



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

---

---

FACULTAD DE FARMACIA

**“DISEÑO Y SÍNTESIS DE HÍBRIDOS  
BASADOS EN ÁCIDO FENILPROPIÓNICO  
COMO AGONISTAS DUALES PPAR $\alpha/\gamma$ ”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
M A E S T R O E N F A R M A C I A

P R E S E N T A:

**L.F. MARÍA DIANA MOSSO GONZÁLEZ**

DIRECTOR DE TESIS

**DR. J. GABRIEL NAVARRETE VÁZQUEZ**



**CUERNAVACA, MORELOS 2018**



FACULTAD DE FARMACIA  
Consejo Interno de Posgrado

MAESTRÍA EN FARMACIA

Fecha: 25 de enero de 2018

Asunto: jurado

Medio de notificación: Impresa/personal

Folio: FF/D/SAc/CIP/MF/009/2018

**L.F. MARÍA DIANA MOSSO GONZÁLEZ**  
**ESTUDIANTE DEL PROGRAMA DE MAESTRÍA EN FARMACIA**  
**P R E S E N T E**

Por este medio le informo que, con base en la propuesta hecha en su solicitud, el Consejo Interno de Posgrado le asigno el siguiente jurado para evaluar la tesis **“Diseño y síntesis de híbridos basados en ácido fenilpropiónico como agonistas duales PPAR $\alpha/\gamma$ ”**.

Quedando integrado su comité de la siguiente manera:

- PRESIDENTE: Dr. Jesús Rivera Islas**
- SECRETARIO: M.F Blanca I. Colín Lozano**
- VOCAL1: Dr. Jaime Escalante García**
- VOCAL2: Dr. Marco A. Loza Mejía**
- VOCAL 3: Dr. Carlos Méndez Cuesta**

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

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

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

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



ccp: archivo  
mitv

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



Una universidad de excelencia

RECTORÍA  
2017-2023



## AGRADECIMIENTOS

- A CONACyT por el apoyo otorgado como becario del programa de Maestría con el número de CVU **741612**.
- Al proyecto de Investigación en Ciencia Básica 2015 número **253814**.
- Al financiamiento interno de la Facultad de Farmacia de la UAEM para la realización de este proyecto de investigación.
- A los miembros de mi Comité Tutoral, conformado por el Dr. Gabriel Navarrete Vázquez, el Dr. Jaime Escalante García y el Dr. Samuel Enoch Estrada Soto, por el tiempo dedicado y acertadas aportaciones para mejorar este proyecto.
- Al jurado revisor de tesis, Dr. Jaime Escalante García, M.F Blanca Colín Lozano, al Dr. Jesús Rivera Islas, al Dr. Marco Antonio Izoa Mejía y al Dr. Carlos Méndez Cuesta, por las observaciones y sugerencias realizadas para mejorar este trabajo.
- Al Dr. Samuel Estrada Soto del laboratorio de Farmacognosia (FF-UAEM) por la realización de los ensayos de diabetes *in vivo* y principalmente por su apoyo, consejos y amistad a lo largo de mi carrera.
- A la M.F Fabiola Chávez Silva por la realización, dedicación y paciencia durante la realización de los ensayos *in vivo*.
- Al Dr. Julio Cesar Almanza Pérez y al M.B.E. Abraham Giacoman Martínez del departamento de Farmacología de la UAEM, por la realización de los ensayos *in vitro*.
- A la M. en C. Marina Argelia Ortega Rojas del CIQ por la realización de los análisis espectroscópicos, por el soporte durante mi estancia en el laboratorio 219 y sobre todo por tu amistad.  
A la Dra en F. Gabriela Ávila Villareal del Centro Nayarita de Innovación y Transferencia de Tecnología (CENIT 2) por la realización de los análisis espectrométricos y el tiempo dedicado a ello.
- Al M. en C. Adrián Méndez Ochoa del CIQ por el aporte y apoyo en la metodología de síntesis del compuesto **MGD-14**.

A mis amigos del Laboratorio 5: Luis, Carlos, Thalía, Blanca, Claverie por los buenos momentos que pasamos durante este trayecto, por su apoyo y su amistad, a mis compañeros Norma, Jorge, Abril, Karina, Josué, Yelzyn, Dr. Elix, Cristian.

A mis compañeros y amigos del L-219: Marina, Fanny, Lupita, Adrián Neri, Paloma, Jonathan, Adrián, Jaqueline por los buenos tiempos y su compañía.

### Agradecimiento Especial:

- Al Dr. Jaime Escalante García del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) por haberme permitido utilizar las Instalaciones del CIQ, por el tiempo dedicado desde el inicio hasta la culminación de este proyecto, por las aportaciones y paciencia durante mi estancia en su laboratorio, por las enseñanzas brindadas a nivel académico, por brindarme un lugar en su grupo de investigación, por considerarme su alumna y principalmente por su apoyo y su valiosa amistad.
- Al Dr. Gabriel Navarrete Vázquez, quien me brindo el gusto por la Química Farmacéutica, mi mentor, el mejor profesor del mundo. Gracias por confiarme nuevamente uno de sus proyectos, por creer en mí, por su apoyo incondicional y su amistad.



## DEDICATORIAS

### A mis Papás

Julia González Marcelo y Jesús Mosso Barragán por su paciencia a lo largo de mi vida, por darme las herramientas necesarias, apoyo y el impulso para seguir adelante, a mi mamá por ser el mejor ejemplo de superación y entrega. Este logro es de ustedes.

### A mis hermanos

Iván, Jesús, Jorge, Denisse y Carlos, por su compañía en este camino, su apoyo. Cada meta que cumplimos es el resultado de las personas que nos rodean, y yo he sido bendecida con ustedes e increíbles personas más.

### A Cristian Medina

Mi motivación, mi alma gemela, mi amigo y mi compañero de vida. Gracias por creer en mí, por tu apoyo incondicional por acompañarme cada día desde empezamos esta aventura, por tus consejos, paciencia, dedicación y sobre todo por tu amor, por que cada día te conozco más y descubro el mundo que siempre esperé. Te adoro Dego Román, gracias por dejarme entrar en tu vida. Te amo mucho Baby.

“Lo tengo decidido, no necesito pensarlo más, si me equivoco estará bien, no necesito mirar más lejos, esto es amor”

### A amigos y familiares

Y todas las demás personas que me han otorgado su tiempo, su apoyo, su confianza y su amistad.



Aprendí que las cosas pasan cuando tienen que pasar, ni tarde, ni temprano. Que dar todo no significa que recibirás todo. Que una buena siembra no significa una buena cosecha. Que los momentos son cortos y por eso hay que disfrutarlos. Que las lágrimas no las merece quien las hace llorar. Que el amor no se puede forzar y llega cuando menos lo esperas. Que puede haber amigos que son familia y familiares que son sólo conocidos. Aprendí que la vida es sólo cuestión de vivirla con amor, honor, valores y fe. Le pido a dios que mañana me enseñe tanto o más de lo que aprendí hoy.

**-Anónimo**



# ÍNDICE GENERAL

	Pag
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
INDICE DE ESQUEMAS .....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS Y GRAFICAS .....	XIII
ÍNDICE DE ESPECTROS.....	XIV
LISTA DE ABREVIATURAS .....	XVI
RESUMEN .....	XVII
ABSTRACT .....	XVIII
ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS .....	XIX

CONTENIDO	PÁGINA
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES .....	2
2.1 Definición de Diabetes Mellitus y estadística .....	2
2.2 Clasificación de la Diabetes Mellitus .....	4
2.3 Diabetes Mellitus tipo 2.....	5
2.4 Criterios de diagnóstico de la DMT 2.....	5
2.5 Fisiopatología de la DMT 2.....	6
2.5.1 Síntesis, liberación y acción de la insulina .....	6
2.5.2 Resistencia a la insulina (RI) .....	8
2.6 Dislipidemias y Diabetes Mellitus tipo 2.....	10
2.7 Tratamiento de la Diabetes tipo 2.....	11
2.8 Fármacos empleados para el tratamiento de la DMT 2.....	12
2.8.1 Sulfonilureas (SU) .....	12
2.8.2 Meglitinidas.....	12
2.8.3 Inhibidores de la $\alpha$ -glucosidasa .....	13
2.8.4 Biguanidas.....	13
2.8.5 Incretinas .....	14
2.8.6 Inhibidores de la enzima Dipeptidil peptidasa IV (DPP-4) .....	14
2.8.7 Inhibidores del transportador renal de glucosa.....	15
2.8.8 Tiazolidindionas o glitazonas.....	16
2.9 Receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPAR's) .....	17
2.9.1 PPAR $\gamma$ .....	18
2.9.2 PPAR $\alpha$ .....	19
2.9.3 Agonistas duales PPAR $\alpha/\gamma$ .....	21
2.10 Blancos terapéuticos novedosos para el tratamiento de la DMT 2 .....	22
2.10.1 GPR40 .....	22



2.10.2	PTP-1B .....	24
2.10.3	Aldosa reductasa .....	25
<b>3.</b>	<b>JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>26</b>
<b>4.</b>	<b>HIPÓTESIS .....</b>	<b>27</b>
<b>5.</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>27</b>
5.1	Objetivo general .....	27
5.2	Objetivos particulares .....	27
<b>6.</b>	<b>CONSIDERACIONES QUÍMICO FARMACÉUTICAS PARA EL DISEÑO MOLECULAR .....</b>	<b>28</b>
6.1	Criterios generales para el diseño de los compuestos propuestos .....	28
<b>7.</b>	<b>METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....</b>	<b>33</b>
7.1	Parte química .....	34
7.1.1	Análisis retrosintético .....	34
7.1.2	Metodología general para la síntesis de los compuestos <b>MGD 1-5</b> y <b>MGD-14</b> .....	35
7.1.3	Síntesis general de los precursores <b>MGD 8-11</b> .....	36
7.1.4	Síntesis general de los ésteres metílicos <b>MGD 12a-e</b> y <b>MGD-13</b> .....	37
7.1.5	Síntesis general de los compuestos finales <b>MGD 1-5</b> y <b>MGD-14</b> .....	38
7.1.6	Identificación y asignación estructural de los compuestos .....	39
7.1.6.1	Espectroscopia de RMN .....	39
7.1.6.2	Espectrometría de masas .....	39
7.1.6.3	Cristalografía de rayos X .....	40
7.2	Parte Farmacológica .....	41
7.2.1	Evaluación <i>in vivo</i> del efecto antidiabético sobre un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente .....	41
7.2.2	Evaluación <i>in vitro</i> del efecto antidiabético sobre adipocitos diferenciados de fibroblastos de la línea 3T3-L1 .....	41
7.2.2.2	Cultivo celular de adipocitos 3T3-L1 .....	41
7.2.2.3	Aislamiento de RNA total y cuantificación de la expresión de RNAs mensajeros .....	42
7.3	Parte computacional .....	44
7.3.2	PASS: Predicción del espectro de actividad biológica para sustancias .....	44
7.3.3	SwissTarget Prediction: Predicción de la actividad biológica .....	45
7.3.4	OSIRIS: Predicción de las propiedades cuasi-fármaco .....	46
7.3.5	MetaPrint2D: Predicción de los principales sitios de metabolismo .....	47
7.3.6	AdmetSAR: Predicción de las propiedades de absorción, distribución, metabolismo, eliminación y toxicidad .....	48
7.3.7	ACD/ToxSuite: Predicción de la toxicidad aguda .....	49
7.3.8	DIA-DB: Docking Inverso .....	50
7.3.9	Acoplamiento molecular automatizado (AutoDock Tools, MOE, PyMol, Discovery Studio) .....	51
<b>8.0</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>53</b>
8.1	Parte Química .....	53
8.1.1	Síntesis del compuesto final <b>MGD-1</b> : Ácido 3-(4-(2-((1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propiónico .....	53
8.1.1.1	Síntesis del precursor <b>MGD-8</b> : Ácido ( <i>E</i> )-3-(4-nitrofenil)acrílico .....	53
8.1.1.2	Síntesis del precursor <b>MGD-9</b> : ( <i>E</i> )-3-(4-nitrofenil)acrilato de metilo .....	56
8.1.1.3	Síntesis del precursor <b>MGD-10</b> : 3-(4-aminofenil)propanoato de metilo .....	58
8.1.1.4	Síntesis del precursor <b>MGD-11</b> : 3-(2-cloroacetamido)fenil)propanoato de metilo .....	60
8.1.1.5	Síntesis del éster <b>MGD-12a</b> : 3-(4-(2-((1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propanoato de metilo .....	63
8.1.1.6	Síntesis del compuesto final <b>MGD-1</b> .....	64
8.1.2	Síntesis del compuesto final <b>MGD-2</b> : Ácido 3-(4-(2-(benzoxazol-2-iltio)acetamido)fenil)propiónico .....	66
8.1.2.1	Síntesis del éster <b>MGD-12b</b> : 3-(4-(2-(benzoxazol-2-iltio)acetamido)fenil)propanoato de metilo .....	66



8.1.2.2	Síntesis del compuesto final <b>MGD-2:</b>	68
8.1.3	Síntesis del compuesto final <b>MGD-3:</b> Ácido 3-(4-(2-(benzotiazol-2-iltio)acetamido)fenil)propiónico	70
8.1.3.1	Síntesis del éster <b>MGD-12c:</b> 3-(4-(2-(benzotiazol-2-iltio)acetamido)fenil)propanoato de metilo	70
8.1.3.2	Síntesis del compuesto final <b>MGD-3:</b>	72
8.1.4	Síntesis del compuesto final <b>MGD-4:</b> Ácido 3-(4-(2-((5-metoxi-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propiónico	74
8.1.4.1	Síntesis del éster <b>MGD-12d:</b> 3-(4-(2-((5-metoxi-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propanoato de metilo	74
8.1.4.2	Síntesis del compuesto final <b>MGD-4:</b>	76
8.1.5	Síntesis del compuesto final <b>MGD-5:</b> Ácido 3-(4-(2-((5-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propiónico	78
8.1.5.1	Síntesis del éster <b>MGD-12e:</b> 3-(4-(2-((5-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propanoato de metilo	78
8.1.5.2	Síntesis del compuesto final <b>MGD-5:</b>	80
8.1.6	Síntesis del compuesto final <b>MGD-14:</b> Ácido 3-(4-([1,1'-bifenil]-4-carboxamido)fenil)propiónico	82
8.1.6.1	Síntesis del éster <b>MGD-13:</b> 3-(4-([1,1'-bifenil]-4-carboxamido)fenil)propanoato de metilo	82
8.1.6.2	Síntesis del compuesto final <b>MGD-14:</b>	85
8.2	Parte Computacional <i>a priori</i>	88
8.2.1	Predicción del Espectro de Actividad Biológica para Sustancias (PASS)	88
8.2.2	Predicción de la actividad biológica (Swiss TargetPrediction)	89
8.2.3	Predicción de actividades cuasi-fármaco (OSIRIS)	90
8.2.4	Predicción de las propiedades farmacocinéticas (admetSAR)	91
8.2.5	Predicción de toxicidad aguda: ACD/ToxSuite	92
8.2.5.1	Inhibición de isoformas de CYP-450	92
8.2.5.2	Probabilidad de bloqueo de los canales hERG	93
8.2.5.3	Toxicidad aguda	94
8.2.6	Acoplamiento molecular inverso: DIA-DB	95
8.2.7	Análisis de consenso farmacológico	99
8.3	Parte Farmacológica	102
8.3.1	Ensayos <i>in vitro</i> de <b>MGD-3</b> y <b>MGD-14</b> sobre la expresión de PPAR $\gamma$ , PPAR $\alpha$ , GLUT-4 y FATP-1	102
8.3.2	Evaluación antidiabética <i>in vivo</i> del compuesto <b>MGD-3</b>	104
8.3.3	Evaluación antidiabética <i>in vivo</i> del compuesto <b>MGD-1</b>	106
8.3.4	Evaluación antidiabética <i>in vivo</i> del compuesto <b>MGD-14</b>	108
8.4	Parte Computacional <i>a priori</i>	111
8.4.1	Acoplamiento molecular (Molecular Docking)	111
8.4.1.1	Acoplamiento molecular sobre PPAR $\gamma$	112
8.4.1.1.1	Acoplamiento molecular de <b>MGD-1</b>	113
8.4.1.1.2	Acoplamiento molecular de <b>MGD-3</b>	115
8.4.1.2	Acoplamiento molecular sobre PPAR $\alpha$	116
8.4.1.2.1	Acoplamiento molecular de <b>MGD-1</b>	117
8.4.1.2.2	Acoplamiento molecular de <b>MGD-3</b>	119
8.4.1.3	Acoplamiento molecular de <b>MGD-14</b> sobre GPR40	121
8.4.1.4	Acoplamiento molecular de <b>MGD-14</b> sobre PTP-1B	124
8.4.1.5	Acoplamiento molecular de <b>MGD-14</b> sobre Aldosa Reductasa	127
8.4.2	Eficiencia del ligando	130
9.0	CONCLUSIONES	131
10.0	PERSPECTIVAS	132





<b>11.0 PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>133</b>
11.1 Instrumentación .....	<b>133</b>
11.2 Cromatografía.....	<b>133</b>
11.3 Parte química .....	<b>134</b>
11.3.1 Síntesis del compuesto final <b>MGD-1:</b> Ácido 3-(4-(2-((1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propiónico .....	<b>134</b>
11.3.2 Síntesis del compuesto final <b>MGD-2:</b> Ácido 3-(4-(2-(benzoxazol-2-iltio)acetamido)fenil)propiónico .....	<b>135</b>
11.3.3 Síntesis del compuesto final <b>MGD-3:</b> Ácido 3-(4-(2-(benzotiazol-2-iltio)acetamido)fenil)propiónico .....	<b>136</b>
11.3.4 Síntesis del compuesto final <b>MGD-4:</b> Ácido 3-(4-(2-((5-metoxi-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propiónico .....	<b>137</b>
11.3.5 Síntesis del compuesto final <b>MGD-5:</b> Ácido 3-(4-(2-((5-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propiónico .....	<b>138</b>
11.3.6 Síntesis del compuesto final <b>MGD-14:</b> Ácido 3-(4-([1,1'-bifenil]-4-carboxamido)fenil)propiónico .....	<b>139</b>
11.3.7 Síntesis del éster <b>MGD-12a:</b> 3-(4-(2-((1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propanoato de metilo .....	<b>140</b>
11.3.8 Síntesis del éster <b>MGD-12b:</b> 3-(4-(2-(benzoxazol-2-iltio)acetamido)fenil)propanoato de metilo .....	<b>141</b>
11.3.9 Síntesis del éster <b>MGD-12c:</b> 3-(4-(2-(benzotiazol-2-iltio)acetamido)fenil)propanoato de metilo .....	<b>142</b>
11.3.10 Síntesis del éster <b>MGD-12d:</b> 3-(4-(2-((5-metoxi-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propanoato de metilo .....	<b>143</b>
11.3.11 Síntesis del éster <b>MGD-12e:</b> 3-(4-(2-((5-metil-1 <i>H</i> -bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propanoato de metilo .....	<b>144</b>
11.3.12 Síntesis del éster <b>MGD-13:</b> 3-(4-([1,1'-bifenil]-4-carboxamido)fenil)propanoato de metilo .....	<b>145</b>
11.3.13 Síntesis del precursor <b>MGD-11:</b> 3-(2-cloroacetamido)fenil)propanoato de metilo .....	<b>146</b>
11.3.14 Síntesis del precursor <b>MGD-10:</b> 3-(4-aminofenil)propanoato de metilo .....	<b>147</b>
11.3.15 Síntesis del precursor <b>MGD-9:</b> ( <i>E</i> )-3-(4-nitrofenil)acrilato de metilo .....	<b>148</b>
11.3.16 Síntesis del precursor <b>MGD-8:</b> Ácido ( <i>E</i> )-3-(4-nitrofenil)acrílico .....	<b>149</b>
<b>12.0 ESPECTROS DE <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C Y MASAS DE LOS COMPUESTOS</b> .....	<b>150</b>
<b>13.0 BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>169</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Número estimado de personas por región con DM a nivel mundial.	2
<b>Figura 2.</b> Principales países con mayor incidencia de DMT 2 en el año 2017 y estimación para el año 2045.	3
<b>Figura 3.</b> Síntesis de insulina en las células $\beta$ -pancreáticas.	6
<b>Figura 4.</b> Mecanismo por medio del cual la insulina es liberada de las vesículas secretoras.	7
<b>Figura 5.</b> Estructura del receptor de insulina.	7
<b>Figura 6.</b> Vía de señalización de la insulina y translocación de GLUT 4.	8
<b>Figura 7.</b> Influencia de hiperglicemia, disfunción de las células $\beta$ pancreáticas y exceso en la liberación de AGL en la generación de RI en DMT 2.	9
<b>Figura 8.</b> Fármacos empleados para el tratamiento de dislipidemias.	11
<b>Figura 9.</b> A) Principales fármacos hipoglucemiantes de tipo SU y B) Mecanismo de acción.	12
<b>Figura 10.</b> Principales fármacos hipoglucemiantes de tipo no sulfonilureas.	12
<b>Figura 11.</b> Fármacos hipoglucemiantes inhibidores de la enzima $\alpha$ -glucosidasa.	13
<b>Figura 12.</b> Fármaco antihiperoglucemiante, perteneciente al grupo de las biguanidas.	13
<b>Figura 13.</b> A) Efecto de GLP1 sobre las células $\beta$ -pancreáticas, B) Estructura química y secuencia de aminoácidos de la Exenatida.	14
<b>Figura 14.</b> Estructura química de los fármacos inhibidores de la enzima DPP-4.	15
<b>Figura 15.</b> Mecanismo por medio del cual SGLT2 permite el transporte y la reabsorción de glucosa.	15
<b>Figura 16.</b> A) Mecanismo por el cual actúan los inhibidores de SGLT2, B) Estructura química de los inhibidores del transportador renal de glucosa.	16
<b>Figura 17.</b> Estructura química de los fármacos agonistas del receptor PPAR $\gamma$ .	16
<b>Figura 18.</b> A) Estructura general de los PPAR, B) Mecanismo por el cual actúan los agonistas de PPAR.	17
<b>Figura 19.</b> Mecanismos mediante los cuales la regulación de PPAR $\gamma$ puede mejorar la sensibilidad a la insulina y la reducción de hiperglicemia en sangre.	18
<b>Figura 20.</b> Estructura química de los agonistas endógenos del receptor PPAR $\gamma$ .	19
<b>Figura 21.</b> Estructura química de los agonistas endógenos del receptor PPAR $\alpha$ .	20
<b>Figura 22.</b> Estructura química de agonistas sintéticos del receptor PPAR $\alpha$ .	20
<b>Figura 23.</b> Estructura química de los Glitazares agonistas duales PPAR $\alpha/\gamma$ y Bezafibrato (pan PPAR).	21
<b>Figura 24.</b> Mecanismo por el cual ocurre la liberación de insulina mediante la activación de GPR40.	22
<b>Figura 25.</b> Estructura química de los agonistas de GPR40.	23
<b>Figura 26.</b> Mecanismo de la regulación negativa de PTP-1B en la señalización de insulina.	24
<b>Figura 27.</b> Mecanismo por el cual la enzima aldosa reductasa participa en la generación de complicaciones crónicas en DMT 2.	25
<b>Figura 28.</b> Estructura de algunos ligandos endógenos de PPAR.	28
<b>Figura 29.</b> Patrón farmacofórico unificado de los agonistas duales PPAR $\alpha/\gamma$ y de GPR40 e inhibidores de las enzimas PTP-1B y Aldosa Reductasa.	29
<b>Figura 30.</b> Compuestos diseñados con el patrón farmacofórico de PPAR, los cuales presentan actividad antidiabética observada en ensayos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> .	30
<b>Figura 31.</b> Diseño de los compuestos propuestos <b>MGD 1-5</b> y <b>MGD-14</b> a partir del farmacóforo de los agonistas duales PPAR $\alpha/\gamma$ .	30
<b>Figura 32.</b> Programa computacional molinspiration ( <a href="http://www.molinspiration.com">http://www.molinspiration.com</a> ).	31
<b>Figura 33.</b> Programa computacional PASS online, para la predicción de la actividad farmacológica.	44



<b>Figura 34.</b> Programa en línea SwissTargetPrediction, para la predicción de la actividad farmacológica.	<b>45</b>
<b>Figura 35.</b> Programa en línea OSIRIS, para la predicción de las propiedades cuasi-fármaco.	<b>46</b>
<b>Figura 36.</b> Servidor en línea para la predicción de los principales sitios de metabolismo, MetaPrint 2D.	<b>47</b>
<b>Figura 37.</b> Programa computacional admetSAR.	<b>48</b>
<b>Figura 38.</b> Portal del programa computacional ACD/ToxSuite.	<b>49</b>
<b>Figura 39.</b> Portal del servidor en línea DIA-DB empleado para la búsqueda de posibles ligandos antidiabéticos.	<b>50</b>
<b>Figura 40.</b> Programas computacionales empleados para llevar a cabo el acoplamiento molecular (Docking).	<b>52</b>
<b>Figura 41.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) del compuesto <b>MGD-8</b> .	<b>54</b>
<b>Figura 42.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto <b>MGD-8</b> .	<b>54</b>
<b>Figura 43.</b> Espectro de EM-IE del compuesto <b>MGD-8</b> .	<b>55</b>
<b>Figura 44.</b> Estructura cristalográfica del compuesto precursor <b>MGD-8</b> .	<b>55</b>
<b>Figura 45.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del compuesto <b>MGD-9</b> .	<b>56</b>
<b>Figura 46.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) del compuesto <b>MGD-9</b> .	<b>57</b>
<b>Figura 47.</b> Espectro de EM-IE del compuesto <b>MGD-9</b> .	<b>57</b>
<b>Figura 48.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del compuesto <b>MGD-10</b> .	<b>58</b>
<b>Figura 49.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) del compuesto <b>MGD-10</b> .	<b>59</b>
<b>Figura 50.</b> Espectro de EM-IE del compuesto <b>MGD-10</b> .	<b>59</b>
<b>Figura 51.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del compuesto <b>MGD-11</b> .	<b>60</b>
<b>Figura 52.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) del compuesto <b>MGD-11</b> .	<b>61</b>
<b>Figura 53.</b> Espectro de EM-IE del compuesto <b>MGD-11</b> .	<b>61</b>
<b>Figura 54.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) del compuesto <b>MGD-12a</b> .	<b>62</b>
<b>Figura 55.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto <b>MGD-12a</b> .	<b>63</b>
<b>Figura 56.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) del compuesto final <b>MGD-1</b> .	<b>64</b>
<b>Figura 57.</b> Espectro de EM-IE del compuesto final <b>MGD-1</b> .	<b>65</b>
<b>Figura 58.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) del compuesto <b>MGD-12b</b> .	<b>67</b>
<b>Figura 59.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto <b>MGD-12b</b> .	<b>67</b>
<b>Figura 60.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) del compuesto final <b>MGD-2</b> .	<b>68</b>
<b>Figura 61.</b> Espectro de EM-IE del compuesto final <b>MGD-2</b> .	<b>69</b>
<b>Figura 62.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) del compuesto final <b>MGD-12c</b> .	<b>70</b>
<b>Figura 63.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto final <b>MGD-12c</b> .	<b>71</b>
<b>Figura 64.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) del compuesto final <b>MGD-3</b> .	<b>72</b>
<b>Figura 65.</b> Espectro de EM-IE del compuesto final <b>MGD-3</b> .	<b>73</b>
<b>Figura 66.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) del compuesto <b>MGD-12d</b> .	<b>74</b>
<b>Figura 67.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto <b>MGD-12d</b> .	<b>75</b>
<b>Figura 68.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) del compuesto <b>MGD-4</b> .	<b>76</b>
<b>Figura 69.</b> Espectro de EM-IE del compuesto <b>MGD-4</b> .	<b>77</b>
<b>Figura 70.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del compuesto <b>MGD-12e</b> .	<b>78</b>
<b>Figura 71.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) del compuesto <b>MGD-12e</b> .	<b>79</b>
<b>Figura 72.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) del compuesto final <b>MGD-5</b> .	<b>80</b>
<b>Figura 73.</b> Espectro de EM-IE del compuesto final <b>MGD-5</b> .	<b>81</b>
<b>Figura 74.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) del compuesto <b>MGD-13</b> .	<b>83</b>
<b>Figura 75.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) del compuesto <b>MGD-13</b> .	<b>84</b>
<b>Figura 76.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) del compuesto final <b>MGD-14</b> .	<b>85</b>
<b>Figura 77.</b> Espectro de EM-IE del compuesto final <b>MGD-14</b> .	<b>86</b>
<b>Figura 78.</b> Selección de los mejores candidatos mediante un análisis en conjunto de los datos arrojados por cada una de las herramientas quimioinformáticas empleadas.	<b>101</b>



<b>Figura 79.</b> Validación del acoplamiento molecular: confórmero de Tesaglitazar obtenido de la validación (azul) y Tesaglitazar XRAY sobre el sitio activo de PPAR $\gamma$ (rojo).	112
<b>Figura 80.</b> Sobreposicionamiento del confórmero del compuesto <b>MGD-1</b> y Tesaglitazar sobre el sitio activo de PPAR $\gamma$ .	113
<b>Figura 81.</b> Acoplamiento molecular del compuesto <b>MGD-1</b> (rosa) sobre el sitio activo de PPAR $\gamma$ , el cual mantiene una interacción con el carbonilo del ácido con los mismos residuos de aminoácido que Tesaglitazar, ligando co-cristalizado con el receptor (verde).	113
<b>Figura 82.</b> Interacciones presentadas por <b>MGD-1</b> en 2D sobre la cavidad de PPAR $\gamma$ .	114
<b>Figura 83.</b> Acoplamiento molecular del compuesto <b>MGD-3</b> (azul) sobre el sitio activo de PPAR $\gamma$ , el cual mantiene una interacción con el carbonilo del ácido con Arg288 (rosa).	115
<b>Figura 84</b>	115
<b>Figura 85</b>	116
<b>Figura 87.</b> Validación del acoplamiento molecular: confórmero obtenido de Tesaglitazar (azul) y ligando Tesaglitazar co-cristalizado (rojo) sobre el sitio activo de PPAR $\alpha$ .	117
<b>Figura 88.</b> Sobreposicionamiento del confórmero del compuesto <b>MGD-1</b> y Tesaglitazar sobre el sitio activo de PPAR $\alpha$ .	118
<b>Figura 89.</b> Acoplamiento molecular del compuesto <b>MGD-1</b> (rosa) sobre el sitio activo de PPAR $\alpha$ , el cual mantiene las mismas interacciones (verde) de la región ácida que Tesaglitazar.	118
<b>Figura 90.</b> Interacciones en 2D presentadas por el compuesto <b>MGD-1</b> sobre la cavidad de PPAR $\alpha$ .	119
<b>Figura 91.</b> Sobreposicionamiento del compuesto <b>MGD-3</b> y Tesaglitazar sobre el sitio activo de PPAR $\gamma$ .	120
<b>Figura 92.</b> Acoplamiento molecular del compuesto <b>MGD-3</b> sobre el sitio activo de PPAR $\alpha$ , el cual mantiene interacciones por puente de hidrógeno con el carbonilo del ácido con His440, Ser280 y Ala316 (rosa).	120
<b>Figura 93.</b> Interacciones presentadas por <b>MGD-3</b> en 2D sobre la cavidad de PPAR $\alpha$ .	121
<b>Figura 94.</b> Validación del acoplamiento molecular: Confórmero de <b>MK-8666</b> (azul) y el ligando XRAY (rojo) sobre el sitio alostérico de GPR40.	122
<b>Figura 95.</b> Sobreposicionamiento del compuesto <b>MGD-14</b> y <b>MK-8666</b> sobre el sitio alostérico de GPR40.	123
<b>Figura 96.</b> Acoplamiento molecular del compuesto <b>MGD-14</b> sobre el sitio activo de GPR40, el cual mantiene interacciones por puente de hidrógeno con la región ácida con Tyr2240, Tyr91 y Arg183 (rosa).	123
<b>Figura 97.</b> Diagrama en 2D de las interacciones presentadas por <b>MGD-14</b> sobre el sitio activo de GPR40.	124
<b>Figura 98.</b> Validación del acoplamiento molecular: confórmero obtenido de <b>CPT157633</b> (verde) y el <b>CPT157633</b> co-cristalizado (rojo) sobre el sitio catalítico de la enzima PTP-1B.	125
<b>Figura 99.</b> Sobreposicionamiento del compuesto <b>MGD-14</b> y <b>CPT157633</b> sobre el sitio catalítico de PTP-1B.	126
<b>Figura 100.</b> Acoplamiento molecular del compuesto <b>MGD-14</b> sobre el sitio catalítico de la enzima PTP-1B, el cual mantiene interacciones por puente de hidrógeno de la región ácida con Ser216, Arg221, Cys215, Ala217 y Gly218 (rosa).	126
<b>Figura 101.</b> Diagrama en 2D de las interacciones presentadas por <b>MGD-14</b> sobre el sitio la enzima PTP-1B.	127
<b>Figura 102.</b> Validación del acoplamiento molecular: confórmero obtenido de Lidorestat (verde) y el Lidorestat co-cristalizado (rojo) sobre el sitio catalítico de la enzima aldosa reductasa.	128
<b>Figura 103.</b> Sobreposicionamiento del compuesto <b>MGD-14</b> y Lidorestat sobre el sitio catalítico de la enzima aldosa reductasa.	129
<b>Figura 104.</b> Acoplamiento molecular del compuesto <b>MGD-14</b> sobre el sitio catalítico de la enzima aldosa reductasa, el cual mantiene una interacción por puente de hidrógeno de la región ácida con Lys21 (rosa).	129
<b>Figura 105.</b> Diagrama en 2D de las interacciones presentadas por <b>MGD-14</b> sobre el sitio la enzima aldosa reductasa.	130



## ÍNDICE DE ESQUEMAS

	Página
<b>Esquema 1.</b> Análisis retrosintético de los compuestos <b>MGD 1-5</b> y <b>MGD-14</b> .	<b>34</b>
<b>Esquema 2.</b> Ruta sintética planteada para la obtención de los compuestos híbridos basados en ácido fenilpropiónico.	<b>35</b>
<b>Esquema 3.</b> Síntesis del compuesto precursor <b>MGD-8</b> .	<b>36</b>
<b>Esquema 4.</b> Síntesis del compuesto precursor <b>MGD-9</b> .	<b>36</b>
<b>Esquema 5.</b> Síntesis de la amina <b>MGD-10</b> .	<b>36</b>
<b>Esquema 6.</b> Reacción de Schotten-Baumann para la síntesis de la amida <b>MGD-11</b> .	<b>37</b>
<b>Esquema 7.</b> Síntesis general de los compuestos <b>MGD 12a-e</b> .	<b>37</b>
<b>Esquema 8.</b> Síntesis general del éster metílico <b>MGD-13</b> .	<b>37</b>
<b>Esquema 9.</b> Síntesis general de los ácidos de los compuestos finales <b>MGD 1-5</b> .	<b>38</b>
<b>Esquema 10.</b> Síntesis general del compuesto final <b>MGD 14</b> .	<b>38</b>
<b>Esquema 11.</b> Síntesis del compuesto precursor <b>MGD-8</b> .	<b>53</b>
<b>Esquema 12.</b> Síntesis del compuesto precursor <b>MGD-9</b> .	<b>56</b>
<b>Esquema 13.</b> Reducción catalítica del compuesto <b>MGD-9</b> para la obtención de la amina <b>MGD-10</b> .	<b>58</b>
<b>Esquema 14.</b> Formación de la $\alpha$ -cloroacetamida <b>MGD-11</b> .	<b>60</b>
<b>Esquema 15.</b> Síntesis del compuesto éster <b>MGD-12a</b> .	<b>62</b>
<b>Esquema 16.</b> Síntesis del compuesto final <b>MGD-1</b> .	<b>64</b>
<b>Esquema 17.</b> Síntesis del compuesto éster <b>MGD-12b</b> .	<b>66</b>
<b>Esquema 18.</b> Síntesis del compuesto final <b>MGD-2</b> .	<b>68</b>
<b>Esquema 19.</b> Síntesis del compuesto éster <b>MGD-12c</b> .	<b>70</b>
<b>Esquema 20.</b> Síntesis del compuesto final <b>MGD-3</b> .	<b>72</b>
<b>Esquema 21.</b> Síntesis del compuesto éster <b>MGD-12d</b> .	<b>74</b>
<b>Esquema 22.</b> Síntesis del compuesto final <b>MGD-4</b> .	<b>76</b>
<b>Esquema 23.</b> Síntesis del compuesto éster <b>MGD-12e</b> .	<b>78</b>
<b>Esquema 24.</b> Síntesis del compuesto final <b>MGD-5</b> .	<b>80</b>
<b>Esquema 25.</b> Síntesis del compuesto final <b>MGD-13</b> .	<b>83</b>
<b>Esquema 26.</b> Síntesis del compuesto final <b>MGD-14</b> .	<b>85</b>



## ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICAS

	Página
<b>Tabla 1.</b> Clasificación de Diabetes Mellitus de acuerdo la OMS y ADA.	4
<b>Tabla 2.</b> Valores de referencia empleados para el diagnóstico de DMT 2.	5
<b>Tabla 3.</b> Valores de referencia de lípidos plasmáticos.	10
<b>Tabla 4.</b> Análisis de los postulados de Lipinski y Veber para los compuestos <b>MGD 1-5 y MGD-14</b> .	32
<b>Tabla 5.</b> Características de genes y primers empleados en los ensayos <i>in vitro</i> .	43
<b>Tabla 6.</b> Reactivos y condiciones empleadas para la síntesis de <b>MGD-8</b> .	53
<b>Tabla 7.</b> Serie de experimentos realizados para la síntesis de <b>MGD-12b</b> .	66
<b>Tabla 8.</b> Experimentos realizados para la obtención del compuesto <b>MGD-13</b> .	82
<b>Tabla 9.</b> Desplazamientos químicos de RMN de <sup>13</sup> C correspondientes al precursor <b>MGD-10</b> y a los compuestos finales <b>MGD 1-5 y MGD-14</b> sintetizados.	87
<b>Tabla 10.</b> Predicción de actividad biológica para el compuesto <b>MGD 1-5 y MGD-14</b> , determinada por el programa PASS.	88
<b>Tabla 11.</b> Predicción de actividad biológica de los compuestos <b>MGD 1-5 y MGD-14</b> , determinada por el servidor en línea Swiss TargetPrediction.	89
<b>Tabla 12.</b> Predicción de las propiedades cuasi-fármaco de los compuestos finales <b>MGD 1-5 y MGD-14</b> calculadas mediante el programa OSIRIS.	90
<b>Tabla 13.</b> Propiedades farmacocinéticas de los compuestos finales, <b>MGD 1-5 y MGD-14</b> calculadas mediante el programa admetSAR.	91
<b>Tabla 14.</b> Predicción de la probabilidad de inhibición de las isoformas del CYP-450 de los compuestos finales <b>MGD 1-5 y MGD-14</b> mediante el programa ACD/ToxSuite.	92
<b>Tabla 15.</b> Probabilidad de bloqueo de los canales hERG, mediante el programa ACD/ToxSuite.	93
<b>Tabla 16.</b> Toxicidad aguda de los compuestos <b>MGD 1-5 y MGD-14</b> , obtenida mediante el programa ACD/ToxSuite.	94
<b>Tabla 17.</b> Categorías de toxicidad establecidas por la OECD.	94
<b>Tabla 18.</b> Acoplamiento molecular para cada uno de los compuestos finales <b>MGD 1-5 y MGD-14</b> , sobre distintas dianas asociadas con DMT 2 e interacciones importantes sobre PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$ y GPR40.	95
<b>Tabla 19.</b> Representación de la interacción sobre PPAR $\gamma$ y PPAR $\alpha$ del compuesto final <b>MGD-1 y MGD-2</b> .	96
<b>Tabla 20.</b> Representación de la interacción sobre PPAR $\gamma$ y PPAR $\alpha$ del compuesto final <b>MGD-3 y MGD-4</b> .	97
<b>Tabla 21.</b> Representación de la interacción sobre PPAR $\gamma$ y PPAR $\alpha$ del compuesto final <b>MGD-5 y MGD-14</b> .	98
<b>Tabla 22.</b> Análisis consenso de cada una de las herramientas quimio informáticas empleadas para evaluar de <i>in silico</i> los compuestos finales <b>MGD 1-5 y MGD-14</b> .	99
<b>Tabla 23.</b> Parámetros fisicoquímicos obtenidos para el compuesto <b>MGD-3 y MGD-14</b> .	100
<b>Tabla 24.</b> Niveles de glucosa iniciales y finales obtenidos durante el ensayo antidiabético en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente del compuesto <b>MGD-3</b> .	104
<b>Tabla 25.</b> Parámetros fisicoquímicos obtenidos para el compuesto <b>MGD-1</b> .	105
<b>Tabla 26.</b> Niveles de glucosa iniciales y finales obtenidos durante el ensayo antidiabético en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente del compuesto <b>MGD-1</b> .	106



<b>Tabla 27.</b> Niveles de glucosa iniciales y finales obtenidos durante el ensayo antidiabético del compuesto <b>MGD-14</b> a una dosis de 100 mg/Kg.	<b>108</b>
<b>Tabla 28.</b> Niveles de glucosa iniciales y finales obtenidos durante el ensayo antidiabético en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente del compuesto <b>MGD-14</b> .	<b>109</b>
<b>Tabla 29.</b> Dianas moleculares empleadas para la realización del acoplamiento molecular y sus características.	<b>111</b>
<b>Tabla 30.</b> Datos obtenidos del acoplamiento molecular de <b>MGD-14</b> sobre cada una de las dianas evaluadas.	<b>130</b>
<b>Tabla 31.</b> Datos obtenidos del acoplamiento molecular de <b>MGD-14</b> sobre cada una de las dianas evaluadas.	<b>129</b>
<b>Tabla 32.</b> Sistemas empleados durante la síntesis y purificación de los compuesto precursores y finales.	<b>134</b>
<b>Grafica 1.</b> Expresión relativa de RNAm de PPAR $\gamma$ y GLUT-4 para <b>MGD-3</b> y <b>MGD-14</b> . Los resultados son el promedio de $\pm$ EEM (n=3) *p <0.05 comparado con el control.	<b>102</b>
<b>Grafica 2.</b> Expresión relativa de RNAm de PPAR $\alpha$ y FATP-1 para <b>MGD-3</b> y <b>MGD-14</b> . Los resultados son el promedio de $\pm$ EEM (n=3) *p <0.05 comparado con el control.	<b>103</b>
<b>Grafica 3.</b> Ensayo agudo antidiabético del compuesto <b>MGD-3</b> a una dosis de 50 mg/kg, Vehículo (Tween 80 al 10%), Glibenclamida (5 mg/kg) en un modelo de ratón experimental no insulino-dependiente. Los resultados son el promedio del error $\pm$ EE, n=5, V.O	<b>105</b>
<b>Grafica 4.</b> Ensayo agudo antidiabético del compuesto <b>MGD-1</b> a una dosis de 100 mg/kg, Vehículo (Tween 80 al 10%), Glibenclamida (5 mg/kg) y Pioglitazona (30 mg/kg) en un modelo de ratón experimental no insulino-dependiente. Los resultados son el promedio del error $\pm$ EE, n=5, V.O p <0.05 vs vehículo.	<b>107</b>
<b>Grafica 5.</b> Ensayo agudo antidiabético del compuesto <b>MGD-14</b> a una dosis de 100 mg/kg, Vehículo (Tween 80 al 10%), Glibenclamida (5 mg/kg), en un modelo de ratón experimental no insulino-dependiente. Los resultados son el promedio del error $\pm$ EE, n=5, V.O p <0.05 vs vehículo.	<b>108</b>
<b>Grafica 6.</b> Ensayo agudo antidiabético del compuesto <b>MGD-14</b> a una dosis de 50 mg/kg, Vehículo (Tween 80 al 10%), Glibenclamida (5 mg/kg), en un modelo de ratón experimental no insulino-dependiente. Los resultados son el promedio del error $\pm$ EE, n=5, V.O p <0.05 vs vehículo.	<b>110</b>



# ÍNDICE DE ESPECTROS

	Página
<b>Espectro 1.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) del compuesto <b>MGD-8.</b>	151
<b>Espectro 2.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto <b>MGD-8.</b>	151
<b>Espectro 3.</b> Espectro de EM-IE del compuesto <b>MGD-8.</b>	151
<b>Espectro 4.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del compuesto <b>MGD-9.</b>	152
<b>Espectro 5.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) del compuesto <b>MGD-9.</b>	152
<b>Espectro 6.</b> Espectro de EM-IE del compuesto <b>MGD-9.</b>	152
<b>Espectro 7.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del compuesto <b>MGD-10.</b>	153
<b>Espectro 8.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) del compuesto <b>MGD-10.</b>	153
<b>Espectro 9.</b> Espectro de EM-IE del compuesto <b>MGD-10.</b>	154
<b>Espectro 10.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del compuesto <b>MGD-11.</b>	154
<b>Espectro 11.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) del compuesto <b>MGD-11.</b>	155
<b>Espectro 12.</b> Espectro de EM-IE del compuesto <b>MGD-11.</b>	155
<b>Espectro 13.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) del compuesto <b>MGD-12a.</b>	156
<b>Espectro 14.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto <b>MGD-12a.</b>	156
<b>Espectro 15.</b> Espectro de EM-IE del compuesto <b>MGD-12a.</b>	156
<b>Espectro 16.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) del compuesto final <b>MGD-1.</b>	157
<b>Espectro 17.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) del compuesto final <b>MGD-1.</b>	157
<b>Espectro 18.</b> Espectro DEPTQ de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) del compuesto final <b>MGD-1.</b>	157
<b>Espectro 19.</b> Espectro de EM-IE del compuesto final <b>MGD-1.</b>	158
<b>Espectro 20.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) del compuesto <b>MGD-12b.</b>	158
<b>Espectro 21.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto <b>MGD-12b.</b>	159
<b>Espectro 22.</b> Espectro de EM-IE del compuesto <b>MGD-12b.</b>	159
<b>Espectro 23.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) del compuesto final <b>MGD-2.</b>	160
<b>Espectro 24.</b> Espectro DEPTQ de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) del compuesto final <b>MGD-2.</b>	160
<b>Espectro 25.</b> Espectro de EM-IE del compuesto final <b>MGD-2.</b>	160
<b>Espectro 26.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) del compuesto final <b>MGD-12c.</b>	161
<b>Espectro 27.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto final <b>MGD-12c.</b>	161
<b>Espectro 28.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) del compuesto final <b>MGD-3.</b>	162
<b>Espectro 29.</b> Espectro DEPTQ de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) del compuesto final <b>MGD-3.</b>	162
<b>Espectro 30.</b> Espectro de EM-IE del compuesto final <b>MGD-3.</b>	162
<b>Espectro 31.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) del compuesto <b>MGD-12d.</b>	163
<b>Espectro 32.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto <b>MGD-12d.</b>	163
<b>Espectro 33.</b> Espectro de EM-IE del compuesto <b>MGD-12d.</b>	163
<b>Espectro 34.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) del compuesto final <b>MGD-4.</b>	164
<b>Espectro 35.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) del compuesto final <b>MGD-4.</b>	164
<b>Espectro 36.</b> Espectro de EM-IE del compuesto final <b>MGD-4.</b>	164
<b>Espectro 37.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del compuesto <b>MGD-12e.</b>	165
<b>Espectro 38.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) del compuesto <b>MGD-12e.</b>	165
<b>Espectro 39.</b> Espectro de EM-IE del compuesto <b>MGD-12e.</b>	165
<b>Espectro 40.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) del compuesto final <b>MGD-5.</b>	166
<b>Espectro 41.</b> Espectro DEPTQ de $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) del compuesto final <b>MGD-5.</b>	166





<b>Espectro 42.</b> Espectro de EM-IE del compuesto final <b>MGD-5.</b>	<b>167</b>
<b>Espectro 43.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) del compuesto <b>MGD-13.</b>	<b>167</b>
<b>Espectro 44.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{DMSO-d}_6$ , 50 MHz) del compuesto <b>MGD-13.</b>	<b>168</b>
<b>Espectro 45.</b> Espectro de EM-IE del compuesto <b>MGD-13.</b>	<b>168</b>
<b>Espectro 46.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) del compuesto final <b>MGD-14.</b>	<b>169</b>
<b>Espectro 47.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) del compuesto final <b>MGD-14.</b>	<b>169</b>
<b>Espectro 48.</b> Espectro de EM-IE del compuesto final <b>MGD-14.</b>	<b>169</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS



<b>ADA</b>	Asociación americana de diabetes
<b>AGL</b>	Ácidos grasos libres
<b>ATP</b>	Trifosfato de adenosina
<b>CCF</b>	Cromatografía de capa fina
<b>DBD</b>	Dominio de unión a ADN
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dosis letal media
<b>DM</b>	Diabetes mellitus
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfoxido
<b>DMT 2</b>	Diabetes mellitus tipo 2
<b>FFA1</b>	Receptor de ácidos grasos 1
<b>GLP-1</b>	Péptido similar al glucagón
<b>GLUT-4</b>	Transportador de glucosa tipo 4
<b>GPR40</b>	Receptor 40 acoplado a proteína G
<b>hERG</b>	Gen humano relacionado con el movimiento a-go-go provocado por éter
<b>IGF</b>	Intercambio de grupo funcional
<b>HDL</b>	Lipoproteínas de alta densidad
<b>IDF</b>	(International diabetes federation) Federación internacional de diabetes
<b>IR</b>	Receptor de insulina
<b>IRS</b>	Sustrato del receptor de insulina
<b>LDL</b>	Lipoproteínas de baja densidad
<b>MODY</b>	Diabetes de edad adulta presentada en jóvenes (Maturity Onset Diabetes of the Young)
<b>OECD</b>	Organización para la cooperación y desarrollo económico
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>PIP3K</b>	Fosfatidilinositol-3-cinasa
<b>PPAR<math>\alpha</math></b>	Receptores activados por el proliferador de peroxisomas Alpha
<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	Receptores activados por el proliferador de peroxisomas gamma
<b>PPRE</b>	Elemento de respuesta de PPAR
<b>PTP1B</b>	Protein tirosin fosfatasa 1B
<b>RI</b>	Resistencia a la insulina
<b>RMN</b>	Resonancia magnética nuclear
<b>RMSD</b>	Desviación de la raíz cuadrada media de las posiciones atómicas
<b>SGLT-2</b>	Transportador de sodio-glucosa tipo 2
<b>SU</b>	Sulfonilureas
<b>SUR1</b>	Receptor de sulfonilurea tipo 1
<b>TZD</b>	Tiazolidindionas
<b><math>\Delta G</math></b>	Energía de unión

## RESUMEN



Uno de los padecimientos con mayor prevalencia a nivel mundial es la DMT 2 la cual de acuerdo con la organización mundial de la salud se define como un desorden de tipo metabólico caracterizado por hiperglicemia debido a un defecto en la secreción y acción de la insulina, en algunos casos también se observa una excesiva acumulación de triglicéridos y derivados de ácidos grasos en músculo esquelético, lo cual provoca a largo plazo disfunción en diferentes órganos y tejidos asociados con múltiples complicaciones como son enfermedades cardiovasculares, retinopatías y nefropatías.

De acuerdo con la estadística de la federación internacional de diabetes en el año 2017, México se encuentra en 5to lugar con 12 millones de personas diagnosticadas con este padecimiento generando un grave problema de salud ya que también hay un aumento en el gasto sanitario de este padecimiento. Por lo cual es de suma importancia la búsqueda de moléculas que sean capaces de actuar a nivel de más de un pedimento asociado con DMT-2.

En este proyecto se llevó a cabo el diseño y la síntesis de 6 compuestos finales **MGD 1-5** y **MGD-14**, los cuales fueron caracterizados por RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ . De esta serie de compuestos se realizó posteriormente una evaluación de manera predictiva de su actividad biológica, farmacocinética, toxicidad, metabolismo y de acoplamiento molecular empleando una serie de programas quimio-informáticos obteniendo resultados favorables para cada uno de los compuestos diseñados. Posteriormente con el objetivo de priorizar los ensayos biológicos se llevó a cabo un análisis de consenso farmacológico, el cual nos permitió obtener un líder computacional seguro. De este análisis se obtuvo que el compuesto **MGD-14** y **MGD-3** presentaron las mejores propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas siendo estos dos compuestos candidatos para ser evaluados en ensayos *in vivo* en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente.

Inicialmente se llevó a cabo la evaluación *in vivo* del compuesto **MGD-14** a una dosis de 50 mg/Kg de peso, el cual presentó una disminución de los niveles de glucosa desde la primera hora, mostrando un efecto hipoglicemiante hasta finalizar el ensayo, similar a Glibenclamida, lo cual indica que podría actuar no solo como agonista dual PPAR $\alpha/\gamma$  sino también como insulino-mimético, debido a esta disminución de los niveles de glucosa tan pronunciada.

Adicionalmente, se llevó a cabo la evaluación del compuesto **MGD-3** a una dosis de 100 mg/Kg de peso, pero debido a su baja solubilidad no se observó un efecto en la disminución de los niveles de glucosa al ser administrado por vía oral, debido a ello se decidió evaluar el siguiente compuesto obtenido del análisis de consenso.

El compuesto **MGD-1** fue evaluado a una dosis única de 100 mg/Kg de peso, el cual presentó un efecto antihiperglicemiante similar al observado por Pioglitazona al disminuir los niveles de glucosa desde la tercera hora y hasta finalizar el ensayo.

Debido a los resultados obtenidos en este proyecto químico-farmacéutico, los compuesto **MGD-14** y **MGD-1** son considerados líderes experimentales seguros ya que presentaron buena actividad en ensayos *in vivo*, por lo que se consideran nuevas moléculas para el tratamiento de DMT-2.

## ABSTRACT



Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) is a prominent disease that affects many all around the globe. According to the World Health Organization, T2DM is defined as a metabolic type disorder characterized by hyperglycemia, due to a defect in the secretion and action of insulin. In some cases, T2DM has an excessive accumulation of triglycerides and fatty acid derivatives in skeletal muscle, which causes long-term dysfunction in different organs and tissues associated with multiple complications, such as cardiovascular disease, retinopathy, and nephropathy.

According to the statistics of the International Diabetes Federation in the year 2017, Mexico ranks fifth, with 12 million people diagnosed with this condition, which in turn is generating a severe health problem due to an increase in health spending from this disease. Therefore, it is of utmost importance that the research for molecules which are capable of acting at the level of more than one motion associated with T2DM.

In this project, the design and synthesis of 6 compounds, **MGD 1-5** and **MGD-14** were carried out, which were characterized by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR. Subsequently, from this series of compounds, a predictive assessment of their biological activity was conducted, as well as pharmacokinetic, toxicity, metabolism and molecular docking assays, which were done by using a set of chemo-informatic programs. Favorable results and predictions for each of the compounds were obtained. Subsequently, with the aim of prioritizing, the biological tests conducted an analysis of pharmacological consensus which will allowed us to obtain a computational safe lead. From this study, it was found that compounds **MGD-14** and **MGD-3** presented the best pharmacodynamics and pharmacokinetic profiles, making them viable candidates to be evaluated *in vivo*, in a murine model of non-insulin dependent diabetes.

Initially, an *in vivo* evaluation was carried out for compound **MGD-14** at a dose of 50 mg/kg of body weight. This compound presented a decrease in the levels of glucose starting from the first hour, showing a hypoglycemic effect until the completion of the test, similar to Glibenclamide. This result indicates that it could act not only as PPAR $\alpha/\gamma$  dual agonist, but also as Insulin-mimetic, due the pronounced decrease in glucose levels.

In addition, an assessment of compound **MGD-3** at a dose of 100 mg/kg of body weight was conducted, but due to its low solubility, had no effect in lowering blood glucose levels while being administered by an oral route. Due to this finding, it was determined to evaluate the following computational safe lead ranked from the consensus analysis.

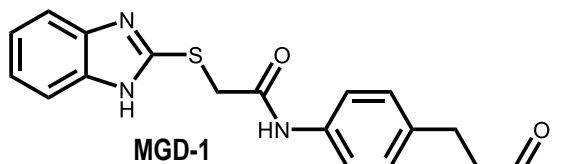
The **MGD-1** compound was evaluated at a single dose of 100 mg/kg of body weight, which presented an antihyperglycemic response. This is similar to the effect showed by Pioglitazone, which decreased the levels of glucose from the third time until the completion of the test.

Due to the results obtained in this chemical and pharmaceutical project, the compounds **MGD-14** and **MGD-1** are to be considered safe experimental leads, due to their excellent *in vivo* activity. Both compounds are potential candidates for future treatments against T2DM.

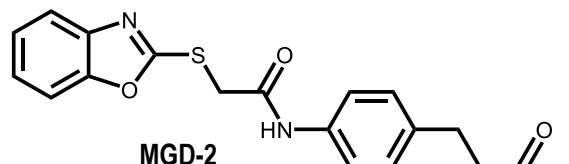
## ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS



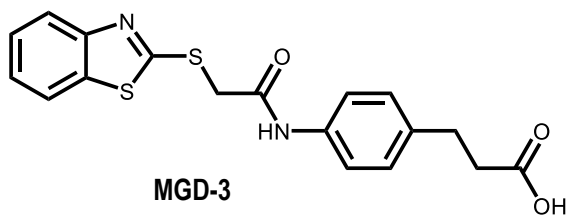
## 1. Compuestos finales:



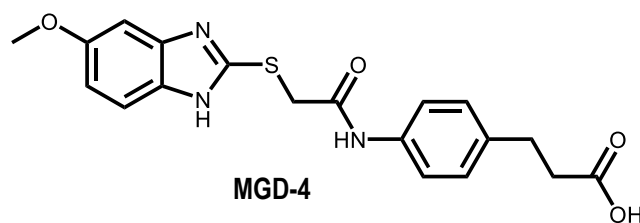
Ácido 3-(4-(2-((1*H*-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propiónico



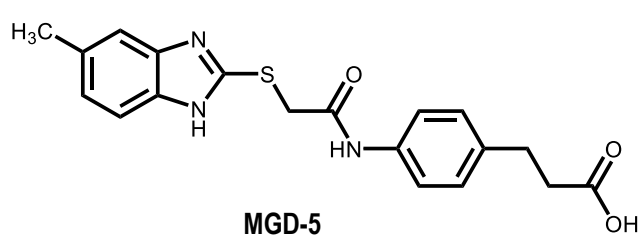
Ácido 3-(4-(2-(benzoxazol-2-iltio)acetamido)fenil)propiónico



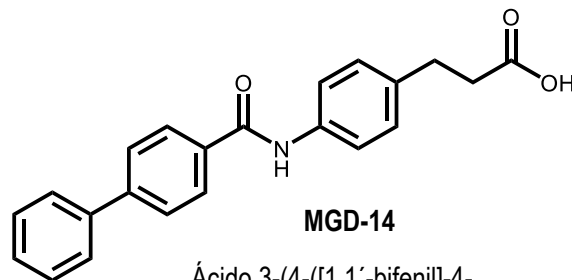
Ácido 3-(4-(2-(benzotiazol-2-iltio)acetamido)fenil)propiónico



Ácido 3-(4-(2-((5-metoxi-1*H*-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propiónico

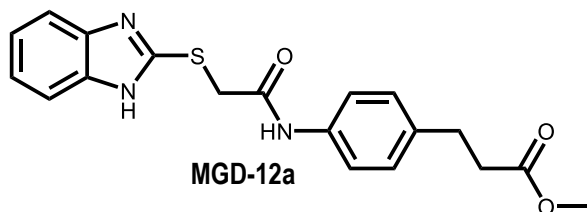


Ácido 3-(4-(2-((5-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propiónico

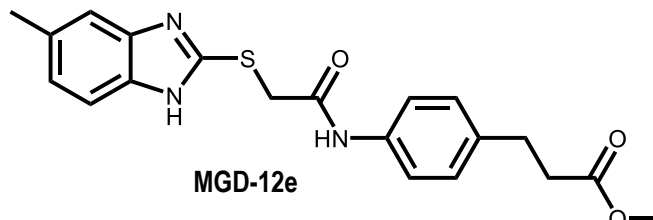


Ácido 3-(4-([1,1'-bifenil]-4-carboxamido)fenil)propiónico

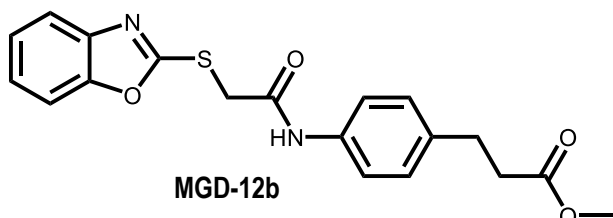
## 2. Compuestos precursores:



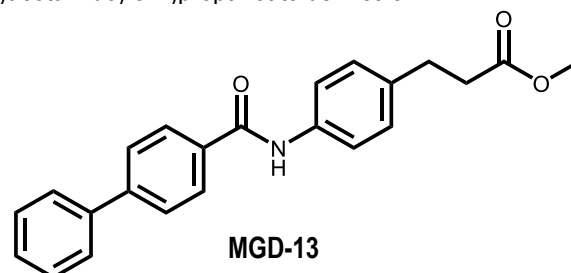
3-(4-(2-((1*H*-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propanoato de metilo



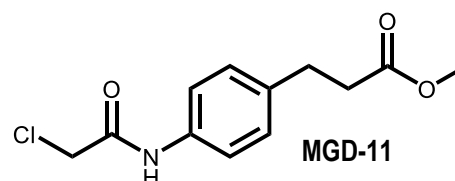
3-(4-(2-((5-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propanoato de metilo



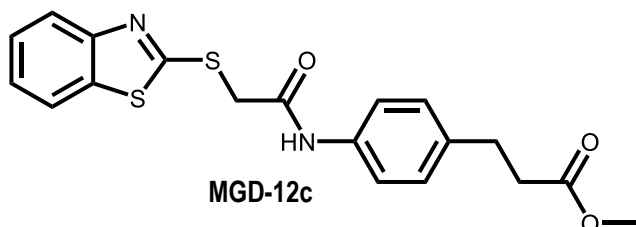
3-(4-(2-(benzoxazol-2-iltio)acetamido)fenil)propanoato de metilo



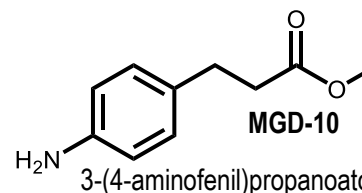
3-(4-([1,1'-bifenil]-4-carboxamido)fenil)propanoato de metilo



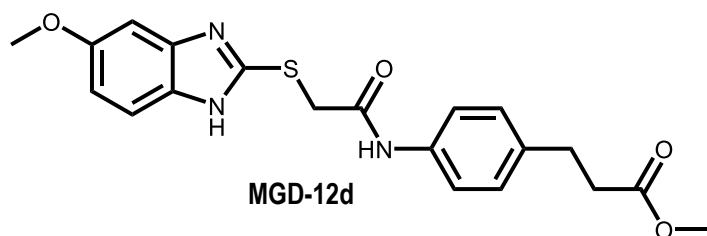
3-(2-cloroacetamido)fenil)propanoato de metilo



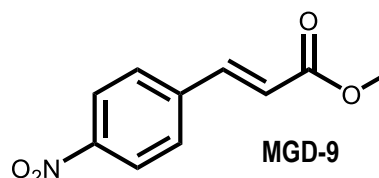
3-(4-(2-(benzotiazol-2-iltio)acetamido)fenil)propanoato de metilo



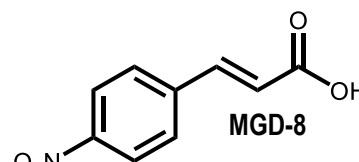
3-(4-aminofenil)propanoato de metilo



3-(4-(2-((5-metoxi-1*H*-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propanoato de metilo



(*E*)-3-(4-nitrofenil)acrilato de metilo



Ácido (*E*)-3-(4-nitrofenil)acrilico



# 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad uno de los padecimientos con mayor prevalencia tanto a nivel mundial como nacional es la Diabetes mellitus (DM), predominando en un 90% el tipo 2 (DMT 2) para el año 2017 se contaba con una población de 425 millones, cifra que se encuentra en aumento por lo cual se prevé que para el año 2045 se tenga una población de 629 millones. La DMT 2 se caracteriza por hiperglucemia crónica, así como también se relaciona con una serie de complicaciones que pueden ser de tipo macrovasculares como las nefropatías y microvasculares como las retinopatías.<sup>1-3</sup>

Dicho padecimiento se caracteriza por presentar un aumento en la concentración de triglicéridos y resistencia a la insulina (RI), en algunos casos también se presenta hipertensión.<sup>4</sup> Debido a las múltiples complicaciones que presenta la DMT 2, la investigación que se realiza sobre esta enfermedad ha ido en aumento con el objetivo de encontrar un tratamiento general que pueda tratar tanto la hiperglucemia como la elevada concentración de ácidos grasos libres en sangre (AGL) y finalmente la RI, ya que a la fecha no existe algún tratamiento que actué de esta manera.<sup>5</sup> Lo que actualmente se hace es promover el uso de una polifarmacia, tratando de aliviar los padecimientos asociados con DMT 2 por separado. Lo anterior conlleva a un riesgo mayor para el paciente debido a interacciones medicamentosas que se pudieran presentar durante el tratamiento, aunado a un aumento en los gastos tanto del sistema de salud como al paciente.

En la actualidad existen múltiples fármacos empleados para el tratamiento de la DMT 2 con diversos mecanismos de acción. Los fármacos que actúan como agonistas sobre los receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPAR) se consideran blancos terapéuticos de gran importancia, ya que pueden abordar más de un padecimiento asociado con DM, tal es el caso de los fármacos llamados Glitazares, agonistas duales de los receptores PPAR $\alpha/\gamma$ , entre ellos se encuentra Ragaglitazar, Naveglitazar, Tesaglitazar, Farglitazar, Muraglitazar y Aleglitazar, sin embargo han sido suspendidos de los estudios clínicos de fase III debido a su toxicidad.<sup>6-8</sup> El único agonista dual que se encuentra disponible actualmente en el mercado para el tratamiento de la DMT 2 y dislipemias es el Saroglitazar comercializado únicamente en la India y China.<sup>9</sup>

Otro blanco terapéutico importante implicado en el metabolismo de glucosa es GPR40, también conocido como receptor de ácidos grasos libres 1 (FFA1), se expresa predominantemente en células  $\beta$  pancreáticas y células enteroendocrinas. Su unión y mecanismo no está claro todavía, sin embargo, hallazgos recientes sugieren que el agonismo completo del receptor podría, además estimular la liberación de insulina, por lo cual se considera un blanco de estudio para el tratamiento de la DMT 2.<sup>10-11</sup>



## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Definición de diabetes mellitus y estadística

La Diabetes Mellitus (DM) es un desorden metabólico de tipo crónico caracterizado por hiperglicemia debido a efectos en la secreción, la acción de la insulina o ambos, lo cual conlleva al desarrollo tardío de complicaciones vasculares y neuropáticas debido a que este padecimiento se asocia con daño a largo plazo, disfunción y fallo en diferentes órganos especialmente en ojos, hígado, nervios, corazón y vasos sanguíneos.<sup>4</sup> Diversos procesos están implicados en el desarrollo de este padecimiento como la participación del sistema inmunológico directamente sobre las células  $\beta$ -pancreáticas, la resistencia a la insulina (RI) y el desorden del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas.

La IDF (International Diabetes Federation, por sus siglas en inglés) define a la DM como una condición crónica que ocurre cuando el cuerpo no puede producir suficiente insulina o esta no puede ser utilizada.<sup>1-4</sup>

El primer informe mundial de la OMS sobre la diabetes demuestra que el número de adultos que viven con diabetes casi se ha cuadruplicado en los últimos 14 años.<sup>12</sup> Este aumento se debe en gran medida al aumento de la DMT 2 y los factores que la conducen como el sobrepeso y la obesidad.

De acuerdo con la estadística de la IDF en el año 2017 se cuenta con una población diabética de 425 millones a nivel mundial y se estima que aumentará en un 48% a 629 millones para el año 2045.<sup>1</sup>

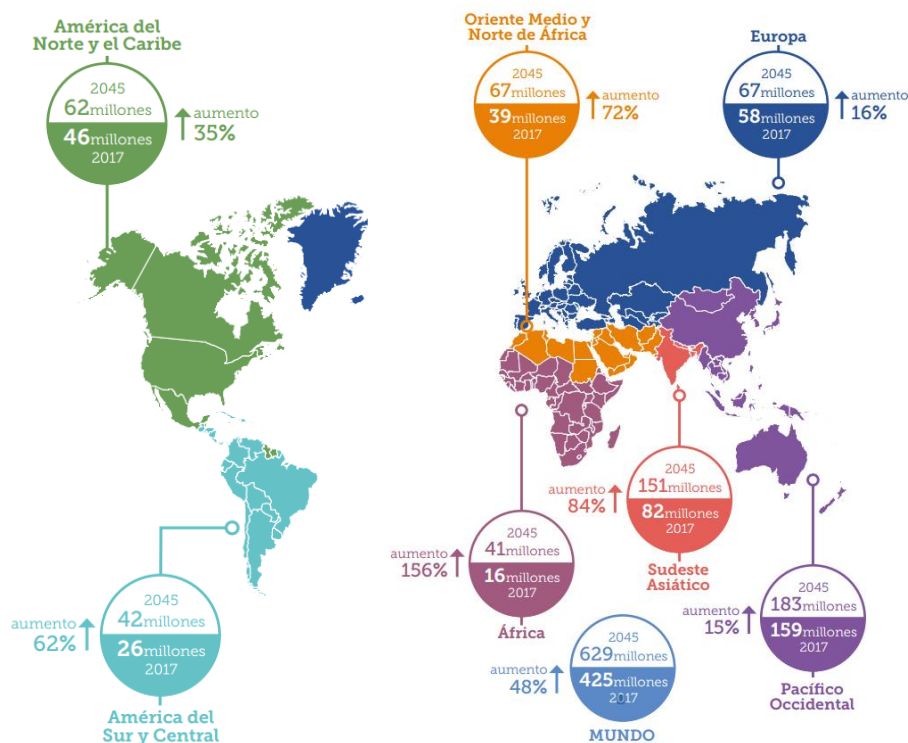


Figura 1. Número estimado de personas por región con DM a nivel mundial.<sup>1</sup>





En la **Figura 1** se puede observar que cada región a nivel mundial ha aumentado considerablemente para este año, siendo la región del Pacífico occidental la que presenta una mayor población diabética (159 millones), seguida del Sudeste asiático (82 millones), Europa (58 millones) y América del Norte y el Caribe (46 millones).

Los países con mayor incidencia de DM son China, India y Estados Unidos de América. Por otro lado, México ocupa el quinto lugar a nivel mundial con 12 millones de personas diagnosticadas para el año 2017 (**Figura 2**). Cabe mencionar que esta cifra continúa en aumento, se prevé que para el año 2045 se tendrá una población de 21.8 millones, alcanzando el 4to lugar.<sup>1,2</sup>

2017			2045		
Clasif.	País/ territorio	Número de personas con diabetes	Clasif.	País/ territorio	Número de personas con diabetes
1	China	114,4 millones (104,1-146,3)	1	India	134,3 millones (103,4-165,2)
2	India	72,9 millones (55,5-90,2)	2	China	119,8 millones (86,3-149,7)
3	Estados Unidos	30,2 millones (28,8-31,8)	3	Estados Unidos	35,6 millones (33,9-37,9)
4	Brasil	12,5 millones (11,4-13,5)	4	México	21,8 millones (11,0-26,2)
5	México	12,0 millones (6,0-14,3)	5	Brasil	20,3 millones (18,6-22,1)
6	Indonesia	10,3 millones (8,9-11,1)	6	Egipto	16,7 millones (9,0-19,1)
7	Federación Rusa	8,5 millones (6,7-11,0)	7	Indonesia	16,7 millones (14,6-18,2)
8	Egipto	8,2 millones (4,4-9,4)	8	Pakistán	16,1 millones (11,5-23,2)
9	Alemania	7,5 millones (6,1-8,3)	9	Bangladesh	13,7 millones (11,3-18,6)
10	Pakistán	7,5 millones (5,3-10,9)	10	Turquía	11,2 millones (10,1-13,3)

**Figura 2.** Principales países con mayor incidencia de DMT 2 en el año 2017 y estimación para el año 2045.<sup>1</sup>

La diabetes y sus complicaciones se encuentran entre las causas principales de muerte temprana en muchos países. Otro de los problemas relacionados con DM son los gastos asociados a este padecimiento, lo que incluye un mayor uso de los servicios sanitarios, dando como resultado una gran carga económica para los individuos y sus familias, para los sistemas sanitarios nacionales y para los países, por ello representa un obstáculo significativo para un desarrollo económico sostenible.<sup>1-4</sup>

De acuerdo con IDF estos gastos sanitarios son dos veces mayores que para las personas sin esta enfermedad, por lo que el gasto en diabetes tiene un impacto significativo en los presupuestos sanitarios de todo el mundo. Cabe destacar que el 17% del presupuesto sanitario total de América del Norte y el Caribe se destinó a este padecimiento siendo Estados Unidos de América el que mayor gasto sanitario total presenta, seguido de China y México que se encuentra en octavo lugar con 19 mil millones de dólares en gastos por DM.<sup>1</sup>



Más del 80% de los países que fueron analizados en este informe dedicaron entre un 5% y un 20% del total de su gasto sanitario a la DM. Los gastos sanitarios incluyen la provisión de servicios sanitarios (preventivos y de curación), actividades de planificación familiar, actividades nutricionales y ayuda para emergencias de la salud.<sup>1,2</sup>

Es importante señalar que en el mundo hay alrededor de 193 millones de personas con DM, que no son conscientes de su enfermedad. Muchos de estos casos son de DMT 2. Lo anterior es de suma importancia ya que cuanto antes se diagnostique y se inicie el control, mejores son las posibilidades de prevenir complicaciones dañinas y costosas.<sup>2-5</sup>

## 2.2 Clasificación de la Diabetes Mellitus

Existen diversas organizaciones que clasifican a la DM en diferentes tipos como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Asociación Americana de Diabetes (ADA, American Diabetes Association, por sus siglas en inglés) que clasifican a este padecimiento en 4 subclases generales mismas que se describen a continuación en la **Tabla 1**.

**Tabla 1.** Clasificación de diabetes mellitus de acuerdo la OMS y ADA.<sup>3-6</sup>

TIPOS DE DM	CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES
DMT 1	También llamada diabetes insulino-dependiente, en la cual ocurre una reacción autoinmune causada por una destrucción de las células $\beta$ -pancreáticas. Se caracteriza por una deficiencia absoluta de insulina.  Puede afectar a personas de cualquier edad, pero regularmente ocurre en niños y jóvenes. La destrucción autoinmune de las células $\beta$ está relacionada con múltiples predisposiciones genéticas, así como también con factores ambientales que aún no se encuentran completamente descritos. Los principales síntomas incluyen micción excesiva, sed, hambre constante, pérdida de peso, cambios en la visión y fatiga.
DMT 2	Caracterizada principalmente por resistencia a la insulina (RI) y una relativa deficiencia de la misma. Representa aproximadamente el 90-95% de los casos de DM, conocida también como diabetes no insulino-dependiente.
Diabetes Gestacional (DG)	Es una condición temporal, la cual inicia o se reconoce durante el embarazo (incidencia de 3 a 10%). Está asociada con un aumento del riesgo en la madre y el niño de desarrollar DMT 2, más adelante. La condición está presente cuando los valores de glucosa en sangre están por encima de lo normal, pero aún por debajo de los valores de diabetes. Se diagnostica mediante el cribado prenatal.
Otros tipos	Son menos comunes, están asociadas a condiciones genéticas y diversos síndromes que alteran el funcionamiento normal de la insulina, como la diabetes MODY (maturity onset diabetes of Young por sus siglas en inglés) y la diabetes neonatal.



## 2.3 Diabetes Mellitus tipo 2

Como ya se mencionó anteriormente de los tres tipos de diabetes, la DMT 2 es la más común, ya que representa más del 90% de todos los casos. Este padecimiento se considera un desorden de tipo metabólico caracterizado por hiperglicemia crónica, resistencia a la insulina (RI) en tejido periférico y en algunos casos también se observa una excesiva acumulación de triglicéridos y derivados de ácidos grasos en músculo esquelético. Su causa principal es el deterioro progresivo en la secreción de insulina.<sup>7-9</sup> Está asociada con múltiples complicaciones, las cuales se dividen en:

- a) **Microvasculares:** Ocurren lesiones a nivel de vasos sanguíneos pequeños, como son lesiones oculares (retinopatía), causantes de ceguera, lesiones renales (nefropatía) provocando insuficiencia renal y lesiones de los nervios destacando principalmente pie diabético.<sup>10</sup>
- b) **Macrovasculares:** Se asocian con eventos cardiovasculares, como ataques cardiacos, accidentes cerebrovasculares e insuficiencia circulatoria en los miembros inferiores. Se ha comprobado que un buen control metabólico de la DMT 1 y DMT 2 puede retrasar el inicio y la evolución de estas complicaciones.<sup>10</sup>

Existen diversos factores de riesgo que se deben tomar en cuenta en la aparición de DMT 2 ya que este padecimiento presenta una evolución silenciosa, progresiva e irreversible. Para realizar un diagnóstico concreto es importante considerar antecedentes familiares, si el individuo presenta sobrepeso u obesidad los cuales se asocian con un estilo de vida sedentario, edad y presión arterial principalmente.<sup>7-9</sup>

## 2.4 Criterios de diagnóstico de la DMT 2

Los criterios de diagnóstico aprobados por la ADA Y la OMS consideran que para que un paciente sea diagnosticado con DMT 2, debe presentar los síntomas característicos como poliuria (eliminación frecuente de orina), polidipsia (sed excesiva), polifagia (frecuente consumo de alimentos), obesidad abdominal y niveles de glucosa plasmática mayor a 200 mg/dL. Para ello se llevan a cabo pruebas clínicas basadas principalmente en la medición de la glucosa tal como se muestra en la **Tabla 2**.

**Tabla 2.** Valores de referencia empleados para el diagnóstico de DMT 2.

	Prueba de hemoglobina glicosilada (HbA1c)	Glucosa casual	Curva de tolerancia a la glucosa
	Valor promedio de glucosa durante las últimas 12 h	Nivel de glucosa capilar/plasmática a cualquier hora del día	Niveles de glucosa en sangre en ayunas y postprandial
<b>Normal</b>	4 - 5.5%	≤140 mg/dL	≤140 mg/dL
<b>Prediabetes</b>	5.5 - 6%	≥100 - ≤125 mg/dL	>140 – ≤200 mg/dL
<b>Diabetes</b>	≥6.5%	>200 mg/dL	≥200 mg/dL



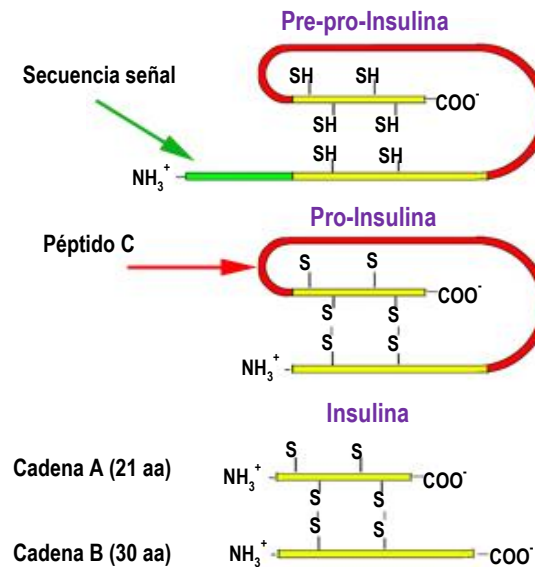
## 2.1 Fisiopatología de la DMT 2

La DMT 2 es una enfermedad multifactorial, relacionada de manera directa con la obesidad, la cual se origina en consecuencia a la mala alimentación, baja actividad metabólica y/o sedentarismo, por lo tanto, la glucosa se almacena y se acumula en tejido adiposo, generando hiperglicemia. Posteriormente cambios fisiopatológicos, como disfunción de las células  $\beta$  del páncreas, resistencia a la insulina, activando las vías inflamatorias (liberación de citosinas proinflamatorias), formación de productos avanzados de glicosilación, generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), además se observan alteraciones a nivel muscular, hepático y tejido adiposo provocando RI, todos ellos progresivos dificultando el control de los niveles de glucosa.<sup>9,14</sup> Durante esta situación, el páncreas tiene una hiperactividad en respuesta a la concentración alta y constante de glucosa en sangre, con una secreción de insulina elevada para conservar la glucemia en niveles normales.<sup>14-16</sup>

### 2.1.1 Síntesis, liberación y acción de la insulina

La insulina es una hormona producida por las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans del páncreas, su principal función es mantener la concentración de glucosa en sangre en un rango normal (90-100 mg/dL) favoreciendo su entrada y almacenamiento en músculo, tejido adiposo, en hígado se favorece su almacenamiento y se inhibe su producción, regula el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas.

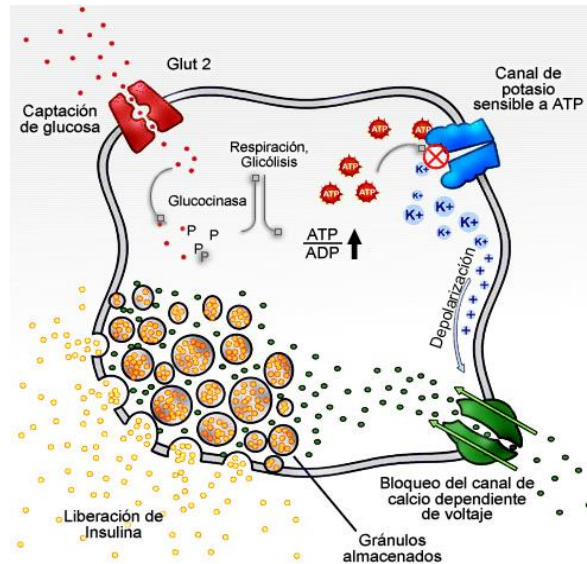
Es sintetizada como una sola cadena polipeptídica en el retículo endoplasmático rugoso (RER) como pre-pro-insulina que mediante algunas modificaciones en su estructura forma la molécula de pro-insulina que se transporta al aparato de Golgi, donde se empaqueta en gránulos de secreción y se unen fragmentos por puentes disulfuro. Finalmente la proinsulina es atacada por enzimas proteolíticas que liberan a la insulina y péptido C, este mecanismo se muestra detalladamente en la **Figura 3**.<sup>13-19</sup>



**Figura 3.** Síntesis de insulina en las células  $\beta$ -pancreáticas.

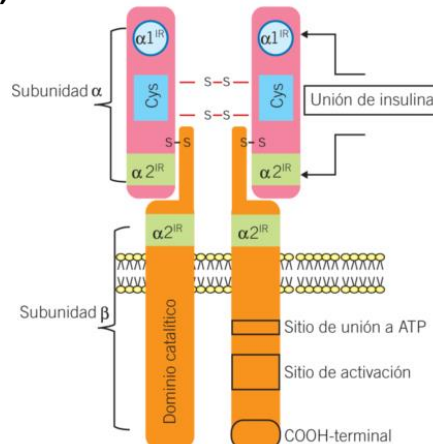


Una vez sintetizada, la insulina es secretada de las células  $\beta$ -pancreáticas en respuesta a la glucosa tal como se muestra en la **Figura 4**, aunque también puede ser debido a fármacos secretagogos como las sulfonilureas. La glucosa entra al interior de la célula a través de los receptores GLUT 2, para el proceso de glucólisis y al ciclo respiratorio para generar ATP dando como resultado el cierre de los canales de  $K^+$  dependientes de ATP, provocando es una despolarización de la membrana y la apertura de los canales de  $Ca^{2+}$  activados por voltaje, aumentando la concentración de calcio intracelular y finalmente la exocitosis de insulina mediada también por la fosfolipasa C.



**Figura 4.** Mecanismo por medio del cual la insulina es liberada de las vesículas secretoras.

La insulina actúa a nivel celular uniéndose al receptor de insulina, el cual está formado por dos subunidades  $\alpha$  y dos unidades  $\beta$ , mismas que se unen entre sí por puentes disulfuro. Las subunidades  $\alpha$  se encuentran en el exterior de la membrana celular y presentan el sitio de unión a la insulina, mientras que las subunidades  $\beta$  presentan una porción extracelular, una transmembranal y una porción intracelular en donde se localiza el dominio con actividad de tirosina cinasa (**Figura 5**).<sup>20,22</sup>

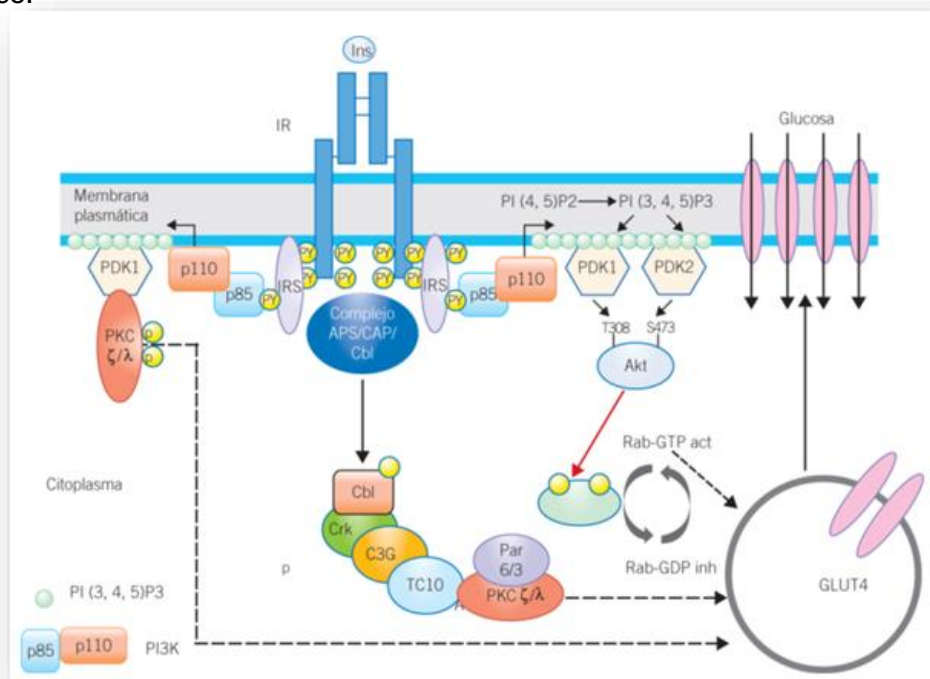


**Figura 5.** Estructura del receptor de insulina.<sup>20</sup>



Las acciones de la insulina son mediadas por cascadas de señalización intracelular, la cual inicia mediante la unión con su receptor (**Figura 5**) seguido de la fosforilación inicial del receptor en residuos de tirosina (Tyr) y la asociación de sustratos del receptor de insulina (IRS) lo que resulta en la activación de fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K) el cual fosforila lípidos de membrana como fosfatidilinositol bifosfato ( $PIP_2$ ), para la consecuente obtención de fosfatidilinositol trifosfato ( $PIP_3$ ) y que a su vez activa la enzima  $PIP_3$  cinasa dependiente 1 (PDK-1), activando a otra cinasa llamada proteína cinasa B (PKB ó Akt). PKB/Akt a continuación ejerce efectos sobre diversas vías que finalmente regulan la homeostasis de lípidos y carbohidratos (**Figura 6**).<sup>14-16</sup>

La enzima PDK-1, al activar mediante fosforilación a la proteína cinasa C (PKC) y Akt, permiten la fosforilación de vesículas intracelulares que contienen al transportador de glucosa 4 (GLUT4), esto permite su translocación hacia la membrana plasmática, lo que se traduce en un aumento en la captación de glucosa y su posterior metabolismo. Este transportador de glucosa se encuentra en el corazón, tejido adiposo y músculo esquelético.<sup>16</sup>



**Figura 6.** Vía de señalización de la insulina y translocación de GLUT 4.<sup>16</sup>

## 2.1.2 Resistencia a la insulina (RI)

La resistencia a la insulina (RI) es un estado en el cual las células pierden la sensibilidad a los efectos de esta lo que se traduce en un deterioro en la absorción de glucosa en músculo e incremento de su producción en el hígado que resulta en hiperglucemia. También se caracteriza por el deterioro de la acción de la insulina sobre el metabolismo de los lípidos.

