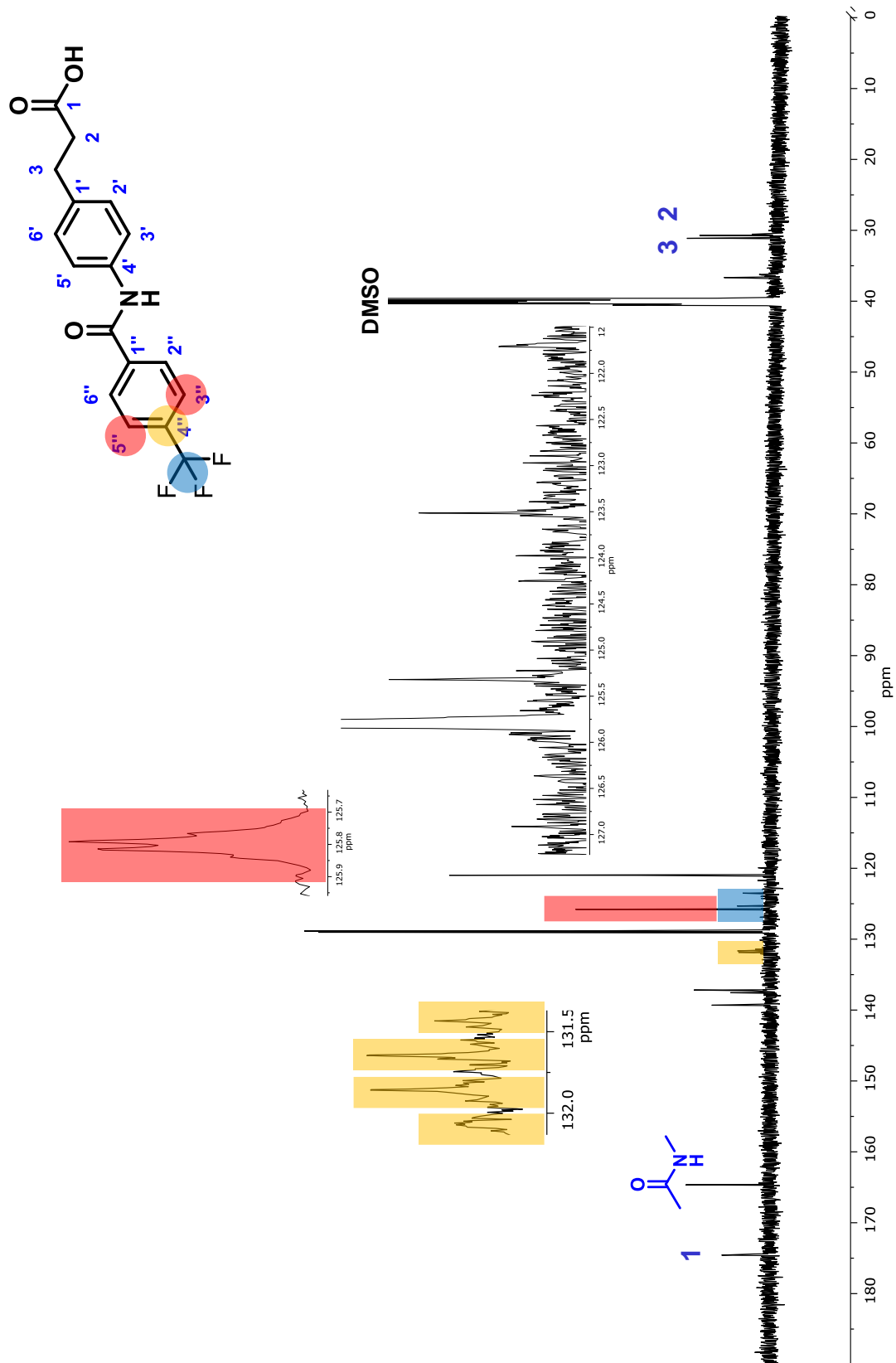
Espectro 18. YZN-6: RMN ¹³C, 150 MHz, DMSO-d₆

