



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

**“DISEÑO, SÍNTESIS Y BIOEVALUACIÓN DE 5-
NITROFENILUREAS COMO AGENTES
ANTIPARASITARIOS”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN FARMACIA

P R E S E N T A:

L.F. ALDAIR CASTILLO AGUSTIN

DIRECTOR DE TESIS: DR. JUAN GABRIEL NAVARRETE VÁZQUEZ



CUERNAVACA MORELOS 2026

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	5
ÍNDICE DE TABLAS	8
INDICE DE DIAGRAMAS.....	9
ABREVIATURAS	11
1. INTRODUCCIÓN	15
2. ANTECEDENTES.....	16
2.1 Parásito.....	16
2.2 Protozoario.....	16
2.2.1 Las enfermedades tropicales desatendidas (ETD)	16
2.3 <i>Giardia Intestinalis</i>	16
2.3.1 Ciclo de vida.....	17
2.3.2 Epidemiología	18
2.3.3 Tratamiento	18
2.3.3.1 Posología.....	19
2.3.4 Patogénesis y manifestaciones clínicas.....	21
2.4. <i>Trichomonas vaginalis</i>	23
2.4.1 Patogénesis.....	23
2.4.2 Cuadro clínico	24
2.4.3 Epidemiología	25
2.4.4 Tratamiento	25
2.4.2.1 Posología.....	25
2.5 Importancia del grupo Nitro en diversos fármacos antiparasitarios.....	26
2.6 Enzima Piruvato Ferredoxina Oxidorreductasa (PFOR) como blanco terapéutico de importancia frente a protozoarios	27
3. JUSTIFICACIÓN.....	29
4. HIPÓTESIS	30
4.1 OBJETIVOS	30
4.1.1 Objetivo general.....	30
4.1.1.1 Objetivos particulares	30
5. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO MOLECULAR.....	31
6. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	33
6.1 Parte química	33

6.1.1 Retrosíntesis	33
6.1.1.1 Metodología general para la síntesis de los compuestos ALD-1-8	33
6.2 Evaluación (<i>in silico</i>)	34
6.2.1 Análisis farmacológico de consenso.....	34
6.2.2 Predicciones del perfil farmacodinámico	34
6.2.2.1 Acoplamiento molecular	34
6.2.2.1.1 AutoDock.....	36
6.2.2.1.2 Molecular Operating Environment (MOE)	37
6.2.2.1.3 Pymol	38
6.2.3 Predicciones del perfil farmacocinético	39
6.2.3.1 admetSAR 3.0.....	39
6.2.3.2 Pre-ADMET	40
6.2.3.3 SwissADME	41
6.2.3.4 BioTransformer 3.0 predictor de metabolismo de fase I y II.	42
6.2.3.5 ADMETlab 3.0	43
6.2.3.6 ADMET-IA	44
6.2.4 Predicciones del perfil toxicológico.....	45
6.2.4.1 OSIRIS Property Explorer	45
6.2.4.2 ACD/Tox Suite	46
6.3 Parte biológica	47
6.3.1 Pruebas de susceptibilidad <i>in vitro</i> contra <i>T. vaginalis</i> y <i>G. intestinalis</i>	47
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
7.1 Síntesis química.....	48
7.1.1 síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-fenilurea (ALD-1).....	48
7.1.2 síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-(trifluorometil)fenil)urea (ALD-2)	51
7.1.3 síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-nitrofenil)urea (ALD-3)	54
7.1.4 síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-clorofenil)urea (ALD-4)	57
7.1.5 síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-etoxifenil)urea (ALD-5)	60
7.1.6 síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-fluorofenil)urea (ALD-6).....	63
7.1.7 síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-metoxifenil)urea (ALD-7)	66
7.1.8 síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)urea (ALD-8) .	69
7.2 Parte computacional (<i>in silico</i>)	80
7.2.1 Perfil biofarmacéutico	80
7.2.2 Perfil farmacocinético	81

7.2.2.1 predicción de metabolismo e identificación de metabolitos BIOTRANSFORMER	
3.0.....	85
7.2.2.2Inhibición de CYP450	86
7.2.3 Perfil toxicológico.....	87
7.2.3.1 Bloqueo de canales hERG	88
7.2.3.2 predicción de la carcinogenicidad, mutagenicidad y DILI	89
7.2.3.3 Toxicidad aguda (DL ₅₀) y categoría OECD.....	91
7.2.4 Perfil farmacodinámico	92
7.2.4.1 Posible actividad biológica (PASSonline)	92
7.2.5 Acoplamiento molecular automatizado sobre la proteína PFOR.....	93
7.2.6 Análisis de consenso farmacológico para la selección de un líder computacional seguro.....	99
7.3 Parte biológica	102
8. CONCLUSIONES	106
9. PERSPECTIVAS	107
10. REFERENCIAS	118
23.....	119

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida de <i>Giardia intestinalis</i> ¹⁶	17
Figura 2. Mecanismo de acción propuesto para el metronidazol y otros compuestos nitroaromaticos. ²¹	18
Figura 3. Fármacos utilizados contra <i>G. intestinalis</i> y <i>T. vaginalis</i>	20
Figura 4. Fisiopatología de la giardiasis. ²³	22
Figura 5. Ciclo de vida de <i>T. vaginalis</i>	23
Figura 6. Fisiopatología de la tricomoniasis. ²⁷	24
Figura 7. Enzima Piruvato Ferredoxina Oxido Reductasa y su centro catalítico. ³³	27
Figura 8. Proceso de reducción y generación de especies reactivas de oxígeno a partir de grupos nitro. ³²	28
Figura 9. Interfaz del programa Autodock tools.	36
Figura 10. Interfaz del programa MOE.....	37
Figura 11. Interfaz del programa PYMOL.	38
Figura 12. Interfaz del programa admetSAR 3.0.....	39
Figura 13. Interfaz de Pre-ADMET.....	40
Figura 14. Interfaz del sitio web SwissADME.....	41
Figura 15. Interfaz del programa Bio Transformer 3.0	42
Figura 16. Interfaz del servidor ADMETlab 3.0	43
Figura 17. Interfaz del servidor ADMET-IA.	44
Figura 18. Interfaz del servidor OSIRIS.	45
Figura 19. Interfaz del programa ACD/TOXsuite.	46
Figura 20. Espectro de RMN de ¹ H del compuesto ALD-1	49
Figura 21. espectro de RMN de ¹³ C del compuesto ALD-1	50
Figura 22. Espectro de RMN de ¹ H del compuesto ALD-2	52
Figura 23. espectro de RMN de ¹³ C del compuesto ALD-2	53
Figura 24. Espectro de RMN de ¹ H del compuesto ALD-3	55
Figura 25. espectro de RMN de ¹³ C del compuesto ALD-3	56
Figura 26. Espectro de RMN de ¹ H del compuesto ALD-4	58
Figura 27. espectro de RMN de ¹³ C del compuesto ALD-4	59
Figura 28. Espectro de RMN de ¹ H del compuesto ALD-5	61

Figura 29. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto ALD-5	62
Figura 30. Espectro de RMN de ^1H del compuesto ALD-6	64
Figura 31. espectro de RMN de ^{13}C del compuesto ALD-6	65
Figura 32. Espectro de RMN de ^1H del compuesto ALD-7	67
Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto ALD-7	68
Figura 34. Espectro de RMN de ^1H del compuesto ALD-8	70
Figura 35. espectro de RMN de ^{13}C del compuesto ALD-8	71
Figura 36. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico.	81
Figura 37. Validación del acoplamiento molecular de metronidazol sobre PFOR.....	93
Figura 38. (A) representación 3D acoplamiento molecular del metronidazol y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el metronidazol y la enzima PFOR.	94
Figura 39. (A) representación 3D acoplamiento molecular de compuesto ALD-1 y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el compuesto ALD-1 y la enzima PFOR.	95
Figura 40. (A) representación 3D acoplamiento molecular de compuesto ALD-2 y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el compuesto ALD-2 y la enzima PFOR.	96
Figura 41. (A) representación 3D acoplamiento molecular de compuesto ALD-3 y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el compuesto ALD-3 y la enzima PFOR.	96
Figura 42. (A) representación 3D acoplamiento molecular de compuesto ALD-4 y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el compuesto ALD-4 y la enzima PFOR.	97
Figura 43. (A) representación 3D acoplamiento molecular de compuesto ALD-5 y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el compuesto ALD-5 y la enzima PFOR.	97
Figura 44. (A) representación 3D acoplamiento molecular de compuesto ALD-6 y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el compuesto ALD-6 y la enzima PFOR.	98
Figura 45. (A) representación 3D acoplamiento molecular de compuesto ALD-7 y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el compuesto ALD-7 y la enzima PFOR.	98