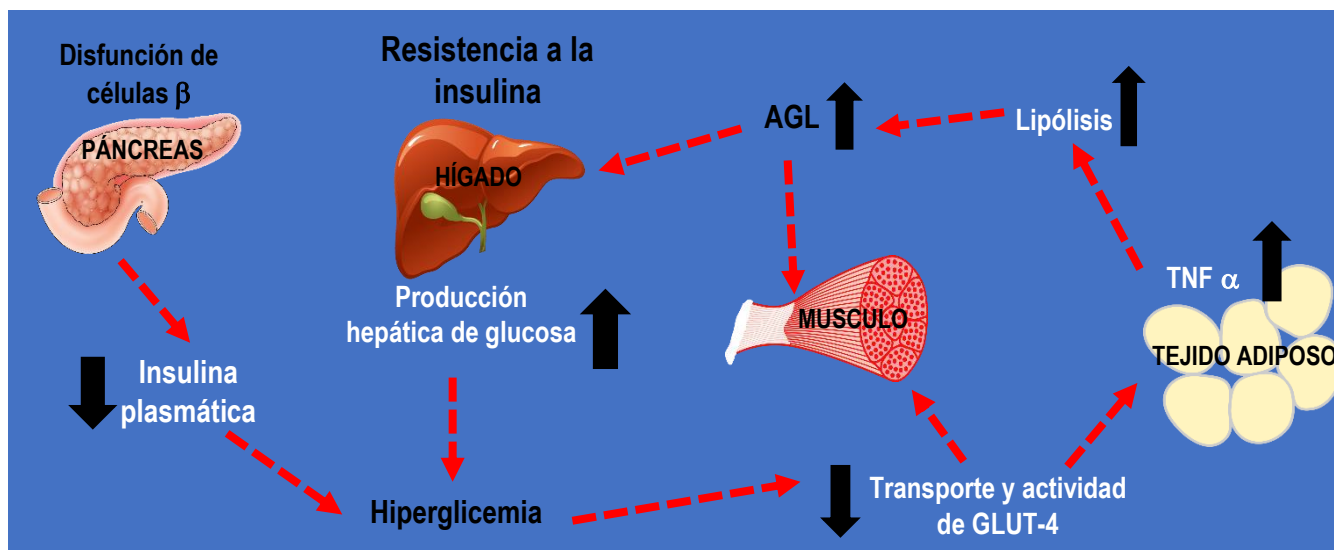
La RI se desarrolla a partir de múltiples factores genéticos y ambientales como el sedentarismo y la obesidad, la cual juega un papel principal en el desarrollo de DMT 2



además de estar relacionada con otros padecimientos como la hipertensión, enfermedades de tipo cardiovascular, dislipidemias, a nivel de tejido adiposo, hígado y músculo esquelético.<sup>14-17</sup> A nivel molecular, son múltiples los mecanismos por los cuales se genera RI, ya sea debido a una deficiencia en la secreción de insulina y resistencia a la acción de dicha hormona en tejidos diana o alteraciones posteriores a su unión con el receptor de la insulina, provocando una alteración de la funcionalidad del receptor o durante la señalización, dentro de las alteraciones más comunes se encuentra:

- I. Disminución de la actividad de tirosina cinasa del receptor.<sup>17-23</sup>
- II. Aumento en el estado de fosforilación en residuos de serina-treonina (Ser/Thr) y disminución en la fosforilación en residuos de tirosina (Tyr).
- III. Defectos en la expresión y función de GLUT-4.
- IV. Inhibición de la PI3K por el exceso de AGL asociada a un aumento en la fosforilación en residuos de Ser/Thr del IRS-1.<sup>11,17-23</sup>
- V. La activación de Akt debido a un aumento en la cantidad de ceramida y diacilglicerol en células musculares.

Como ya se mencionó la obesidad es la principal causa de DMT 2, durante este padecimiento hay mayores niveles de ácidos grasos libres (AGL) plasmáticos y de sus metabolitos como acil-CoA, ceramidas y diacilglicerol, como resultado de disminución de la supresión de la lipólisis, este exceso genera incapacidad de almacenamiento de lípidos generando hipertrofia en los adipocitos haciéndolos resistentes a la acción de la insulina. La hiperlipidemia y los estados pro-inflamatorios principalmente en el hígado y tejido adiposo asociados a la obesidad, promueven la liberación de citocinas pro-inflamatorias como el factor nuclear kappa B (NF $\kappa$ B), la interleucina 8 (IL-8), proteína quimioatrayente de macrófagos 1 (MCP-1), factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), interleucina 6 (IL-6), resistina y disminución de adiponectina, las cuales promueven inflamación, RI y riesgo de enfermedades cardiovasculares. A continuación, se esquematiza de manera general la influencia de cada uno de los factores antes mencionados que conllevan a la generación de RI (**Figura 7**).<sup>16-21,24-28</sup>



**Figura 7.** Influencia de hiperglicemia, disfunción de las células  $\beta$  pancreáticas y exceso en la liberación de AGL en la generación de RI en DMT 2.



## 2.2 Dislipidemias y diabetes mellitus tipo 2

Las dislipidemias son patologías asociadas con una alteración del metabolismo de lípidos. El perfil lipídico de los pacientes con DMT 2, está caracterizado por niveles elevados de triglicéridos (TG), niveles elevados de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y una disminución de lipoproteínas de alta densidad (HDL) a lo que se le denomina triada lipídica, como se observa en la **Tabla 3.**<sup>29-32</sup>

**Tabla 3.** Valores de referencia de lípidos plasmáticos.

Lípidos	Valores de referencia (mg/dL)		
	Valor normal	Riesgo moderado	Riesgo alto
Colesterol total	< 200	200 - 239	≥240
Triglicéridos	< 120	= 200	≥200
Colesterol HDL	> 50	< 45	< 35
Colesterol LDL	< 130	130 a 159	≥160
Colesterol VLDL	< 34	= 34	-

Este padecimiento se origina en respuesta a la RI que causa un desbalance y desregulación de las hormonas y enzimas relacionadas con el metabolismo lipídico, especialmente a nivel del hígado, se produce un aumento de la liberación de AGL desde los adipocitos que inducen la síntesis hepática de triglicéridos y estimulan la producción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) De este modo, la RI promueve una sobreproducción de partículas VLDL ricas en triglicéridos, hecho que explica la hipertrigliceridemia en DMT 2, este aumento plasmático de VLDL promueve un intercambio de triglicéridos y ésteres de colesterol entre las VLDL y HDL por la proteína colesterol-éster transferasa (CETP).

El resultado es el incremento de las partículas aterogénicas VLDL ricas en colesterol y HDL enriquecidas en triglicéridos, las cuales son sustrato para la lipoproteína lipasa endotelial y para la lipasa hepática que hidrolizan sus triglicéridos, resultando en una partícula de HDL pequeña y con escaso contenido en colesterol. Estos dos efectos explican las concentraciones bajas de c-HDL en los sujetos con diabetes e hipertrigliceridemia.<sup>30-31</sup>

Las estatinas son fármacos de primera elección para el tratamiento de dislipidemias ya que disminuyen los niveles de colesterol y triglicéridos, su mecanismo de acción se lleva a cabo mediante la inhibición de la enzima HMG-CoA reductasa, enzima que interviene en la síntesis de colesterol en las células de mamífero. Al reducirse la formación de colesterol, las células utilizan el colesterol que transportan las LDL, lo que disminuye la concentración de estas partículas en sangre produciendo una disminución de la colesterolemia.

Para el tratamiento de la dislipidemia son indispensables los cambios en el estilo de vida y una intervención farmacológica, dentro de los fármacos empleados para el tratamiento de dislipidemias se encuentran las estatinas, fibratos y ácido nicotínico (**Figura 8**).



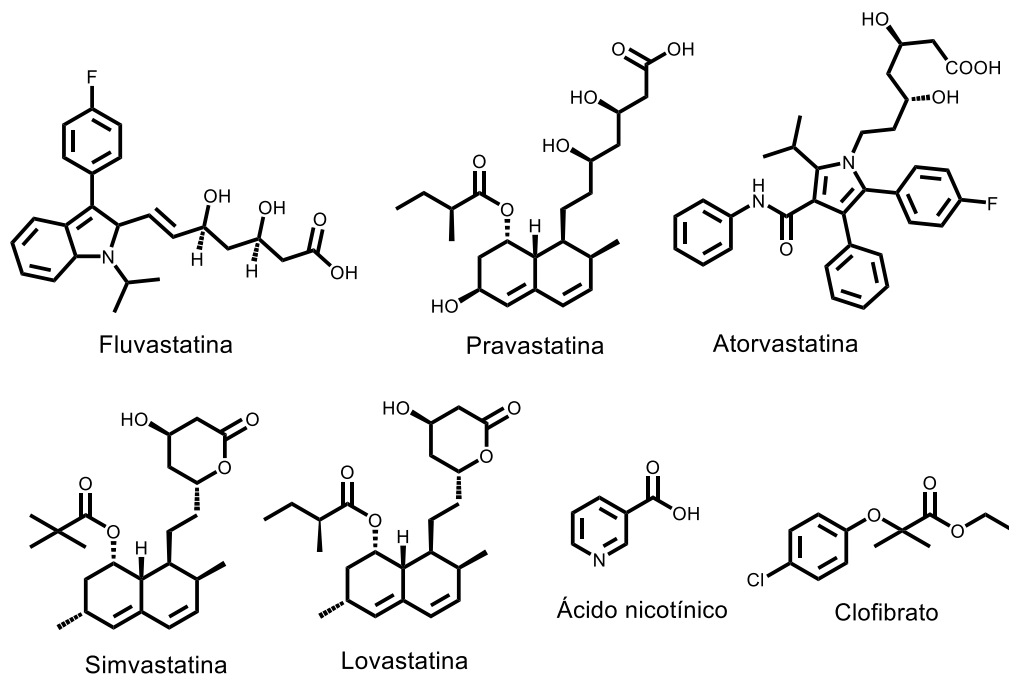


Figura 8. Fármacos empleados para el tratamiento de dislipidemias.

## 2.3 Tratamiento de la diabetes tipo 2

El tratamiento de la DMT 2 está enfocado en la disminución de los niveles de glucosa en sangre, manteniendo estos niveles lo más cercano posible a los valores normales, permitiendo disminuir la aparición de los síntomas característicos como poliuria, polidipsia y polifagia, así como también disminuir el riesgo de desarrollar alguna nefropatía o neuropatía y finalmente mejorar el perfil lipídico en los pacientes.<sup>33</sup>

Cabe mencionar que la mejora en los puntos anteriores se basa en una triada farmacológica, la cual está compuesta de una sana alimentación, ejercicio y tratamiento farmacológico, complementándose entre sí:

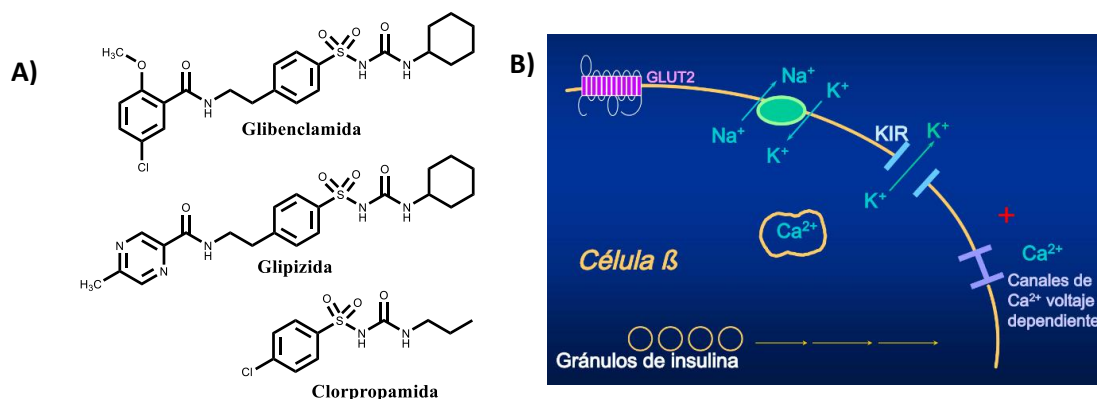
- a) **Alimentación saludable:** Es importante mantener una dieta saludable ya que con ello permitirá el mantenimiento de un peso aceptable, así como también niveles óptimos de glucosa, lípidos y mantendrá regulada la presión arterial. Una dieta balanceada servirá también como prevención de la DMT 2 si se tiene predisposición a padecerla.<sup>33</sup>
- b) **Actividad física:** El ejercicio se considera de suma importancia ya que permite mejorar la captación de glucosa en musculo, ayudando a mantener un control metabólico. El ejercicio debe ser constante, no solo para personas diabéticas.
- c) **Tratamiento farmacológico:** Existen diversos fármacos empleados para el tratamiento de la DMT 2 que facilitan la liberación y la captación de insulina.



## 2.4 Fármacos empleados para el tratamiento de la DMT 2

### 2.4.1 Sulfonilureas (SU)

Las sulfonilureas son fármacos secretagogos de insulina, los cuales llevan a cabo su mecanismo de acción mediante la estimulación de la secreción de insulina por las células beta pancreáticas, a través de la inhibición del flujo de potasio (bloqueadores de canales de  $K^+$ ) por medio de un receptor de SU (SUR1) que está estrechamente ligado a un canal de  $K^+$  dependiente de ATP. Esta inhibición conduce a una despolarización de la membrana de las células  $\beta$ , permitiendo la entrada de iones de  $Ca^{2+}$  a la célula, promoviendo la exocitosis de insulina. Fármacos como Glibenclamida, Glipizida y Clorpropamida son potentes hipoglucemiantes empleados para el tratamiento de la DMT 2 (**Figura 9**).<sup>34-36</sup>

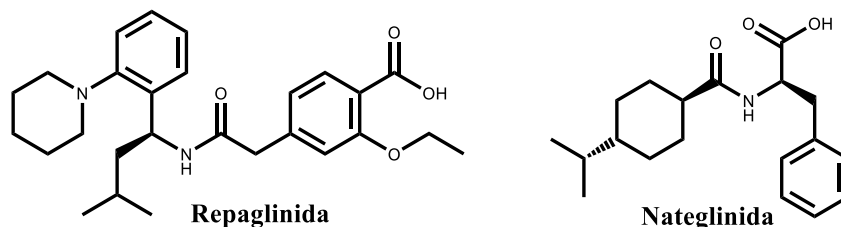


**Figura 9.** A) Principales fármacos hipoglucemiantes de tipo SU y B) Mecanismo de acción.

Al igual que todos los fármacos, las SU presentan diversos efectos adversos, como hiperinsulinemia, aumento de peso e hipoglucemia, siendo este último de mayor importancia, pues en situaciones de disminución de la ingestión de alimentos, manteniendo la dosis de sulfonilureas pueden producirse hipoglucemias severas que precisan de tratamiento hospitalario.<sup>34-35</sup>

### 2.4.2 Meglitinidas

Las meglitinidas, también llamadas no sulfonilureas son fármacos antidiabéticos orales secretagogos de insulina, los cuales llevan a cabo su acción farmacológica de la misma manera que las SU mediante el bloqueo de canales de  $K^+$  dependientes de ATP. Dentro de este grupo se encuentran fármacos como Repaglinida y Nateglinida (**Figura 10**), presentan un efecto hipoglucemiante menor que las SU sin embargo, deben ser administrados con precaución.

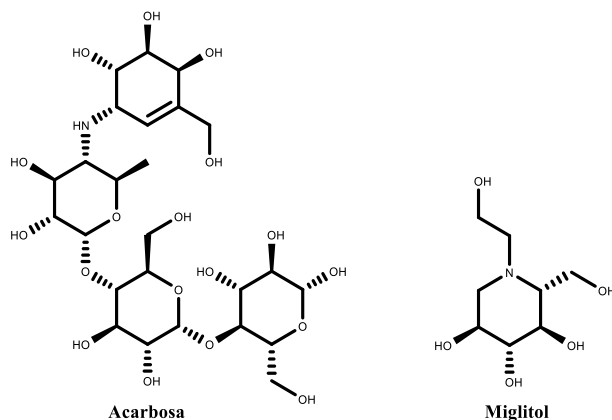


**Figura 10.** Principales fármacos hipoglucemiantes de tipo no sulfonilureas.



### 2.4.3 Inhibidores de la $\alpha$ -glucosidasa

La enzima  $\alpha$ -glucosidasa permite el catabolismo de glucógeno a glucosa, de ahí la importancia de los inhibidores de esta enzima, los cuales son fármacos hipoglucemiantes que retrasan la absorción de carbohidratos del intestino delgado, teniendo un efecto sobre los niveles de glucosa postprandial y manteniendo los niveles de insulina, la Acarbosa y Miglitol son los dos fármacos disponibles de esta clase (**Figura 11**).<sup>35-37</sup>

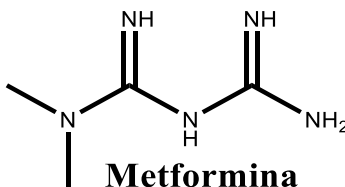


**Figura 11.** Fármacos hipoglucemiantes inhibidores de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa.

Estos fármacos están asociados a efectos gastrointestinales como son, dolor abdominal, flatulencias, dispepsia y diarrea, son dosis-dependientes los cuales son revertidos al discontinuar el tratamiento.<sup>35-37</sup>

### 2.4.4 Biguanidas

Las biguanidas llevan a cabo su mecanismo de acción fundamentalmente en dos niveles: en el músculo, aumentando la entrada de glucosa a las células y en el hígado disminuyendo la producción de glucosa al disminuir la neoglucogénesis, la glucogenólisis o ambas. Por otra parte, parecen tener un efecto anorexígeno, contribuyendo a la disminución de peso en los obesos. No afecta directamente la secreción de insulina, por lo que no incrementa el riesgo de hipoglicemia. La Metformina es la única biguanida disponible actualmente en el mercado (**Figura 12**).<sup>30,31</sup>



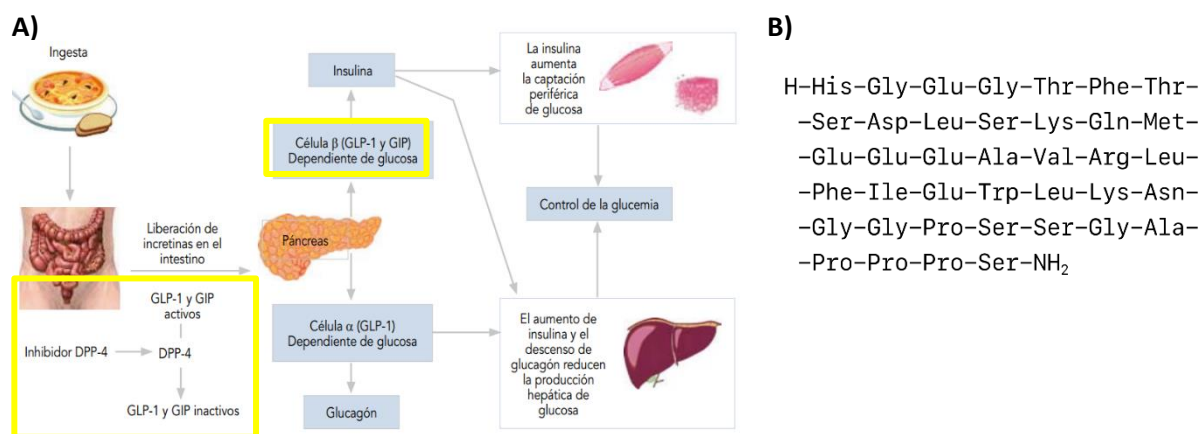
**Figura 12.** Fármaco antihiperoglucemiante, perteneciente al grupo de las biguanidas.



Dentro de los efectos adversos más frecuentes los cuales son dependientes de la dosis, se encuentran los de tipo gastrointestinal que se ven en el 20% de los casos que incluyen: dolor abdominal, meteorismo y diarrea. Estos efectos son por lo general transitorios y reversibles y solo un 5% de los pacientes la deben suspender por intolerancia al aparecer dichos efectos.<sup>31</sup>

## 2.4.5 Incretinas

Las incretinas son hormonas como el péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP1) y péptido insulínico dependiente de glucosa (GIP) secretadas por el tracto gastrointestinal en respuesta a la ingesta de alimentos, actúan sobre el páncreas estimulando la secreción de insulina, suprimiendo la acción del glucagón, normalizan la glucosa en ayuno y postprandial, por lo cual estas hormonas se consideran blancos importantes para el tratamiento de la DMT 2. Fármacos basados en incretinas como Liraglutida y Exenatida son agonistas de GLP1 (**Figura 13**).<sup>38-40</sup>



**Figura 13.** A) Efecto de GLP1 sobre las células β-pancreáticas, B) Estructura química y secuencia de aminoácidos de la Exenatida.

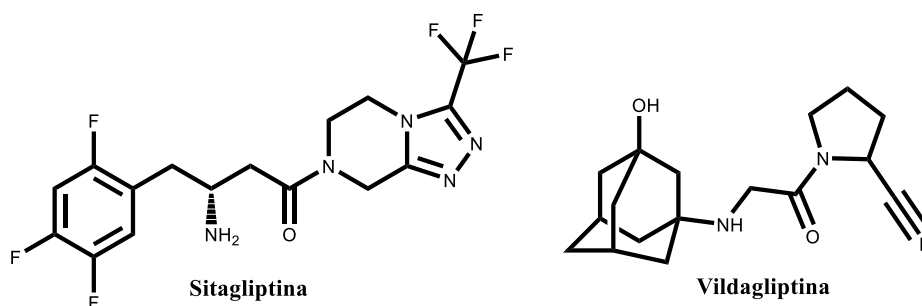
## 2.4.6 Inhibidores de la enzima Dipeptidil peptidasa IV (DPP-4)

Como ya se mencionó en el apartado anterior, las incretinas GLP1 y GIP contribuyen en un grado similar a la producción de insulina dependiente de la concentración de glucosa. Sin embargo, el efecto de las incretinas es muy breve debido a que, inmediatamente después de ser liberadas a la circulación, son inactivadas por la enzima Dipeptidil peptidasa IV (DPP-4), la cual presenta una amplia distribución en el organismo y niveles elevados en hígado, riñón e intestino (**Figura 13 A**).

La inactivación la ejerce al unirse a los dipéptidos N-terminales (His-Ala) del GLP1 (7-36) para dar origen a su metabolito inactivo GLP1 (9-36). En relación con el GIP (1-42) su inhibición por la DPP-4 produce el metabolito inactivo GIP (3-42) ambos son eliminados por vía renal.<sup>35-40</sup>



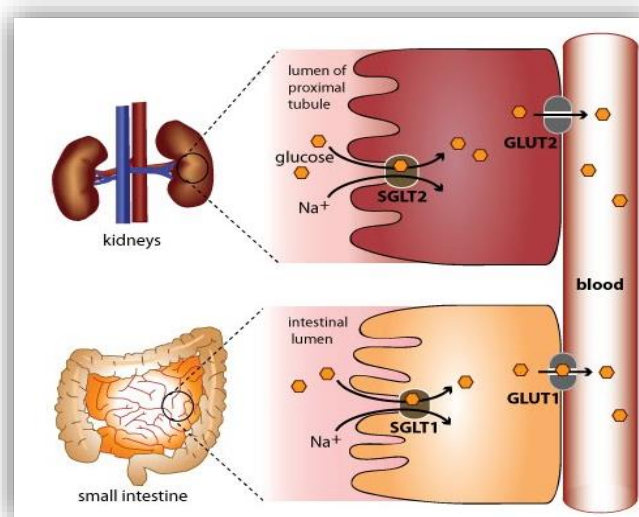
Actualmente los inhibidores de la DPP-4 disponibles son, Sitagliptina y Vildagliptina (**Figura 14**) los cuales son considerados tratamientos de segunda línea para la DMT 2 ya sea en monoterapia o en combinación.



**Figura 14.** Estructura química de los fármacos inhibidores de la enzima DPP-4.

### 2.4.7 Inhibidores del transportador renal de glucosa

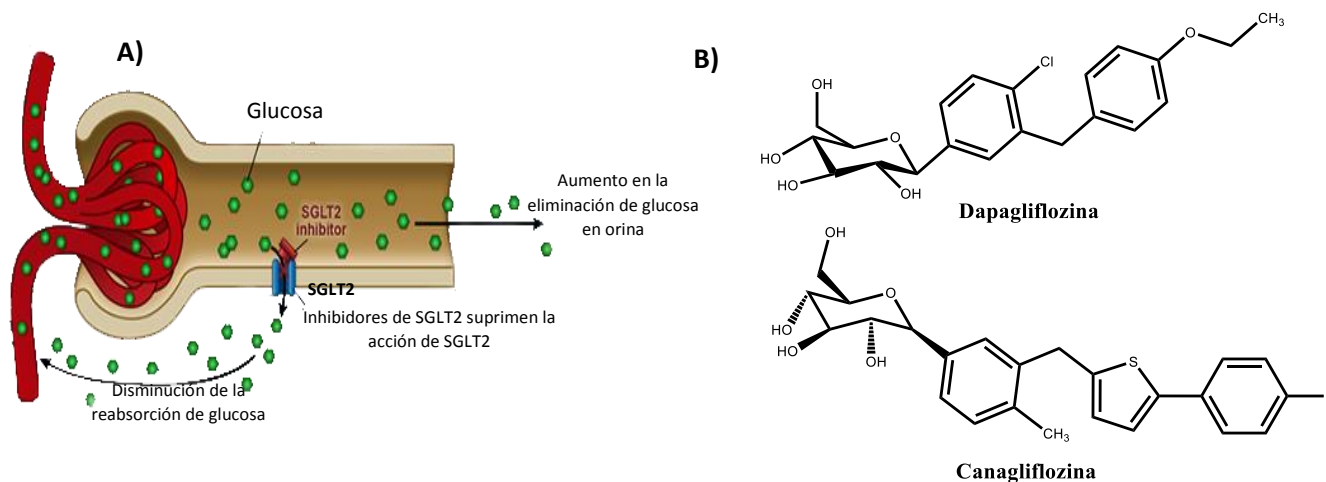
Las proteínas de transporte sodio-glucosa, también son llamadas cotransportadores sodio-glucosa o SGLT (Sodium-Glucose Linked Transporter). Se han identificado diversos tipos de transportadores, sin embargo, el tipo 1 (SGLT1) es el más estudiado, se encuentra en mayor proporción en intestino delgado, el tipo 2 (SGLT2) es el responsable de la reabsorción renal de glucosa, desde la luz del túbulo renal hacia el interior de las células peritubulares. En un adulto sano los riñones llegan a filtrar hasta 180 g de glucosa al día y solo 1% es eliminada por la orina gracias a SGLT2, como se observa en la **Figura 15**, la glucosa es filtrada de manera pasiva al interior de las células del urotelio, debido al gradiente de sodio ( $\text{Na}^+$ ) generado por el transporte activo de la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa, posteriormente en el interior de la célula, la glucosa es transportada por GLUT 2, permitiendo la reabsorción de la glucosa filtrada.<sup>41,42</sup>



**Figura 15.** Mecanismo por medio del cual SGLT2 permite el transporte y la reabsorción de glucosa.



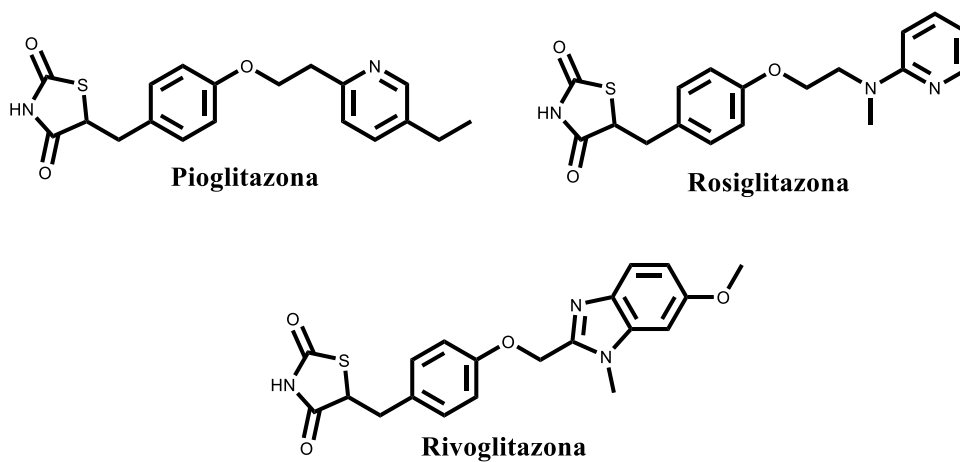
Los inhibidores selectivos de SGLT2 actúan directamente en el riñón, provocando una mayor excreción renal de glucosa, lo que produce un balance energético negativo y sin efectos secundarios gastrointestinales. Actualmente, Canagliflozina, Empagliflocina y Dapagliflozina son los fármacos que se encuentran en el mercado (**Figura 16**).



**Figura 16.** A) Mecanismo por el cual actúan los inhibidores de SGLT2, B) Estructura química de los inhibidores del transportador renal de glucosa.

## 2.4.8 Tiazolidindionas o glitazonas

Las tiazolidindionas (TZD) o también llamadas glitazonas, son sensibilizadores de insulina los cuales comprenden fármacos como Rosiglitazona, Rivoglitazona y Pioglitazona (**Figura 17**). Llevan a cabo su mecanismo de acción mediante la unión con el receptor nuclear  $PPAR\gamma$  (Receptor Activado por Proliferador de Peroxisomas tipo gamma). Los agonistas  $PPAR\gamma$  activan la respuesta de insulina sobre el metabolismo de glucosa y lípidos, mediante el aumento en la expresión (síntesis y translocación) de transportadores de glucosa (GLUT 4) favoreciendo la sensibilidad de ciertos tejidos a la insulina. Estos receptores se abordarán con mayor detalle más adelante.<sup>43-45</sup>



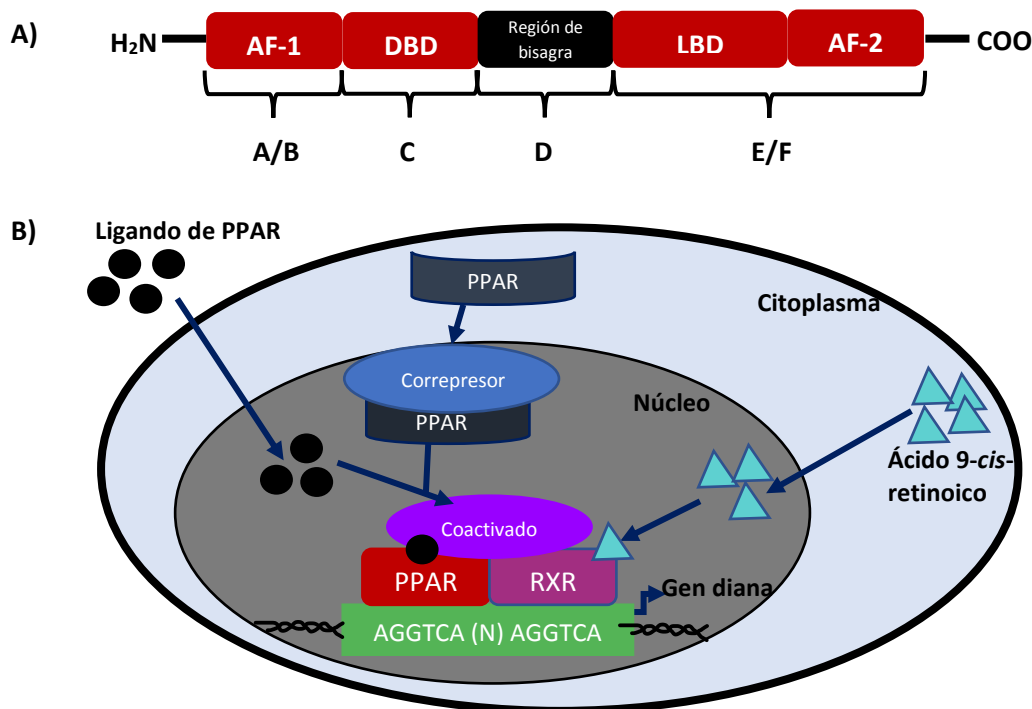
**Figura 17.** Estructura química de los fármacos agonistas del receptor  $PPAR\gamma$ .



## 2.5 Receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPAR's)

Los PPAR deben su nombre debido a que estimulan la generación de peroxisomas en hígado de roedores. Son factores de transcripción que se activan por la unión de ligandos específicos (naturales o sintéticos) provenientes del exterior de la célula y que regulan la transcripción de múltiples genes no relacionados a los peroxisomas. La estructura general del gen de PPAR humano, consta de 6 regiones estructurales (A-F) y 4 dominios funcionales, tal como se muestra en la **Figura 18 A**, en la primera porción presentan una región aminoterminal A/B, que contiene al dominio de activación de la transcripción (AF-1), la región C, en donde se encuentra el dominio de unión al ADN (DBD), mismo que se lleva a cabo la heterodimerización con el receptor del ácido 9-*cis* retinoico, el cual se une al elemento de respuesta del proliferador de peroxisomas, un dominio de bisagra (D), el cual se encuentra entre el DBD y la región E, por último el dominio de activación de la traducción 2 (AF-2).<sup>10</sup>

Estos receptores nucleares forman un heterodímero con el receptor nuclear del ácido 9-*cis* retinoico (RXR). La formación de este heterodímero es esencial para muchas de las funciones reguladoras de los PPAR's, promoviendo su transcripción de varios genes. Este complejo activador (PPAR-RXR) se une al ADN y reconoce una secuencia específica de nucleótidos conocida como elemento de respuesta de PPAR (PPRE, PPAR response element), constituida por dos semi-dominios repetidos y separados por un solo nucleótido. Cuando al heterodímero se unen sus ligandos respectivos (por ejemplo, ácido graso insaturado de cadena larga al PPAR y ácido *cis*-retinoico al RXR), se lleva a cabo un reclutamiento protéico activador y se inicia la transcripción del gen (**Figura 18 B**).<sup>45-49</sup>



**Figura 18.** A) Estructura general de los PPAR, B) Mecanismo por el cual actúan los agonistas de PPAR.

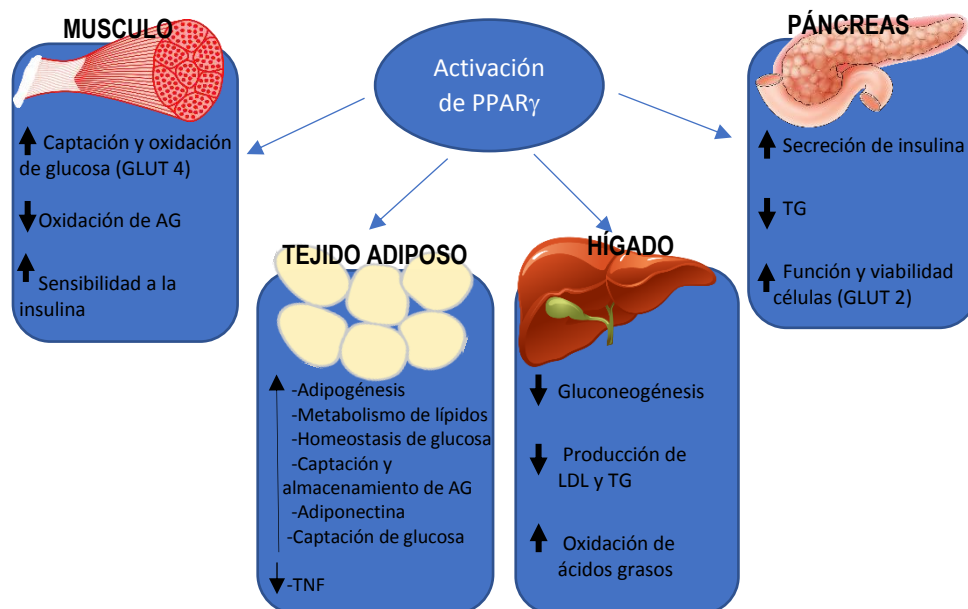


Actualmente se reconocen 3 isotipos distintos de PPAR, los PPAR $\alpha$  (regula oxidación y captación de ácidos grasos), PPAR $\gamma$  (regula la homeostasis de glucosa y almacenamiento de ácidos grasos) y PPAR $\beta/\delta$  (regula el metabolismo de ácidos grasos y la homeostasis lipídica), los cuales son codificados por tres genes diferentes. Cada uno de ellos se caracteriza por presentar un patrón de expresión tisular diferencial, sensibilidad y afinidad variables para distintos ligandos y un reclutamiento de cofactores específicos que les confiere un perfil de actividad biológica distinta.<sup>6-8</sup>

La activación de los PPAR's por diversas clases de compuestos ha permitido evidenciar la implicación de estos en la diferenciación celular (sobre todo la de los adipocitos) y en la homeostasis y el metabolismo de la glucosa.

### 2.5.1 PPAR $\gamma$

Estos receptores nucleares existen bajo dos isoformas proteicas PPAR $\gamma$ 1 (expresado en diversos tejidos como tejido adiposo, hígado y músculo) y PPAR $\gamma$ 2 (se expresa mayoritariamente en tejido adiposo y en menor grado en músculo), se consideran de gran importancia en el tratamiento de la DMT 2 debido a que regulan principalmente el metabolismo de la glucosa y lípidos. Es fundamental para la diferenciación y proliferación de adipocitos, en consecuencia produce una captura de ácidos grasos y su consecuente almacenamiento, activa la utilización de glucosa y favorece la acción metabólica de la insulina tal como se muestra en la **Figura 19**.<sup>10, 45-49</sup>



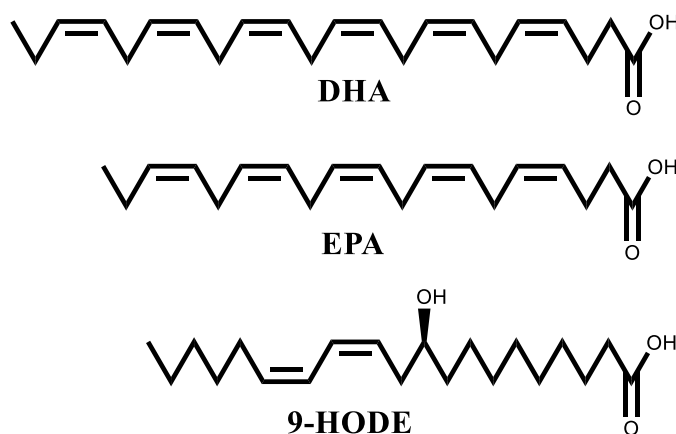
**Figura 19.** Mecanismos mediante los cuales la regulación de PPAR $\gamma$  puede mejorar la sensibilidad a la insulina y la reducción de hiperglicemia en sangre.





Los PPAR $\gamma$  son activados por ligandos naturales de tipo lipídico como los ácidos grasos poliinsaturados, eicosanoides y sus derivados como el ácido araquidónico, el ácido hidroxi-eicosatetraenoico (HETES), el ácido eicosapentaenoico (EPA), el ácido docosahexaenoico (DHA), los derivados del ácido hidroxi-octadecadienoico (9-HODES), leucotrienos y prostaglandinas derivados de las vías de la lipoxigenasa y ciclooxigenasa (**Figura 20**).

Como se mencionó anteriormente las TZD (**Figura 18**) son fármacos que actúan de manera similar a sus ligandos endógenos ejerciendo un efecto como agonistas de los receptores PPAR $\gamma$ , ejerciendo un efecto sobre el tejido adiposo, favoreciendo su diferenciación, regula la homeostasis de la glucosa, mediante un incremento de GLUT-4, el cual permite la entrada de esta a la célula. Sin embargo, los principales efectos adversos de estos fármacos son a nivel cardiovascular, fractura de huesos y a nivel hepático.<sup>10, 45-49</sup>



**Figura 20.** Estructura química de los agonistas endógenos del receptor PPAR $\gamma$ .

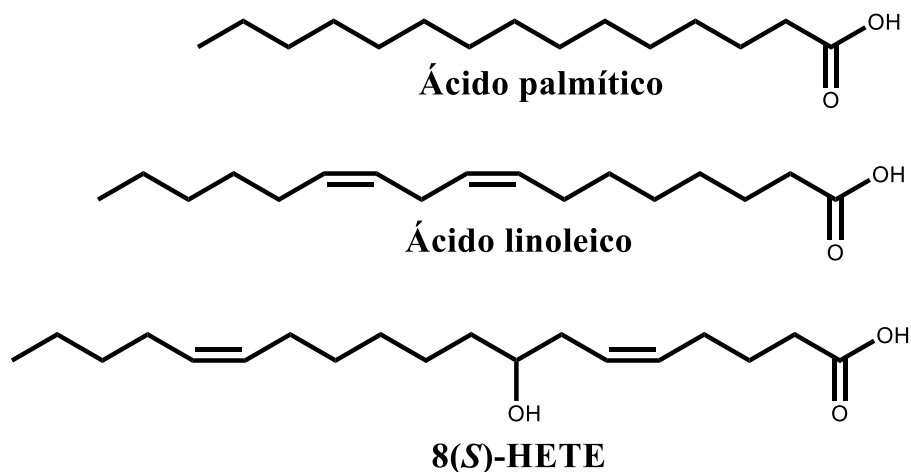
## 2.5.2 PPAR $\alpha$

El receptor activado por proliferador de peroxisomas tipo alfa estimula los genes implicados en oxidación de ácidos grasos. Se une al elemento de respuesta de PPAR como un heterodímero con el receptor retinoide X (RXR) tal como se muestra en la **Figura 18 B**, la activación de este receptor permite la transcripción de genes que codifican para proteínas que promueven tanto el almacenamiento de lípidos como la lipogénesis, como FATP-1 (transportador de ácidos grasos 1), AP2 (proteína de unión a ácidos grasos), CD36 (receptor de lipoproteínas) y reguladores de la síntesis de esteroides y ácidos grasos.<sup>50-53</sup>

Este receptor se expresa esencialmente en el hígado, corazón, riñón, intestino delgado, cerebro y glándula suprarrenal, tejidos donde el catabolismo de ácidos grasos es de gran importancia, donde permite la captación de colesterol LDL, disminuyendo su concentración plasmática, presenta también un efecto cardioprotector. Es activado por ligandos endógenos los cuales se muestran en la **Figura 21** y ligandos sintéticos al igual que el receptor PPAR $\gamma$ , dentro de los ligandos naturales se encuentran principalmente prostaglandinas, leucotrienos y otros ácidos grasos oxidados o derivados del ácido linoléico

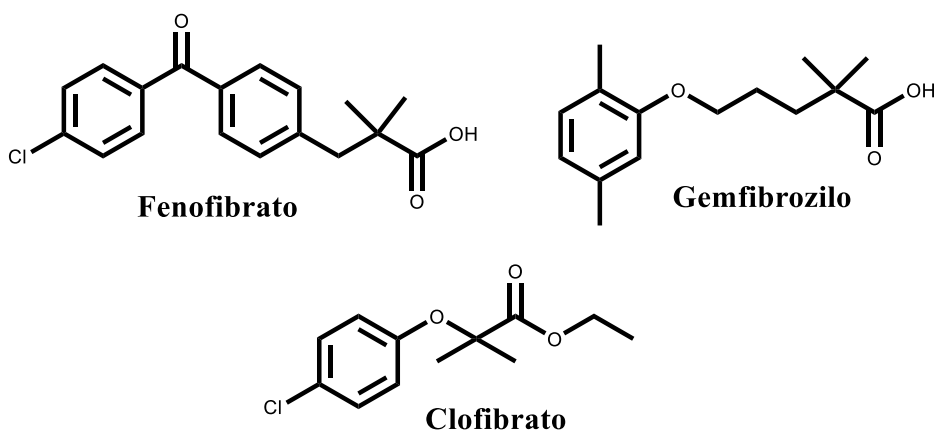


y del ácido araquidónico. Los agonistas PPAR $\alpha$  adoptan una conformación dentro del receptor que permiten la generación de interacciones por puente de hidrógeno, las cuales estabilizan al receptor en una configuración que conduce a su activación.<sup>51-53</sup>



**Figura 21.** Estructura química de los agonistas endógenos del receptor PPAR $\alpha$ .

En la **Figura 22** se muestran algunos de los fármacos agonistas sintéticos de los receptores PPAR $\alpha$  derivados del ácido fíbrico, también llamados fibratos empleados para el tratamiento de DMT 2 como Clofibrato, Fenofibrato, Bezafibrato, Gemfibrozilo los cuales aumentan los niveles de colesterol HDL, disminuyen los niveles de triglicéridos y colesterol LDL asociados con enfermedades coronarias.<sup>51-54</sup>



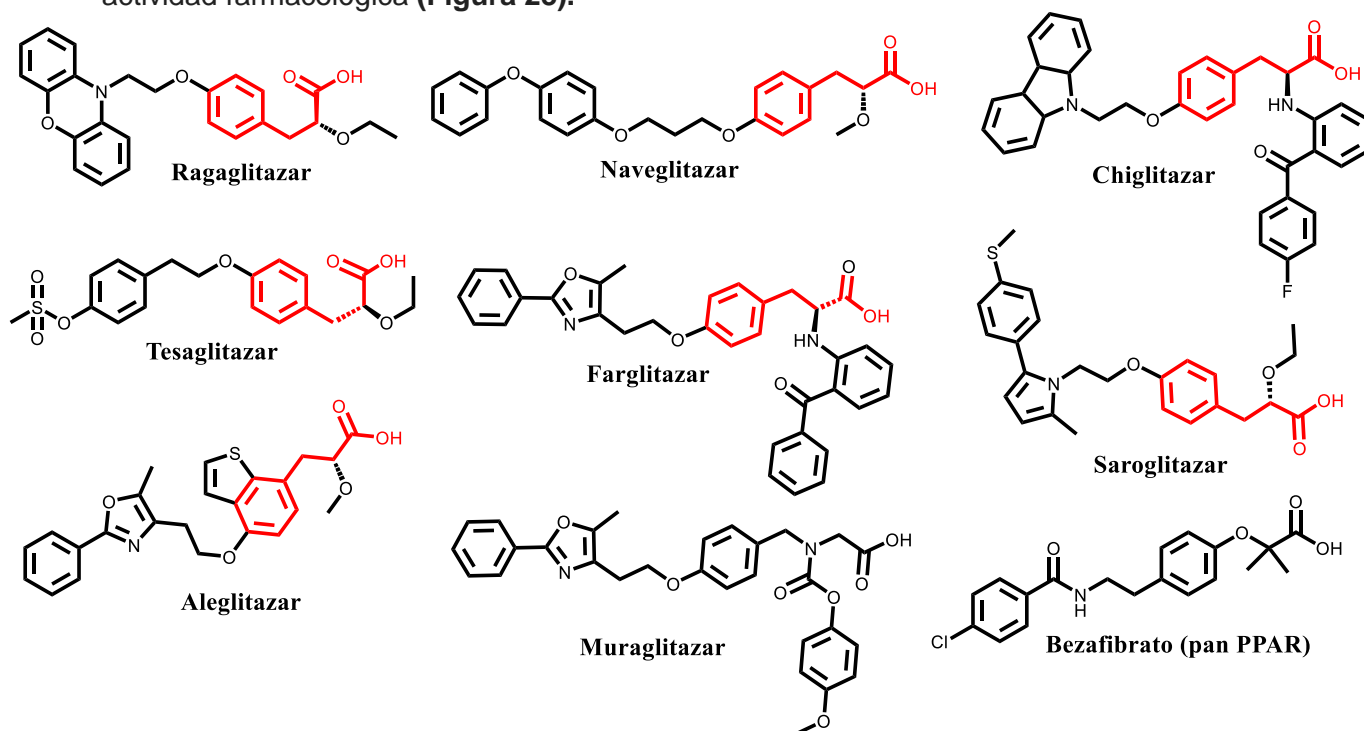
**Figura 22.** Estructura química de agonistas sintéticos del receptor PPAR $\alpha$ .



### 2.5.3 Agonistas duales PPAR $\alpha$ / $\gamma$

Existen fármacos agonistas duales de PPAR $\alpha$  (TZD) y PPAR $\gamma$  (Fibratos) los cuales, al ejercer su actividad sobre ambos isotipos, no solo apuntan al tratamiento de dislipidemias, así como también a la reducción de los niveles de triglicéridos, de ácidos grasos, inhibición de la activación inflamatoria de macrófagos, sino que también contribuirían a un mejor control de la glucemia (DMT 2), aumento de la sensibilidad a la insulina y aumento de colesterol HDL. Teniendo en cuenta estos beneficios del doble agonismo de PPAR $\alpha$ / $\gamma$ , se han desarrollado varios agentes farmacéuticos con esa acción y son comúnmente llamados Glitazares, sin embargo la mayoría han sido descontinuados para uso clínico debido a los resultados obtenidos en estudios preclínicos y clínicos, ya que presentan elevada incidencia de riesgo cardiovascular o accidente cerebrovascular, carcinogenicidad (cáncer de vejiga), disfunción renal, edema significativo.<sup>54-57</sup>

Dentro de este grupo de fármacos se encuentran Ragaglitazar, Naveglitazar, Tesaglitazar, Muraglitazar, Farglitazar, Saroglitazar (Aprobado para su uso en la India por el Contralor General de Medicamentos de la India como Lipaglyn™), Aleglitazar y Chiglitazar, los cuales comparten en su estructura química la porción del ácido fenilpropiónico importante en su actividad farmacológica (Figura 23).<sup>49-54</sup>



**Figura 23.** Estructura química de los Glitazares agonistas duales PPAR $\alpha$ / $\gamma$  y Bezafibrato (pan PPAR).

El fármaco Bezafibrato es un derivado del ácido fibríco, el cual disminuye los niveles de triglicéridos en sangre, aumenta la sensibilidad a la insulina, probablemente lleve a cabo una disminución de riesgos cardiovasculares, adicionalmente se puede esperar la prevención de sobrepeso ya que es el primer activador pan PPAR, es decir agonista de tres isoformas de este receptor (alfa, beta/delta y gamma) el cual presenta un buen perfil de seguridad, por lo cual se hace mención en este grupo (Figura 23).<sup>54-57</sup>



## 2.6 Blancos terapéuticos novedosos para el tratamiento de la DMT 2

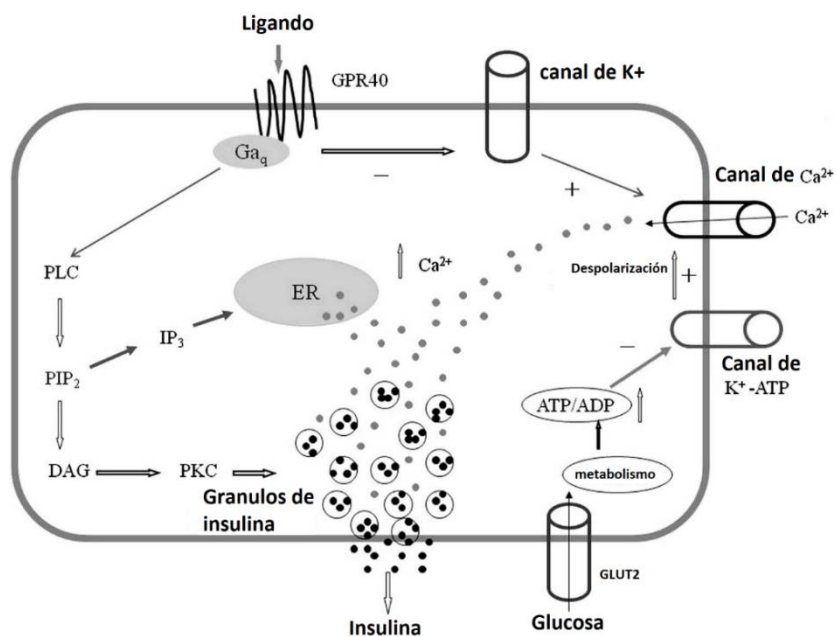
Existen otros blancos terapéuticos adicionalmente a los PPAR ya mencionados, como el receptor GPR40, la enzima aldosa reductasa y la enzima PTP 1B, mismo que han estado en constante investigación como posible tratamiento para la DMT 2.

### 2.6.1 GPR40

El receptor de ácidos grasos libres 1 (FFA1 o FFAR1), también llamado Receptor 40 acoplado a proteína G (GPR40) se convirtió en un objetivo biológico de gran importancia desde el punto de vista del desarrollo de nuevos agentes terapéuticos contra la DMT 2.

El receptor GPR40 se encuentra en mayor concentración en las células  $\beta$  pancreáticas y en cerebro, es activado por ácidos grasos saturados e insaturados de cadena media a larga, como el ácido eicosatrienoico, el ácido gamma-linolénico, el ácido fitánico y el ácido pristánico pero también se ha encontrado que puede ser activado por ácidos pequeños de hasta 10 átomos de carbono, por lo cual no generan hipoglucemia a diferencia de las sulfonilureas.<sup>58-60</sup>

La activación de GPR40 promueve la secreción de insulina estimulada por glucosa y puede también aumentar la secreción de GLP-1. La liberación de glucosa se da una vez que el ligando interacciona con el receptor GPR40 provocando que una de sus subunidades se disocie del receptor, seguido de la activación de la fosfolipasa C (PLC), la cual hidroliza al fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP<sub>2</sub>) que contiene lípidos de membrana para generar inositol 1,4,5-trisfosfato (IP<sub>3</sub>) y diacilglicerol. IP<sub>3</sub> a su vez parece mediar el aumento en los niveles de Ca<sup>2+</sup> intracelular que posteriormente promueve la secreción de insulina, como se muestra a continuación en la **(Figura 24)**.<sup>59-62</sup>

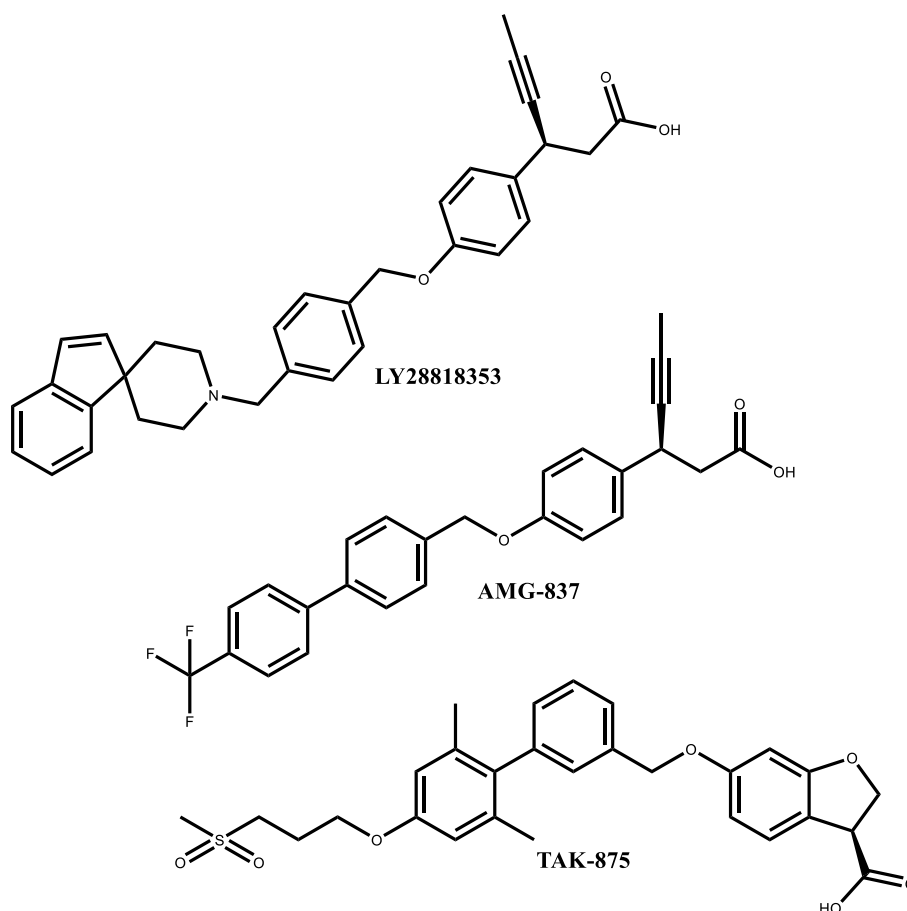


**Figura 24.** Mecanismo por el cual ocurre la liberación de insulina mediante la activación de GPR40.



Este receptor se ha convertido en un nuevo objetivo para el tratamiento de la DMT 2, lo que ha generado un esfuerzo en la investigación destinado a desarrollar una nueva clase de agonistas sintéticos que actúen a nivel de GPR40, lo anterior se vio afectado negativamente por la interrupción de los ensayos clínicos de fase III de **TAK-875** (Fasiglifam), primer agonista parcial de GPR40 desarrollado por la industria farmacéutica Takeda, debido a la toxicidad hepática que se ha relacionado con su alta lipofilidad, con lo cual se llegó a la conclusión de que aumentando el área polar superficial total de los agonistas de FFA1 podría, en principio, proporcionar una solución directa al problema.<sup>61-63</sup>

Sin embargo, **TAK-875** y muchos otros compuestos de esta clase como el de AMG-837 de Amgen y **LY28818353** de Eli Lilly se basan en el núcleo del ácido 3-[4-(benciloxi)fenil]propiónico, el cual imita a los ligandos endógenos del receptor. En la figura siguiente se muestran las estructuras químicas de los fármacos antes mencionados (**Figura 25**).



**Figura 25.** Estructura química de los agonistas de GPR40.

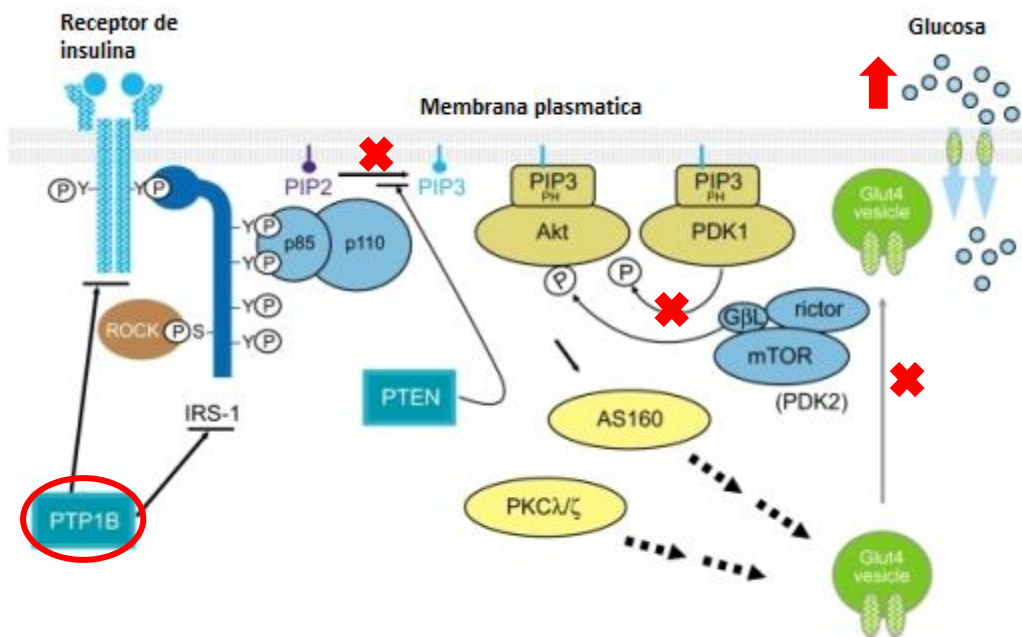


## 2.6.2 PTP-1B

La proteína fosfatasa de tirosina 1B (PTP-1B) es una enzima perteneciente a la familia de proteínas fosfatasa de tirosina (PTP) que catalizan la desfosforilación de las proteínas de tirosina cinasa (PTK), la cual se considera un regulador negativo de la vía de señalización de insulina por esta razón se considera un blanco terapéutico importante en el tratamiento de DMT 2.

La PTP-1B es un monómero que se localiza principalmente en el retículo endoplasmático (RE) a través de un segmento C-terminal rico en prolina, contiene un dominio catalítico N-terminal y una región hidrofóbica, siendo los residuos de aminoácido Cys215 y Arg221 críticos para los sitios catalíticos de fosfatasa. Dentro de los procesos importantes en los que interviene PTP1B se encuentra la desregulación de las señales de insulina y leptina.<sup>64-63</sup>

La insulina, al unirse con su receptor activa, a la tirosina cinasa citosólica mediante la autofosforilación de tres residuos de tirosina (Tyr) que a su vez fosforila al sustrato de IR (IRS) permitiendo la activación de PI3K y AKT que eventualmente permitirán la translocación de GLUT-4 a la superficie entre otros procesos. Sin embargo, un paso regulatorio crítico en la señalización es la desfosforilación de los residuos de fosfotirosina (pTyr) del IRS por PTP-1B esto puede conducir posteriormente a RI ya que evita la translocación de GLUT-4 manteniendo hiperglicemia en sangre (**Figura 26**).<sup>64-66</sup>



**Figura 26.** Mecanismo de la regulación negativa de PTP-1B en la señalización de insulina.<sup>66</sup>



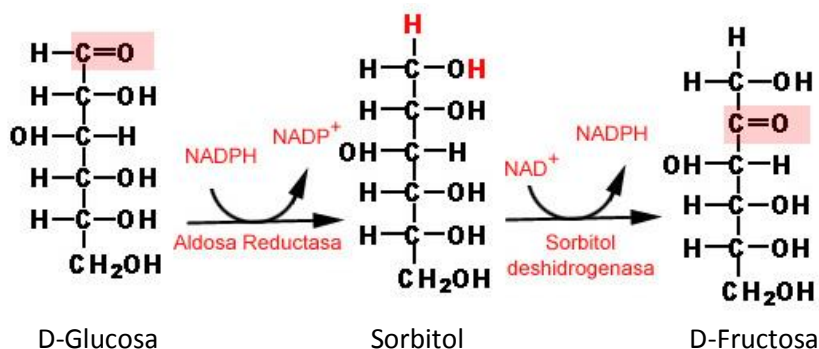
### 2.6.3 Aldosa Reductasa

La enzima aldosa reductasa pertenece a la familia de las enzimas aldocetorreductasas, se encuentra presente en ojos, riñones y nervios periféricos (axones y células de Schwann), tiene la función de catalizar a nivel celular la reducción de hexosas como la glucosa (aldehídos) a sorbitol (alcohol) de manera irreversible, cuando esta se encuentra a altas concentraciones y finalmente el sorbitol es oxidado a fructosa.<sup>67,67</sup>

En la catálisis de glucosa a sorbitol participa como coenzima NADPH. Al haber un aumento de sorbitol intracelular como se muestra en la **Figura 27** se produce un aumento de la presión osmótica ya que el sorbitol no difunde fácilmente a través de la membrana plasmática provocando daño celular, además las concentraciones de NADPH disminuye la acción de enzimas importantes como enzimas antioxidantes, la enzima glutatión reductasa, la enzima óxido nítrico sintasa (NOS), dando como consecuencia un aumento del estrés oxidativo.

La segunda reacción de la vía de los polioles es la conversión de sorbitol a fructosa (**Figura 27**) por acción de la enzima sorbitol deshidrogenasa (SDH) dependiente de NAD<sup>+</sup>, la disminución de esta coenzima provoca un aumento en la osmolaridad intracelular y un aumento de diacilglicerol, que activa a la proteína cinasa C (PKC) la cual afecta la permeabilidad vascular y consecuentemente genera neuropatía diabética.

La inhibición de la enzima aldosa reductasa constituye uno de los pilares terapéuticos en el tratamiento de las complicaciones crónicas de la DM.<sup>68-70</sup>



**Figura 27.** Mecanismo por el cual la enzima aldosa reductasa participa en la generación de complicaciones crónicas en DMT 2.



### 3. JUSTIFICACIÓN

La DMT 2 se encuentra entre una de las primeras causas de muerte a nivel mundial y nacional y esta se prevé que aumentará en un 48% a 629 millones para el año 2045. De acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes México se colocó dentro de los primeros diez países con mayor número de adultos con DM a nivel mundial (5° lugar), dicha población alcanza una cifra de 12 millones, lo cual conlleva a altos costos para el sector salud debido a un mayor uso de los servicios de salud y el apoyo a largo plazo que se otorga a complicaciones relacionadas con DM, como son: problemas cardiovasculares e insuficiencia renal, principalmente.

Por otro lado, de acuerdo con la IDF estos gastos sanitarios son dos veces mayores que para las personas sin esta enfermedad, por lo que el gasto en diabetes tiene un impacto significativo en los presupuestos sanitarios de todo el mundo, cabe destacar que el 17% del presupuesto sanitario total de América del Norte y el Caribe se destinó a este padecimiento siendo Estados Unidos de América el que mayor gasto sanitario presenta seguido de China. México mismo que se encuentra en octavo lugar con 19 mil millones de dólares en gastos por DM debido a lo anterior es un reto importante para los sistemas de salud y un obstáculo para el desarrollo económico sostenible. Esto provoca que los pacientes no reciban el tratamiento adecuado debido a su alto costo, por lo cual se requiere de fármacos que por sí solos sean capaces de actuar sobre las diversas complicaciones asociadas con DMT 2, evitando de esta manera, el uso de varios medicamentos, los cuales conllevan a la elevación de los costos del tratamiento, así como al aumento en el riesgo de interacciones medicamentosas.

En este proyecto se pretende contribuir con compuestos novedosos derivados del ácido fenilpropiónico que actúen sobre más de un padecimiento asociado con DMT 2, pudiendo dar tratamiento a enfermedades concomitantes. El objetivo a largo plazo será reducir el uso de una polifarmacia en los centros de salud, minimizando los costos del tratamiento y efectos adversos, ya que presentan un mecanismo único que no presenta ningún fármaco en el mercado, al actuar como agonistas duales de los receptores  $PPAR\alpha/\gamma$ , GPR40 e inhibidores de la enzima PTP-1B y Aldosa Reductasa.





## 4. HIPÓTESIS

Los compuestos híbridos basados en ácido fenilpropiónico poseerán afinidad multitarget por los receptores PPAR $\alpha/\gamma$ , GPR40 y las enzimas PTP-1B y Aldosa reductasa, ya que comparten el patrón farmacofórico unificado de entidades químicas antidiabéticas.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general:

- ✓ Diseñar, sintetizar y caracterizar los compuestos híbridos basados en ácido fenilpropiónico, así como evaluar *in silico*, *in vitro* e *in vivo* su efecto antidiabético.

### 5.2 Objetivos particulares:

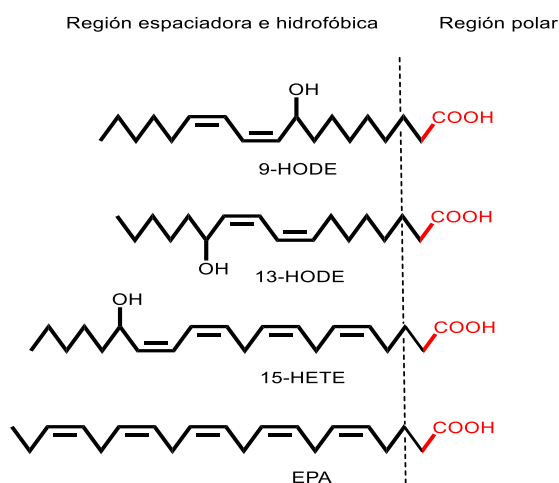
- ✓ Diseñar y sintetizar los compuestos híbridos basados en ácido fenilpropiónico.
- ✓ Caracterizar mediante técnicas Espectroscópicas (RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ ) y Espectrométricas (EM) cada uno de los compuestos sintetizados (**MGD 1-5 y MGD-14**).
- ✓ Llevar a cabo un análisis *in silico* de las propiedades farmacodinámicas, toxicológicas, farmacocinéticas, metabólicas y cuasi-fármaco de los compuestos diseñados empleando herramientas quimioinformáticas.
- ✓ Realizar estudios *in silico* (acoplamiento molecular) de los compuestos contra los receptores PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$  y otras dianas asociadas con DMT 2 como son Aldosa reductasa y GPR40.
- ✓ Realizar una evaluación de la actividad biológica de los compuestos que presenten el mejor perfil destacado en el análisis de consenso farmacológico, mediante ensayos *in vitro* sobre los PPAR en fibroblastos diferenciados de la línea celular 3T3-L1.
- ✓ Llevar a cabo ensayos *in vivo* del compuesto con el mejor perfil destacado en los análisis de consenso bioinformáticos en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente.



## 6. CONSIDERACIONES QUÍMICO FARMACÉUTICAS PARA EL DISEÑO MOLECULAR

### 6.1 Criterios generales para el diseño de los compuestos propuestos

Los compuestos híbridos basados en ácido fenilpropiónico (**MGD 1-5 y MGD-14**) propuestos en este proyecto fueron diseñados de manera racional tomando en cuenta al patrón farmacofórico unificado de los receptores PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$ , GPR40 y las enzimas PTP-1B y aldosa reductasa diseñado a partir de sus ligandos endógenos, los cuales son ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (**Figura 28**).



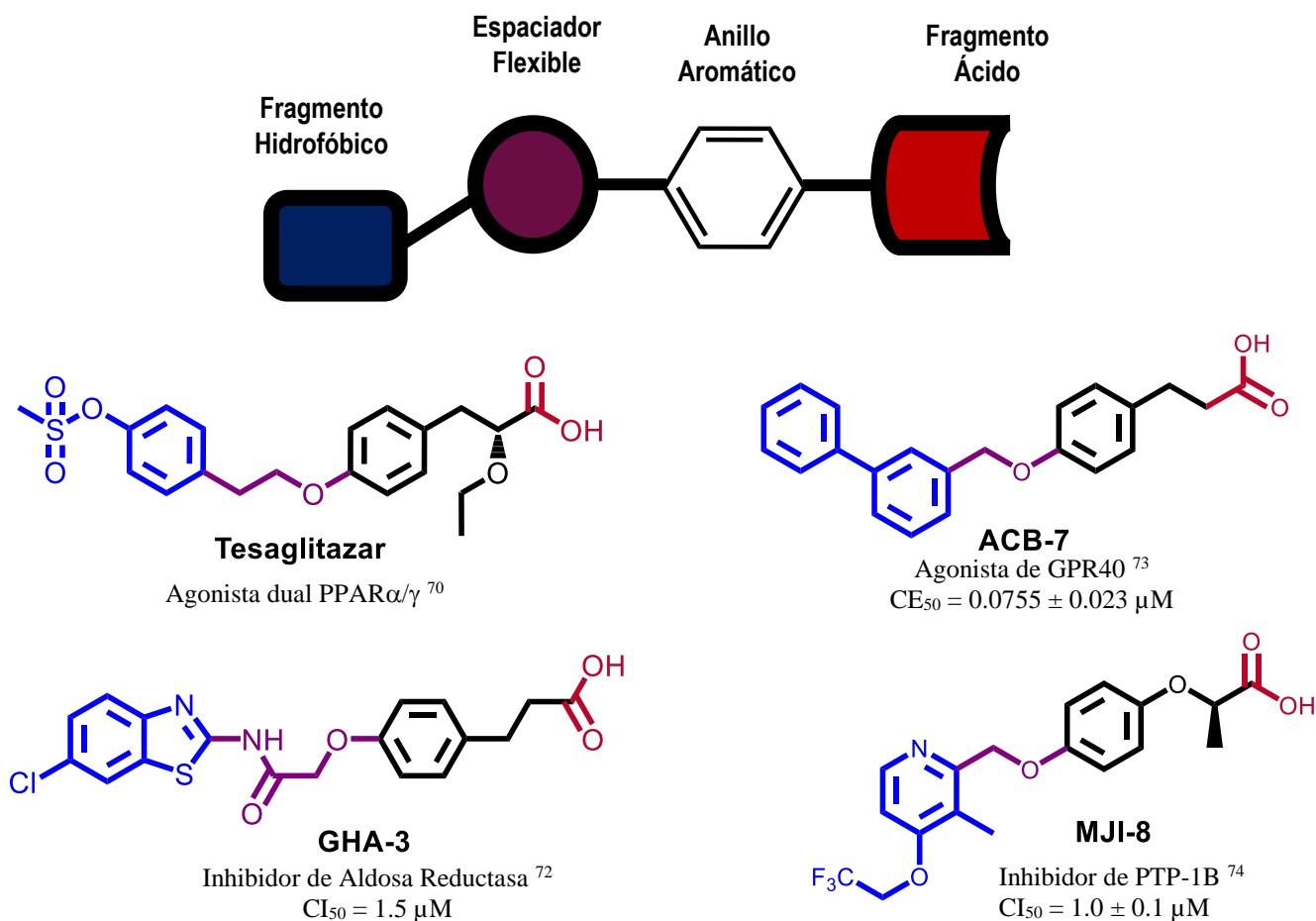
**Figura 28.** Estructura de algunos ligandos endógenos de PPAR.

Este diseño racional de compuestos bioactivos se basa principalmente en:

- 1) **Un patrón farmacofórico unificado para entidades químicas antidiabéticas:** A partir de la estructura molecular de los ligandos endógenos se ha descrito en la literatura un patrón que permite conocer qué regiones de la molécula interaccionan con varios sitios diana (multitarget) y que como resultado permiten su actividad biológica y está constituido por:
  - I. **Fragmento hidrofóbico:** Permite mantener interacciones de tipo no polar con los residuos de aminoácido.<sup>28</sup>
  - II. **Espaciador flexible:** Le confiere flexibilidad a la molécula que le permite adoptar la conformación de adecuada en el sitio activo del receptor y permite la conexión del fragmento hidrofóbico y el anillo aromático.
  - III. **Anillo aromático:** El cual se encuentra unido a la región hidrofóbica.
  - IV. **Fragmento ácido:** Permite la interacción con el sitio activo y por lo tanto la actividad biológica de la molécula, debido a su carácter ácido que le permite interaccionar con residuos de aminoácidos básicos para la actividad biológica.<sup>28</sup>

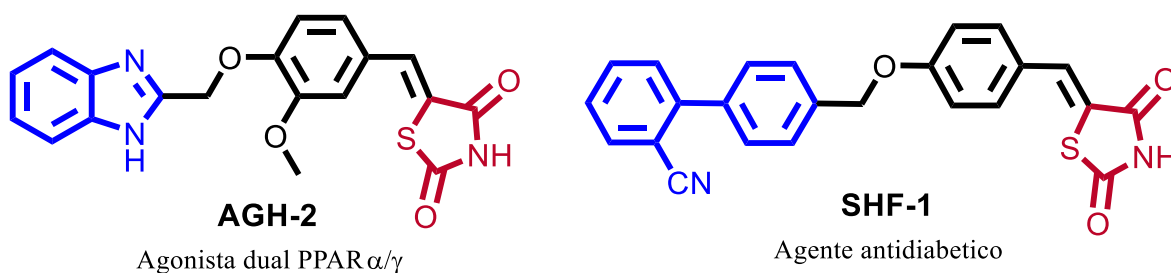


Los agonistas duales PPAR $\alpha/\gamma$  como el Tesaglitazar están basados en este patrón farmacofórico unificado, así como otras moléculas diseñadas en nuestro grupo de investigación (**Figura 29**), ya que mantienen los fragmentos importantes anteriormente mencionados, al igual que los compuestos diseñados en este proyecto (**MGD 1-5 y MGD-14**).



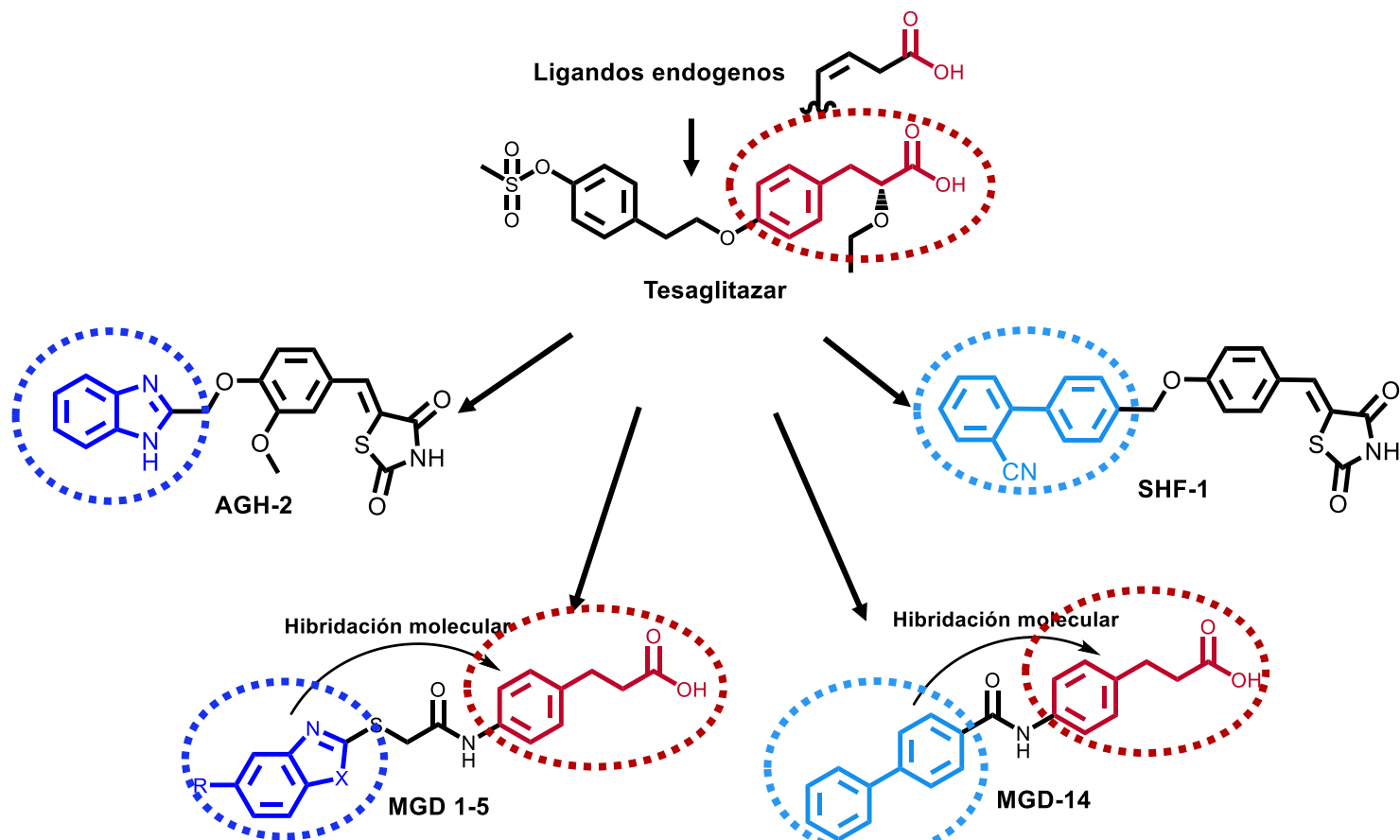
**Figura 29.** Patrón farmacofórico unificado de los agonistas duales PPAR $\alpha/\gamma$  y de GPR40 e inhibidores de las enzimas PTP-1B y Aldosa Reductasa.

Cabe mencionar que la fracción hidrofóbica correspondiente al anillo de benzazol de los compuestos finales **MGD 1-5** se basa en la molécula **AGH-2** (diseñada y sintetizada en nuestro grupo de investigación),<sup>72</sup> como se muestra a continuación la cual presentó buena actividad como agonista dual PPAR $\alpha/\gamma$  en ensayos *in vitro*, por otro lado, la molécula **SHF-1** que presentó buena actividad en ensayos *in vivo* como antidiabético,<sup>71</sup> a partir de esta molécula se diseñó el compuesto **MGD-14** (**Figura 30**).



**Figura 30.** Compuestos diseñados con el patrón farmacofórico de PPAR, los cuales presentan actividad antidiabética observada en ensayos *in vitro* e *in vivo*.<sup>71,72</sup>

El diseño de los compuestos propuestos en este proyecto se basa en cada una de las moléculas presentadas anteriormente (**Figura 31**).<sup>70-72</sup>



**Figura 31.** Diseño de los compuestos propuestos **MGD 1-5** y **MGD-14** a partir del farmacóforo de los agonistas duales PPAR $\alpha/\gamma$ .

Para el diseño de los compuestos **MGD 1-5**, se decidió conservar el fragmento del ácido fenilpropiónico que presenta en su estructura el fármaco Tesaglitazar ya que le permite mantener interacciones importantes con el receptor PPAR, se tomó el fragmento de



bencimidazol del compuesto **AGH-2** ya que se considera una estructura privilegiada con una gran variedad de actividades biológicas, adicionalmente se realizó un reemplazamiento bioisostérico no clásico en la posición 5 del bencimidazol de hidrógeno por metoxilo (**MGD-4**) y por metilo (**MGD-5**). Finalmente se realizó una hibridación de estos dos fragmentos por un enlace amida.

Para el diseño del compuesto **MGD-14**, se conservó también el fragmento del ácido fenilpropiónico de Tesaglitazar y la porción del 2-bifenilcarbonitrilo del compuesto **SHF-1**, adicionalmente se realizó una remoción del carbonitrilo por hidrógeno y finalmente se realizó una hibridación de estas dos porciones. De acuerdo con el diseño previamente planteado se espera que los compuestos híbridos de benzazoles y ácido fenilpropiónico presenten similar afinidad que Tesaglitazar por el sitio activo de los receptores PPAR $\alpha$  y PPAR $\gamma$ , GPR40 y las enzimas aldosa reductasa y PTP-1B.

- 2) **Reglas de Lipinski y de Veber:** Otra de las consideraciones que se debe tomar en cuenta para el diseño molecular, son las reglas de Lipinski (propiedades fisicoquímicas fundamentales de compuestos similares a fármacos) y de Veber (propiedades estructurales que aumentan la biodisponibilidad), ya que nos permite predecir el comportamiento que tendrán los compuestos al atravesar membranas celulares por difusión pasiva.<sup>75</sup>

Estas reglas se consideran de gran importancia durante la etapa de descubrimiento de fármacos ya que relacionan propiedades estructurales (puentes de hidrógeno, lipofiliidad, peso molecular, pKa, área polar superficial), fisicoquímicas (solubilidad, permeabilidad) y biológicas (transporte) de una molécula. Estas características determinan sus propiedades farmacocinéticas y toxicológicas que van a permitirles continuar hacia la etapa de desarrollo de fármacos.

Estas propiedades pueden ser calculadas de manera predictiva por diversos programas como Molinspiration (**Figura 32**) el cual presenta una amplia gama de herramientas químio-informáticas, que permiten el cálculo de diversas propiedades moleculares, como las reglas de Lipinski y Veber ya mencionadas permitiendo determinar si una molécula tendrá problemas de permeabilidad celular.

miSMILES: O=C(O)CCc3ccc(NC(=O)CSc2nc1cccc1[nH]2)cc3 Enter SMILES  [Clear](#)  
or draw molecule below

Molinspiration property engine v2016.10

miLogP	3.09
TPSA	95.08
natoms	25
MW	355.42
nOH	6
nOH1H	3
nviolations	0
nrotb	7
volume	307.19

[Get data as text](#) (for copy / paste).  
[Get 3D geometry](#) BETA

Calculate Properties  
Predict Bioactivity  
Galaxy 3D Generator

This was request 1 out of 1000 available this month for your site 187.253.127.110  
With technology from Molinspiration you can easily setup similar service also directly on your intranet.  
Comments or questions? See our [FAQ](#) and do not hesitate to provide feedback or contact us by email!

[New molecule](#) [Predict bioactivity](#) [About properties](#) [MyMolecules](#) [Molinspiration home](#)  
©2017 Molinspiration Cheminformatics [Terms of service](#)  
© Molinspiration Cheminformatics 2017

Calculation of Molecular Properties and Bioactivity Score

Figura 32. Programa computacional molinspiration (<http://www.molinspiration.com>).



A continuación se enlistan los postulados presentados por el químico farmacéutico Christopher A. Lipinski, en donde un compuesto que presente más de 2 violaciones a cualquiera de los postulados tendrá mayor probabilidad de presentar problemas de absorción y permeabilidad celular.

- 1) Peso molecular (PM) menor a 500 g/mol.
- 2) Números de donadores de puentes de hidrógeno (OH, NH) menor o igual a 5. (Suma de –OH y –NH en la molécula).
- 3) Número de aceptores de puentes de hidrógeno (O, N) menor o igual a 10. (Suma de –O y –N en la molécula).
- 4) Log P calculado (C log P) menor a 5.

Las reglas de Veber relacionan la biodisponibilidad oral de un fármaco con el número de enlaces rotables (ER) los cuales deben presentar un valor menor a 12 y el área polar superficial (TPSA) la cual se puede utilizar como una buena indicación de permeación y debe tener un valor menor a  $\text{\AA}^2$ .

Por lo cual se llevó a cabo la predicción de cada uno de los postulados de Lipinski y de Veber de los compuestos finales (**MGD 1-5 y MGD-14**), empleando Molinspiration online, los cuales se muestran en la **Tabla 4**.

**Tabla 4.** Análisis de los postulados de Lipinski y Veber para los compuestos finales.

Propiedades	log P	PM g/mol	APH	DPH	ER	TPSA
Compuesto	<5	<500	<10	<5	<10	<140 $\text{\AA}^2$
MGD-1	3.09	355.42	6	3	7	95.08
MGD-2	3.20	356.40	6	2	7	92.43
MGD-3	3.84	372.47	5	2	7	79.29
MGD-4	3.13	385.44	7	3	8	104.31
MGD-5	3.52	369.45	6	3	7	95.08
MGD-14	4.57	345.40	4	2	6	66.40
Saroglitazar	4.70	439.0	5	1	11	60
Tesaglitazar	2.44	392.47	6	1	10	89.91

**APH:** aceptores de puente de hidrogeno, **DPH:** donadores de puente de hidrógeno, **ER:** enlaces rotables, **TPSA:** área polar superficial total.

De acuerdo con los valores obtenidos se observa que ninguna de las moléculas diseñadas tendrá problemas de absorción y permeabilidad por difusión pasiva, por lo cual podrían presentar buena biodisponibilidad al ser administrados por vía oral, ya que no presentan ninguna violación a estas reglas.



## 7. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

El desarrollo experimental de este proyecto se encuentra dividido en una parte química, una parte farmacológica y finalmente una parte computacional.