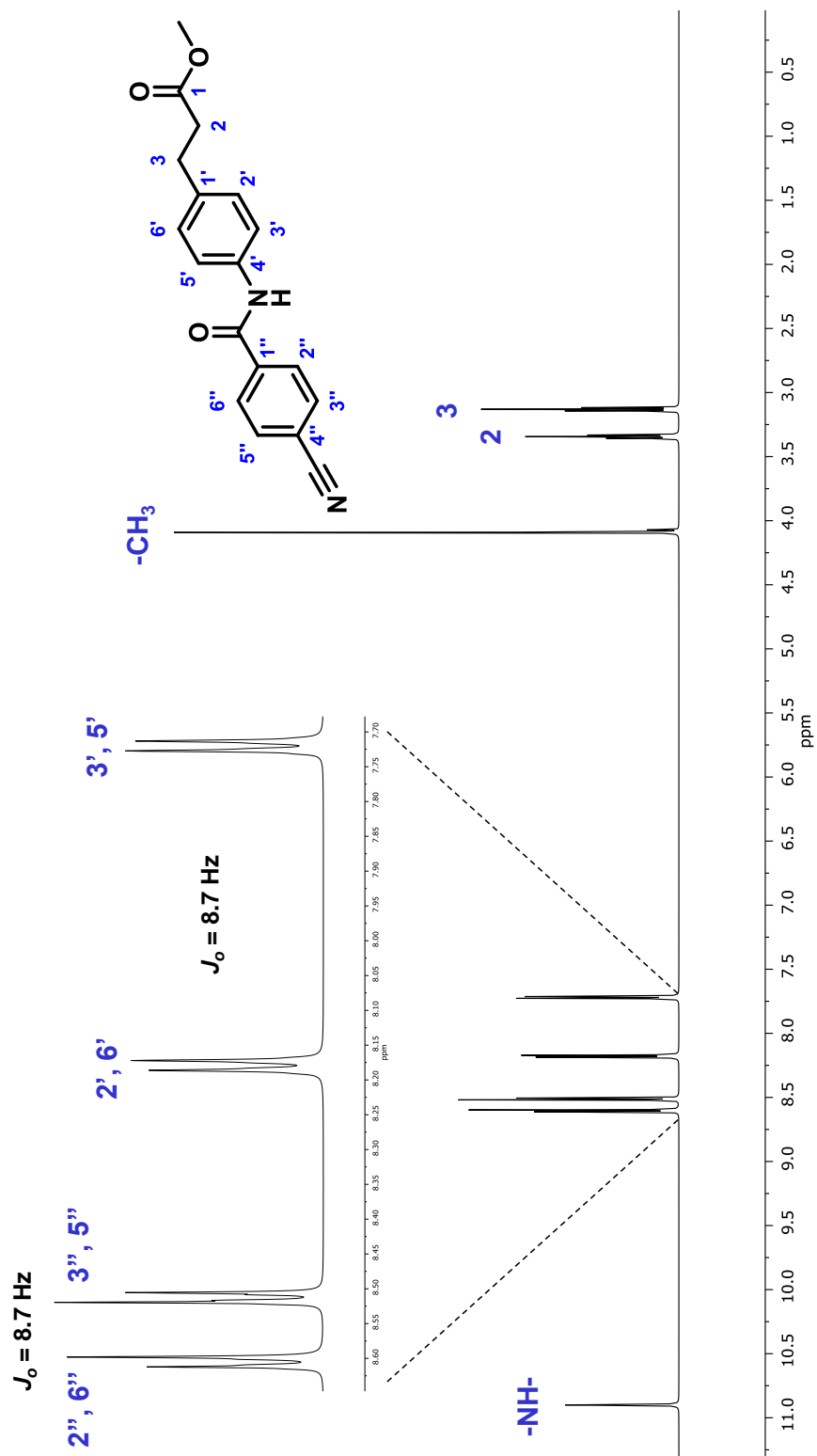




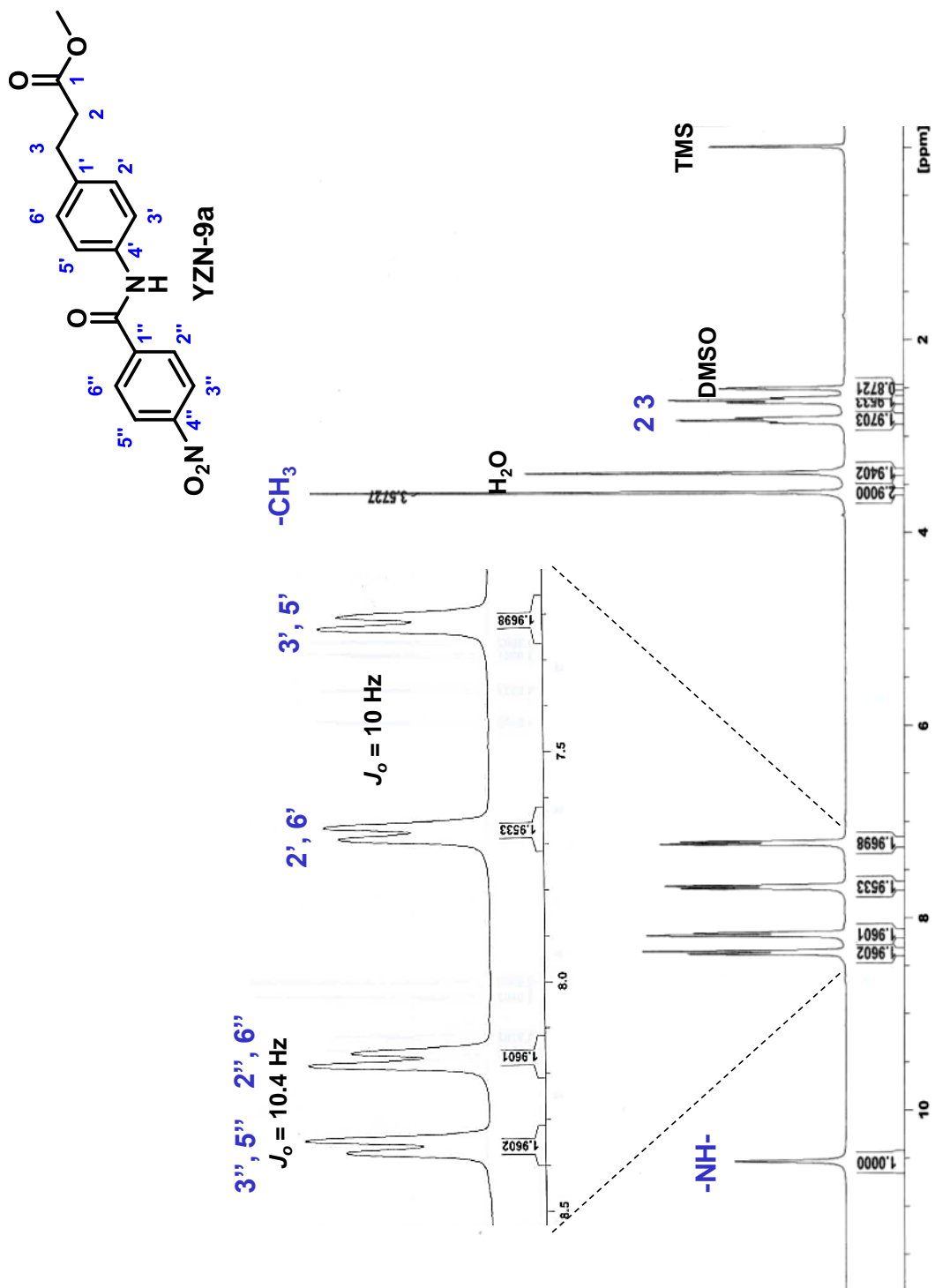
Espectro 19. YZN-7: RMN ¹H, 600 MHz, DMSO-d₆