Figura 46. (A) representación 3D acoplamiento molecular de compuesto ALD-8 y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el compuesto ALD-8 y la enzima PFOR.	99
Figura 47. Potencia relativa de los compuestos ALD 1-8 vs Albendazol frente a <i>T. vaginalis</i> .	104
Figura 48. Potencia relativa de los compuestos ALD 1-8 vs Albendazol frente a <i>T. vaginalis</i> .	104
Figura 49. SAR <i>T. vaginalis</i>	105

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sustituyentes para los compuestos ALD-1-8	31
Tabla 2. Características fisicoquímicas del compuesto ALD-1	48
Tabla 3. Características fisicoquímicas del compuesto ALD-2	51
Tabla 4. Características fisicoquímicas del compuesto ALD-3	54
Tabla 5. Características fisicoquímicas del compuesto ALD-4	57
Tabla 6. Características fisicoquímicas del compuesto ALD-5	60
Tabla 7. Características fisicoquímicas del compuesto ALD-6	63
Tabla 8. Características fisicoquímicas del compuesto ALD-7	66
Tabla 9. Características fisicoquímicas del compuesto ALD-8	69
Tabla 10. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto ALD-1	72
Tabla 11. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto ALD-2	73
Tabla 12. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto ALD-3	74
Tabla 13. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto ALD-4	75
Tabla 14. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto ALD-5	76
Tabla 15. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto ALD-6	77
Tabla 16. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto ALD-7	78
Tabla 17. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto ALD-8	79
Tabla 18. Propiedades biofarmacéuticas y fisicoquímicas de los compuestos ALD 1-8	80
Tabla 19. Propiedades farmacocinéticas de los compuestos ALD 1-8	82
Tabla 20. predicción de metabolismo de fase I de los compuestos ALD 1-8	85
Tabla 21. predicción de metabolismo de fase II de los compuestos ALD 1-8	85
Tabla 22. Probabilidades de inhibición de isoformas del citocromo P450 de los compuestos ALD-1-8	86
Tabla 23. Probabilidades de Bloqueo de canales hERG de los compuestos ALD 1-8	88
Tabla 24 Probabilidades del perfil toxicológico de los compuestos ALD 1-8	90
Tabla 25. Predicción de la dosis letal media (DL_{50}) y de la clasificación de la OECD ⁶¹	91
Tabla 26. Predicción de actividad de los compuestos ALD 1-8	92
Tabla 27. Validación del acoplamiento molecular dirigido.	94
Tabla 28 Acoplamiento molecular refinado de los compuestos con la proteína PFOR.	94
Tabla 29 Análisis de consenso farmacológico de los compuestos ALD-8	101

Tabla 30. Concentración inhibitoria media (CI_{50}) contra <i>G. intestinalis</i> y <i>T. vaginalis</i> de los compuestos ALD 1-8 y albendazol.....	102
Tabla 31 Sistemas de elución utilizados.....	109

INDICE DE DIAGRAMAS

Diagrama. 1 Diseño de los compuestos ALD-1-8	31
Diagrama. 2 Retrosíntesis de los compuestos ALD 1-8	33
Diagrama. 3 síntesis general de los productos finales ALD 1-8, derivados de 5-nitrofenilurea.	33

ÍNDICE DE ESPECTROS

Espectro 1. de RMN ^1H del compuesto ALD-1	124
Espectro 2. de RMN ^{13}C del compuesto ALD-1	125
Espectro 3. de RMN ^1H del compuesto ALD-2	126
Espectro 4. de RMN ^{13}C del compuesto ALD-2	127
Espectro 5. de RMN ^1H del compuesto ALD-3	128
Espectro 6. de RMN ^{13}C del compuesto ALD-3	129
Espectro 7. de RMN ^1H del compuesto ALD-4	130
Espectro 8. de RMN ^{13}C del compuesto ALD-4	131
Espectro 9. de RMN ^1H del compuesto ALD-5	132
Espectro 10. de RMN ^{13}C del compuesto ALD-5	133
Espectro 11. de RMN ^1H del compuesto ALD-6	134
Espectro 12. de RMN ^{13}C del compuesto ALD-6	135
Espectro 13. de RMN ^1H del compuesto ALD-7	136
Espectro 14. de RMN ^{13}C del compuesto ALD-7	137
Espectro 15. de RMN ^1H del compuesto ALD-8	138
Espectro 16. de RMN ^{13}C del compuesto ALD-8	139

ABREVIATURAS

ABZ: albendazol

°C: Grados centígrados

Ccf: Cromatografía de capa fina

CI₅₀: Concentración inhibitoria media

Cl: Cloruro

CYP: Citocromo P450

Dec: Punto de descomposición

DL₅₀: Dosis Letal media

DMSO-d₆: Dimetil sulfóxido deuterado

g/mol: gramos/mol

h: hora

mL: Mililitros

MTZ: Metronidazol

OEt: Etoxilo

OMe: Metoxilo

OMS: Organización Mundial de la Salud

PASS: Predicción del Espectro de Actividad para Sustancias

Pf: Punto de fusión

PFOR: Piruvato Ferredoxina Óxido Reductasa

RMN: Resonancia Magnética Nuclear

RMN ¹³C: Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13

RMN ¹H: Resonancia Magnética Nuclear protónica

SAR: Relación estructura-actividad

µg/mL: Microgramos/ mililitro

µM: Concentración micromolar

RESUMEN

Las enfermedades ocasionadas por parásitos son un gran problema a nivel mundial y son denominadas enfermedades tropicales desatendidas principalmente porque se generan en lugares empobrecidos, zonas rurales remotas, es decir, países subdesarrollados. A pesar de existir algunos medicamentos contra estos parásitos, se encuentra en aumento la resistencia a fármacos, por lo que es importante tratar de buscar alternativas ante este problema. En este proyecto se diseñaron, sintetizaron y se evaluó el potencial antiparasitario de algunos compuestos de tipo 5-nitrofenilurea sobre *G. intestinalis* y *T. vaginalis*.

Por ende, en este proyecto se realizó el diseño, síntesis de una serie de compuestos de tipo 5-nitrofenilurea con código **ALD 1-8**. El análisis *in silico* se llevó a cabo mediante el uso de herramientas quimiinformáticas las cuales también fueron de utilidad para concretar un análisis de consenso con el fin de priorizar la síntesis y evaluación biológica de los hits computacionales seguros. Los compuestos fueron caracterizados mediante RMN ^1H y ^{13}C . En la evaluación *in vitro* se empleó el método de subcultivos previamente estandarizado. Los compuestos **ALD 1-8** se incubaron a una concentración final de 25 μM en presencia de 2.6×10^5 trofozoítos/mL en el medio TYM durante 24 horas a 37 °C. Los compuestos **ALD-1**, **ALD-5** y **ALD-6** presentaron actividad contra *T. vaginalis*, estos fueron equipotentes y se catalogan como *hits* experimentales a partir de los valores encontrados en el rango micromolar de CI_{50} presentados contra *T. vaginalis*. Por último, se realizó el acoplamiento molecular de los compuestos diseñados frente a la proteína PFOR (Piruvato Ferredoxina oxidorreductasa) para observar el posible modo de unión.