- I. **Parte Química:** Relaciona las consideraciones empleadas para el diseño molecular y la síntesis de los compuestos propuestos en este proyecto. El diseño de los compuestos finales **MGD 1-5 y MGD-14** se llevó a cabo en el laboratorio de Química Farmacéutica (L-5) de la Facultad de Farmacia perteneciente a la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (FF-UAEM), la síntesis y caracterización por RNM de estos compuestos se realizó en el laboratorio de síntesis asimétrica (L-5A) del centro de investigaciones químicas (CIQ-UAEM) bajo la asesoría del Dr. Gabriel Navarrete Vázquez y del Dr. Jaime Escalante García, respectivamente.

La caracterización de los compuestos sintetizados mediante técnicas espectrométricas (EM) se llevó a cabo en colaboración con la Dra. Gabriela Ávila Villarreal perteneciente al Centro Nayarita de Innovación y Transferencia de Tecnología (CENIT 2).

- II. **Parte farmacológica:** Con el objetivo de corroborar el efecto farmacológico de los compuesto **MGD 1-5 y MGD-14** se realizaron los correspondientes ensayos *in vitro* (En colaboración con el Dr. Julio César Almanza Pérez y el M.B.E. Abraham Giacoman Martínez, del departamento de farmacología de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM-Unidad Iztapalapa) e *in vivo* los cuales se realizaron en colaboración con el Dr. Samuel Enoch Estrada Soto y la M. F. Fabiola Chávez Silva del laboratorio de farmacognosia (L-12) de la Facultad de Farmacia (FF-UAEM).

- III. **Parte computacional:** La evaluación *in silico* de los compuestos finales **MGD 1-5 y MGD-14**, comprende su análisis mediante diversas herramientas quimio-informáticas (*a priori*), así como también la realización del acoplamiento molecular (*a posteriori*) del mejor candidato obtenido en ensayos *in vivo*. Dichos análisis se realizaron en el laboratorio de Química Farmacéutica (L-5, FF-UAEM), bajo la asesoría del L.F. Carlos Martínez Conde.

La parte *a priori* (antes de la síntesis de los compuestos finales) comprende la predicción de la actividad biológica, metabolismo, toxicidad aguda y propiedades cuasi-fármaco de los compuestos diseñados, mediante una serie de programas computacionales y en línea.

La parte *a posteriori* (después de la síntesis de los compuestos finales), consta de la realización del acoplamiento molecular sobre el receptor PPAR $\alpha$  y PPAR $\gamma$  de los mejores compuestos obtenidos en el análisis de consenso con el objetivo de observar las interacciones presentadas por los compuestos en respuesta a la unión ligando-receptor.

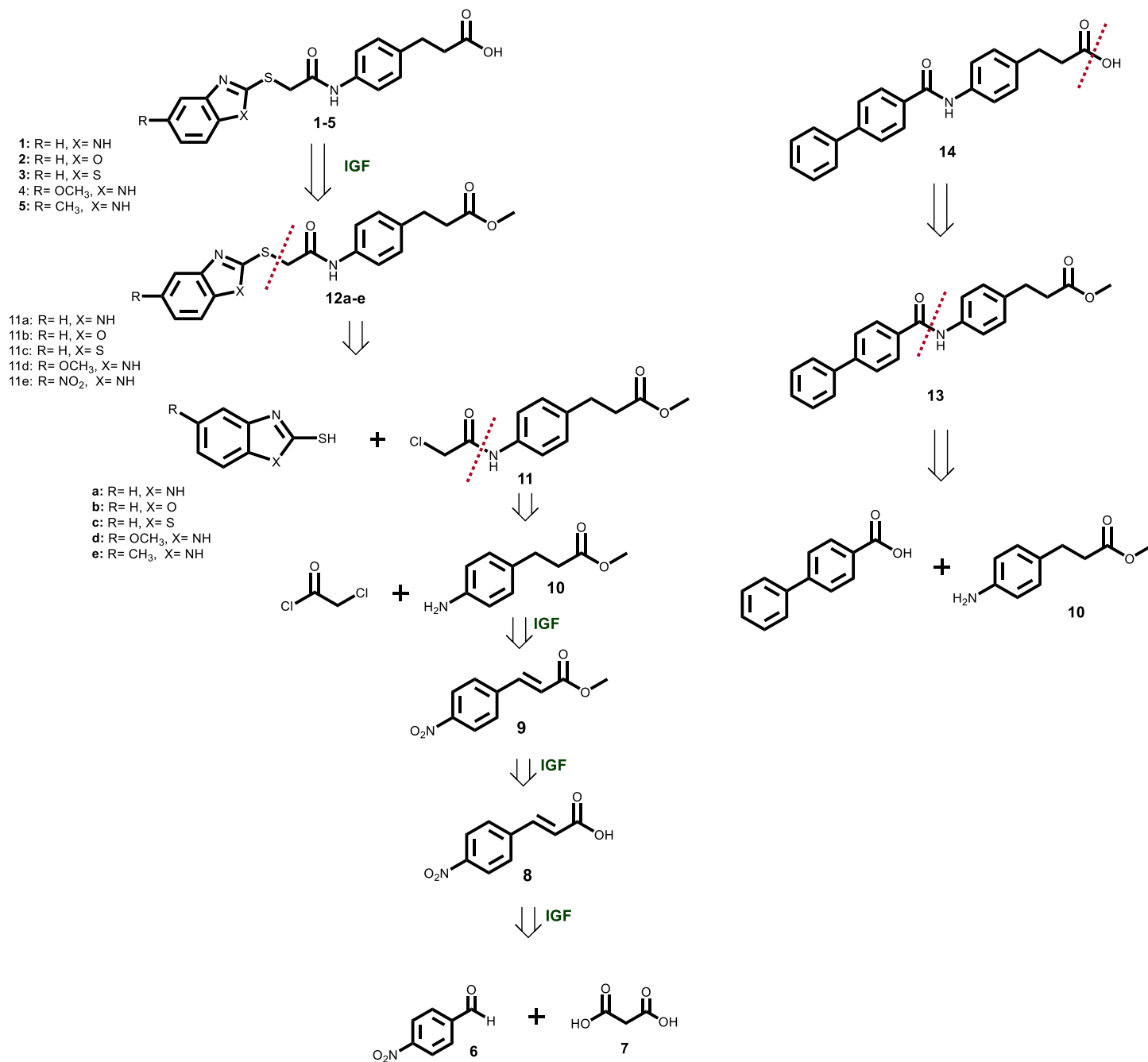
Dicho acoplamiento se realizó en el Laboratorio de Química Farmacéutica (L-5) de la Facultad de Farmacia ubicada en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (L-5, FF-UAEM).



## 7.1 Parte Química

### 7.1.1 Análisis retrosintético

Para llevar a cabo la síntesis de cada una de las amidas híbridas basadas en ácido fenilpropiónico diseñados, se realizó un análisis retrosintético realizando una serie de desconexiones con el fin de obtener moléculas de partida más sencillas, de fácil acceso, como se muestra a continuación (**Esquema 1**).



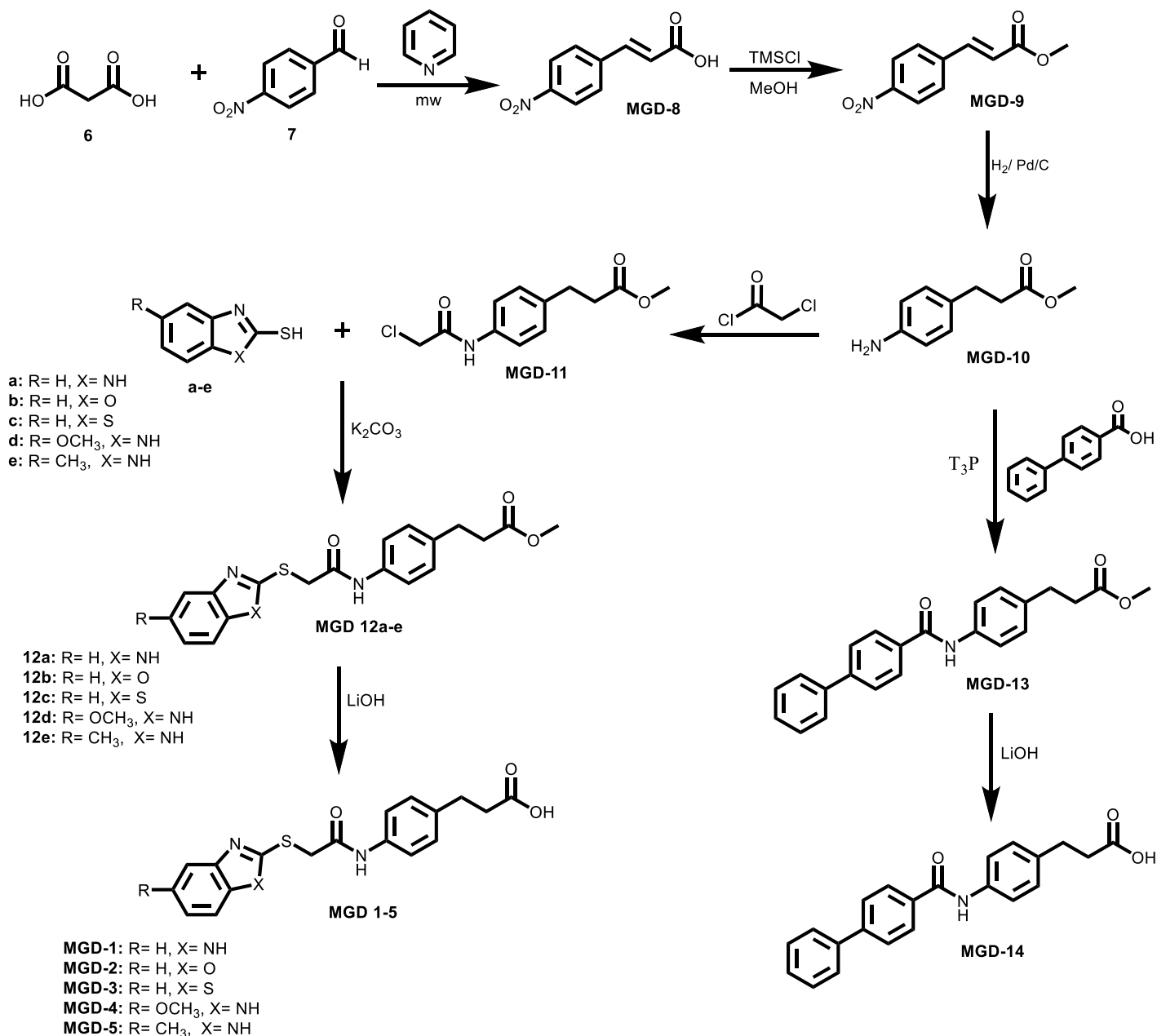
**Esquema 1.** Análisis retrosintético de los compuestos MGD 1-5 y MGD-14.





## 7.1.2 Metodología general para la síntesis de los compuestos MGD 1-5 y MGD-14

Una vez realizado el análisis retrosintético se planteó una ruta de síntesis de los compuestos finales. A continuación, se esquematiza la ruta sintética planteada inicialmente (**Esquema 2**).

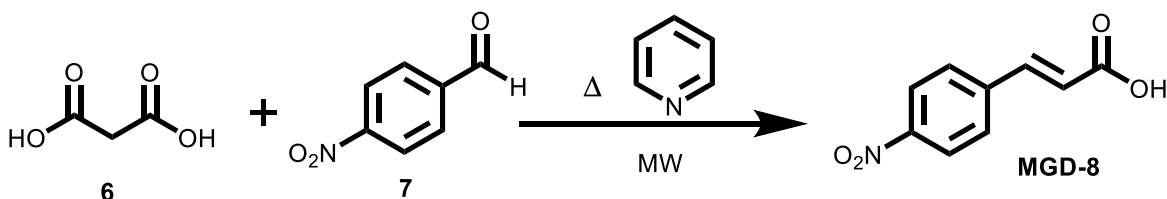


**Esquema 2.** Ruta sintética planteada para la obtención de los compuestos híbridos basados en ácido fenilpropiónico.



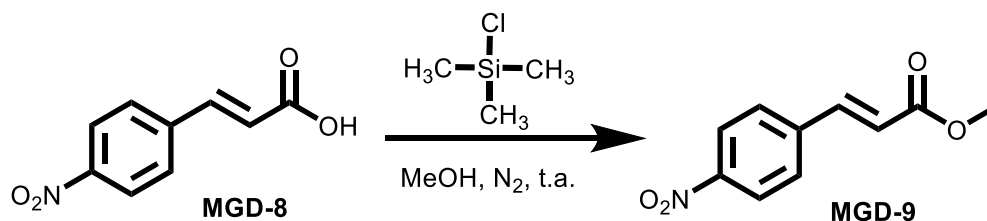
### 7.1.3 Síntesis general de los precursores MGD 8-11

Para la síntesis del compuesto precursor **MGD-8** se hizo reaccionar al ácido malónico (**6**) con el 4-nitrobenzaldehído (**7**) mediante una condensación de Knoevenagel-Doebner empleando piridina como disolvente y  $\beta$ -alanina como aditivo, asistida por microondas (MW) tal como se muestra en el **Esquema 3**.<sup>76</sup>



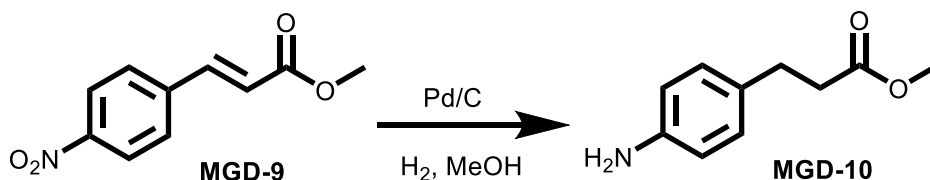
**Esquema 3.** Síntesis del compuesto precursor **MGD-8**.

Posteriormente se realizó la protección del ácido **MGD-8**, empleando cloruro de trimetilsilano, metanol absoluto como disolvente y atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente para obtención del éster metílico **MGD-9** (**Esquema 4**).



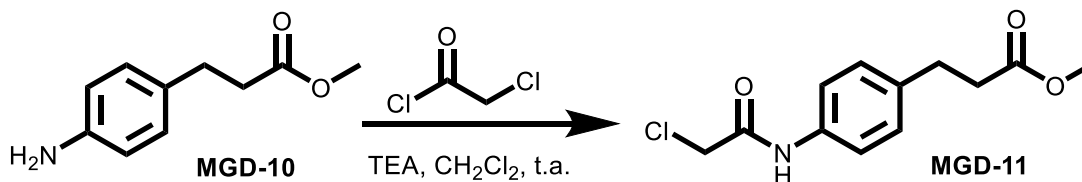
**Esquema 4.** Síntesis del compuesto precursor **MGD-9**.

Para la síntesis del compuesto **MGD-10** se realizó una hidrogenación catalítica para reducir el grupo nitro a amina y reducir el alqueno a alcano, utilizando Pd/C como catalizador al 10%, empleando metanol como disolvente (**Esquema 5**).



**Esquema 5.** Síntesis de la amina **MGD-10**.

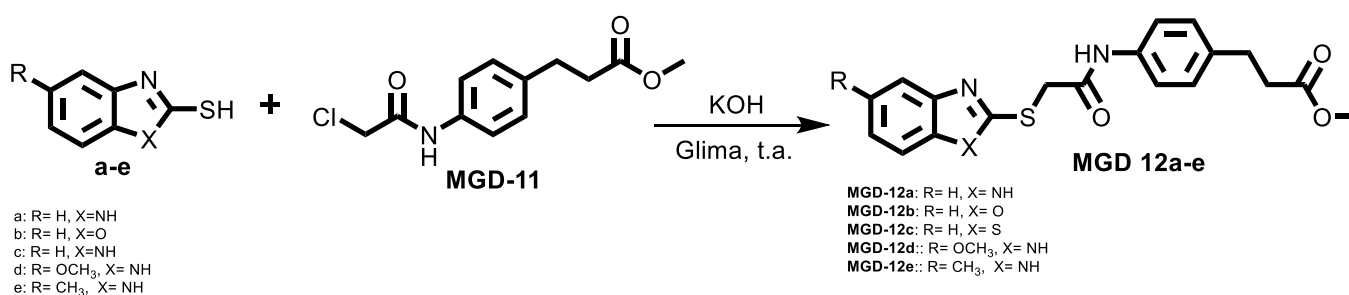
Finalmente, para la síntesis del compuesto precursor **MGD-11**, se hizo reaccionar al compuesto amina **MGD-10** con cloruro de cloroacetilo mediante una reacción de Schotten-Baumann para la generación de la amida, empleando diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) como disolvente y trietilamina (TEA) como base, tal como se muestra en el **Esquema 6**.



Esquema 6. Reacción de Schotten-Baumann para la síntesis de la amida **MGD-11**.

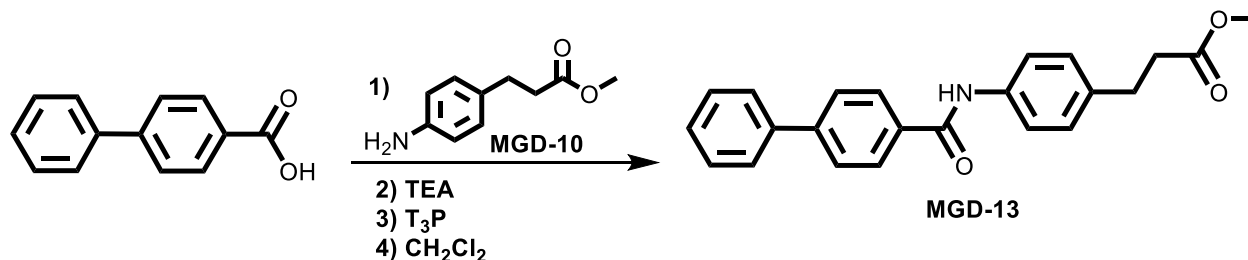
### 7.1.4 Síntesis general de los ésteres metílicos **MGD 12a-e** y **MGD-13**

Para la síntesis de cada uno de los ésteres metílicos **MGD 12a-e**, se hizo reaccionar a los compuestos debidamente sustituidos (2-mercaptobencimidazol (**a**), 2-mercaptobenzoxazol (**b**), 2-mercaptobenzotiazol (**c**), 2-mercapto-5-metoxibencimidazol (**d**), 2-mercapto-5-metilbencimidazol (**e**)) mediante una reacción de Williamson empleando hidróxido de potasio como base y glima como disolvente, para la obtención de los ésteres **MGD 12a-e**, como se muestra **Esquema 7**.



Esquema 7. Síntesis general de los compuestos **MGD 12a-e**.

Para la síntesis del éster metílico **MGD-13**, mediante una reacción de acoplamiento se hizo reaccionar al ácido 4-bifenilcarboxílico con la amida **MGD-10** empleando como agente acoplante al anhídrido propilfosfónico (T<sub>3</sub>P), TEA como base y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> como disolvente (**Esquema 8**).<sup>77</sup>

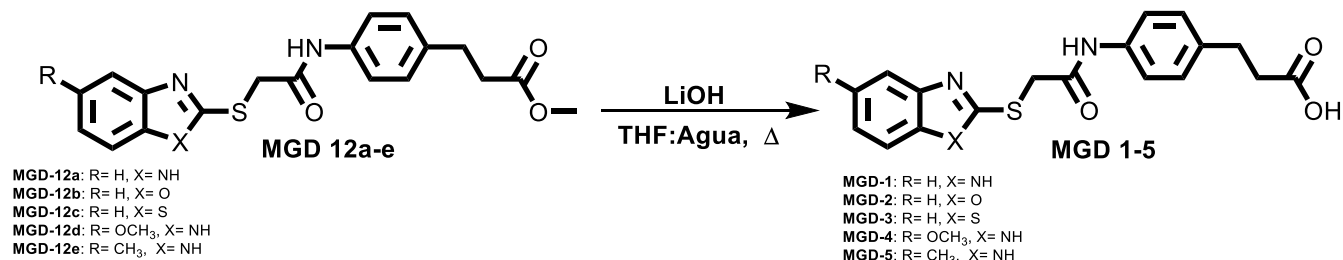


Esquema 8. Síntesis general del éster metílico **MGD-13**.



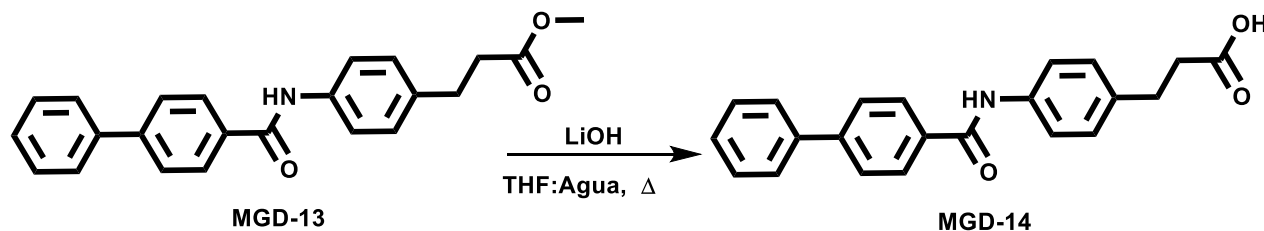
### 7.1.5 Síntesis general de los compuestos finales MGD 1-5 y MGD-14

La síntesis de los compuestos finales **MGD 1-5** y **MGD-14**, se llevó a cabo mediante la realización de una hidrólisis selectiva del éster, empleando hidróxido de litio como base, tetrahidrofurano (THF) y agua como disolvente a temperatura de reflujo (**Esquema 9**).



**Esquema 9.** Síntesis general de los ácidos de los compuestos finales **MGD 1-5**.

Para la síntesis del compuesto final **MGD-14** la reacción de hidrólisis del éster se realizó de manera similar a los compuestos anteriores, tal como se muestra a continuación (**Esquema 10**).



**Esquema 10.** Síntesis general del compuesto final **MGD 14**.



## 7.1.6 Identificación y asignación estructural de los compuestos

El empleo de diversas técnicas de identificación estructural nos permite determinar que las moléculas que se han sintetizado son las moléculas que se diseñaron inicialmente, lo cual es de gran importancia ya que la actividad farmacológica de una sustancia va a depender de su estructura establecida de manera correcta. A continuación, se enlistan las técnicas empleadas durante la realización de este proyecto.

### 7.1.6.1 Espectroscopia de RMN

Las técnicas de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) son un instrumento indispensable para la síntesis química ya que permite identificar moléculas y determinar su estructura. Esta técnica se basa en el carácter magnético de los núcleos con un número impar de protones o neutrones presentes en una molécula ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  entre otros) ya que sus núcleos se comportan como pequeños imanes los cuales, al aplicarles un campo magnético intenso los niveles nucleares se desdoblan en varios niveles de energía que corresponden a diferentes orientaciones de los espines de los núcleos respecto al campo magnético, en un estado de mínima energía (espín  $\alpha$ ), mientras que los núcleos con espín negativo se orientan en dirección opuesta a la del campo magnético, en un estado de mayor energía (espín  $\beta$ ). Cuando una muestra que contiene un compuesto orgánico es irradiada brevemente por un pulso intenso de radiación, los núcleos en el estado de espín  $\alpha$  son promovidos al estado de espín  $\beta$ . Esta se encuentra en la región de las radiofrecuencias del espectro electromagnético. Cuando los núcleos vuelven a su estado inicial emiten señales cuya frecuencia depende de la diferencia de energía entre los estados de espín  $\alpha$  y  $\beta$ . El espectrómetro de RMN detecta estas señales y las registra como una gráfica de frecuencias frente a intensidad, que es el llamado espectro de RMN.<sup>78</sup>

Cabe mencionar que la caracterización de estos compuestos por RMN se realizó en el laboratorio de síntesis asimétrica (L-5A) del centro de investigaciones químicas (CIQ-UAEM) bajo la asesoría del Dr. Jaime Escalante García.

### 7.1.6.2 Espectrometría de masas

La espectrometría de masas (EM) es una técnica de análisis cuantitativo en la cual se requiere la mínima cantidad de muestra para la obtención de un espectro de masas, sin embargo, durante su obtención la muestra se destruye y no se puede recuperar debido a diversos procesos químicos.<sup>79</sup>

Esta técnica se basa en la obtención de iones a partir de moléculas orgánicas que se encuentran en fase gaseosa, los cuales se separan de acuerdo con su masa y carga. Un espectro de masas nos permite identificar la abundancia de los diferentes tipos de iones en función de la relación masa/carga de cada fragmento. Existen dos métodos para producir la ionización de la muestra como son:

- Ionización por impacto electrónico (IE): La muestra es ionizada por medio de un haz de electrones de alta energía (70 eV), el IE sobre las moléculas volátiles puede dar



lugar simplemente a la generación de un ion positivo o bien a una ruptura en fragmentos más pequeños cargados positivamente que se producirá en mayor o menor grado dependiendo de la energía de los electrones que forman el haz esta fragmentación.<sup>79</sup>

- Ionización química (CI): En este método se requiere de la utilización de un agente ionizante que va a transferir su carga a la molécula de la muestra la cual se hace reaccionar con una especie deficitaria en electrones (cargada positivamente), que a su vez ha sido generada a partir de impacto electrónico.<sup>79</sup>

La ionización química se lleva a cabo mediante la introducción de metano ( $\text{CH}_4$ ) a una presión de 1 mm de Hg, el cual permite la generación de un ion cuasimolecular con una unidad de masa más que el ion molecular, siendo esta señal la más intensa en el espectro de masas ya que se disminuye la fragmentación a diferencia de la ionización por impacto electrónico.

Existen otros métodos empleados en la técnica de espectrometría de masas como son: FAB (Bombardeo de átomos rápidos), Electrospray, MALDI (Ionización por desorción láser asistida por matriz) sin embargo los métodos antes mencionados son los más utilizados.

### 7.1.6.3 Cristalografía de rayos X

La Cristalografía o difracción de rayos X es una técnica experimental que proporciona una imagen exacta de las estructuras cristalinas. Los rayos X interactúan con la materia a través de electrones que la constituyen y que a su vez se encuentran en constante movimiento, cuando la radiación electromagnética alcanza a un electrón cargado este se convierte en fuente de radiación electromagnética secundaria dispersa, por lo que al incidir un haz de rayos X sobre un cristal, este choca con los átomos haciendo que los electrones que se encuentran en la misma dirección vibren con una frecuencia idéntica a la de la radiación incidente originando un patrón de difracción, lo cual se observa y se mide tanto la intensidad como la posición de los rayos X difractados mediante el uso de detectores y posteriormente mediante cálculos matemáticos se obtiene una representación de los átomos y moléculas del cristal evaluado. Se considera una técnica de caracterización no destructiva, ya que se puede recuperar el cristal analizado y no requiere ningún proceso específico de preparación de las muestras para ser analizadas.<sup>80</sup>



## 7.2 Parte Farmacológica

### 7.2.1 Evaluación *in vivo* del efecto antidiabético sobre un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente

Para la evaluación de los compuestos se utilizaron ratones ICR (CD1) de 30-40g, todos los procedimientos fueron conducidos de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 la cual establece las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

La inducción de la diabetes no insulino-dependiente en ratón se realizó por la administración vía intraperitoneal (i.p) de una dosis única de nicotinamida (20 mg/Kg) disuelta en agua destilada, 15 minutos posteriores se administró estreptozotocina a una dosis de 120 mg/Kg, disuelta en un buffer de citrato 1 M y pH 4.5.

Transcurridas 72 horas, se monitorearon los niveles de glucemia mediante un glucómetro portátil, el daño sobre las células  $\beta$ -pancreáticas y por ende la generación del modelo experimental se observó con un aumento en la glucemia en ayuno en los ratones  $>150$  mg/dL y menores de 250 mg/dL.

Los ratones se dividieron en 3 grupos (grupo vehículo, control y de prueba), al grupo vehículo se le administró 0.1 mL de tween 80 al 10%, al grupo control se le administró Glibenclamida (5 mg/kg) y al grupo de prueba se les administró los compuestos sintetizados (100 mg/kg), priorizando al compuesto con las mejores propiedades farmacocinéticas, toxicológicas y farmacodinámicas del análisis consenso farmacológico.

La glucemia se midió al inicio del experimento (T0) y a las 1, 3, 5 y 7 horas, posteriores a la administración. Los resultados se representaron como el porcentaje de variación de glucemia.

### 7.2.2 Evaluación *in vitro* del efecto antidiabético sobre adipocitos diferenciados de fibroblastos de la línea celular 3T3-L1

Para determinar la actividad sobre los receptores PPAR $\gamma$  y PPAR $\alpha$  y los transportadores GLUT-4 y FATP-1, de los compuestos con mejor probabilidad de actividad en ensayos *in silico*, se llevó a cabo una evaluación sobre adipocitos de la línea celular 3T3-L1.

Esta línea celular son fibroblastos obtenidos de tejido embrionario de ratón suizo, los cuales son preadipocitos con el potencial de diferenciación a adipocitos, que han sido ampliamente utilizados en la biología experimental por expresar el receptor de insulina y han servido como modelo de estudio de la adipogénesis ya que estos expresan en abundancia el receptor PPAR $\gamma$  y que su activación promueve la translocación de GLUT-4, al igual que el receptor PPAR $\alpha$  que permite la translocación de FATP-1.



### 7.2.2.1 Cultivo celular de adipocitos 3T3-L1

Inicialmente se cultivaron fibroblastos de la línea celular 3T3-L1 en placas de 6 pozos (Corning Incorporated, NY, USA, 9x10<sup>5</sup> células por pozo) en un medio de cultivo Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con glucosa 25 mM, suero bovino fetal al 10% (v/v), piruvato de sodio 1 mM, glutamina 2 mM, aminoácidos no esenciales 0.1 mM, y gentamicina, en una atmósfera humidificada al 5% de CO<sub>2</sub>, a 37°C. Después de dos días de confluencia, las células fueron diferenciadas fenotípicamente a adipocitos con un tratamiento de 48 horas con 3-isobutil-1-metilxantina (0.5 mM), acetato de dexametasona (0.25 µM), e insulina (5 µM), seguido únicamente de insulina por 48 horas. Posteriormente el medio de cultivo sin suplemento de insulina se cambió cada dos días. Las células fueron utilizadas al octavo día de diferenciación. Para determinar el efecto de los compuestos sobre la expresión de PPARs ( $\alpha$  y  $\gamma$ ) y GLUT-4, las células fueron tratadas por 24 h a una concentración de 100 µM. Después de transcurridas 24 horas de tratamiento, se procedió a la extracción de RNA total de los cultivos celulares.

### 7.2.2.2 Aislamiento de RNA total y cuantificación de la expresión de RNAs mensajeros.

El RNA total fue obtenido mediante el método de trizol, el cual se basa en el uso de una solución fenol e isotiocianato de guanidina que facilitan la ruptura de la membrana plasmática, desnaturalización de proteínas y el aislamiento de RNA. Después de homogeneizar las células en el trizol se agregó cloroformo, que permite la formación de una fase superior clara que contiene el RNA, una interfase y una fase inferior roja en la que se encuentran DNA y proteínas. Posteriormente se aisló la fase superior y se precipitó el RNA total con la adición de isopropanol. Se cuantificó la absorbancia de cada muestra de RNA a 260 y 280 nm mediante el NanoDrop 2000 (Thermo Scientific). Para confirmar la integridad del RNA se corrió 1 µg en gel de agarosa al 1%, revelado con bromuro de etidio y visualizado con el image Gel-Logic 212 Pro (Kodac/Caarestream). Se detectaron dos bandas ribosomales (28S y 18S). El RNA total fue sometido a una reacción de transcripción reversa (RT) para obtener DNA complementario (cDNA), catalizada por la enzima transcriptasa reversa (Estuche Improm II de Promega). La RT se realizó utilizando 2 µg de RNA e iniciadores aleatorios (random primers 0.5 µg/µl). Un volumen total de 20 µL de reacción se incubó en el termociclador de Applied Biosystems GeneAmp PCR System 2700, con el siguiente programa de ciclos: inicio 25° por 5 min, seguido por la extensión de 42°C por 55 min y se detuvo la reacción inactivando la enzima a 70°C por 15 min y enfriando a 4°C.

Para cuantificar los cambios de expresión de RNA mensajero, el cDNA se amplificó por PCR tiempo real utilizando la tecnología SYBER Green. Un volumen 1/10 de cada cDNA fue amplificado utilizando la enzima DNA polimerasa y primers personalizados de PPAR- $\gamma$ , PPAR- $\alpha$  y GLUT-4 diseñados a partir de secuencias de genes de *Mus musculus* (**Tabla 5**).

Se utilizó el gen 36B4 como gen constitutivo. Se preparó la mezcla de reacción con los primers 0.5 mM, buffer para PCR, SYBER Green y 3.5 mM de MgCl<sub>2</sub> con un volumen final





de 10  $\mu$ L. Se corrió la reacción en el equipo Rotor Gene 3000 (Corbett Research) con el siguiente ciclo: desnaturalización; 95°C 10 seg, alineamiento; 61°C 7 seg y elongación 71° por 10 seg.

Para comprobar la identidad y pureza de los productos de PCR y la especificidad de los primers se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio. Se calculó el valor de  $\Delta$ Ct en cada muestra para cada gen de interés: genCt de interés – genCt referencia. Los cambios relativos de expresión de cada gen específico ( $\Delta\Delta$ Ct) fueron calculados como  $\Delta$ Ct de cada grupo de prueba menos  $\Delta$ Ct del grupo control, y fueron presentados como  $2^{-\Delta\Delta$ Ct. Los datos fueron expresados como la media  $\pm$  del error estándar de la media (E.E.M), y se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), seguida de una prueba complementaria de Tuckey. La significancia fue del 95%.

**Tabla 5.** Características de genes y primers empleados en los ensayos *in vitro*.

	Gen	Primer forward	Primer reverse	Pb
36B4	Gene Bank NM_007475.2	AAGCGCGTCCTGGCATTGTCT	CCGCAGGGGCAGCAGTGGT	135
PPAR $\alpha$	Gene Bank NM_011144	ATGCCAGTACTGCCGTTTTTC	GGGCCTTGACCTTGTTTCATGT	220
PPAR $\gamma$	Gene Bank NM_011146.1	CCAGAGTCGTCGTGATCTGCG	GCCACCTCTTTGCTCTCTGCTC	217
GLUT-4	Gene Bank NM_009204.2	GATTCTGCTGCCCTTCTGTCT	ATTGGACGCTCTCTCTCTCCAA	168



## 7.3 Parte computacional

El uso de herramientas quimio-informáticas facilita el desarrollo de nuevas moléculas bioactivas, tanto durante la investigación como al momento de su síntesis, disminuyendo el trabajo a realizar y los recursos económicos empleados, así también permiten tener un mayor panorama de cómo podría comportarse una molécula en el organismo en relación con sus propiedades farmacocinéticas, de toxicidad y afinidad por el sitio activo. En este proyecto se emplean diversos programas computacionales, que nos permitieron predecir el comportamiento de las moléculas diseñadas.

### 7.3.1 PASS: Predicción del espectro de actividad biológica para sustancias

El programa PASS, predicción del espectro de actividad biológica para sustancias, por sus siglas en inglés (Prediction of Activity Spectra for Substances), es un software diseñado como una herramienta para evaluar el potencial biológico de manera general de una molécula con respecto a su estructura química. Cuenta con una base de datos muy amplia, con más de 300,000 compuestos registrados, los cuales han sido revisados a fondo en relación con su estructura-actividad biológica, incluyendo mecanismos de acción específicos. El análisis realizado por este software se presenta en valores de probabilidad de inactividad ( $P_i$ ) y probabilidad de actividad ( $P_a$ ), en donde:

Los valores presentados para  $P_a$ , refleja la similitud de la molécula con respecto de las moléculas presentes en la base de datos, siendo indicadores de buena probabilidad de actividad cuando son  $> 0.7$ , los valores que se encuentran entre 0.5-0.7, se consideran con mediana probabilidad de actividad y los valores  $< 0.5$  señalan una baja probabilidad de actividad. A continuación, se muestra la interface de PASS online, **Figura 33**.<sup>82</sup>



**Figura 33.** Programa computacional PASS online, para la predicción de la actividad farmacológica (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline/>).

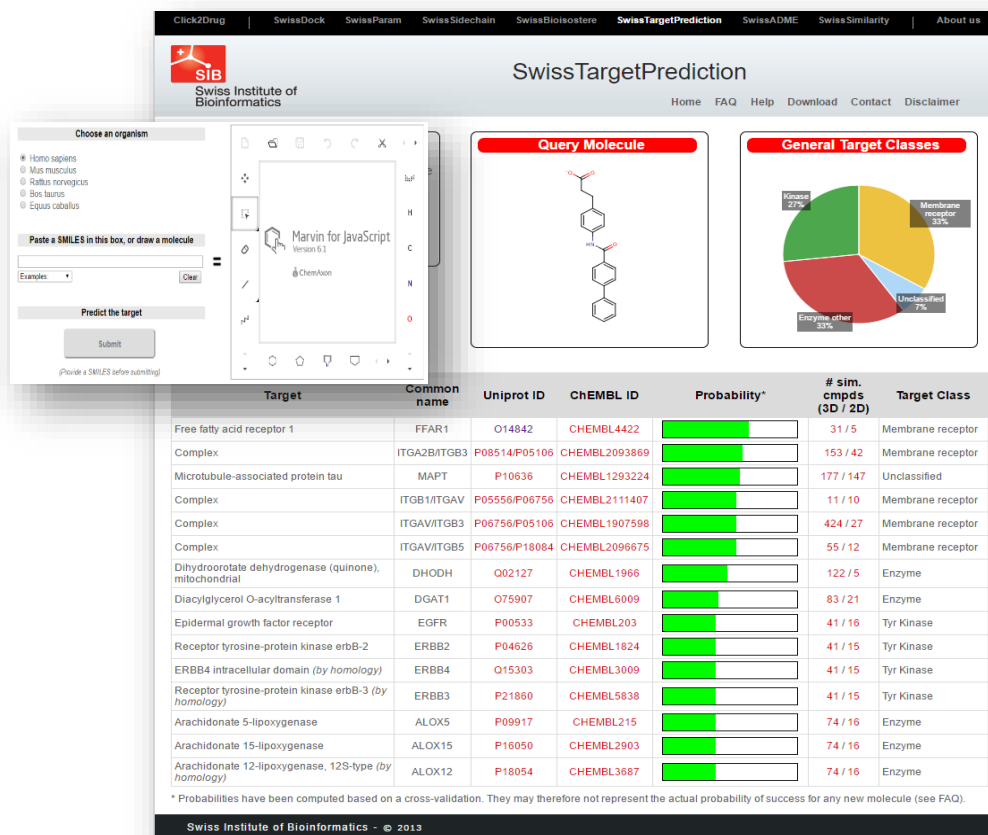


### 7.3.2 SwissTarget Prediction: Predicción de la actividad biológica

La plataforma de Swisstarget Predicción permite calcular la probabilidad de actividad de una molécula pequeña, mediante la combinación de medidas de similitud 2D y 3D con ligandos conocidos, compara la molécula de interés con una biblioteca de 280 000 compuestos activos en más de 2000 objetivos de 5 organismos diferentes (humano, ratón, rata, vaca y caballo), permite a los usuarios mapear predicciones entre y dentro de los organismos basado en la homología. Para su análisis únicamente debe ingresarse el código SMILES de la molécula de interés o dibujar su estructura 2D utilizando un constructor molecular.<sup>69</sup>

En los resultados arrojados se obtiene una lista de posibles blancos terapéuticos sobre los cuales la molécula de interés puede interactuar de acuerdo con la similitud molecular de ligandos de la base de datos en 3D y 2D, adicionalmente SwisstargetPrediction proporciona vínculos que presentan información sobre estos ligandos o sus homólogos. Los blancos terapéuticos arrojados se clasifican de acuerdo con sus porcentajes los cuales se calculan a partir de las barras verdes que indican la probabilidad estimada de que la molécula de interés pueda actuar a nivel de una proteína de acuerdo con su puntuación.

Finalmente permite visualizar en una gráfica circular la distribución que presenta la molécula de interés, es decir clasifica en porcentaje hacia qué tipo de diana terapéutica está enfocada (factores de transcripción, proteínas, enzimas o sin clasificación, entre otras), tal como se muestra en la **Figura 34**.<sup>83</sup>



**Figura 34.** Programa en línea SwissTargetPrediction, para la predicción de la actividad farmacológica (<http://www.swisstargetprediction.ch/>).



### 7.3.3 OSIRIS: Predicción de las propiedades cuasi-fármaco

El programa Osiris se encuentra actualmente en línea, en el portal de química orgánica (organic chemistry portal, <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>). Este explorador permite representar estructuras químicas y calcular en base a ello diversas propiedades farmacocinéticas relevantes como lipofilicidad (cLogP), mutagenicidad, efectos a nivel reproductivo, tumorigénicos e irritantes. Los resultados obtenidos, son representados por color: verde (valores aceptables) y rojo (efectos no deseados).

Así también permite la predicción de la posible semejanza de una estructura química con respecto de otra de algún fármaco ya existente (druglikeness). Se puede determinar una calificación (Drug score) en relación con todos los parámetros calculados, la cual determina si dicha estructura puede considerarse como posible candidato a fármaco (**Figura 35**).<sup>84</sup>

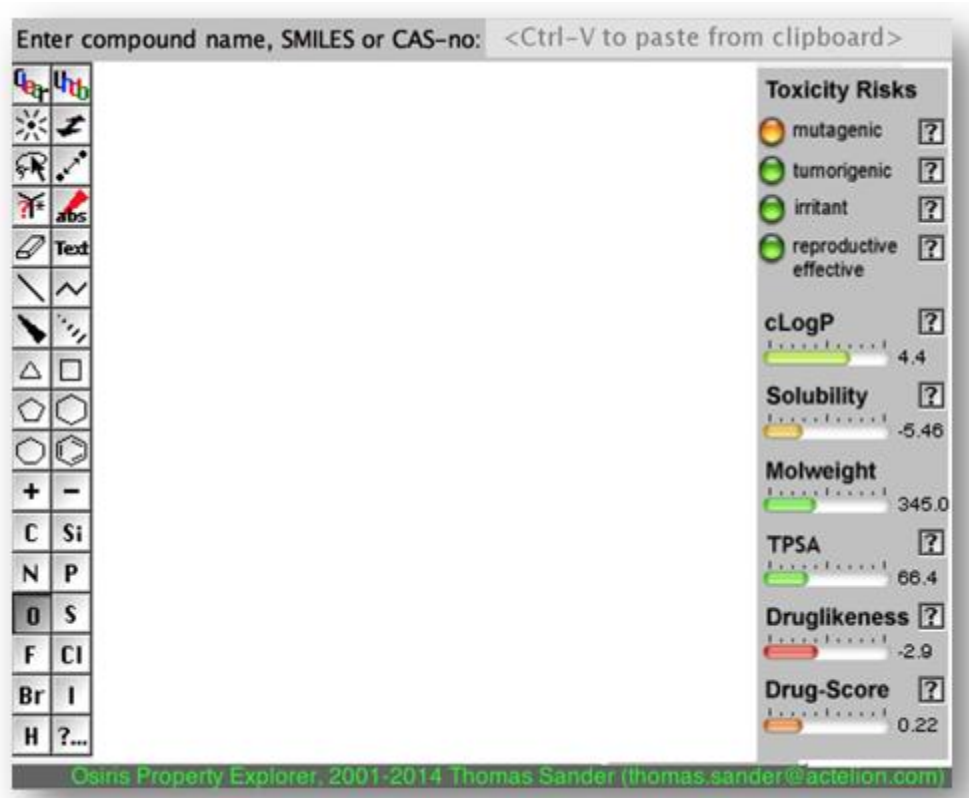


Figura 35. Programa en línea OSIRIS, para la predicción de las propiedades cuasi-fármaco (<http://www.organic-chemistry.org/prog/>).



### 7.3.4 MetaPrint2D: Predicción de los principales sitios de metabolismo

Es una herramienta que predice el metabolismo de compuestos, realizando un análisis de su estructura, mediante la extracción de datos y análisis estadístico de las transformaciones metabólicas conocidas reportadas en la literatura científica.

Este software se encuentra en línea actualmente es gratuito y es considerado una herramienta muy completa en comparación con otros predictores de metabolismo, ya que presenta dos versiones disponibles actualmente, MetaPrint2D y MetaPrint2D-React.

La versión, MetaPrint2D, permite predecir los sitios de metabolismo de fase I, reacciones en las que hay una adición de oxígeno, como son, hidroxilación, oxidación y epoxidación. Mientras que MetaPrint2D-React puede realizar predicciones sobre ambas fases del metabolismo (Fase I y Fase II), siendo capaz de predecir los tipos de transformación que pueden tener lugar, así como también los sitios más probables de metabolismo, y el metabolito que probablemente se forme (**Figura 36**).<sup>85</sup>

**Figura 36.** Servidor en línea para la predicción de los principales sitios de metabolismo, MetaPrint 2D (<http://www-metaprint2d.ch.cam.ac.uk>).



### 7.3.5 AdmetSAR: Predicción de las propiedades de absorción, distribución, metabolismo, eliminación y toxicidad

Las propiedades ADMET juegan un papel muy importante en el descubrimiento de nuevos fármacos. Por lo cual admetSAR, es una herramienta útil para la predicción de estas propiedades de posibles candidatos a fármacos.

En su base de datos existen más de 200, 000 datos de información obtenidos de aproximadamente 96,000 compuestos, los cuales han sido revisados de la literatura y dicha información ha sido guardada, incluyendo medicamentos aprobados por la FDA, compuestos experimentales y productos químicos industriales.

El servidor admetSAR se encuentra actualmente en línea (<http://www.admetexp.org/>) y proporciona una interfaz fácil de utilizar, además de que toma en cuenta criterios de relación estructura-actividad cuantitativa (QSAR), proporcionando una ventaja para la Química Farmacéutica y el análisis previo a la síntesis química de moléculas virtuales (**Figura 37**).<sup>86</sup>

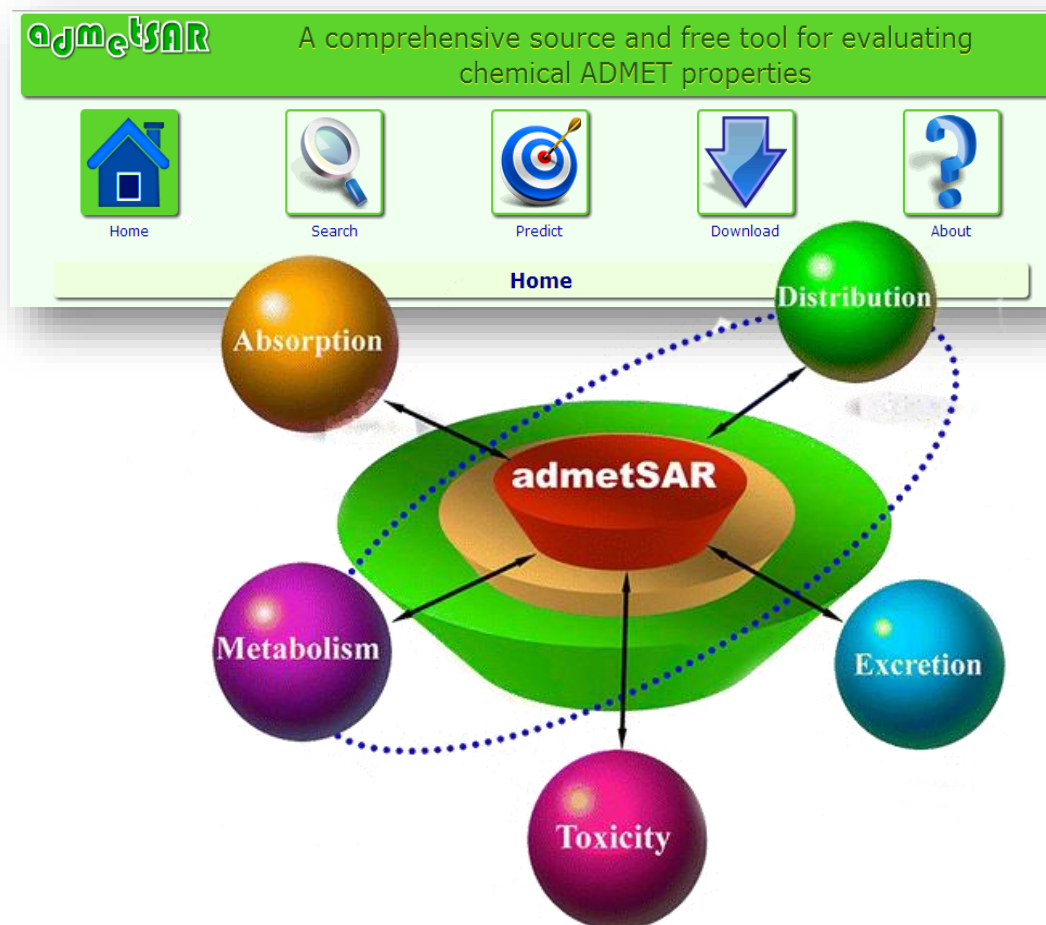


Figura 37. Programa computacional admetSAR (<http://lmm.d.ecust.edu.cn:8000/predict/>).



### 7.3.6 ACD/ToxSuite: Predicción de la toxicidad aguda

El programa ACD/ToxSuite, permite calcular algunos parámetros relacionados con ensayos de toxicidad aguda de una estructura molecular virtual. Dicho programa presenta una serie de módulos, los cuales se consideran importantes y se toman de referencia para predecir qué tan tóxico puede ser un compuesto, como son: bloqueo de los canales hERG, asociados con cardiotoxicidad; inhibición de las isoformas importantes del citocromo P450 (CYP450), principalmente la CYP3A4, ya que está relacionado con el metabolismo de una gran variedad de fármacos; genotoxicidad; toxicidad aguda, irritabilidad entre otros. Las predicciones se hacen en relación con la estructura química-toxicidad, así como también, en modelos QSAR, en combinación con conocimientos de química orgánica y toxicología (Figura 38).<sup>87</sup>



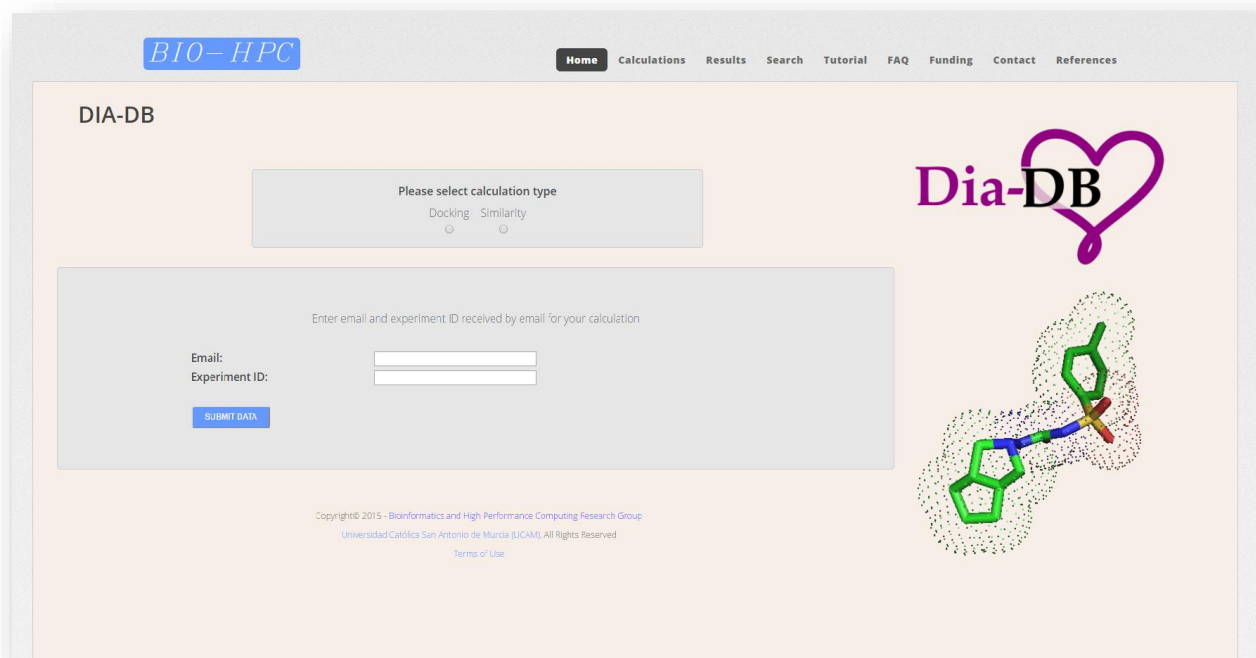
Figura 38. Portal del programa computacional ACD/ToxSuite.



### 7.3.7 DIA-DB: Docking Inverso

El servidor DIA-DB fue desarrollado por la universidad católica de San Antonio de Murcia (UCAM) en España, el cual se encuentra disponible en línea cuenta con un módulo de acoplamiento molecular inverso que presenta 18 dianas terapéuticas relacionadas con DM, esto debido a que este padecimiento es una de las principales causas de muerte a nivel mundial lo que llevó a diseñar un método completamente nuevo para el desarrollo rápido de nuevos compuestos antidiabéticos.

Este servidor web permite la predicción del posible modo de unión de distintas moléculas sobre cualquiera de las dianas terapéuticas asociadas con DM, dicho acoplamiento utiliza una comparación por similitud con una base de datos de fármacos antidiabéticos y compuestos experimentales, también realiza cribado virtual inverso de las moléculas de interés contra un conjunto de dianas proteicas identificadas como elementos clave en DM, empleando el programa AutoDock Vina (**Figura 39**).<sup>88</sup>



**Figura 39.** Portal del servidor en línea DIA-DB empleado para la búsqueda de posibles ligandos antidiabéticos (<http://bio-hpc.ucam.edu/dia-db/index.php>).





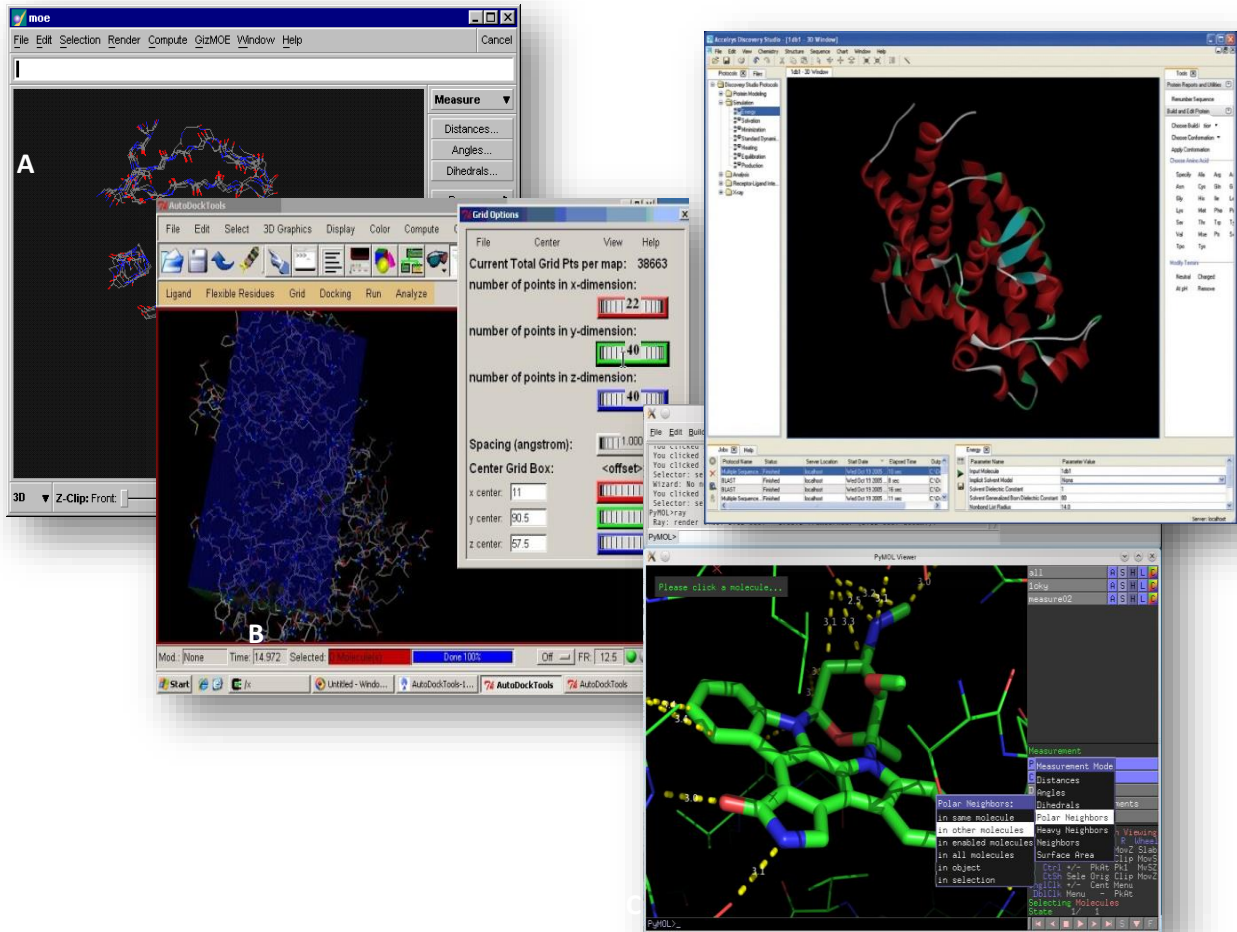
### 7.3.8 Acoplamiento molecular automatizado (AutoDock Tools, MOE, PyMol, Discovery Studio)

El estudio de acoplamiento molecular permite determinar el modo de unión de un ligando con su receptor, el cual está determinado por interacciones de tipo van der Waals, electrostáticas, hidrofóbicas y uniones por puentes de hidrógeno. Se considera una herramienta novedosa, que se lleva a cabo únicamente cuando se tiene la estructura del ligando y la estructura del receptor, determinada comúnmente por cristalografía de rayos X.

Juega un papel muy importante en el diseño racional de fármacos, ya que la unión de un ligando con su receptor va a depender de las interacciones entre ambos. En Química Farmacéutica, el diseño de fármacos puede llevarse a cabo de diversas maneras, una de ellas es cuando se emplea el farmacóforo de un compuesto biológicamente activo, el cual presenta ciertos grupos químicos los cuales se sabe que son esenciales para el reconocimiento por parte del receptor, del cual se parte para llevar a cabo el diseño de nuevos compuestos esperando que se conserve la afinidad con el receptor, ya que se respetan sus características químicas.<sup>89-92</sup> La metodología para llevar a cabo el acoplamiento molecular o Docking requiere del uso de una serie programas computacionales especializados como son AutoDock, MOE, PyMol y Discovery Studio, tal como se muestra a continuación en la figura siguiente (**Figura 40**).

A continuación, se describen brevemente cada uno de estos programas:

- A. MOE (Entorno Operativo Molecular, por sus siglas en inglés Molecular Operating Environment):** Es un software que ha sido implementado por diversas empresas farmacéuticas como su plataforma de modelado permitiendo acelerar los esfuerzos de desarrollo de nuevos compuestos terapéuticos. Permite la manipulación del complejo ligando-proteína, permite separar la proteína de su ligando y hacer uso de ellos, por separado, pudiendo entonces acoplar un ligando nuevo con esa proteína.<sup>89</sup>
- B. AutoDock:** Software que permite el acoplamiento molecular automatizado, gracias a las herramientas que proporciona, se puede crear y analizar los distintos modos de unión de un ligando con la proteína. La simulación del procedimiento de acoplamiento como tal, es un proceso muy complicado, la proteína y el ligando están separados por una distancia física el ligando encuentra su posición en el sitio activo de la proteína luego de un cierto número de movimientos en su espacio conformacional. Cada uno de estos movimientos induce un costo energético al sistema, por lo tanto después de cada movimiento se calcula la energía total del sistema.<sup>90</sup>
- C. PyMOL:** Es software de visualización de las interacciones polares en tercera dimensión, presentadas por el complejo ligando-receptor.<sup>91</sup>
- D. Discovery Studio:** Software que permite visualización que muestra las interacciones de tipo electrostáticas, hidrofóbicas y de van der Waals en segunda y tercera dimensión presentadas por el complejo ligando-receptor.<sup>92</sup>



**Figura 40.** Programas computacionales empleados para llevar a cabo el acoplamiento molecular (Docking).



## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

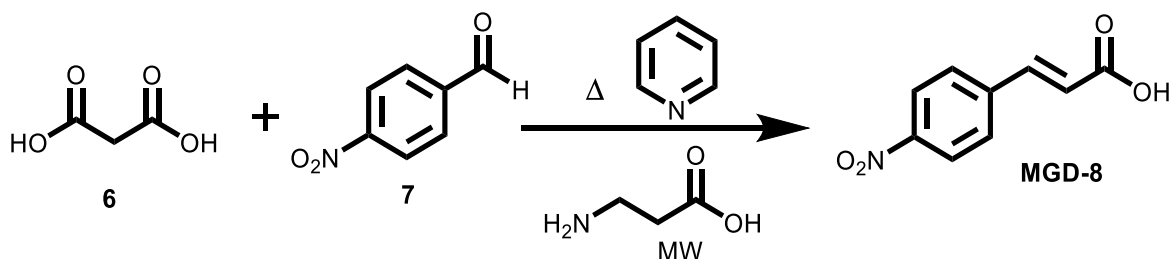
### 8.1 Parte Química

Se realizó la síntesis de 16 compuestos, los cuales se encuentran divididos en compuestos precursores (**MGD 8-12a-e** y **MGD-13**) y compuestos finales (**MGD 1-5** y **MGD-14**).

#### 8.1.1 Síntesis del compuesto final: Ácido 3-(4-(2-((1*H*-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propiónico (**MGD-1**)

##### 8.1.1.1 Síntesis del precursor: Ácido (*E*)-3-(4-nitrofenil)acrílico (**MGD-8**)

Para la obtención del compuesto precursor **MGD-8** se hizo reaccionar a la materia prima **6** con el correspondiente aldehído **7** mediante una condensación de Knoevenagel-Doebner empleando piridina como disolvente y  $\beta$ -alanina como aditivo, asistida por microondas, bajo las siguientes condiciones: Sistema abierto, temperatura de 100°C, potencia de 150w y 1 ciclo de 10min. Tal como se muestra en el **Esquema 11**.



**Esquema 11.** Síntesis del compuesto precursor **MGD-8**.

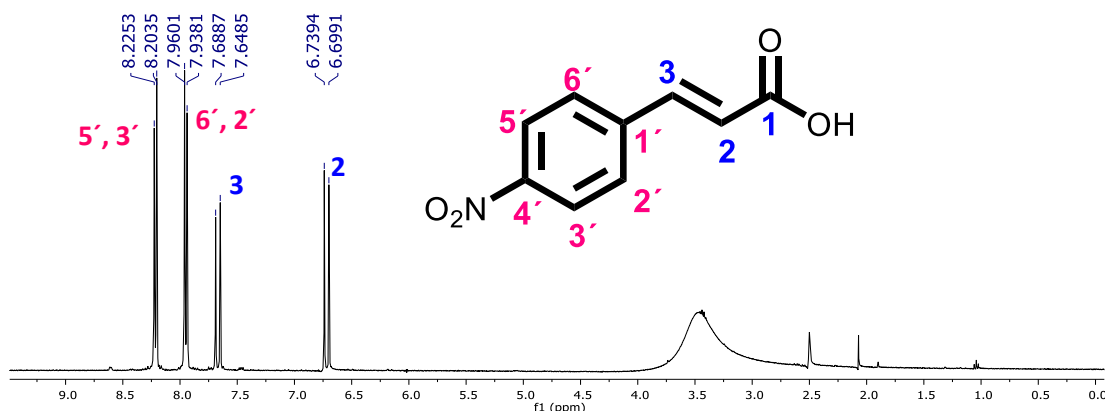
Con el objetivo de reducir el número de reactivos empleados en esta reacción, se decidió repetir el experimento disminuyendo la cantidad de  $\beta$ -alanina empleada inicialmente como aditivo, ya que se seguía obteniendo el compuesto de interés lo cual se determinó por RMN de  $^1\text{H}$  aun cuando esta se reducía, por lo tanto se decidió quitarla de la reacción, como se muestra en la **Tabla 6**.

**Tabla 6.** Reactivos y condiciones empleadas para la síntesis de **MGD-8**.

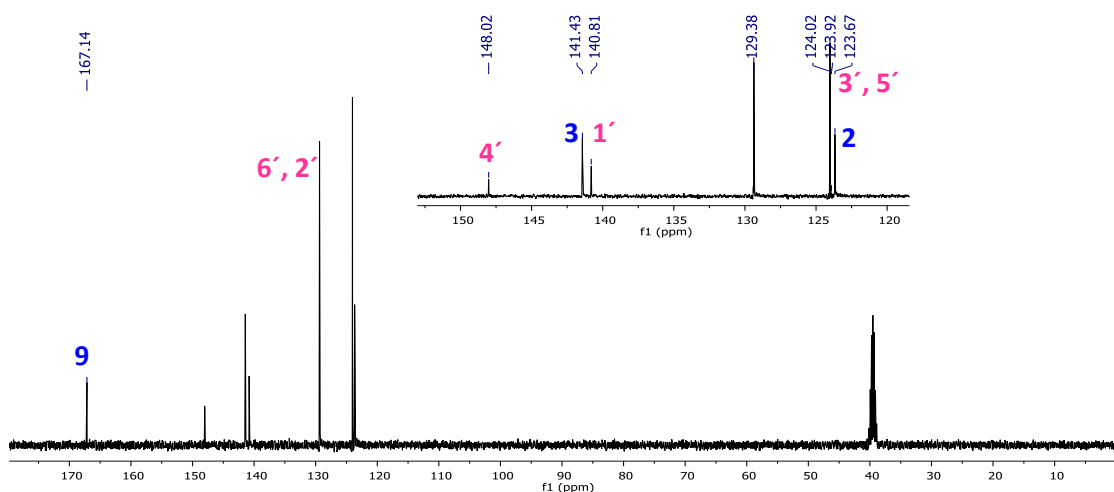
	Condiciones del equipo de microondas			Reactivos				Resultados
	Sistema	Potencia	Temperatura	Piridina	$\beta$ -alanina	nitrobenzaldehido	Ácido malónico	Rendimiento
<b>Experimento 1</b>	Abierto	150 w	100°C	20mL	1.34g	26.4 mmol	79.4 mmol	89%
<b>Experimento 2</b>	✓	✓	✓	5mL	0.067g (10%)	6.6 mmol	19.8 mmol	87%
<b>Experimento 3</b>	✓	✓	✓	5mL	-----	6.6 mmol	19.8 mmol	85%



Partiendo del experimento 3, se llevó a cabo la reacción recuperando un sólido color amarillo claro con un rendimiento de 89.9% y pf (punto de fusión) de 292.8-292.9°C. A continuación, se muestra su espectro de  $^1\text{H}$  y de  $^{13}\text{C}$  (**Figura 41 y 42**).



**Figura 41.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) del compuesto **MGD-8**.



**Figura 42.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto **MGD-8**.

En la **Figura 41** se observa una señal doble de dobles en 8.22 ppm correspondiente a los hidrógenos 5' y 3' ( $J_o=8.8$  Hz) y a 7.96 ppm correspondiente a los hidrógenos del anillo aromático 6' y 2' ( $J_o=8.8$  Hz), dos señales dobles a 7.68 y 6.73 ppm correspondientes a los metinos de la posición 3 ( $J_{trans}=16$  Hz) y 2 ( $J_{trans}=16.4$  Hz).

En la **Figura 42** correspondiente al espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  aparece aproximadamente a 167.1 ppm el carbono del carbonilo del ácido, dos señales a 129.3 y 124 ppm correspondientes a los carbonos del anillo aromático, a 148.2 ppm y 140.8 ppm se encuentran los metinos de la posición 4' y 1'. Finalmente se observan los metilenos 3 y 2 a 141.4 y 123.6 ppm respectivamente.

En el espectro de masas obtenido por Ionización electrónica (IE) (**Figura 43**) del compuesto **MGD-8** se observa la presencia del ion molecular en una  $m/z$  de 193 con una abundancia relativa del 1% y un fragmento en una  $m/z$  149 y una abundancia relativa del 100%.

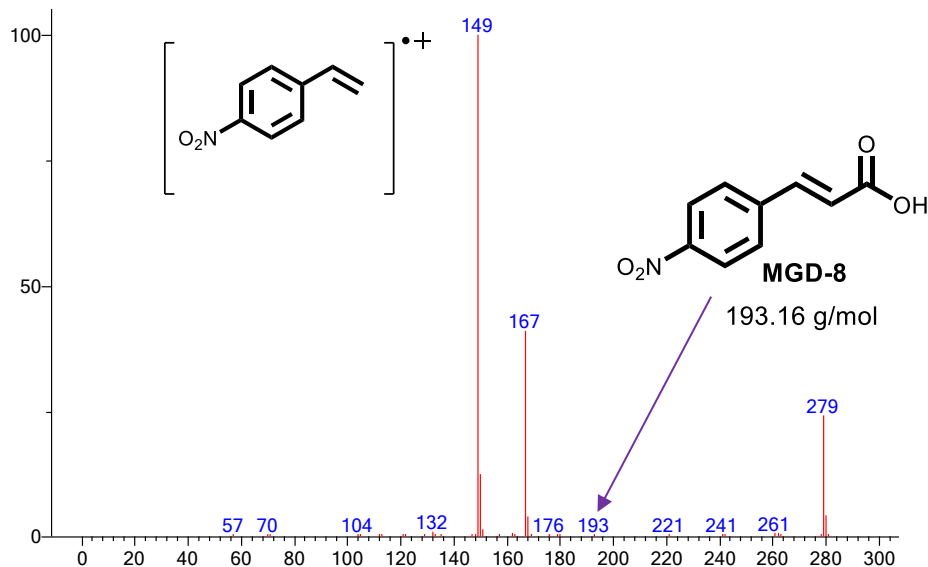


Figura 43. Espectro de EM-IE del compuesto MGD-8.

Se llevó a cabo la purificación del compuesto empleando inicialmente como disolvente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{HEX}$  recristalizando por difusión sin embargo este método no resultó favorable para su cristalización. Posteriormente se decidió llevar a cabo una recristalización empleando 2 mL de DMSO, los cristales obtenidos fueron difractados por rayos X, como se observa en la **Figura 44** se obtuvo la molécula del compuesto **MGD-8** en forma de co-solvato con una molécula de DMSO, lo cual corrobora la obtención de manera inequívoca del compuesto precursor.

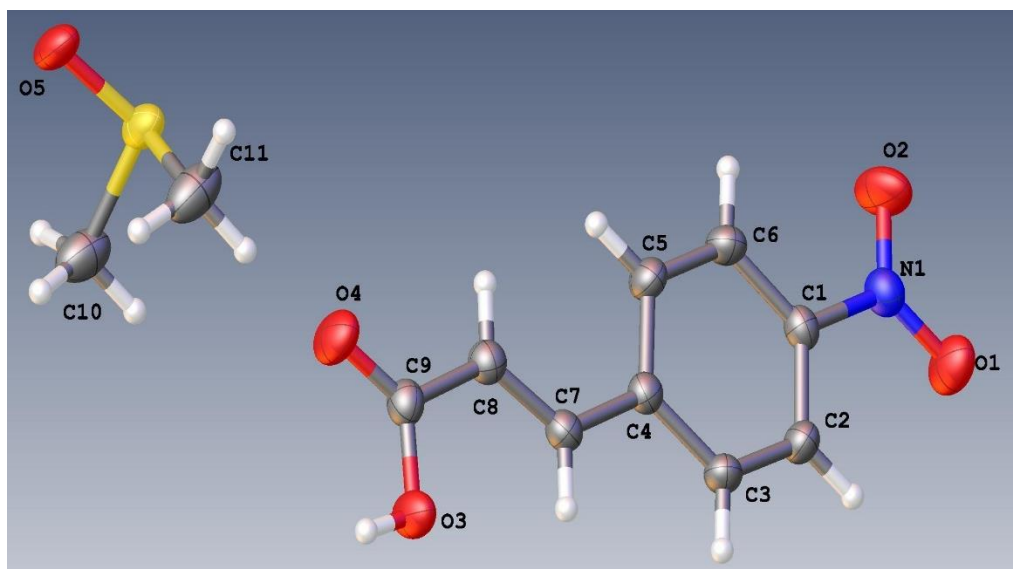
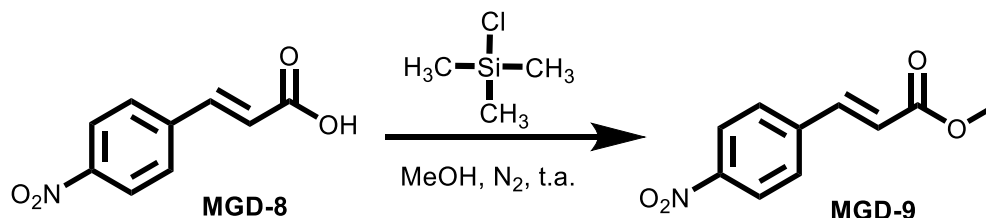


Figura 44. Estructura cristalográfica del compuesto precursor MGD-8.



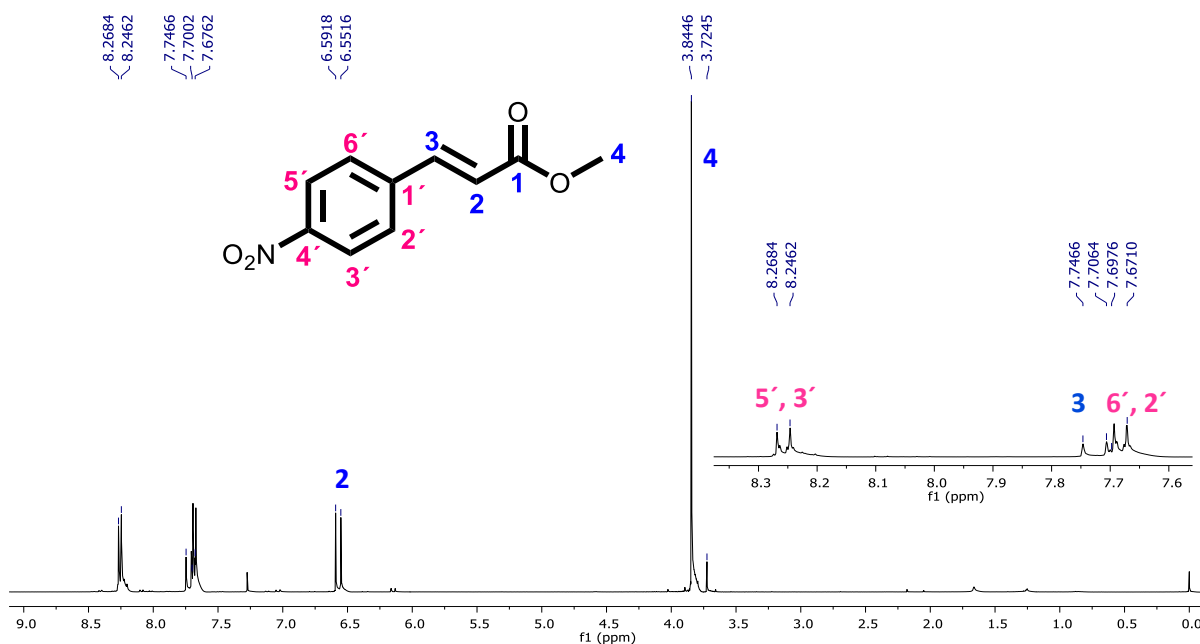
### 8.1.1.2 Síntesis del precursor: (*E*)-3-(4-nitrofenil)acrilato de metilo

Posteriormente se realizó la protección del ácido del compuesto **MGD-8** previamente sintetizado, empleando cloruro de trimetilsilano y metanol absoluto como disolvente, acondicionada con atmósfera de nitrógeno en baño de hielo durante 2 h. Posteriormente a temperatura ambiente durante 6 h para la obtención del éster metílico **MGD-9**, como se muestra en el **Esquema 12**.



**Esquema 12.** Síntesis del compuesto precursor **MGD-9**.

Una vez purificado mediante cromatografía en columna se recuperó un sólido amarillo claro, con un rendimiento de 98% y un pf de 151.7-152.1 °C. A continuación, se muestran sus espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (**Figura 45, 46**).



**Figura 45.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del compuesto **MGD-9**.

En la **Figura 45** correspondiente al espectro de RMN de  $^1\text{H}$  se observan las señales características del compuesto  $\alpha, \beta$  insaturado a 6.59 ppm ( $J_{\text{trans}}=16$  Hz) y 7.74 ppm ( $J_{\text{trans}}=16.0$  Hz), se observan los hidrógenos aromáticos nuevamente como un doble de



dobles a 8.26 ppm (H-5', H-3',  $J_o=8.8$  Hz) y 7.70 ppm (H-6', H-2',  $J_o=8.4$  Hz) y finalmente se observa una señal simple a 3.84 ppm correspondiente al metoxilo de la posición 4.

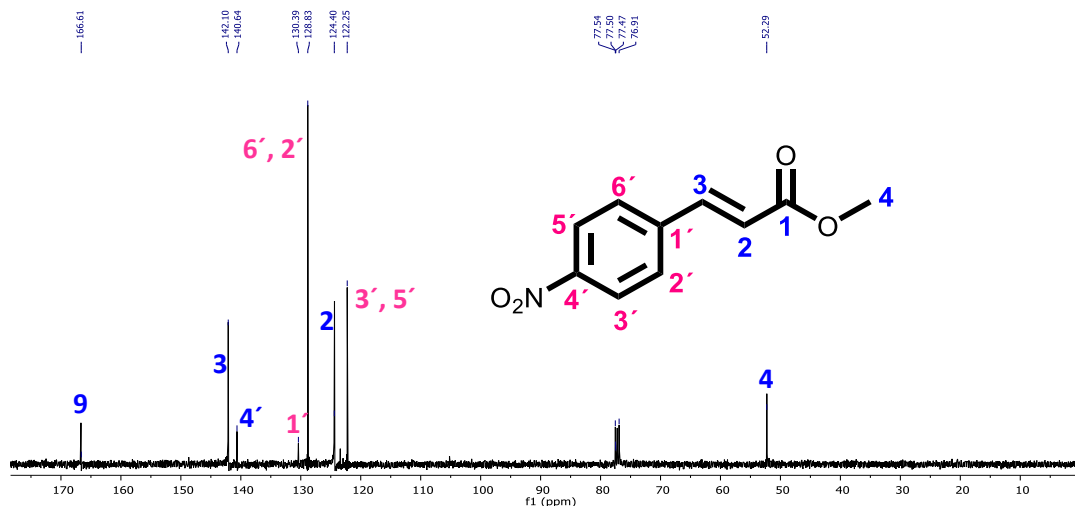


Figura 46. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) del compuesto **MGD-9**.

En la **Figura 46** correspondiente al espectro RMN de  $^{13}\text{C}$  aparecen señales características de la molécula correspondientes a cada uno de los carbonos observados en la **Figura 42**, adicionalmente se observa una señal cercana a 52.2 ppm correspondiente al metoxilo de la posición 4.

En el espectro de masas (IE) **Figura 47** del compuesto **MGD-9**, se aprecia el ion molecular a una  $m/z$  de 207 con una abundancia relativa del 40%, adicionalmente se observa un fragmento correspondiente a la pérdida del metoxilo a una  $m/z$  de 176 con una abundancia relativa del 100%.

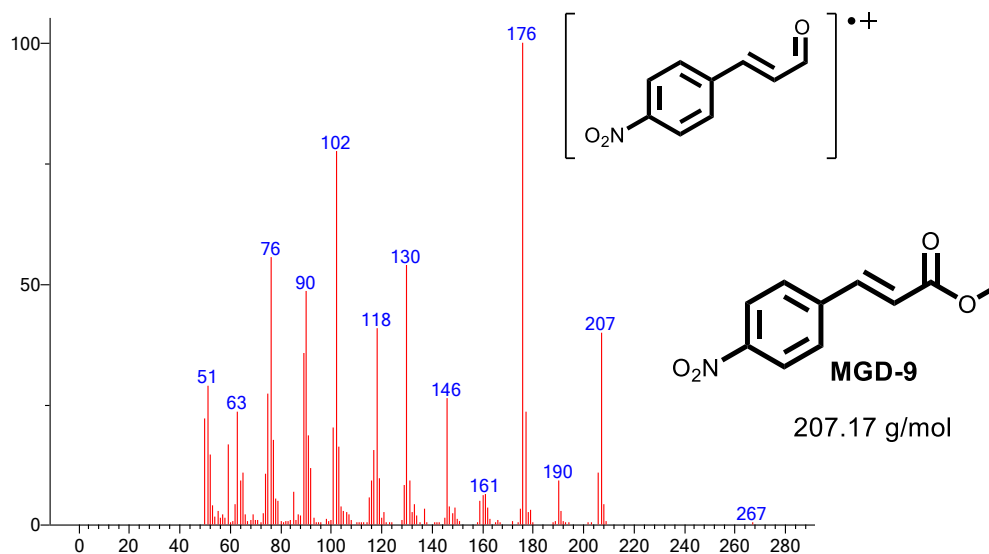
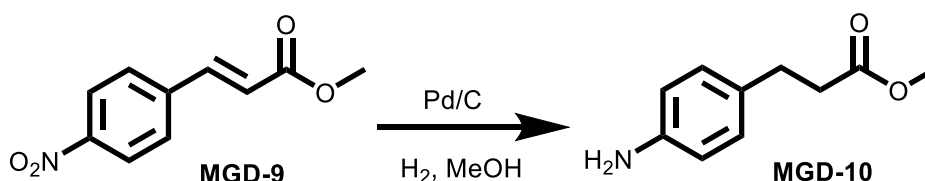


Figura 47. Espectro de EM-IE del compuesto **MGD-9**.



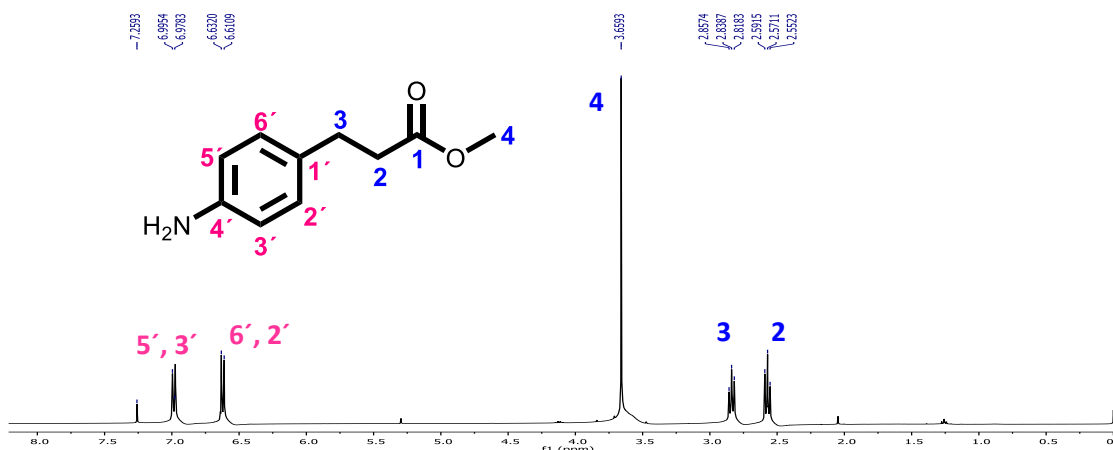
### 8.1.1.3 Síntesis del precursor: 3-(4-aminofenil)propanoato de metilo (MGD-10)

Para la obtención del compuesto **MGD-10** se realizó una hidrogenación catalítica del compuesto **MGD-9** el cual se disolvió en metanol, posteriormente se añadió 10% del catalizador Pd/C y se colocó en agitación a una presión de 60 psi de hidrógeno durante 3 h (**Esquema 13**) en la cual se llevó a cabo la reducción en un solo paso tanto del grupo nitro como del doble enlace.



**Esquema 13.** Reducción catalítica del compuesto **MGD-9** para la obtención de la amina **MGD-10**.

Una vez finalizada la reacción, el compuesto se purificó por columna, se recuperó un sólido color melón, con un rendimiento del 97.6% y un pf de 56.5-56.6 °C, del cual se muestra su espectro de  $^1\text{H}$  y de  $^{13}\text{C}$  en la **Figura 48 y 49**.



**Figura 48.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del compuesto **MGD-10**.

En la **Figura 48** se observan señales características de los hidrogenos aromáticos a 6.63 ppm ( $J_o=8.5$  Hz), los hidrógenos 6', 2', a 7 ppm ( $J_o=8.4$  Hz), los hidrógenos 5' y 3'; aparecen a 2.83 y 2.57 ppm y dos señales triples correspondientes al acoplamiento de los metilenos de la posición 3 y 2 respectivamente. Finalmente una señal simple a 3.65 ppm correspondiente al metoxilo de la posición 4.

En la **Figura 49**, se observan nuevamente las señales correspondientes a los carbonos aromáticos antes mencionadas, a 51.7 ppm se encuentra el carbono del metoxilo de la posición 4. Adicionalmente aparecen a radiofrecuencias altas en 36.3 ppm y 30.3 ppm los carbonos alifáticos 3 y 2, lo cual indica la reducción del doble enlace presente en la molécula **MGD-9**.



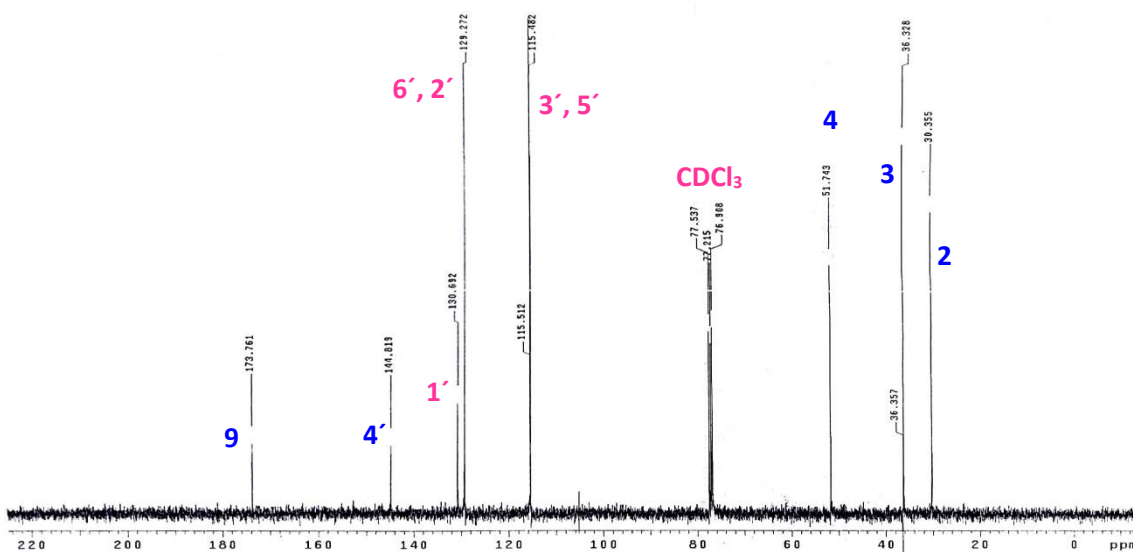


Figura 49. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) del compuesto **MGD-10**.

En la **Figura 50** se muestra el espectro de EM-IE del compuesto precursor **MGD-10**, se aprecia un pico a una  $m/z$  correspondiente al ion molecular con una abundancia relativa de 20% y ion  $M+1$  en una  $m/z$  de 106 con una abundancia relativa del 100%.