Espectro 20. YZN-7: RMN ^{13}C , 150 MHz, DMSO- d_6

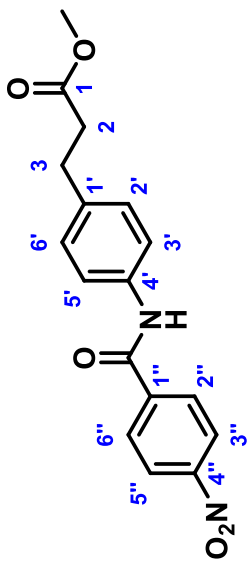




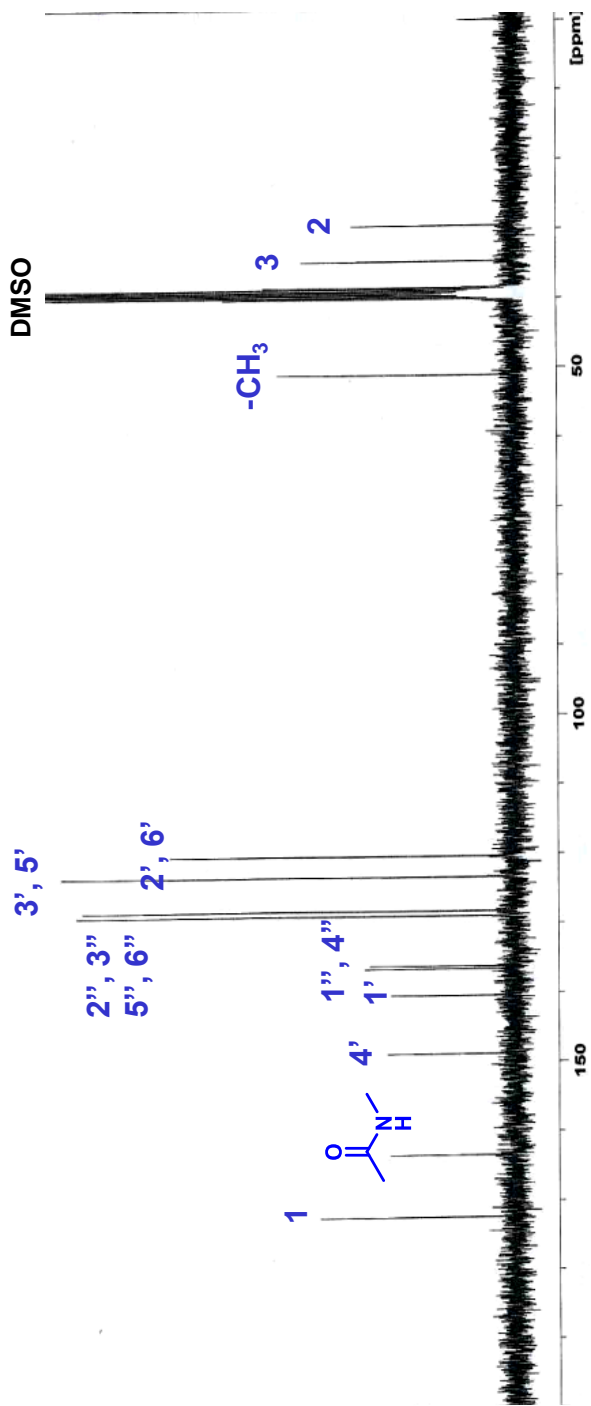
Espectro 15. YZN-8a: RMN ¹H, 600 MHz, DMSO-d₆