En conclusión, se seleccionaron a los compuestos **ALD-1**, **ALD-2**, **ALD-4**, **ALD-5**, **ALD-6** y **ALD-7** como *hits* computacionales seguros para priorizar su síntesis y su bioevaluación. Posteriormente en los ensayos *in vitro* los compuestos **ALD-1**, **ALD-5** y **ALD-6** presentaron actividad considerable contra *T. vaginalis* por ende se catalogan como *hits* experimentales a partir de los valores de CI_{50} en el bajo orden micromolar ($<10\mu\text{M}$) presentados, siendo equipotentes al comparar con el metronidazol, y ligeramente más potentes que el albendazol. Finalmente, los compuestos presentaron buenas energías de unión con la enzima PFOR de *T. vaginalis*, por lo que no se descarta la inhibición de esta enzima como posible blanco terapéutico tricomonocida.

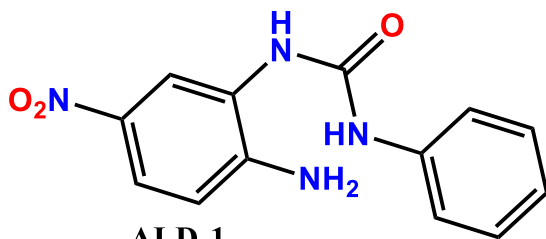
ABSTRACT

Diseases caused by parasites are a major problem worldwide and are called neglected tropical diseases mainly because they are generated in impoverished, remote rural areas, that is, underdeveloped countries. Despite the existence of some drugs against these parasites, drug resistance is on the rise, so it is important to try to find alternatives to this problem. In this project, the antiparasitic potential of some 5-nitrophenylurea-type compounds on *G. intestinalis* and *T. vaginalis* was designed, synthesized and evaluated.

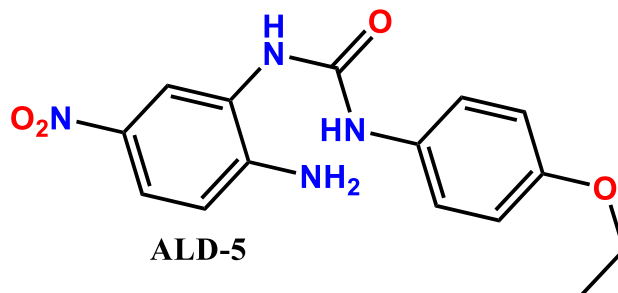
Therefore, in this project, the design and synthesis of a series of 5-nitrophenylurea compounds with code **ALD 1-8** was carried out. The *in silico* analysis was carried out through the use of chemoinformatics tools, which were also useful to carry out a consensus analysis with the aim of prioritizing the synthesis and biological evaluation of safe computational hits. The compounds were characterized by ^1H and ^{13}C NMR. In *vitro* evaluation the previously standardized subculture method was used. **ALD 1-8** compounds were incubated at a final concentration of 25 μM in the presence of 2.6×10^5 trophozoites/mL in the TYM medium for 24 hours at 37 °C. The compounds **ALD-1**, **ALD-5** and **ALD-6** showed activity against *T. vaginalis*, these were equipotent and are cataloged as experimental *hits* based on the values found in the micromolar range of CI_{50} presented against *T. vaginalis*. Finally, the molecular coupling of the engineered compounds against the PFOR protein (Pyruvate Ferredoxine oxidoreductase) was performed to observe the possible mode of binding.

In conclusion, the compounds **ALD-1**, **ALD-2**, **ALD-4**, **ALD-5**, **ALD-6** and **ALD-7** were selected as safe computational hits to prioritize their synthesis and bioevaluation. Subsequently, in vitro assays, the compounds **ALD-1**, **ALD-5** and **ALD-6** showed considerable activity against *T. vaginalis*, therefore they are cataloged as *experimental hits* based on the values of IC_{50} in the low micromolar order ($<10\mu\text{M}$) presented, being equipotent when compared to metronidazole, and slightly more potent than albendazole. Finally, the compounds presented good binding energies with the PFOR enzyme of *T. vaginalis*, so the inhibition of this enzyme as a possible trichomonocidal therapeutic target is not ruled out.

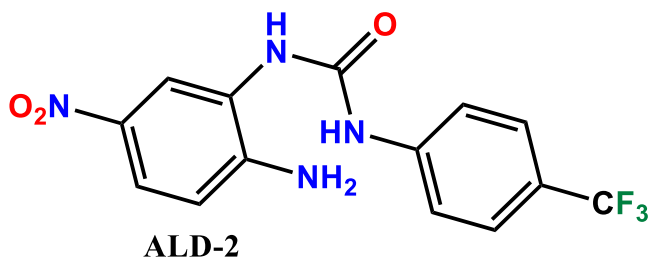
ÍNDICE DE COMPUESTOS DISEÑADOS



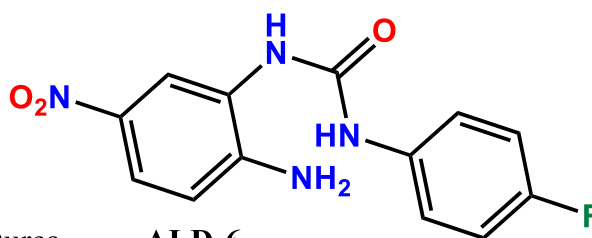
1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-fenilurea



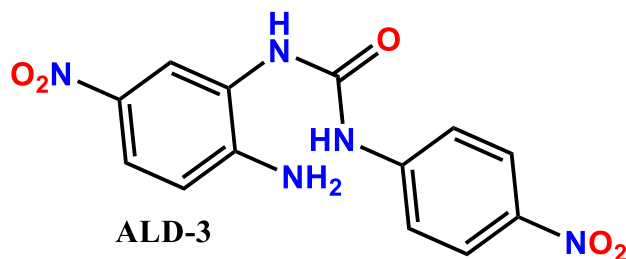
1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-etoxifenil)urea



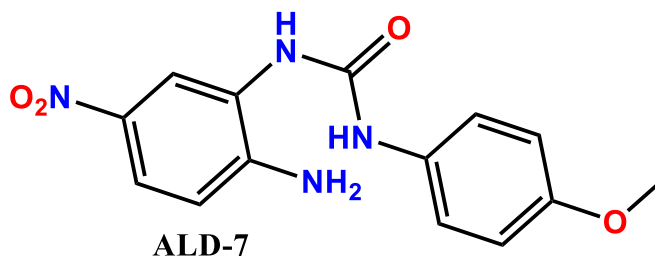
1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4 (trifluorometil)fenil)urea



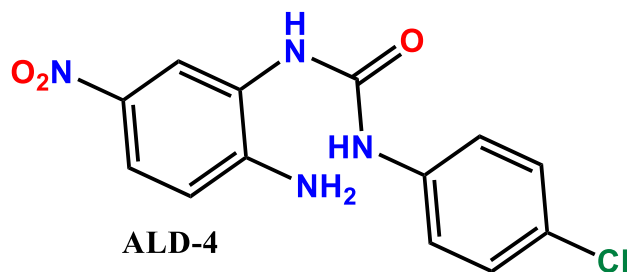
1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-fluorofenil)urea



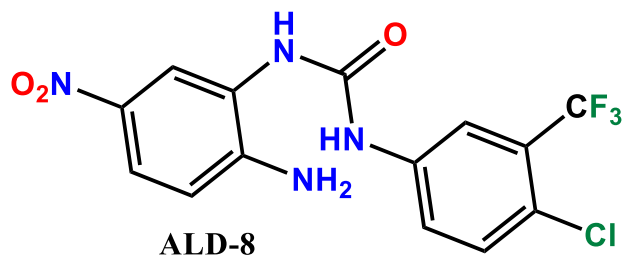
1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-nitrofenil)urea



1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-metoxifenil)urea



1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-clorofenil)urea



1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)urea

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades ocasionadas por parásitos son un gran problema a nivel mundial y son denominadas enfermedades tropicales desatendidas principalmente porque se generan en lugares empobrecidos, zonas rurales remotas, es decir, países subdesarrollados. El clima tropical estimula la proliferación de dichas infecciones; estas enfermedades reciben poca atención por parte del sector salud debido a que las personas que las contraen tienen poco o nulo acceso a dicho servicio. La mayoría de las enfermedades parasitarias son transmitidas principalmente por insectos como mosquitos y moscas, otros se transmiten por agua contaminada y el suelo infestado de larvas de gusanos.¹