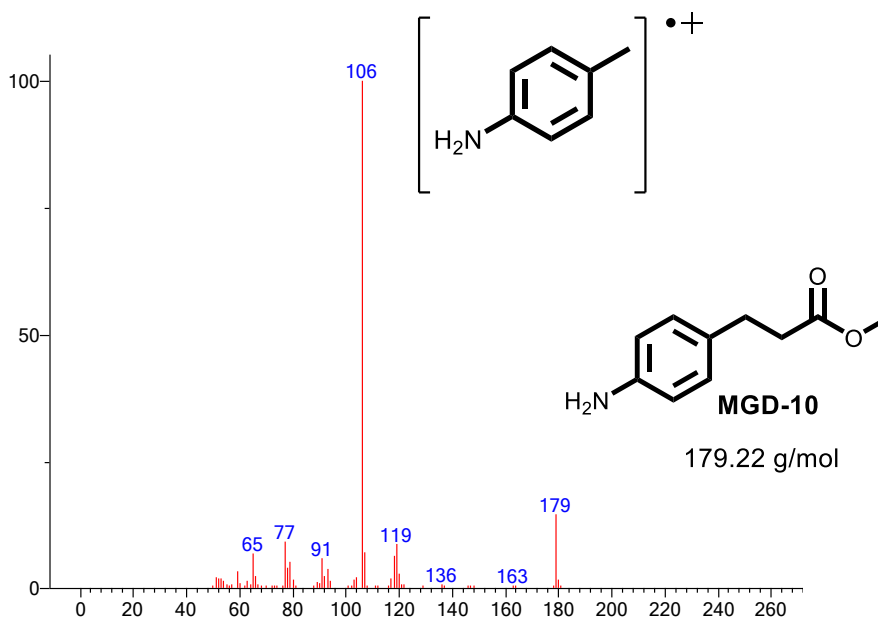
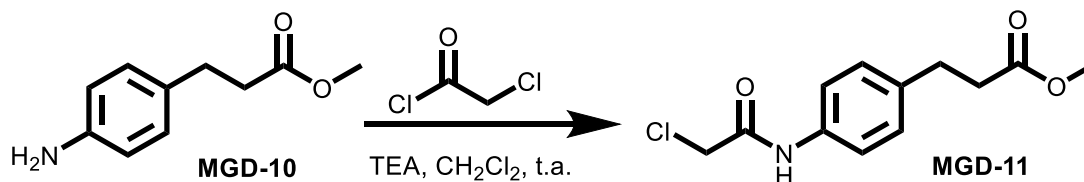


Figura 50. Espectro de EM-IE del compuesto **MGD-10**.



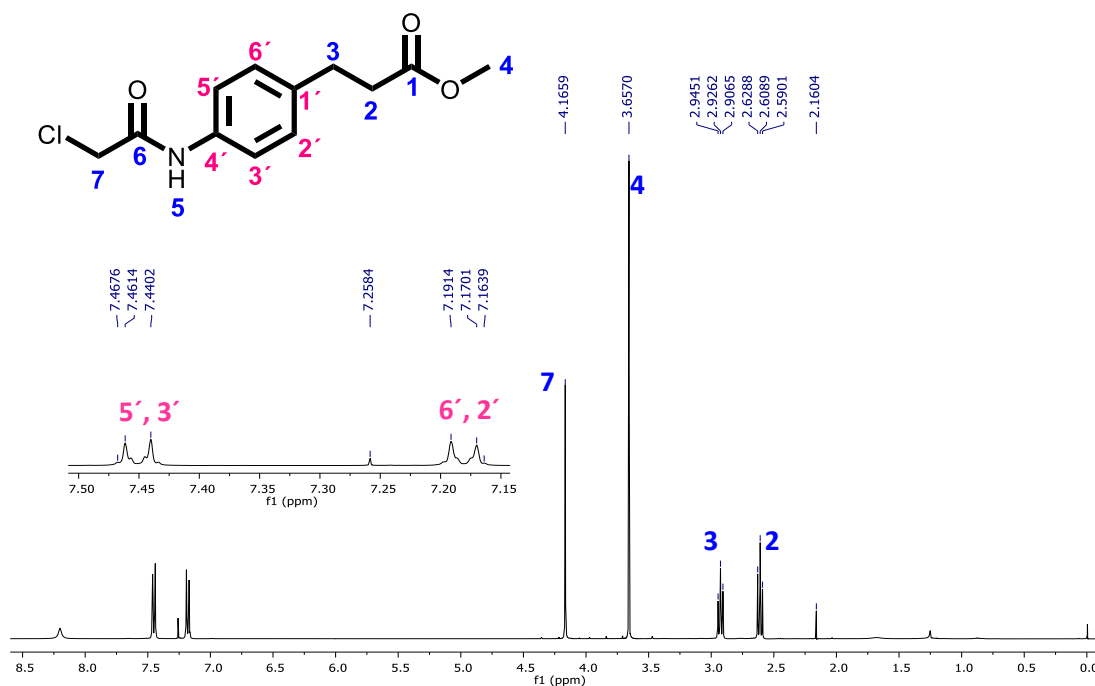
### 8.1.1.4 Síntesis del precursor: 3-(2-cloroacetamido)fenil)propanoato de metilo (MGD-11)

Para la obtención del compuesto **MGD-11** mediante una reacción de Schotten-Baumann se hizo reaccionar al compuesto **MGD-10** previamente disuelto en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , posteriormente se adicionó TEA como base, dejando reaccionar durante 30 min, pasado el tiempo se añadió el cloruro de cloroacetilo gota a gota, dejando en agitación a temperatura ambiente durante 48 h hasta obtener al compuesto precursor común de los compuestos finales **MGD-13**, tal como se muestra en el **Esquema 14**. Se obtuvo un sólido amarillo claro con un rendimiento del 98% y un pf de 110.9-111.2°C.



**Esquema 14.** Formación de la  $\alpha$ -cloroacetamida **MGD-11**.

En la **Figura 51** se pudo observar dos señales simples a 3.65 y 4.16 ppm correspondiente a los hidrógenos de la posición 4 y 7 esta última indica la presencia del fragmento de la amida. Dos señales triples observadas en los espectros anteriores correspondientes a los metilenos de la posición 2 (2.60 ppm) y 3 (2.92 ppm). Finalmente se observa un doble de dobles que acopla para 4 hidrógenos aromáticos H-6'e H-2' ( $J_o=11$  Hz) y H-5'y H-3' ( $J_o=10.9$  Hz).



**Figura 51.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del compuesto **MGD-11**.

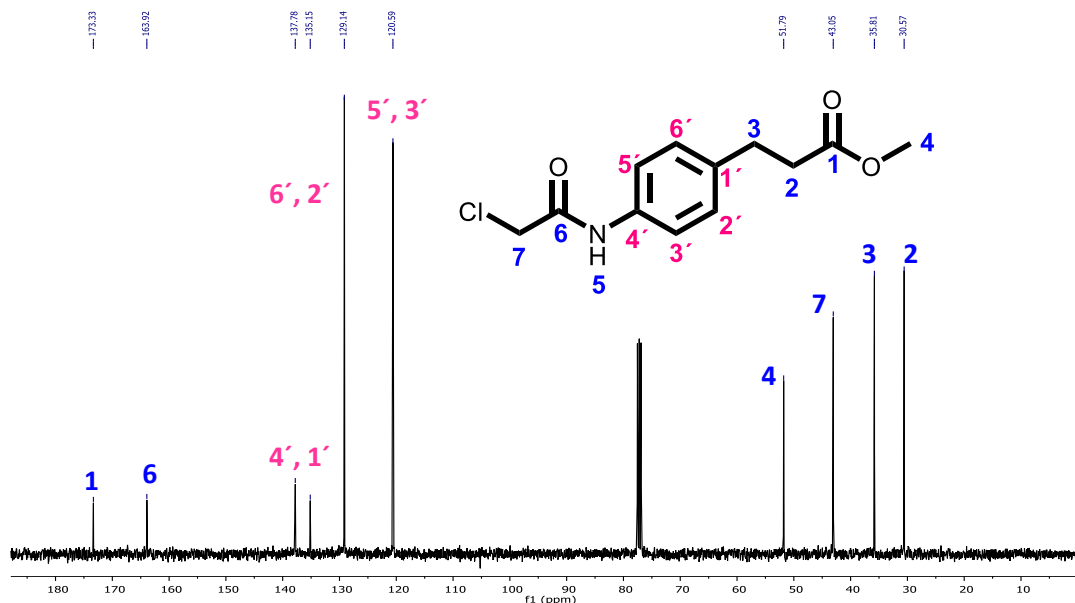


Figura 52. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) del compuesto **MGD-11**.

En el espectro de  $^{13}\text{C}$  (**Figura 52**) aparecen a radiofrecuencias bajas dos señales a 173.3 y 164 ppm correspondientes al carbonilo de la amida y del éster respectivamente, indicando la presencia del compuesto **MGD-11**. A 129.1 y 120.5 ppm aparecen dos señales correspondientes a los 4 carbonos aromáticos y finalmente en la región alifática se observan 4 señales a 51.7 ppm (metilo, C-4), 43 ppm (metileno de la posición 7), 35.8 y 30.5 ppm correspondiente a los metilenos de la posición 3 y 2.

En la **Figura 53** correspondiente al espectro de EM-IE de este precursor se observa un ión  $\text{M}+2$  a una  $m/z$  257 con una abundancia relativa del 12.5% y un ión a una  $m/z$  de 182 con una abundancia relativa de 25% el cual indica la presencia de la  $\alpha$ -cloroacetamida.

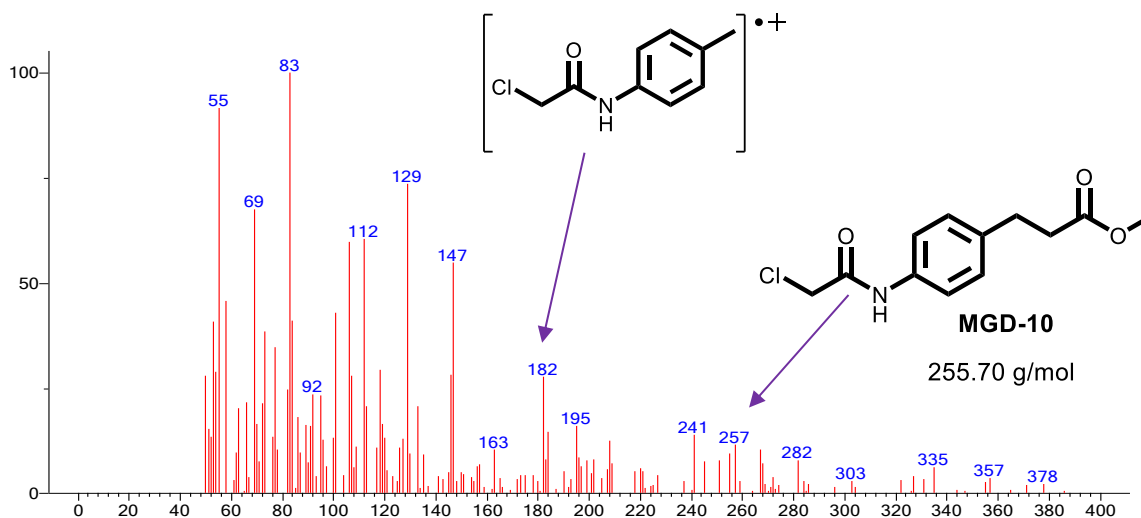
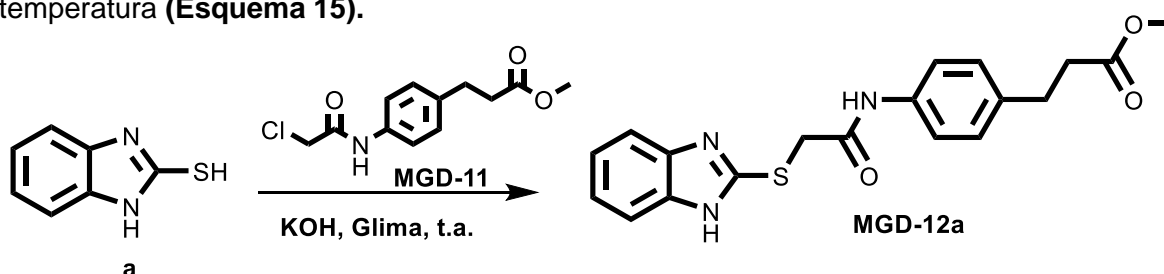


Figura 53. Espectro de EM-IE del compuesto **MGD-11**.



### 8.1.1.5 Síntesis del éster: 3-(4-(2-((1*H*-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propanoato de metilo (MGD-12a)

Para la síntesis del éster **MGD-12a** se hizo reaccionar al compuesto **a** (2-mercaptobencimidazol) mediante una reacción de Williamson, el cual se disolvió en glima, seguido de hidróxido de potasio disuelto en la mínima cantidad de agua, se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 30 min. Pasado el tiempo de agitación se añadió gota a gota el compuesto **MGD-11** (disuelto en 1 mL de glima), dejando reaccionar durante 2 h a temperatura (**Esquema 15**).



Esquema 15. Síntesis del compuesto éster **MGD-12a**.

Se purificó el compuesto obtenido recuperando un sólido color blanco con rendimiento de 82% y un pf de 163.6-164.5 °C, el compuesto fue analizado por RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (**Figura 54**, **55**).

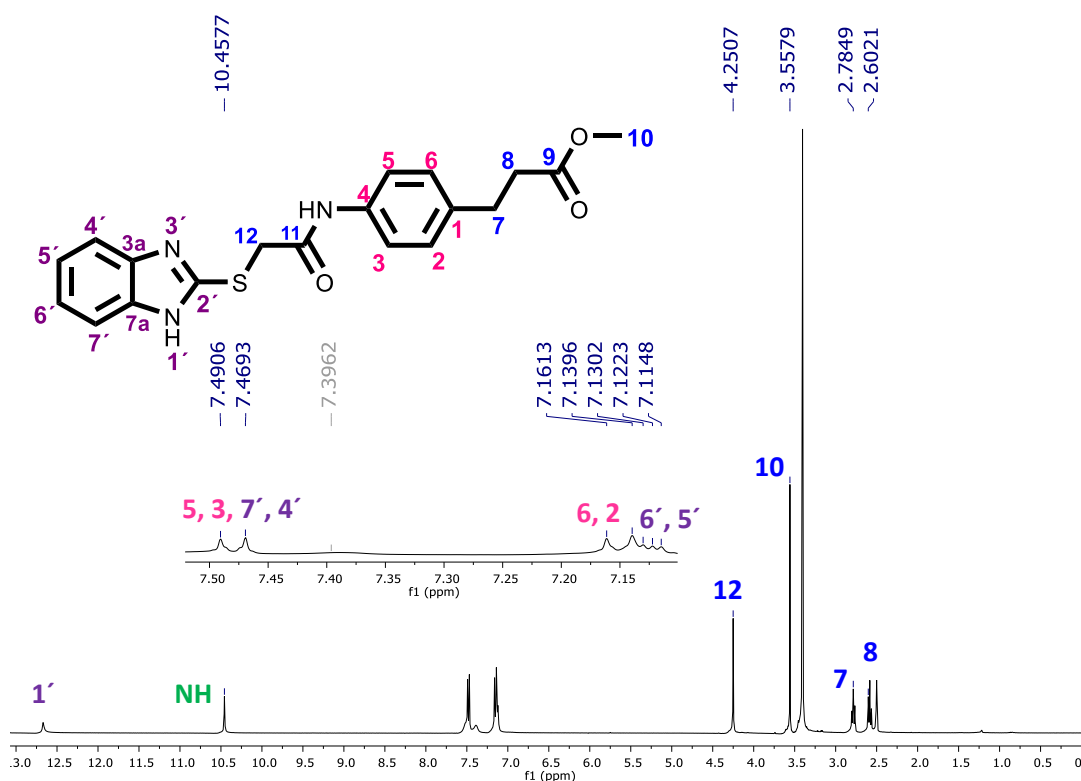


Figura 54. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ , 400 MHz) del compuesto **MGD-12a**.

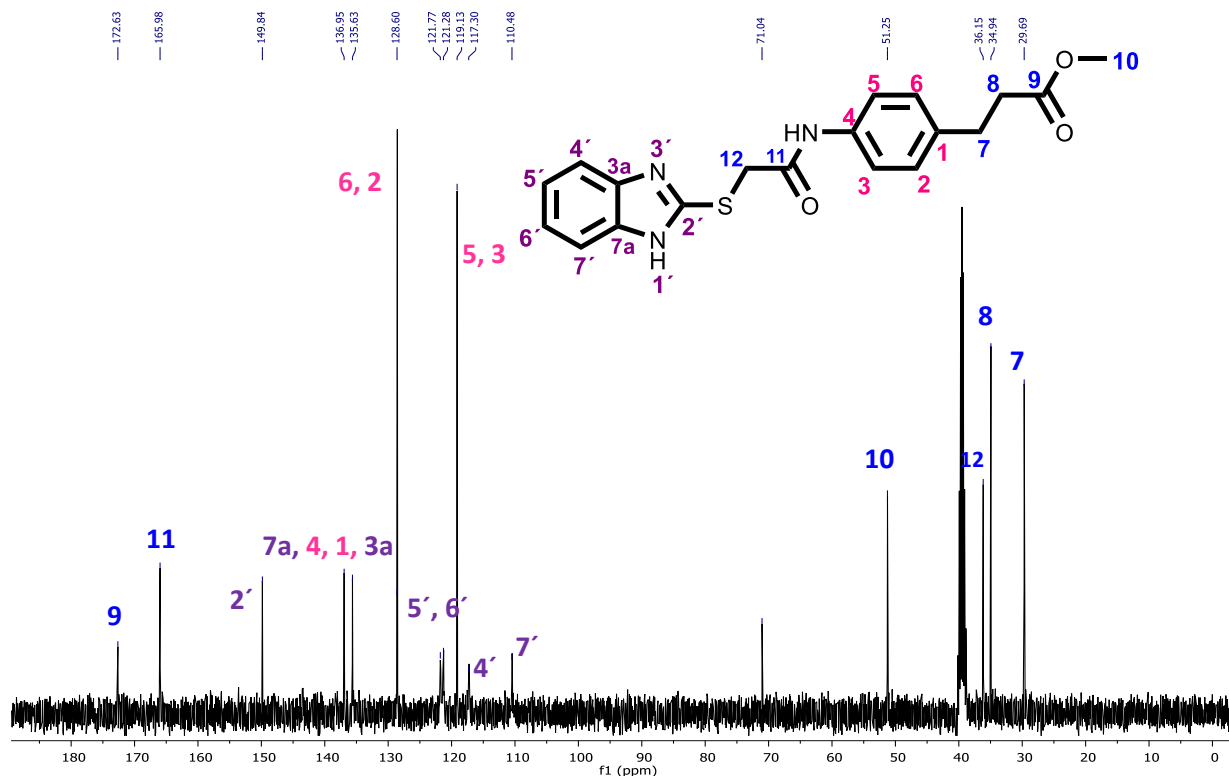


Figura 55. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ , 100 MHz) del compuesto **MGD-12a**.

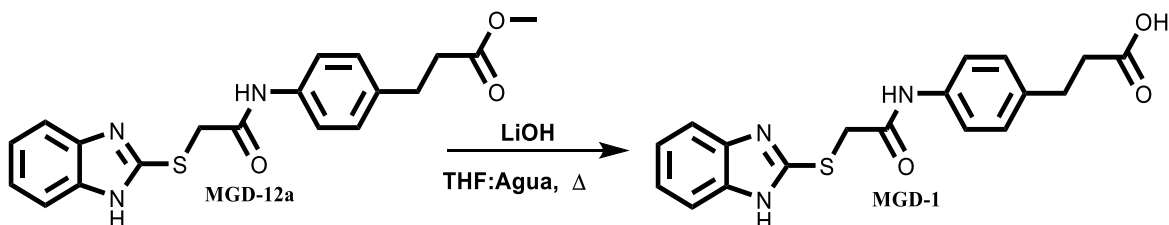
En el espectro de  $^1\text{H}$  (Figura 54) se mantienen nuevamente las señales a campo alto correspondientes a los hidrógenos alifáticos de la posición 7, 8 y 10. La señal simple que aparece a 4.25 ppm corresponde al metileno de la posición 12, en lo correspondiente a los hidrógenos del anillo aromático central aparece una señal doble a 7.16 ppm que integra para dos hidrógenos (H-6, H-2,  $J_o=8.6$  Hz) y una señal doble a 7.49 ppm (H-5, H-3,  $J_o=8.5$  Hz), mientras que los hidrógenos aromáticos del benzimidazol aparecen en a 7.46 ppm (H-7' e H-4') y a 7.12 ppm aparecen los hidrógenos 6' y 5' ( $J_m=3.1$  Hz). Finalmente, a 12.75 y 10.45 ppm se observa dos señales que integran cada una para un hidrógeno correspondientes a las aminas.

En el espectro de  $^{13}\text{C}$  (Figura 55) se observa una señal para cada uno de los carbonos del compuesto **MGD-12a**, se mantienen las señales de los carbonilos a 172.6 ppm (éster) y 165.8 ppm (amida) y aparecen las señales de los carbonos del benzimidazol entre 149.8-110.48 ppm.



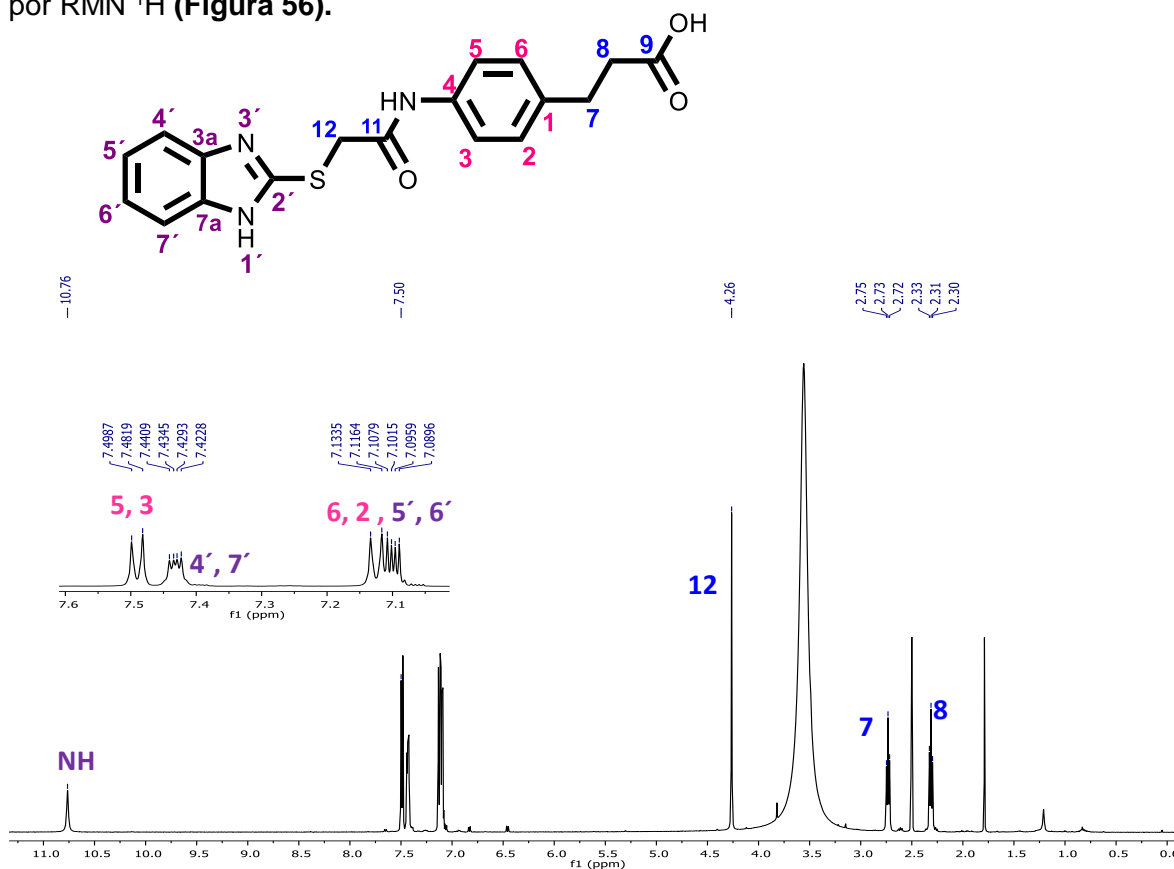
### 8.1.1.6 Síntesis del compuesto final MGD-1

Se llevó a cabo la síntesis del compuesto final **MGD-1**, a partir del éster **MGD-12a** el cual se disolvió en THF (tetrahidrofurano), en un baño de hielo durante 10 min, posteriormente se añadió LiOH (hidróxido de litio) disuelto en agua, se dejó reaccionar a temperatura de reflujo durante 1 h, tal como se presenta en el **Esquema 16**.



**Esquema 16.** Síntesis del compuesto final **MGD-1**.

Una vez purificado el compuesto por cromatografía en columna, se recuperó un sólido color blanco con un rendimiento de 78.1% y pf de 225.5 °C (descomposición), el cual se analizó por RMN <sup>1</sup>H (**Figura 56**).



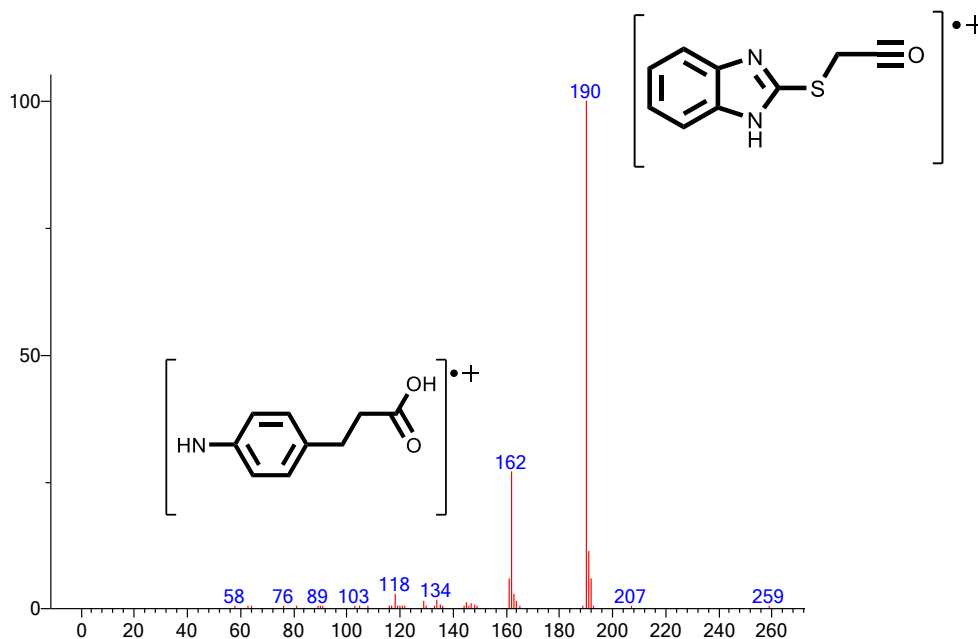
**Figura 56.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz) del compuesto final **MGD-1**.

En la **Figura 56**, se observan las señales de la región alifática mostradas en el espectro de **MGD-12a**, así como también las señales correspondientes a los hidrógenos aromáticos



observados a radiofrecuencias bajas sin embargo desaparece la señal a 3.55 ppm correspondiente al metilo del éster, lo que indica que se llevó a cabo la hidrólisis del éster de manera correcta, obteniendo el compuesto en forma de ácido.

En la **Figura 57** correspondiente al espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-1** se observa un ión M+2 a una m/z 190 con una abundancia relativa del 100% que corresponde al fragmento del bencimidazol y un ión a una m/z de 162 con una abundancia relativa de 25% que corresponde al fragmento del ácido fenilpropiónico los cuales indican la presencia del compuesto de interés.



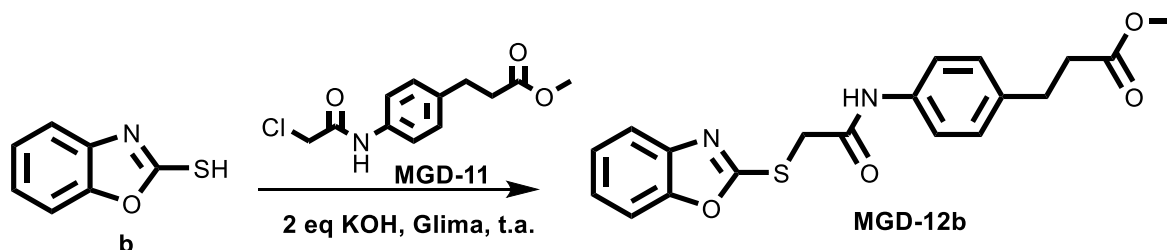
**Figura 57.** Espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-1**.



## 8.1.2 Síntesis del compuesto: Ácido 3-(4-(2-(benzoxazol-2-iltio)acetamido)fenil)propiónico (MGD-2)

### 8.1.2.1 Síntesis del éster: 3-(4-(2-(benzoxazol-2-iltio)acetamido)fenil)propanoato de metilo (MGD-12b)

Se llevó a cabo la síntesis del éster **MGD-12b** haciendo reaccionar al compuesto **b** (2-mercaptobenzoxazol) con la  $\alpha$ -cloroacetamida **MGD-11**, inicialmente se disolvió la materia prima en glima, en seguida se añadió gota a gota KOH como base disuelta en la mínima cantidad de agua, se colocó en agitación durante 30min. Transcurrido el tiempo de reacción se adicionó gota a gota el compuesto **MGD-11** (disuelto en 2 mL de glima), dejando reaccionar durante 4 h a temperatura ambiente (**Esquema 17**). La reacción se monitoreó por cromatografía en capa fina (CCF) al igual que en todas las reacciones anteriores. Una vez finalizada la reacción, se purificó el compuesto por cromatografía en columna, recuperando un sólido color rosa pálido con un rendimiento de 81.2% y pf de 148.7-149.5 °C. El compuesto fue analizado por RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (**Figura 58 y 59**).



**Esquema 17.** Síntesis del compuesto éster **MGD-12b**.

Para la síntesis del éster **MGD-12b** se realizaron una serie de experimentos con el objetivo de encontrar las condiciones idóneas de reacción anteriormente mencionadas, para ello se realizaron cambios en el disolvente, la base y el número de equivalentes empleados, tal como se muestra en la **Tabla 7**, siendo el 4to experimento el que presentó mejores resultados, mejorando el tiempo de reacción y el rendimiento.

**Tabla 7.** Serie de experimentos realizados para la síntesis de **MGD-12b**.

Condiciones Experimento	Disolvente	Base (KOH)	Temperatura	Tiempo de reacción	Observaciones
Exp 1	Éter diisopropílico	2 eq	Reflujo	16 h	Insolubilidad de la m.p. <b>b</b>
Exp 2	Glima	2 eq	Temperatura ambiente	48 h	Se mejoró la solubilidad de la materia prima, tiempo de reacción alto, se obtuvo el éster y el ácido del compuesto, entre otros subproductos.
Exp 3	Glima	4 eq	Temperatura ambiente	24 h	No se consumió por completo la m.p.
Exp 4	Glima	2 eq	Temperatura ambiente	4 h	Se disolvió la base en la mínima cantidad de agua, favoreciendo la reacción.



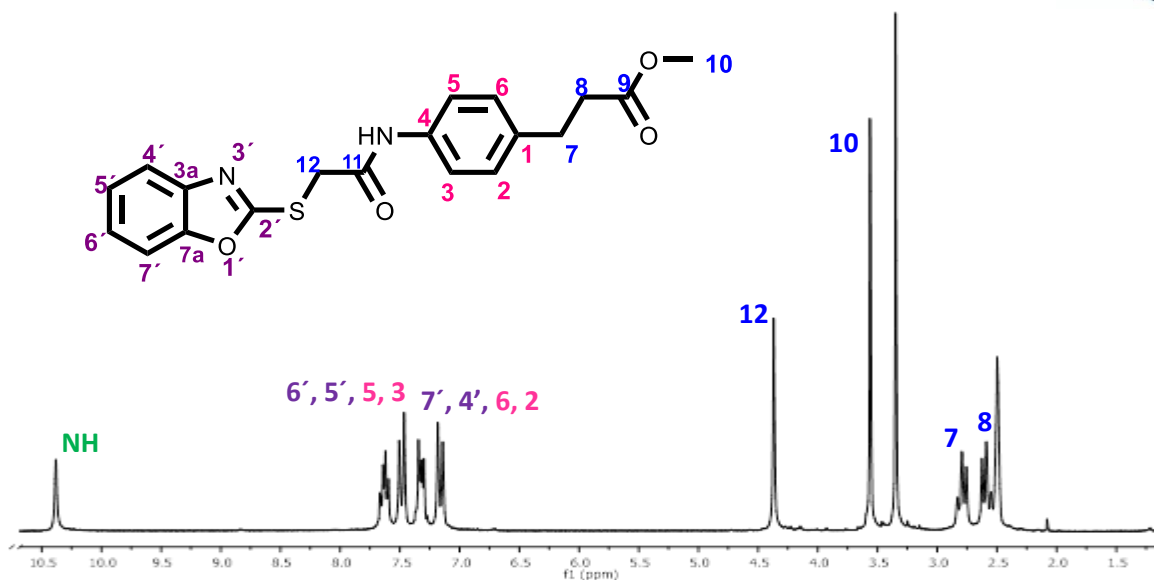


Figura 58. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ , 400 MHz) del compuesto **MGD-12b**.

En el espectro de  $^1\text{H}$  (**Figura 58**) se observan las señales correspondientes al anillo aromático central a 7.18 ppm (H-6, H-2,  $J_o=8.5$  Hz) y 7.50 (H-5, H-3,  $J_o=8.6$  Hz), los hidrógenos del benzoxazol se observaban a 7.64 ppm (H-6', H-5',  $J_o=8.2$  Hz,  $J_m=3.6$  Hz) y 7.32 ppm (H-7', H-4'), los protones alifáticos de la posición 7 (2.79 ppm), 8 (2.58 ppm) y 10 (3.56 ppm), una señal simple a 4.36 ppm correspondiente al metileno de la posición 12, el cual indica la obtención del compuesto. Finalmente, a 10.38 ppm se observa una señal simple que integra para un protón correspondiente al hidrógeno de la amida.

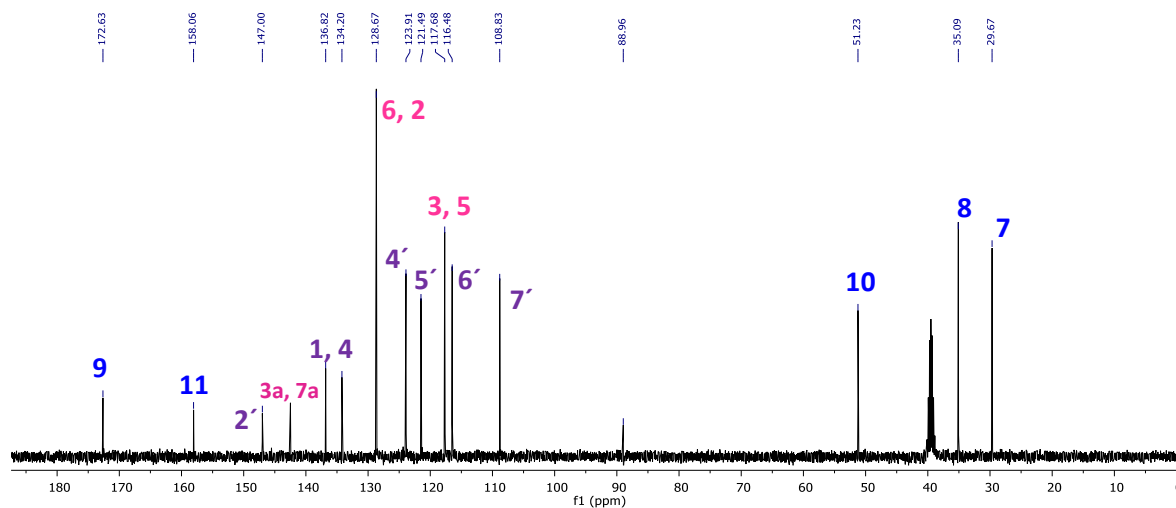


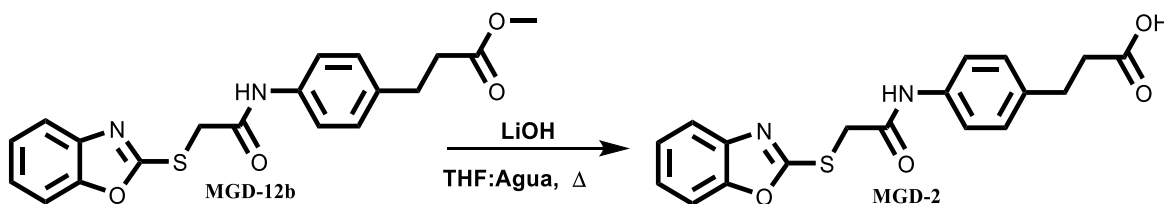
Figura 59. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ , 100 MHz) del compuesto **MGD-12b**.

En el espectro de  $^{13}\text{C}$  (**Figura 59**) se observa una señal para cada uno de los carbonos del compuesto **MGD-12b**, se mantienen las señales de los carbonilos a 172.6 ppm (éster) y 158.0 ppm (amida). Aparecen las señales de los carbonos del anillo aromático y el benzoxazol entre 147.0-108.8 ppm.



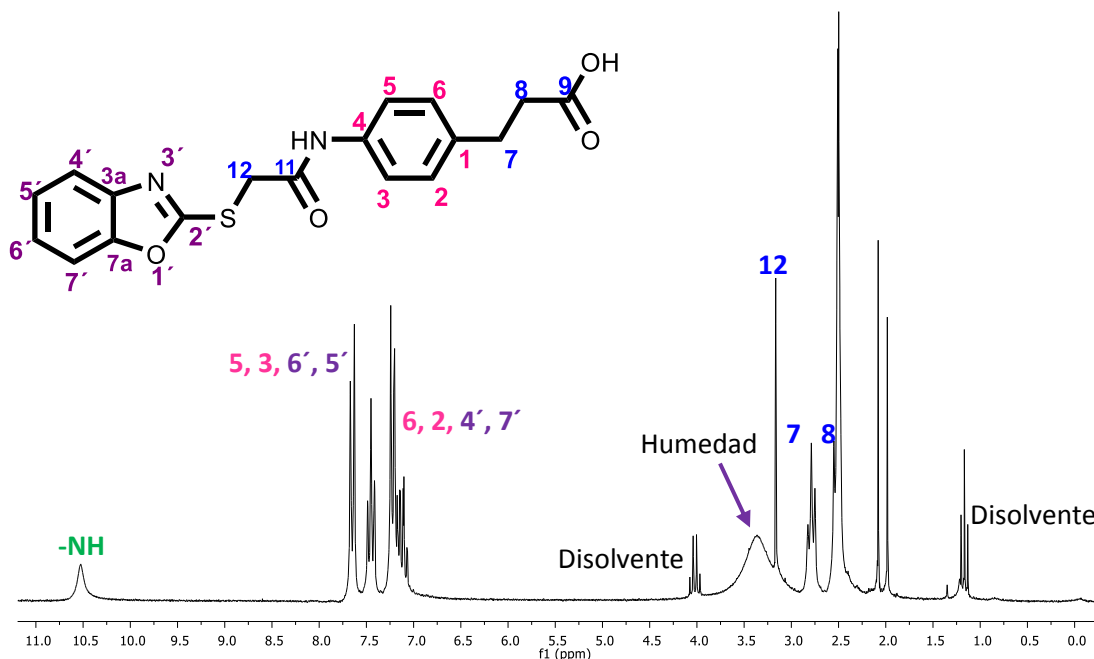
### 8.1.2.2 Síntesis del compuesto final MGD-2:

Para la síntesis del compuesto final **MGD-2**, se realizó una reacción de hidrólisis del éster **MGD-12b**, disolviéndolo en THF en una proporción 3:1 con agua, seguido de la adición de LiOH como base para la generación del compuesto ácido, dejando a temperatura de reflujo. La reacción se monitoreó durante 1 h por CCF. Se trabajó la reacción después de observar la conversión completa de m.p. a producto (**Esquema 18**).



**Esquema 18.** Síntesis del compuesto final **MGD-2**.

Se purificó el compuesto, por columna y se recuperó un sólido color blanco con rendimiento de 81.2% y un pf de 184.9-185.7°C, se analizó por RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 60**).

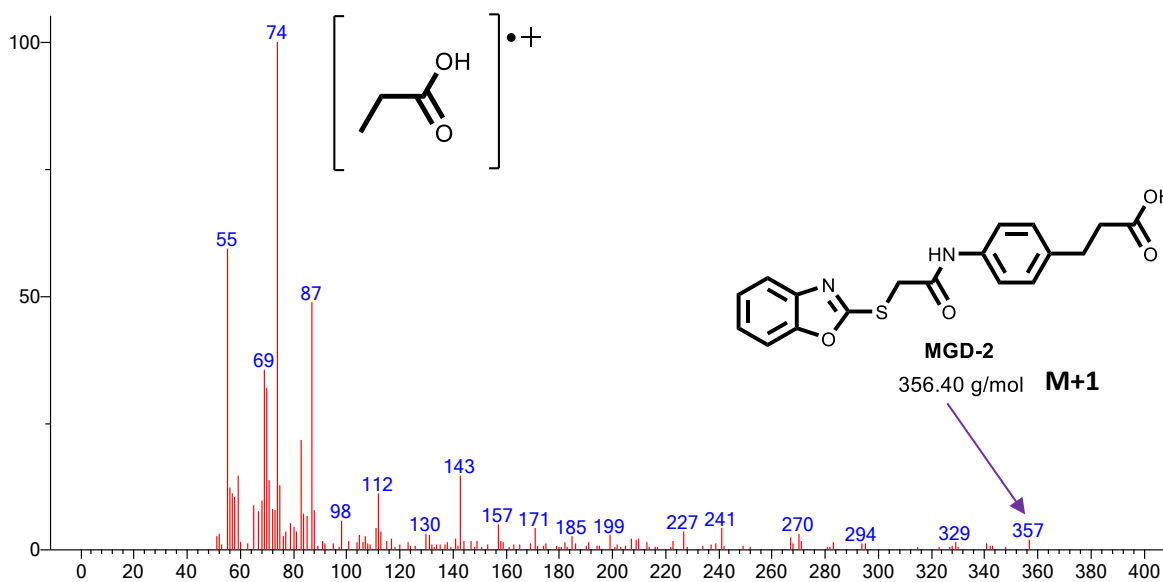


**Figura 60.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) del compuesto final **MGD-2**.

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 60**) se mantienen las señales de la región alifática observadas en el espectro del compuesto en forma de éster **MGD-12b**, sin embargo, se observa la desaparición de la señal a 3.56 ppm correspondiente al metilo del éster, lo que indica que el compuesto se hidrolizó completamente.



En la **Figura 61** correspondiente al espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-2** aparece un ión a una  $m/z$  74 con una abundancia relativa del 100% que corresponde al fragmento del ácido y un ión  $M+1$  a una  $m/z$  de 357 con una abundancia relativa de 5% que corresponde al compuesto de interés.



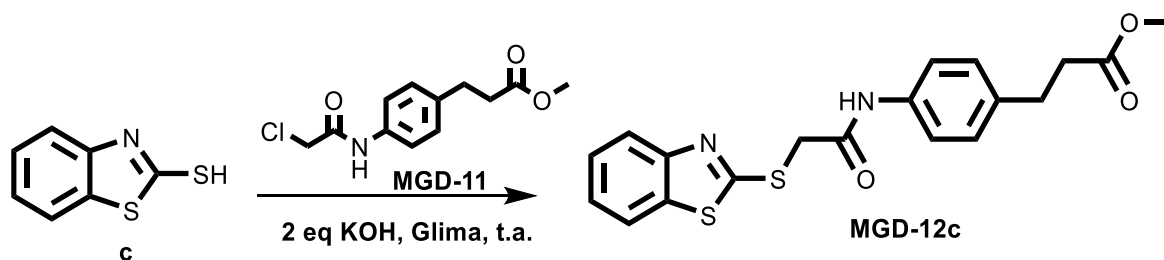
**Figura 61.** Espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-2**.



### 8.1.3 Síntesis del compuesto: Ácido 3-(4-(2-(benzotiazol-2-iltio)acetamido)fenil)propiónico (MGD-3)

#### 8.1.3.1 Síntesis del éster: 3-(4-(2-(benzotiazol-2-iltio)acetamido)fenil)propanoato de metilo (MGD-12c)

Para la síntesis del éster **MGD-12c**, se llevó a cabo una reacción de tipo Williamson para la formación del tio-éter, inicialmente se disolvió el compuesto **c** (2-mercaptobenzotiazol) en glima, enseguida se añadió gota a gota KOH disuelto en la mínima cantidad de agua, se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 30 min. Pasado el tiempo de agitación se añadió gota a gota el compuesto **MGD-11** (disuelto en glima), dejando reaccionar durante 2 h 30 minutos a temperatura ambiente, se monitoreó la reacción por CCF hasta que la materia prima se consumió por completo (**Esquema 19**).



Esquema 19. Síntesis del compuesto éster **MGD-12c**.

El producto obtenido se purificó por cromatografía en columna. Se recuperó un sólido color amarillo claro con rendimiento de 79.49% y un pf de 105.2-105.7 °C. El compuesto fue analizado por RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (**Figura 62 y 63**).

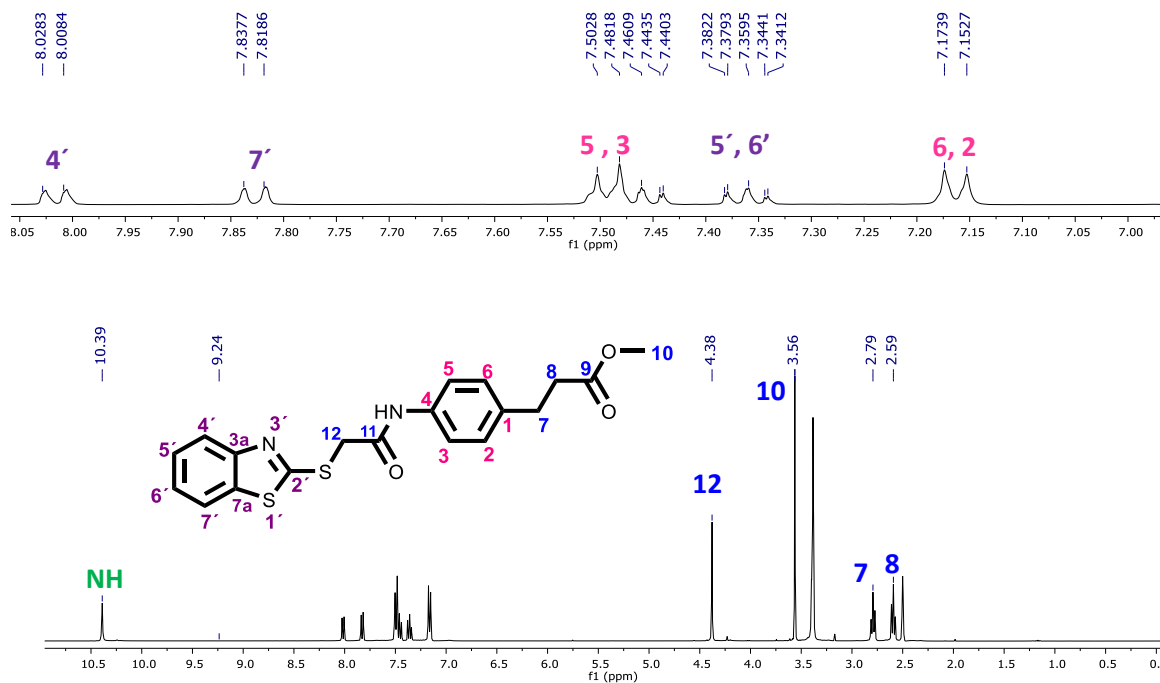


Figura 62. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) del compuesto final **MGD-12c**.

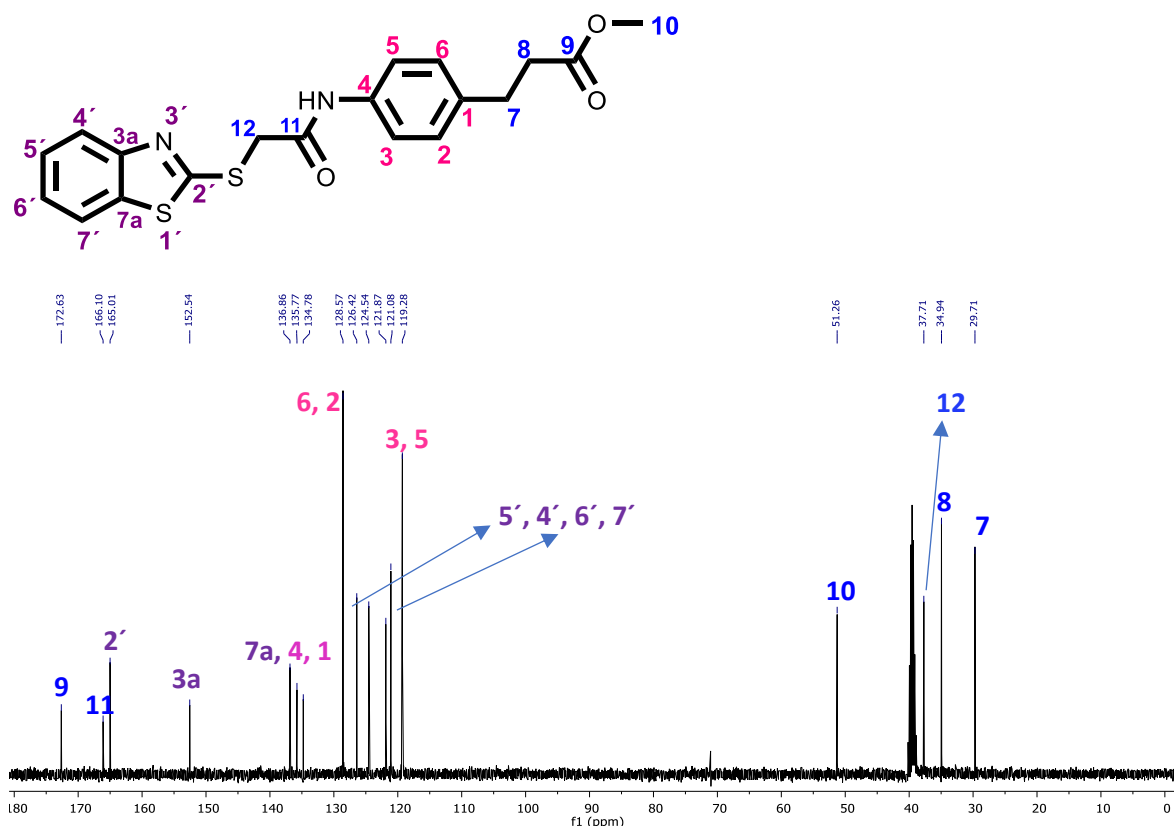


Figura 63. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto final **MGD-12c**.

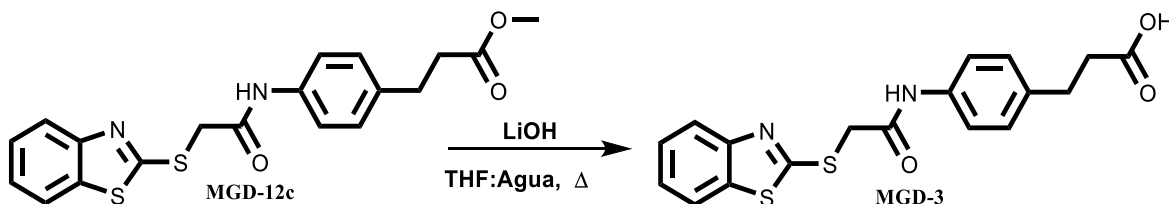
En el espectro de  $^1\text{H}$  (Figura 62) se observan nuevamente las señales del precursor de este compuesto a 7.50 ppm (H-5, H-3,  $J_o=8.4$  Hz) y 7.17 ppm (H-6, H-2,  $J_o=8.4$  Hz). Se observa un doble de dobles correspondiente a los hidrógenos del anillo aromático central, los hidrógenos del benzotiazol aparecen a 7.38 ppm (H-5', H-6',  $J_m=1.16$  Hz), H-4' y H-7' aparecen a 8.02 ppm y 7.83 ppm respectivamente. Los hidrógenos alifáticos de la posición 7 (2.79 ppm), 8 (2.59 ppm) como una señal triple, mientras que el metileno de la posición 12 aparece como una señal simple a 4.38 ppm y el metilo de la posición 10 aparece a 3.56 ppm. Finalmente, a 10.4 ppm se observa una señal simple correspondiente al hidrógeno de la amida.

En el espectro de  $^{13}\text{C}$  (Figura 63) se observa una señal para cada uno de los carbonos del compuesto **MGD-12c**, se mantienen las señales de los carbonilos a 172.5 ppm (éster) y 166 ppm (amida). Aparecen las señales de los carbonos del benzotiazol entre 136-119 ppm, los cuales al estar presentes indican la formación de la amida y por lo tanto la obtención del compuesto éster **MGD-12c**.



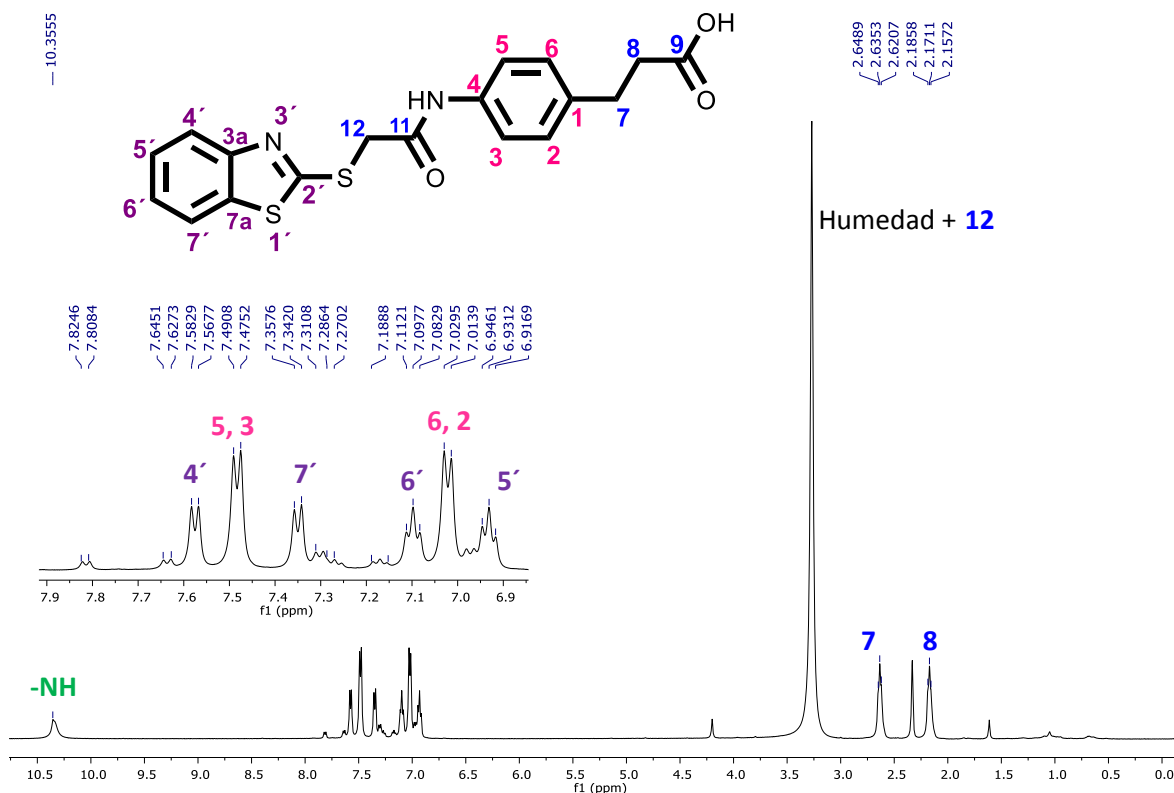
### 8.1.3.2 Síntesis del compuesto final MGD-3:

Para la obtención del compuesto **MDG-3**, se llevó a cabo la hidrólisis del éster **MGD-12c**, el cual se disolvió en THF, se añadió posteriormente LiOH y agua (en proporción 3:1 con respecto al disolvente), la reacción se monitoreó durante 1 h por CCF observando la conversión completa de la m. p. (**Esquema 20**).



**Esquema 20.** Síntesis del compuesto final **MGD-3**.

Se trabajó la reacción y se purificó el compuesto obtenido por cromatografía en columna. Se recuperó un sólido color amarillo claro con rendimiento de 76.3% y un pf de 178.9-179.5°C el cual se analizó por RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 64**).

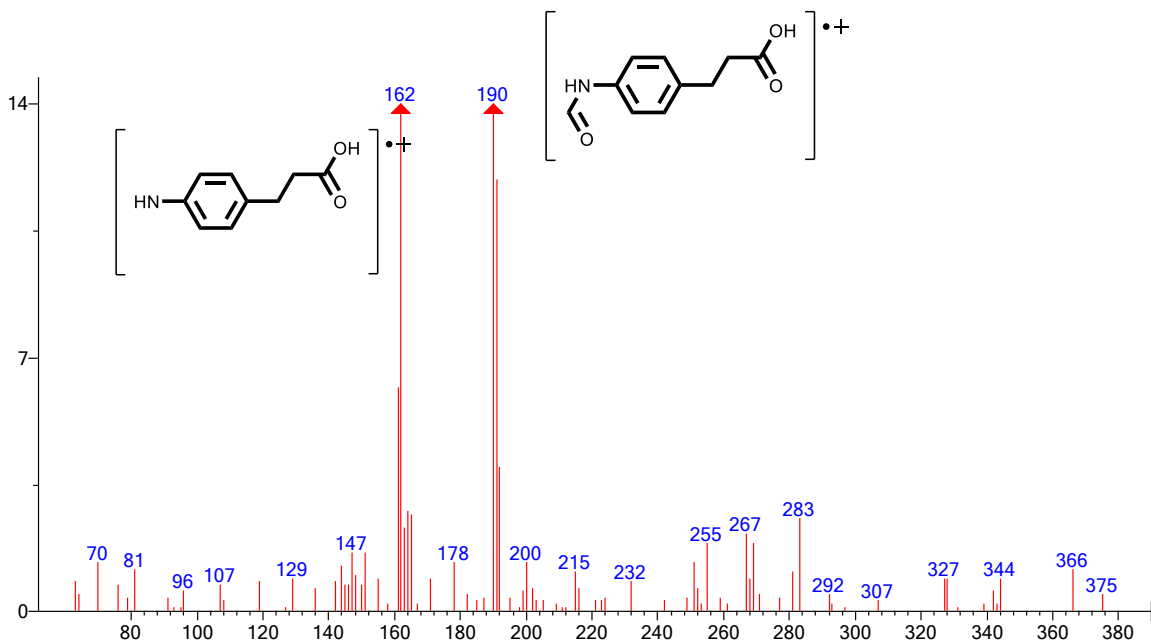


**Figura 64.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ , 500 MHz) del compuesto final **MGD-3**.



Como se puede observar en el espectro de la **Figura 64**, ya no aparece la señal a 3.6 ppm correspondiente al metilo del éster, por lo cual se corrobora la presencia del ácido como resultado de la hidrólisis completa del éster.

En la **Figura 65** correspondiente al espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-3** aparece un ión M+2 a una m/z de 190 con una abundancia relativa del 14% que corresponde al fragmento del ácido fenilpropiónico, así como el fragmento son la amida a una m/z de 162 con una abundancia relativa del 14%.



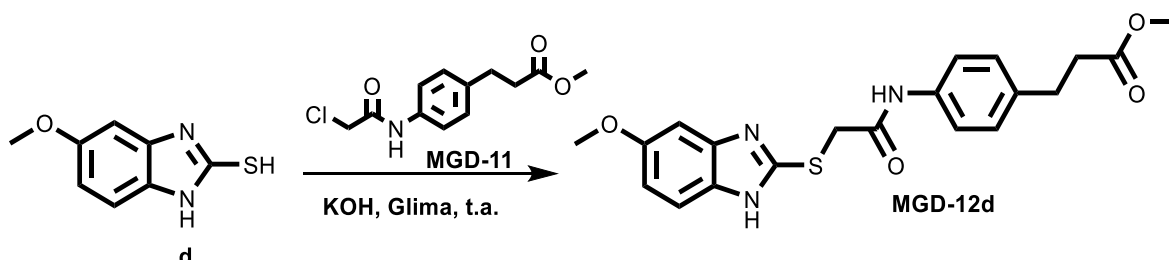
**Figura 65.** Espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-3**.



### 8.1.4 Síntesis del compuesto: Ácido 3-(4-(2-((5-metoxi-1*H*-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propiónico (MGD-4)

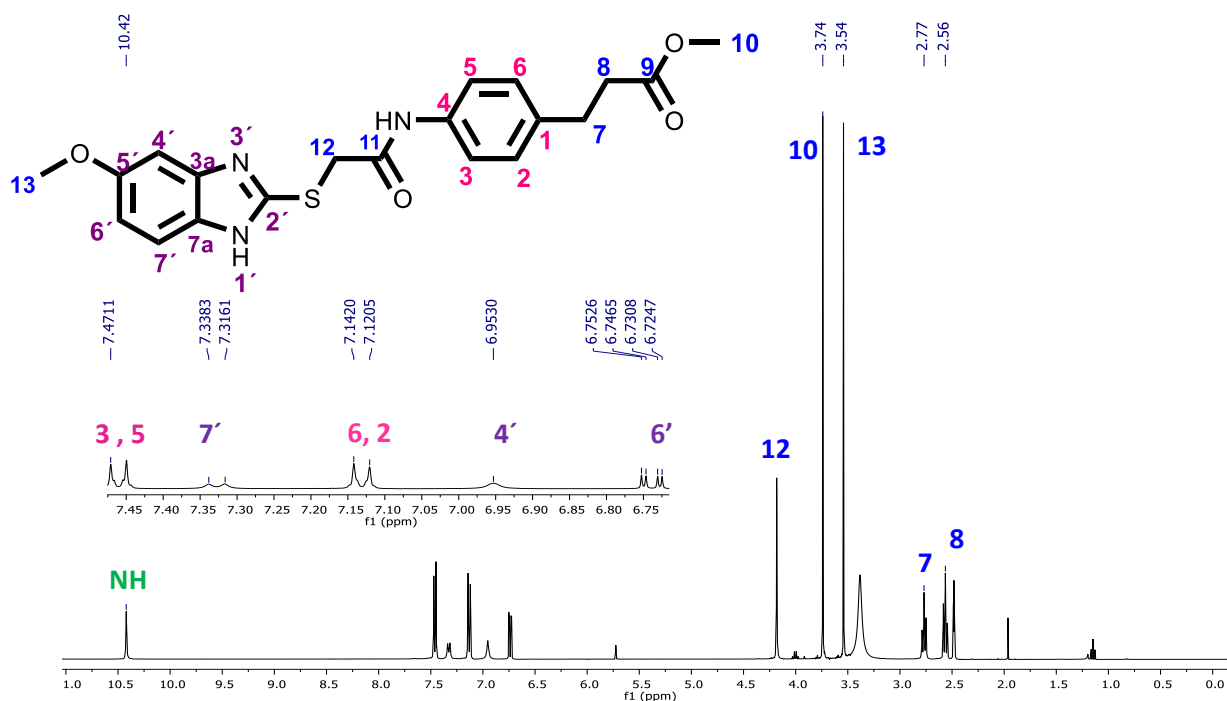
#### 8.1.4.1 Síntesis del éster: 3-(4-(2-((5-metoxi-1*H*-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propanoato de metilo (MGD-12d)

Mediante una reacción de Williamson, se llevó a cabo la síntesis del compuesto éster **MGD-12d**, el cual se disolvió en glima seguido de la adición de KOH, gota a gota disuelta en la mínima cantidad de agua con lo cual se favorece la reacción. Pasado el tiempo de agitación se añadió gota a gota el compuesto **MGD-11** (disuelto en glima), dejando reaccionar durante 2 h a temperatura ambiente (**Esquema 21**). La reacción se monitoreo por CCF observando que la materia prima se consumió por completo.



**Esquema 21.** Síntesis del compuesto éster **MGD-12d**.

Finalmente se trabajó la reacción, seguido de su purificación por cromatografía en columna. Se recuperó un sólido color blanco con rendimiento de 63.17% y un *pf* de 138.5-139.8°C. El compuesto fue analizado por RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C (**Figura 66, 67**).



**Figura 66.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) del compuesto **MGD-12d**.



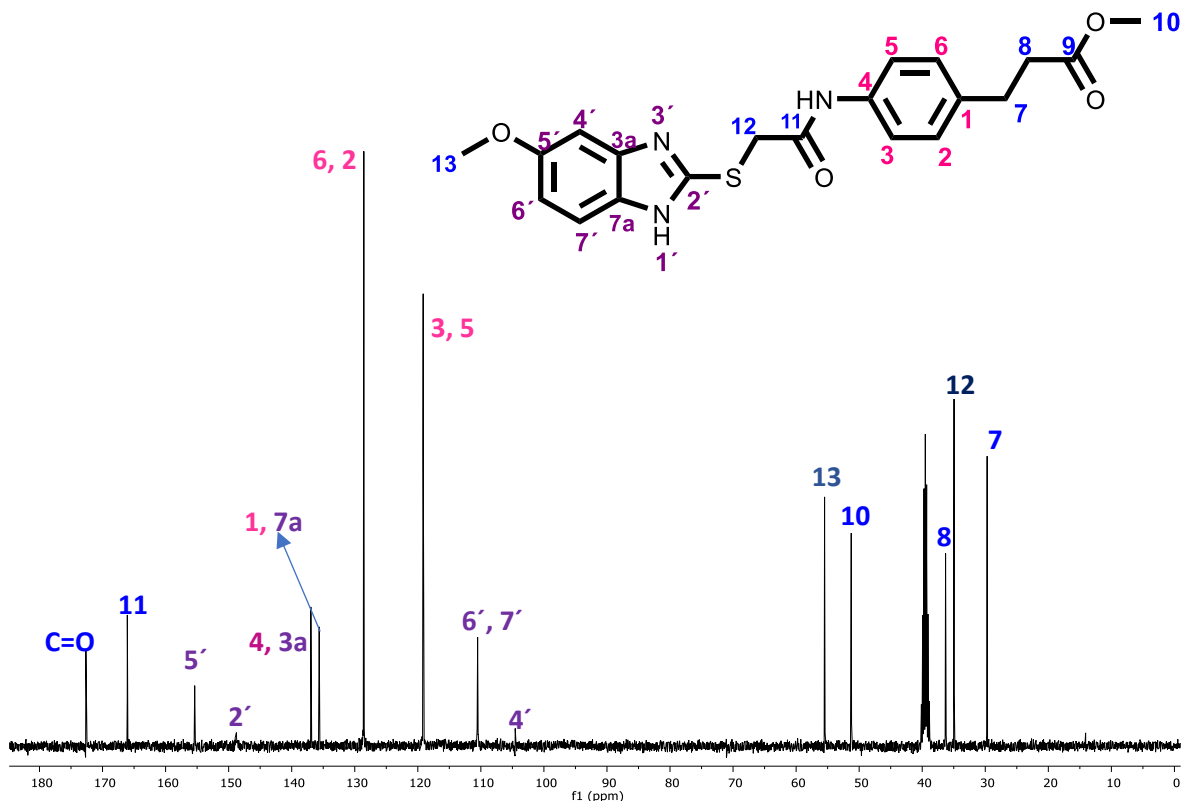


Figura 67. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto **MGD-12d**.

En la **Figura 66** correspondiente al espectro de  $^1\text{H}$  del compuesto **MGD-12d**, se observa a campo bajo los hidrógenos del anillo aromático central como una señal doble de dobles a 7.47 ppm (H-5, H-3,  $J_o=8.6$  Hz), a 7.14 ppm (H-6, H-2,  $J_o=8.6$  Hz), a 7.33 ppm se encuentra el H-7' ( $J_o=8.8$  Hz), a 6.95 ppm se encuentra el H-4' y a 6.75 se encuentra el H-6' ( $J_m=2.4$  Hz) correspondientes al anillo de bencimidazol. Los hidrógenos alifáticos aparecen como señales simples a 4.21 ppm (H-12), a 3.74 ppm (H-10), a 3.54 ppm el H-13 correspondiente al metilo del éster. Finalmente dos señales triples que integran para dos hidrógenos cada una correspondientes a los metilenos 7 (2.77 ppm) y 8 (2.56 ppm).

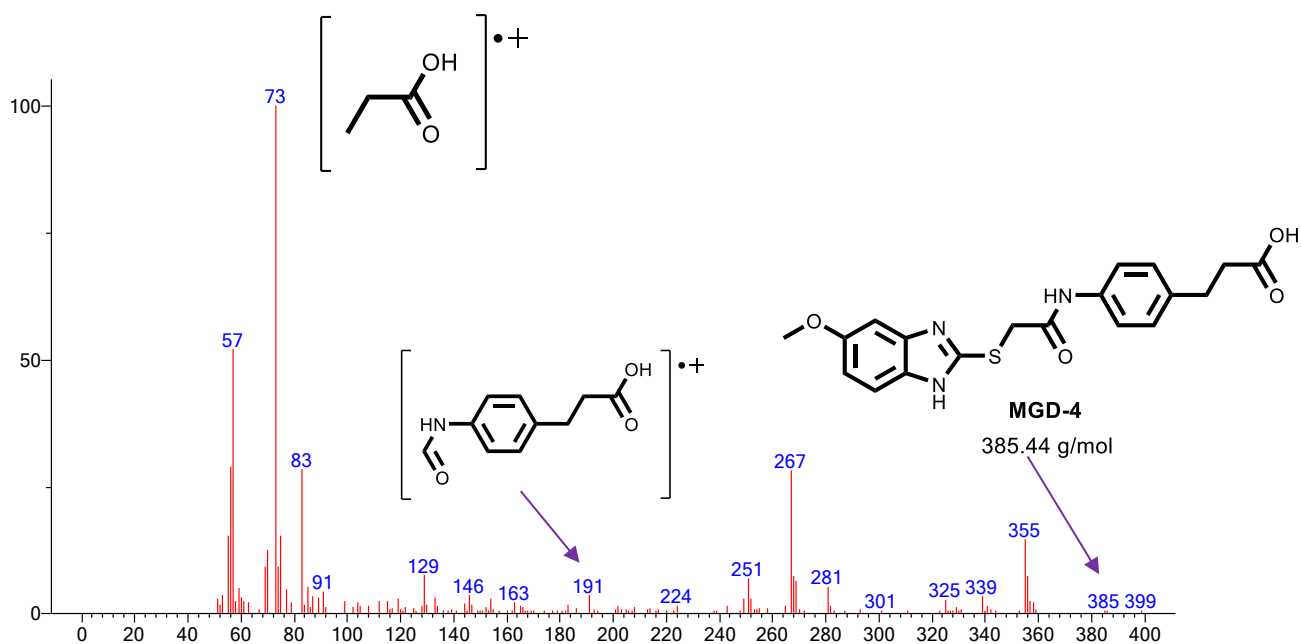
En el espectro de  $^{13}\text{C}$  (**Figura 67**) se observa las señales de cada uno de los carbonos correspondientes al compuesto éster **MGD-12d**, señales características observadas en los espectros de los ésteres antes presentados.





En el espectro de la **Figura 68** se conservan nuevamente las señales vistas en el espectro del compuesto éster **MGD-12d** sin embargo, se observa que la señal simple correspondiente al metilo del éster a 3.74 ppm presente en el espectro del éster **Figura 66** ya no aparece, lo cual nos indica que se llevó a cabo la hidrólisis de manera completa y se obtuvo el compuesto final en su forma de ácido.

En la **Figura 69** correspondiente al espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-4** se observa la presencia de un ión M+1 a una m/z de 73 con una abundancia relativa del 100% y un ión M+2 a una m/z de 191 los cuales corresponden al fragmento del ácido fenilpropiónico. Finalmente, un fragmento a una m/z de 355 con una abundancia relativa de 2% que corresponde al compuesto **MGD-4**.



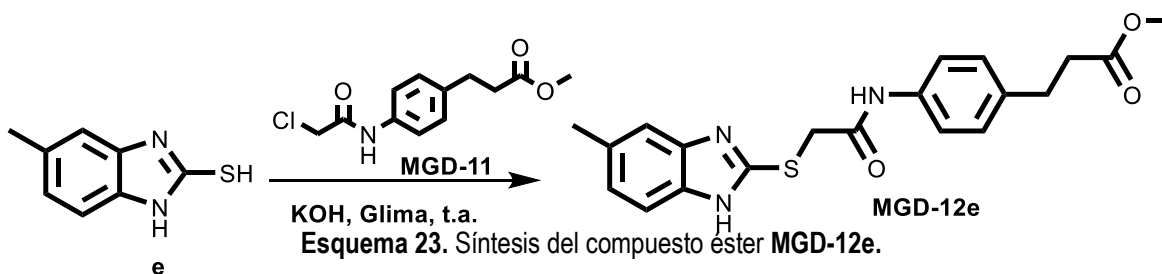
**Figura 69.** Espectro de EM-IE del compuesto **MGD-4**.



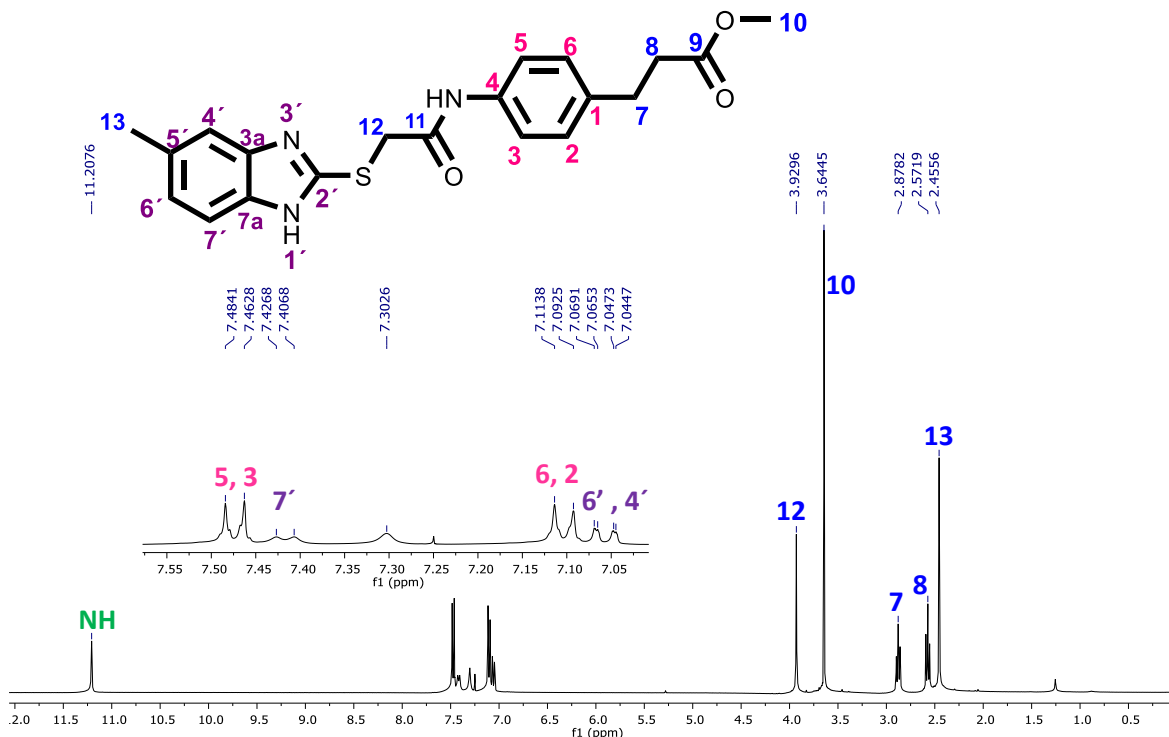
## 8.1.5 Síntesis del compuesto: Ácido 3-(4-(2-((5-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propiónico (MGD-5)

### 8.1.5.1 Síntesis del éster: 3-(4-(2-((5-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propanoato de metilo (MGD-12e)

La síntesis del éster **MGD-12e** se llevó a cabo mediante una reacción de Williamson, empleando como materia prima al compuesto 2-mercapto-5-metilbencimidazol (**e**) disuelto en glima, posteriormente se añadió gota a gota KOH, disuelto en la mínima cantidad de agua dejando en agitación durante 15 min. Una vez transcurrido el tiempo de agitación, se añadió gota a gota el compuesto **MGD-11** (disuelto en glima), dejando reaccionar a temperatura ambiente durante 2 h (**Esquema 23**), monitoreando la reacción por CCF.



El compuesto obtenido se purificó por cromatografía en columna, recuperando un sólido color blanco con rendimiento de 77.2% y un pf de 165.5-166.2°C. El compuesto fue analizado por RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C (**Figura 70, 71**).



**Figura 70.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) del compuesto **MGD-12e**.

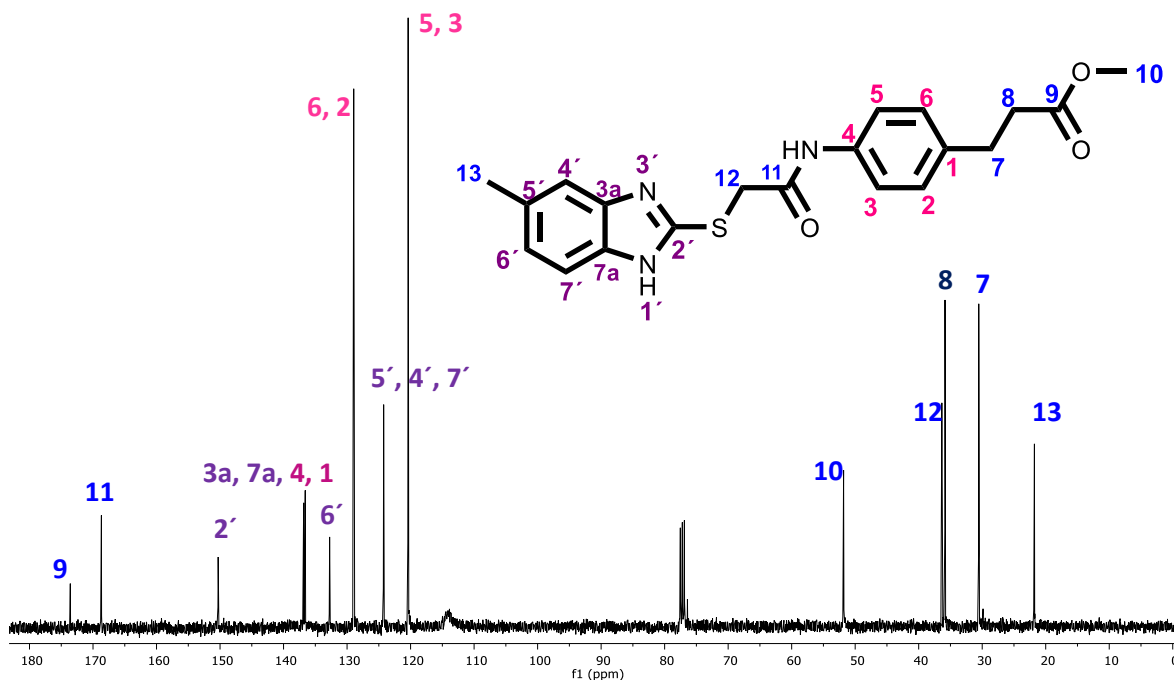


Figura 71. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) del compuesto **MGD-12e**.

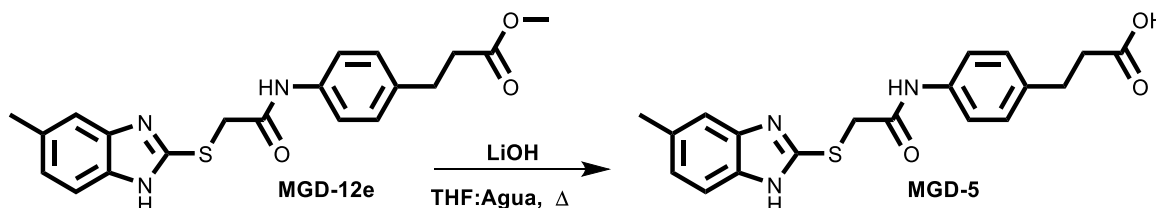
En el espectro de  $^1\text{H}$  (**Figura 70**) correspondiente al compuesto **MGD-12e** se observan a radiofrecuencias altas tres señales simples a 2.45 ppm (H-13), 3.64 ppm (H-10), 3.92 ppm (H-12) correspondientes al metilo del bencimidazol, al metoxilo del éster y el metileno de la posición 12 respectivamente. También dos señales triples que acoplan para 4 hidrógenos correspondientes a los metilenos 7 (2.87 ppm) y 8 (2.57 ppm). A campo bajo se observa un doble de dobles a 7.11 ppm (H-6, H-2,  $J_o=8.5$  Hz) y 7.48 ppm (H-5, H-3,  $J_o=8.5$  Hz) característicos del anillo aromático central. A 7.06 ppm y 7.04 ppm se encuentran los hidrógenos H-6' ( $J_m=1.5$  Hz) y H-4' ( $J_m=1.0$  Hz). A 7.42 ppm se encuentra una señal doble correspondiente al metino de la posición 7' ( $J_o=8.0$  Hz).

En el espectro de  $^{13}\text{C}$  (**Figura 71**) se observan las señales correspondientes a cada uno de los carbonos de la molécula, a 173.5 ppm se encuentra el carbono del carbonilo del éster, a 168.6 ppm el carbonilo de la amida, se observan dos picos grandes a 128.9 y 120.3 ppm los cuales pertenecen a los carbonos del anillo aromático central. Finalmente, entre 124.2 y 150.2 ppm se observan los carbonos correspondientes al anillo de bencimidazol.



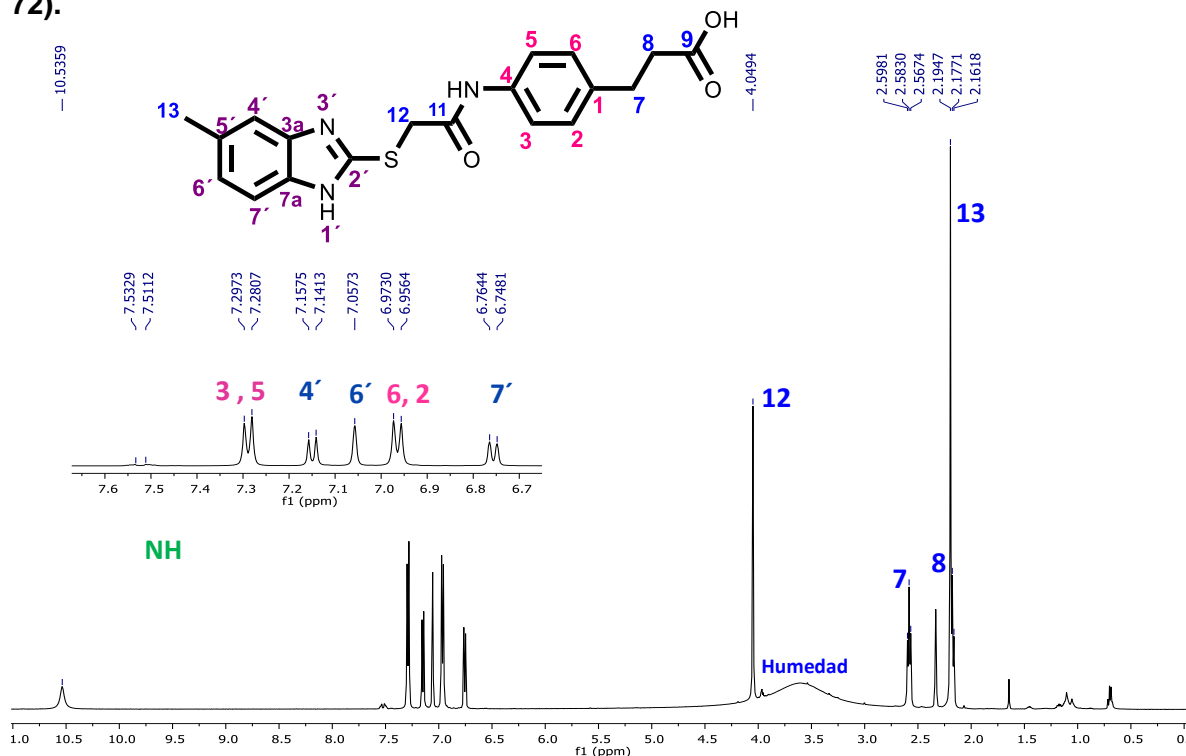
### 8.1.5.2 Síntesis del compuesto final MGD-5:

Mediante una reacción de hidrólisis del éster del compuesto previamente sintetizado se obtuvo al compuesto final **MGD-5**. Inicialmente se disolvió al precursor **MGD-12e** en THF, seguido de la adición de LiOH y agua en una proporción 3 a 1 con respecto al disolvente, se dejó reaccionar a temperatura de reflujo durante 2 h. La reacción se monitoreó por ccf observando la conversión completa de la materia prima (**Esquema 24**).



**Esquema 24.** Síntesis del compuesto final **MGD-5**.

El compuesto obtenido se purificó por cromatografía en columna. Se recuperó un sólido color blanco con rendimiento de 85.5% y un pf de 203.1-205.8°C, se analizó por  $^1\text{H}$  (**Figura 72**).



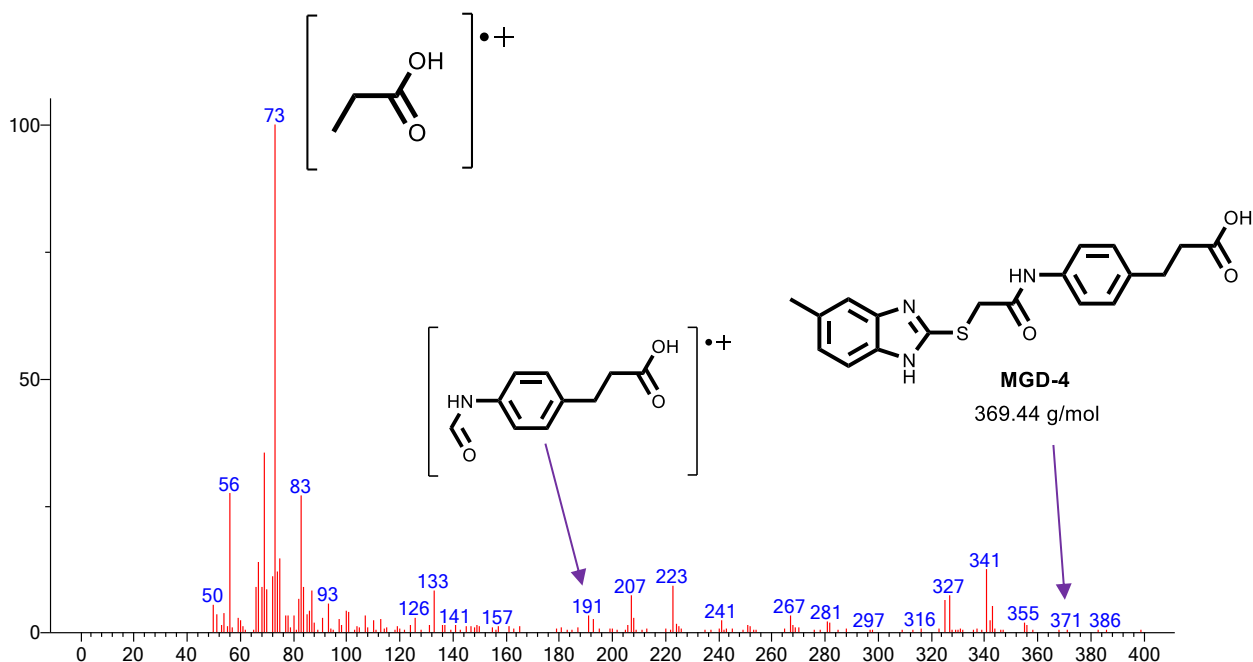
**Figura 72.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ , 500 MHz) del compuesto final **MGD-5**.