Espectro 17. YZN-9a: RMN ¹H, 600 MHz, DMSO-d₆



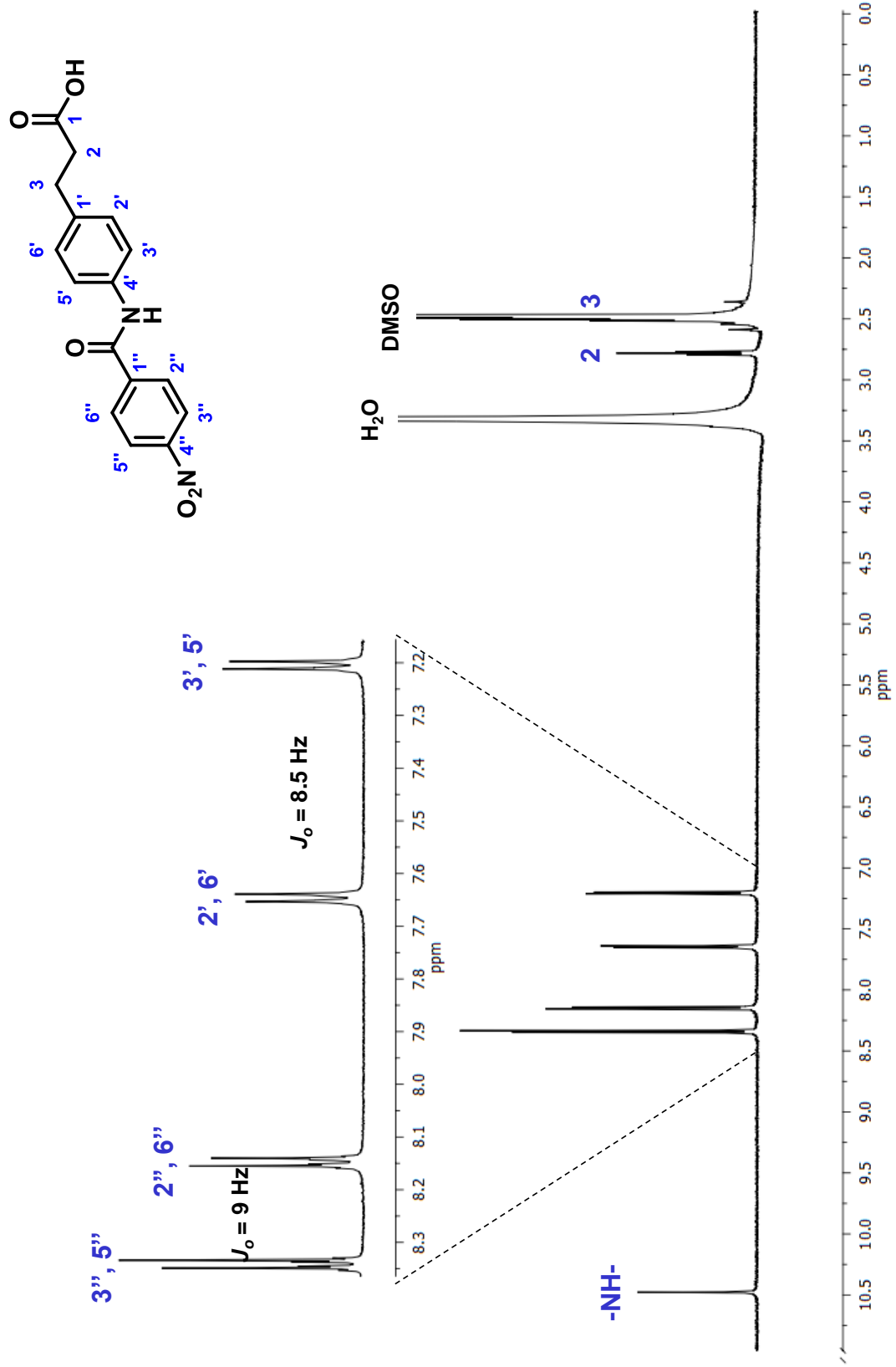
Carbonos = 17
 Señales esperadas = 13
 Señales observadas = 13



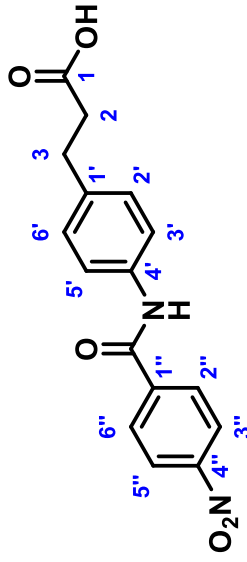
Espectro 17. YZN-9a: RMN ^{13}C , 150 MHz, DMSO- d_6

1H_YZN-9_14082018
YZN-9

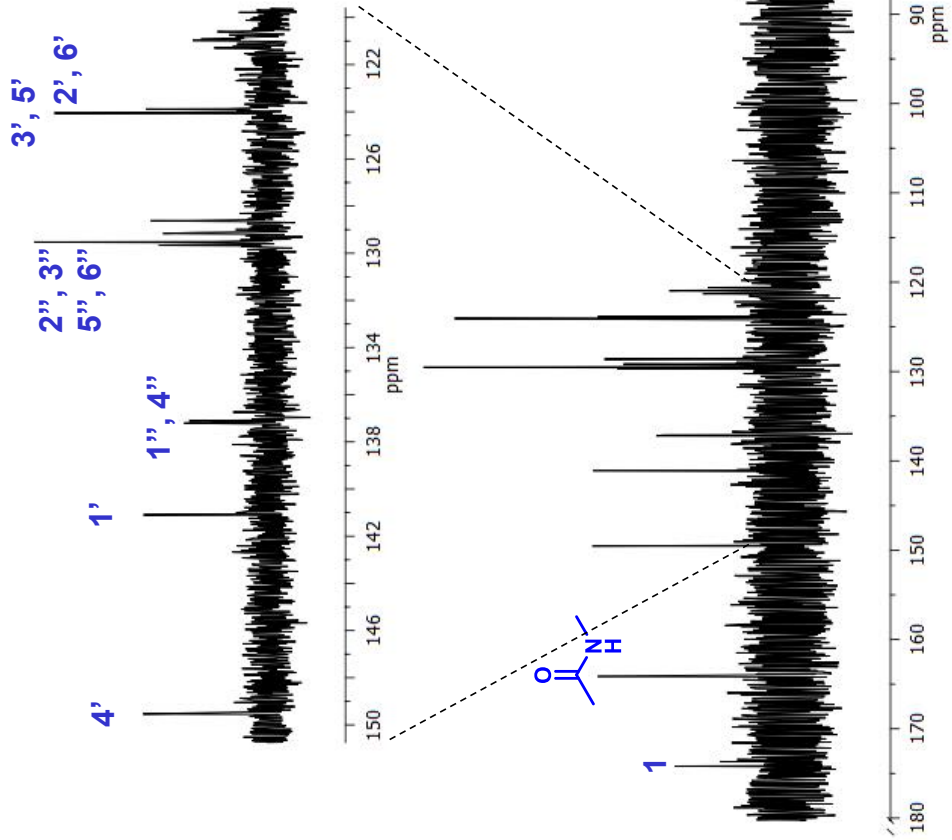
Espectro 18. YZN-9: RMN ¹H, 600 MHz, DMSO-d₆