Los parásitos se clasifican en 3 importantes grupos: Helmintos, Protozoos y Artrópodos. Por otra parte, también pueden clasificarse según su localización en el huésped, por ejemplo; Endoparásitos (los parásitos viven dentro del huésped), los ectoparásitos (los parásitos viven en la piel del huésped).²

Los protozoarios *Giardia intestinalis* y *Trichomonas vaginalis* representan un gran problema de salud a nivel global, una estimación mundial informó que más de 200 millones de personas de todos los grupos de edad padecen diarrea relacionada con la giardiasis cada año. En el segundo caso, según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) hay 276 millones de casos nuevos de tricomoniasis al año.^{1,3}

A pesar de existir algunos medicamentos contra estos parásitos, se encuentra en aumento la resistencia a fármacos, por lo que es importante tratar de buscar alternativas ante este problema. En este proyecto se diseñaron, sintetizaron y se evaluó el potencial antiparasitario de algunos compuestos de tipo 5-nitrofenilurea sobre *G. intestinalis* y *T. vaginalis*.

2. ANTECEDENTES

2.1 Parásito

Es un organismo que vive dentro de un anfitrión y obtiene su alimento a expensas de él. Los parásitos pueden causar enfermedades en los seres humanos, principalmente los protozoarios y los helmintos que viven temporal o permanentemente en el hombre, la mayoría de los cuales le causan enfermedad. Algunas enfermedades parasitarias son fáciles de tratar y otros no. Millones de personas mueren anualmente; Chagas, paludismo, tripanosomiasis, ascariasis, amebiasis y leishmaniasis son algunos ejemplos. ^{2,4,5}

2.2 Protozario

Son organismos unicelulares eucariontes, carentes de pared celular y los cuales constituyen un grupo de alrededor de 25000 organismos que poseen una estructura similar.⁹ Se han descrito más de 65.000 especies de protozoarios. Las etapas de desarrollo de los parásitos generalmente consisten en la alimentación de trofozoítos, ya sea de manera intracelularmente (dentro de las células huésped) o extracelularmente (en órganos huecos, fluidos corporales, etc). La transmisión entre hospedadores puede ser directa, fecal-oral, transmitida por vectores y depredador-presa.⁷

2.2.1 Las enfermedades tropicales desatendidas (ETD)

Muchas de estas enfermedades protozoarias entran en un grupo de infecciones prevalentes en diversos países tropicales y subtropicales en desarrollo donde prevalece la pobreza. Las enfermedades tropicales desatendidas han pasado en gran medida desapercibidas en la agenda sanitaria mundial.⁸

2.3 *Giardia Intestinalis*

G. Intestinalis (conocida como *G. lamblia* o *G. duodenalis*) es un protozario que constituye una de las principales infecciones intestinales del hombre y es endémica en países subdesarrollados.⁶ *Giardia* es un antiguo protozario amitochondriado con un ciclo de vida directo y vías metabólicas simplificadas.¹⁰ La giardiasis es una parasitosis cosmopolita del intestino delgado proximal.¹¹ *G. Intestinalis* es un protozario flagelado que no posee mitocondrias ni aparato de Golgi, carece de hidrogenosomas y peroxisomas. Produce su

energía por glucólisis anaeróbica.¹² La infección puede ser aguda o crónica, y los síntomas incluyen náuseas, vómitos, diarrea y deshidratación.¹³

2.3.1 Ciclo de vida

El quiste es la forma infecciosa de este protozoo, después la ingestión, ocurre la exquistación que comienza en el estómago y se completa en el duodeno, como resultado de la exposición al pH ácido del estómago y a las enzimas pancreáticas quimiotripsina y tripsina, y producen dos trofozoítos (estado vegetativo) de cada quiste. Los trofozoítos se replican en el duodeno y en la porción superior del yeyuno, y se reproducen asexualmente por fisión binaria o bipartición.¹⁴ Las condiciones mencionas provocan que un subconjunto de trofozoítos se diferencie y se transforme en quistes infecciosos. Estos quistes se excretan en las heces, sirviendo como reservorio para nuevas infecciones.^{15,16,17,18}

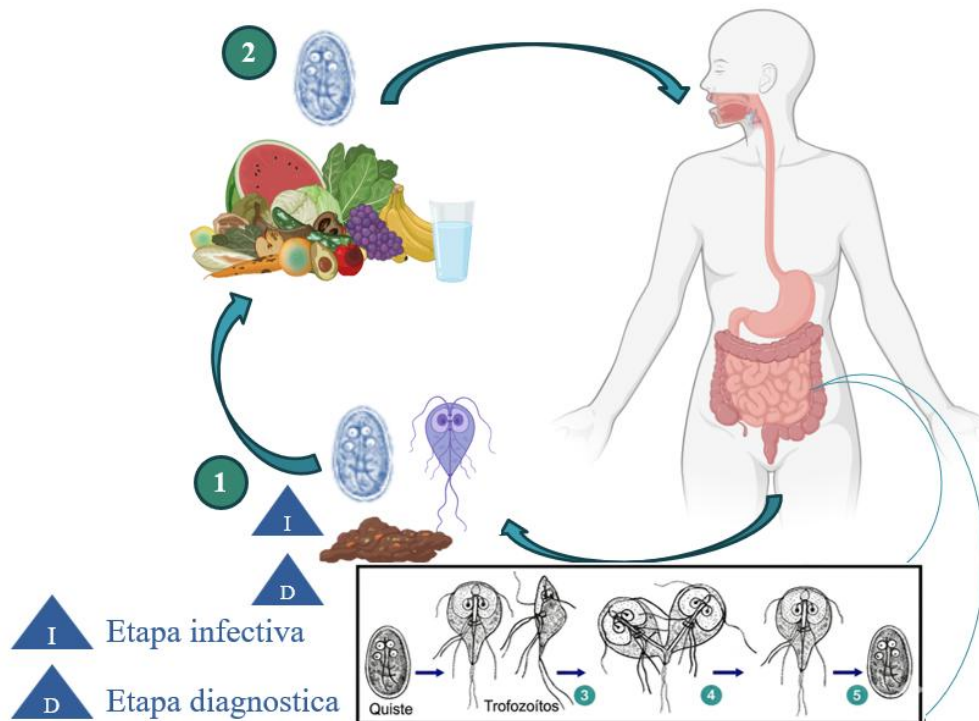


Figura 1. Ciclo de vida de *Giardia intestinalis*¹⁶

2.3.2 Epidemiología

Las tasas exactas de infecciones son difíciles de determinar dado que la giardiasis es una enfermedad descuidada, se cree que los parásitos *Giardia* infectan a aproximadamente mil millones de humanos cada año, de los cuales ≥ 200 millones desarrollan enfermedades sintomáticas. En México se registraron más 5000 casos en el año 2025.^{19, 20}

2.3.3 Tratamiento

Como procedimiento primario son empleados el tinidazol en dosis exclusiva, metronidazol o los bencimidazoles carbamatos de metilo de 5 a 7 días. El metronidazol se reduce a intermediarios tóxicos en la célula anaerobiana y tiene una variedad de efectos, incluida la reactividad del ADN. **(Fig.2)** Se ha propuesto que la piruvato-ferredoxina oxidorreductasa (PFOR) y la tiorredoxina reductasa (TrxR) son de importancia en esta actividad, pero es probable que también haya otras enzimas que contribuyan.²¹ La nitazoxanida también es un compuesto nitroaromático que se destaca frente a *G. intestinalis*. Después de la absorción en el tracto gastrointestinal, se convierte rápidamente en el metabolito activo tizoxanida, lo que significa que la nitazoxanida no es detectable fácilmente en suero.^{21, 14, 22}