En el espectro de la **Figura 72** se observan las mismas señales presentadas en el espectro de  $^1\text{H}$  del compuesto anterior (**MGD-12e**) sin embargo ya no aparece la señal simple a 3.64



ppm correspondiente al metilo del éster lo cual nos indica la presencia del compuesto en su forma de ácido **MGD-5**.

En la **Figura 73** correspondiente al espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-5** se mantiene el ión M+1 a una m/z de 73 con una abundancia relativa del 100 % y un ión M+2 a una m/z de 191, los cuales corresponden al fragmento del ácido fenilpropiónico. Finalmente, un fragmento M+2 a una m/z de 371 con una abundancia relativa de 1% que corresponde al compuesto final **MGD-5**.



**Figura 73.** Espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-5**.



### 8.1.6 Síntesis del compuesto final: Ácido 3-(4-([1,1'-bifenil]-4-carboxamido)fenil)propiónico (MGD-14)

#### 8.1.6.1 Síntesis del éster: 3-(4-([1,1'-bifenil]-4-carboxamido)fenil)propanoato de metilo (MGD-13)

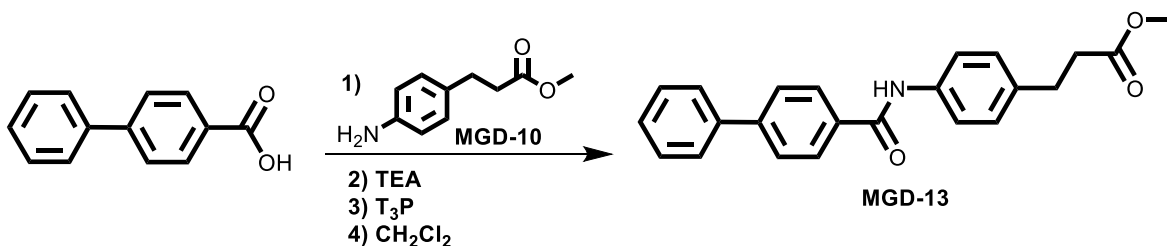
Para la síntesis del éster **MGD-13** se realizaron una serie de experimentos con el objetivo de obtener las condiciones adecuadas para su síntesis empleando en cada experimento al ácido 4-bifenilcarboxílico como reactivo limitante, las condiciones de reacción empleadas se muestran a continuación en la **Tabla 8**.

**Tabla 8.** Experimentos realizados para la obtención del compuesto **MGD-13**.

Condiciones de reacción							
Experimento	Precursor MGD-10	Agente acoplante	Equipo de microondas	Base	Disolvente	Tiempo de reacción	Observaciones
1	0.5 eq	T <sub>3</sub> P (6 eq)	✓	TEA (8 eq)	-	1 h	Asistida por microondas, se obtuvo el compuesto de interés con bajo rendimiento (20%). <sup>77</sup>
2	1 eq	T <sub>3</sub> P (6 eq)	✓	TEA (8 eq)	-	1 h	Se mejoró el rendimiento (35%), sin embargo, aún había formación de varios subproductos.
3	1 eq	-	-	TEA (1 eq)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	3 h	Para esta reacción se decidió formar el cloruro de ácido empleando 2.5 eq de SOCl <sub>2</sub> y adicionar posteriormente la amina. No se obtuvo el compuesto de interés.
4	1 eq	CDI (1 eq)	-		THF anhidro	17 h	Se logró obtener el compuesto de interés aun con bajo rendimiento ya que no se consumió por completo la materia prima.
5	1 eq	T <sub>3</sub> P (6 eq)	-	TEA (8 eq)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	1 h	Se logró la obtención del compuesto con rendimiento del 72 %.
Abreviaturas:	T <sub>3</sub> P (anhídrido propilfosfónico); CDI (1,1-carbonildiimidazol); TEA (trietilamina); Condiciones de reacción en microondas: Sistema cerrado; Temperatura de 60°C; 50 W de potencia; 1 ciclo de 60 min.						

Partiendo del experimento 5 para la obtención del compuesto **MGD-13**, se hizo reaccionar al ácido 4-bifenilcarboxílico disuelto en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, seguido de la adición de la amina **MGD-10**, TEA como base y finalmente la adición inicial de 3 eq de T<sub>3</sub>P el cual se encuentra disuelto al 50% en acetato de etilo, se dejó reaccionar durante 30 min a temperatura de reflujo. Posteriormente se añadieron nuevamente 3 eq de T<sub>3</sub>P, se dejó reaccionar 30 min a reflujo nuevamente monitoreando la reacción por CCF, hasta observar la conversión completa de la materia prima, empleando el calentamiento convencional se disminuyó la generación de subproductos (**Esquema 25**).





Esquema 25. Síntesis del compuesto final MGD-3.

Una vez finalizada la reacción, se purificó por cromatografía en columna. Se obtuvo un sólido color amarillo claro con un rendimiento del 72% y punto de fusión característico de pureza (202.2-202.4 °C). A continuación, se muestran sus espectros de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C (Figura 74, 75).

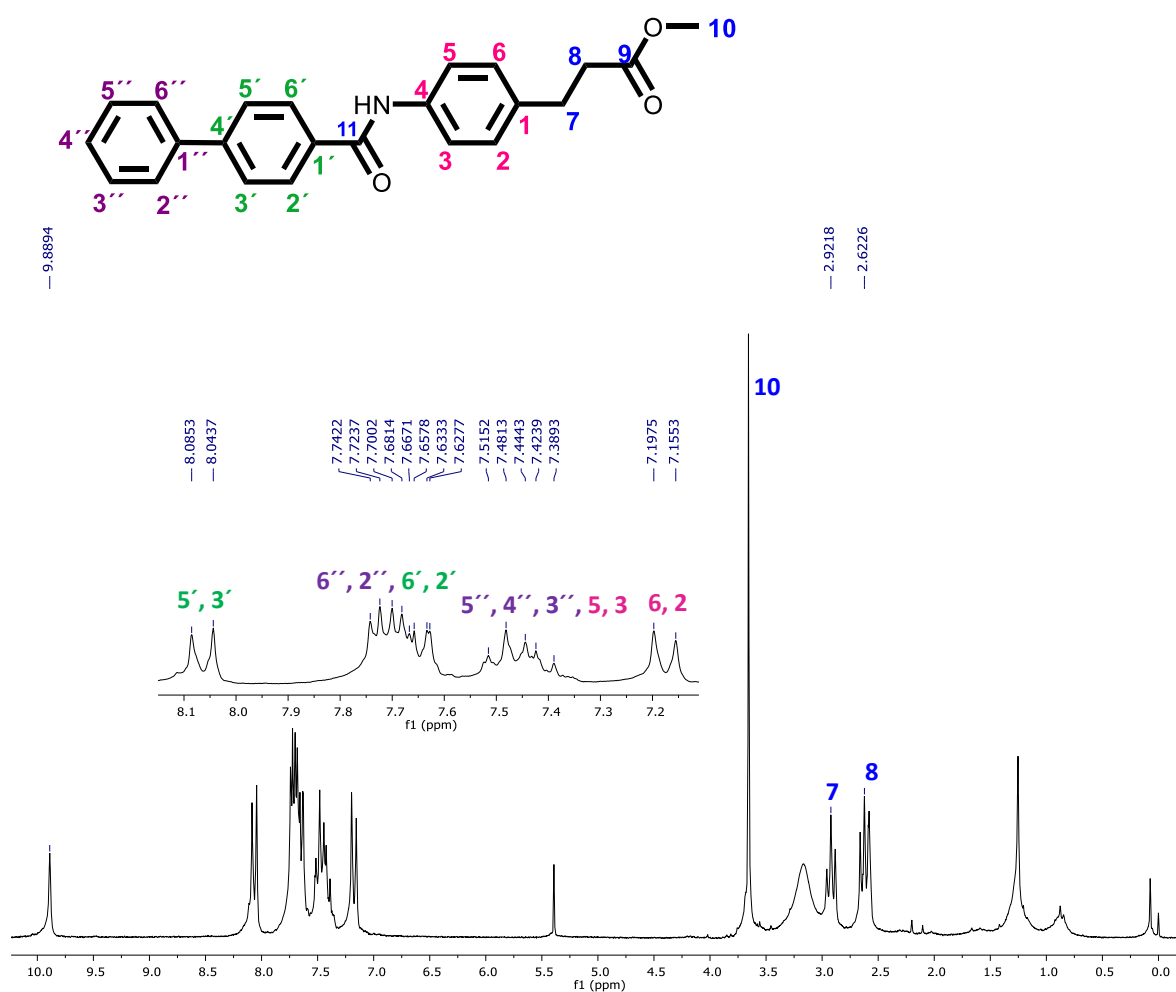


Figura 74. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz) del compuesto MGD-13.

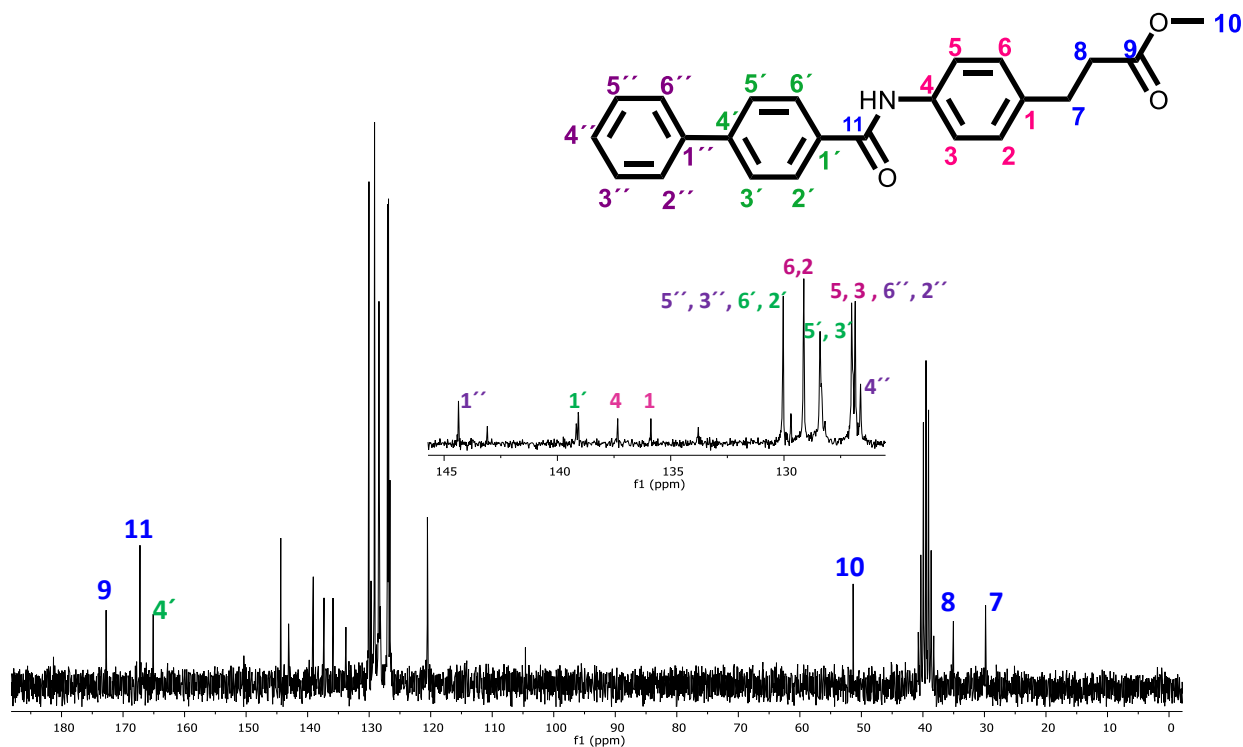


Figura 75. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) del compuesto **MGD-13**.

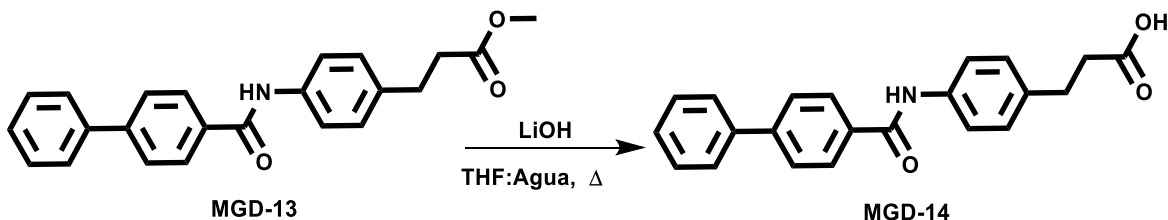
Como se puede observar en la **Figura 74** correspondiente al espectro de  $^1\text{H}$ , se observan a campo bajo un doble de dobles a 8.08 ppm que integra para dos hidrógenos (H-5' y H-3',  $J_o=8.3$  Hz), a 7.74 ppm se encuentran los hidrógenos (H-6'', H-2'',  $J_m=3.7$  Hz, H-6', H-2',  $J_m=1.8$  Hz), a 7.51 aparecen los hidrógenos (H-5'', H-4'', H-3'',  $J_o=7.4$  Hz, H-5 e H-6,  $J_o=6.9$  Hz) y a 7.19 ppm (H-6, H-2,  $J_o=8.4$  Hz) correspondiente a los hidrógenos del anillo aromático central y uno de los anillos del bifenilo. También se observan dos señales triples a 2.92 y 2.62 ppm correspondientes a los metilenos de la posición 7 y 8. Finalmente una señal simple característica del metoxilo del éster a 3.65 ppm.

En el espectro de  $^{13}\text{C}$  (**Figura 75**) se observan las señales correspondientes a cada uno de los carbonos del compuesto **MGD-13**, a 172.7 ppm se encuentra el carbonilo del éster, a 167.2 ppm observamos al carbonilo de la amida, el metilo del éster aparece a 51.3 ppm.



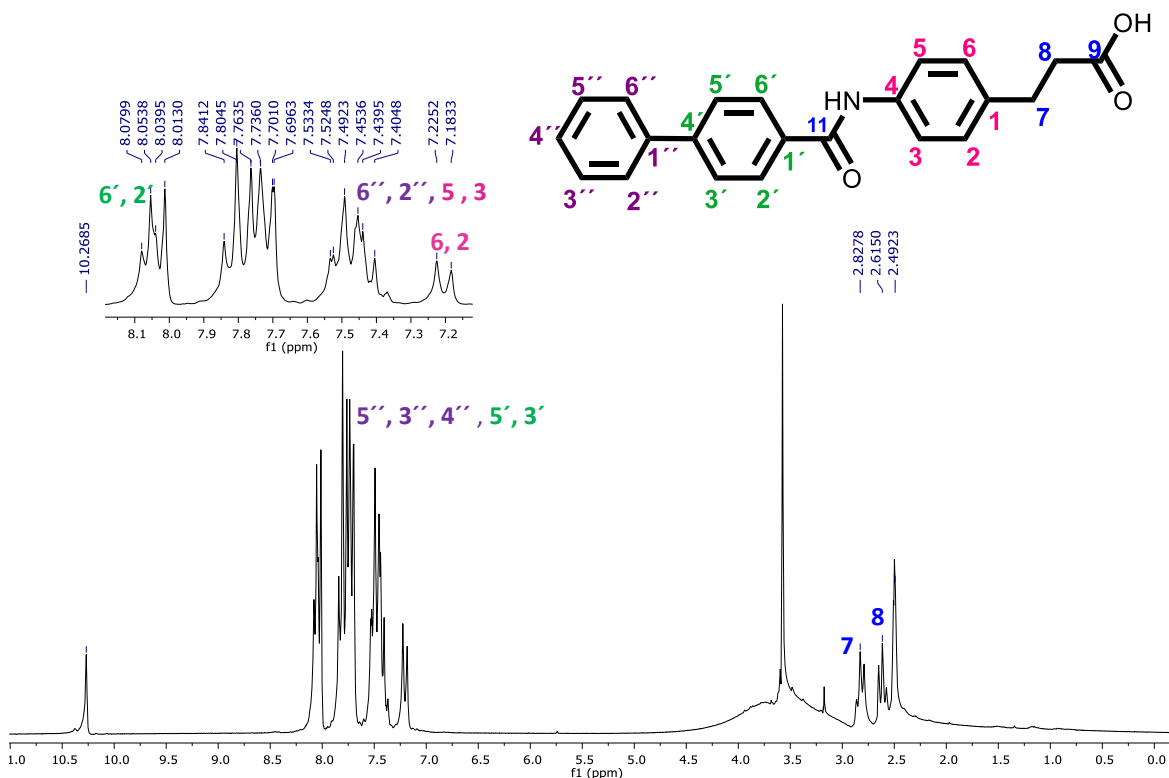
### 8.1.6.2 Síntesis del compuesto final MGD-14:

Finalmente, para la síntesis del compuesto final **MGD-14**, se llevó a cabo una reacción de hidrólisis del éster **MGD-13** previamente obtenido, el cual se disolvió en THF seguido de la adición de LiOH y agua en una proporción 3:1 con respecto al disolvente. Se dejó reaccionar a temperatura de reflujo durante 4 h, siendo monitoreada por CCF hasta observar la conversión completa del éster al ácido correspondiente (**Esquema 26**).



**Esquema 26.** Síntesis del compuesto final **MGD-14**.

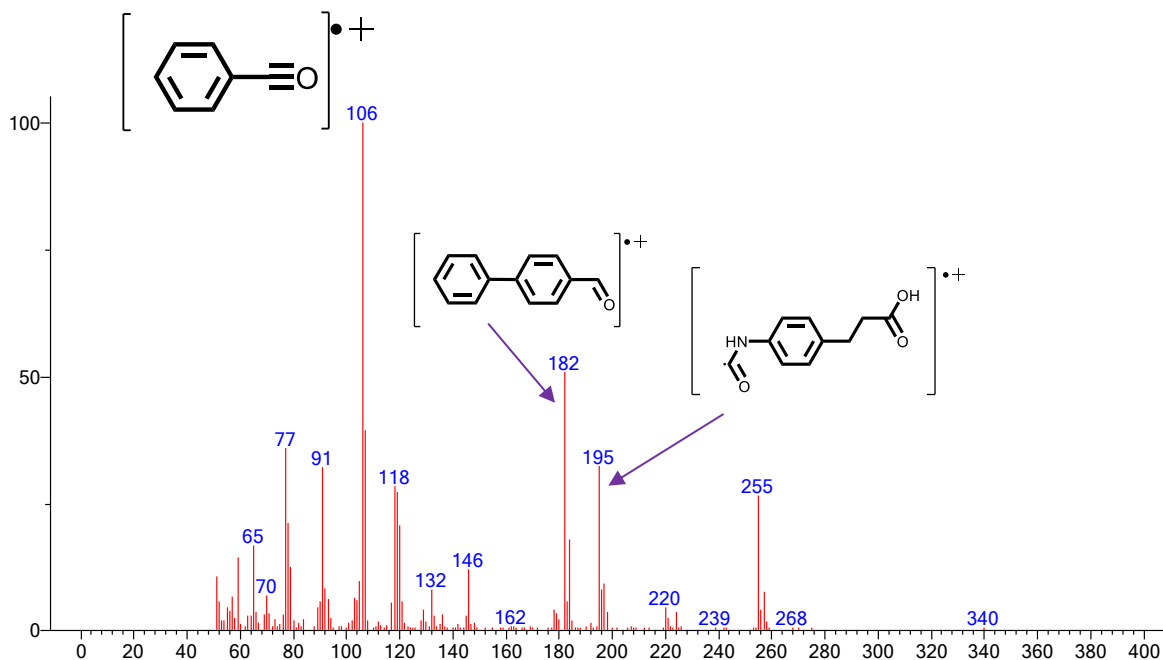
El compuesto obtenido se purificó por cromatografía preparativa. Se recuperó un sólido color blanco con un rendimiento del 35% y un *pf* de 222.8-223.6°C, el cual se analizó por RMN <sup>1</sup>H (**Figura 76**).



**Figura 76.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 200 MHz) del compuesto final **MGD-14**.



En la **Figura 76** se muestra el espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto final **MGD-14**, en el cual conservan las señales observados en el espectro del éster **MGD-13**, pero a diferencia de este último a 3.65 ppm ya no aparece la señal correspondiente al metilo del éster debido a la hidrólisis que se realizó en esta reacción, por cual se confirma la obtención del compuesto de interés.



**Figura 77.** Espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-14**.

En la **Figura 77** correspondiente al espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-14** se observa un ión a una  $m/z$  de 106 con una abundancia relativa del 100%, un ión a una  $m/z$  de 182 correspondiente al fragmento de bifenilo, a una  $m/z$  de 195 se observa un fragmento  $M+1$  correspondiente a la parte del ácido fenilpropiónico.



Para cada uno de los compuestos finales sintetizados **MGD 1-5**, **MGD-14** se obtuvo su espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , dichos desplazamientos se presentan en la **Tabla 9**. Al ser ácidos carboxílicos, los compuestos finales son poco solubles en disolventes orgánicos incluso en dimetilsulfóxido e insolubles en agua, esta baja solubilidad podría deberse a posibles interacciones intermoleculares de tipo puente de hidrógeno que pudiera estar formando cada una de estas moléculas.

**Tabla 9.** Desplazamientos químicos de RMN de  $^{13}\text{C}$  correspondientes a los compuestos finales **MGD 1-5** y **MGD-14** sintetizados.

Compuesto Posición	Desplazamiento (DMSO- $d_6$ , $\delta$ $^{13}\text{C}$ ) 100 MHz					
	MGD-1	MGD-2	MGD-3	MGD-4	MGD-5	MGD-14
1	137.9	137.9	136.7	136.96	136.9	136.9
2	117.3	121.6	118.2	128.56	128.7	127.9
3	129.0	128.7	129.3	119.14	119.3	121.5
4	137.3	136.8	130.9	136.96	136.9	135.1
5	129.0	128.7	129.3	119.14	119.3	121.5
6	117.3	121.6	118.2	128.56	128.7	127.9
7	31.5	31.5	31.5	29.70	31.2	30.2
8	36.5	36.2	37.9	36.29	36.3	34.2
9	178.2	177.9	179.2	172.64	176.6	174.4
10	-	-	-	-	-	-
11	166.6	166.3	162.0	166.07	166.3	164.7
12	38.7		37.9	34.95	38.2	-
13	-	-	-	55.48	21.4	-
1'	-	-	-	-	-	133.1
2'	150.4	150.2	138.7	136.96	149.5	130.2
3'	-	-	-	-	-	128.0
3a	137.3	136.8	128.9	136.96	137.6	-
4'	122.0	128.7	121.2	110.51	122.9	144.2
5'	117.3	121.6	122.2	125.63	130.7	128.0
6'	129.0	128.7	126.0	135.64	130.7	130.2
7'	119.7	119.3	121.2	136.96	122.9	-
7a	137.9	137.9	128.9	135.64	137.6	-
1''	-	-	-	-	-	140.8
2''	-	-	-	-	-	127.9
3''	-	-	-	-	-	129.2
4''	-	-	-	-	-	127.6
5''	-	-	-	-	-	129.2
6''	-	-	-	-	-	127.9



## 8.2 Parte Computacional *a priori*

Se llevó a cabo la predicción de las propiedades farmacocinéticas, farmacodinámicas y de toxicidad de cada uno de los compuestos finales **MGD 1-5** y **MGD-14**, empleando diversas herramientas químico-informáticas.

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

Mediante el uso del programa computacional PASS online se llevó a cabo la predicción de la actividad biológica de los compuestos híbridos de benzazoles y ácido fenilpropiónico. De estas actividades biológicas se seleccionaron solo aquellas que se relacionan con la actividad esperada en este proyecto, es decir, como antidiabético y antihiperlipidémico, como se observa a continuación (**Tabla 10**).

**Tabla 10.** Predicción de la actividad biológica de los compuestos **MGD 1-5** y **MGD-14**, determinada por el programa PASS.

Compuesto:	Antidiabético		Agonista PPAR $\gamma$		Agonista PPAR $\alpha$		Hipolipemiante		Promotor de insulina		Sensibilizador de insulina	
	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
<b>MGD-1</b>	0.145	0.062	-	-	-	-	0.579	0.026	0.401	0.063	0.083	0.063
<b>MGD-2</b>	-	-	0.051	0.047	0.035	0.034	<b>0.769</b>	0.009	0.270	0.182	0.128	0.034
<b>MGD-3</b>	<b>0.251</b>	<b>0.113</b>	0.081	0.019	0.050	0.023	0.468	0.043	0.301	0.137	0.078	0.071
<b>MGD-4</b>	-	-	-	-	-	-	0.570	0.027	0.255	0.210	0.088	0.058
<b>MGD-5</b>	-	-	-	-	-	-	0.584	0.025	0.474	0.036	-	-
<b>MGD-14</b>	<b>0.345</b>	0.062	0.099	0.025	0.036	0.033	-	-	<b>0.592</b>	0.015	0.160	0.022
<b>Tesaglitazar</b>	0.940	0.004	0.844	0.002	0.912	0.001	0.807	0.007	-	-	0.968	0.001

En la **Tabla 10** se muestran las distintas probabilidades de actividad que podría tener cada uno de los compuestos finales (**MGD 1-5** y **MGD-14**). Al ser comparados con Tesaglitazar, este presenta mejores valores de probabilidad de actuar como antidiabético sin embargo, no se descarta la probabilidad de actividad de nuestros compuestos, ya que la baja probabilidad de la actividad puede deberse a que, al realizar el análisis el programa no encontró relación estructural para determinar la probabilidad de actividad de los compuestos diseñados con los de su base de datos. Sin embargo, los compuestos **MGD 1-5** presentaron buena probabilidad de actuar como hipolipemiantes de manera similar a



Tesaglitazar y el compuesto **MGD-14** es el que presenta mejores probabilidades de actuar como promotor de insulina, incluso que Tesaglitazar.

### 8.2.2 Predicción de la actividad biológica (Swiss TargetPrediction)

Se llevó a cabo la predicción de la actividad biológica empleando el servidor **Swiss TargetPrediction** para completar y comparar con los resultados obtenidos con el programa PASS online de cada uno de los compuestos finales **MGD 1-5 y MGD-14**, tal como se muestra en la **Tabla 11**.

**Tabla 11.** Predicción de actividad biológica de los compuestos **MGD 1-5 y MGD-14**, determinada por el servidor en línea Swiss TargetPrediction.

SwissTargetPrediction		
Compuesto:	Sitio de acción	Probabilidad de actividad
MGD-1	-	-
MGD-2	-	-
MGD-3	PPAR $\gamma$ y PPAR $\alpha$	28.5%
MGD-4	-	-
MGD-5	-	-
MGD-14	GPR40	68.5%

De acuerdo con los valores arrojados por el servidor Swiss TargetPrediction, el compuesto **MGD-3** presentó una probabilidad discreta (28.5%) de actuar a nivel de los receptores PPAR $\alpha$  y PPAR $\gamma$ , lo cual indica que este compuesto podría ser considerado como un agonista dual, actuar como antidiabético y antihiperlipidémico, mientras que el compuesto final **MGD-14** presenta una buena probabilidad de actuar a nivel del receptor GPR40, receptor acoplado a proteína G cuya función es la estimulación de la secreción de insulina mediada por ácidos grasos de manera independiente a la glucosa. Estos valores se complementan con lo obtenido en PASS online para ambos compuestos, lo cual aumenta sus probabilidades de actividad.



### 8.2.3 Predicción de actividades cuasi-fármaco (OSIRIS)

Se llevó a cabo la evaluación de las propiedades cuasi-fármaco de los compuestos finales (**MGD 1-5 y MGD-14**) empleando el programa computacional OSIRIS (**Tabla 12**), el cual permite observar los valores obtenidos mediante un código de colores: verde (valores aceptables) dicho color se intensifica ligeramente pasando por verde claro, amarillo, naranja, hasta llegar a rojo (valores no deseados).

**Tabla 12.** Predicción de las propiedades cuasi-fármaco de los compuestos finales **MGD 1-5 y MGD-14** calculadas mediante el programa OSIRIS.

	Tumorígeno	Irritante	Reproductivo	<i>Drug-likeness</i>	<i>Drug score</i>
MGD-1				1.57	0.71
MGD-2				1.72	0.54
MGD-3				1.76	0.6
MGD-4				2.5	0.73
MGD-5				-4.27	0.36
MGD-14				-2.9	0.22
<div style="display: flex; justify-content: space-between; width: 100%;"> <span style="background-color: red; color: white; padding: 2px;">Alto riesgo</span> <span style="background-color: orange; color: white; padding: 2px;">Riesgo moderado</span> <span style="background-color: green; color: white; padding: 2px;">Sin riesgo</span> </div>					

De acuerdo con el código de colores observado, los compuestos **MGD 1-5** no presentarán riesgo de actuar como tumorígeno, irritante o a nivel reproductivo, así como también presentan valores aceptables en cuanto a sus propiedades cuasi-fármaco y por lo cual presentan una buena calificación como fármaco.





## 8.2.4 Predicción de las propiedades farmacocinéticas (admetSAR)

Mediante el programa admetSAR se llevó a cabo la predicción de las propiedades farmacocinéticas de los compuestos finales (**MGD 1-5 y MGD-14**), obteniendo valores de absorción, metabolismo y de toxicidad basadas en una relación estructura-actividad (**Tabla 13**).

**Tabla 13.** Propiedades farmacocinéticas de los compuestos finales, **MGD 1-5 y MGD-14** calculadas mediante el programa admetSAR.

Modelo	Resultado	MGD-1	MGD-2	MGD-3	MGD-4	MGD-5	MGD-14	Tesaglitazar
<b>Absorción</b>								
Barrera Hematoencefálica	BBB+	BBB+ 0.9011	BBB+ 0.8182	BBB+ 0.9396	BBB- 0.5972	BBB+ 0.6615	BBB+ 0.9864	BBB+ 0.8044
Absorción en intestino humano	HIA+	0.8236	0.8218	0.8295	0.5210	0.9304	0.9527	0.6102
Substrato de glicoproteína-P	No sustrato	0.6404	0.7186	0.6846	0.5000	0.6538	0.7958	Sustrato 0.5000
Inhibidor de la glicoproteína -P	No inhibidor	0.9080	0.8223	0.8411	0.8303	0.8225	0.9015	0.8119
<b>Metabolismo</b>								
CYP450 2C9 Sustrato	No sustrato	0.8272	0.8304	0.8206	0.7629	0.8169	0.7790	0.6777
CYP450 2D6 Sustrato	No sustrato	0.7867	0.8039	0.8011	0.7684	0.8214	0.8684	0.8183
CYP450 3A4 Sustrato	No sustrato	0.6693	0.5957	0.6477	Sustrato 0.5101	0.5628	0.6696	0.7009
<b>Toxicidad</b>								
Toxicidad AMES	AMES (no tóxico)	0.8137	0.7804	0.8259	0.7407	0.7033	0.8352	0.6182
Carcinogénesis	No carcinógeno	0.9059	0.9089	0.9020	0.9270	0.7964	0.8203	0.6182
Toxicidad en pez	Alta toxicidad	1.6311	1.4027	1.5585	1.34	1.4814	1.5695	0.9284
<b>Alto riesgo</b>		<b>Riesgo moderado</b>				<b>Sin riesgo</b>		



De acuerdo con los resultados arrojados por el programa admetSAR, los compuestos **MGD 1-5 y MGD-14** presentarán buena absorción en intestino humano, no serán sustrato de glicoproteína P, la cual se encuentra relacionado con la resistencia a fármacos, no son sustrato de las principales isoformas del CYP450, lo que indica que no habrá interacciones fármaco-fármaco, por lo cual no presentará toxicidad de este tipo. Cabe mencionar que estos compuestos **MGD 1-5 y MGD-14** en este programa arrojan valores altos que indican que no están relacionados con carcinogénesis y tampoco está relacionado con mutagenicidad de acuerdo con el ensayo de AMES al igual que Tesaglitazar. Con respecto a barrera hematoencefálica (BBB), el programa indica que los compuestos presentaran alta probabilidad de actuar a nivel de sistema nervioso central, sin embargo sabemos que al ser ácidos carboxílicos, estos se encontrar en su forma ionizada por lo cual no podrían llevar a cabo esta acción.

## 8.2.5 Predicción de toxicidad aguda: ACD/ToxSuite

Se llevó a cabo la predicción del perfil toxicológico de los compuestos híbridos basados en ácido fenilpropiónico empleando el programa ACD/ToxSuite, cada uno de los resultados se encuentran divididos de acuerdo con los módulos que presenta esta plataforma.

### 8.2.5.1 Inhibición de isoformas de CYP-450

Uno de los modelos que presenta ACD/ToxSuite, es la predicción de la inhibición de 6 isoformas del citocromo CYP-450 las cuales son relevantes ya que intervienen en el metabolismo de múltiples fármacos, por lo cual la inhibición de alguna de estas isoformas podría provocar toxicidad en el uso concomitante de fármacos. A continuación, en la **Tabla 14** se enlista cada uno de los valores obtenidos en cada isoforma, para los compuestos **MGD 1-5 y MGD-14**.

**Tabla 14.** Predicción de la probabilidad de inhibición de las isoformas del CYP-450 de los compuestos **MGD 1-5 y MGD-14** mediante el programa ACD/ToxSuite.

INHIBICIÓN DE CYP-450						
Compuesto Parámetros	MGD-1	MGD-2	MGD-3	MGD-4	MGD-5	MGD-14
Inhibición P450: 3A4 (10 $\mu$ M)	3%	4%	2%	3%	2%	6%
Inhibición P450: 2D6 (10 $\mu$ M)	2%	2%	2%	7%	2%	2%
Inhibición P450: 2C9 (10 $\mu$ M)	2%	2%	2%	3%	1%	1%
Inhibición P450: 2C19 (10 $\mu$ M)	8%	6%	6%	8%	13%	3%
Inhibición P450: 1A2 (10 $\mu$ M)	8%	8%	8%	13%	8%	2%
Inhibición P450: 3A4 (10 $\mu$ M)	12%	13%	8%	8%	4%	5%
Ketoconazol (Control positivo)	Inhibición del 98% del CYP 3A4					
	Alto riesgo		Riesgo moderado		Sin riesgo	



De acuerdo con los valores obtenidos ninguno de los compuestos diseñados lleva a cabo la inhibición de manera importante sobre alguna de las isoformas del CYP-450 en comparación con el control positivo Ketoconazol el cual inhibe a CYP-3A4 en un 98%, de acuerdo con estos resultados se espera que los compuestos diseñados **MGD 1-5 y MGD-14** no presentarán interacciones fármaco-fármaco, por lo cual se espera que no presenten potencial toxicidad relacionada a la administración con otros fármacos.

### 8.2.5.2 Probabilidad de bloqueo de los canales hERG

Una de las principales causas del retiro de fármacos del mercado es debido al bloqueo de los canales hERG, lo cual está relacionado con riesgo cardiovascular, debido a ello es de gran importancia determinar durante el descubrimiento de fármacos a aquellos compuestos que pudieran presentar cardiotoxicidad.

Debido a ello en este proyecto consideramos importante la evaluación de cada uno de los compuestos diseñados, ACD/ToxSuite permite predecir la probabilidad de bloqueo de estos canales. A continuación, se muestran los resultados obtenidos (**Tabla 15**).

**Tabla 15.** Probabilidad de bloqueo de los canales hERG, mediante el programa ACD/ToxSuite.

Compuesto	Bloqueo de canales hERG a una concentración de 10 $\mu\text{M}$
MGD-1	3%
MGD-2	4%
MGD-3	2%
MGD-4	3%
MGD-5	2%
MGD-14	6%
Tesaglitazar	32%
Saroglitazar	16%
Terfenadina (control positivo)	98%

Alto riesgo
Riesgo moderado
Sin riesgo

Los compuestos diseñados (**MGD 1-5 y MGD-14**) presentan una mínima probabilidad de bloquear los canales hERG a diferencia de Terfenadina (control positivo), Tesaglitazar y Saroglitazar (agonistas duales PPAR $\alpha/\gamma$ ) que bloquean a dichos canales en un 98%, 32% y 16% respectivamente. Por lo tanto, los compuestos diseñados en este proyecto no presentaran potencial toxicidad asociada a arritmias cardiacas.



### 8.2.5.3 Toxicidad aguda

Otro de los parámetros importantes a evaluar durante el diseño de fármacos es la determinación de la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) la cual también se puede predecir empleando el programa ACD/ToxSuite, en rata y ratón empleando diferentes vías de administración. En la tabla siguiente (**Tabla 16**) se muestran los valores obtenidos para cada uno de los compuestos diseñados al ser administrados por vía oral, ya que está en la vía empleada por la mayoría de los compuestos y la preferida por el paciente.

**Tabla 16.** Toxicidad aguda de los compuestos **MGD 1-5 y MGD-14**, obtenida mediante el programa ACD/ToxSuite.

DL <sub>50</sub> (mg/kg)						
Parámetros	MGD-1	MGD-2	MGD-3	MGD-4	MGD-5	MGD-14
Ratón vía oral	2400	2500	2000	3400	2700	1500
Rata vía oral	490	1400	1900	480	490	3400
Categoría OECD						
Intervalo DL <sub>50</sub>	>50 – <2000	>300 – <5000	>300 – <5000	>50 – <2000	>50 – <2000	>300 – <5000
	3, 4	4, 5	4, 5	3, 4	3, 4	4, 5

Los valores obtenidos para la  $DL_{50}$  se clasifican de acuerdo con la OCDE (Organisation for Economic Co-operation and Development), como se observa en la tabla siguiente (**Tabla 17.**) la cual presenta los rangos y las categorías de toxicidad de acuerdo con la  $DL_{50}$ .

**Tabla 17.** Categorías de toxicidad establecidas por la OCDE.

Categoría	1	2	3	4	5
DL <sub>50</sub> (mg/Kg)	≤5	>5 -50≤	>50-300≤	>300-2000≤	>2000-5000≤
Pictograma					
Señal	Peligro	Peligro	Peligro	Advertencia	Advertencia
Indicaciones de peligro	Altamente tóxico	Muy tóxico	Tóxico	Toxicidad moderada	No tóxico

De acuerdo con los rangos dados por la OCDE, los valores de  $DL_{50}$  para los compuestos **MGD 1-5 y MGD-14** se encuentran dentro de las categorías 3, 4 y 5 indicando que los compuestos pueden ser tóxicos, moderadamente tóxicos o no tóxicos.



## 8.2.6 Acoplamiento molecular inverso: DIA-DB

Finalmente se llevó a cabo un acoplamiento molecular inverso con 18 proteínas relacionadas con patologías provocadas por DM, en un servidor de libre acceso perteneciente a la Universidad Católica de Murcia, España (Bioinformatics and High Performance Computing Research Group: BIO-HPC): DIA-DB, que predice el potencial antidiabético de moléculas.

La **Tabla 18** muestra los valores de energía de unión presentada por cada uno de los compuestos sobre distintas dianas asociadas con DM, entre los que se destaca PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$  y GPR40, así como también se muestran algunas interacciones importantes.

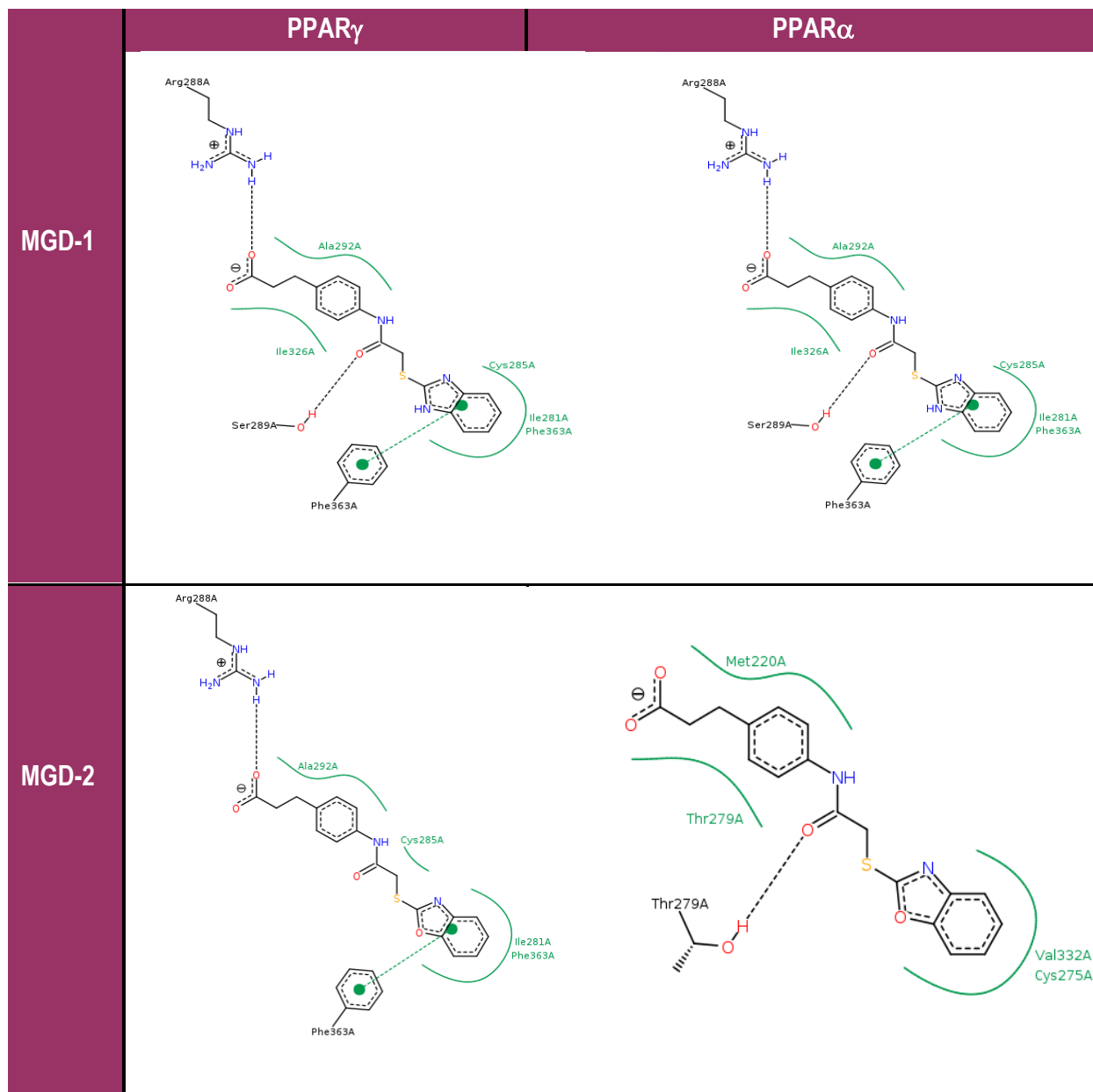
**Tabla 18.** Acoplamiento molecular para cada uno de los compuestos finales **MGD 1-5 y MGD-14**, sobre distintas dianas asociadas con DMT 2 e interacciones importantes sobre PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$  y GPR40.

Proteína	Ligando	MGD-1	MGD-2	MGD-3	MGD-4	MGD-5	MGD-14
<b><math>\Delta G</math> (Kcal/mol)</b>							
	PPAR $\gamma$	-9.2	-9.2	-9.2	-8.9	-8.7	<b>-10.1</b>
	PPAR $\alpha$	-8.2	-8	-8	<b>-8.4</b>	-8.1	-7.7
	GPR40	-9.6	-9.2	-9	-9.2	-9.1	<b>-10.4</b>
	DPP IV	-8.4	-8.3	-8.4	-8.4	-8.1	<b>-9.2</b>
	11 $\beta$ -HSD1	-9	-8.9	-8.2	9.1	-9.1	-9.5
	Aldosa reductasa	-10.4	-10.5	-10.3	-10.4	<b>-10.6</b>	-10.2
Proteína	Ligando	MGD-1	MGD-2	MGD-3	MGD-4	MGD-5	MGD-6
	PPAR $\gamma$	Arg288A, Ala292A, Ile326A, Ser289A, Phe363A, Cys285A, Ile281A,	Arg288A, Ala292A, Cys285A, Ile281A, Phe363A	Arg288A, Ala292A, Cys285A, Ile326A, Phe282A, Ile281A, Phe363A	Leu330A, Met329A, Cys285A, Ser289A, Tyr327A	Arg288A, Ala292A, Phe363A, Cys285A	His449A, Cys285A, Ile326A, Leu330A, Ala292A, Met329A, Gln286A
	PPAR $\alpha$	Met220A, Thr279A, Leu321A, Val332A, Cys275A	Met220A, Thr279A, Val332, Cys275A	Arg288A, Ala292A, Ile326A, Cys285A, Phe282A, Ile281A, Phe363A	Met220A, Thr279A, Val332A, Cys275A	Leu321A, Met220A, Thr279A, Val332A, Cys275A	Leu321A, Met320A, Thr279A, Thr279A
	GPR40	Arg2258A, Arg183A, Leu138A, Phe87A, Val84A	Arg183A, Phe87A, Leu171A, Leu138A, Trp174A, Val84A	Trp174A, Phe87A, Arg183A, Arg2258A, Val84A, Val81A, Pro80A	Arg183A, Trp174A, Leu138A, Leu171A, Phe87A, Phe142A, Leu158A	Arg225A, Arg183A, Trp174A, Leu138A, Leu171A, Phe87A, Val84A	Arg183A, Arg2258A, Trp174A, Leu138A, Gly139A, Val84A, Leu135A, Tyr91A



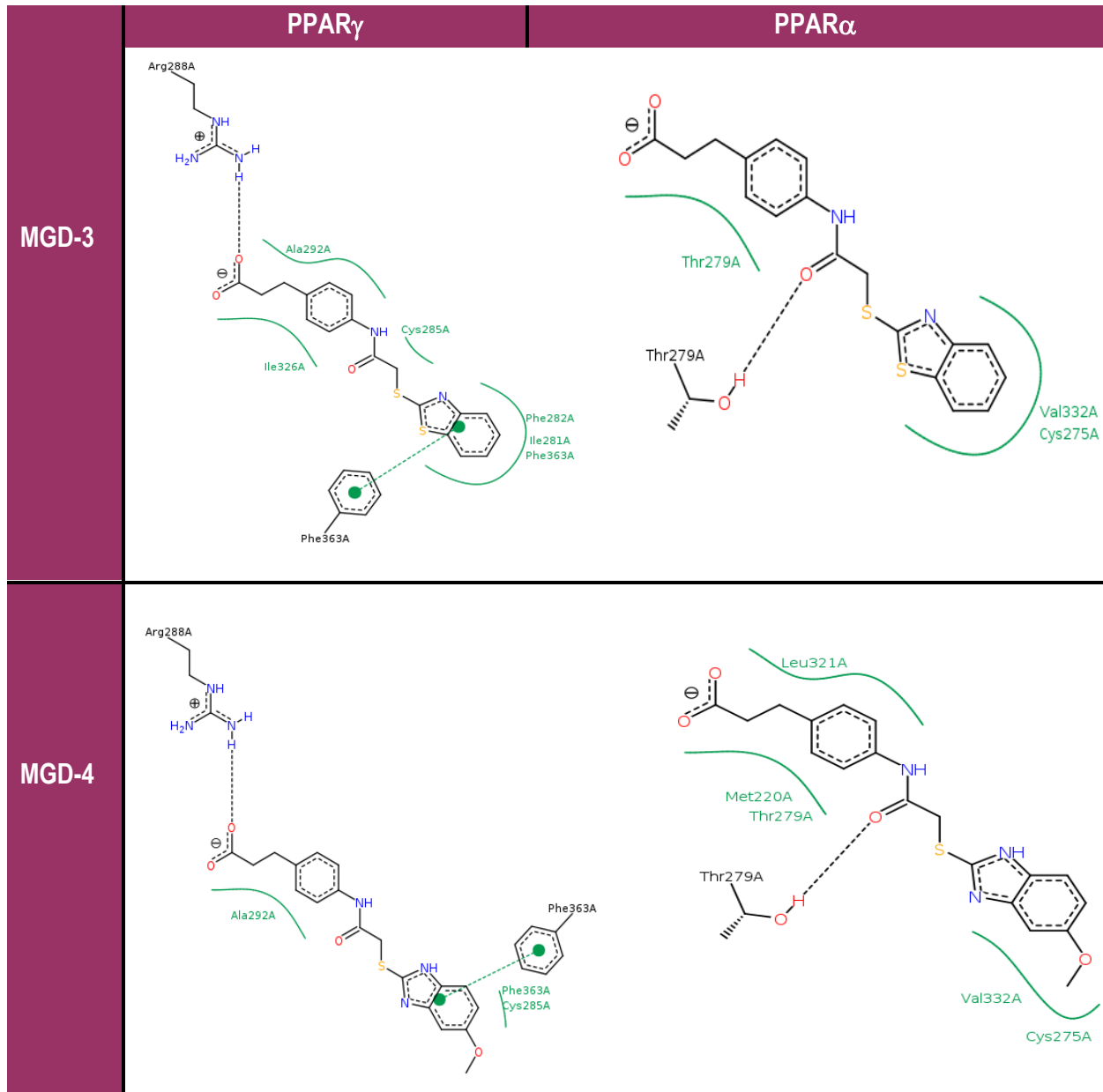
A continuación, se muestran las interacciones ilustradas de los compuestos finales con los receptores PPAR $\alpha$  y PPAR $\gamma$  importantes en este proyecto (**Tabla 19, 20 y 21**), los cuales son comparados con las interacciones presentadas por los ligandos Tesaglitazar y Saroglitazar, agonistas duales PPAR $\alpha/\gamma$ :

**Tabla 19.** Representación de la interacción sobre PPAR $\gamma$  y PPAR $\alpha$  del compuesto final **MGD-1 y MGD-2**.



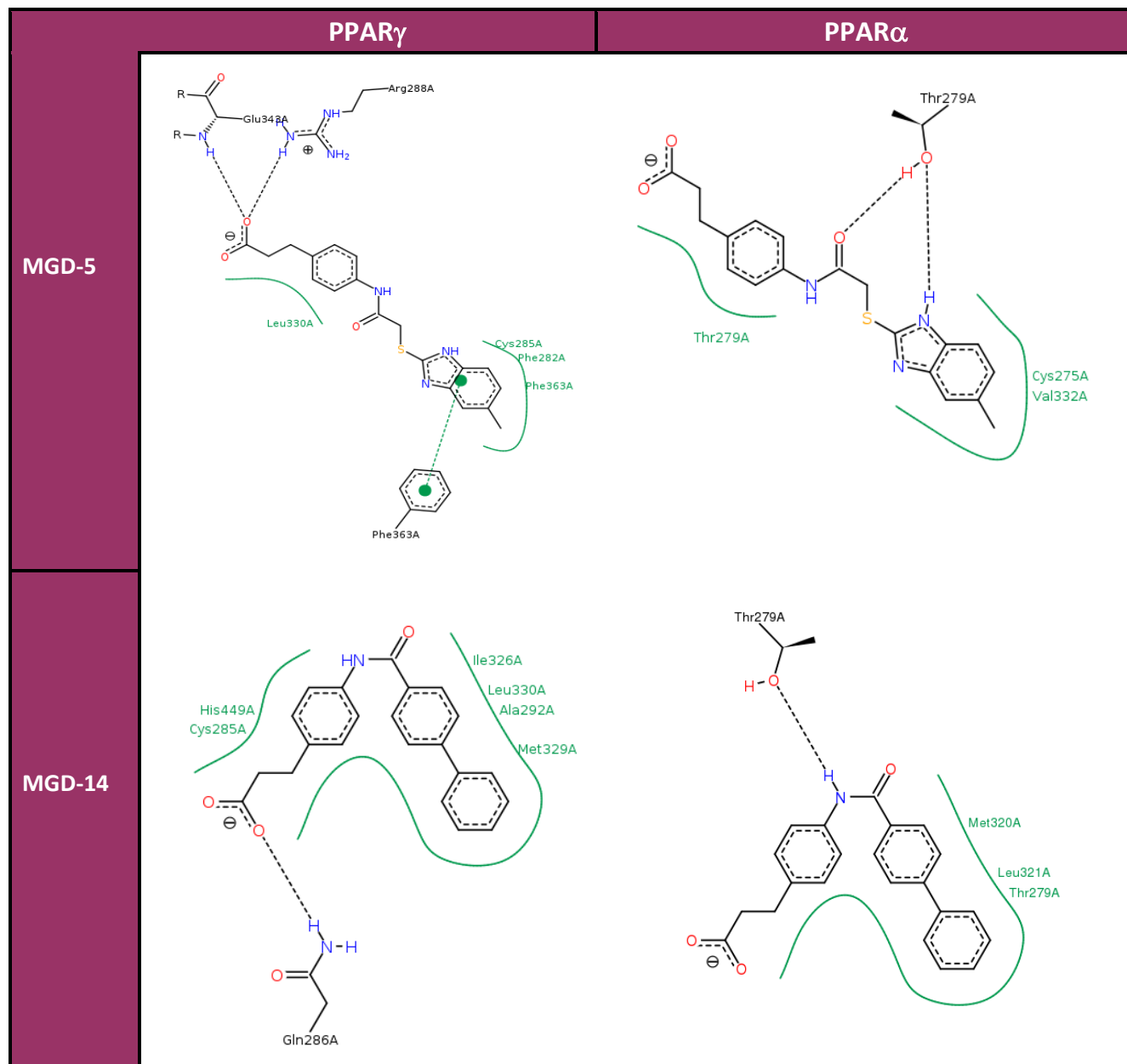


**Tabla 20.** Representación de la interacción sobre PPAR $\gamma$  y PPAR $\alpha$  del compuesto final **MGD-3** y **MGD-4**.





**Tabla 21.** Representación de la interacción sobre PPAR $\gamma$  y PPAR $\alpha$  del compuesto final **MGD-5** y **MGD-14**.



El acoplamiento molecular inverso realizado para cada uno de los compuestos finales muestra las interacciones presentadas sobre cada blanco terapéutico, así como su energía de unión, observando que nuestros compuestos presentan similar o incluso mayor energía de unión que Tesaglitazar y Saroglitazar, así como también comparten interacciones similares con algunos residuos de aminoácido, con lo cual se puede predecir que tendrán una afinidad similar sobre los receptores PPAR $\gamma$  y PPAR $\alpha$ .





## 8.2.7 Análisis de consenso farmacológico

El análisis de consenso farmacológico para la selección de un líder computacional seguro (Safe lead), combina los resultados de diferentes cálculos realizados *in silico* mediante el uso de distintas herramientas químio-informáticas:

- I. Predicciones farmacodinámicas: Las cuales se determinan mediante Acoplamiento molecular (Docking), PASS online, SwissTargetPrediction, DIA-DB etc.
- II. Predicciones farmacocinéticas: Empleando herramientas como AdmetSAR, Metaprint 2D, Metasite, Moilsinpiration, etc.
- III. Predicciones toxicológicas: mediante el uso de ACDToxSuite, OSIRIS, DataWarrior, AdmetSAR etc.

El argumento del análisis de consenso farmacológico se basa en que, entre más cálculos coinciden en la actividad de un compuesto, el cual presenta también baja toxicidad y perfil farmacocinético adecuado, más confiable es la selección/discriminación de dicho compuesto bioactivo (para sintetizarlo y que muestre un comportamiento farmacológico adecuado). Por lo tanto, un compuesto que tiene puntuaciones altas de una colección de predicciones farmacológicas múltiples es más probable que sea un buen inhibidor, agonista o antagonista en un ensayo biológico que un compuesto que tiene una puntuación alta en solo una predicción única. Con base en lo anterior se realizó el análisis de consenso farmacológico de los compuestos sintetizados **MGD 1-5** y **MGD-14**, tal como se muestra a continuación. En la **Tabla 22** y **Figura 78** se ordenaron los compuestos de acuerdo con los aciertos obtenidos en cada una de las herramientas químio-informáticas empleadas en este proyecto, siendo el compuesto final **MGD-14** el que mejores propiedades presentó, seguido del compuesto **MGD-3** y finalmente **MGD-1**. Cabe mencionar que este análisis no indica que los compuestos finales **MGD-2** y **MGD 4-5** no presentan buenas propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas, indica que, al ser comparados todos los compuestos finales entre sí, fueron mejores candidatos los compuestos antes mencionados.

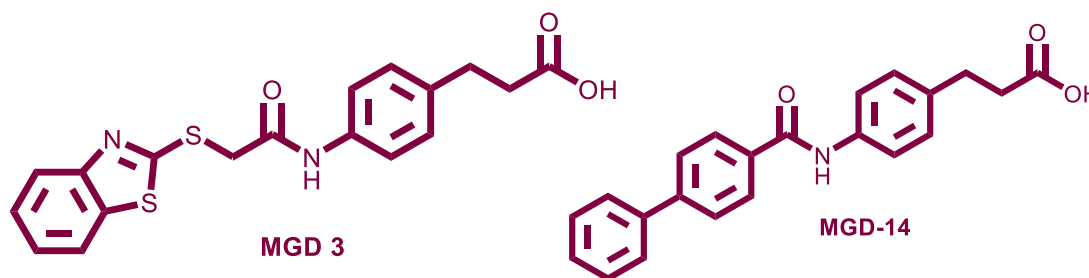
**Tabla 22.** Análisis consenso de cada una de las herramientas químio informáticas empleadas para evaluar de *in silico* los compuestos finales **MGD 1-5** y **MGD-14**.

	PASS online	Swiss TargetPrediction	ACD/Toxsuite	AdmetSAR	OSIRIS	Docking molecular inverso	Acoplamiento Molecular
MGD-14	✓	✓	✓	✓		✓	✓
MGD-3	✓	✓	✓	✓	✓		✓
MGD-1	✓		✓	✓	✓	✓	✓
MGD-4					✓		
MGD-2						✓	✓
MGD-5							



Cabe mencionar que durante la etapa de descubrimiento de fármacos se debe considerar no solo la actividad farmacológica del compuesto sino también se deben evaluar las propiedades fisicoquímicas de las moléculas bioactivas que le permitan tener posteriormente buenas propiedades farmacocinéticas (solubilidad, permeabilidad y estabilidad metabólica), esto permite disminuir la tasa de deserción incluso en etapas posteriores, ya que ciertos candidatos han fracasado durante el desarrollo de fármacos debido a sus pobres propiedades fisicoquímicas.<sup>94</sup>

En las **Tablas 23** se muestran las principales propiedades fisicoquímicas de los compuestos **MGD-3** y **MGD-14** los cuales, de acuerdo con el análisis de consenso farmacológico, presentaron mejores propiedades farmacocinéticas, farmacodinámicas y toxicológicas.

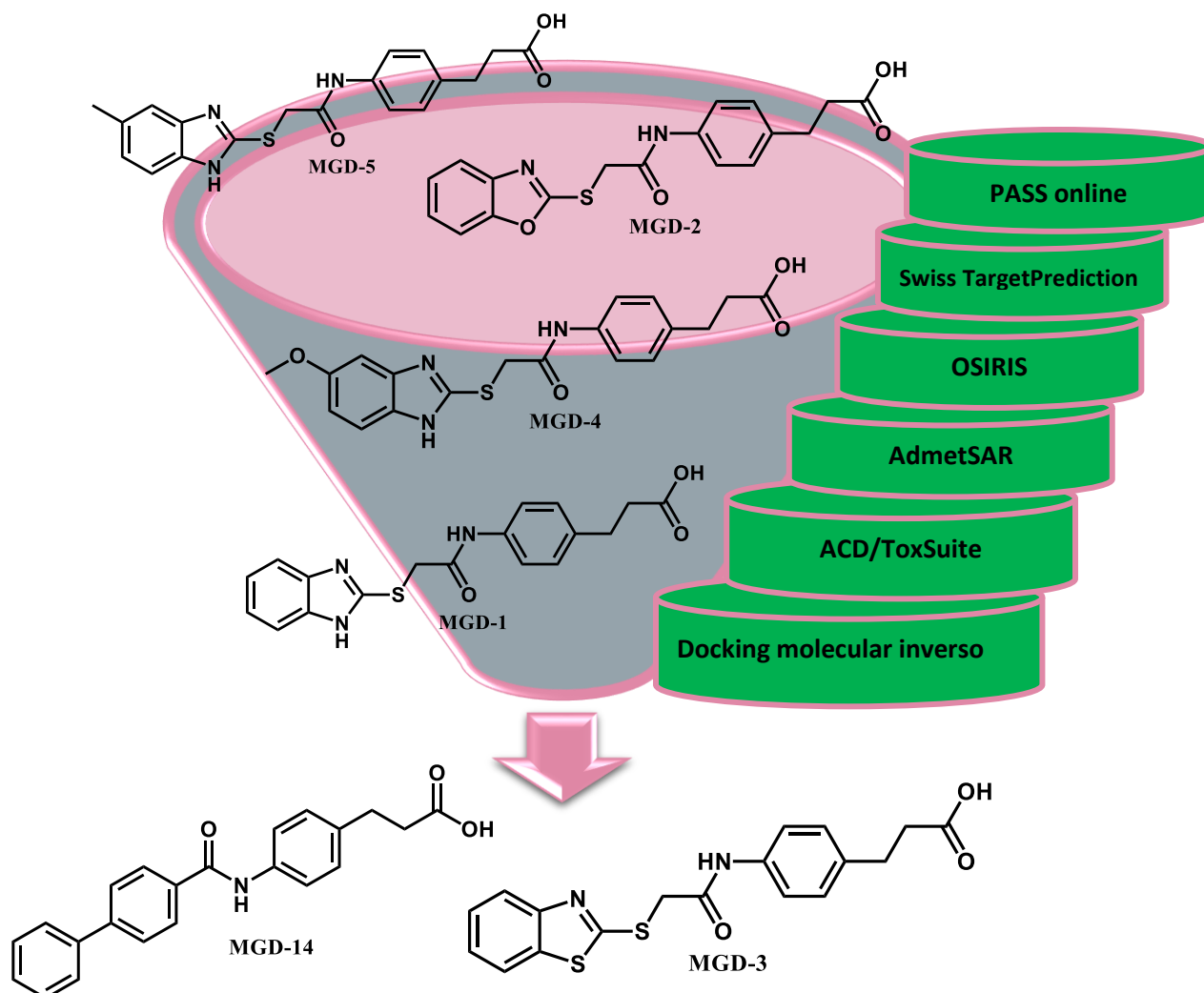


**Tabla 23.** Parámetros fisicoquímicos obtenidos para el compuesto **MGD-3** y **MGD-14**.

PARÁMETROS FISCOQUÍMICOS	VALORES OBTENIDOS	
	MGD-3	MGD-14
PM (g/mol)	372.47	345.40
logD 7.4	0.41	1.20
TPSA (Å <sup>2</sup> )	79.29	66.4
pKa	4.7	4.66
Solubilidad (µg/mL)	44.69	1.19
Lipinski		
Toxicidad		
Farmacocinética		



Los compuestos **MGD-14** y **MGD-3** que presentaron los mejores perfiles farmacocinéticos, toxicológicos y farmacodinámicos por cual se consideran líderes computacionales seguros, debido a ello fueron seleccionados para realizar los ensayos antidiabéticos *in vitro* e *in vivo*.



**Figura 78.** Selección de los mejores candidatos mediante un análisis en conjunto de los datos arrojados por cada una de las herramientas quimioinformáticas empleadas.

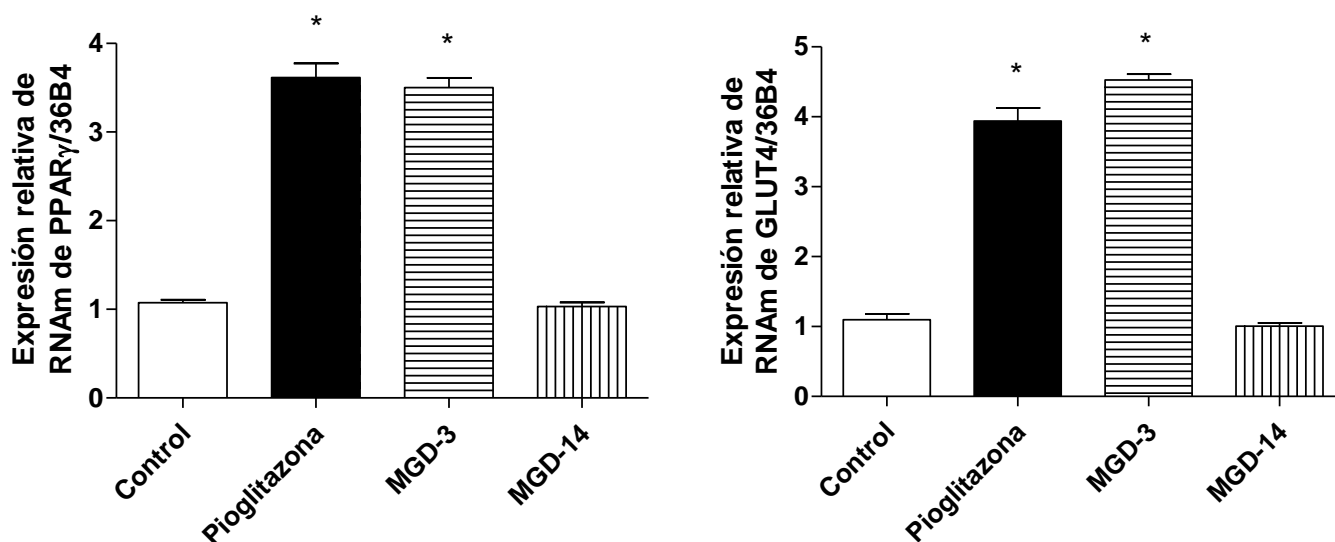


## 8.3 Parte Farmacológica

### 8.3.1 Ensayo *in vitro* de MGD-3 y MGD-14 sobre la expresión de PPAR $\gamma$ , PPAR $\alpha$ , GLUT-4 y FATP-1

Se llevó a cabo la evaluación *in vitro* del efecto de los compuestos **MGD-3** y **MGD-1** sobre la expresión relativa de los genes de PPAR $\alpha$  y PPAR $\gamma$ , así como también de sus productos de activación GLUT-4 y FATP-1, utilizando una concentración de 100  $\mu$ M de cada compuesto, esto de acuerdo con la metodología antes mencionada, se aisló y cuantificó el RNAm con el que se llevó a cabo la expresión de los genes de interés.

En la **Gráfica 1** se muestran los resultados obtenidos para PPAR $\gamma$  y su producto de activación GLUT-4.



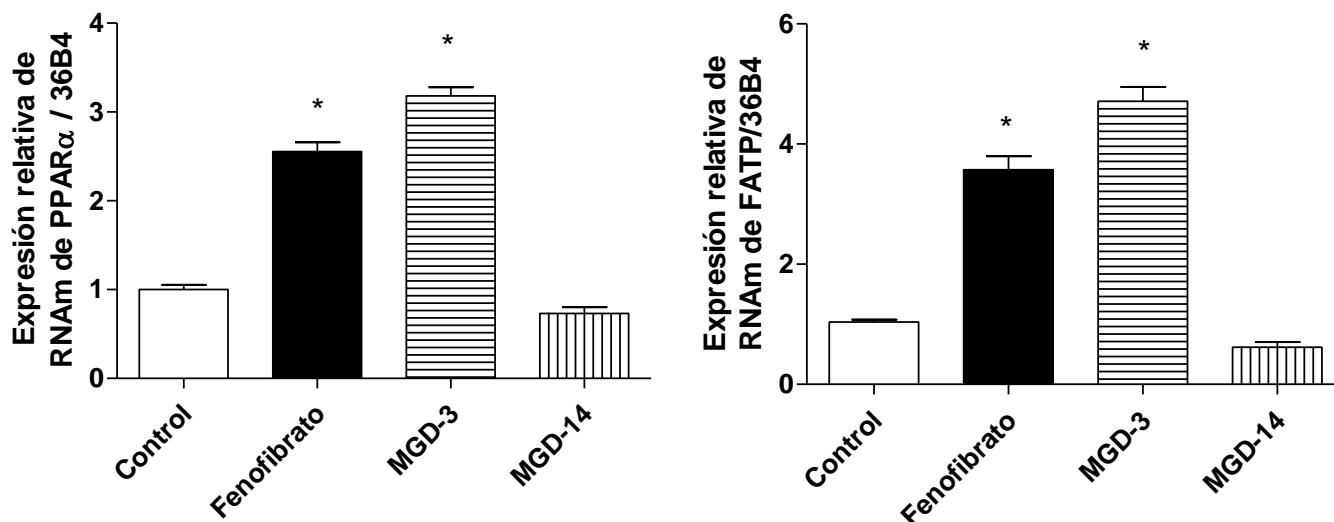
**Gráfica 1.** Expresión relativa de RNAm de PPAR $\gamma$  y GLUT-4 para **MGD-3** y **MGD-14**. Los resultados son el promedio de  $\pm$ EEM (n=3) \*p <0.05 comparado con el control.

Los resultados presentados en la **Gráfica 1** muestran que el compuesto **MGD-3** mostró un incremento significativo en la expresión de PPAR $\gamma$  (tres veces más que el control) de manera similar al fármaco de referencia Pioglitazona, así como también incrementó de manera significativa la expresión de GLUT-4, alrededor de 3 veces más que el control. Sin embargo, el compuesto **MGD-14** no presentó un efecto en la expresión de este receptor al ser comparado con el control y tampoco en la expresión de GLUT-4, por lo que de acuerdo con estos resultados, este compuesto no presenta un efecto a nivel de PPAR $\gamma$ .

El compuesto **MGD-14** no lleva a cabo un efecto en la expresión relativa de PPAR $\alpha$  y tampoco sobre FATP-1, al ser comparado con el control y el fármaco de referencia. Por otro lado, el compuesto **MGD-3** mostró un efecto importante sobre la expresión de este receptor (tres veces más que el control) y de manera similar a Fenofibrato (Agonistas PPAR $\alpha$ ), promueve la expresión de la proteína transportadora de ácidos grasos (FATP-1) producto



de activación de PPAR $\alpha$  cerca de 4 veces más que el control y de manera similar a Fenofibrato (**Gráfica 2**).



**Gráfica 2.** Expresión relativa de RNAm de PPAR $\alpha$  y FATP-1 para **MGD-3** y **MGD-14**. Los resultados son el promedio de  $\pm$ EEM (n=3) \*p <0.05 comparado con el control.

De acuerdo con los resultados obtenidos el compuesto **MGD-3** es un agonista de PPAR $\gamma$  similar a Pioglitazona y agonista PPAR $\alpha$  similar a Fenofibrato, ya que promueve la expresión de GLUT-4 y FATP-1 por lo que de acuerdo con el diseño racional propuesto, este compuesto cumple con el mecanismo propuesto como agonista dual PPAR $\alpha/\gamma$ , lo que sugiere que este compuesto puede reducir los niveles de glucosa en sangre ya que al promover la expresión de GLUT-4 mejora la sensibilidad a la insulina en tejido adiposo y músculo esquelético, impide la transcripción de genes proinflamatorios como TNF $\alpha$  el cual participa en la resistencia a la insulina, adipocitocinas como leptina el factor nuclear NF-kB. Al promover la expresión de FATP-1 mejora la oxidación de ácidos grasos libres y su esterificación en hígado y músculo esquelético disminuyendo su concentración en sangre y síntesis de triglicéridos, por lo que podría emplearse para el tratamiento de dislipidemias, padecimiento asociado comúnmente con pacientes con DMT-2.

El compuesto **MGD-14** no presenta actividad como agonista PPAR en ensayos *in vitro* ya que no promueve la expresión de estos receptores y tampoco de sus productos de activación, uno de los mecanismos de acción propuestos en este proyecto sin embargo, al presentar el patrón farmacofórico unificado podría actuar a nivel de otro receptor o enzima relacionada con el tratamiento de DMT-2.



### 8.3.2 Evaluación antidiabética *in vivo* del compuesto MGD-3

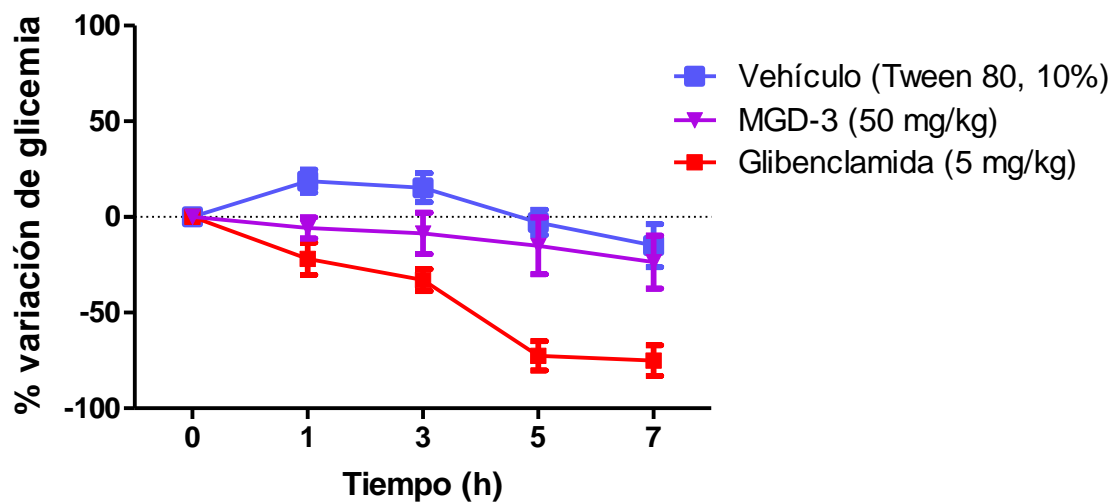
De acuerdo con el análisis de consenso farmacológico para la obtención de un líder computacional seguro, los compuestos **MGD-3** y **MGD-14** presentaron mejores propiedades farmacocinéticas, farmacodinámicas y toxicológicas *in silico*. Debido a ello se priorizó la evaluación farmacológica de la actividad antidiabética de ambos compuestos empleando un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente (DMNID) realizado con Estreptozotocina y Nicotinamida. La Estreptozotocina tiene un efecto selectivo de daño al ser una glucopiranososa y una n-nitrosurea sobre las células  $\beta$  del páncreas a través de la alquilación de ADN, empleando como transportador a GLUT-2, mientras que la Nicotinamida permite un efecto protector de las células  $\beta$  pancreáticas impidiendo un daño total causado por la Estreptozotocina, ya que mantiene un daño similar al de la DMT 2.

Inicialmente se llevó a cabo la evaluación del compuesto **MGD-3** a una dosis exploratoria única de 100 mg/Kg el cual fue suspendido en un 1 mL de una solución al 10% de Tween 80, posteriormente fue administrado vía oral, sin embargo, debido a su baja solubilidad durante el transcurso del ensayo no se observó efecto en la disminución de los niveles de glucosa de acuerdo con la **Tabla 24** y la **Gráfica 3**.

**Tabla 24.** Niveles de glucosa iniciales y finales obtenidos durante el ensayo antidiabético en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente del compuesto **MGD-3**.

Ensayo agudo del compuesto MGD-3 (100 mg/Kg)							
n (# de ratón)	Peso del ratón (g)	Dosis administrada	Valores de glucosa (mg/dL)				
			G0	G1	G3	G5	G7
1	26	1.0	312	256	51	34	31
2	28	1.1	249	417	311	98	76
3	34	1.3	224	295	248	171	135
4	26	1.0	399	483	482	500	288
5	38.5	1.5	193	95	101	44	66
6	27.3	1.0	351	399	320	224	100

G = valores de glucosa obtenidos al tiempo 0, hora 1, 3, 5 y 7



**Grafica 3.** Ensayo agudo antidiabético del compuesto **MGD-3** a una dosis de 50 mg/kg, Vehículo (Tween 80 al 10%), Glibenclamida (5 mg/kg) en un modelo de ratón experimental no insulino-dependiente. Los resultados son el promedio del error  $\pm$  EE, n=5, V.O

Debido al resultado observado por el **MGD-3** se decidió llevar a cabo la evaluación del siguiente compuesto obtenido del análisis de consenso farmacológico, de acuerdo con la **Tabla 22**, el siguiente compuesto que presentó buenas propiedades farmacocinéticas, farmacodinámicas y toxicológicas es **MGD-1** (**Tabla 25**).

**Tabla 25.** Parámetros fisicoquímicos obtenidos para el compuesto **MGD-1**.

PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS	VALORES OBTENIDOS	ESTRUCTURA
	MGD-3	
PM (g/mol)	355.41	<p style="text-align: center;"><b>MGD-1</b></p>
logD 7.4	0.41	
TPSA (Å <sup>2</sup> )	95.08	
pKa	4.7	
Solubilidad (µg/mL)	44.69	
Lipinski		
Toxicidad		
Farmacocinética		



### 8.3.3 Evaluación antidiabética *in vivo* del compuesto MGD-1

Con base en los resultados antes presentados se llevó a cabo la evaluación del siguiente compuesto obtenido del análisis de consenso farmacológico de acuerdo con la **Tabla 22**, el siguiente compuesto que presentó buenas propiedades farmacocinéticas, farmacodinámicas y toxicológicas fue **MGD-1**.

Para la evaluación de este compuesto se utilizó como control positivo al fármaco Glibenclamida (fármaco hipoglicemiante), disponible actualmente en el mercado, el cual presenta un efecto como secretagogo de insulina se utilizó una dosis exploratoria única de 100 mg/Kg de peso con un total de 5 ratones de los cuales se muestra en la **Tabla 26** sus niveles de glucosa iniciales y al finalizar el ensayo.

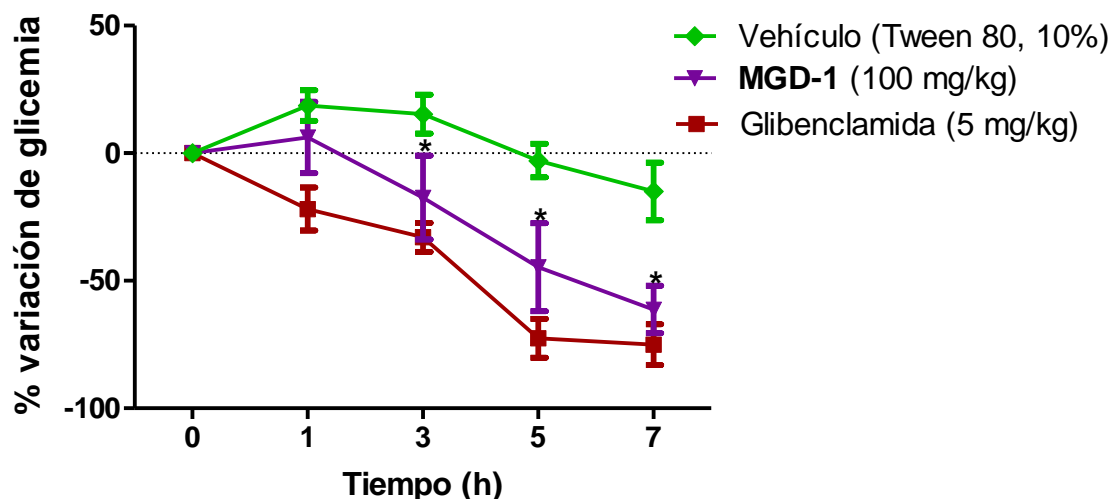
**Tabla 26.** Niveles de glucosa iniciales y finales obtenidos durante el ensayo antidiabético en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente del compuesto **MGD-1**.

Ensayo agudo del compuesto MGD-1 (100 mg/Kg)							
n (# de ratón)	Peso del ratón (g)	Dosis administrada	Valores de glucosa (mg/dL)				
			G0	G1	G3	G5	G7
1	26	1.0	312	256	51	34	31
2	28	1.1	249	417	311	98	76
3	34	1.3	224	295	248	171	135
4	26	1.0	399	483	482	500	288
5	38.5	1.5	193	95	101	44	66
6	27.3	1.0	351	399	320	224	100

G = valores de glucosa obtenidos al tiempo 0, hora 1, 3, 5 y 7

De acuerdo con los valores obtenidos en la **Tabla 25** los niveles de glucosa aumentaron en la primera hora para los ratones 2, 3, 4 y 6 debido al estrés provocado al momento de la manipulación, lo cual causa dentro del organismo un aumento en los niveles de cortisol, que posteriormente provocará un aumento en los niveles de glucosa. A la hora 3 se observó una disminución de glucosa en 30 a 60% en algunos de los casos, observando que al finalizar el ensayo los niveles de glucosa se mantuvieron cercanos a los basales. Se graficó el porcentaje de variación de glucosa para observar adecuadamente el efecto antidiabético del compuesto **MGD-1**, tal como se observa en la **Gráfica 4**.





**Grafica 4.** Ensayo agudo antidiabético del compuesto **MGD-1** a una dosis de 100 mg/kg, Vehículo (Tween 80 al 10%), Glibenclamide (5 mg/kg) y Pioglitazona (30 mg/kg) en un modelo de ratón experimental no insulino-dependiente. Los resultados son el promedio del error  $\pm$  EE, n=5, V.O p <0.05 vs vehículo.

En la gráfica anterior se puede observar una disminución de los niveles de glucosa del compuesto **MGD-1** de manera estadísticamente significativa desde la tercera hora, lo cual continuó hasta finalizar el ensayo, presentando un efecto antihiperглиcemiante.

### 8.3.4 Evaluación antidiabética *in vivo* del compuesto MGD-14

Se evaluó la actividad antidiabética del compuesto **MGD-14** a través de un modelo de ratón no insulino-dependiente diabetizado con Estreptozotocina y Nicotinamida. Como control positivo se utilizó al fármaco Glibenclamide.

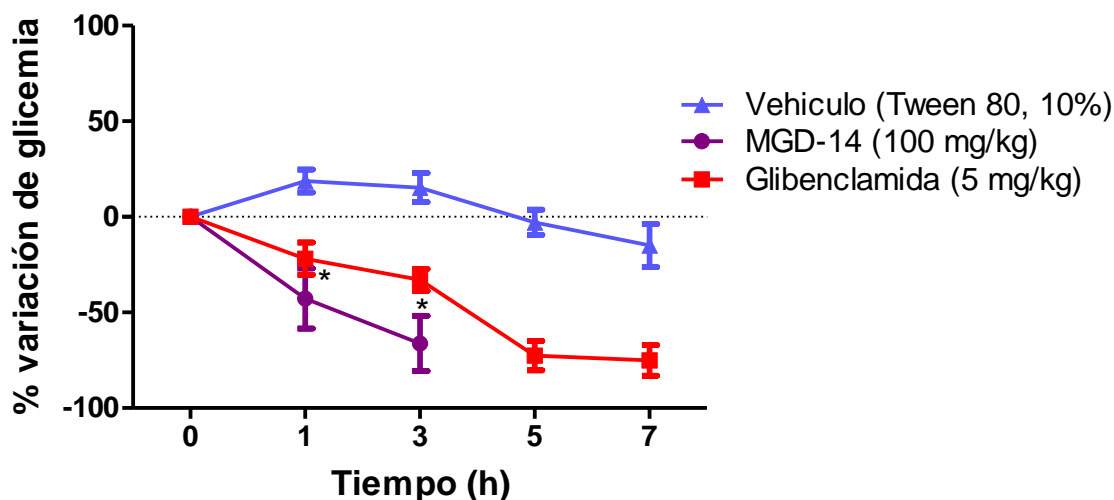
Inicialmente para el compuesto **MGD-14** se empleó una dosis exploratoria de 100 mg/kg de peso con un número de ratones de 7, los cuales presentaron niveles de glucosa de entre 250 – 400 mg/dL (**Tabla 27**) sin embargo, se observó a la primera hora un efecto hipoglucemiante con una disminución de los niveles de glucosa de 65% y a la tercera hora estos valores oscilaban entre los 25-90 mg/dL, debido a ello no se pudo terminar el ensayo (**Gráfica 5**).



**Tabla 27.** Niveles de glucosa iniciales y finales obtenidos durante el ensayo antidiabético del compuesto **MGD-14** a una dosis de 100 mg/Kg.

Ensayo agudo del compuesto MGD-14 (100 mg/kg)							
n (# de ratón)	Peso del ratón (g)	Dosis administrada	Valores de glucosa (mg/dL)				
			G0	G1	G3	G5	G7
1	24.1	1.0	422	97	36	-	-
2	24.2	1.0	269	71	31	-	-
3	32.6	1.1	315	207	198	149	-
4	23.0	1.2	285	65	34	-	-
5	23.4	1.0	320	106	26	-	-
6	25.1	1.1	353	394	91	85	-
7	23.9	1.5	385	452	415	417	-

G = valores de glucosa obtenidos al tiempo 0, hora 1, 3, 5 y 7



**Grafica 5.** Ensayo agudo antidiabético del compuesto **MGD-14** a una dosis de 100 mg/kg, Vehículo (Tween 80 al 10%), Glibenclamida (5 mg/kg), en un modelo de ratón experimental no insulino-dependiente. Los resultados son el promedio del error  $\pm$  EE, n=5, V.O p <0.05 vs vehículo.

Debido a los resultados presentados anteriormente se decidió disminuir la dosis del compuesto **MGD-14** a 50 mg/kg de peso para poder completar el experimento, empleando niveles de glucosa más altos tal como se muestra a continuación (**Tabla 28**), utilizando una n= 5 ratones al final del experimento.

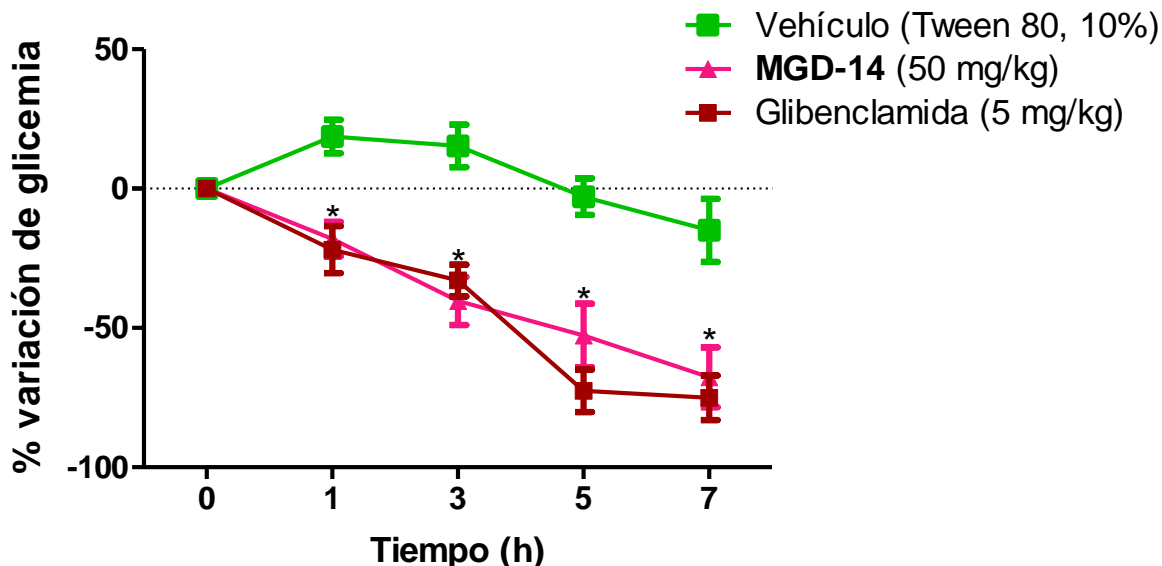


**Tabla 28.** Niveles de glucosa iniciales y finales obtenidos durante el ensayo antidiabético en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente del compuesto **MGD-14**.