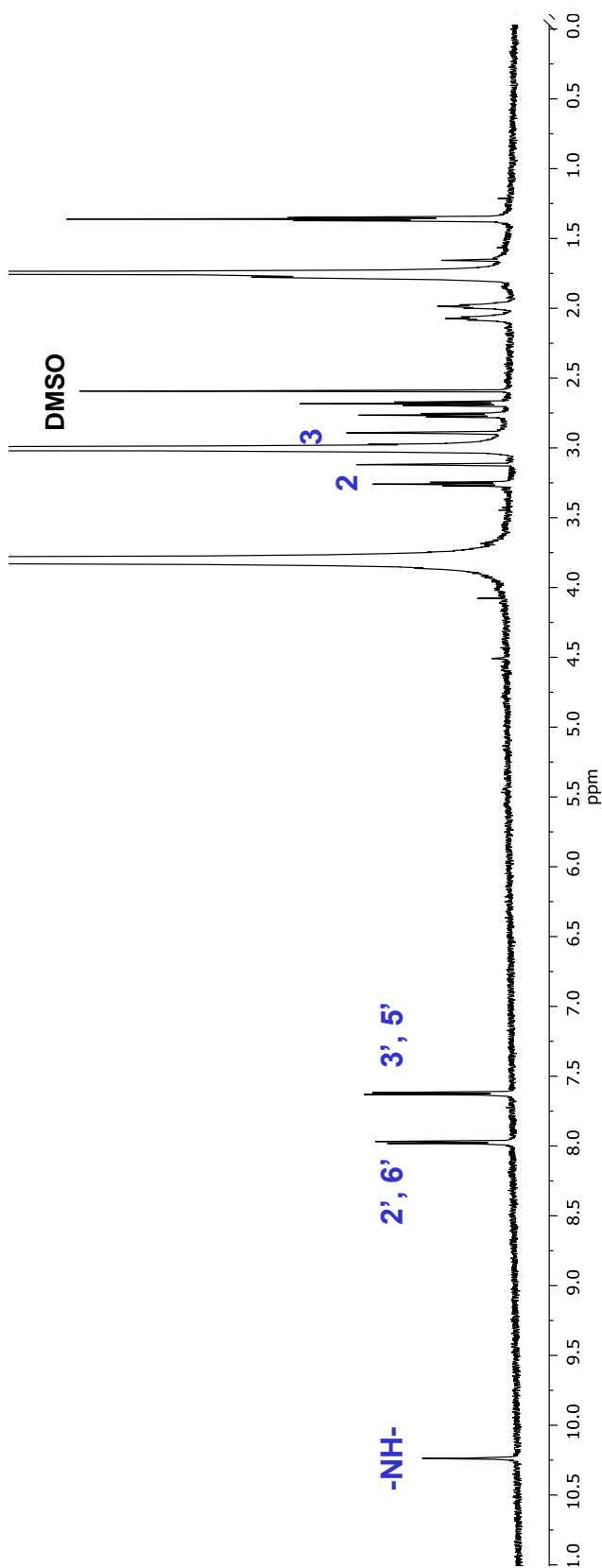
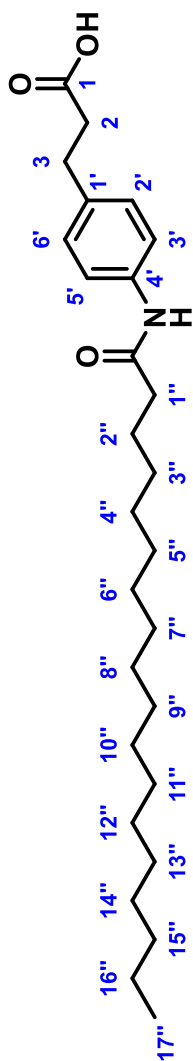
13C_YZN-9_14082018
YZN-9