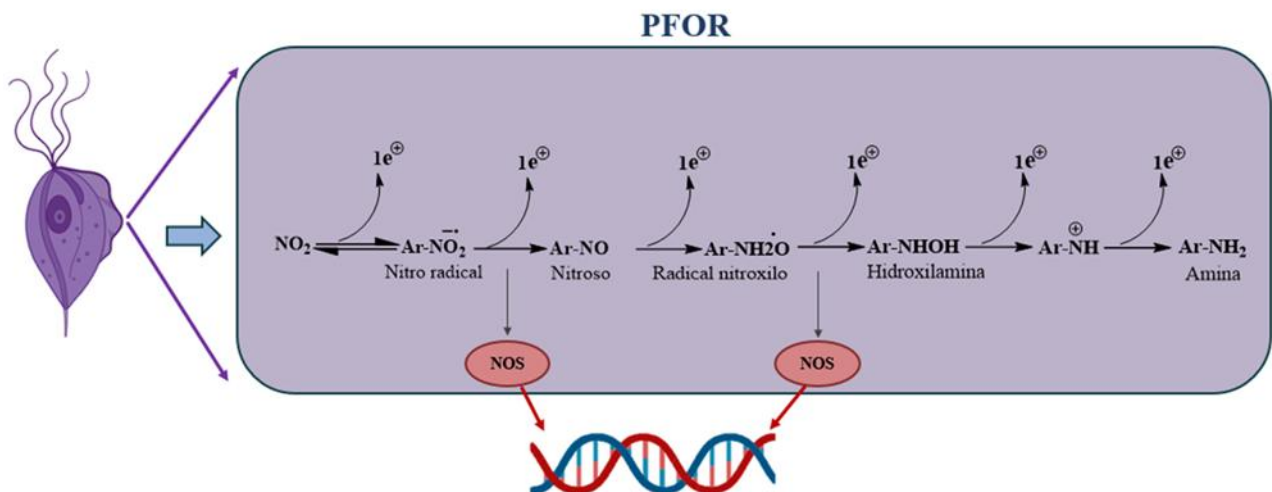


Figura 2. Mecanismo de acción propuesto para el metronidazol y otros compuestos nitroaromáticos.²¹

2.3.3.1 Posología para el tratamiento contra *G. intestinalis*

Tabla 1. Tratamiento contra *G. intestinalis*

Fármaco	Vía de administración	Posología
Metronidazol	Oral	15 mg/kg/día hasta un máximo de 750 mg/día en tres dosis durante 5–10 días.
Tinidazol	Oral	50 mg/kg como máximo 2 g en una sola dosis.
Secnidazol	Oral	Dosis recomendada para adultos es de 2 g y 30 mg/kg en pacientes pediátricos como dosis única
Ornidazol	Oral	Una sola dosis de 20 a 40 mg/kg (máximo 2 g).
Nitazoxanida	Oral	Una dosis de 7,5 mg/kg dos veces al día durante 3 días.
Albendazol	Oral	10–15 mg/kg (máximo 400 mg) una vez al día durante 5 días.
Mebendazol	Oral	200–400 mg una vez al día durante 5 días.
Paromomicina	Oral	500 mg tres veces al día durante 10 días en adultos y de 25 a 30 mg/kg/día (divididos en tres dosis) en niños.
Furazolidona	Oral	400 mg tres veces al día durante 7–10 días.

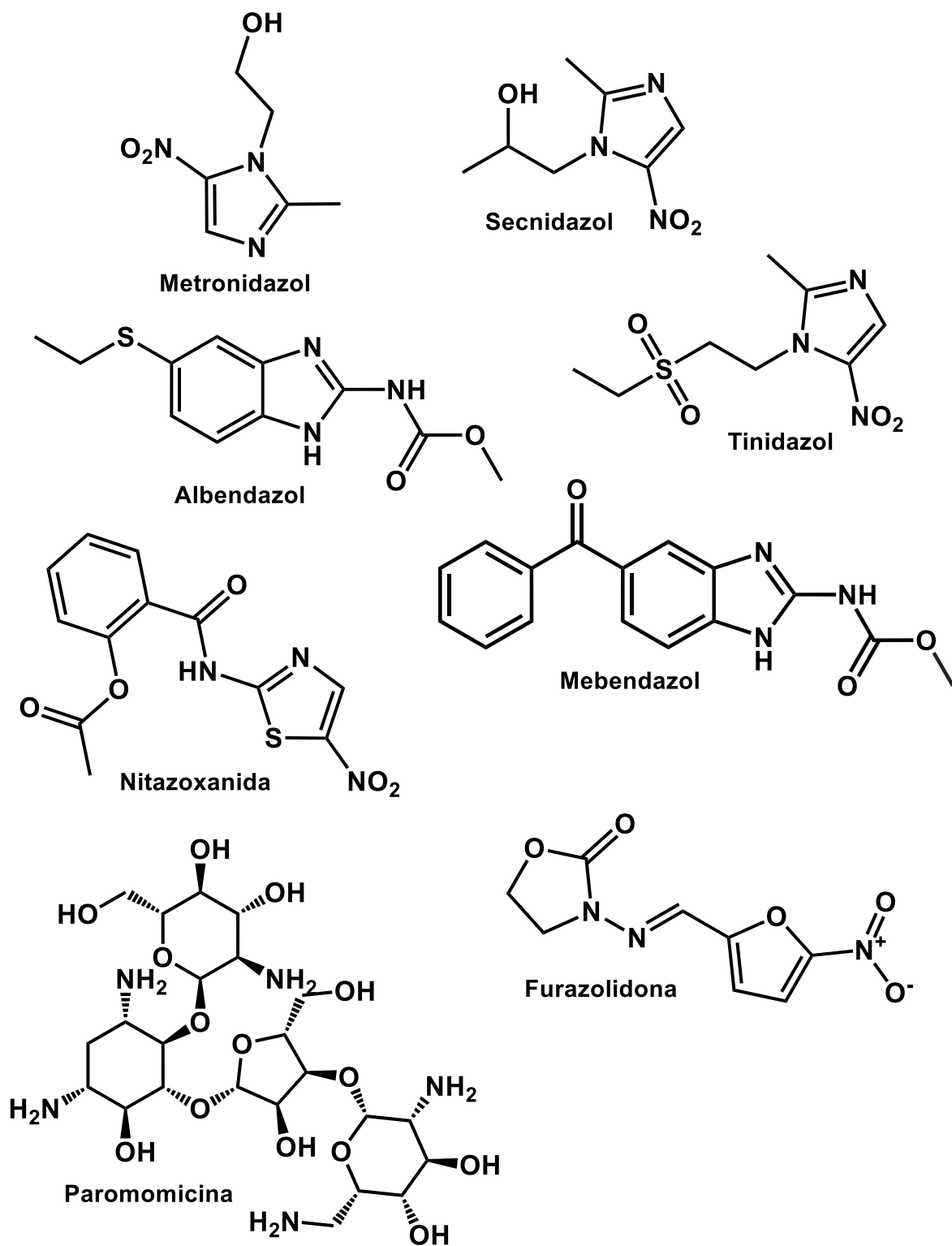


Figura 3. Fármacos utilizados contra *G. intestinalis* y *T. vaginalis*.

2.3.4 Patogénesis y manifestaciones clínicas

G. instinalis es un parásito intestinal no invasivo, con la capacidad de establecer una colonización crónica en el hospedador. La etapa de transmisión se da en su forma de quistes resistentes a condiciones adversas. Tras la ingestión, el proceso de exquistación genera cuatro trofozoítos tras dos rondas de división mediante fisión binaria asexual. Los trofozoítos son la etapa replicativa e infecciosa que invade el tracto intestinal del huésped, principalmente en el duodeno.

Para mantener la colonización, el protozoo debe ser capaz de evitar los efectos de la barrera mucosa en la mucosa intestinal. Para cruzar la barrera mucosa, los trofozoítos de *G. intestinalis* utilizan el movimiento flagelar y probablemente otros procesos celulares especializados. Las proteínas secretadas, como las proteasas de cisteína, también pueden escindir la mucosa para ayudar al protozoo a interactuar directamente con las células epiteliales intestinales. Los trofozoítos se adhieren a los enterocitos mediante una combinación de lectinas superficiales y proteínas parásitas como la giardina, proteínas superficiales específicas, tenascinas y proteasas de cisteína secretadas situadas en su disco ventral.