Ensayo agudo del compuesto MGD-14 (50 mg/kg)							
n (# de ratón)	Peso del ratón (g)	Dosis administrada	Valores de glucosa (mg/dL)				
			G0	G1	G3	G5	G7
1	32.8	1.1	528	445	124	49	38
2	26.0	0.9	563	538	406	372	290
3	24.3	0.9	536	403	213	36	-
4	26.6	0.9	540	385	291	90	42
5	35.3	1.2	548	373	326	299	172
6	23.7	0.8	580	279	73	32	-
7	26.7	0.9	583	398	368	346	129
8	32.7	1.1	530	550	456	414	392

G = valores de glucosa obtenidos al tiempo 0, hora 1, 3, 5 y 7

De acuerdo con la tabla anterior los niveles de glucosa disminuyeron desde la primera hora en un 20-30%, observando que para la hora 5 los niveles de glucosa de los ratones 3 y 6 disminuyeron en un 93% por lo cual para la hora 7 no se consideraron. Cada uno de los valores obtenidos en el experimento fueron graficados empleando una n de 5, utilizando como vehículo a Tween 80 al 10% y como control positivo Glibenclamida a una dosis de 5 mg/Kg. El efecto antidiabético agudo del compuesto evaluado se representa en la **Gráfica 6**.



**Grafica 6.** Ensayo agudo antidiabético del compuesto **MGD-14** a una dosis de 50 mg/kg, Vehículo (Tween 80 al 10%), Glibenclamida (5 mg/kg), en un modelo de ratón experimental no insulino-dependiente. Los resultados son el promedio del error  $\pm$  EE, n=5, V.O p < 0.05 vs vehículo.

En la gráfica anterior se puede observar que el compuesto **MGD-14** (morado) presenta un efecto hipoglicemiante similar al efecto presentando por glibenclamida (rojo) con una disminución del porcentaje de variación de glucosa de -30% desde la primera hora conservando ese efecto hasta la hora 7 post administración observando un porcentaje de variación de glucosa de -85%.

El compuesto **MGD-14** al ser administrado fue bien absorbido, presentando buena actividad como hipoglicemiante, sin embargo, no presenta el efecto antihiperglicemiante planteado de manera inicial considerado al ser agonista dual PPAR $\alpha/\gamma$ . Realizando una conjunción de los resultados *in silico* e *in vivo*, el compuesto **MGD-14** presenta mediana probabilidad de ser agonista PPAR como sensibilizador de insulina, así como alta probabilidad de presentar un efecto como secretagogo de insulina aunado a una actividad como agonista de GPR40, con lo cual se observa *in vivo* el efecto como hipoglicemiante, lo que podría deberse a un efecto MULTITARGET, es decir, que nuestro compuesto actúa a nivel de varias de las dianas implicadas en el proceso de DMT-2, lo que favorece su efecto antidiabético, así como a un probable efecto insulino-mimético, lo que podría explicar el efecto presentado de manera similar a Glibenclamida como hipoglicemiante que no se observa en los agonistas de GPR40.



## 8.4 Parte Computacional *a posteriori*

### 8.4.1 Acoplamiento molecular (Molecular Docking)

El acoplamiento molecular automatizado consiste en la búsqueda de la conformación y posición óptima de un ligando dentro de una diana molecular (Receptor, enzima o canal iónico), lo cual permite observar el posible modo de unión del compuesto y predecir la afinidad del ligando con la diana molecular.<sup>73,93</sup>

Se llevó a cabo el acoplamiento molecular sobre el receptor PPAR $\gamma$  y PPAR $\alpha$  de los compuestos **MGD-1** y **MGD-3**, los cuales presentaron buena actividad al ser evaluados en ensayos de manera experimental como agonistas PPAR. Para el compuesto **MGD-14** se realizó un acoplamiento molecular sobre otras dianas implicadas en el tratamiento de DMT 2 esto debido a que no presente un efecto como agonista de PPAR en ensayos *in vitro*, pero se obtuvo un potente efecto hipoglucemiante en ensayos *in vivo*.

Para la realización del acoplamiento molecular se utilizaron 5 proteínas obtenidas de la base de datos de proteínas (Protein Data Bank / PDB) las cuales se muestran en la **Tabla 29**.

**Tabla 29.** Diana moleculares empleadas para la realización del acoplamiento molecular y sus características.

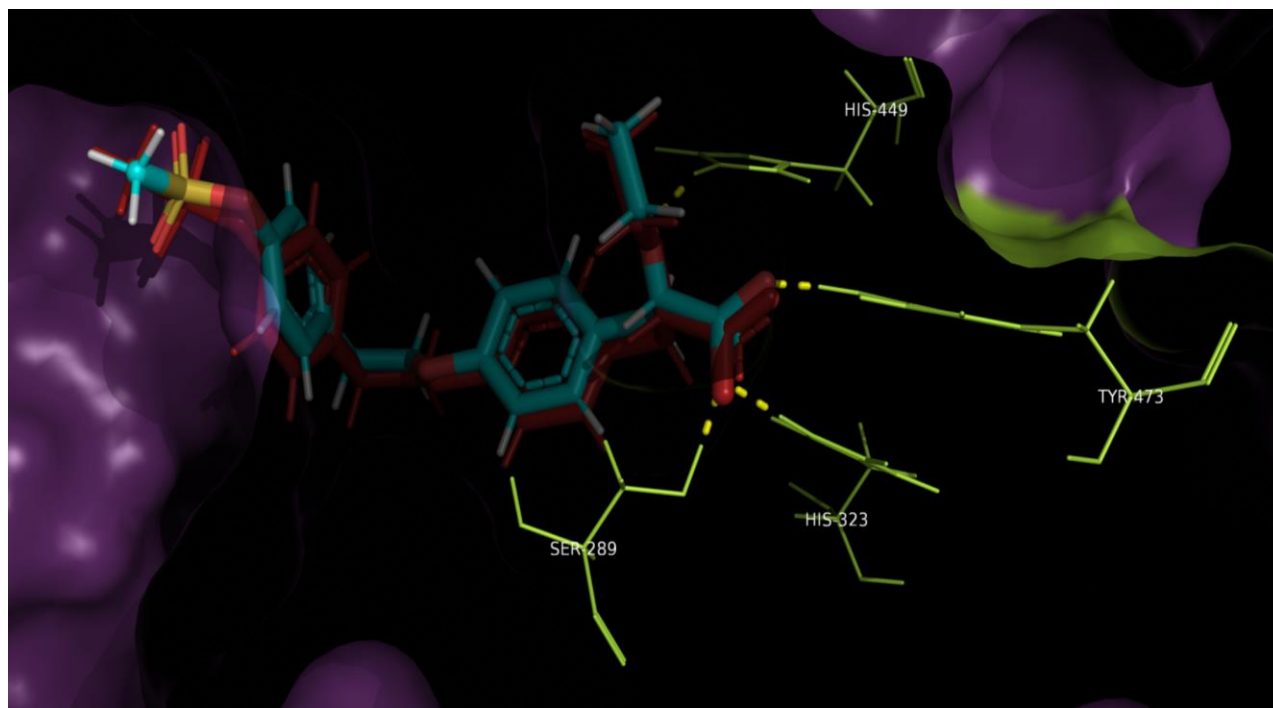
Acoplamiento molecular				
Proteína	Código (PDB ID)	Ligando Co-cristalizado	Resolución (< 3Å)	Interacciones importantes
PPAR $\gamma$	1I7I	Tesaglitazar (agonista)	2.35	Tyr473, His449, Ser289, His323
PPAR $\alpha$	1I7G	Tesaglitazar (Agonista)	2.2	Tyr464, His440, Ser280, Tyr314
GPR40	5TZR	MK-8666 (Agonista parcial)	2.2	Arg183, Arg2258, Tyr2240, Ala83, Tyr91
PTP-1B	4Y14	CPT157633 (Inhibidor)	1.9	Asp181, Arg221, Ser216, Cys215, Gly220
Aldosa Reductasa	3G5E	Lidorestat (Inhibidor)	1.8	His110, Tyr48, Leu300, Trp20, Trp111

Para que los valores obtenidos del acoplamiento molecular sean confiables se debe realizar de manera inicial una validación, para ello se aplica el mismo algoritmo sobre el ligando co-cristalizado para comprobar si es capaz de recuperar el conformero observado de manera experimental.<sup>93</sup> Cada una de las proteínas será separada de su ligando con el que fueron cristalizadas, empleando una serie de programas computacionales se introducirá nuevamente el ligando al receptor tratando de obtener valores de RMSD (distancia media cuadrática mínima) menores a 2 Å, el cual determina la diferencia entre las coordenadas de los dos ligandos, es decir, que tan cerca se encuentra la estructura acoplada a la estructura de rayos X.



### 8.4.1.1 Acoplamiento molecular sobre PPAR $\gamma$

Inicialmente se realizó una validación con el ligando co-cristalizado (Tesaglitazar) sobre el sitio activo de PPAR $\gamma$ , con el fin de demostrar que el acoplamiento molecular es reproducible. A continuación, se muestra en la **Figura 79** el conformero de Tesaglitazar obtenido de la validación sobre el sitio activo de PPAR $\gamma$ .



**Figura 79.** Validación del acoplamiento molecular: conformero de Tesaglitazar obtenido de la validación (azul) y Tesaglitazar XRAY sobre el sitio activo de PPAR $\gamma$  (rojo).

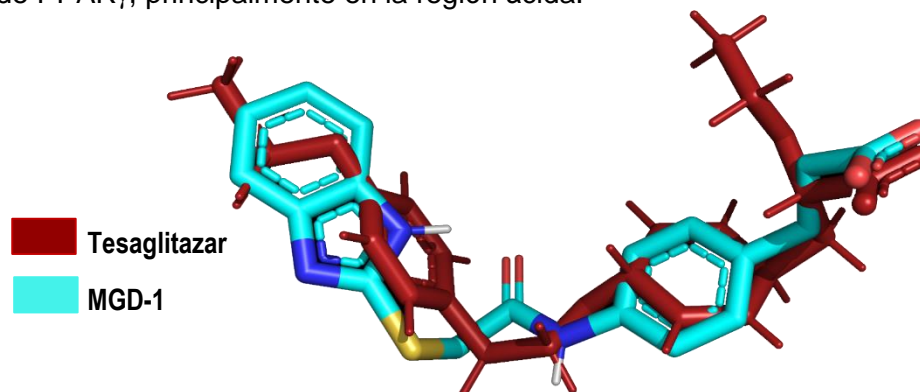
En la **Figura 79** se muestran las interacciones importantes presentadas por la región ácida de Tesaglitazar (azul) con los residuos de aminoácido (verde) His449, Ser289, His323 y Tyr473 dentro de la cavidad de PPAR $\gamma$ . Cabe mencionar que se obtuvo para este conformero un valor de RMSD de 1.32 Å, el cual nos indica las distancias entre los átomos de dos estructuras que son comparadas entre sí, por lo que este valor al ser menor a 2 Å, se considera que los parámetros empleados para el acoplamiento molecular son reproducibles, mismo que se observa al comparar el conformero obtenido con el ligando co-cristalizado (rojo) observando que mantienen la misma posición dentro de la cavidad de PPAR $\gamma$ .

Se llevó a cabo el acoplamiento molecular refinado de los compuestos **MGD-3** y **MGD-1**, a continuación se muestran los resultados en imágenes obtenidos para los compuestos.



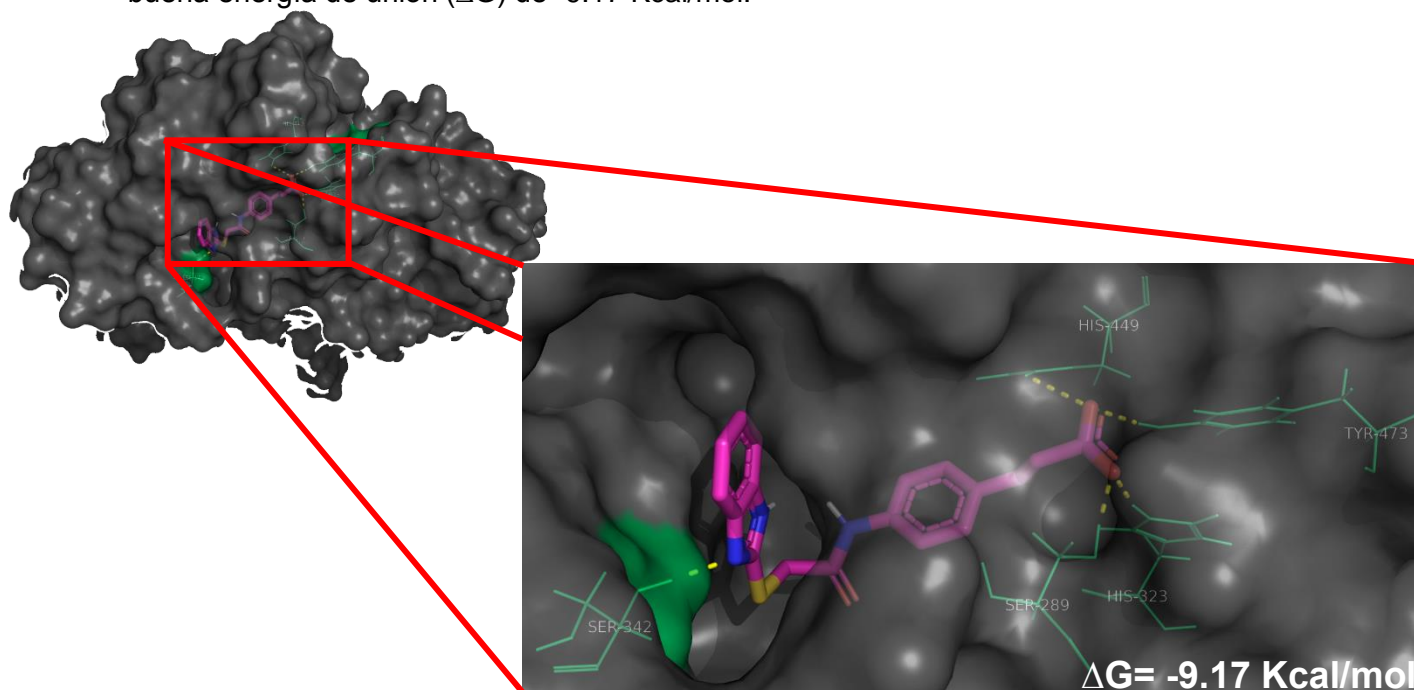
### 8.4.1.1.1 Acoplamiento molecular de MGD-1 sobre PPAR $\gamma$

De acuerdo con lo anterior se realizó el acoplamiento molecular con el compuesto **MGD-1** sobre este receptor, en la **Figura 80** se observa el sobreposicionamiento del compuesto con el ligando Tesaglitazar, los cuales mantienen una orientación similar dentro de la cavidad de PPAR $\gamma$ , principalmente en la región ácida.



**Figura 80.** Sobreposicionamiento del conformero del compuesto **MGD-1** y Tesaglitazar sobre el sitio activo de PPAR $\gamma$ .

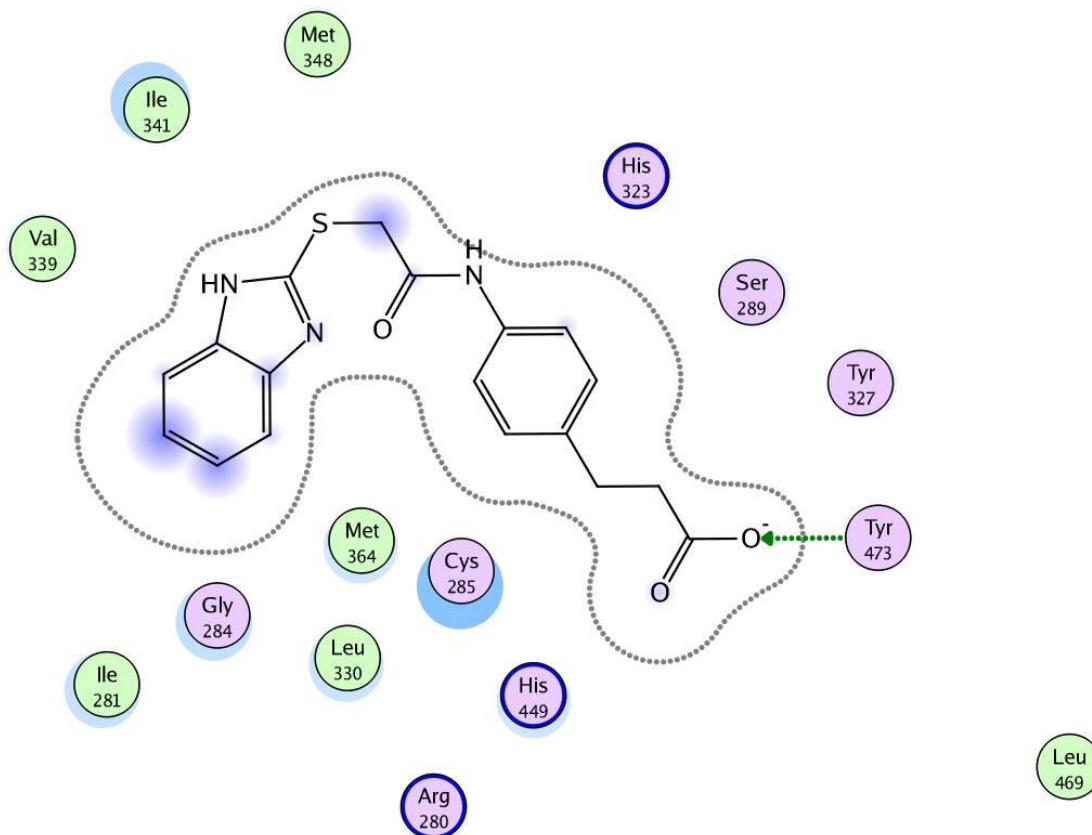
En **Figura 81** se puede observar en 3D una interacción por puente de hidrógeno de la porción ácida de **MGD-1** con los residuos de aminoácidos His449, His323, Tyr473 y Ser289. En color verde interacciones que mantiene Tesaglitazar con el receptor PPAR $\gamma$ , obteniendo buena energía de unión ( $\Delta G$ ) de -9.17 Kcal/mol.



**Figura 81.** Acoplamiento molecular del compuesto **MGD-1** (rosa) sobre el sitio activo de PPAR $\gamma$ , el cual mantiene una interacción con el carbonilo del ácido con los mismos residuos de aminoácido que Tesaglitazar, ligando co-cristalizado con el receptor (verde).



En el diagrama en 2D se puede observar que el compuesto **MGD-1** presenta interacciones adicionales sobre el sitio activo de PPAR $\gamma$  (**Figura 82**).



**Figura 82.** Interacciones presentadas por **MGD-1** en 2D sobre la cavidad de PPAR $\gamma$ .

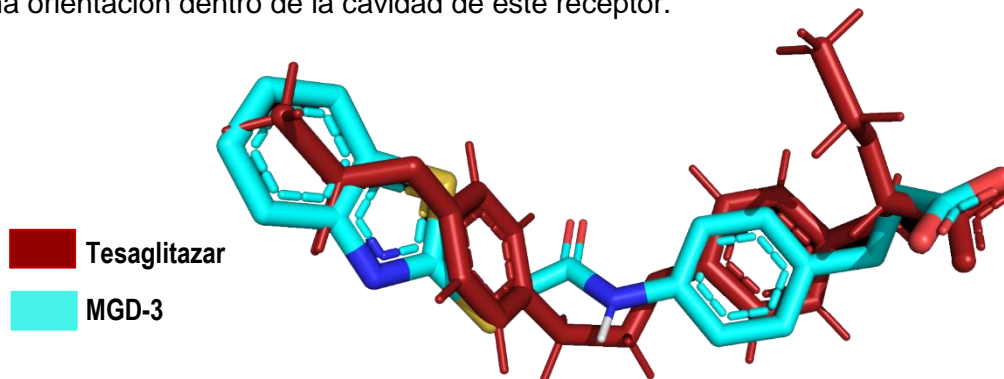
En el diagrama anterior se observa cómo el compuesto **MGD-1** presenta interacciones de tipo puente de hidrogeno de la región acida con los residuos de aminoácido Tyr473, así como también con His323, Ser289, Tyr327 e His449 mismas que comparte con el ligando Tesaglitazar.





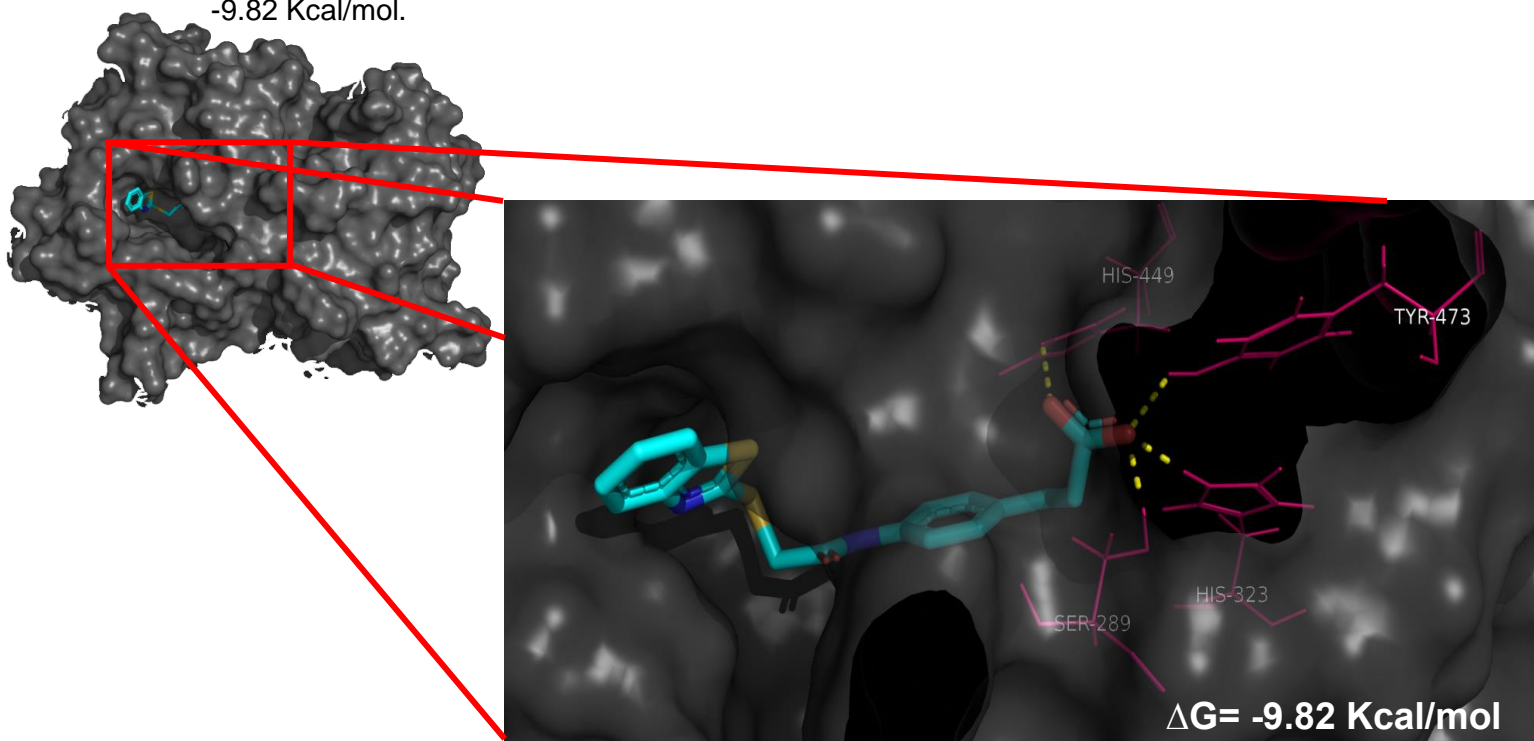
### 8.4.1.1.2 Acoplamiento molecular de MGD-3 sobre PPAR $\gamma$

Se realizó el acoplamiento molecular con el compuesto **MGD-3** sobre PPAR $\gamma$ , tal como se muestra en la **Figura 83** en la cual se puede observar el sobreposicionamiento de este compuesto con Tesaglitazar ligando co-cristalizado con PPAR $\gamma$  los cuales mantienen la misma orientación dentro de la cavidad de este receptor.



**Figura 83.** Acoplamiento molecular del compuesto **MGD-3** (azul) sobre el sitio activo de PPAR $\gamma$ , el cual

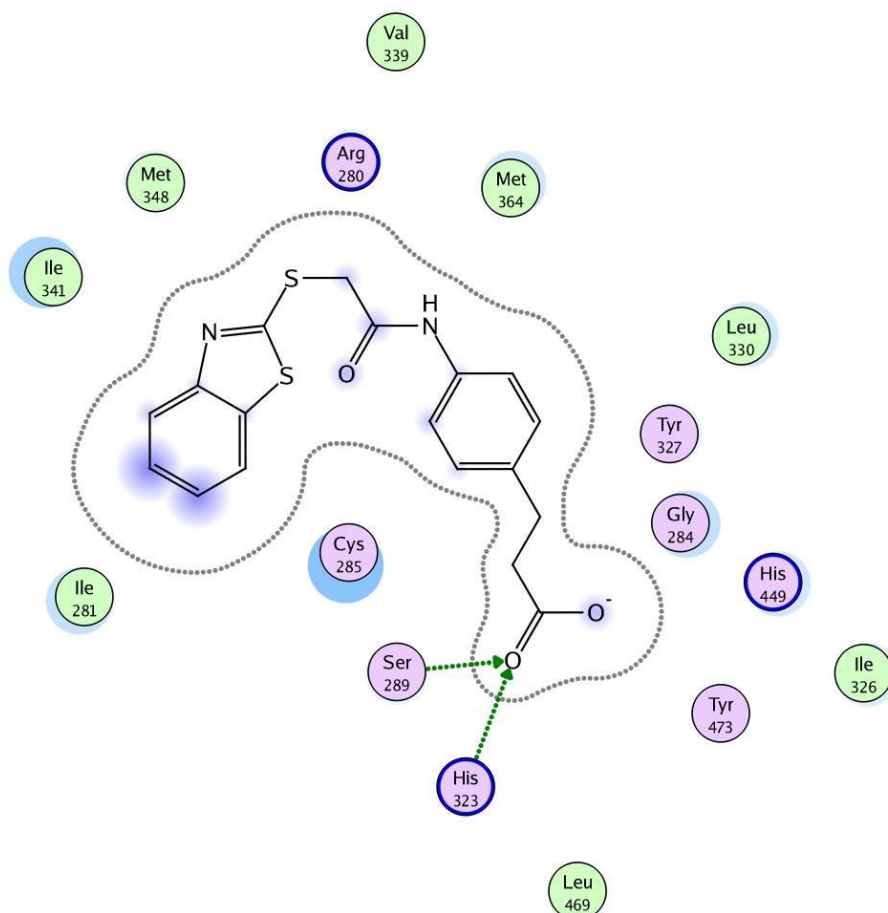
**Figura 84** se puede observar en 3D cuatro interacciones importantes por puente de hidrógeno de la porción ácida de **MGD-3** con los residuos de aminoácidos His449, His323, Tyr473 y Ser289, mismas que comparte con Tesaglitazar. En color verde interacciones que mantiene Tesaglitazar con el receptor PPAR $\gamma$ , obteniendo buena energía de unión ( $\Delta G$ ) de -9.82 Kcal/mol.



**Figura 84.** Acoplamiento molecular del compuesto **MGD-3** (verde) sobre el sitio activo de PPAR $\gamma$ , el cual mantiene una interacción con el carbonilo del ácido con los mismos residuos de aminoácido que Tesaglitazar, ligando co-cristalizado con el receptor (rosa).



En el diagrama en 2D se puede observar que el compuesto **MGD-3** presenta interacciones adicionales sobre el sitio activo de PPAR $\gamma$  (**Figura 82**).



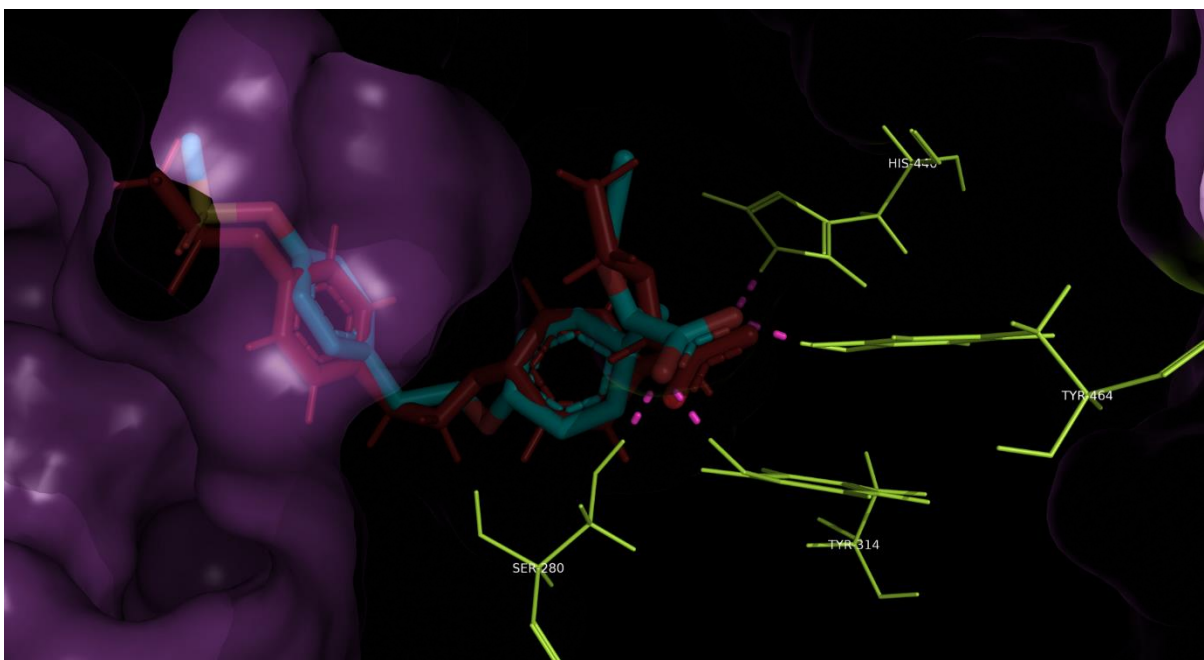
**Figura 82.** Interacciones presentadas por **MGD-3** en 2D sobre la cavidad de PPAR $\gamma$ .

En el diagrama anterior se observa cómo el compuesto **MGD-3** presenta interacciones de tipo puente de hidrogeno con el carbonilo del acido con los residuos de aminoácido His323, Ser289, así como también se observa en el diagrama interacciones con His449, Tyr473 y Tyr327.



### 8.4.1.2 Acoplamiento molecular sobre PPAR $\alpha$

Se realizó una validación con Tesaglitazar sobre el sitio activo de PPAR $\alpha$ , para demostrar la reproducibilidad del acoplamiento se muestra en la **Figura 86** el conformero de Tesaglitazar obtenido de la validación sobre el sitio activo de PPAR $\alpha$ .



**Figura 87.** Validación del acoplamiento molecular: conformero obtenido de Tesaglitazar (azul) y ligando Tesaglitazar co-cristalizado (rojo) sobre el sitio activo de PPAR $\alpha$ .

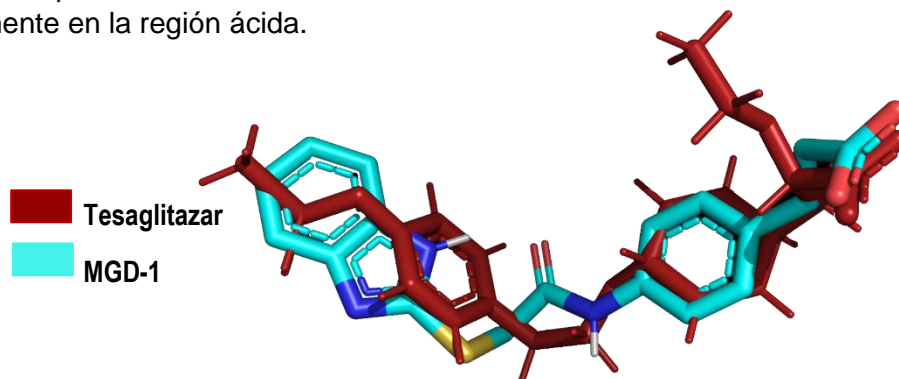
De acuerdo con la figura anterior las interacciones importantes presentadas por la región ácida de Tesaglitazar (azul) con los residuos de aminoácido His440, Ser280, Tyr464 y Tyr314 dentro de la cavidad de PPAR $\alpha$ .

El conformero obtenido presentó un valor de RMSD de 1.44 Å, el cual al ser menor a 2 Å, se considera que los parámetros empleados para el acoplamiento molecular sobre este receptor son reproducibles, ya que mantiene la misma orientación que ligando co-cristalizado (rojo) dentro del sitio activo de PPAR $\alpha$ .



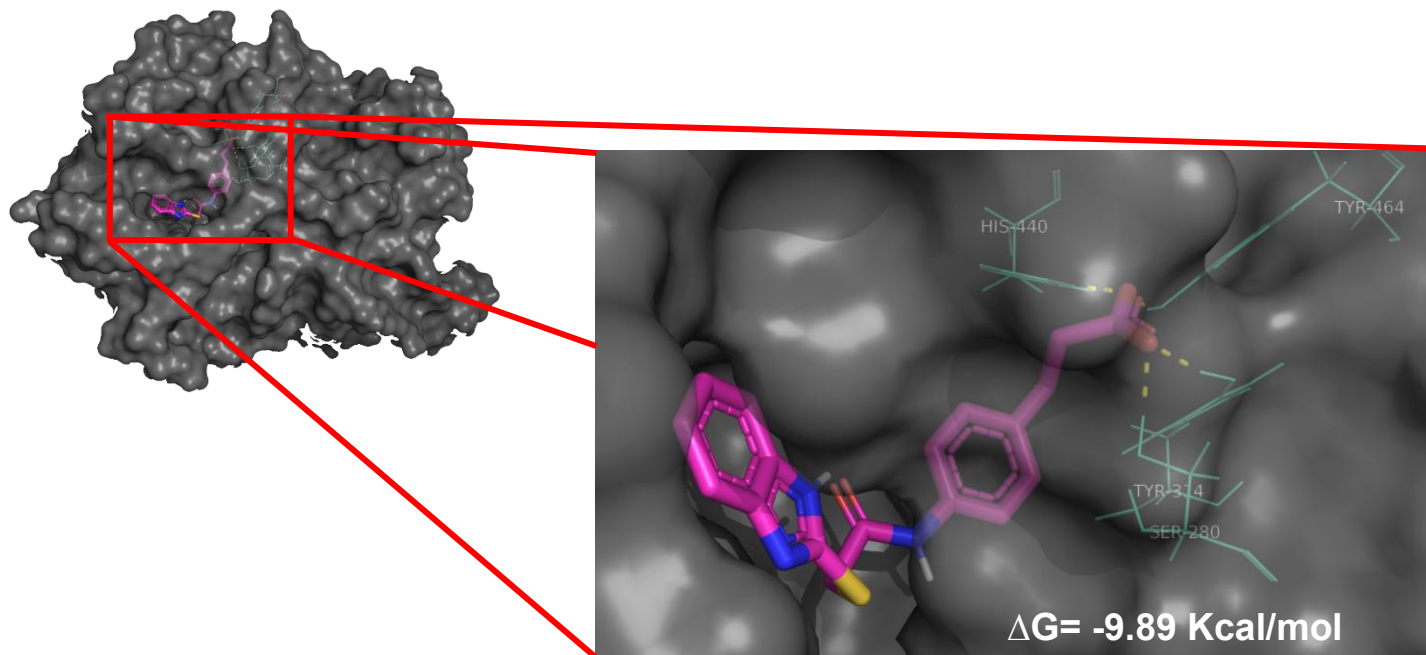
### 8.4.1.2.1 Acoplamiento molecular de MGD-1 sobre PPAR $\alpha$

Se llevó a cabo el acoplamiento molecular con el compuesto **MGD-1** sobre PPAR $\alpha$ , en la **Figura 88** se observa el sobreposicionamiento del compuesto con el ligando Tesaglitazar agonista dual PPAR $\alpha/\gamma$ , el cual también se encuentra co-cristalizado con PPAR $\alpha$ , observando que ambos mantienen una orientación similar dentro de la cavidad principalmente en la región ácida.



**Figura 88.** Sobreposicionamiento del conformero del compuesto **MGD-1** y Tesaglitazar sobre el sitio activo de PPAR $\alpha$ .

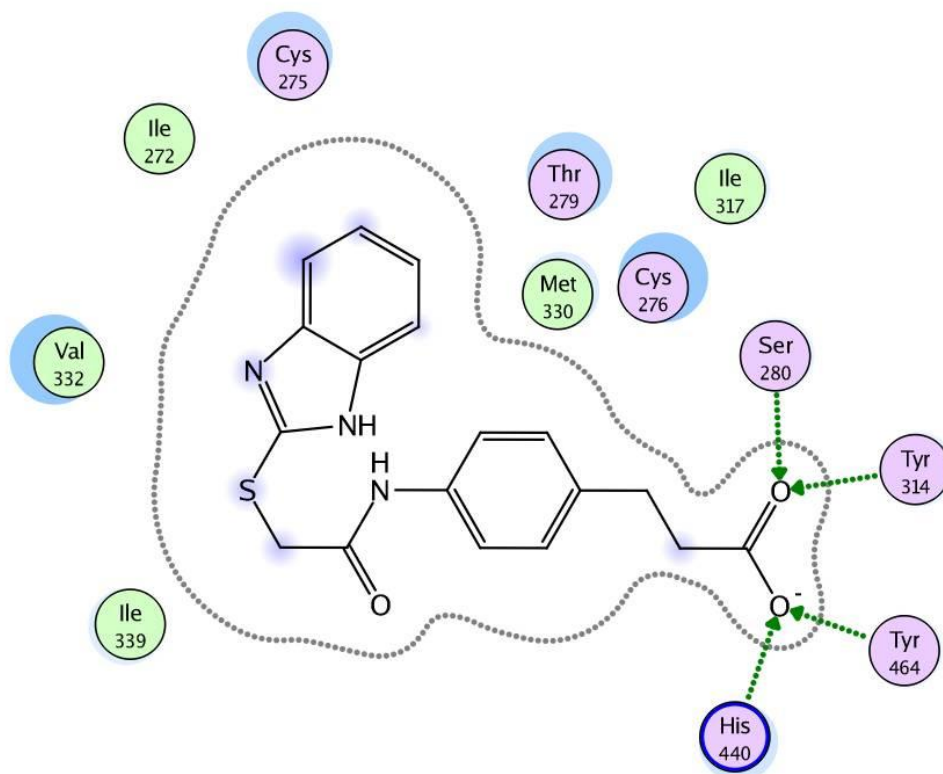
A continuación, en la **Figura 89** se puede observar en 3D las principales interacciones por puente de hidrógeno de la porción ácida en color verde de **GD-1** con los residuos de aminoácido His440, Tyr314, Tyr464 y Ser280, interacciones que mantiene también el ligando Tesaglitazar con PPAR $\alpha$ , se obtuvo una energía de unión de -9.89 Kcal/mol.



**Figura 89.** Acoplamiento molecular del compuesto **MGD-1** (rosa) sobre el sitio activo de PPAR $\alpha$ , el cual mantiene las mismas interacciones (verde) de la región ácida que Tesaglitazar.



A continuación, en el diagrama 2D se observan más interacciones presentadas por el compuesto **MGD-1** sobre el sitio activo de PPAR $\alpha$  (**Figura 90**).



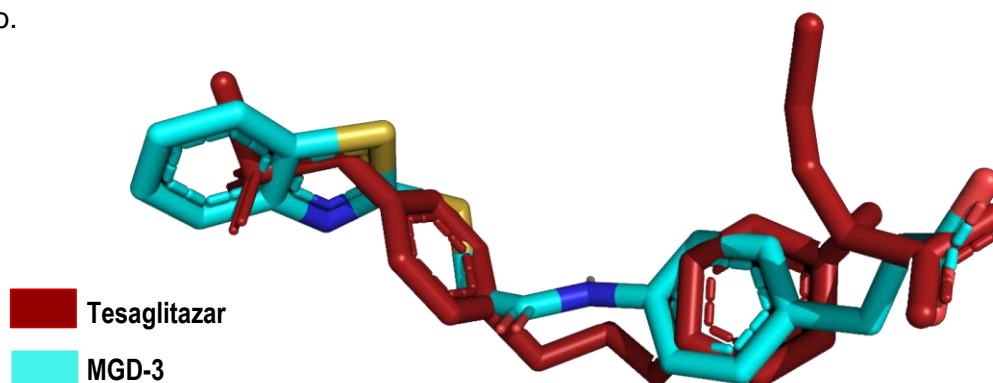
**Figura 90.** Interacciones en 2D presentadas por el compuesto **MGD-1** sobre la cavidad de PPAR $\alpha$ .

Adicional a las interacciones observadas en 3D con la región ácida del compuesto **MGD-1**, también se pueden observar interacciones adicionales con Leu460, Gln277 y Val444 de tipo van der Waals, así también una interacción por puente de hidrógeno con Cys276 y el carbonilo de la amida. Finalmente, interacciones de tipo  $\pi$ -alquilo con Ile339, Ile272 y Val332 con el fragmento de bencimidazol.



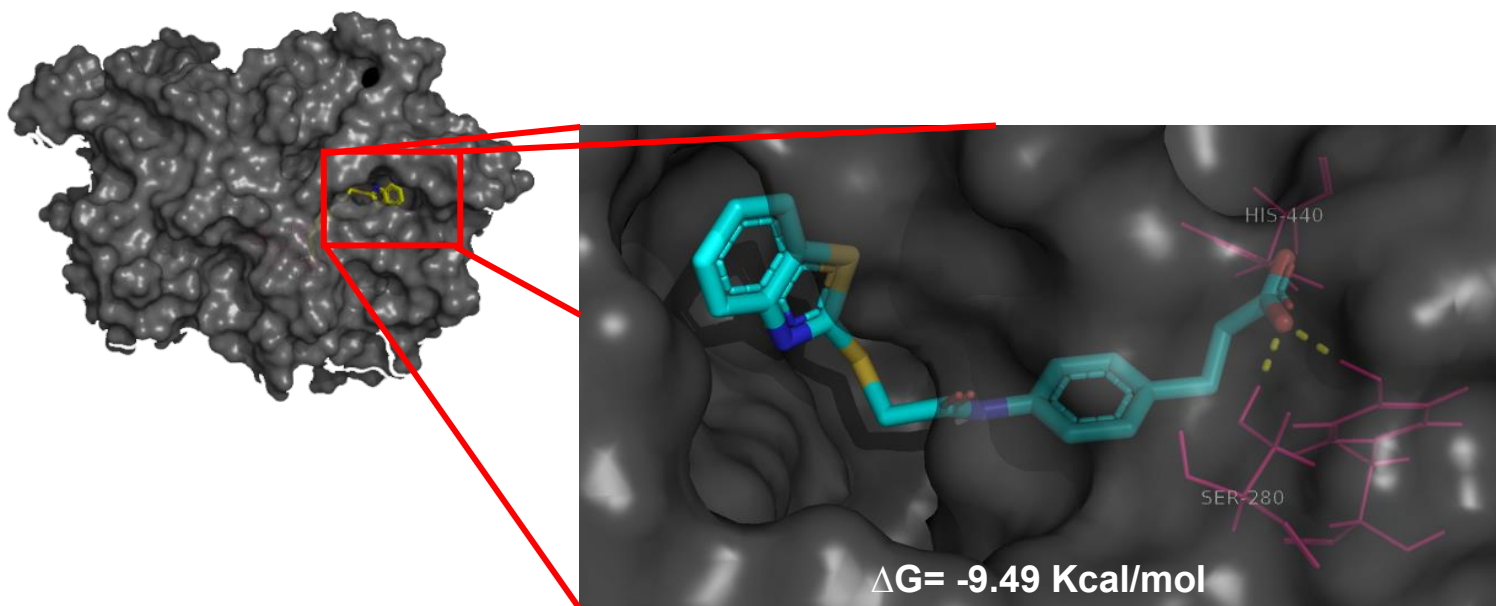
#### 8.4.1.2.2 Acoplamiento molecular de MGD-3 sobre PPAR $\alpha$

Posteriormente se llevó a cabo el acoplamiento molecular del compuesto **MGD-3** sobre el sitio activo de PPAR $\alpha$ , el cual presentó una energía de unión de -9.49 Kcal/mol, en la **Figura 91** se observa el sobreposicionamiento del compuesto **MGD-3** y Tesaglitazar, nuestro compuesto comparte una orientación espacial similar a Tesaglitazar dentro del sitio activo de PPAR $\alpha$ , en especial la parte acida de ambos compuestos la cual se considera de gran importancia, ya que es la que permitirá que se lleve a cabo la actividad farmacológica del compuesto.



**Figura 91.** Sobreposicionamiento del compuesto **MGD-3** y Tesaglitazar sobre el sitio activo de PPAR $\gamma$ .

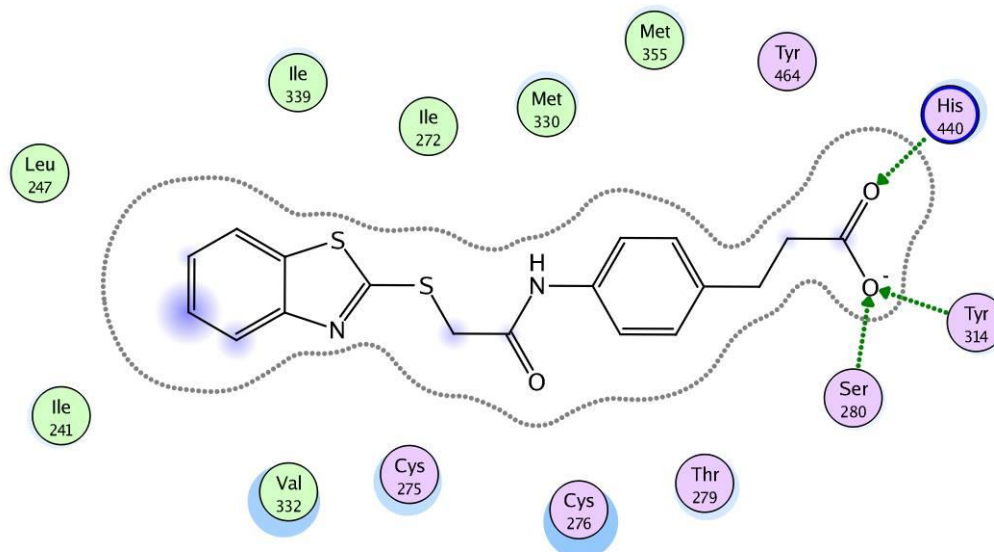
Se observaron en 3D las interacciones por puente de hidrógeno con el carbonilo de la molécula con los residuos de aminoácido His440 y Ser280 que también presenta el ligando Tesaglitazar, así como una interacción adicional de la parte acida con Ala316 tal como se muestra en la **Figura 92**.



**Figura 92.** Acoplamiento molecular del compuesto **MGD-3** sobre el sitio activo de PPAR $\alpha$ , el cual mantiene interacciones por puente de hidrógeno con el carbonilo del ácido con His440, Ser280 y Ala316 (rosa).



También se analizaron las interacciones presentadas por **MGD-3** sobre el sitio activo de PPAR $\gamma$  en 2D (**Figura 93**).



**Figura 93.** Interacciones presentadas por **MGD-3** en 2D sobre la cavidad de PPAR $\alpha$ .

De acuerdo con el diagrama en 2D el compuesto **MGD-3** presenta interacciones importantes con Tyr464, Tyr314 (puente de hidrógeno), His440 y Ser280 (van der Waals), interacciones que también comparte con el ligando Tesaglitazar. Adicionalmente mantiene interacciones con Thr279, Phe318, Met355, Leu321 e interacciones de los anillos aromáticos con Ala333, Cys275, Val332.

A continuación, se muestra una tabla general (**Tabla 30**) de los resultados obtenidos del acoplamiento molecular realizados sobre los receptores PPAR $\alpha/\gamma$ .

**Tabla 30.** Datos del acoplamiento molecular de los compuestos **MGD-1** y **MGD-3**.

ACOPLAMIENTOS MOLECULARES			
PPAR $\gamma$			
	$\Delta G$ (Kcal/mol)	LE (>0.36)	$K_i$ (nM)
<b>MGD-1</b>	-10.07	0.4	41.61
<b>MGD-3</b>	-9.82	0.39	62.97
PPAR $\alpha$			
<b>MGD-1</b>	-9.89	0.4	56.49
<b>MGD-3</b>	-9.49	0.38	109.96

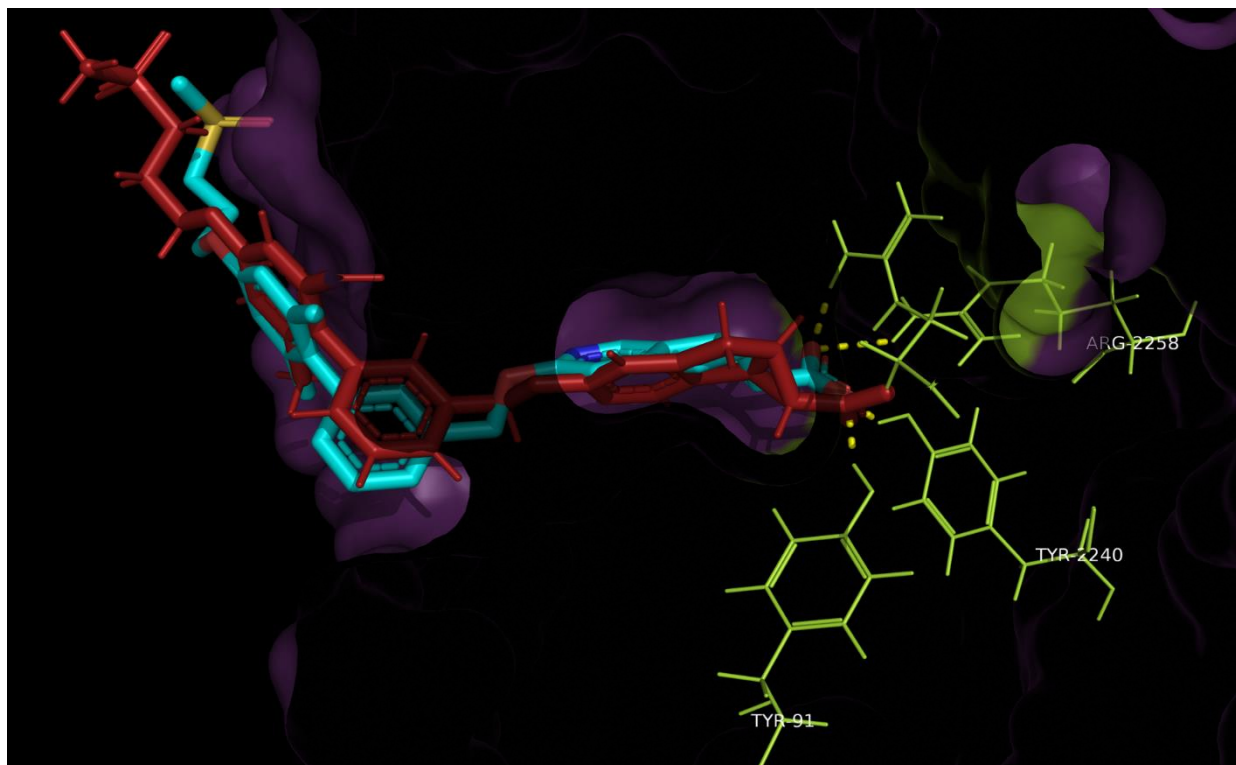
RMSD obtenido de la validación del acoplamiento: PPAR $\gamma$ =1.32; PPAR $\alpha$  = 1.4  
LE (eficiencia del ligando) y  $K_i$  (constante de inhibición) por sus siglas en inglés

los compuestos evaluados **MGD-1** y **MGD-3** presentan buena energía de unión sobre PPAR $\gamma$  y PPAR $\alpha$ , lo cual se correlaciona con los ensayos in vitro para **MGD-3** y con los ensayos in vivo para el compuesto **MGD-1**, debido a lo anterior nuestros compuestos se consideran líderes computacionales y experimentales seguros.



### 8.4.1.3 Acoplamiento molecular de MGD-14 sobre GPR40

Antes de realizar el acoplamiento molecular con **MGD-14**, se realizó una validación con **MK-8666** sobre el sitio activo de GPR40, con el fin de demostrar que el acoplamiento molecular es reproducible, en la **Figura 94** se muestra el conformero obtenido de la validación de **MK-8666** sobre el sitio alostérico de GPR40.



**Figura 94.** Validación del acoplamiento molecular: Conformer de **MK-8666** (azul) y el ligando XRAY (rojo) sobre el sitio alostérico de GPR40.

En la imagen anterior se muestran las interacciones importantes presentadas por la región ácida de **MK-8666** con los residuos de aminoácido Arg183, Arg2258, Tyr2240 y Tyr98 dentro de la cavidad de GPR40. Cabe mencionar que se obtuvo para este conformero un valor de RMSD de 1.47 Å (indica las distancias entre los átomos de dos estructuras que son comparadas entre sí) por lo que este valor al ser menor a 2 Å, se considera que los parámetros empleados para el acoplamiento molecular son reproducibles.

De acuerdo con lo anterior, se realizó el acoplamiento molecular con el compuesto **MGD-14** sobre este receptor del cual se obtuvo una energía de unión de -10.08 Kcal/mol lo que se considera bueno, pues entre más negativo sea el valor, indica estabilidad entre la interacción ligando-receptor, en la **Figura 95** se muestra el sobreposicionamiento del compuesto de interés con **MK-8666** agonista parcial de GPR40 en donde se observa cómo se superponen perfectamente en la región ácida de ambos compuestos, observando una ligera variación de la región hidrofóbica.



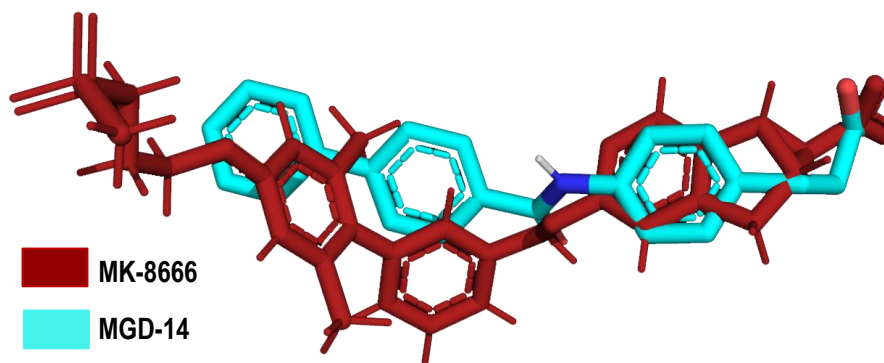


Figura 95. Sobreposicionamiento del compuesto **MGD-14** y **MK-8666** sobre el sitio alostérico de GPR40.

En la **Figura 96** se muestran las interacciones en 3D presentadas por el compuesto **MGD-14**, el cual presenta tres interacciones de la porción ácida por puente de hidrógeno con Tyr91, Tyr2240 y Ar183 que también comparte **MK-8666** sobre el sitio activo de GPR40.

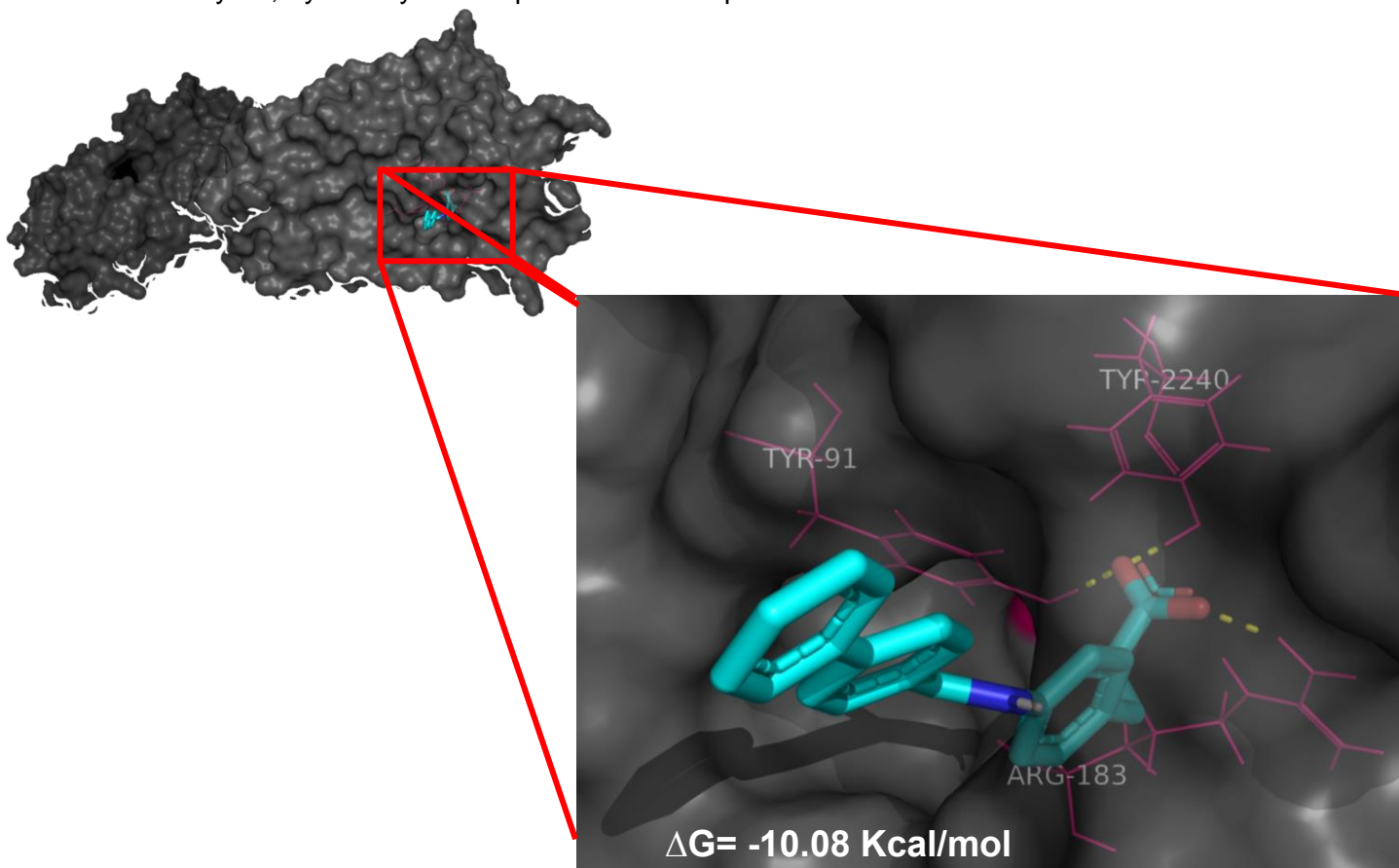
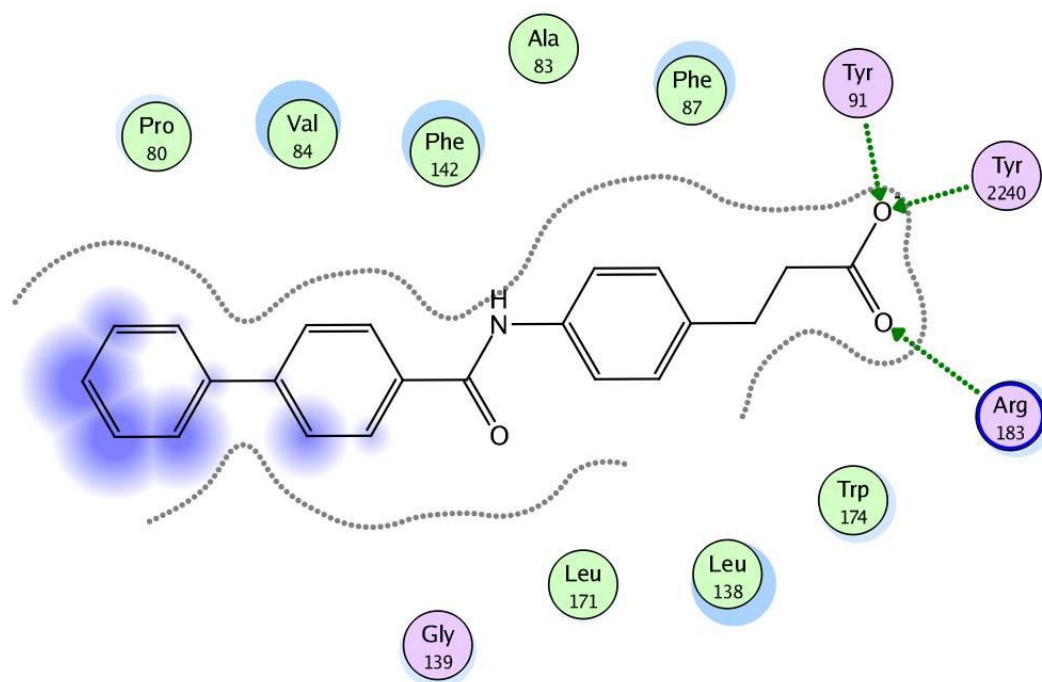


Figura 96. Acoplamiento molecular del compuesto **MGD-14** sobre el sitio activo de GPR40, el cual mantiene interacciones por puente de hidrógeno con la región ácida con Tyr2240, Tyr91 y Arg183 (rosa).



En la **Figura 97** se muestran las interacciones en 2D presentadas por el compuesto **MGD-14** sobre el sitio alostérico de GPR40.



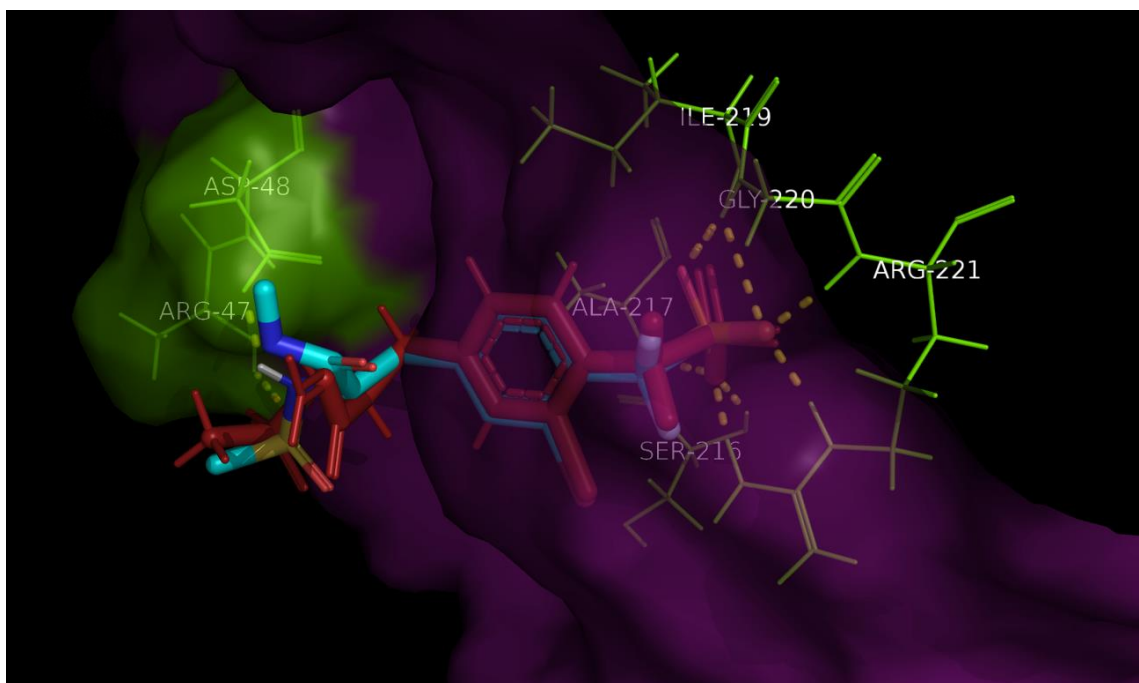
**Figura 97.** Diagrama en 2D de las interacciones presentadas por **MGD-14** sobre el sitio activo de GPR40.

El compuesto **MGD-14** muestra interacciones por puente de hidrógeno con Arg183, Tyr2240 y Tyr91 con el ácido carboxílico, estas interacciones también las presenta **MK-8666** agonista parcial de GPR40 por lo tanto, se espera que nuestro compuesto presente similar actividad sobre este receptor. Adicionalmente hay una interacción por puente de hidrógeno con Phe87, de tipo electrostáticas con Leu138 y Ala83; de tipo van der Waals con Phe142, entre otras.



#### 8.4.1.4 Acoplamiento molecular de MGD-14 sobre PTP-1B

Se realizó una validación del acoplamiento molecular con el ligando **CPT157633** el cual es un inhibidor de la enzima PTP-1B con el objetivo de demostrar la reproducibilidad del acoplamiento. En la **Figura 98** se muestra el confórmero de **CPT157633** obtenido de la validación sobre el sitio catalítico de PTP-1B.



**Figura 98.** Validación del acoplamiento molecular: confórmero obtenido de **CPT157633** (verde) y el **CPT157633** co-cristalizado (rojo) sobre el sitio catalítico de la enzima PTP-1B.

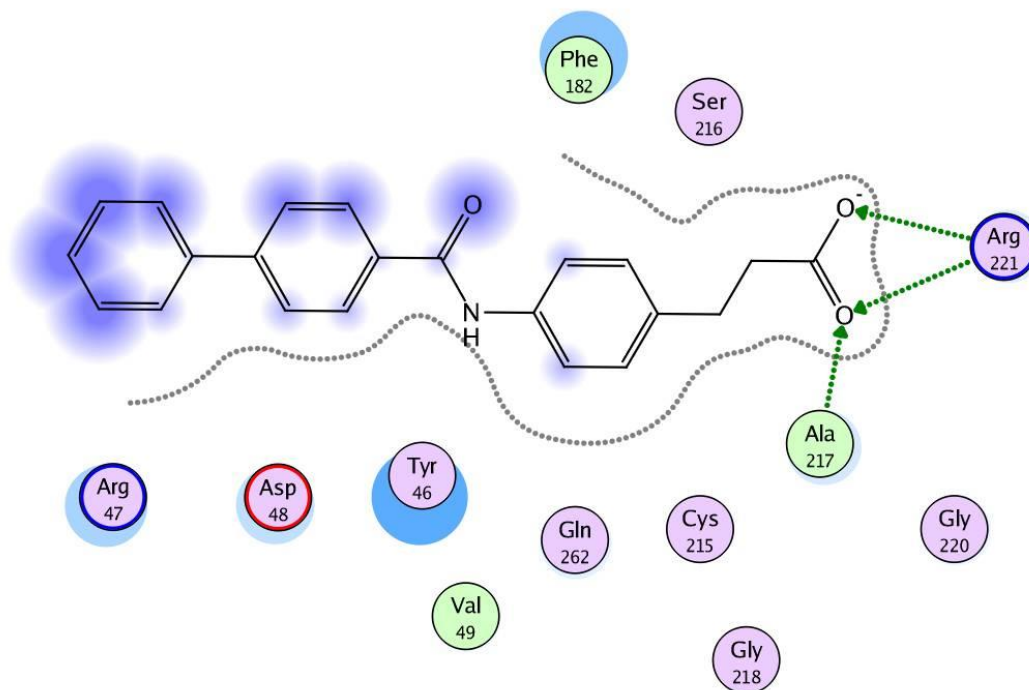
Se muestra en la figura anterior las interacciones importantes presentadas por la región ácida de **CPT157633** con los residuos de aminoácido Ala217, Ser216, Gly220, Ile219 y Arg221 dentro de la cavidad de PTP-1B. El confórmero obtenido presentó un valor de RMSD de 0.95 Å, el cual al ser menor a 2 Å, se considera que los parámetros empleados para el acoplamiento molecular sobre este receptor son reproducibles.

Se llevó a cabo el acoplamiento molecular del compuesto **MGD-14** sobre PTP-1B, empleando los parámetros de la validación, como resultado se obtuvo una energía de unión de -9.82 Kcal/mol, por lo cual se realizó un sobreposicionamiento del confórmero obtenido del Docking con el ligando **CPT157633**, como se muestra en la **Figura 99** en donde se observa nuevamente que el compuesto **MGD-14** se sobrepone perfectamente con **CPT157633**, en especial la parte del ácido carboxílico de **MGD-14** y el ácido fosfónico de **CPT157633**, ya que esta porción es la que se introduce en la enzima para llevar a cabo la actividad farmacológica como inhibidor de la enzima PTP-1B.





En la **Figura 101** se muestran las interacciones en 2D presentadas por el compuesto **MGD-14** sobre el sitio catalítico de PTP-1B.



**Figura 101.** Diagrama en 2D de las interacciones presentadas por **MGD-14** sobre el sitio la enzima PTP-1B.

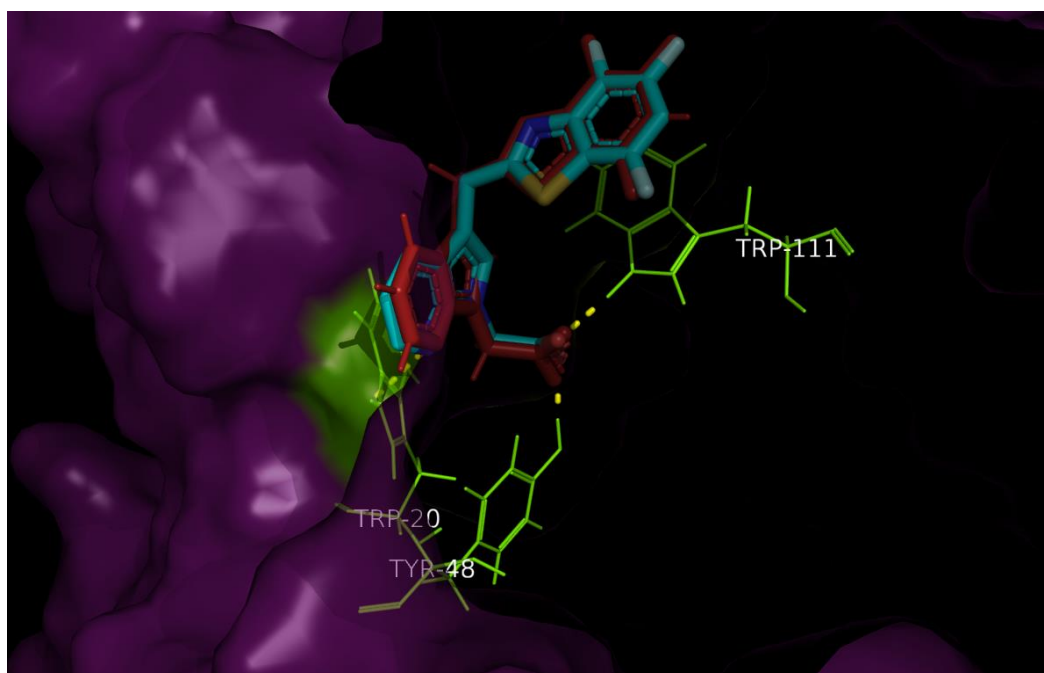
De acuerdo con el diagrama en 2D el compuesto **MGD-14** muestra interacciones por puente de hidrógeno con dos residuos de aminoácido de la triada catalítica (Arg221 y Ser216) mismas que comparte el inhibidor **CPT157633** por lo que se esperaría que nuestro compuesto presentara actividad similar a éste como inhibidor de PTP-1B.

Adicionalmente con la porción ácida también mantiene interacciones por puente de hidrógeno con Ala217, Gly218, Cys215 y Gly220, interacciones de tipo van der Waals con Val49, Asp48 y Gln262 así como interacciones electrostáticas con Phe182, Tyr46 y Arg47.



### 8.4.1.5 Acoplamiento molecular de MGD-14 sobre Aldosa Reductasa

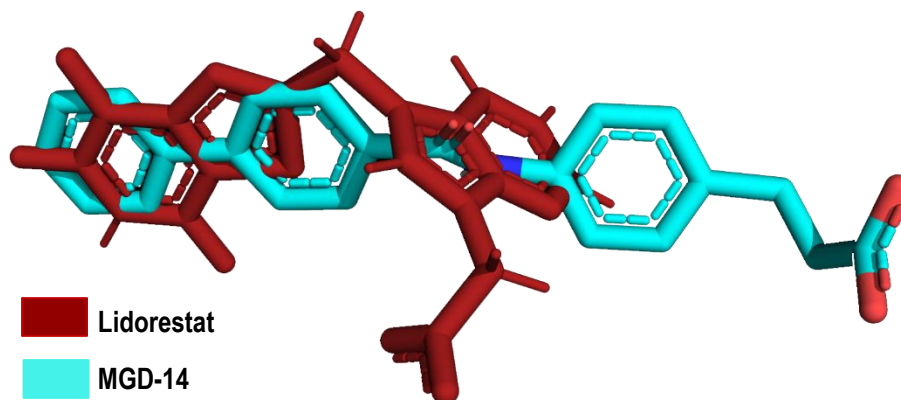
Se llevó a cabo una validación del acoplamiento molecular con Lidorestat, inhibidor de la enzima aldosa reductasa, con el cual se cristalizó para demostrar que el acoplamiento molecular realizado en este proyecto es reproducible. En la **Figura 102** se muestra el confórmero de Lidorestat obtenido de la validación sobre el sitio catalítico de aldosa reductasa.



**Figura 102.** Validación del acoplamiento molecular: confórmero obtenido de Lidorestat (verde) y el Lidorestat co-cristalizado (rojo) sobre el sitio catalítico de la enzima aldosa reductasa.

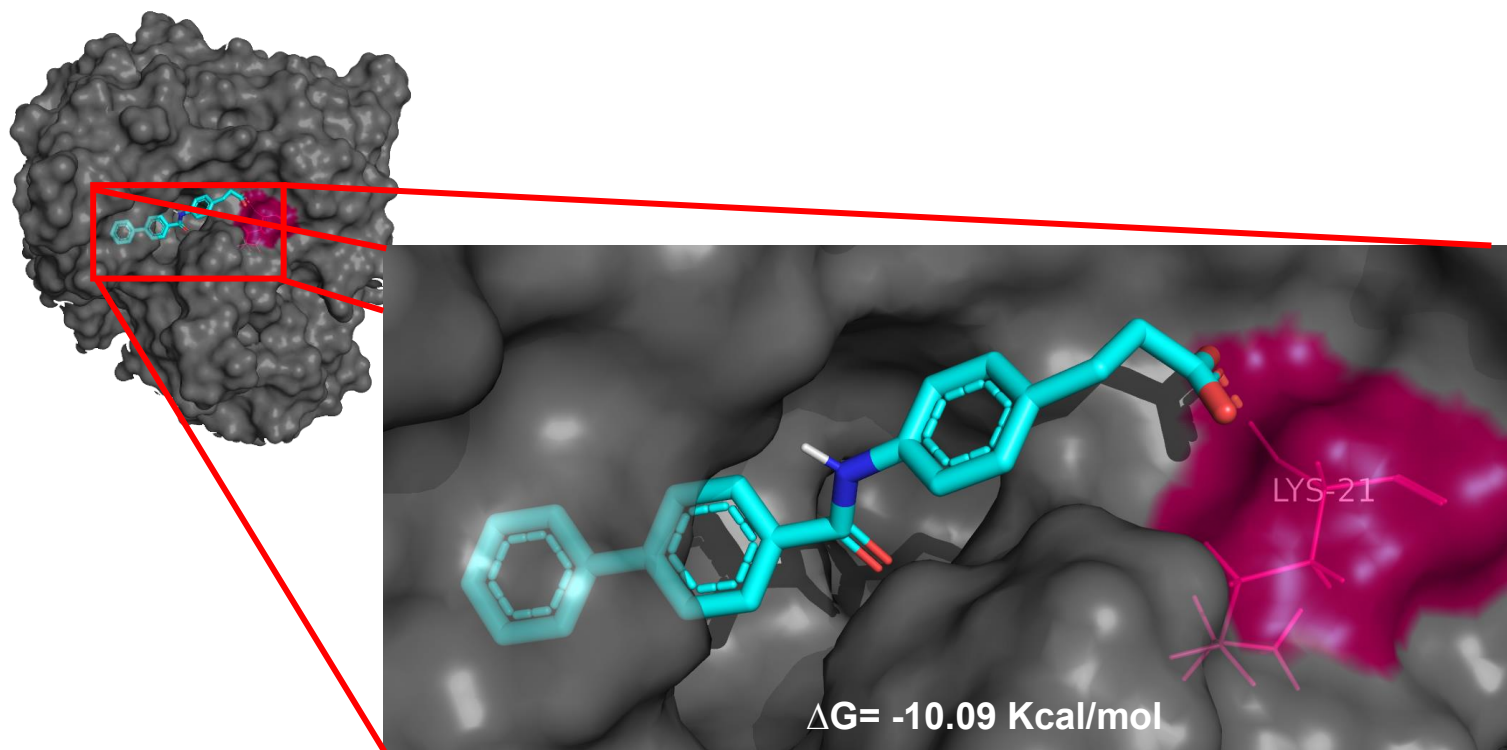
En la imagen anterior se muestran las interacciones importantes presentadas por el ácido carboxílico de Lidorestat con los residuos de aminoácido Trp111, Trp20, Tyr48 dentro de la cavidad de aldosa reductasa. Para este confórmero se obtuvo un valor de RMSD de 0.8 Å, el cual es menor a 2 Å, por lo que se considera que los parámetros empleados para el acoplamiento molecular son reproducibles.

De acuerdo con lo anterior se realizó el acoplamiento molecular sobre esta enzima con el compuesto **MGD-14**, como resultado del Docking se obtuvo una energía de unión de -10.09 Kcal/mol. En la **Figura 103** se observa como el compuesto de interés no se sobrepone con Lidorestat en la parte ácida de ambas moléculas, la cual se considera importante porque se introduce en la enzima y permite que se lleve a cabo la actividad farmacológica de Lidorestat como inhibidor de aldosa reductasa. Al no introducirse la porción ácida de **MGD-14** no se llevarán a cabo las mismas interacciones que con el ligando co-cristalizado esto debido nuevamente a la poca flexibilidad de la amida, sin embargo se sobrepone la parte hidrofóbica y el espaciador flexible de nuestra molécula con Lidorestat.



**Figura 103.** Sobreposicionamiento del compuesto **MGD-14** y Lidorestat sobre el sitio catalítico de la enzima aldosa reductasa.

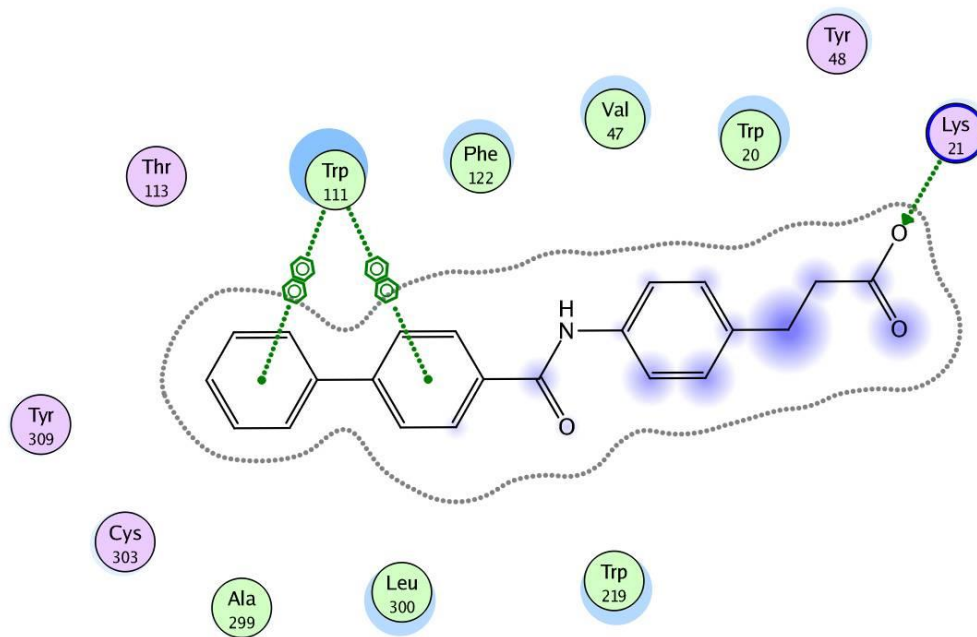
En la **Figura 104** se presentan las interacciones vistas en 3D del compuesto **MGD-14** presentadas sobre la enzima aldosa reductasa, en la cual solo se observa una interacción por puente de hidrógeno con el carbonilo de la molécula con el residuo de aminoácido Lys2, que aunque no lo comparte con Lidorestat se considera una interacción adicional.



**Figura 104.** Acoplamiento molecular del compuesto **MGD-14** sobre el sitio catalítico de la enzima aldosa reductasa, el cual mantiene una interacción por puente de hidrógeno de la región ácida con Lys21 (rosa).



En la **Figura 105** se muestran las interacciones en 2D presentadas por el compuesto **MGD-14** sobre el sitio catalítico de la enzima aldosa reductasa.



**Figura 105.** Diagrama en 2D de las interacciones presentadas por **MGD-14** sobre el sitio la enzima aldosa reductasa.

De acuerdo con el diagrama en 2D el compuesto **MGD-14** muestra interacciones por puente de hidrogeno con el residuo de aminoácido Lys21 con el carbonilo del ácido, una interacción de tipo  $\pi$ - $\pi$  con Trp111 y Leu300, las cuales comparte con el ligando Lidorestat. Finalmente interacciones de tipo van der Waals con Trp20 y Tyr48 que también presenta Lidorestat inhibidor de la enzima aldosa reductasa.

A continuación, se muestra una tabla general (**Tabla 31**) de los resultados obtenidos del acoplamiento molecular del compuesto **MGD-14** sobre cada una de las dianas farmacológicas antes mencionadas.

**Tabla 31.** Datos obtenidos del acoplamiento molecular de **MGD-14** sobre cada una de las dianas evaluadas.

Acoplamientos moleculares del compuesto MGD-14					
Proteína	PPAR $\gamma$	PPAR $\alpha$	GPR40	PTP-1B	Aldosa Reductasa
<b>Resultados</b>					
<b>RMSD (validación)</b>	1.35	1.44	1.47	0.95	0.8
<b><math>\Delta G</math> (Kcal/mol)</b>	-10.1	-8.88	-10.08	-9.82	-10.09
<b>LE</b>	0.39	0.34	0.37	0.38	0.39
<b>Ki (nM)</b>	39.4	312.15	41.07	63.04	40.34

LE (eficiencia del ligando) y Ki (constante de inhibición) por sus siglas en ingles





## 8.4.2 Eficiencia del ligando

Un estudio reciente mostró que casi todos los parámetros ADMET empeoran con el aumento del peso molecular (PM) y/o log P de una molécula, por lo cual se enfatiza la importancia de seleccionar apropiadamente compuestos hits en la supervisión de su PM y lipofilia, además de la actividad farmacológica durante la optimización de estos.<sup>94-96</sup>

La potencia de un compuesto sobre su receptor en ocasiones se encuentra relacionado con el tamaño molecular, por lo que se podría pensar que compuestos más grandes presentarían mejor probabilidad de actividad, incluso durante la optimización de fármacos se pretende mejorar la potencia de cierta molécula sobre su receptor mediante un aumento en su PM mediante la introducción de grupos lipofílicos, ya que estos contribuyen favorablemente al efecto hidrofóbico sin la necesidad de interacciones específicas con el sitio activo, generando moléculas muy grandes a lo cual se le conoce como obesidad molecular. Para evitar la selección de compuestos más grandes se ha utilizado el término eficiencia del ligando (LE), la cual se define como la eficiencia de potencia por átomo presente en una molécula, exceptuando hidrógeno, tal como se describe a continuación:

$$LE = \frac{pK_i \text{ o } pK_d \text{ o } pCl_{50}}{\text{Número de átomos pesados (HA)}}$$

La eficiencia del ligando relaciona la potencia ( $pK_i$ ) con el número de átomos pesados el cual debe mantener un valor  $>0.36$  para considerarse aceptable.<sup>95</sup>

Como se mencionó anteriormente las propiedades fisicoquímicas de un compuesto bioactivo deben tomarse en cuenta durante el diseño, ya que estas se relacionan de manera directa con sus propiedades farmacocinéticas, con base en lo anterior la LE que permite la optimización de compuestos líderes mediante la combinación de potencia ( $K_i$ ), lipofilicidad (Clog P), peso molecular y el número de átomos pesados, por lo cual este parámetro se consideró también para la selección de un compuesto líder.<sup>95,96</sup>

En la **Tabla 22** se muestran los resultados de LE obtenidos del acoplamiento molecular para cada uno de los compuestos finales, de los cuales solo el compuesto **MGD-4** no presenta un LE  $>0.36$  en ninguno de los receptores evaluados, mientras que los compuestos **MGD 1-3**, **MGD-5** y **MGD-14** presentaron, de acuerdo con su valor de eficiencia de ligando, una contribución de las propiedades fisicoquímicas favorable para la potencia.



## 9. CONCLUSIONES

- Se obtuvieron seis compuestos finales **MGD 1-5** y **MGD-14**, debidamente caracterizados.
- Los compuestos **MGD-1**, **MGD-3** y **MGD-14** presentaron las mejores propiedades farmacocinéticas, farmacodinamias y toxicológicas al realizar el análisis de consenso farmacológico para la obtención de líderes computacionales seguros, por lo cual estos compuestos fueron ensayados *in vitro* e *in vivo*.
- En ensayos *in vitro* el compuesto **MGD-3** presentó un efecto como agonista dual PPAR $\alpha/\gamma$  ya que promovió la expresión de este receptor y su producto de activación GLUT-4 de manera similar a los fármacos de referencia pioglitazona y Fenofibrato.
- El compuesto **MGD-1** presentó un efecto antihiperglicémico en ensayos *in vivo* sobre un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente.
- El compuesto **MGD-14** no presentó un efecto en la expresión de PPAR en ensayos *in vitro*, sin embargo mostró un efecto hipoglicémico similar a Glibenclámda en ensayos *in vivo* debido a un probable efecto como insulino-mimético, además de una posible acción multitarget.
- Los compuestos **MGD-1** y **MGD-14** se consideran líderes computacionales y experimentales seguros.