Carbonos = 16
Señales esperadas = 12
Señales observadas = 12

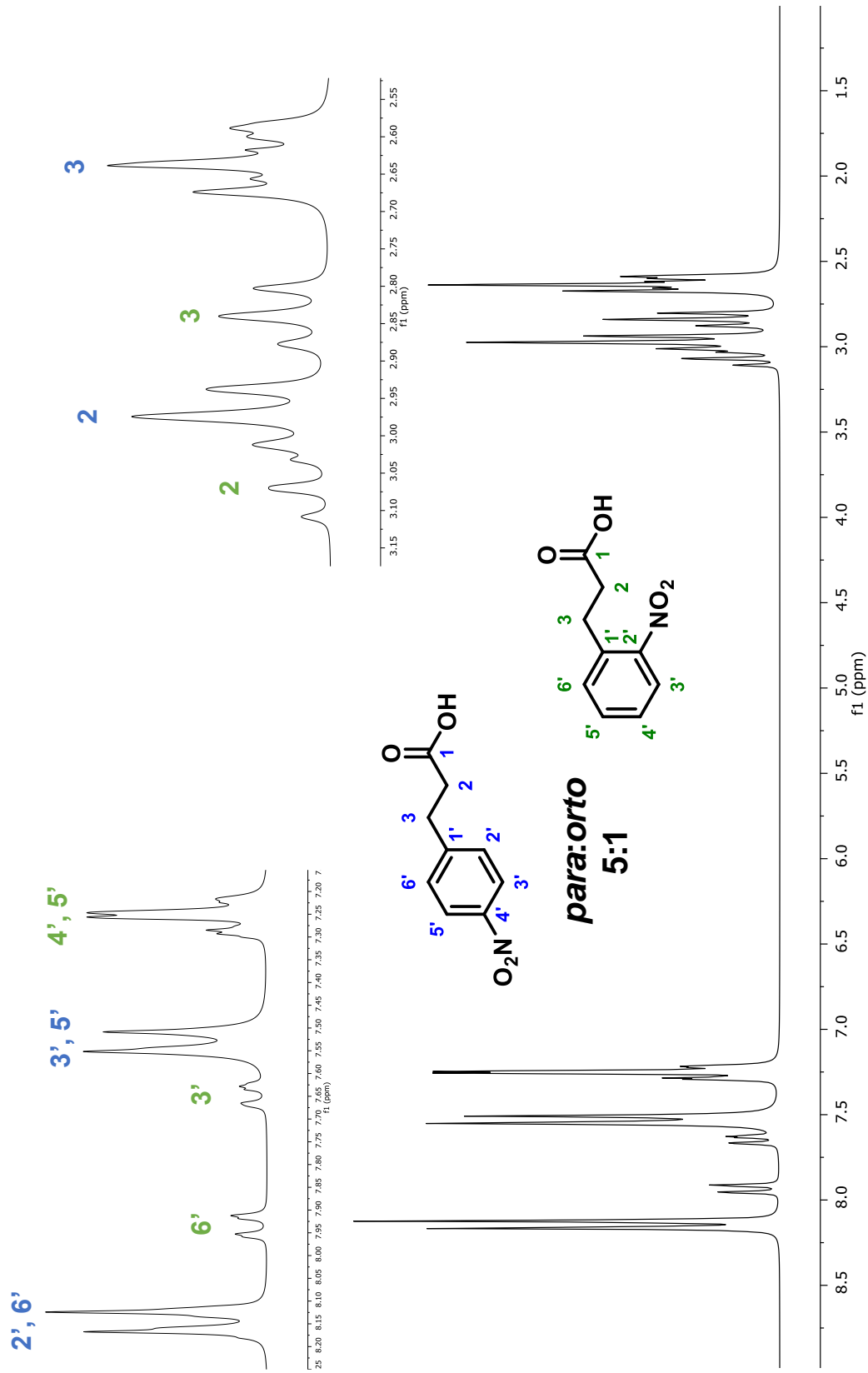


Espectro 19. YZN-9: RMN ¹³C, 150 MHz, DMSO-d₆



Espectro 20. YZN-10: RMN ¹³C, 150 MHz, DMSO-d₆

Espectro 21. YZN-14: RMN ^1H , 200 MHz, DMSO-d_6



13. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Report of a WHO/IDF Consultation. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia. **2006**.
- (2) International Diabetes Federation. *Atlas de La Diabetes*; **2019**.
- (3) Magliano, D. J.; Zimmet, P.; Shaw, J. E. Classification of Diabetes Mellitus and Other Categories of Glucose Intolerance. *Int. Textbook of Diabetes Mellitus, Fourth Edition* **2015**.
- (4) Hollander, P. A Review of Type 2 Diabetes Drug Classes. *Diabetes Manag.* **2008**, 58–61.
- (5) Ahmadian, M.; Suh, J. M.; Hah, N.; Liddle, C.; Atkins, A. R.; Downes, M.; Evans, R. M. PPAR γ Signaling and Metabolism: The Good , The Bad and The Future. *Nat. Med.* **2013**, 19 (5), 557–566. <https://doi.org/10.1038/nm.3159>.
- (6) Deshmukh, V.; Motghare, V.; Padwal, S.; Jaykare, S.; Patil, J.; Pise, H. Newer Drugs in the Management of Diabetes Mellitus. *Int. J. Basic Clin. Pharmacol.* **2013**, 2 (1), 4–11. <https://doi.org/10.5455/2319-2003.ijbcp20130102>.
- (7) Lakshmi, B. S.; Sujatha, S.; Anand, S.; Sangeetha, K. N.; Narayanan, R. B.; Katiyar, C.; Kanaujia, A.; Duggar, R.; Singh, Y.; Srinivas, K. Cinnamic Acid, from the Bark of Cinnamomum Cassia, Regulates Glucose Transport via Activation of GLUT4 on L6 Myotubes in a Phosphatidylinositol 3-Kinase-Independent Manner. *J. Diabetes* **2009**, 1 (2), 99–106. <https://doi.org/10.1111/j.1753-0407.2009.00022.x>.
- (8) Adisakwattana, S. Cinnamic Acid and Its Derivatives: Mechanisms for Prevention and Management of Diabetes and Its Complications. *Nutrients* **2017**, 9 (2). <https://doi.org/10.3390/nu9020163>.
- (9) Májeková, M. Ligand-Based Drug Design of Novel Aldose Reductase Inhibitors. *Future Med. Chem.* **2018**, 10 (21), 2493–2496. <https://doi.org/10.4155/fmc-2018-0127>.
- (10) Dréanic, M. P.; Edge, C. M.; Tuttle, T. New Insights into the Catalytic Mechanism of Aldose Reductase: A QM/MM Study. *ACS Omega* **2017**, 2 (9), 5737–5747. <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b00815>.
- (11) Chatzopoulou, M.; Alexiou, P.; Kotsampasakou, E.; Demopoulos, V. J. Novel Aldose Reductase Inhibitors: A Patent Survey (2006 Present). *Expert Opin. Ther. Pat.* **2012**, 22 (11), 1303–1323. <https://doi.org/10.1517/13543776.2012.726615>.
- (12) Singh Grewal, A.; Bhardwaj, S.; Pandita, D.; Lather, V.; Singh Sekhon, B. Updates on Aldose Reductase Inhibitors for Management of Diabetic Complications and Non-Diabetic Diseases. *Mini-Reviews Med. Chem.* **2015**, 16 (2), 120–162. <https://doi.org/10.2174/1389557515666150909143737>.
- (13) Sarges, R. Synthesis and Aldose Reductase Inhibitory Activity of Substituted 2(W)-Benzimidazolone- and Oxindole-I-Acetic. **1992**, 2, 779–789.
- (14) Mylari, B. L.; Larson, E. R.; Beyer, T. A.; Zembrowski, W. J.; Aldinger, C. E.; Dee, M. F.; Siegel, T. W.; Singleton, D. H. Novel, Potent Aldose Reductase Inhibitors: 3,4-Dihydro-4-Oxo-3-[[5-(Trifluoromethyl)-2-Benzothiazolyl]Methyl]-1-Phthalazineacetic Acid (Zopolrestat) and