Los productos de *G. insteinalis* están implicados en la patogénesis parasitaria que se ha asociado con el acortamiento de las microvellosidades del borde del cepillo, la alteración de complejos de unión epitelial mediados por el parásito, y recientemente asociada con la activación de vías de señalización para regular la detención del ciclo celular y la apoptosis. Este daño a las células epiteliales en niños podría provocar diferentes alteraciones a nivel intestinal y podría estar asociado a un crecimiento deteriorado y diarrea.²³

En la **Figura 4** se enumeran algunos factores patogénicos de *G. intestinalis*.

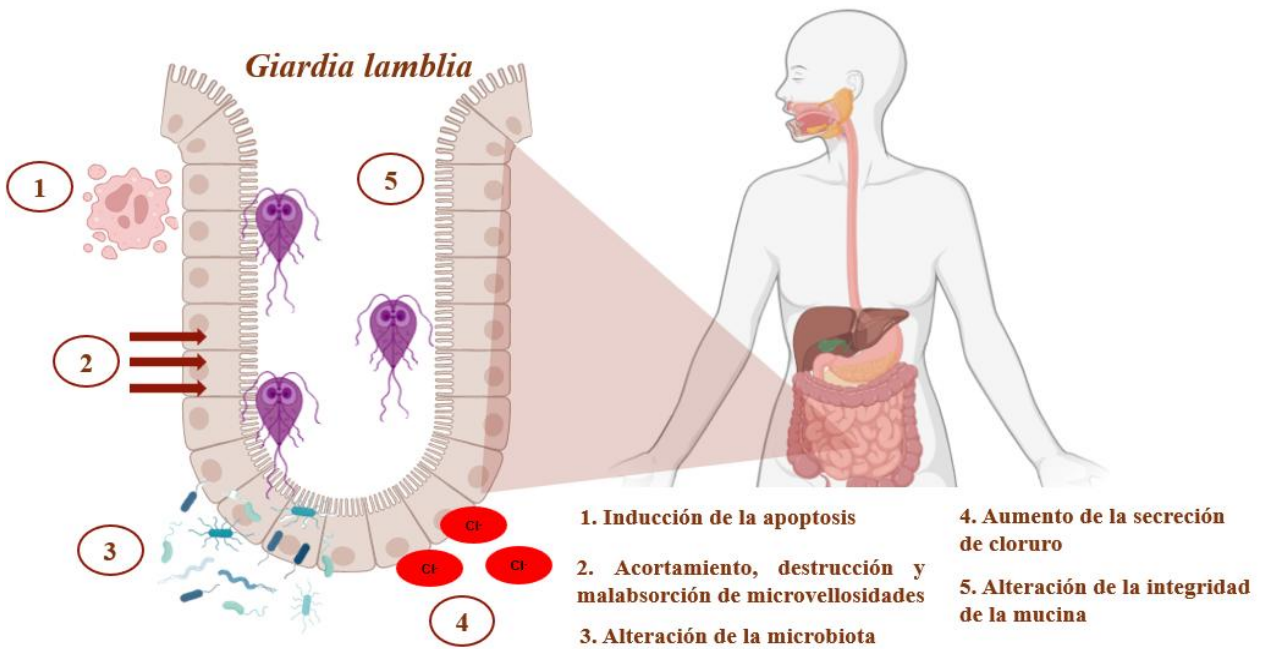


Figura 4. Fisiopatología de la giardiasis.²³

La infección por *Giardia* es más conocida por el inicio subagudo de diarrea que comienza entre la 1 o 2 semana después de la exposición al parásito, que consiste en heces sueltas y grasientas, así como flatulencias, y que frecuentemente va acompañada de pérdida de peso. La fiebre y otros síntomas sistémicos son poco frecuentes, y los pacientes suelen acudir a evaluación médica días o semanas después de la aparición de los síntomas.²³

2.4. *Trichomonas vaginalis*

T. vaginalis posee una forma piriforme (oval), en su forma de trofozoíto se pueden observar cuatro flagelos anteriores libres y uno recurrente a lo largo de la membrana ondulante sin extremo libre, el citoesqueleto está formado de tubulina y fibras de actina; el núcleo está situado en la parte anterior del cuerpo y posee gránulos de cromatina en forma de flor, carece de peroxisomas y mitocondrias, producen unas moléculas que llamadas hidrogenosomas que son importantes para la fermentación del piruvato.¹²

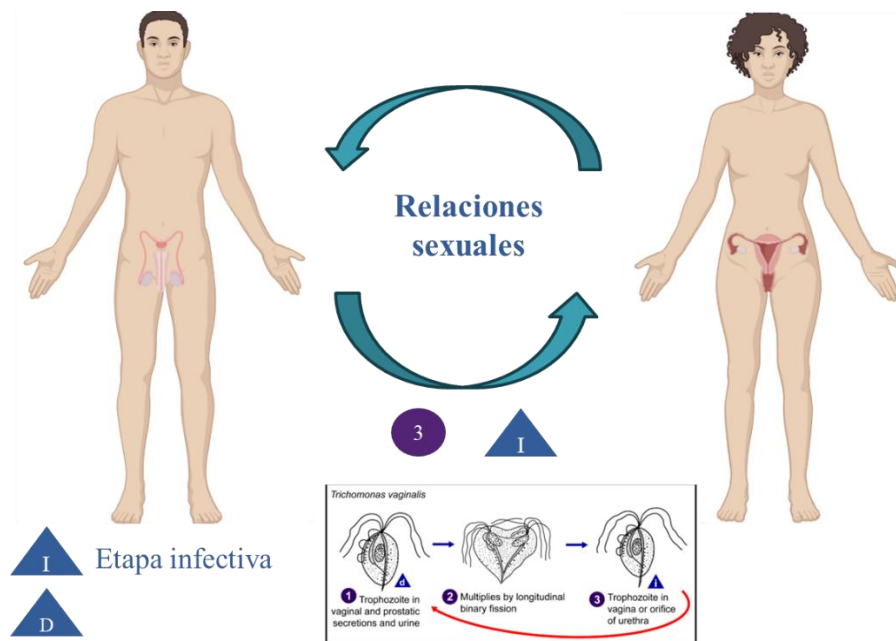


Figura 5. Ciclo de vida de *T. vaginalis*.

2.4.1 Patogénesis

Los humanos son los únicos huéspedes conocidos de *T. vaginalis* el parásito se transmite predominantemente a través del contacto sexual de una persona infectada a una persona no infectada. *T. vaginalis* tiene una etapa de trofozoíto en la que crece y se alimenta activamente en preparación para la replicación. Posteriormente se replica mediante fisión binaria longitudinal en el tracto genital inferior de las mujeres (vaginal, uretra y endocérnix) y en la uretra y la próstata de los hombres. El período promedio de incubación es de 5 a 28 días; sin embargo, la infección puede persistir durante períodos de tiempo más largos. *T. vaginalis* no existe en forma de quiste y no sobrevive bien en el medio ambiente, aunque se ha identificado fuera del ser humano. En fómites (es decir, toallas húmedas) durante más de 3 horas.^{25,26,27}