## 10. PERSPECTIVAS

- Determinar el mecanismo de acción como hipoglicemiante del compuesto **MGD-14**.
- Determinar la toxicidad aguda del compuesto **MGD-14** y **MGD-1** en ensayos *in vivo*.
- Determinar la actividad antidiabética de los compuestos **MGD 2-5**.



## 11. PARTE EXPERIMENTAL

### 11.1 Instrumentación

La síntesis de los compuestos presentados en este proyecto se llevó a cabo empleando reactivos químicos de la marca SIGMA-ALDRICH® y MERCK®.

Cada uno de los materiales de vidrio (matraces, probetas, vasos de precipitado) fueron de vidrio tipo PYREX®.

Se utilizaron parrillas de agitación y calentamiento de la marca Thermolyne SP-131325 StableTemp®.

Otros equipos empleados, fue un reactor de microondas de la marca CEM Discovery®, un reactor de hidrogenación de la marca Parr Instruments®.

Los disolventes se evaporaron empleando un rotaevaporador de la marca BÜCHI® Rotavapot® R-215.

Para determinación del punto de fusión de cada uno de los compuestos sintetizados se utilizó un aparato Stanford Research System, modelo EZ-melt®.

### 11.2 Cromatografía

Cada una de las reacciones realizadas se monitoreo por cromatografía en capa fina (CCF) utilizando placas de aluminio de 2.5 x 4 cm cubiertas con sílice Alugam, cada una de las placas se eluyeron empleando diferentes sistemas de disolvente, tal como se muestra en la **Tabla 32**.

**Tabla 32.** Sistemas empleados durante la síntesis y purificación de los compuesto precursores y finales.

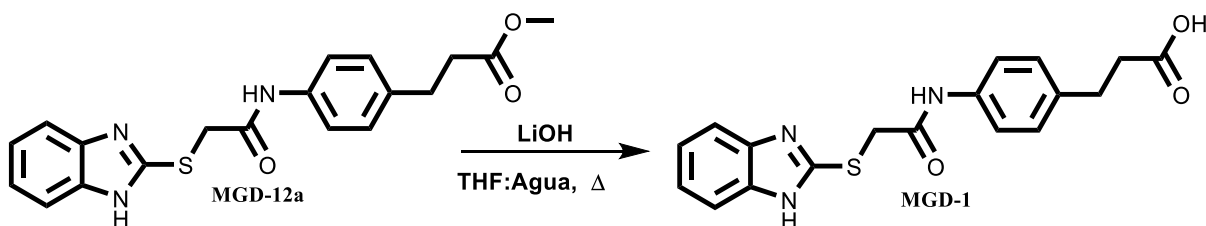
SISTEMA	DISOLVENTES	PROPORCIÓN
I	Hexano:Acetato de etilo	80:20
II	Hexano:Acetato de etilo	70:30
III	Hexano:Acetato de etilo:Diclorometano	50:50:10
IV	Hexano:Acetato de etilo	50:50
V	Hexano	100
VI	Hexano:Acetato de etilo	85:15

Para la purificación de los compuestos, se utilizó gel de sílice fina y placas cromatográficas preparativas.



## 11.3 Parte química

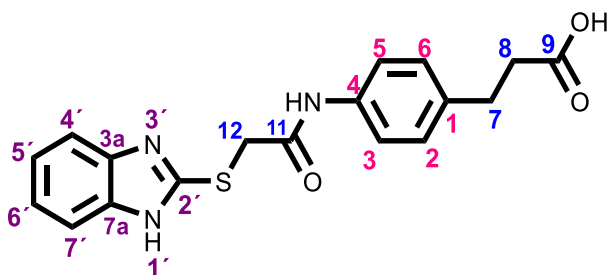
### 11.3.1 Síntesis del compuesto final: Ácido 3-(4-(2-((1*H*-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propiónico (MGD-1)



En un matraz bola de 25 mL se colocó 1g (0.00270 mol) del precursor **MGD-12a** el cual se disolvió en 10 mL de THF observando una solución incolora, dicho matraz se colocó en un baño de hielo durante 10 minutos, acondicionado con trampa Vigreux y agitación magnética, se añadió posteriormente gota a gota 3 eq (0.0081 mol) de LiOH en 3 mL de agua (observando insolubilidad de la base) en seguida se retiró el baño de hielo.

El matraz se acondicionó con baño de agua, malla de calentamiento y refrigerante, se dejó reaccionar a temperatura de reflujo durante 1 h, observando solubilidad completa de la base después de 15 min de reacción. La reacción se monitoreó por CCF en un sistema **III**, observando la conversión completa de la materia prima, el producto reveló un único spot en cromatografía en capa fina al ser revelado por luz UV.

Se trabajó la reacción concentrando todo el disolvente, posteriormente se añadió 10 mL de agua fría colocando el matraz en agitación en un baño de hielo (solución blanca), se midió el pH inicial de 12 y se acidificó a pH 4 con una solución de HCl al 10% observando la generación de un precipitado color blanco. Se realizaron extracciones con acetato de etilo, se concentró la fase orgánica y se purificó el compuesto obtenido por cromatografía en columna empleando un sistema de disolventes **IV** y aumentando la polaridad de manera gradual con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Se recuperó un sólido color blanco con un rendimiento de 78.1% y un pf de 225.5 °C (descomposición).



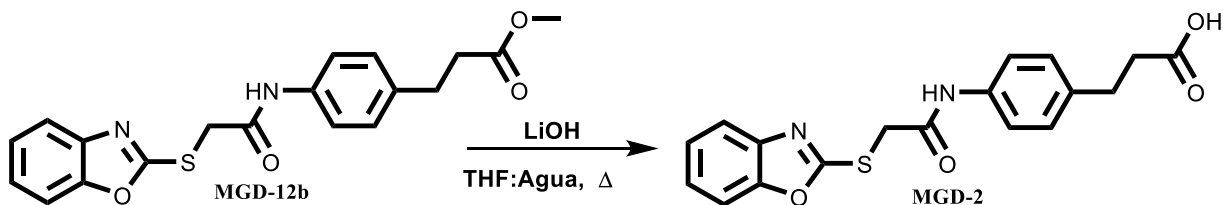
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ: 2.54 (t, H-8), 2.86 (t, H-7), 4.87 (s, H-12), 7.10 (t, H-6', H-5', *Jm* 3.15 Hz), 7.13 (dd, H-6, H-2, *Jo* 8.5 Hz), 7.43 (m, H-7', H-4'), 7.49 (dd, H-5, H-3, *Jo* 8.4 Hz), 10.76 (s, NH, 1'),

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz) δ: 31.5 (C-7), 36.5 (C-8), 38.7 (C-12), 119.7 (C-7'), 117.3 (C-6, C-2, C-5'), 122.0 (C-4', 7'), 129.0 (C-5, C-3, C-6'), 137.3 (C-4, C-3a), 137.9 (C-1, C-7a), 150.4 (C-2'), 166.6 (C-11), 178.2 (C=O).

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) (M+), 162 (25), 190 (100).

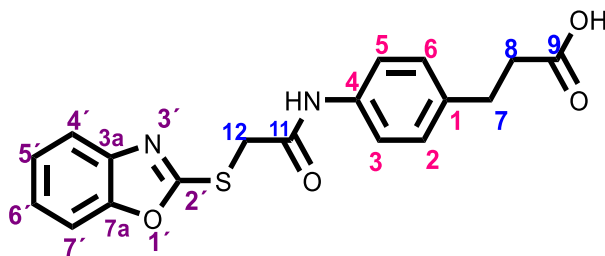


### 11.3.2 Síntesis del compuesto final: Ácido 3-(4-(2-(benzoxazol-2-iltio)acetamido)fenil)propiónico (MGD-2)



En un matraz bola de 25 mL se colocó 0.5 g (0.0013 mol) del precursor **MGD-12b** el cual se disolvió en 5 mL de THF, dicho matraz se colocó en un baño de hielo durante 10 minutos, se añadió posteriormente 3 eq (0.00404 mol) de LiOH y 1.5 mL de agua en una proporción 3 a 1 con respecto al disolvente (observando insolubilidad de la base), en seguida se retiró el baño de hielo.

El matraz se acondicionó con baño de agua y refrigerante, se dejó reaccionar a temperatura de reflujo durante 1 h, observando solubilidad completa de la base. La reacción se monitoreó por CCF empleando un sistema II observando la conversión completa de la materia prima. Se trabajó la reacción concentrando todo el disolvente, posteriormente se añadió 5 mL de agua fría, colocando al matraz en agitación, con baño de hielo, se midió el pH inicial de 11 y se acidificó a pH 4 con una solución de HCl al 10% observando la generación de un precipitado blanco. Se realizaron extracciones con acetato de etilo, se concentró la fase orgánica y se purificó el compuesto obtenido por cromatografía en columna empleando un sistema de disolventes V y aumentando la polaridad de manera gradual con acetato de etilo. Se recuperó un sólido color blanco con rendimiento del 81.2% y pf de 184.9-185.7°C.



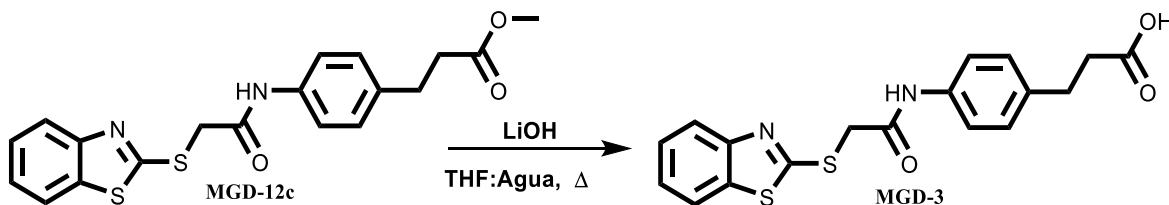
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ: 2.51 (t, H-8), 2.79 (t, H-7), 3.17 (s, H-12), 7.14 (m, H-7', H-4'), 7.24 (dd, H-6, H-2, *Jo* 8.4 Hz), 7.10 (t, H-6', H-5'), 7.67 (dd, H-5, H-3, *Jo* 8.5 Hz), 10.53 (s, NH, 1').

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz) δ: 31.5 (C-7), 36.2 (C-8), 39.1 (C-12), 119.3 (C-7'), 121.6 (C-6, C-2, C-5'), 128.7 (C-4', C-5, C-3, C-6'), 136.8 (C-4, C-3a), 137.9 (C-1, C-7a), 150.2 (C-2'), 166.3 (C-11), 177.9 (C=O).

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) (M<sup>+</sup>), 357 (5), 74 (100).

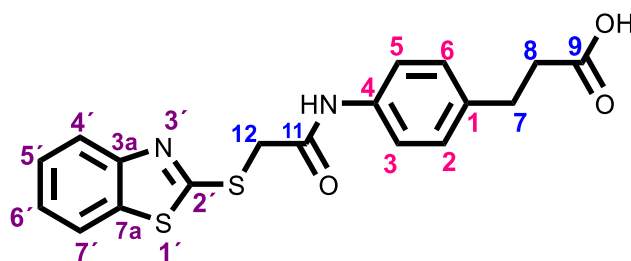


### 11.3.3 Síntesis del compuesto final: Ácido 3-(4-(2-(benzotiazol-2-iltio)acetamido)fenil)propiónico (MGD-3)



En un matraz bola de 25 mL se colocó 0.7 g (0.0013 mol) del precursor **MGD-12c** el cual se disolvió en 10 mL de THF (buena solubilidad del compuesto, coloración amarillo claro) dicho matraz se colocó en un baño de hielo durante 10 minutos, se añadió posteriormente 3 eq (0.00404 mol) de LiOH y 1.5 mL de agua en una proporción 3 a 1 con respecto al disolvente (observando insolubilidad de la base), en seguida se retiró el baño de hielo.

El matraz se acondicionó con baño de agua, mantilla de calentamiento y refrigerante, se dejó reaccionar a temperatura de reflujo durante 1 h, observando solubilidad completa de la base. La reacción se monitoreó por CCF empleando un sistema II observando la conversión completa de la materia prima. Se trabajó la reacción concentrando todo el disolvente, posteriormente se añadió 5 mL de agua fría, colocando al matraz en agitación en baño de hielo, se midió el pH inicial de 11 y se acidificó a pH 4 con una solución de HCl al 10% observando la generación de un precipitado café claro. Se realizaron extracciones con acetato de etilo, se concentró la fase orgánica y se purificó el compuesto obtenido por cromatografía en columna empleando un sistema de disolventes V, aumentando la polaridad de manera gradual con acetato de etilo. Se recuperó un sólido color amarillo claro con rendimiento de 76.3% un pf de 178.9-179.5°C.



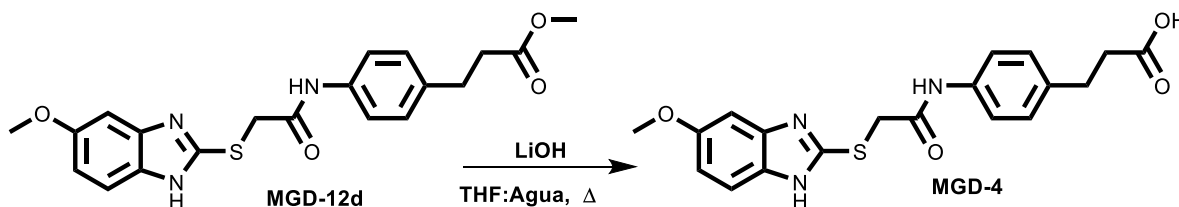
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ: 2.17 (t, H-8), 2.63 (t, H-7), 3.32 (s, H-12), 7.02 (dd, H-6, H-2, *Jo* 7.8 Hz), 7.27 (m, H-5', *Jo* 12.2 Hz), 7.35 (d, H-6', *Jo* 7.8 Hz), 7.49 (dd, H-5, H-3, *Jo* 7.8 Hz), 7.64 (d, H-7', *Jo* 8.9 Hz), 7.82 (d, H-4', *Jo* 8.1 Hz), 10.35 (s, NH, 1').

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz) δ: 31.5 (C-7, C-8), 37.9 (C-12), 118.2 (C-6, C-2), 121.2 (C-4'), 121.2 (C-7'), 122.2 (C-5'), 126.0 (C-6'), 128.9 (C-7a), 130.9 (C-4), 136.7 (C-1), 138.7 (C-2'), 162.0 (C-11), 179.2 (C=O).

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) (M+), 375 (5), 190 (100).



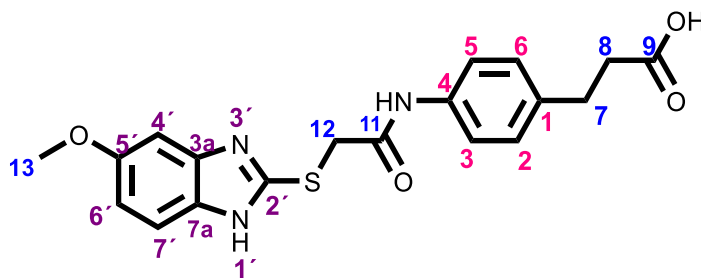
### 11.3.4 Síntesis del compuesto final: Ácido 3-(4-(2-((5-metoxi-1H-benzimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propiónico (MGD-4)



En un matraz bola de 25 mL se colocó 0.5 g (0.00125 mol) del precursor **MGD-12d** el cual se disolvió en 5 mL de THF, dicho matraz se colocó en un baño de hielo durante 10 minutos, se añadió posteriormente 3 eq (0.0037 mol) de LiOH y 1.5 mL de agua en una proporción 3 a 1 con respecto al disolvente (observando insolubilidad de la base), una vez terminada la adición de la base se retiró el baño de hielo.

El matraz se acondicionó con baño de agua, malla de calentamiento y refrigerante, se dejó reaccionar a temperatura de reflujo durante 2 h, observando solubilidad completa de la base transcurridos 30 min de reacción.

La reacción se monitoreó por CCF en un sistema II observando la conversión completa de la materia prima. Se trabajó la reacción concentrando todo el disolvente, posteriormente se añadió 5 mL de agua fría colocando al matraz en agitación en baño de hielo (solución color blanco), se midió el pH inicial de 11 y se acidificó a pH 4 con una solución de HCl al 10% observando la generación de un precipitado de color blanco. Se realizaron extracciones con acetato de etilo, se concentró la fase orgánica observando baja solubilidad del compuesto por lo cual el resto se filtró al vacío y se purificó posteriormente el sólido obtenido por cromatografía en columna empleando un sistema V y aumentando la polaridad gradualmente con metanol. Se recuperó un sólido color blanco con rendimiento de 80.3% y pf de 230.6-231.9°C.



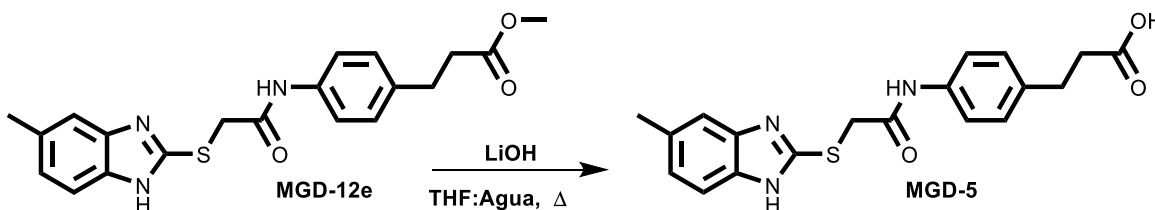
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ: 2.33 (t, H-8), 2.74 (t, H-7), 3.73 (s, H-13), 4.19 (s, H-12), 6.74 (d, H-6', *J*<sub>m</sub> 2.4 Hz), 6.97 (d, H-7, *J*<sub>o</sub> 8.7 Hz), 7.10 (dd, H-6, H-2, *J*<sub>o</sub> 8.4 Hz), 7.34 (d, H-4', *J*<sub>m</sub> 2.2 Hz), 7.47 (dd, H-5, H-3, *J*<sub>o</sub> 8.4 Hz), 10.74 (s, NH, 1').

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) (M<sup>+</sup>), 385 (2), 73 (100).



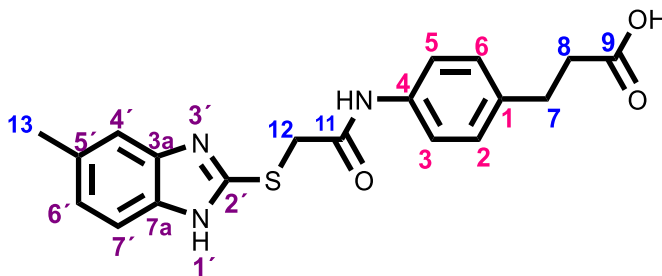


### 11.3.5 Síntesis del compuesto final: Ácido 3-(4-(2-((5-metil-1H-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propiónico (MGD-5)



En un matraz bola de 25 mL se colocó 0.5 g (0.00130 mol) del precursor **MGD-12e** el cual se disolvió en 5 mL de THF (buena solubilidad del éster, coloración amarilla), dicho matraz se colocó en un baño de hielo durante 10 minutos, se añadió posteriormente 3 eq (0.00391 mol) de LiOH y 1.5 mL de agua en una proporción 3 a 1 con respecto al disolvente utilizado (observando insolubilidad de la base), una vez terminada la adición de la base se retiró el baño de hielo.

El matraz se acondicionó con baño de agua, mantilla de calentamiento y refrigerante, se dejó reaccionar a temperatura de reflujo durante 2 h, observando solubilidad completa de la base. La reacción se monitoreó por CCF en un sistema II observando la conversión completa de la materia prima como una sola mancha en placa. Se trabajó la reacción concentrando todo el disolvente, posteriormente se añadió 5 mL de agua fría, colocando al matraz en agitación, con baño de hielo, se midió el pH inicial de 11 y se acidificó a pH 4 con una solución de HCl al 10% observando la generación de un precipitado blanco. Se realizaron extracciones con acetato de etilo, se concentró la fase orgánica y se purificó el compuesto obtenido por cromatografía en columna. Se recuperó un sólido color blanco con rendimiento de 85.5% y un pf de 203.1-205.8°C.



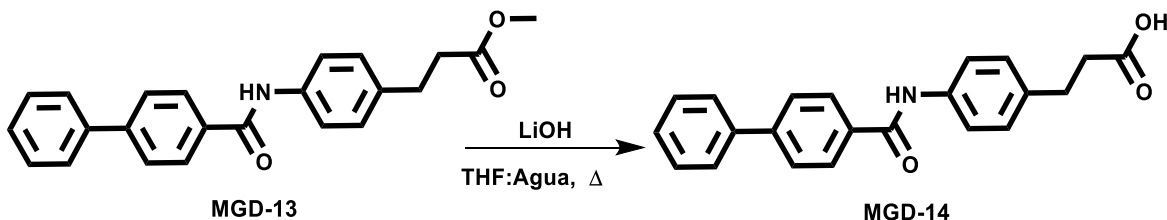
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ: 2.16 (t, H-8), 2.17 (s, H-13), 2.59 (t, H-7), 4.04 (s, H-12), 6.76 (d, H-7, *Jo* 8.1 Hz), 6.97 (dd, H-6, H-2, *Jo* 8.5 Hz), 7.05 (s, H-6'), 7.15 (m, H-4', *Jo* 8.1 Hz), 7.29 (dd, H-5, H-3, *Jo* 8.3 Hz), 10.53 (s, NH, 1').

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz) δ: 21.4 (C-13), 31.2 (C-7), 36.3 (C-8), 38.2 (C-12), 119.3 (C-5, C-3), 122.9 (C-4', C-7'), 128.7 (C-6, C-2), 130.7 (C-5', C-6'), 136.9 (C-4, C-1), 137.6 (C-3a, C-7a), 149.5 (C-2'), 166.3 (C-11), 176.6 (C=O).

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) (M+), 371 (1), 73 (100).



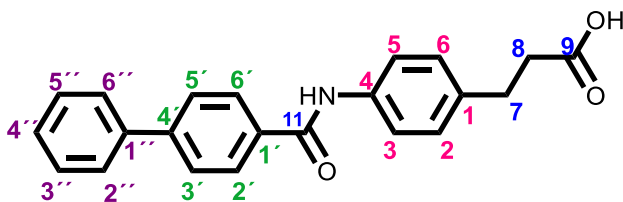
### 11.3.6 Síntesis del compuesto final: Ácido 3-(4-([1,1'-bifenil]-4-carboxamido)fenil)propiónico (MGD-14)



Esta reacción se llevó a cabo de la siguiente manera, se colocó en un matraz bola de 25 mL 0.4 g (0.0011 mol) del precursor **MGD-13** el cual se disolvió en 4 mL de THF, se colocó en un baño de hielo durante 10 minutos, posteriormente se añadió 3 eq de LiOH (0.0033 mol) y 1.5 mL de agua (observando insolubilidad de la base), finalmente se retiró el baño de hielo.

El matraz se acondicionó con baño de agua, agitación magnética, mantilla de calentamiento y refrigerante, se dejó reaccionar a temperatura de reflujo durante 4 h, se observó solubilidad completa de la base después de 1 h de reacción. La reacción se monitoreó por CCF en un sistema **VI** hasta observar la conversión completa de la materia prima como una sola mancha. Se trabajó la reacción una vez finalizando la materia prima, se concentró todo el disolvente, posteriormente se añadió 5 mL de agua fría, colocando al matraz en agitación y baño de hielo (pH 12), se acidificó a pH 4 con una solución de HCl al 10% observando la generación de un precipitado amarillo.

Se realizaron extracciones con acetato de etilo, se concentró la fase orgánica y se purificó el compuesto obtenido por cromatografía en columna empleando como sistema de elución **VI**. Se recuperó un sólido color blanco con un rendimiento del 35% y un pf de 222.8-223.6°C.

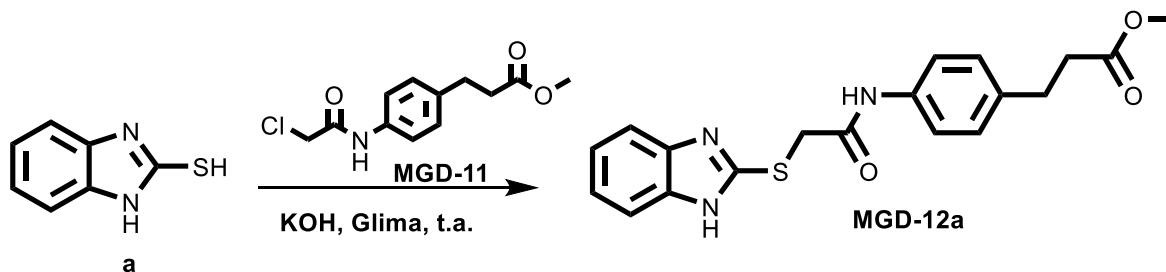


**RMN <sup>1</sup>H** (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz) δ: 2.61 (t, H-8), 2.82 (t, H-7), 7.22 (dd, H-6, H-2, *J<sub>o</sub>* 8.3 Hz), 7.45 (m, H-5, H-3, *J<sub>o</sub>* 7.4 Hz, H-6'', H-2''), 7.84 (m, H-5'', H-4'', H-3'', H-5', H-3', *J<sub>o</sub>* 6.9 Hz), 8.07 (H-6', H-2').

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) (M<sup>+</sup>), 340 (1), 182 (50), 106 (100).

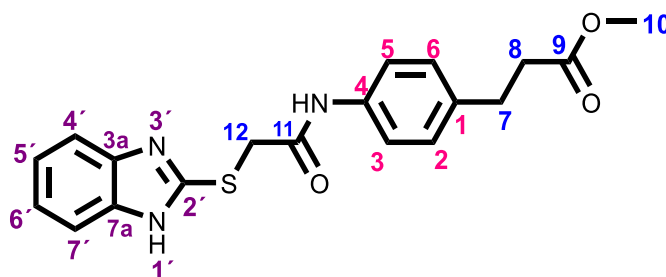


### 11.3.7 Síntesis del éster: 3-(4-(2-((1*H*-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propanoato de metilo (MGD-12a)



En un matraz bola de 25 mL se colocó 0.5 g (0.0033 mol) de la materia prima **a** acondicionado con agitación magnética seguido de 10 mL de glima (observando buena solubilidad de la materia prima, solución incolora) en seguida se añadió 2 eq (0.0066 mol) de base gota a gota disuelta en la mínima cantidad de agua con lo cual se observó un ligero cambio de coloración a amarillo claro. El matraz se acondicionó con una trampa vigreux y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos.

Pasado el tiempo de agitación se añadió gota a gota 1.1 eq (0.0036 mol) del compuesto **MGD-11** (disuelto en 4 mL de glima), dejando reaccionar durante 2 h a temperatura ambiente observando la generación de un precipitado blanco. Se monitoreó por ccf en un sistema **I** observando que la materia prima se consumió por completo. Se trabajó la reacción añadiendo 10 mL de agua fría, se dejó en agitación en un baño de hielo. Finalmente se realizaron extracciones con acetato de etilo y se purificó por cromatografía en columna. Se recuperó un sólido color blanco con un *pf* de 163.6-164.5 °C y un rendimiento del 82%.



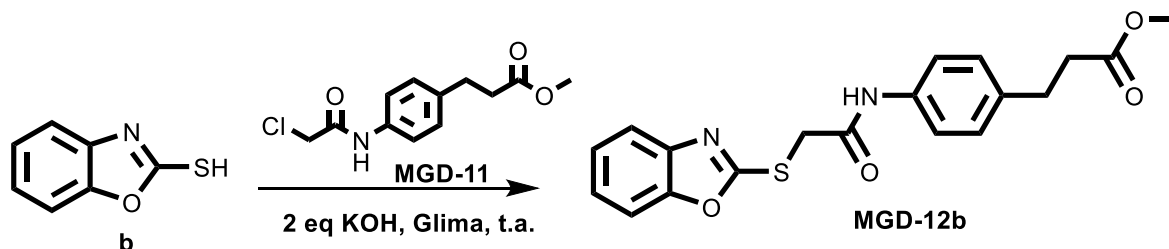
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 2.60 (t, H-8), 2.78 (t, H-7), 3.55 (s, H-10), 4.25 (s, H-12), 7.12 (t, H-6', H-5', *Jm* 3.1 Hz), 7.16 (dd, H-6, H-2, *Jo* 8.6 Hz), 7.46 (s, H-7', H-4'), 7.49 (s, H-5, H-3, *Jo* 8.5 Hz), 10.45 (s, NH), 12.75 (s, NH, 1').

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$ : 29.6 (C-7), 35.0 (C-8), 51.2 (C-10), 36.1 (C-12), 110.4 (C-7'), 117.3 (C-4'), 119.1 (C-5, C-3), 121.7 (5', 6'), 128.6 (C-6, C-2), 135.6 (C-1, C-3a), 136.9 (C-7a, C-4), 149.8 (C-2'), 165.9 (C-11), 172.6 (C=O).

**EM (IE):** *m/z* (% int. rel.) (M+), 369 (1), 73 (100).



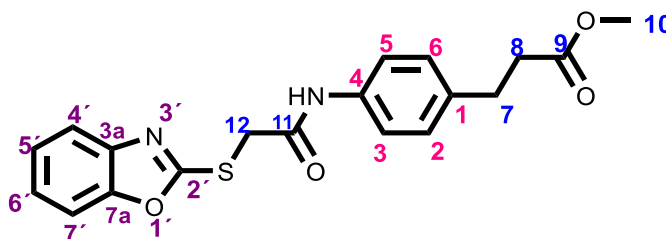
### 11.3.8 Síntesis del éster: 3-(4-(2-(benzoxazol-2-iltio)acetamido)fenil)propanoato de metilo (MGD-12b)



En un matraz bola de 10 mL acondicionado con agitación magnética se colocó 0.1g (0.0006 mol) de la materia prima **b** seguido de 3 mL de glima (observando buena solubilidad de la materia prima, coloración café oscuro) en seguida se añadió 2 eq (0.0026 mol) de base gota a gota disuelta en la mínima cantidad de agua con lo cual se observó un ligero cambio de coloración a verde oscuro. El matraz se acondicionó con una trampa vigreux y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos.

Pasado el tiempo de agitación se añadió gota a gota 1.1 eq (0.00072 mol) del compuesto **MGD-11** (disuelto en 2 mL de glima), dejando reaccionar durante 4 h a temperatura ambiente, se observó la formación de un ligero precipitado color café claro. La reacción se monitoreó por CCF en un sistema **I** observando que la materia prima se consumió por completo. Se trabajó la reacción añadiendo 5 mL de agua fría, se dejó en agitación en baño de hielo.

Finalmente se realizaron extracciones con acetato de etilo y se purificó por cromatografía en columna. Se recuperó un sólido color rosa pálido con rendimiento de 82.1% y un pf de 148.7-149.8 °C.



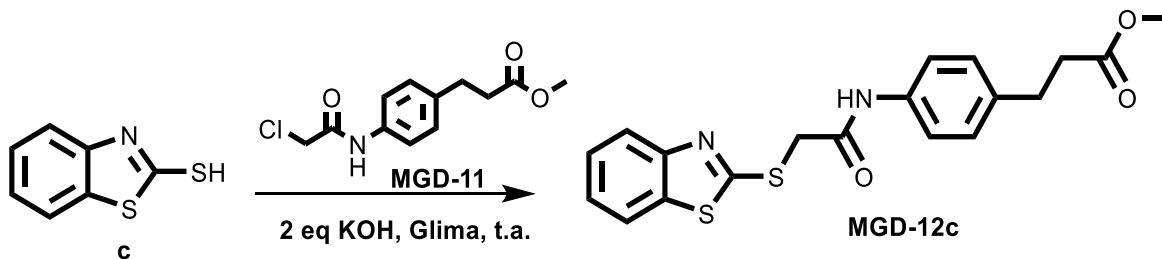
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ: 2.58 (t, H-8), 2.79 (t, H-7), 3.56 (s, H-10), 4.36 (s, H-12), 7.18 (dd, H-6, H-2, *Jo* 8.5 Hz), 7.32 (m, H-7', H-4'), 7.50 (dd, H-5, H-3, *Jo* 8.6 Hz), 7.64 (q, H-6', H-5', *Jo* 8.2 Hz, *Jm* 3.6 Hz), 10.38 (s, NH).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz) δ: 29.7 (C-7), 34.9 (C-8), 36.1 (C-12), 51.2 (C-10), 108.8 (C-7'), 116.4 (C-6'), 117.6 (C3, C-5), 121.4 (C-5'), 123.9 (C-4'), 128.6 (C-6, C-2), 134.2 (C-4), 136.8 (C-1), 142.5 (C-3a, C-7a), 147.0 (C-2'), 158.0 (C-11), 172.6 (C=O).

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) (M<sup>+</sup>), 163 (5), 371 (5).



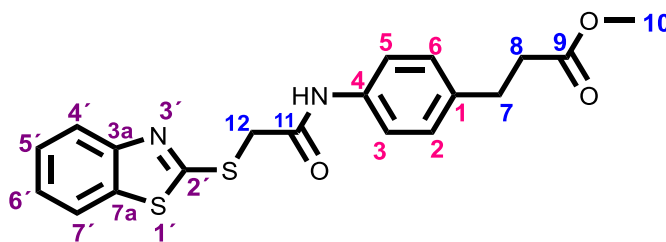
### 11.3.9 Síntesis del éster: 3-(4-(2-(benzotiazol-2-iltio)acetamido)fenil)propanoato de metilo (MGD-12c)



En un matraz bola de 25 mL se colocó 0.5 g (0.0029 mol) de la materia prima **c**, el cual se acondicionó con agitación magnética seguido de 10 mL de glima (observando buena solubilidad de la materia prima, solución amarillo claro) en seguida se añadió 2 eq (0.0059 mol) de base gota a gota disuelta en la mínima cantidad de agua con lo cual se observó un ligero cambio de coloración a amarillo oscuro. El matraz se acondicionó con una trampa vigreux y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos.

Pasado el tiempo de agitación se añadió gota a gota 1.1 eq (0.0032 mol) del compuesto **MGD-11** (disuelto en 4 mL de glima), dejando reaccionar durante 2 h 30 minutos a temperatura ambiente, durante ese tiempo se observó la formación de un precipitado color hueso. Se monitoreó por CCF en un sistema **II**, observando que la materia prima se consumió por completo.

Se trabajó la reacción añadiendo 10 mL de agua fría, se dejó en agitación en un baño de hielo, observando la formación de un precipitado. Finalmente se realizaron extracciones con acetato de etilo y se purificó por cromatografía en columna. Se recuperó un sólido color amarillo claro con un pf de 105.2-105.7 °C y un rendimiento del 79.49%.

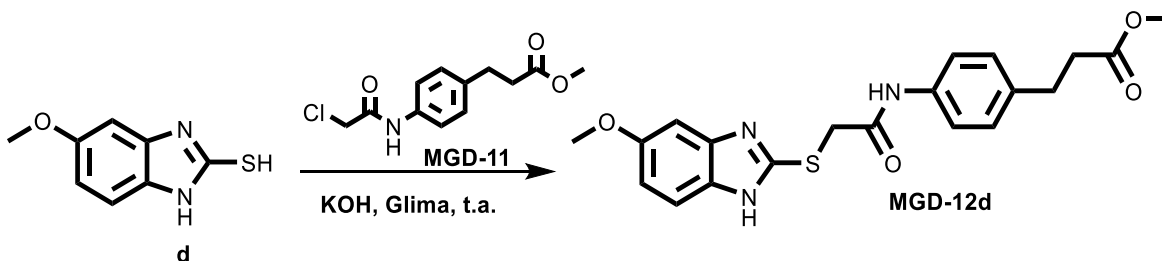


**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ: 2.59 (t, H-8), 2.79 (t, H-7), 3.56 (s, H-10), 4.38 (s, H-12), 7.17 (dd, H-6, H-2, *Jo* 8.5 Hz), 7.38 (t, H-6', H-5', *Jo* 8.2 Hz, *Jm* 3.6 Hz), 7.50 (dd, H-5, H-3, *Jo* 8.6 Hz), 7.83 (d, H-7'), 8.02 (d, H-4'), 10.39 (s, NH).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz) δ: 29.7 (C-7), 34.9 (C-8), 37.7 (C-12), 51.2 (C-10), 119.2 (C3, C-5), 121.0 (C-7'), 121.8 (C-6'), 1226.4 (C-5'), 124.4 (C-4'), 128.5 (C-6, C-2), 135.7 (C-4), 134.7 (C-1), 136.8 (C-7a), 152.5 (C-3a), 165.0 (C-2'), 166.1 (C-11), 172.6 (C=O).

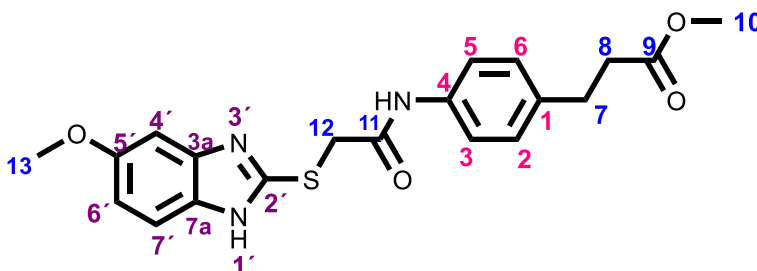


### 11.3.10 Síntesis del éster: 3-(4-(2-((5-metoxi-1*H*-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propanoato de metilo (MGD-12d)



En un matraz bola de 25 mL se colocó 0.5 g (0.0027 mol) de la materia prima **d**, seguido de 10 mL de glima (observando buena solubilidad de la materia prima, solución amarillo pálido), en seguida se añadió 2 eq (0.0055 mol) de base gota a gota disuelta en la mínima cantidad de agua con lo cual se observó un ligero cambio de coloración a amarillo claro. El matraz se acondicionó con agitación magnética y una trampa vigreux y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos.

Pasado el tiempo de agitación se añadió gota a gota 1.1 eq (0.0030 mol) del compuesto **MGD-11** (disuelto en 4 mL de glima) dejando reaccionar durante 2 h a temperatura ambiente, durante ese tiempo se observó la formación de un precipitado blanco. Se monitoreó por CCF en un sistema **I**, observando que la materia prima se consumió por completo. Se trabajó la reacción añadiendo 10 mL de agua fría, se dejó en agitación en un baño de hielo. Finalmente se realizaron extracciones con acetato de etilo y se purificó por cromatografía en columna. Se recuperó un sólido color blanco con un pf de 138.5-139.8°C y un rendimiento del 63.17%.



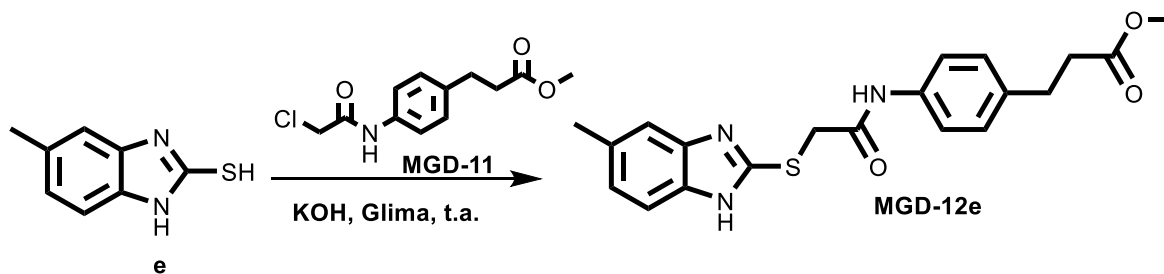
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) δ: 2.56 (t, H-8), 2.77 (t, H-7), 3.54 (s, H-13), 3.74 (s, H-10) 4.21 (s, H-12), 6.75 (dq, H-6', *J*<sub>m</sub> 2.4 Hz), 6.95 (s, H-7'), 7.18 (dd, H-6, H-2, *J*<sub>o</sub> 8.6 Hz), 7.33 (d, H-4', *J*<sub>o</sub> 8.8 Hz), 7.47 (dd, H-5, H-3, *J*<sub>o</sub> 8.5 Hz), 10.42 (s, NH).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) δ: 29.7 (C-7), 34.9 (C-12), 36.2 (C-8), 51.2 (C-10), 55.4 (C-13), 104.5 (C-4'), 110.5 (C-7', C-6'), 119.1 (C3, C-5), 128.5 (C-6, C-2), 135.6 (C-1, C-7a), 136.9 (C-3a, C-4), 148.7 (c-2'), 155.3 (C-5'), 166.0 (C-11), 172.6 (C=O).

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) (M<sup>+</sup>), 355 (20).

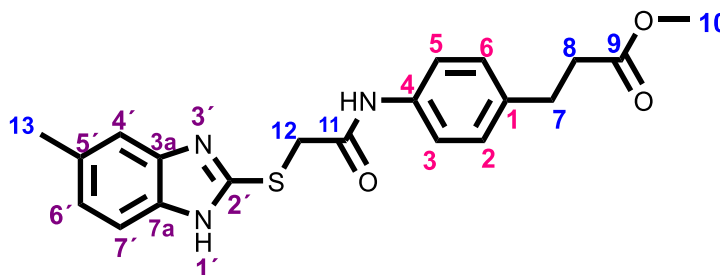


### 11.3.11 Síntesis del éster: 3-(4-(2-((5-metil-1*H*-bencimidazol-2-il)tio)acetamido)fenil)propanoato de metilo (MGD-12e)



En un matraz bola de 25 mL se colocó 0.5 g (0.0030 mol) de la materia prima **e**, el cual fue acondicionado con agitación magnética seguido de 10 mL de glime (observando buena solubilidad de la materia prima, solución color café claro), en seguida se añadió 2 eq (0.0060 mol) de base gota a gota disuelta en la mínima cantidad de agua con lo cual se observó un ligero cambio de coloración a café oscuro rojizo. El matraz se acondicionó con una trampa vigreux y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos.

Pasado el tiempo de agitación se añadió gota a gota 1.1 eq (0.0033 mol) del compuesto **MGD-11** (disuelto en 4 mL de glime), dejando reaccionar durante 3 h 30 minutos a temperatura ambiente, durante ese tiempo se observó la formación de un precipitado color amarillo claro. Se monitoreó por CCf en un sistema I, observando que la materia prima se consumió por completo. Se trabajó la reacción añadiendo 10 mL de agua fría, se dejó en agitación en un baño de hielo. Finalmente se realizaron extracciones con acetato de etilo y se purificó por cromatografía en columna. Se recuperó un sólido color blanco con un rendimiento de 77.2% y un pf de 165.5-166.2°C.



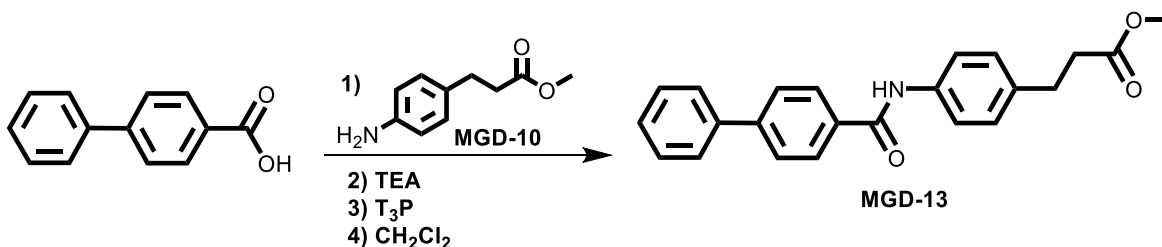
**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ: 2.45 (s, H-13), 2.57 (t, H-8), 2.87 (t, H-7), 3.64 (s, H-10), 3.92 (s, H-12), 7.04 (d, H-4', *J<sub>m</sub>* 1.0 Hz), 7.06 (d, H-6', *J<sub>m</sub>* 1.5 Hz), 7.11 (dd, H-6, H-2, *J<sub>o</sub>* 8.5 Hz), 7.42 (d, H-7', *J<sub>o</sub>* 8.0 Hz), 7.48 (dd, H-5, H-3, *J<sub>o</sub>* 8.5 Hz), 11.20 (s, NH).

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz) δ: 21.7 (C-13), 30.5 (C-7), 35.9 (C-8), 36.3 (C-12), 51.8 (C-10), 120.3 (C3, C-5), 124.2 (C-4', C-7', C-5'), 128.9 (C-6, C-2), 132.7 (C-6'), 136.5 (C-4, C-1), 136.8 (C-3a, C-7a), 150.2 (C-2'), 168.6 (C-11), 173.5 (C=O).

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) (M<sup>+</sup>), 179 (5), 223 (100).

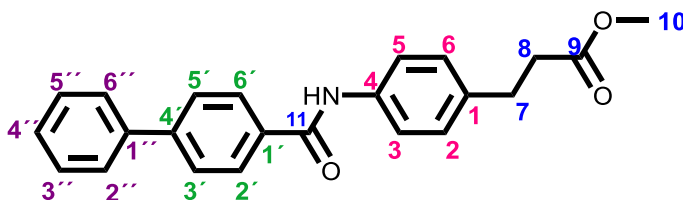


### 11.3.12 Síntesis del éster: 3-(4-([1,1'-bifenil]-4-carboxamido)fenil)propanoato de metilo (MGD-13)



En un matraz Erlenmeyer de 100 mL se colocó 1 g (0.0050 mol) de materia prima (ácido bifencilcarboxílico) seguido de 1 eq (0.00504 mol) del compuesto **MGD-10**, posteriormente se adicionó 8 eq (0.0403 mol) de TEA y finalmente se añadió al matraz 6 eq (0.0302 mol) de T<sub>3</sub>P el cual se encuentra disuelto al 50% en AcoEt (observando un cambio de coloración a café claro) finalmente se adicionó 10 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. El matraz se acondicionó debidamente con barra de agitación y refrigerante, dejando reaccionar a temperatura de reflujo durante 1 h.

La reacción fue monitoreada por CCF durante 1 h empleando un sistema I, pasado el tiempo de reacción se observó que ya no había materia prima. Se trabajó la reacción (pH 2) añadiendo agua fría y colocando el matraz en un baño de hielo, finalmente se realizaron extracciones recuperando la fase orgánica. Se obtuvo un compuesto café oscuro el cual se purificó por columna cromatográfica empleado un sistema II, recuperando el producto de interés. Se obtuvo un sólido color amarillo claro con un rendimiento del 72% y punto de fusión característico de pureza (202.2-202.4 °C).



**RMN <sup>1</sup>H** (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz) δ: 2.62 (t, H-8), 2.92 (t, H-7), 3.65 (s, H-10), 7.19 (dd, H-6, H-2, *Jo* 8.4 Hz), 7.42 (d, H-5, H-3, *Jo* 7.4 Hz), 7.51 (m, H-5'', H-4'', H-3'', *Jo* 6.9 Hz), 7.74 (m, H-6'', H-2'', *Jm* 3.7 Hz, H-6', H-2', *Jm* 1.8 Hz), 8.08 (dd, H-5', H-3', *Jo* 8.3 Hz), 9.88 (s, NH).

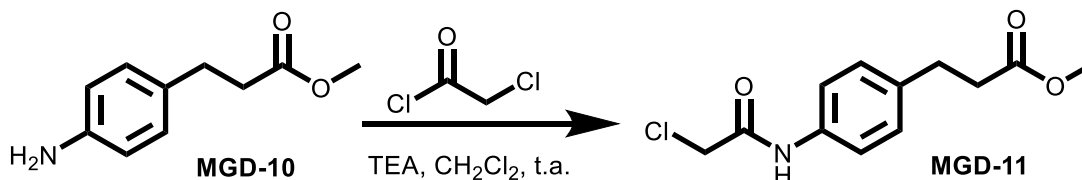
**RMN <sup>13</sup>C** (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz) δ: 29.8 (C-7), 35.0 (C-8), 51.3 (C-10), 126.6 (C-4''), 126.9 (C-5, C-3, C-6'', C-2''), 127.0 (C-5', C-3'), 129.1 (C-6, C-2), 130.0 (C-5'', C-3'', C-6', C-2'), 135.8 (C-1), 137.2 (C-4), 139.1 (C-1''), 167.2 (C-11), 172.7 (C=O).

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) (M<sup>+</sup>), 198 (100).



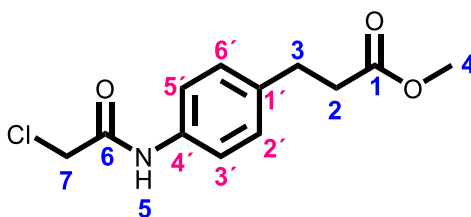


### 11.3.13 Síntesis del precursor: 3-(2-cloroacetamido)fenil)propanoato de metilo (MGD-11)



En un matraz bola de 100 mL se colocó 1g (0.0055 mol) del compuesto **MGD-10**, disolviéndolo en 10 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco en presencia de 1.2 eq (0.0066 mol) de TEA como base (no se observó ningún cambio en la coloración de la reacción) acondicionado con agitación magnética, se colocó en baño de hielo durante 30 min.

Pasado el tiempo de agitación se añadió 1.1 eq (0.0061 mol) de cloruro de cloroacetilo gota a gota retirando el baño al finalizar la adición. Se dejó en agitación durante 2 días a temperatura ambiente, se confirmó la conversión de toda la materia prima por CCF empleando un sistema I. Se trabajó la reacción añadiendo agua fría en agitación y finalmente realizando extracciones con acetato de etilo con lo cual se obtuvo el compuesto **MGD-11**. Se obtuvo un sólido amarillo claro con un rendimiento del 98.5% y un pf de 110.9-111.2 °C.



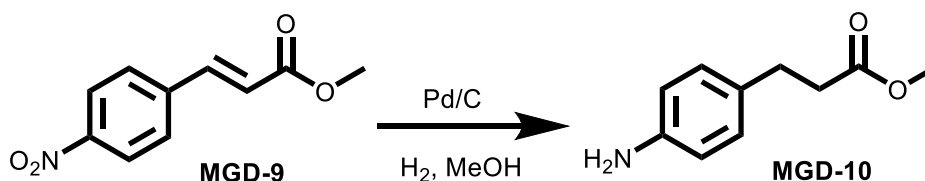
**RMN  $^1\text{H}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 2.60 (t, H-2), 2.92 (t, H-3), 3.65 (s,  $\text{CH}_3$ ), 4.16 (s,  $\text{CH}_2$ ), 7.19 (dd, H-6', H-2'  $J_o$  11 Hz), 7.46 (dd, H5', H3'  $J_o$  10.9 Hz).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$ : 30.5 (C-2), 35.8 (C-3), 43 (C-7), 51.7 (C-4), 120.5 (C5', C3'), 129.1 (C6', C2'), 135.1 (C1'), 137.8 (C-4'), 163.9 (C-6), 173.3 (C=O).

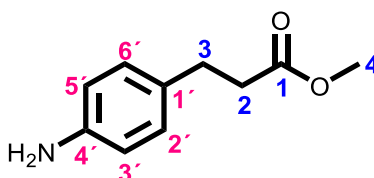
**EM (IE):** m/z (% int. rel.) ( $\text{M}^+$ ), 257 (10), 182 (25).



### 11.3.14 Síntesis del precursor: 3-(4-aminofenil)propanoato de metilo (MGD-10)



Se colocó en el frasco del hidrogenador 1.5g del compuesto **MGD-9** el cual se disolvió en 15 mL de metanol observando insolubilidad de la materia prima, se añadió 10% en peso del catalizador Pd/C. El frasco se colocó en el equipo de hidrogenación, inicialmente se purgo el aire del recipiente por triplicado y finalmente se colocó en agitación a una presión de 60 psi de hidrógeno, la reacción se monitoreó por CCF empleando un sistema I, observando que a las 3 h ya no había materia prima, por lo cual se filtró al vacío recuperando la fase líquida, la cual se concentró al vacío y finalmente se realizó una percolación del compuesto recuperado. Se obtuvo de esta manera al compuesto **MGD-10** como un sólido color melón, con un rendimiento del 97.6% y un pf de 56.5-56.6°C.



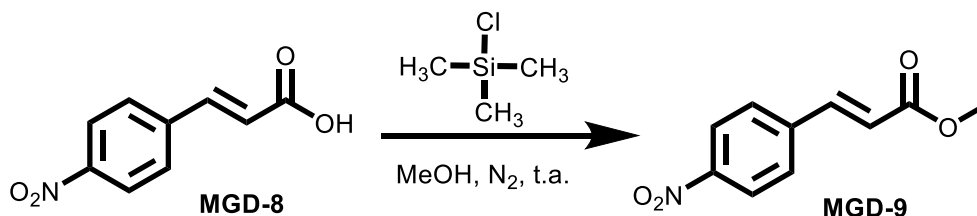
**RMN <sup>1</sup>H** (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ: 2.57 (t, H-2), 2.83 (t, H-3), 3.65 (s, CH<sub>3</sub>), 6.63 (dd, H-6', H-2', *Jo* 8.5 Hz), 7 (dd, H-5' y H-3', *Jo* 8.4 Hz).

**RMN <sup>13</sup>C** (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) δ: 30.3 (C-2), 36.3 (C-3), 51.7 (C-4), 115.4 (C-3', C-5'), 129.2 (C-6', C-2'), 130.6 (C-1'), 144.8 (C-4'), 173.7 (C=O).

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) (M<sup>+</sup>), 179 (20), 106 (100).

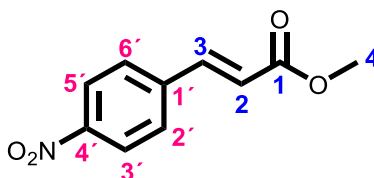


### 11.3.15 Síntesis del precursor: (*E*)-3-(4-nitrofenil)acrilato de metilo (MGD-9)



En un matraz bola de 100 mL se colocó 4g (0.02049 mol) del compuesto **MGD-8**, el cual se disolvió con 20 mL de metanol absoluto, posteriormente el matraz se acondicionó con un tapón y atmósfera de nitrógeno colocando en baño de hielo durante 15 min, pasado el tiempo de agitación se añadió vía cánula gota a gota 2 eq (0.0409 mol) de clorotrimetilsilano (TMSCl), se dejó en agitación con baño de hielo durante 2 h pasado ese tiempo se retiró el baño de hielo y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 6 h, posteriormente se añadió 1 eq (0.0204 mol) más de TMSCl, observando por CCF en un sistema II que la reacción finalizó después de 30 min.

El crudo de reacción se trabajó añadiendo agua fría y ajustando el pH inicial de 3 a un pH de 8 con una solución saturada de bicarbonato de sodio. Finalmente se realizaron extracciones obteniendo así al compuesto **MGD-9** el cual se purificó por columna empleando un sistema I aumentando gradualmente la polaridad, se recuperó a un sólido color amarillo claro con un rendimiento del 98% y un pf de 151.7-152.1°C.



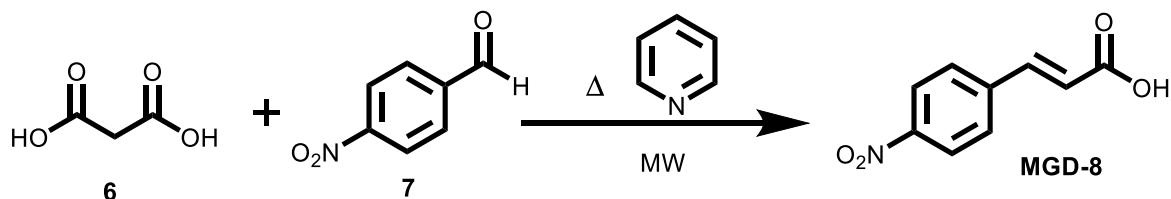
**RMN <sup>1</sup>H** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ: 8.25 (d, H5', H3'), 7.71 (m, H6', H2'), 3.84 (s, H4), 6.59 (s, H3), 6.55 (s, H2).

**RMN <sup>13</sup>C** (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz) δ: 166.61 (C=O), 130.39 (C6', C2'), 122.25 (C5', C3'), 140.64 (C-4'), 142.10 (C-3), 124.40 (C-2), 130.39 (C-1'), 52.29 (C-4).

**EM (IE):** m/z (% int. rel.) (M+), 207 (40), 176 (100).



### 11.3.16 Síntesis del precursor: Ácido (*E*)-3-(4-nitrofenil)acrilico (MGD-8)

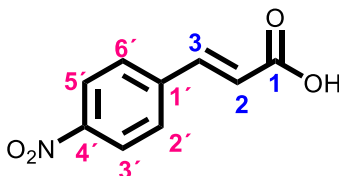


En un matraz bola de 100 mL se colocó 4 g (0.0264 mol) de 4-nitrobenzaldehido, seguido de 3.5 eq (0.0927 mol) de ácido malónico, disueltos en 20 mL de piridina (observando insolubilidad de las materias primas) el matraz se acondicionó con un agitador magnético, una trampa vigreux y refrigerante cubriendo con cinta teflón cada una de las uniones.

La reacción realizó a cabo asistida por microondas bajo las siguientes condiciones:

- Sistema abierto
- Temperatura de 100°C
- 150 W de potencia
- 1 ciclo de 10 min.

Se realizó placa de la reacción a los 10min en un sistema II observando que ya no había materia prima. Se trabajó la reacción con un pH inicial de 7 el cual se ajustó con HCl concretado a pH 2, observando la formación de un precipitado color amarillo claro, por lo cual se colocó 10 mL de agua, finalmente se filtró al vacío realizando lavados con agua fría, se recuperó un sólido color amarillo claro, el cual se secó en la estufa a 45°C, con un rendimiento del 89.88% y pf de 292.8-292.9°C.



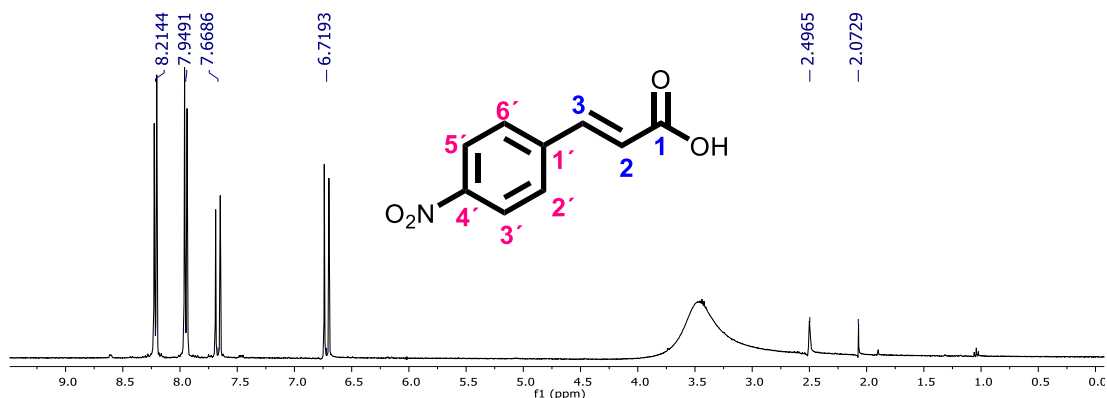
**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 6.73 (d, H-2, *J*<sub>trans</sub> 16.4 Hz), 7.68 (d, H-3, *J*<sub>trans</sub> 16 Hz), 7.96 (dd, H-6' y H-2'), 8.22 (dd, H-5', H-3').

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 123.6 (C-2), 123.9 (C-5', C-3'), 129.3 (C6', C2'), 140.8 (C-1'), 141.4 (C-3), 148 (C-4'), 167.1 (C=O).

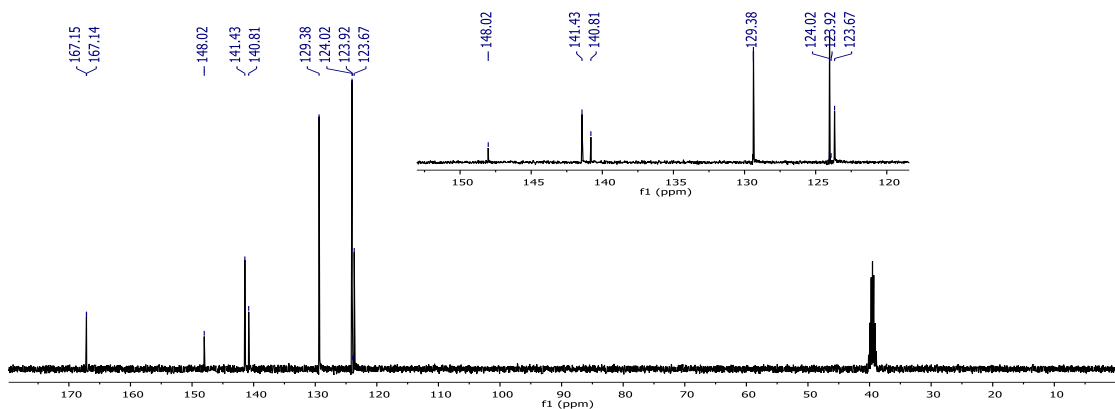
**EM (IE):** m/z (% int. rel.) (M<sup>+</sup>), 167 (40), 149 (100).



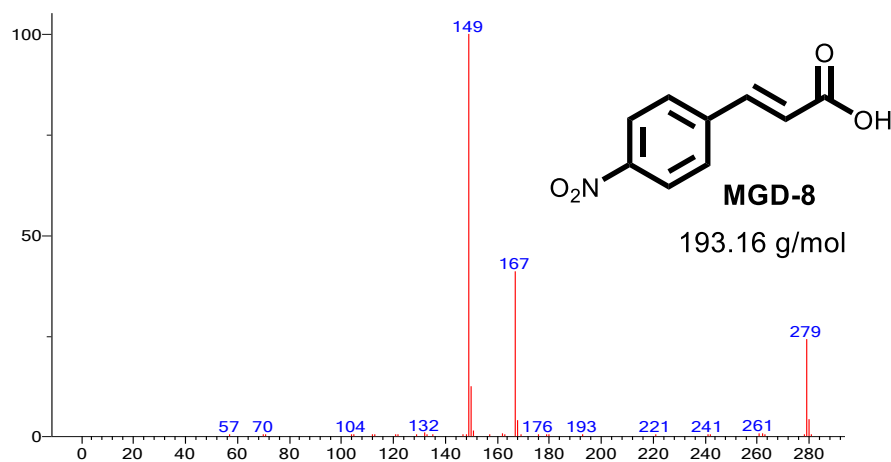
## 12. ESPECTROS



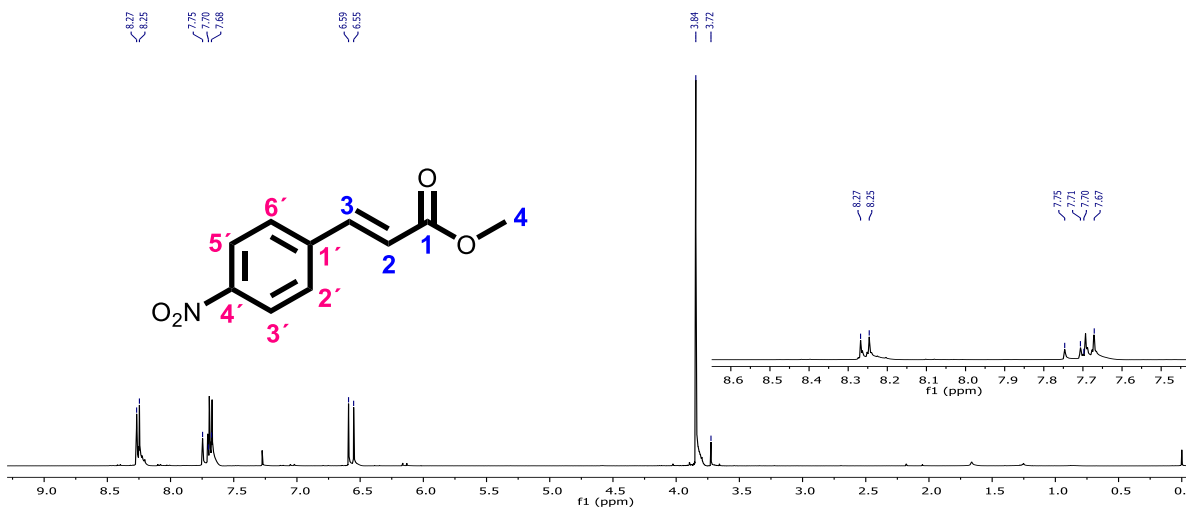
**Espectro 1.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) del compuesto **MGD-8**.



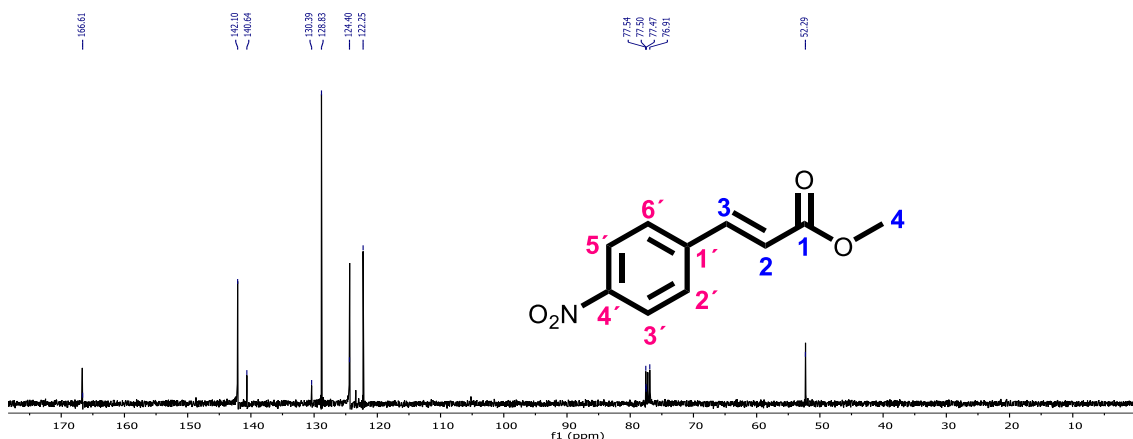
**Espectro 2.** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz) del compuesto **MGD-8**.



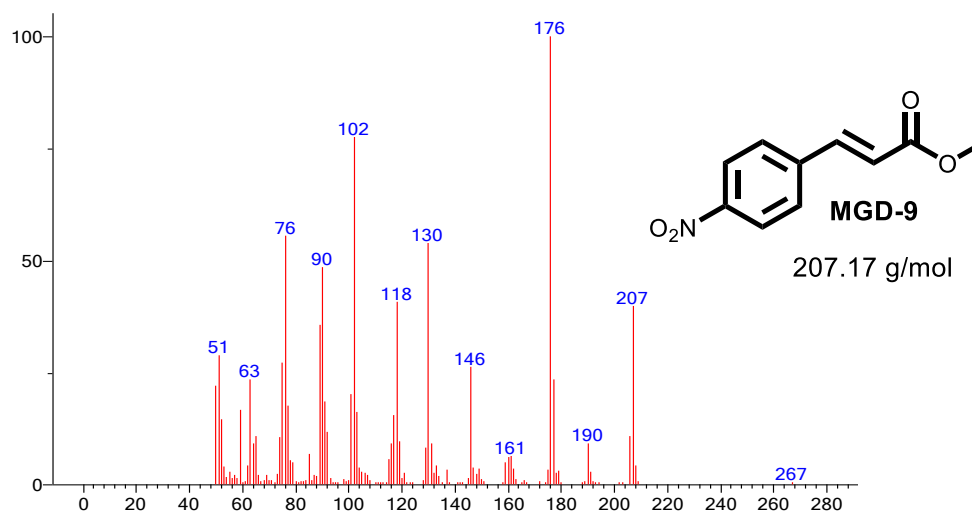
**Espectro 3.** Espectro de EM-IE del compuesto **MGD-8**.



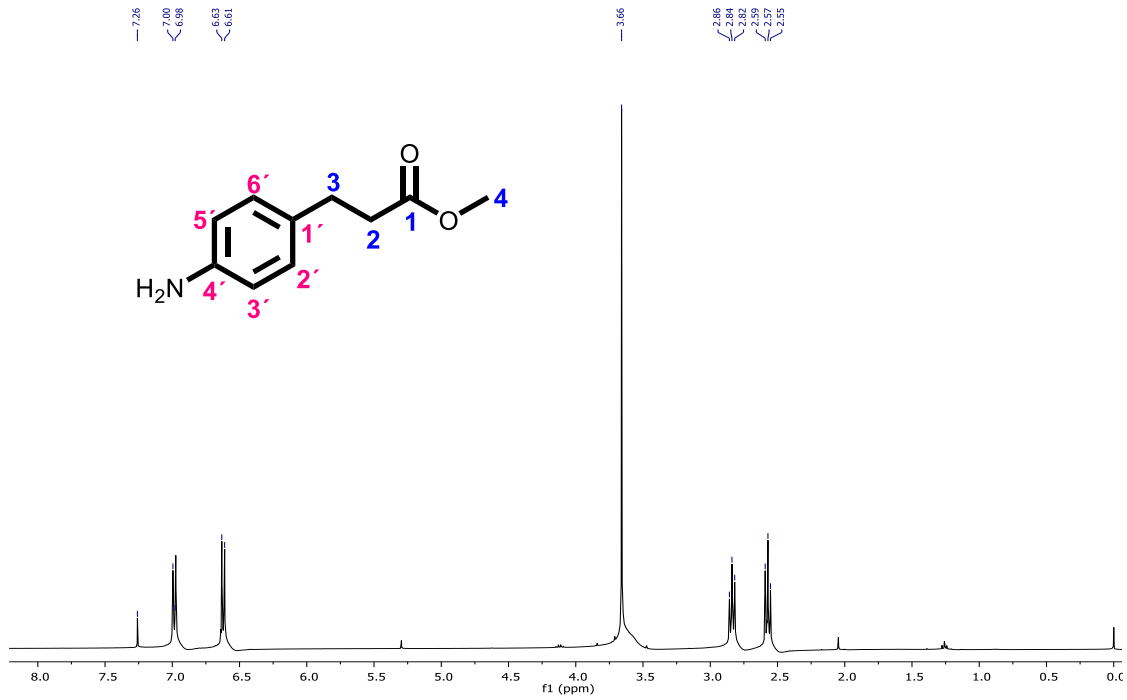
**Espectro 4.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) del compuesto **MGD-9**.



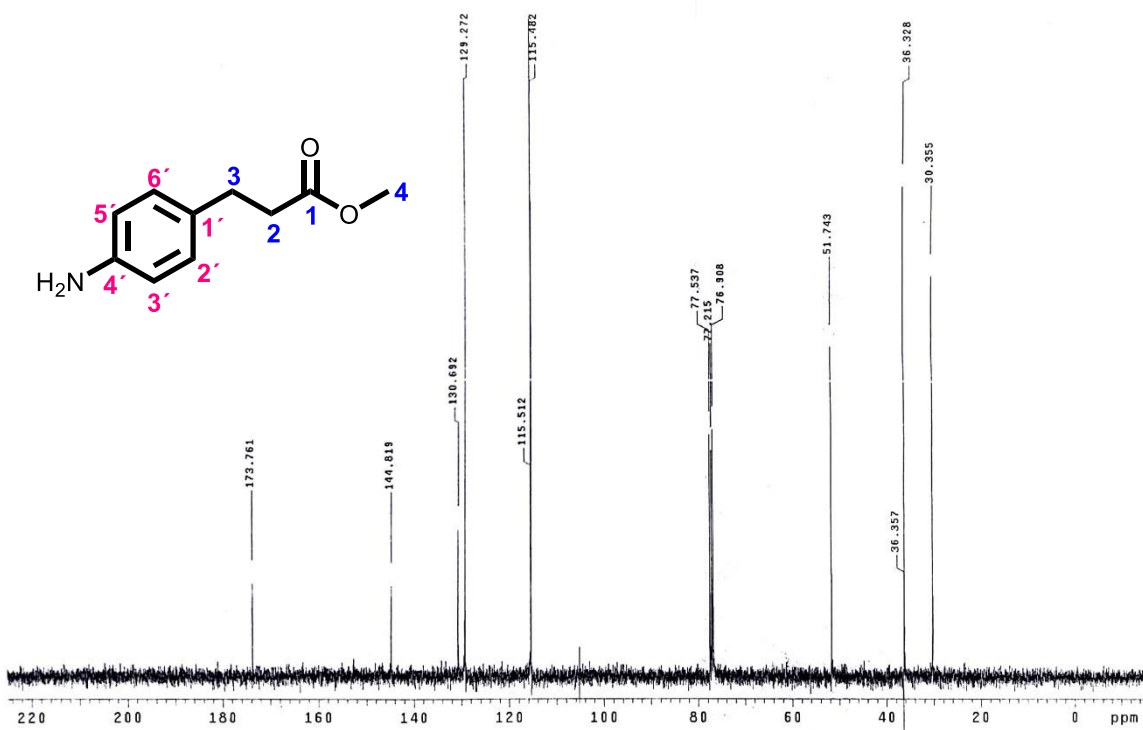
**Espectro 5.** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) del compuesto **MGD-9**.



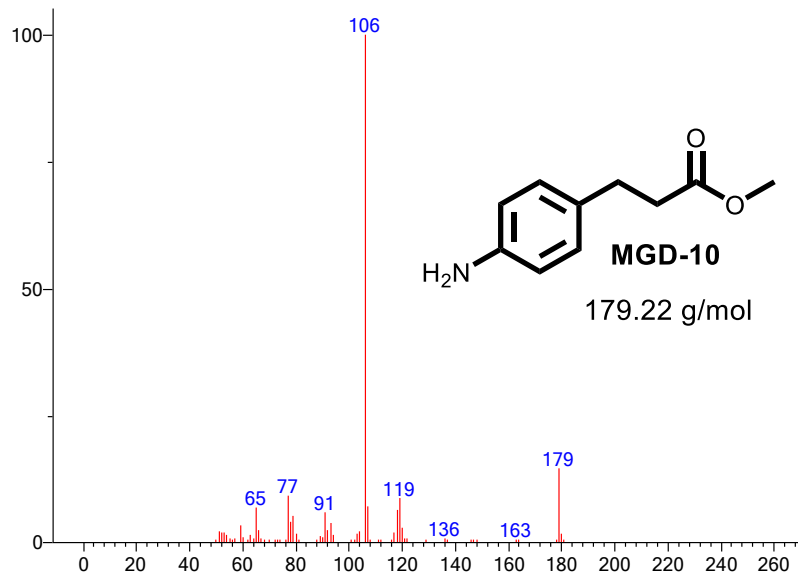
**Espectro 6.** Espectro de EM-IE del compuesto **MGD-9**.



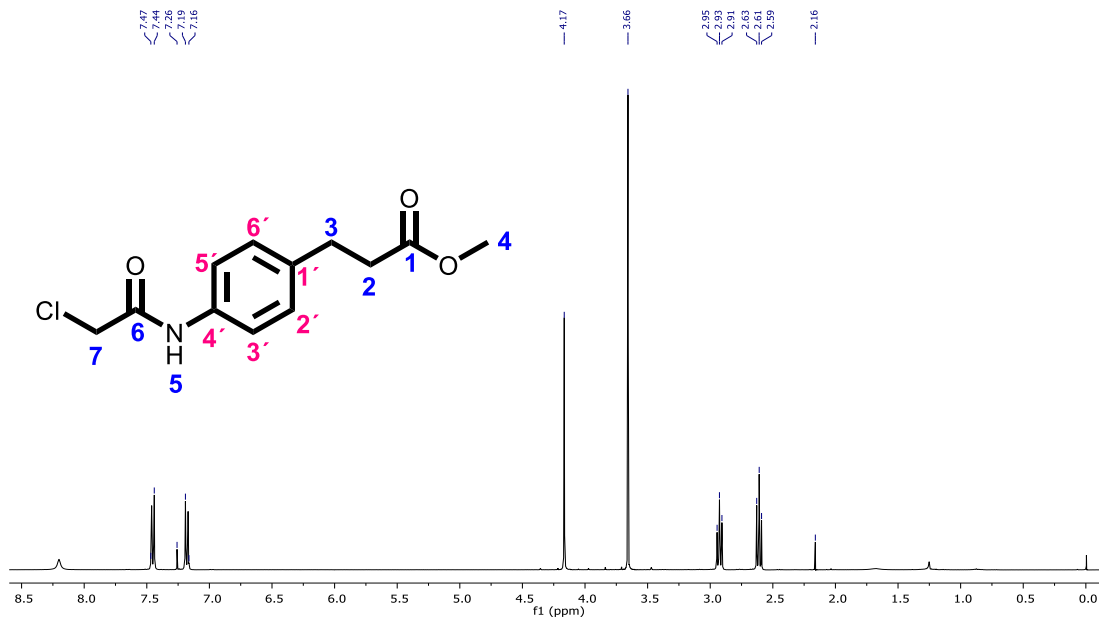
**Espectro 7.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) del compuesto **MGD-10**.



**Espectro 8.** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) del compuesto **MGD-10**.

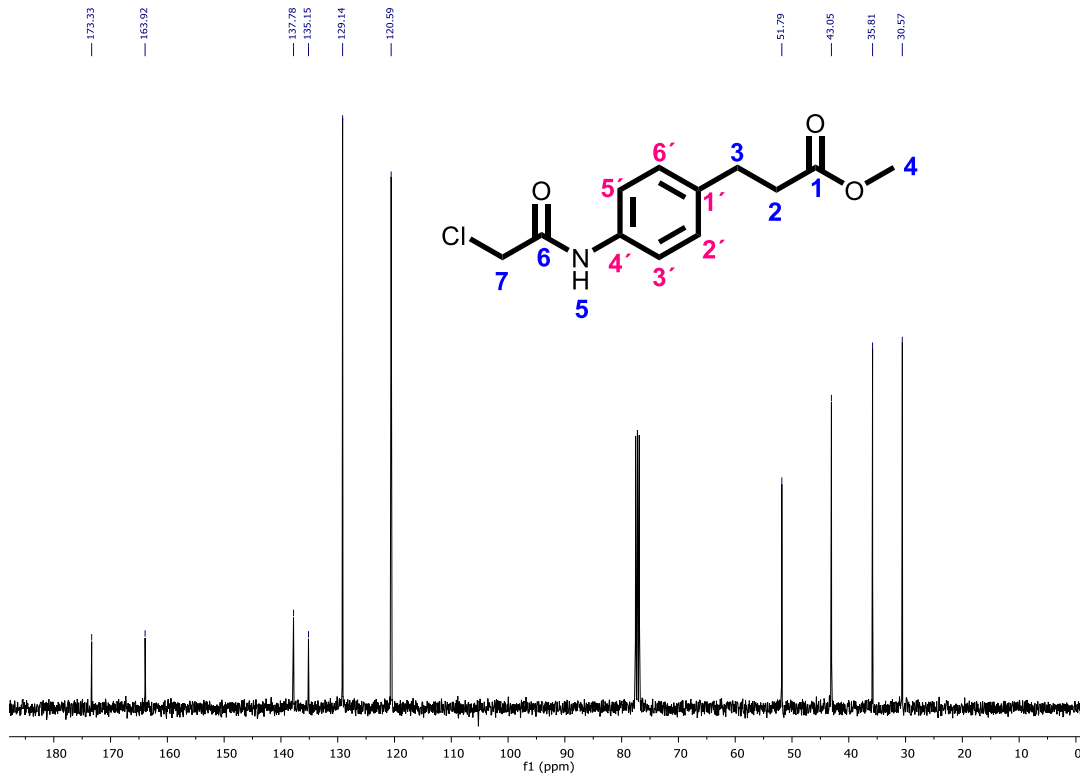


**Espectro 9.** Espectro de EM-IE del compuesto **MGD-10**.

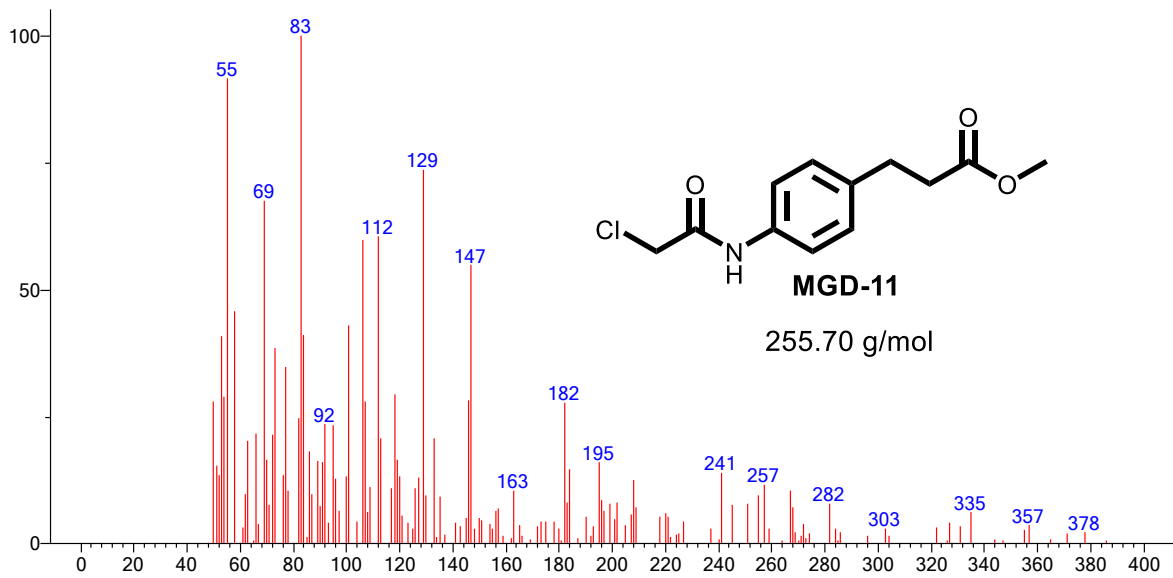


**Espectro 10.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del compuesto **MGD-11**.

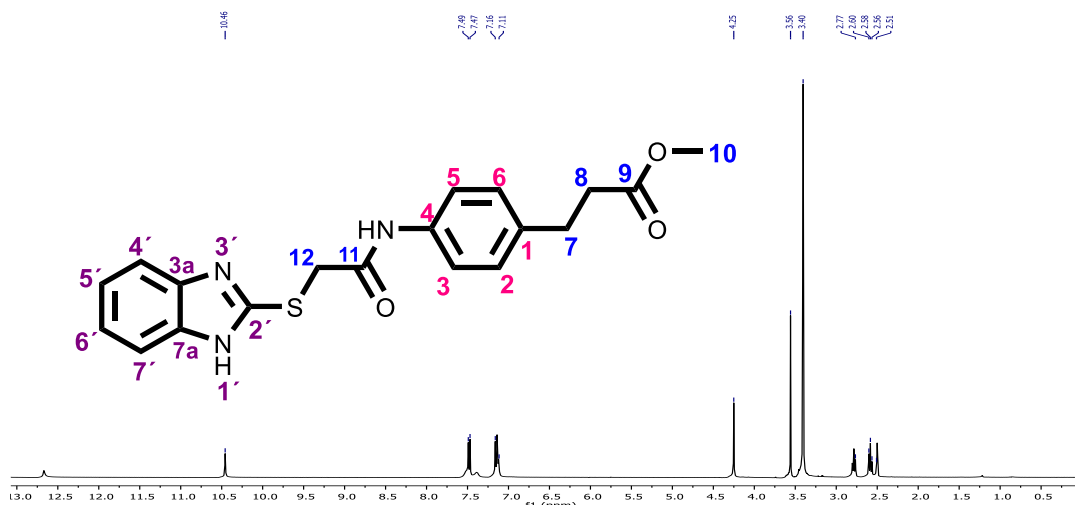




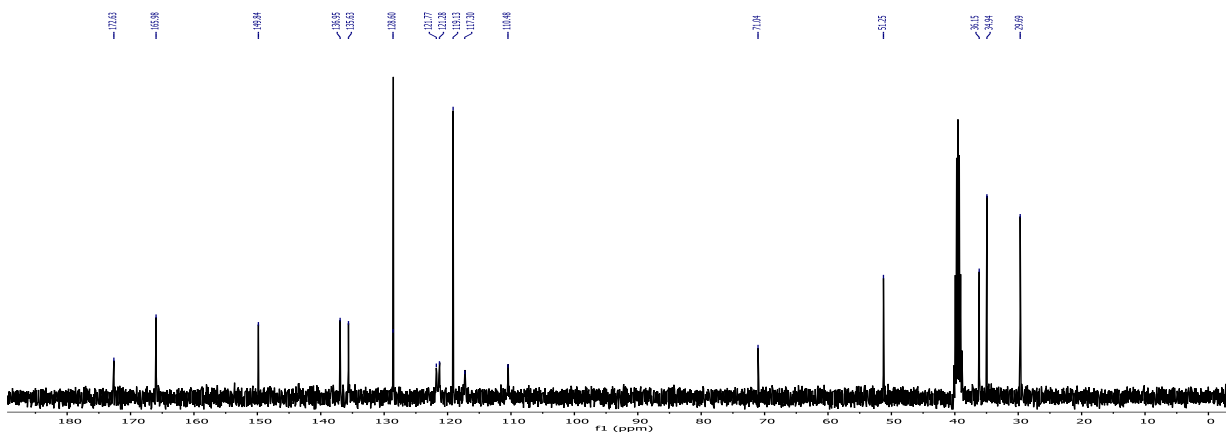
**Espectro 11.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) del compuesto **MGD-11**.



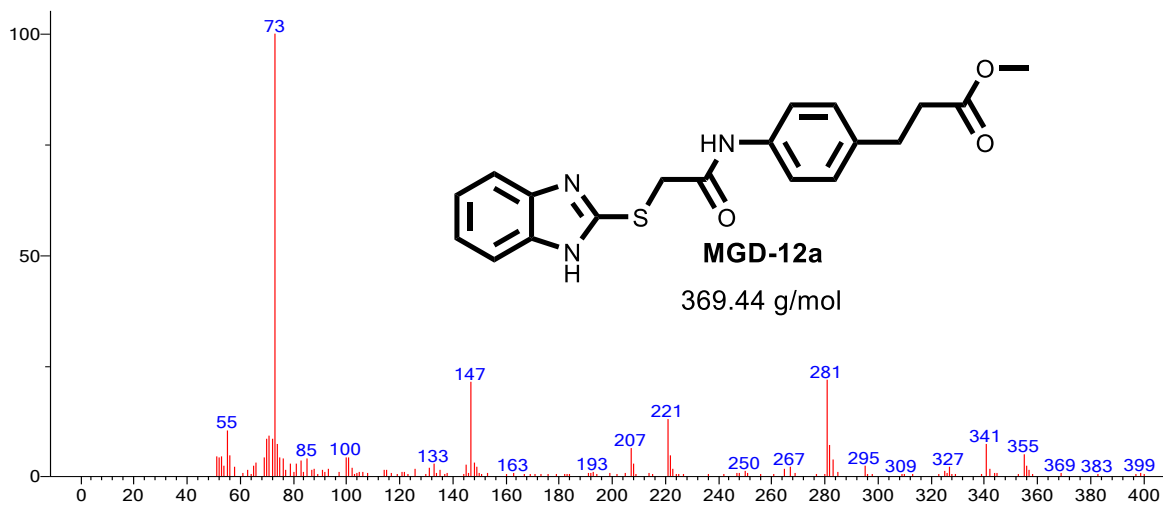
**Espectro 12.** Espectro de EM-IE del compuesto **MGD-11**.