- Congeners. *J. Med. Chem.* **1991**, *34* (1), 108–122.
- (15) Van Zandt, M. C.; Sibley, E. O.; McCann, E. E.; Combs, K. J.; Flam, B.; Sawicki, D. R.; Sabetta, A.; Carrington, A.; Sredy, J.; Howard, E.; et al. Design and Synthesis of Highly Potent and Selective (2-Arylcarbamoyl-Phenoxy)-Acetic Acid Inhibitors of Aldose Reductase for Treatment of Chronic Diabetic Complications. *Bioorganic Med. Chem.* **2004**, *12* (21), 5661–5675. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2004.07.062>.
- (16) Chen, X.; Yang, Y.; Ma, B.; Zhang, S.; He, M.; Gui, D.; Hussain, S.; Jing, C.; Zhu, C.; Yu, Q.; et al. Design and Synthesis of Potent and Selective Aldose Reductase Inhibitors Based on Pyridylthiadiazine Scaffold. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46* (5), 1536–1544. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.01.072>.
- (17) Colín-Lozano, B.; Estrada-Soto, S.; Chávez-Silva, F.; Gutiérrez-Hernández, A.; Cerón-Romero, L.; Giacomán-Martínez, A.; Almanza-Pérez, J. C.; Hernández-Núñez, E.; Wang, Z.; Xie, X.; et al. Design, Synthesis and in Combo Antidiabetic Bioevaluation of Multitarget Phenylpropanoic Acids. *Molecules* **2018**, *23* (2), 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules23020340>.
- (18) Bialy, L.; Waldmann, H. Inhibitors of Protein Tyrosine Phosphatases: Next-Generation Drugs? *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2005**, *44* (25), 3814–3839. <https://doi.org/10.1002/anie.200461517>.
- (19) Sun, J.; Qu, C.; Wang, Y.; Huang, H.; Zhang, M.; Li, H.; Zhang, Y.; Wang, Y.; Zou, W. PTP1B, A Potential Target of Type 2 Diabetes Mellitus. *Mol. Biol.* **2016**, *05* (04), 2–7. <https://doi.org/10.4172/2168-9547.1000174>.
- (20) Johnson, T. O.; Ermolieff, J.; Jirousek, M. R. Protein Tyrosine Phosphatase 1B Inhibitors for Diabetes. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2002**, *1* (9), 696–709. <https://doi.org/10.1038/nrd895>.
- (21) Yu, Z. H.; Zhang, Z. Y. Regulatory Mechanisms and Novel Therapeutic Targeting Strategies for Protein Tyrosine Phosphatases. *Chem. Rev.* **2018**, *118* (3), 1069–1091. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00105>.
- (22) Tang, Y. B.; Liu, J. Z.; Zhang, S. E.; Du, X.; Nie, F.; Tian, J. Y.; Ye, F.; Huang, K.; Hu, J. P.; Li, Y.; et al. 3-Phenylpropanoic Acid-Based Phosphotyrosine (PTyr) Mimetics: Hit Evolution to a Novel Orally Active Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) Inhibitor. *ChemMedChem* **2014**, *9* (5), 918–921. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201400007>.
- (23) Medina, J. C.; Houze, J. B. *Chapter 5 GPR40 (FFAR1) Modulators*; Elsevier Masson SAS, **2008**; Vol. 43. [https://doi.org/10.1016/S0065-7743\(08\)00005-5](https://doi.org/10.1016/S0065-7743(08)00005-5).
- (24) Bharate, S. B.; Nemmani, K. V. S.; Vishwakarma, R. A. Progress in the Discovery and Development of Small-Molecule Modulators of G-Protein-Coupled Receptor 40 (GPR40/FFA1/FFAR1): An Emerging Target for Type 2 Diabetes. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2009**, *19* (2), 237–264. <https://doi.org/10.1517/13543770802665717>.
- (25) Riddey, D. M.; Delerive, P.; Summers, R. J.; Sexton, P. M.; Langmead, C. J. G Protein-Coupled Receptors Targeting Insulin Resistance, Obesity, and Type 2 Diabetes Mellitus. *Pharmacol. Rev.* **2018**, *70* (1), 39–67. <https://doi.org/10.1124/pr.117.014373>.
- (26) 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.* **2018**, *91* (3), 668–680. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13131>.