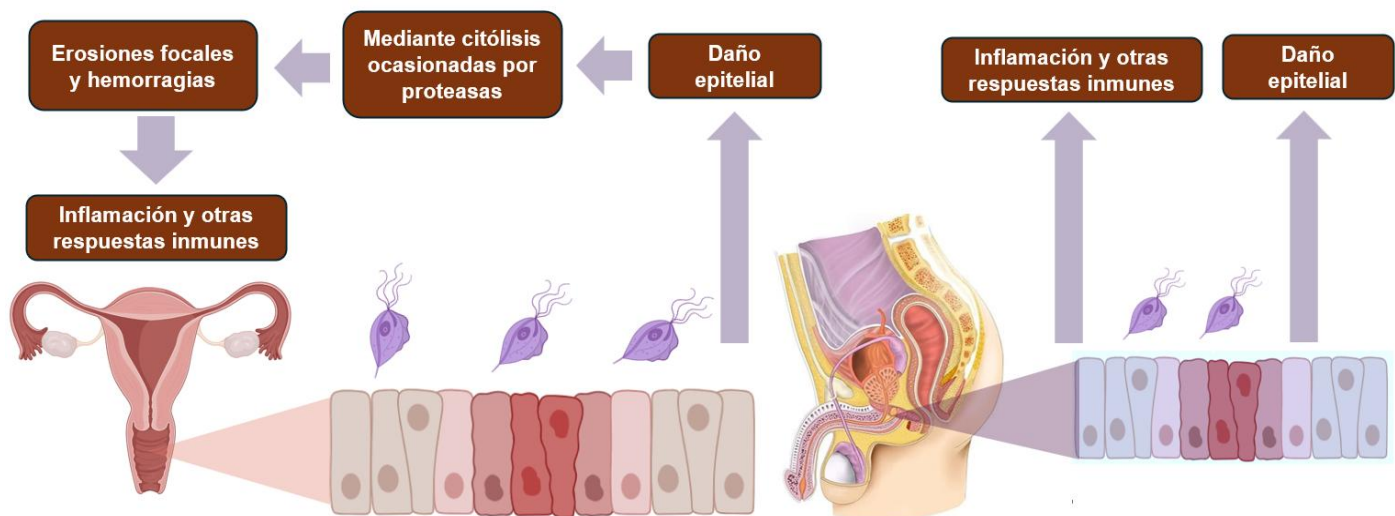


Figura 6. Fisiopatología de la tricomoniasis.²⁷

2.4.2 Cuadro clínico

La infección asintomática por *T. vaginalis* es común, más entre hombres que entre mujeres. En los hombres, la carga del parásito *T. vaginalis* es mucho menor en comparación con las mujeres. Entre los hombres sintomáticos, la presentación más común es la uretritis, que incluye disuria y/o secreción uretral clara o mucopurulenta. Como se mencionó anteriormente, la resolución espontánea de la infección sin tratamiento se ha descrito en hombres, pero se desconoce la frecuencia exacta con la que ocurre. Sin embargo, si no se tratan, algunos hombres pueden experimentar síntomas de prostatitis o epididimitis. También se han notificado casos ocasionales de infección rectal por *T. vaginalis* que provoca proctitis entre hombres que tienen sexo con hombres (HSH), sin embargo, esto es extremadamente raro y no se recomienda la detección sistemática de esta ubicación.²⁵

2.4.3 Epidemiología

Dado que no es una infección notificada, la prevalencia de la tricomoniasis no se conoce completamente. Sin embargo, muchos estudios consideran que la infección por trichomonas es la enfermedad de transmisión sexual no viral más común; según la OMS, cada año se producen 276 millones de nuevos casos. Según el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica en México se reportaron 15,072 casos de tricomoniasis en el año 2025.^{20, 28}

2.4.4 Tratamiento

El tratamiento actual se basa en los fármacos de la familia de los nitroimidazoles, que se dividen en dos grupos: los 2-nitroimidazoles, que incluyen el misonidazol y el benznidazol, y los 5-nitroimidazoles, que incluyen los siguientes: metronidazol, tinidazol, ornidazol, secnidazol, etc. (**Figura 3**). El metronidazol, que tiene una amplia actividad antimicrobiana, es el fármaco de elección. Penetra la pared de *T. vaginalis* y se reduce por las enzimas piruvato ferredoxin-oxidoreductasa y flavodoxina, produciendo compuestos tóxicos, que rompen las uniones de timina y adenina del ADN, destruyéndolo.¹⁹

La dosis actual para el tratamiento efectivo de la tricomoniasis es de 2 gramos por vía oral; se debe tratar igualmente a los contactos sexuales. En caso de reacción alérgica, el metronidazol se puede sustituir por alguno de los otros nitroimidazoles, pero se debe tener en cuenta que puede haber reacciones de sensibilidad cruzada.¹⁹

2.4.2.1 Posología

Metronidazol:

Para mujeres: 500 mg, dos veces al día durante 7 días.

Para hombres: una dosis única de 2 g.

Se puede tomar durante el embarazo.

Secnidazol:

Una dosis oral única de 2 g

Tinidazol:

Una sola dosis oral de 2 g es una alternativa tanto para mujeres como para hombres.

2.5 Importancia del grupo Nitro en diversos fármacos antiparasitarios

Como se ha mencionado anteriormente, en la sección del tratamiento contra algunas protozoosis, el grupo nitro ($-\text{NO}_2$) se encuentra presente en una gran variedad de fármacos antiparasitarios, posee una gran capacidad de atracción de electrones que genera sitios localizados de deficiencia electrónica dentro de las moléculas e interactúa con nucleófilos biológicos presentes en sistemas vivos, como proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos y enzimas. Por su versatilidad, también presenta actividad antineoplásica, antihipertensiva, antiinflamatoria y antibiótica.²⁹ Los primeros compuestos nitroheterocíclicos utilizados en quimioterapia fueron los nitrofuranos, los cuales se han utilizado para tratar varios tipos de infecciones bacterianas durante más de 50 años.^{29,30,31}

Para la bioactivación de estos nitroheterociclos es necesario el proceso del metabolismo nitrorreductor en donde intervienen diferentes enzimas que están involucradas en los pasos biorreductores y oxidativos.³⁰ La bioquímica redox del grupo nitro desempeña un papel central en la actividad biológica de los antibióticos nitroaromáticos. Estos compuestos requieren bioactivación reductora para la actividad antimicrobiana, que se realiza mediante nitroreductasas (NTR) de tipo 1 o 2 (o tipo I o II) que tienen un poder reductor superior al potencial reductor del compuesto nitroaromático. Existen numerosas nitroreductasas específicas de organismos, así como otros sistemas, incluyendo hidrogenasas y piruvato/ferredoxina oxidorreductasa, capaces de catalizar la reducción del grupo nitro.

Una enzima con actividad nitroreductasa que es vital en el funcionamiento metabólico de algunos protozoarios es la PFOR es de gran interés para (al menos) tres áreas de investigación diferentes: (i) bioquímica como medio para la oxidación del piruvato en condiciones anaeróbicas; (ii) farmacología porque puede reducir y así activar profármacos nitro como el metronidazol; y (iii) biología evolutiva, ya que es una enzima antigua que proviene de tiempos en que la vida en la Tierra era anaeróbica.³²

2.6 Enzima Piruvato Ferredoxina Oxidorreductasa (PFOR) como blanco terapéutico de importancia frente a protozoarios

La descarboxilación oxidativa del piruvato es una reacción fundamental de los organismos vivos en general.³² Los parásitos anteriormente mencionados tienen la característica de ser organismos anaerobios o aerotolerantes (pueden desarrollarse en presencia de oxígeno pero no lo utilizan para la obtención de energía), es decir que carecen de mitocondria pero pueden presentar hidrogenosomas, por lo que en lugar de llevar a cabo una descarboxilación por medio de respiración celular como en los organismos aerobios utilizando la enzima piruvato deshidrogenasa (PDH) en mitocondria, estos microorganismos descomponen la molécula del piruvato en el citosol, *Entamoeba histolytica* en los mitosomas y *Giardia intestinalis* produce la energía que necesita a través de glucólisis anaeróbica ya que no tiene mitocondria,²⁹ mientras que *Trichomonas vaginalis* lo hace dentro del hidrogenosoma.

Para descarboxilar el piruvato todos estos utilizan una enzima que les ayude a catabolizar la reacción, esto es lo que les provee de la energía necesaria para sobrevivir al convertir la molécula del piruvato en acetil-CoA y CO₂, la enzima PFOR es una metalo-enzima que contiene tres grupos[4Fe-4S].^{32,33} Esta enzima se encarga de transferir los electrones a las ferredoxinas, en una situación normal los protones se reducirían normalmente a hidrógeno molecular por la acción de la hidrogenasa.