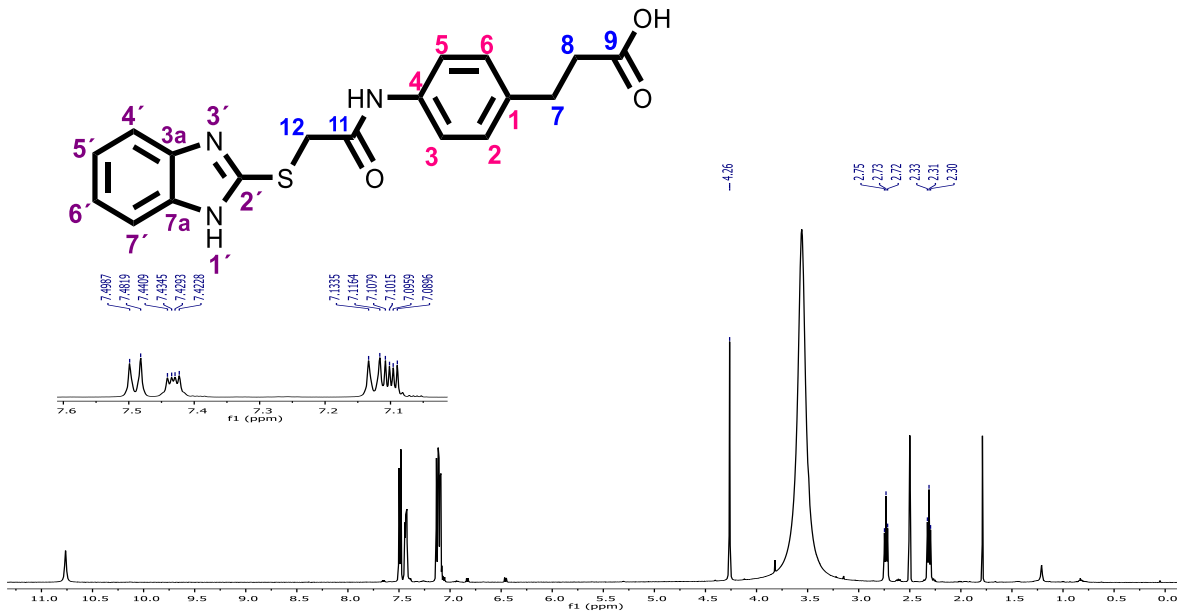
**Espectro 13.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) del compuesto **MGD-12a**.



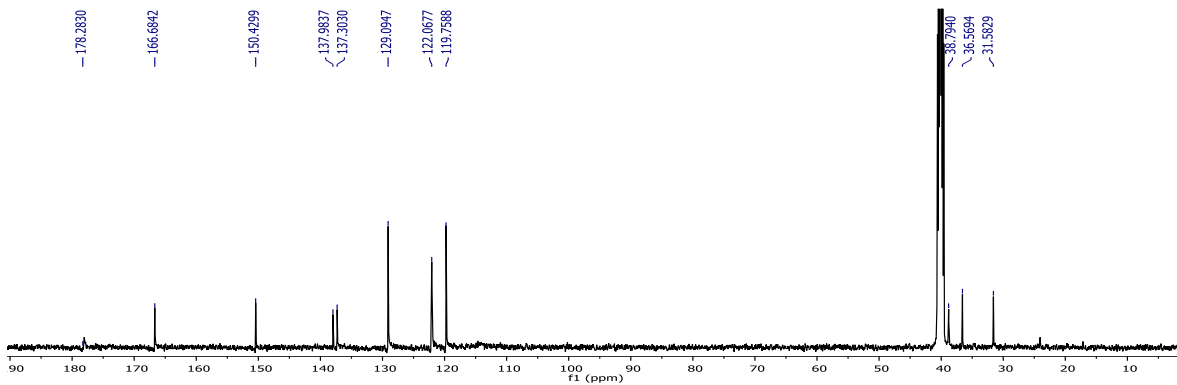
**Espectro 14.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto **MGD-12a**.



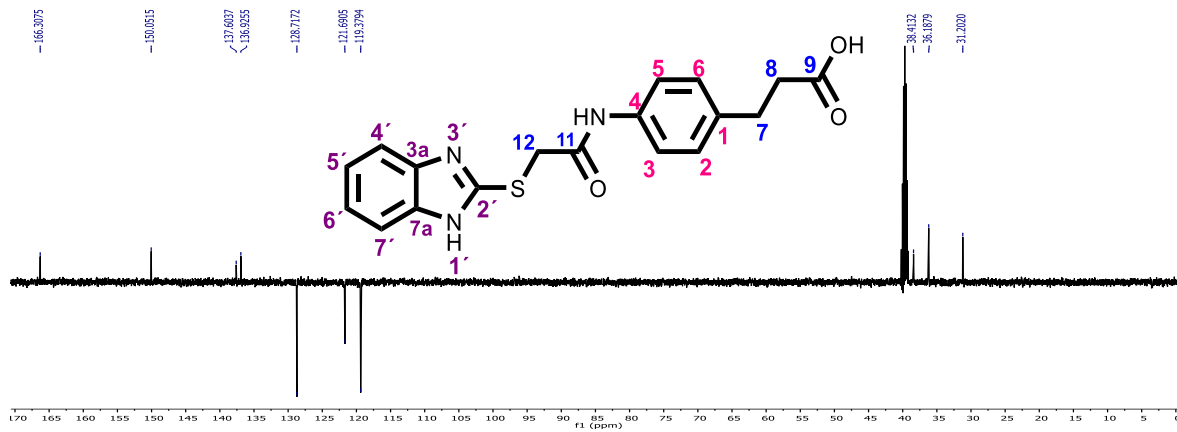
**Espectro 15.** Espectro de EM-IE del compuesto **MGD-12a**.



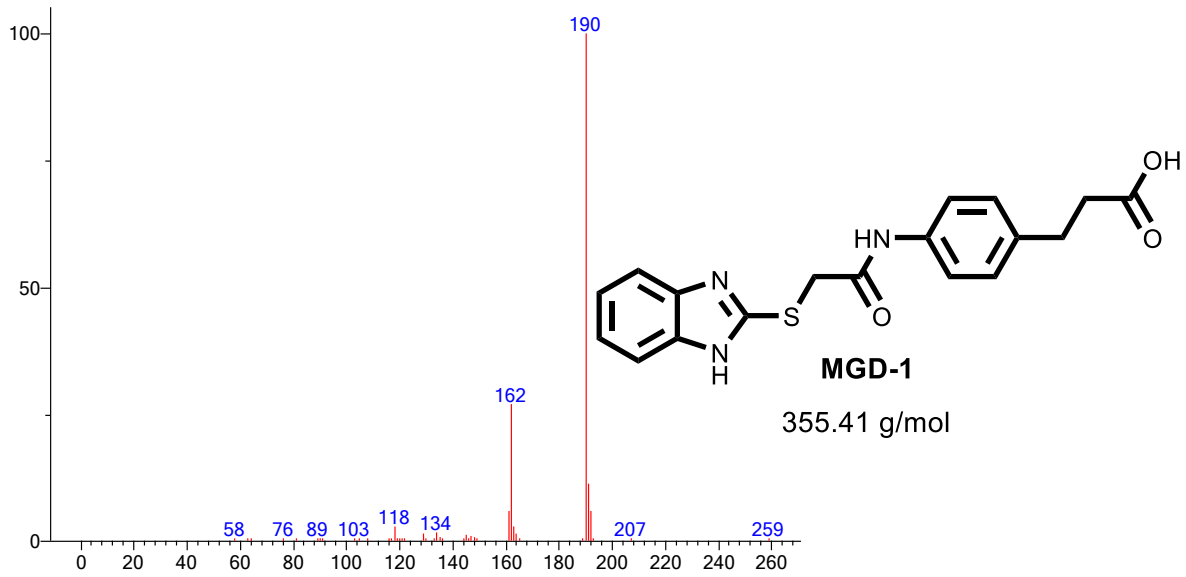
**Espectro 16.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) del compuesto final **MGD-1**.



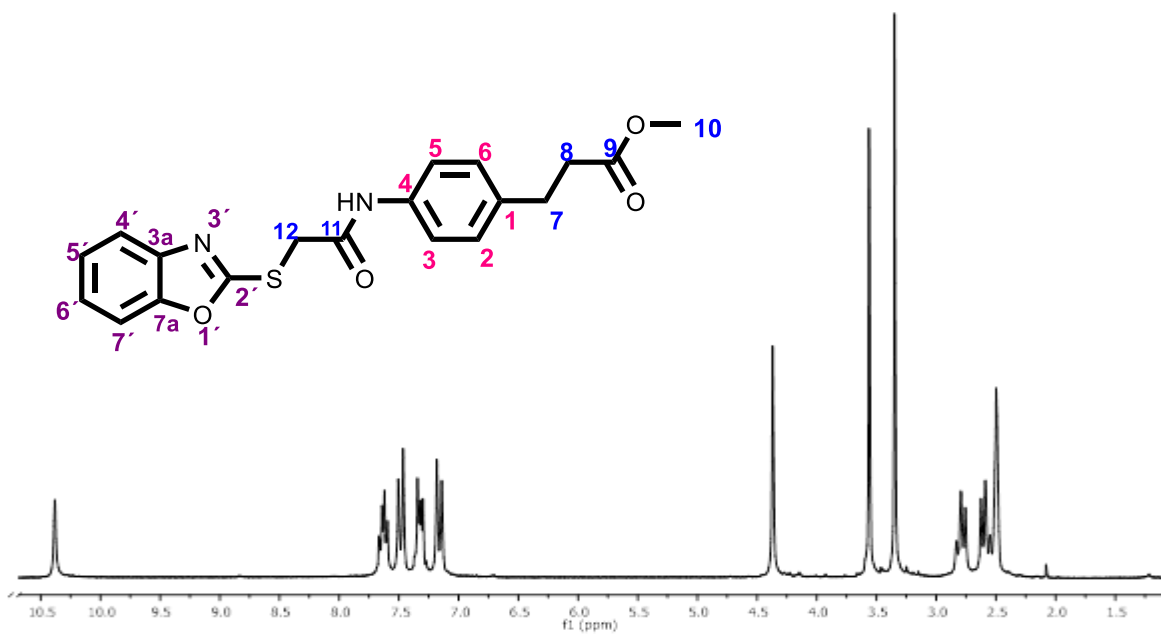
**Espectro 17.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) del compuesto final **MGD-1**.



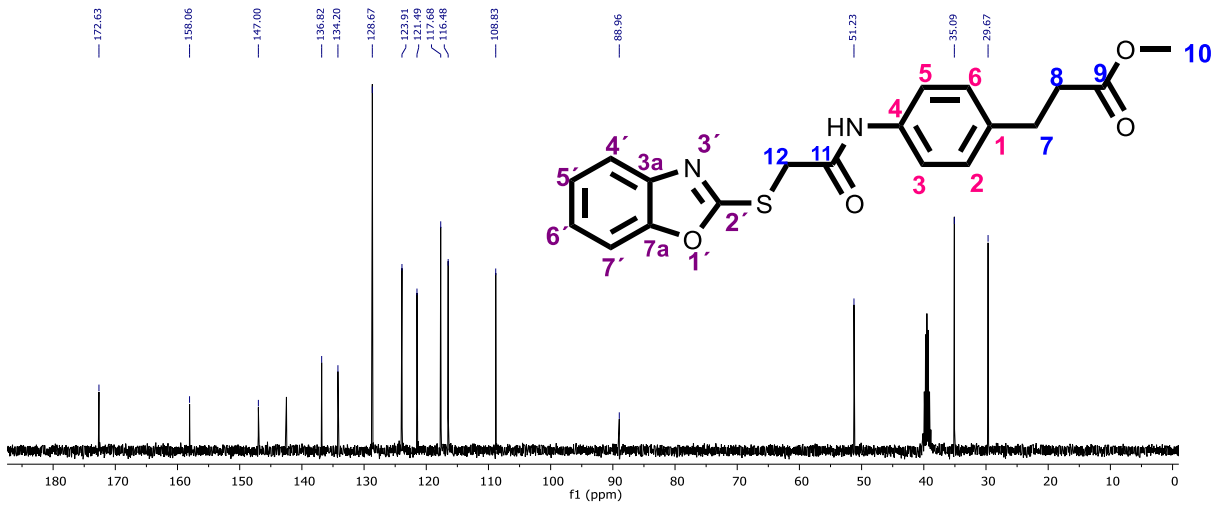
**Espectro 18.** Espectro DEPTQ de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) del compuesto final **MGD-1**.



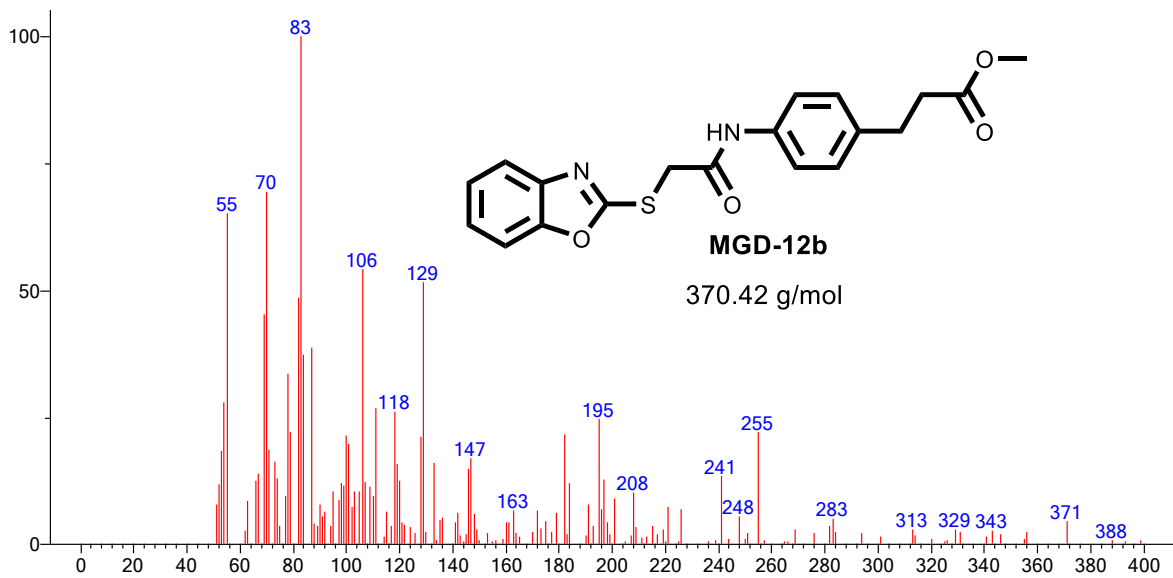
**Espectro 19.** Espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-1**.



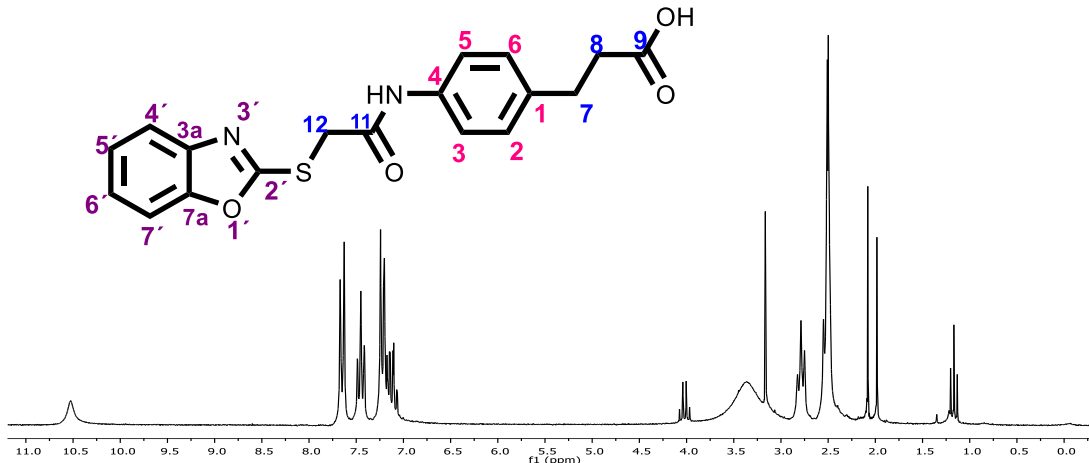
**Espectro 20.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ , 400 MHz) del compuesto **MGD-12b**.



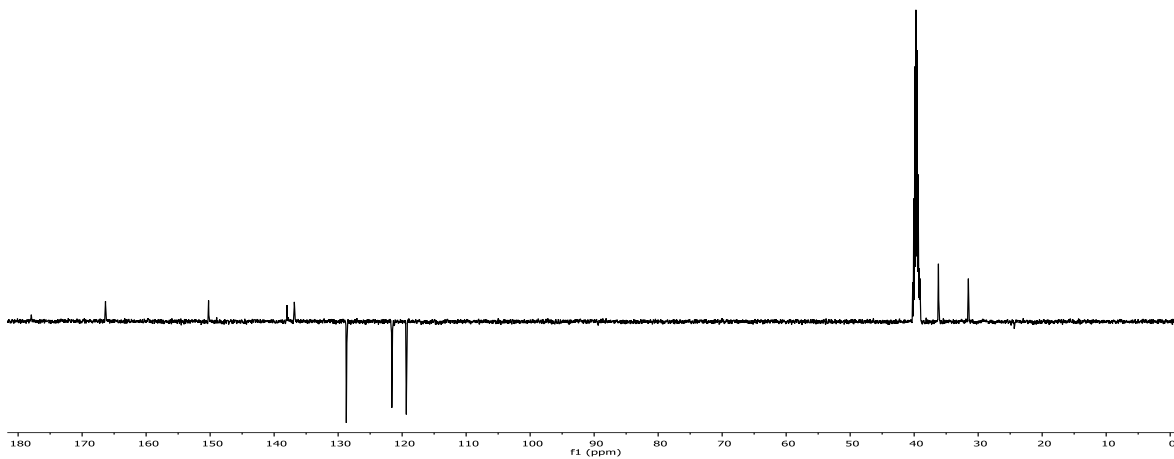
**Espectro 21.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto **MGD-12b**.



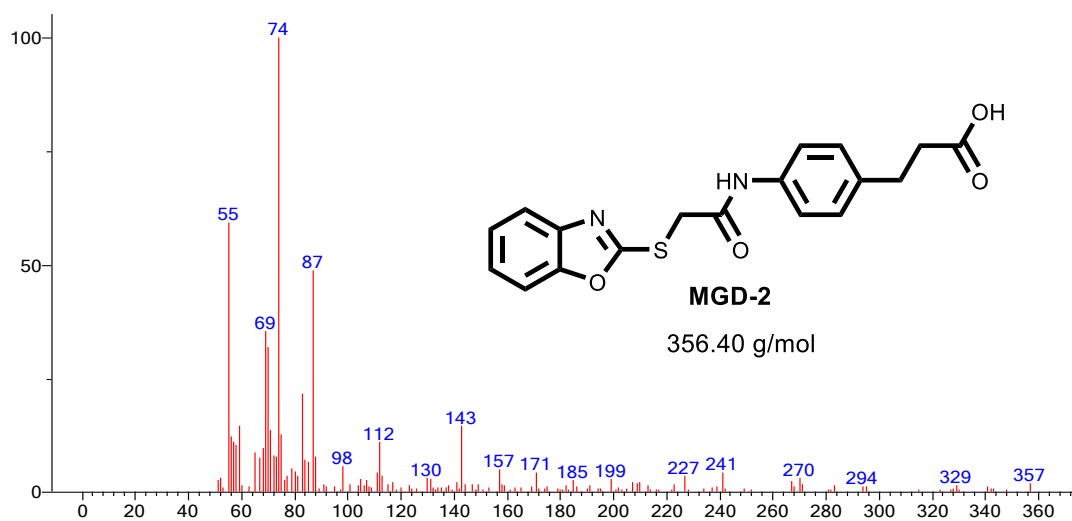
**Espectro 22.** Espectro de EM-IE del compuesto **MGD-12b**.



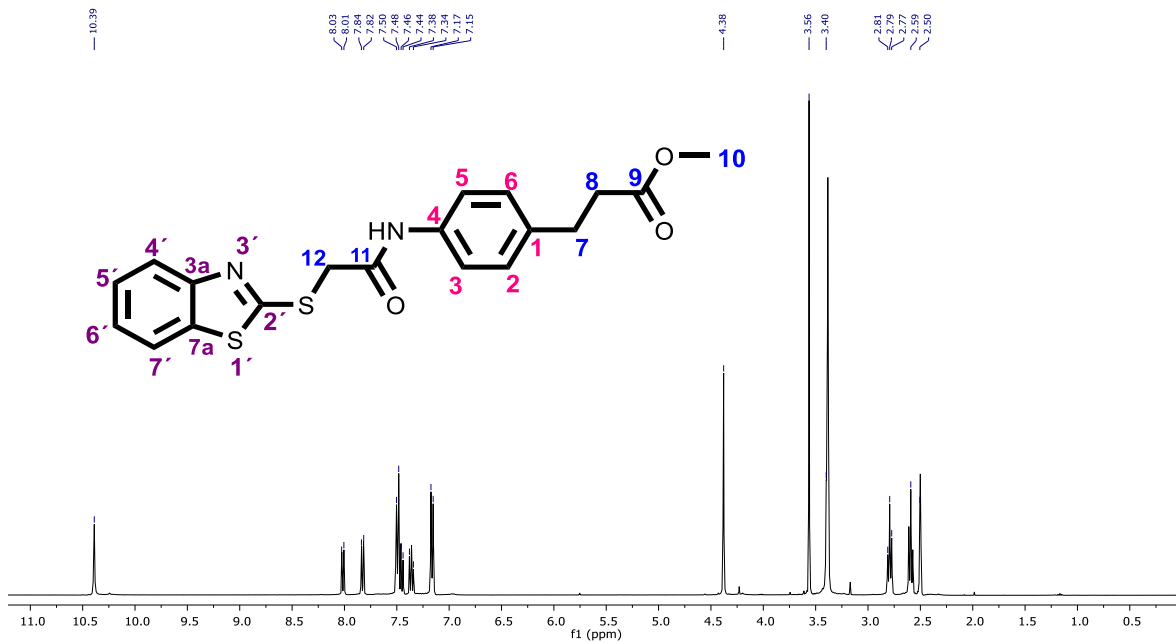
**Espectro 23.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) del compuesto final **MGD-2**.



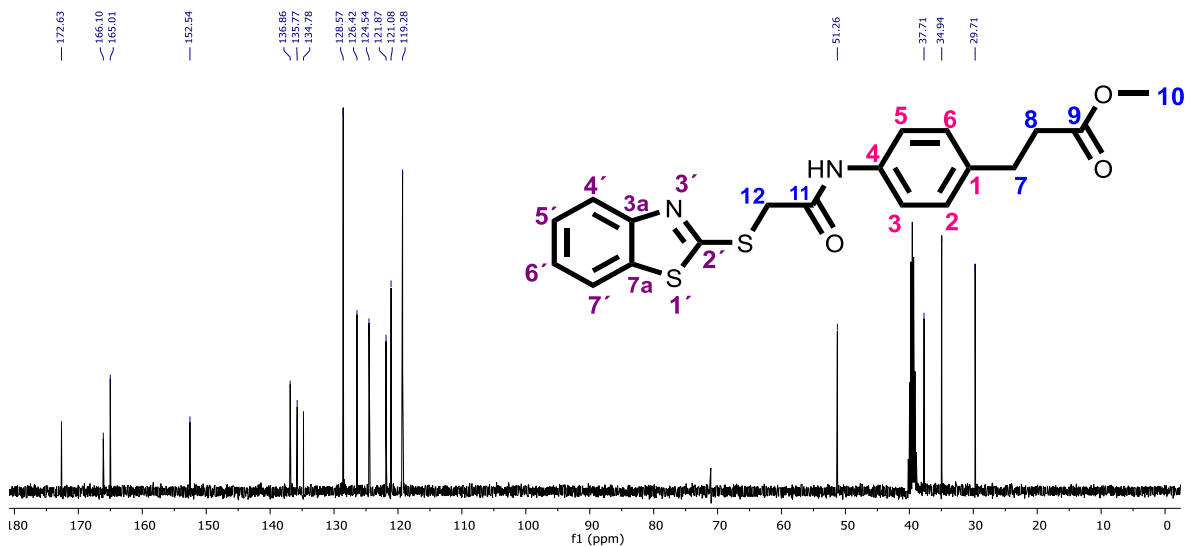
**Espectro 24.** Espectro DEPTQ de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) del compuesto final **MGD-2**.



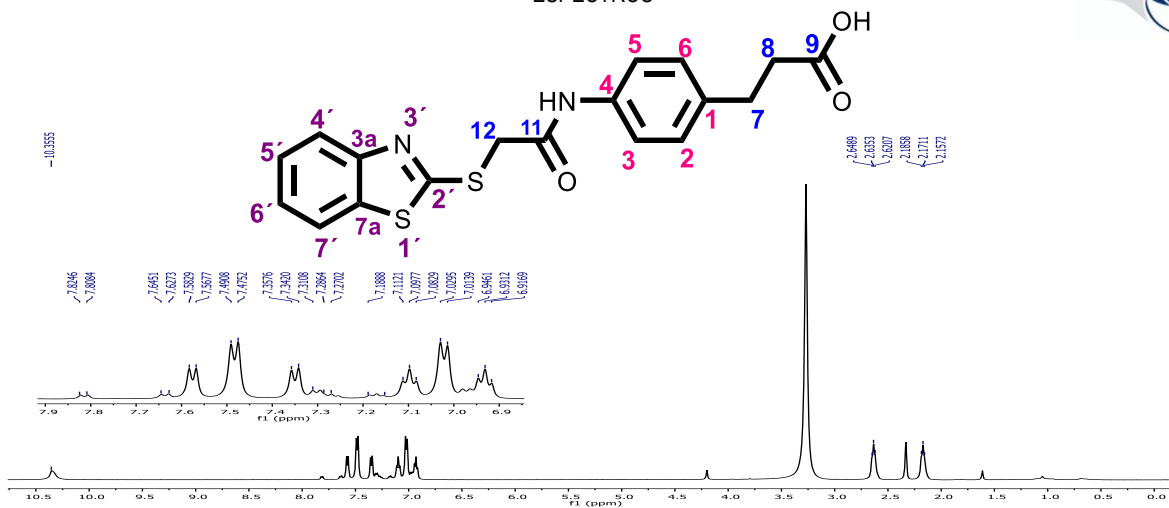
**Espectro 25.** Espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-2**.



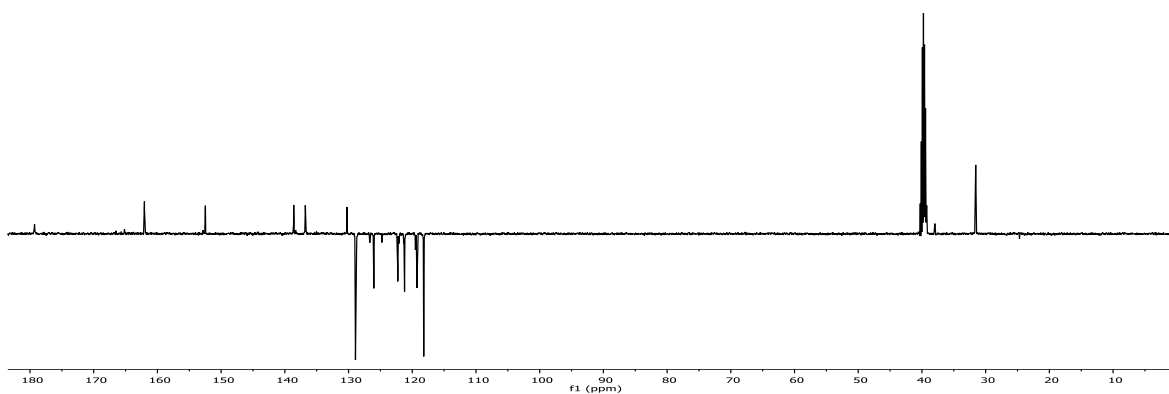
**Espectro 26.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) del compuesto final **MGD-12c**.



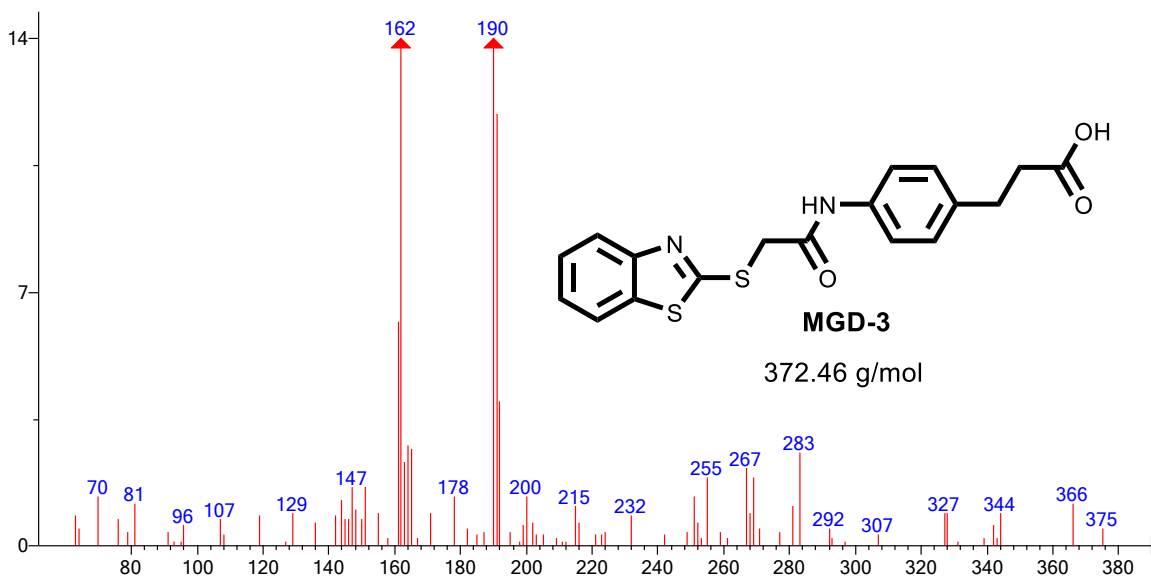
**Espectro 27.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto final **MGD-12c**.



**Espectro 28.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) del compuesto final **MGD-3**.

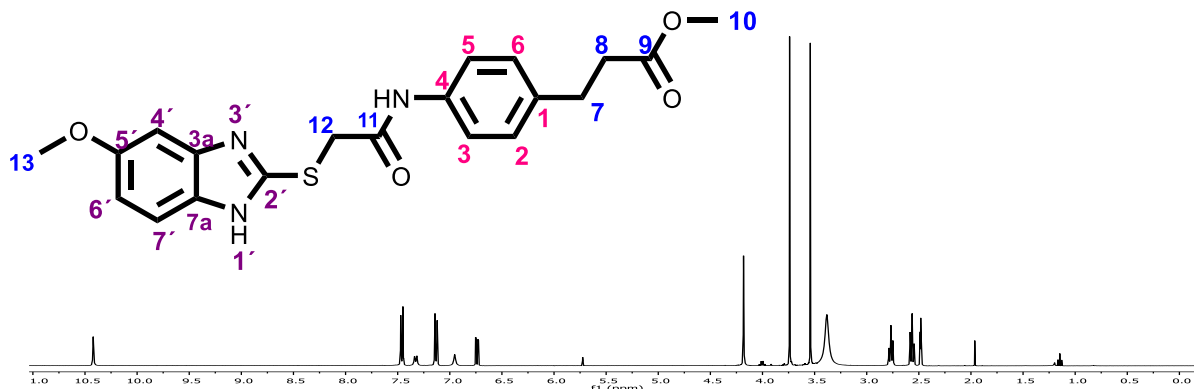


**Espectro 29.** Espectro DEPTQ de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) del compuesto final **MGD-3**.

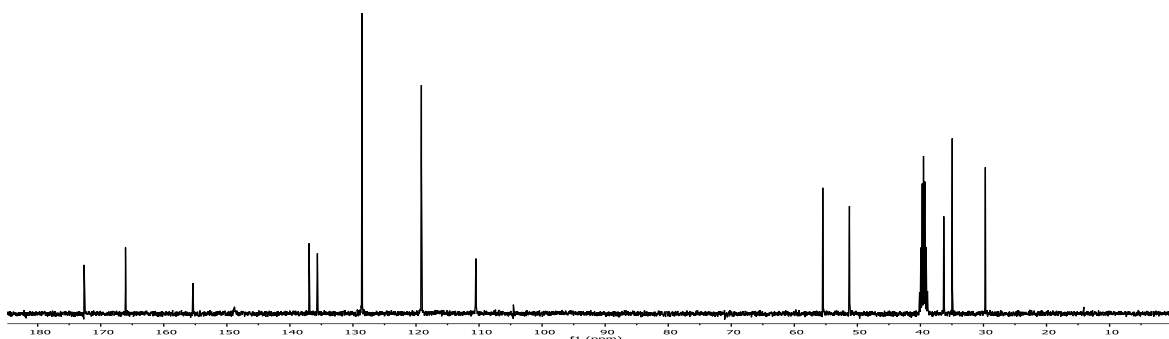


**Espectro 30.** Espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-3**.

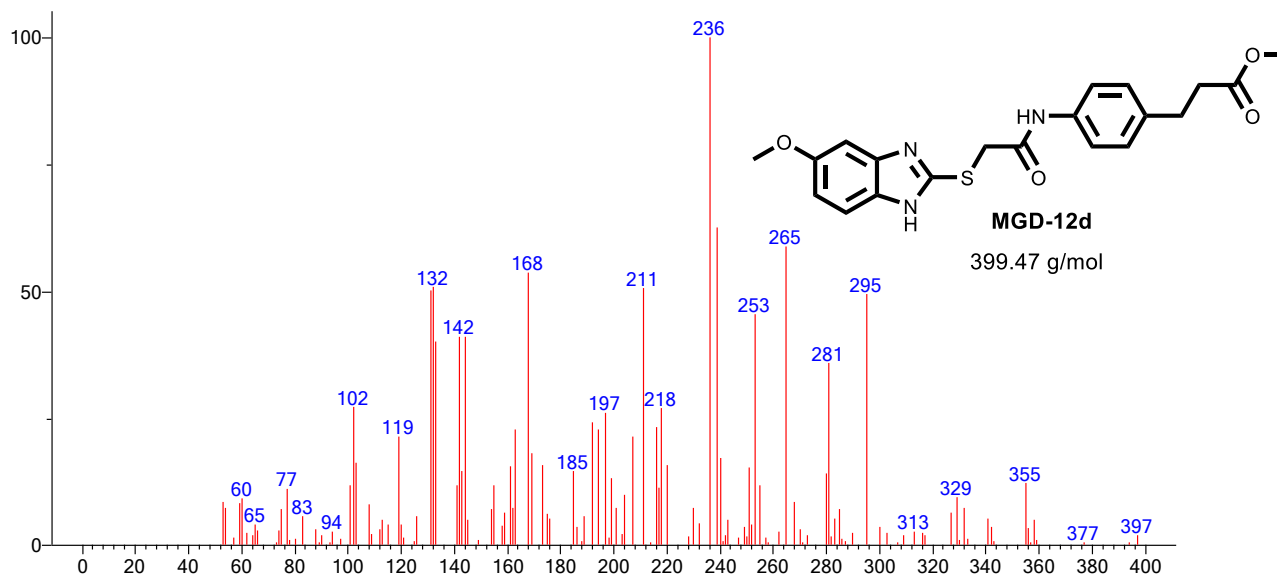




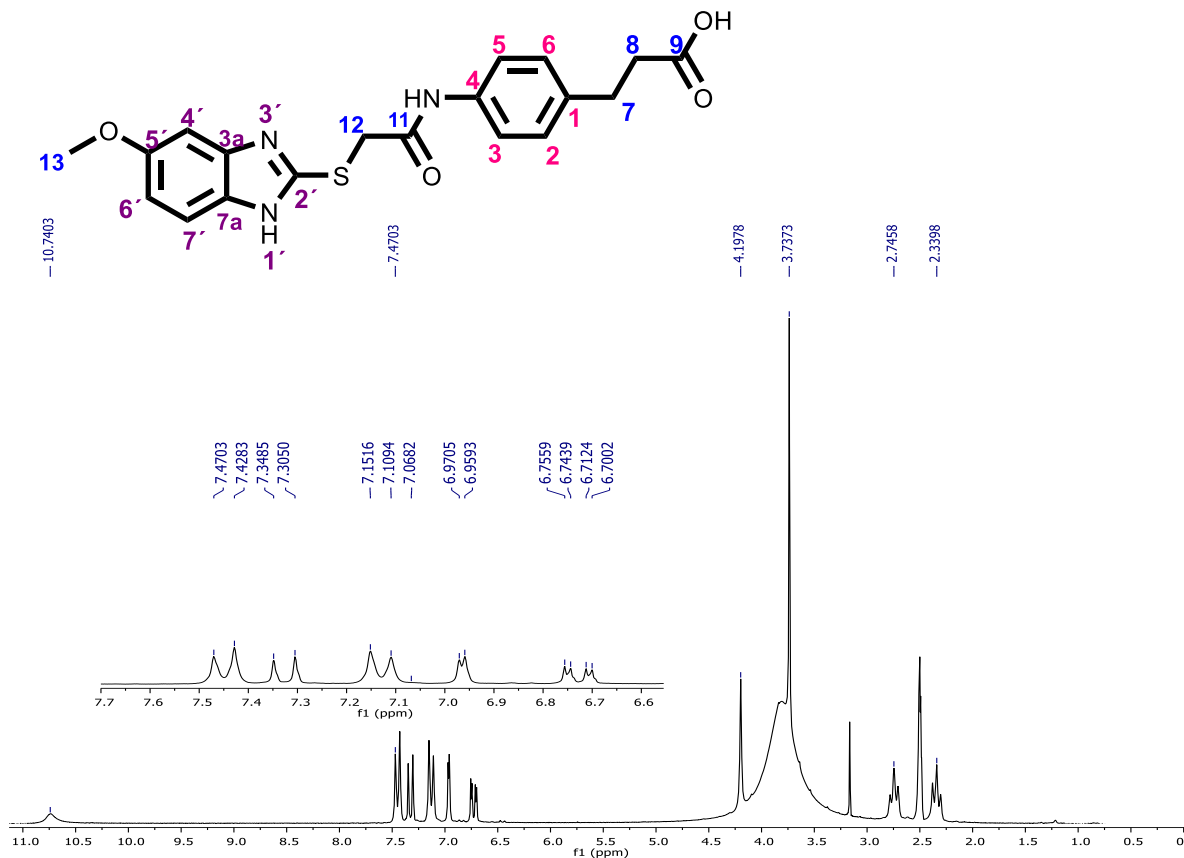
**Espectro 31.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) del compuesto **MGD-12d**.



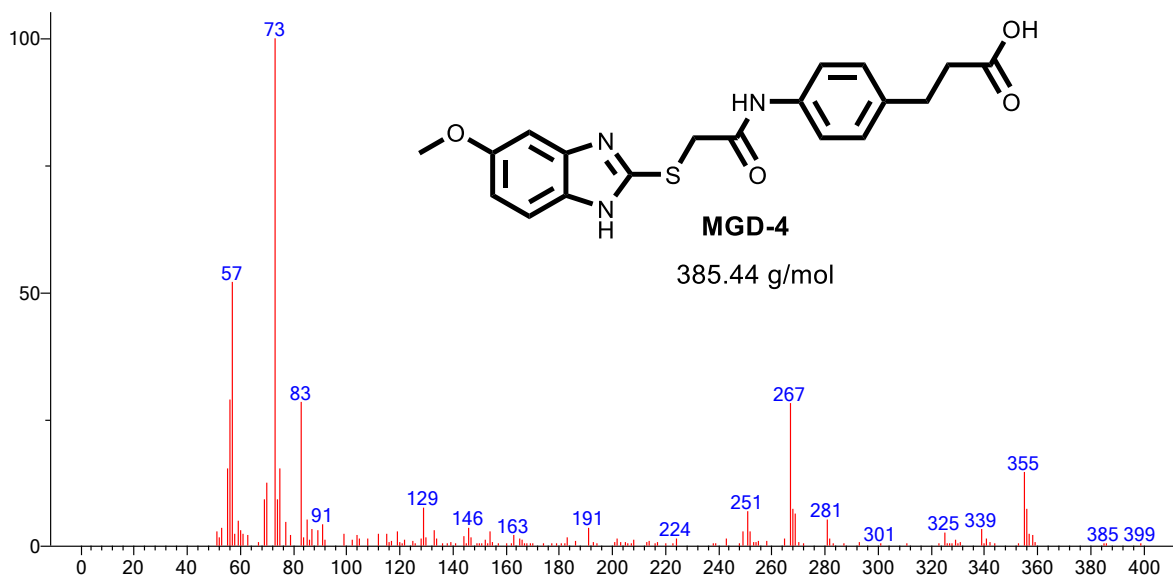
**Espectro 32.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) del compuesto **MGD-12d**.



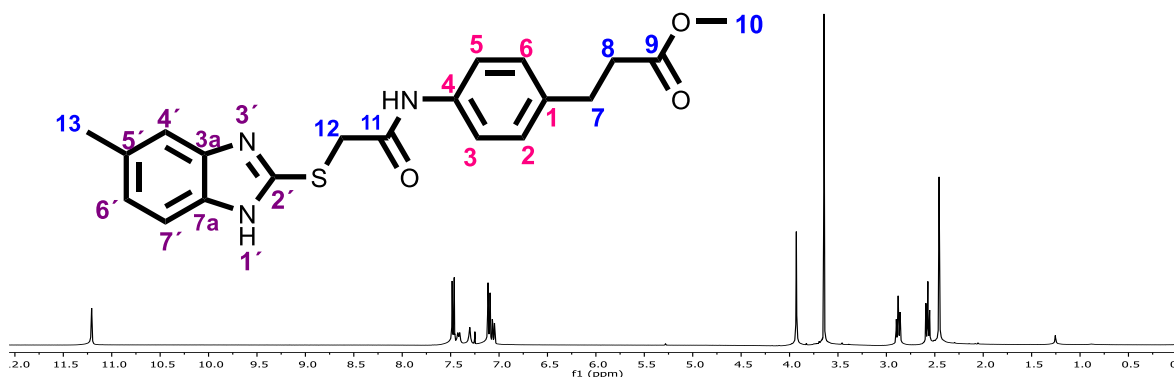
**Espectro 33.** Espectro de EM-IE del compuesto **MGD-12d**.



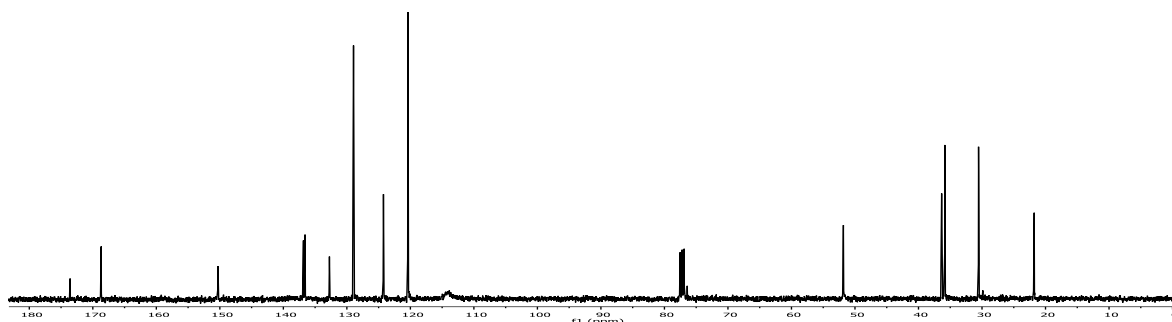
**Espectro 34.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) del compuesto **MGD-4**.



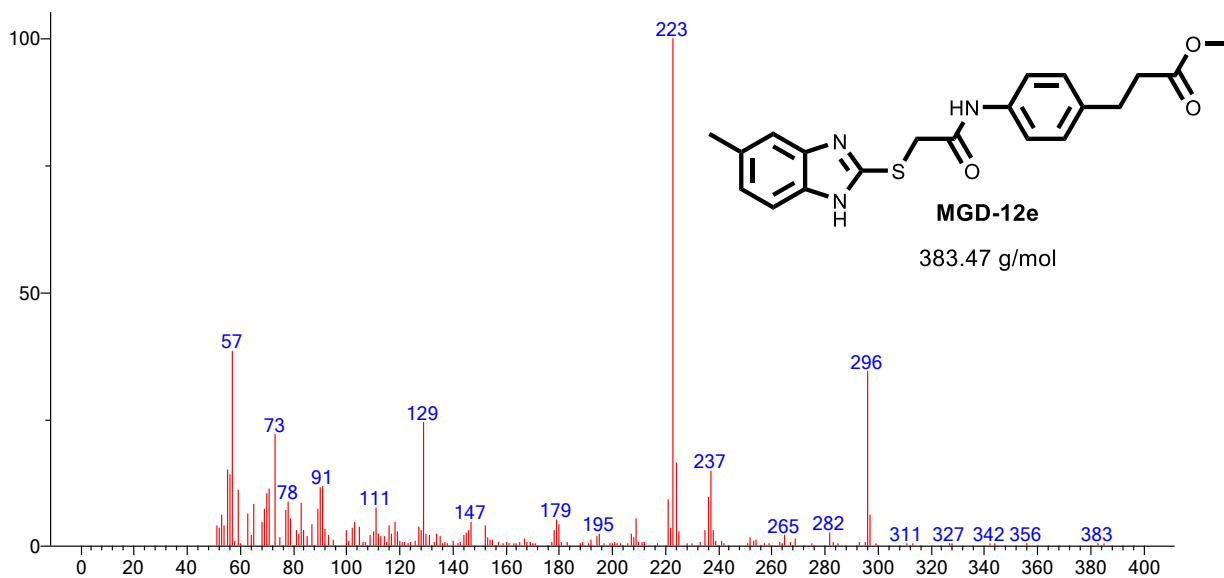
**Espectro 36.** Espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-4**.



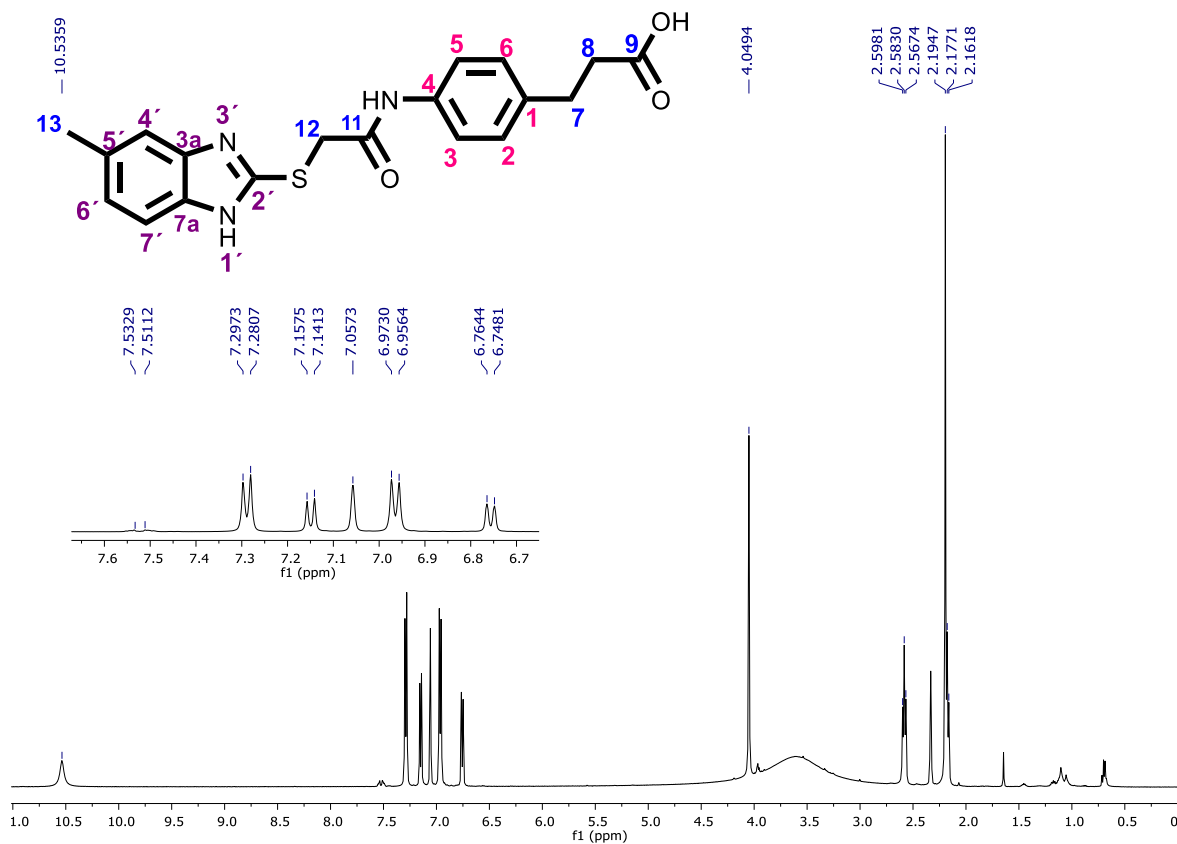
**Espectro 37.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del compuesto **MGD-12e**.



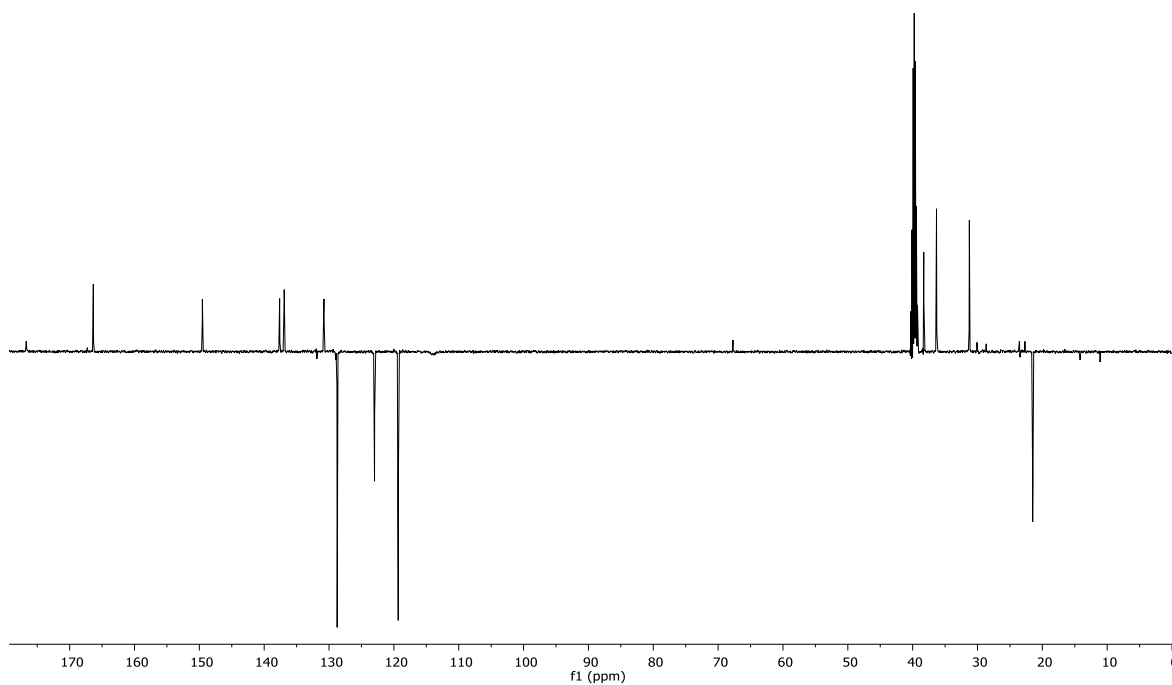
**Espectro 38.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) del compuesto **MGD-12e**.



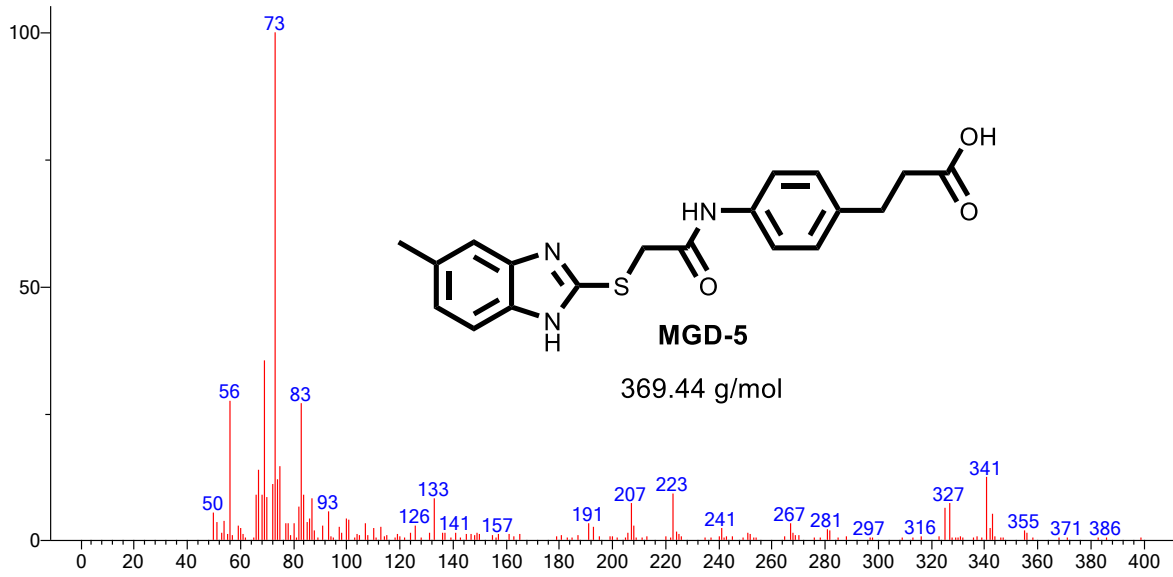
**Espectro 39.** Espectro de EM-IE del compuesto **MGD-12e**.



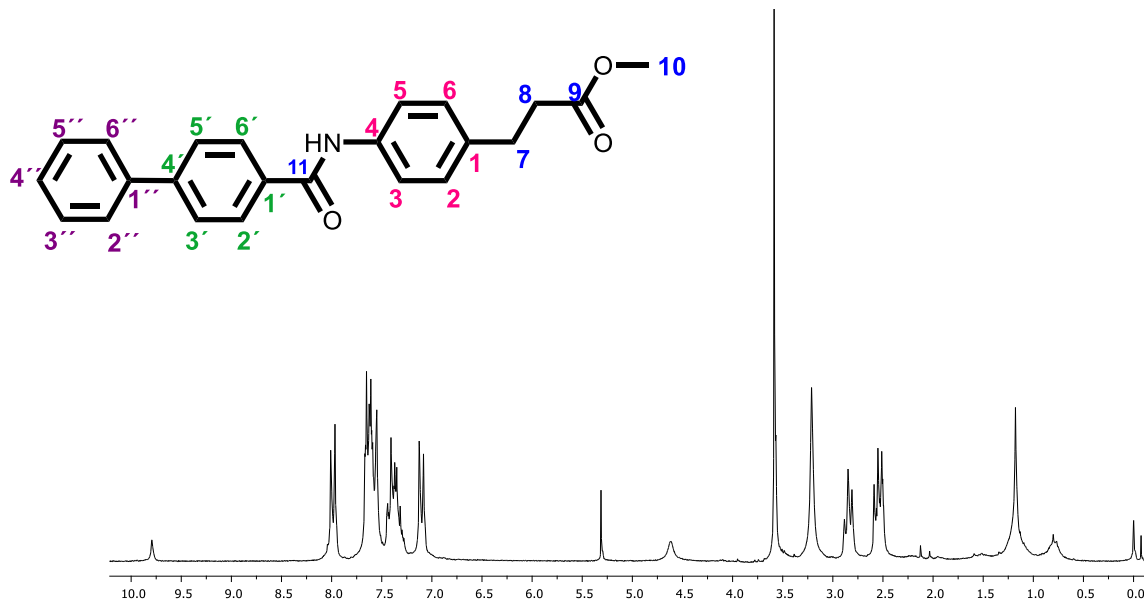
**Espectro 40.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz) del compuesto final **MGD-5**.



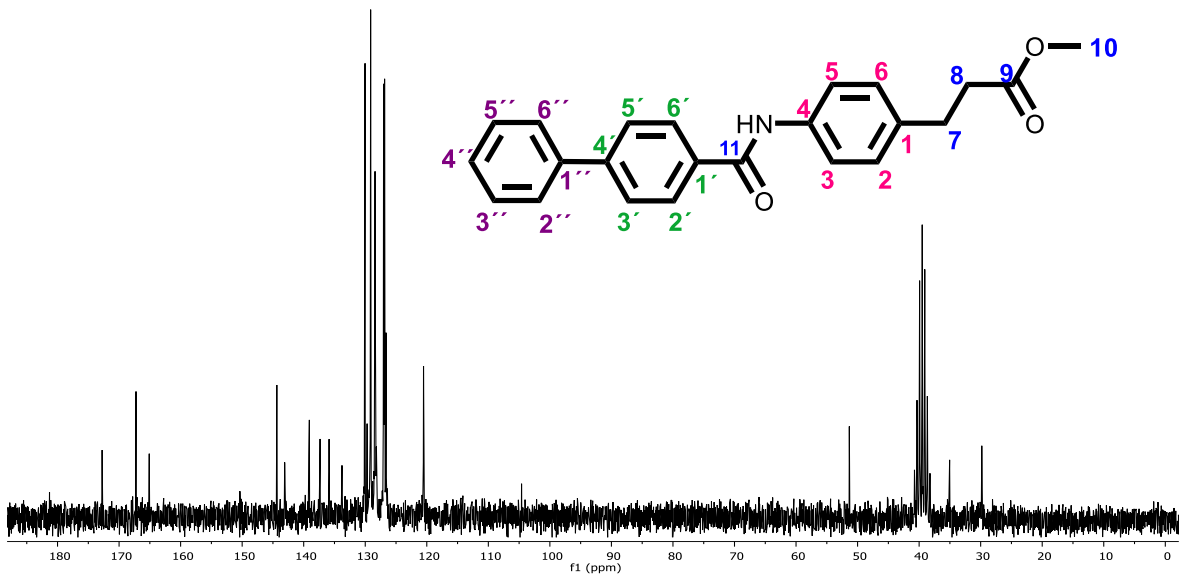
**Espectro 41.** Espectro DEPTQ de <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 125 MHz) del compuesto final **MGD-5**.



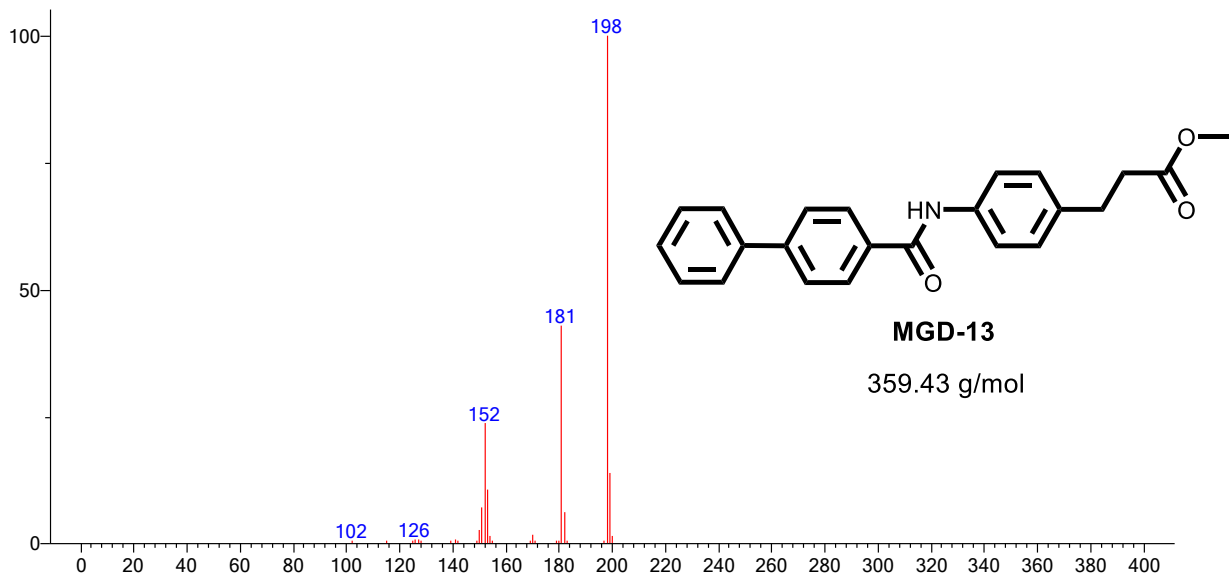
**Espectro 42.** Espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-5**.



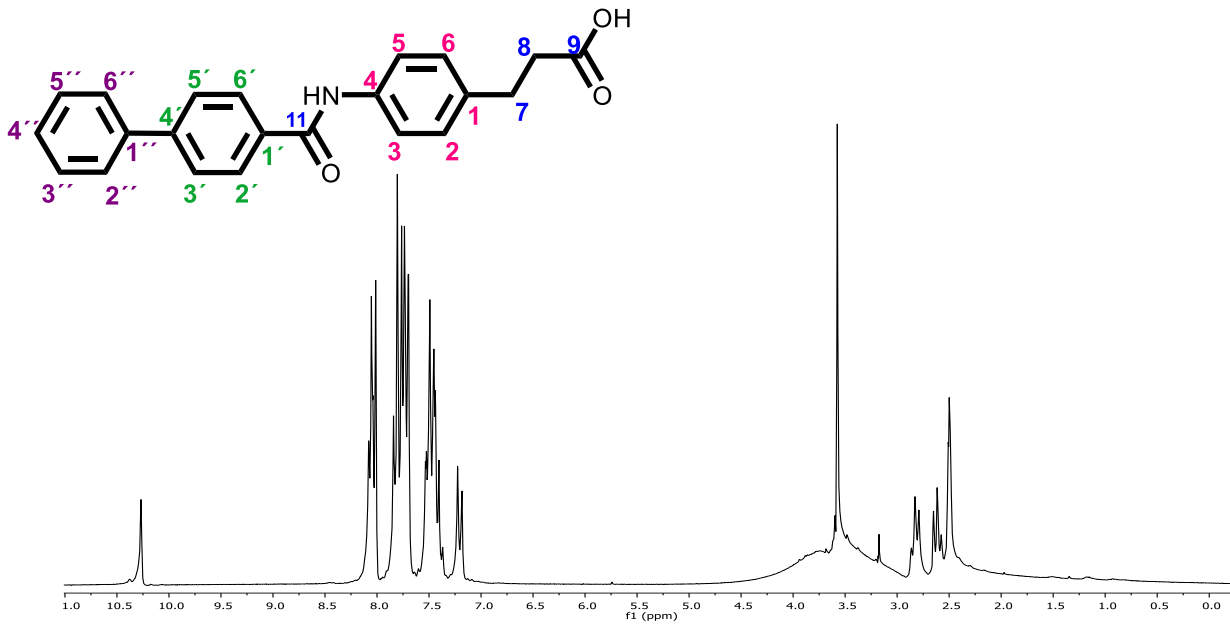
**Espectro 43.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) del compuesto **MGD-13**.



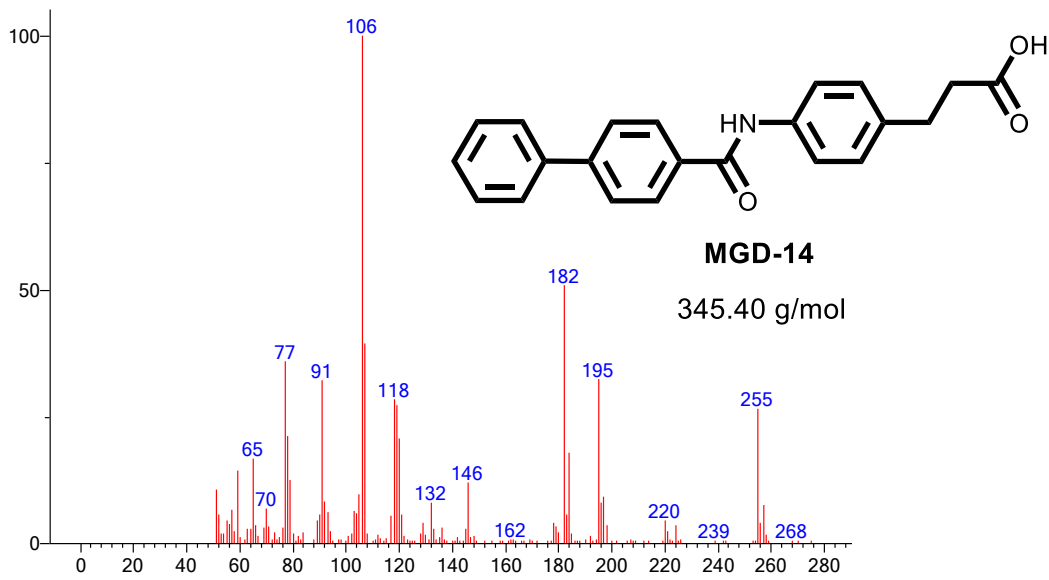
**Espectro 44.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) del compuesto **MGD-13**.



**Espectro 45.** Espectro de EM-IE del compuesto **MGD-13**.



**Espectro 46.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) del compuesto final **MGD-14**.



**Espectro 48.** Espectro de EM-IE del compuesto final **MGD-14**.



## 13. BIBLIOGRAFÍA

1. International Diabetes Federation, IDF Diabetes Atlas, 8th Edition **2018**. <http://www.diabetesatlas.org/> (consultado el 15 de enero de 2018).
2. Wild, S. Roglic, G. Green, A. Sicree, R.; King, H.; Global Prevalence of Diabetes Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes care*. **2004**, 27, 1047-1053.
3. Organización Mundial de la Salud, **2017**.
4. Tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención. <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/718GER.pdf> (Consultado el 28 de agosto del 2017).
5. Inflamación sistémica de grado bajo y relación con el desarrollo de enfermedades metabólicas. Academia mexicana de cirugía. **2015**, 83, 543-551.
6. Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes care*. **2018**, 41, 62-69.
7. Abel, E. D. O'Shea, M. K. Ramasamy, R. Insulin Resistance: Metabolic Mechanisms and Consequences in the Heart. *Arteriosclerosis Thromb Vasc Biol*. **2012**, 32, 2068-2076.
8. Alemán, G. D. Tamay, C. F. Álvarez, A. S.; Mendieta, W. J. Current Advances in the Biochemical and Physiological Aspects of the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus with Thiazolidinediones. *PPAR Research*. **2016**.
9. Meinke, T. P. Wood, H. B. Szewczyk, J. W. Nuclear Hormone Receptor Modulators for the Treatment of Diabetes and Dyslipidemia. *Annual Reports in Medicinal Chemistry*. **2006**, 41, 100-126.
10. Fiévet, C. Fruchart, J. C. Staels, B. PPARa and PPARg dual agonists for the treatment of type 2 diabetes and the metabolic síndrome. *Current Opinion in Pharmacology*. **2006**, 6, 606-614.
11. Sharma, A. Amarnath, S. Kushwah, D. S. Ramaswamy, S. Saroglitazar, a novel cardiometabolic agent for diabetic dyslipidemia. *Journal of Young Pharmacists*. **2015**, 7.
12. Takano, R. Yoshida, M. Inoue, M. Honda, T. Nakashima, R. Matsumoto, K. Yano, T. Ogata, T. Watanabe, N. Hirouchi, M. Yoneyama, T. Ito, S. Toda, N. Discovery of DS-1558: A Potent and Orally Bioavailable GPR40 Agonist. *ACS Med. Chem*. **2015**.
13. Mohler, M. L. Zhongzhi, Y. H. Dong, J. H. Miller, D. D. Recent and Emerging Anti-Diabetes Targets. *Medicinal Research Reviews*. **2009**, 29, 1, 125-195.
14. DeFronzo, R. A. Ferrannini, E. Groop, L. Henry, R. R. Herman, W. H. Holst, J. J. Hu, F. B. Kahn, C. R. Raz, I. Shulman, G. I. Simonson, D. C. Testa, M. A. Weiss, R. Type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews*. **2015**, 1, 5019.
15. Kumar, A. Kumar, B. S. Kumar, A. Therapeutic molecules against type 2 diabetes: What we have and what are we expecting?. *Pharmacological Reports*. **2017**, 69, 959-970.
16. Harper, W. Clement, M. Goldenberg, R. Main, H. A. Retnakaran, R. Pharmacologic management of type 2 diabetes. *Can J Diabetes* **2013**, 37, S61-S68.
17. Mosso González Ma. Diana. "Diseño, síntesis y acoplamiento molecular de derivados de N-[4-(benciloxi)bencil]leucina como ligandos duales PPAR $\alpha/\gamma$ ". Tesis de Licenciatura en Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, **2015**.





18. Gutiérrez Hernández Abraham Alberto. "Síntesis y evaluación antidiabética de derivados de los ácidos 3-fenoxipropanoico como potenciales ligandos MULTITARGET". Tesis de maestría en Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, **2017**.
19. Cervantes, V. R. Presno, B. J. Fisiopatología de la diabetes y los mecanismos de muerte de las células  $\beta$  pancreáticas. *Rev Endocrinol Nutr.* **2013**, 21(3), 98-106.
20. Weinstein, D. Simon, M. Yehezkel, E. Laron, Z. Werner, H. Insulin analogs display IGF-I like mitogenic and anti-apoptotic activities in cultured cancer cells. *Diabetes Metab Res Rev.* **2009**, 25, 41-9.
21. Joshi, S. R. Parikh, R. M. Das, A. K. Insulin History, Biochemistry, Physiology and Pharmacology. Supplement of JAPI. **2007**, 55,19-25.
22. Olivares, R. J. Arellano, P. A. Bases moleculares de las acciones de la insulina. *Rev de educación bioquímica.* **2008**, 27(1), 9-18.
23. Rincón, S. A. Islas, C. M. Biología Molecular, fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud, Capítulo 24: Bases moleculares de la diabetes mellitus tipo 2, 2 ed.; Mc Graw Hill. **2010**.
24. Castro, B. A. Kolka, C. M. Kim, S. P. Bergman, R. N. Obesity, insulin resistance and comorbidities – Mechanisms of association. *Arq Bras Endocrinol Metab.* **2014**, 58 (6), 600-607.
25. Govindarajan, G. Gill, H. Rovetto, M. Sowers, J. R. ¿What is insulin resistance?. *Heart Metab.* **2006** (30), 30-34.
26. Taylor, R. Insulin Resistance and Type 2 Diabetes; *Diabetes.* **2012**, 61, 778-779.
27. Abel, E. D. O'Shea, K. M. Insulin Resistance: Metabolic Mechanisms and Consequences in the Heart. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **2012**, **32**, 2068- 2075.
28. Madrigal Angulo, José Luis; "Diseño, síntesis y evaluación del efecto antidiabético de análogos de tiazolidin-2,4-dionas como posibles agonistas duales PPAR- $\alpha/\gamma$ ". Tesis de Maestría en Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, **2015**.
29. Cuevas M. A. Alonso, K. R. Dislipidemia diabética diabetic dyslipidemias. *Cardiology in Review.* **2016**, 14 (3), 152-155.
30. Diagnóstico y tratamiento de dislipidemia (hipercolesterolemia) en el adulto, Guía de práctica clínica-gpc, Secretaria de Salud, México, Actualización **2016**.
31. Dislipidemia aterogénica: Diabetes tipo 2 y prediabetes Atherogenic dyslipidemia: type 2 diabetes and prediabetes. *Avances Cardiol.* **2014**, 34 (2), S91-S100.
32. Torres, R. L. Lazarte, C. C. Cuaresma, E. Dislipidemia en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 del Hospital III. EsSalud. **2006**, 2 (2).
33. Alfaro, J. Simal, A. Botella, F. Tratamiento de la diabetes mellitus, del Sistema Nacional de Salud, Madrid. **2000**, 24 (2), 33-43.
34. Ashcroft, F. M. Mechanisms of the glycaemic effects of Sulfonylureas. *Metab. Res.* **1996**, 28, 456-463.
35. Deruiter, J. Overview of the antidiabetic agents; Endocrine pharmacotherapy module. *Endocrine Pharmacotherapy Module.* **2003**.
36. Chong, E. Herrera, W. N. Mendoza, E. Diabetes Mellitus Tipo 2: Hipoglicemiantes orales. *Rev Médico-Científica.* **2002**, 15 (1)15, 38-42.
37. Black, C. Donnelly, P. McIntyre, L. Royle, P. L. Shepherd J. P. Thomas, S. Análogos de meglitinida para la diabetes mellitus tipo 2. Disponible en: <http://www.update-software.com>. **2008**, 1-37.
38. Quintanilla. G. C. Zúñiga, G. S. El efecto incretina y su participación en la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* **2010**, 48 (5), 509-520.



39. Nogales, A. P. Blancob, A. F. Incretinas: nueva opción terapéutica para la diabetes mellitus tipo 2; Unidad de Nutrición y Dietética. Servicio de Endocrinología y Nutrición., **2010**.
40. González, M. Chen, K. Las hormonas incretinas y su relación con la diabetes; *Rev médica de Costa Rica y Centroamérica XXI*. **2014** (612) 229-235.
41. Galindo, C. M. Carrillo, O. L. Cortázar, B. F. Aisa, A. A. Rodríguez, W. F. Díaz, G. E. Inhibidores del transportador de sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2) en el tratamiento de pacientes con diabetes mellitus: el control glucémico a través de la glucosuria. *Med Int Mex*. **2013**, 29, 399-403.
42. Escalada, S. M. Rodríguez, S. Inhibidores de la reabsorción renal de glucosa: una nueva opción terapéutica para el tratamiento de la diabetes: Renal sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors: a new treatment option for treatment of diabetes mellitus. *Av Diabetol*. **2010**, 26, 448-50.
43. Lina Bard, M. J. Vivas, N. Farmacología I: Insulina y drogas para el tratamiento de la Diabetes. **2004**, 2-24.
44. Palomer, T. X. Tratamiento de enfermedades metabólicas mediante la modulación del PPAR $\alpha$ . *Clin Invest Arterioscl*. **2007**, 19(4), 191-210.
45. Kehrer, J. P. Biswa, S. L. Thuillier, P. Datta, K. Fischer, S. M. Vanden, J. P. Inhibition of peroxisome-proliferator-activated receptor (PPAR) $\alpha$  by MK886. *Biochem. J*. **2001**, 356, 899–906.
46. Karla, C. K. Hernández, E. M. Moreno, S. R. PPARs, síndrome metabólico y enfermedad cardíaca. *Archivos de cardiología en México*. **2007**, 77(4), 66-76.
47. Michalik, L. Auwerx, J. Berger, J. Chatterjee, V. K. Glass, C. K. Gonzalez, F. J.; Grimaldi LXI peroxisome proliferator-activated receptors. *Pharmacol Rev*. **2006**, 58(4), 726-41.
48. Contreras, A. V. Torres, N. R. Tovar, A. PPAR- $\alpha$  as a key nutritional and environmental sensor for metabolic adaptation; *American Society for Nutrition*. **2013** (4), 439–452.
49. Tsuchida, A. Yamauchi, T. Takekawa, S. Hada, Y. Ito, Y. Maki, T. Kadowaki, T. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)alpha activation increases adiponectin receptors and reduces obesity-related inflammation in adipose tissue: comparison of activation of PPARalpha, PPARgamma, and their combination; *Diabetes*. **2005**, 54(12), 3358-70.
50. Songa, S. Attiaa, R. R. Connaughtona, S. Niesend, M. I. Ness, G. C. Elama, M. B. Hori, R. T. Cooka, G. A. Parka, E. A. Peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) and PPAR gamma coactivator (PGC-1) induce carnitine palmitoyltransferase IA (CPT-1A) via independent gene elements; *Molecular and Cellular Endocrinology*. **2010**, 325, 54–63.
51. Jain, M. Goswami, A. Gite, A. Godha, A. Pingali, H. Raval, S. Giri, S. Revisiting glitazars: Thiophene substituted oxazole containing a-ethoxy phenylpropanoic acid derivatives as highly potent PPAR $\alpha/\gamma$  dual agonists, devoid of adverse effects in rodents. *Bioorg Med Chem Lett*. **2011**, 21(10), 3103-9.
52. Tenenbaum, A. Motro, M. Fisman, E. Review: Open Access Dual and pan-peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) co-agonism: the bezafibrate lessons. *Cardiovascular Diabetology*. **2005**, 4(14).
53. Brooks, D. A. Etgen, G. J. Rito, C. J. Shuker, A. J. Dominianni, S. J. Warshawsky, A. M. Ardecky, R. Paterniti, J. R. Tyhonas J. Karanewsky, D. Kauffman, R. F.



- Broderick, C. L. Oldham, B. A. Montrose-Rafizadeh, C. Winneroski, L. L. M. Faul, M. McCarthy, J. R. Design and Synthesis of 2-Methyl-2-{4-[2-(5-methyl-2-aryloxazol-4-yl)ethoxy]phenoxy}propionic Acids: A New Class of Dual PPAR $\alpha/\gamma$  Agonists; *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 2061-2064.
54. Cavender, M. A. Lincoff, A. M. Therapeutic Potential of Aleglitazar, a New Dual PPAR- $\alpha/\gamma$  Agonist Implications for Cardiovascular Disease in Patients with Diabetes Mellitus. *Am J Cardiovasc Drugs.* **2010**, 10 (4).
55. Massaro, M. Scoditti, E. Pellegrino, M. Carluccio, M. A. Calabriso, N. Wabitsch, M. S. C. Wright, M. Caterina, R. Therapeutic potential of the dual peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) $\alpha/\gamma$  agonist aleglitazar in attenuating TNF- $\alpha$ -mediated inflammation and insulin resistance in human adipocytes. *Pharmacological. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 6116–6119.
56. Henke, B. R. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\alpha/\gamma$  Dual Agonists for the Treatment of Type 2 Diabetes; *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 4118-4127.
57. Lipaglyn™, Saroglitazar; Product Monograph; Novel. Superior. Dual acting.
58. Cheng, C. He, L. Ya-Qiu, L. GPR40 agonist for the treatment of type 2 diabetes mellitus: The biological characteristics and the chemical space. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, 26, 5603-5612.
59. Krasavin, M. Lukin, A. Bagnyukova, D. Zhurilo, N. Zahanich, I. Zozulya, S. Ihalainen, J. Forsberg, M. M. Lehtonen, M. Rautio, J. Moore, D. Tikhonova, I.G. Free fatty acid receptor 1 (GPR40) agonists containing spirocyclic periphery inspired by LY2881835. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**.
60. Kristinsson, H. Bergsten, P. Sargsyan, E. Free fatty acid receptor 1 (FFAR1/GPR40) signaling affects insulin secretion by enhancing mitochondrial respiration during palmitate exposure. *Molecular Cell Research.* **2015**
61. Krasavin, M. Lukin, A. Zhurilo, N. Kovalenko, A. Zahanich, I. Zozulya, S. Moore, D. Tikhonova, I. G. Novel free fatty acid receptor 1 (GPR40) agonists based on 1,3,4-thiadiazole-2-carboxamide scaffold; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, 24, 2954–2963.
62. Tomita, T. Hosoda, K. Fujikura, J. Inagaki, N. Nakao, K. G-protein-coupled long-chain fatty acid receptor GPR40 and glucose metabolism. *Diabetes.* **2014**, 152 (5).
63. Burant, C. F. Activation of GPR40 as a Therapeutic Target for the Treatment of Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.* **2013**, 36 (2), S175–S179.
64. Patel et al., Role of Protein Tyrosine Phosphatase-1B Inhibitors in Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of PharmaSciTech.* **2014**, 4 (1).
65. Hyeongjin, C. Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) and Obesity; *Vitamins and Hormones.* **2013**, 91.
66. Sun, J. Qu, C. Wang, Y. Huang, H. Zhang, M. et al. Type 2 Diabetes Mellitus and Protein-Tyrosine Phosphatase 1B1. *J Diabetes Metab Disord Control.* **2016**, 3 (8).
67. KD, C. YB, K. Molecular mechanism of insulin resistance in obesity and type 2 DM. *The Korean Journal of Internal Medicine.* **2010**, 25 (2).
68. Kota V. R. Aldose reductase: new insights for an old enzyme. *BioMol Concepts.* **2011**, 2, 103–114.
69. Cruz, H. J. Licea, P. M. Hernández, G. P. Marcel, E. A. Yanes, Q. M. Aldosa reductasa y proteína quinasa C en las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus. *Rev Mex Patol Clin.* **2011** 58 (2), 102-107.



70. Yabe, N. C. Aldose Reductase in Glucose Toxicity: A Potential Target for the Prevention of Diabetic Complications; The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics Printed in U.S.A. **1998**, 50 (1).
71. Hidalgo-Figueroa, S. N.; Diseño, síntesis, bioevaluación y estudios de acoplamiento molecular de aza y tiazaheterociclos para el tratamiento experimental de la diabetes e hipertensión. Tesis de doctorado en farmacia (UAEM), **2013**.
72. Gutiérrez Hernández, Abraham Alberto. Diseño, síntesis y evaluación in vitro e in silico de análogos de Rivoglitazona como agonistas duales PPAR- $\alpha/\gamma$ . Tesis de Licenciatura en Farmacia (UAEM), **2015**.
73. Gutiérrez Jaimes, Mei-Ling. Diseño y síntesis de derivados del ácido 2-(4-hidroxifenoxi) propiónico como agentes para el tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2. Tesis de maestría en farmacia (UAEM), **2016**.
74. Colin, Loza, B. Estrada, Soto, S. Chavez, Silva, F. Gutierrez, Hernandez, A. Hiacomán, Martínez, A. Almanza, Perez, J. Hernandez Nuñez, E. Navarrete, Vazquez, G. Design, synthesis and in combo antidiabetic bioevaluation of multitarget phenylpropanoic acid. *Molecules*, **2018** (23) 340.
75. Lipinski, A. C.; Lombardo, F.; Dominy, W. B.; Feeney, J. P. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug Discovery and development settings; *Drug deliv. Rev.* **1997**, 23, 3.
76. Cristobal Neri, Adrian; Síntesis de  $\beta$ -lactamas quirales como precursores para la obtención de  $\gamma$ -lactamas y el fenómeno "Memoria de la quiralidad". Tesis de Maestría (CIQ-UEAM), **2018**.
77. Méndez Ochoa, Adrián. "Síntesis y resolución de 4-quinazolinonas y su posible utilidad en la síntesis de ácidos  $\beta$ -aminociclohexancarboxílicos"; Tesis de Maestría en Ciencias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, **2017**.
78. Resonancia Magnética Nuclear Departamento de Química Física Universidad de Valencia. QFIII Tema 1 (1-3-2012), pp 1-36.
79. Espectrometría de masas, consultado en línea **2018**.
80. Mazuelas, E. Á. "Caracterización por difracción de rayos x de Heteroestructuras de semiconductores III-V. Aplicación al diseño de superredes tensadas para epitaxias de GaAs/Si" Tesis de doctorado, Centro Nacional de Microelectrónica, CSIC Madrid, **1992**.
81. Hayashi, K., et al., 2006; Escandón, S., et al., 2012; Radenković, M., et al., 2016; Goyal, S. et al., **2016**).
82. Filimonov, D. A. Lagunin, A. A. Glorizova, T. A. Rudik, A. V. Druzhilovskii, D. S. Pogodin, P. V. Poroikov, V. V. Prediction of the Biological Activity Spectra of Organic Compounds Using the Pass Online Web Resource. *Chem Heterocyc Compd.* **2014**, 50 (3), 444–457.
83. Gfeller, D. Grosdidier, A. Wirth, M. Daina, A. Michielin, O. Zoete, V. SwissTargetPrediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules; W32–W38 *Nucleic Acids Research*. Web Server issue Published online **2014** (42).
84. OSIRIS (<http://www.organic-chemistry.org/prog/>)
85. Adams, S. E. Molecular Similarity and Xenobiotic Metabolism. Ph. D. Thesis, University, Cambridge, Trinity College, **2010**.
86. Feixiong, C. Weihua, L. Yadi, Z. Shen, J. Zengrui, W. Guixia, L. Philip, W. L. Yun, T. admetSAR: a comprehensive source and free tool for evaluating chemical ADMET properties. *J. Chem. Inf. Model.*, **2012**, 52(11): 3099-3105.
87. ACD/ToxSuite (Servidor con licencia), consultado **2018**.



88. Sánchez, P. A. Muñoz, A. Peña, G.J. Hen-Haan, D. Bekas, N. Katsikoudi, A. Tzakos, A. G. Pérez, S. "DIA-DB: a web-accessible database for the prediction of diabetes drugs". *Springer International*. **2015**, 655-663.
89. Molecular Operating Environment (MOE), 2013.08; Chemical Computing Group ULC, 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, **2017**.
90. Goodsell, D. S. Olson, A. J. Automated Docking of Substrates to Proteins by Simulated Annealing. *Proteins* **1990**, 8, 195-202.
91. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.0 Schrödinger, LLC. <https://pymol.org/2/>.
92. Dassault Systèmes BIOVIA, Discovery Studio Modeling Environment, Release 2017, San Diego: Dassault Systèmes, **2016**.
93. Saldívar, G. F. et al. Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. Educación Química. **2016**.
94. Florencio, Z. D. Lead Optimization for Medicinal Chemists, pharmacokinetic Properties of Functional Groups and Organic Compounds. Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA, Boschstr. 12, 69469.
95. Nava Zuazo, Carlos Alejandro. Diseño y síntesis de híbridos 2-acilamino con 5-nitrotiazol/benzotiazol como agentes antiprotozoarios: estudios *in silico*, *in vitro* y análisis de eficiencia del ligando. Tesis de Doctorado en Farmacia (UAEM), **2014**.
96. Schultes, S. De Graaf, C. E.J. Haaksma, E. J.P. de Esch, I. Leurs, R. Krämer, O. Ligand efficiency as a guide in fragment hit selection and optimization; Fragment based drug Discovery. *Drug Discovery Today: Technologies*. **2010**, 7 (13).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

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

*Hace constar que el:*

  
**Facultad**  
**de Farmacia**  
*Conocimiento al servicio de la salud*

**L.F. Maria Diana Mosso González**

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

**“DISEÑO Y SÍNTESIS DE HÍBRIDOS BASADOS EN  
ÁCIDO FENILPROPIONICO COMO AGONISTAS  
DUALES PPAR $\alpha$ / $\gamma$ ”**

*Cuernavaca, Morelos a 23 de octubre de 2017.*

  
Dr. Efraín Hernández Baltazar

Director de la Facultad de Farmacia

  
**Facultad**  
**de Farmacia**  
**POSGRADO**





Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Química



Otorga el presente

**RECONOCIMIENTO**

A:

**María Diana Mosso González**

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

**Diseño y síntesis de híbridos de benzazoles y ácido fenilpropiónico como agonistas duales PPAR $\alpha$ / $\gamma$**

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

"Por mi raza hablará el espíritu"

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

Dr. Alfonso Sebastián Lira Rocha  
Comité Organizador

Dr. Andrés Navarrete Castro  
Jefe del Departamento de Farmacia



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

# CONSTANCIA

a: *Marta Diana Mosso González*

Por haber obtenido el **1er. LUGAR** en la categoría de maestría,

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

«DISEÑO, SÍNTESIS Y ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE DERIVADOS DE N-[4-(BENCILOXI)BENCIL]LEUCINA COMO AGENTES ANTIDIABÉTICOS»,

durante el **12° Encuentro de Estudiantes de Licenciatura y Posgrado en Farmacia**,

realizado en el marco del Día Mundial del Farmacéutico,

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



«Por una Humanidad Culta»

Dr. Efrén Hernández Baltazar  
Director de la Facultad de Farmacia

Cuernavaca, Morelos, México