- (27) Christiansen, E.; Urban, C.; Grundmann, M.; Due-Hansen, M. E.; Hagesaether, E.; Schmidt, J.; Pardo, L.; Ullrich, S.; Kostenis, E.; Kassack, M.; et al. 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. <https://doi.org/10.1021/jm2005699>.
- (28) Volpe, D. A. Drug-Permeability and Transporter Assays in Caco-2 and MDCK Cell Lines. *Future Med. Chem.* **2011**, *3* (16), 2063–2077.
- (29) Leeson, P. The Lipinski Rule of Five. *Nature* **2012**, *481*, 455–456.
- (30) Molinspiration disponible en la web: <http://www.molinspiration.com/>.
- (31) Lipinski, C. A. Drug-like Properties and the Causes of Poor Solubility and Poor Permeability. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* **2001**, *44* (2000), 235–249.
- (32) 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), W32–W38.
- (33) Filimonov, D. A.; Lagunin, A. A.; Glorizova, T. A.; Rudik, A. V.; Druzhilovskii, D. S.; Pogodin, P. V.; Poroikov, V. V. Prediction of the Biological Activity Spectra of Organic Compounds Using the Pass Online Web Resource. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2014**, *50* (3), 444–457. <https://doi.org/10.1007/s10593-014-1496-1>.
- (34) Ferreira, L. G.; Dos Santos, R. N.; Oliva, G.; Andricopulo, A. D. *Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies*; **2015**; Vol. 20. <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>.
- (35) 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* **2019**, *35* (6), 1067–1069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty707>.
- (36) Lee, S. K.; Lee, I. H.; Kim, H. joong; No, K. T. The PreADME Approach: Web-Based Program for Rapid Prediction of Physico-Chemical, Drug Absorption and Drug-like Properties. In *EuroQSAR*; **2002**.
- (37) 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.; et al. 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. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.074>.
- (38) Kerns, E.; Di, L. *Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods*; **2008**.
- (39) Ghasemi, A.; Khalifi, S.; Jedi, S. Streptozotocin-Nicotinamide-Induced Rat Model of Type 2 Diabetes (Review). *Acta Physiol. Hung.* **2014**, *101* (4), 408–420. <https://doi.org/10.1556/APhysiol.101.2014.4.2>.
- (40) Goyal, S. N.; Reddy, N. M.; Patil, K. R.; Nakhate, K. T.; Ojha, S.; Patil, C. R.;

- Agrawal, Y. O. Challenges and Issues with Streptozotocin-Induced Diabetes - A Clinically Relevant Animal Model to Understand the Diabetes Pathogenesis and Evaluate Therapeutics. *Chem. Biol. Interact.* **2016**, *244*, 49–63. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.11.032>.
- (41) Defossa, E.; Wagner, M.; Nanjan, M. J.; Mohammed, M.; Prashantha Kumar, B. R.; Chandrasekar, M. J. N.; Ghareb, N.; El-Sayed, N. M.; Abdelhameed, R.; Yamada, K.; et al. Animal Models in Type 2 Diabetes Research: An Overview K. *Bioorg. Chem.* **2017**, *24* (3), 322–338. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.04.181>.
- (42) Hidalgo-Figueroa, S.; Navarrete-Vázquez, G.; Estrada-Soto, S.; Giles-Rivas, D.; Alarcón-Aguilar, F. J.; León-Rivera, I.; Giacomán-Martínez, A.; Miranda Pérez, E.; Almanza-Pérez, J. C. Discovery of New Dual PPAR γ -GPR40 Agonists with Robust Antidiabetic Activity: Design, Synthesis and in Combo Drug Evaluation. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, *90*, 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.03.033>.
- (43) Synquest. 3-(4-Nitrophenyl)propanoic acid.
- (44) 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.
- (45) Hong, H. K.; Jo, S. H. Block of HERG K⁺ Channel by Classic Histamine H1 Receptor Antagonist Chlorpheniramine. *Korean J. Physiol. Pharmacol.* **2009**, *13* (3), 215–220. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2009.13.3.215>.