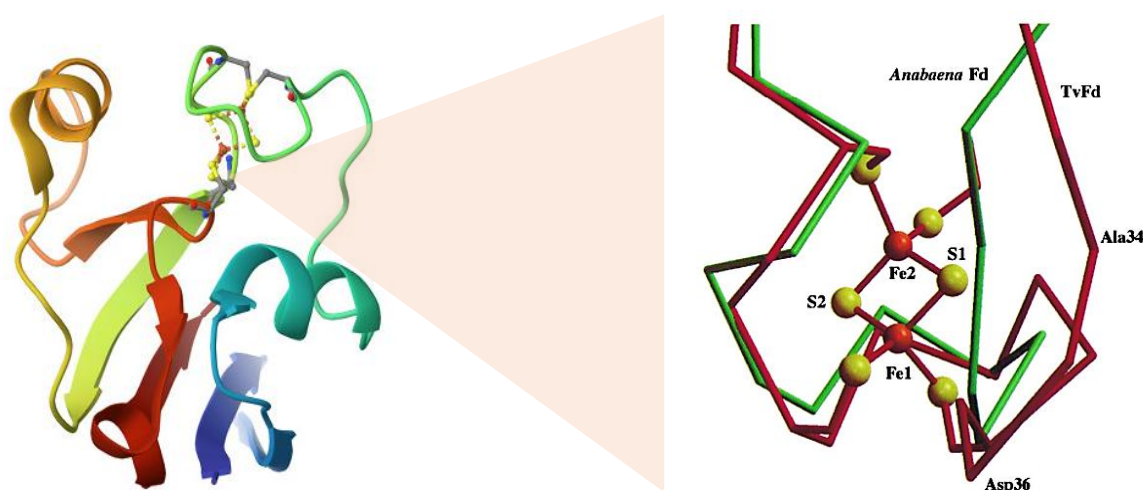


Figura 7. Enzima Piruvato Ferredoxina Oxido Reductasa y su centro catalítico.³³

Sin embargo, cuando un fármaco que contiene a un grupo nitro en su estructura se introduce en el citoplasma del parásito, la PFOR se encarga de reducir al grupo nitro del fármaco siendo las especies reactivas de oxígeno (ROS) resultantes de la reducción quienes ejercen la toxicidad en el parásito dañando las macromoléculas de este incluyendo el ADN ya que forma aductos tanto en proteínas como en los ácidos nucleicos (**Figura 8**). Cabe mencionar que la reducción del grupo nitro se lleva a cabo en 3 pasos y dona 2 electrones en cada paso a la vez que libera ROS, en el primer paso el grupo nitro se transforma al grupo nitroso, posteriormente este pasa a ser una hidroxilamina y finalmente esta llega a la reducción total en su forma de amina.³² Este proceso se muestra en la **Figura 8**.

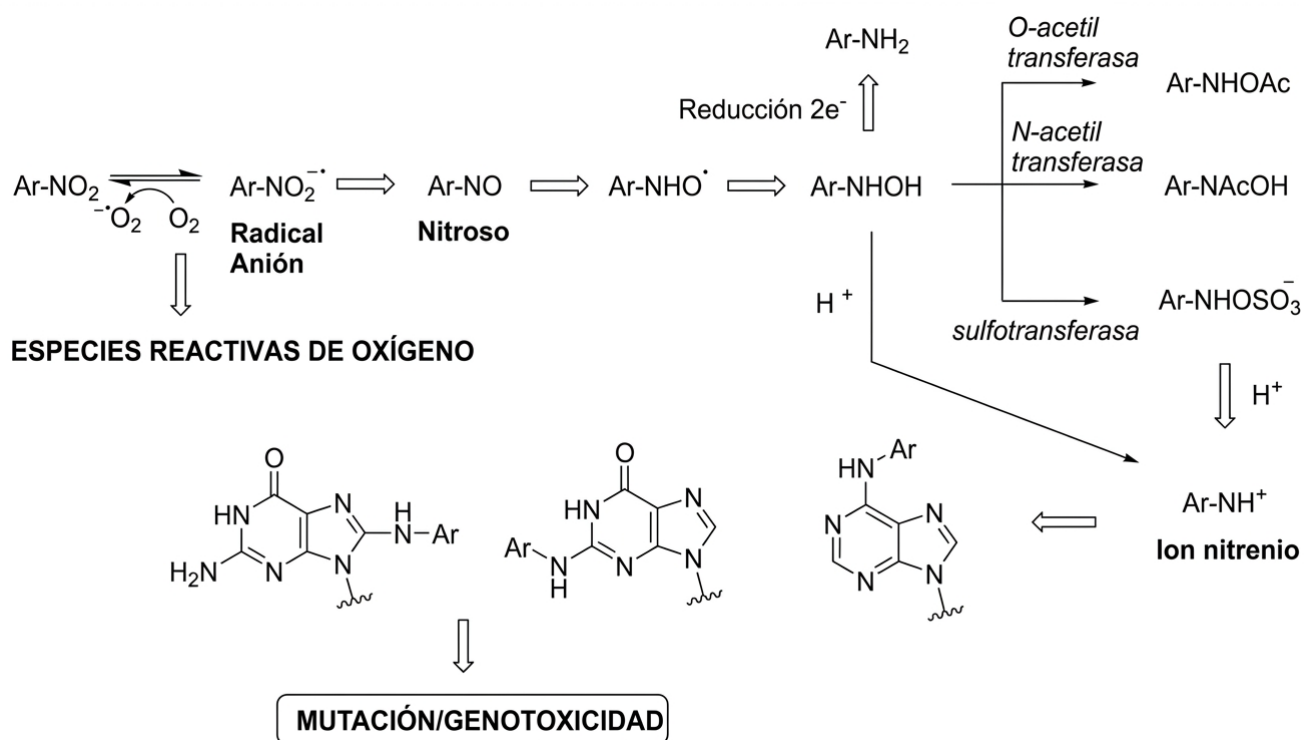


Figura 8. Proceso de reducción y generación de especies reactivas de oxígeno a partir de grupos nitro.³²

3. JUSTIFICACIÓN

Las infecciones causadas por parásitos tienen una alta prevalencia a nivel mundial, algunos factores como el cambio climático, el aumento de la población y la globalización, contribuyen al crecimiento de la incidencia por lo que representan un gran problema de salud. Estas enfermedades ocurren con mayor prevalencia en países en vías de desarrollo, en donde la población afectada no cuenta con recursos económicos para su tratamiento. Al ser padecimientos catalogados como “enfermedades tropicales desatendidas” mantienen una baja atención e importancia para las empresas farmacéuticas, por ende, se torna complicado el desarrollo de nuevos fármacos que presenten una buena seguridad y eficacia, debido a sus propiedades biofarmacéuticas principalmente, su solubilidad.

Teniendo en cuenta lo anterior, en este proyecto se pretende sintetizar moléculas novedosas que sean más eficaces que los tratamientos actuales y poder aportar con ellas alternativas terapéuticas para las protozoosis más comunes.

4. HIPÓTESIS

Los compuestos diseñados de tipo 5-nitrofenilurea, mostraran efecto antiprotozoario, al ser inhibidores virtuales de la Piruvato Ferredoxina oxido reductasa, una enzima importante en la obtención de energía del parásito.

4.1 OBJETIVOS

4.1.1 Objetivo general

Diseñar, sintetizar y evaluar *in vitro* e *in silico* el efecto antiprotozoario de 8 derivados de tipo 5-nitrofenilurea.

4.1.1.1 Objetivos particulares

- Sintetizar y caracterizar 8 derivados de tipo 5-nitrofenilurea (**ALD-1-8** mediante técnicas espectroscópicas (RMN de ^1H y ^{13}C)
- Estimar los perfiles biofarmacéuticos, farmacocinéticos, farmacodinámicos y toxicológicos mediante técnicas quimiinformáticas.
- Realizar el análisis *in silico* de consenso farmacológico para seleccionar los mejores candidatos para su evaluación farmacológica.
- Realizar el acoplamiento molecular de los compuestos para determinar su posible modo de unión.
- Evaluar *in vitro* el efecto antiprotozoario de los mejores hits computacionales seguros sobre *T. vaginalis* y *G. intestinalis*.

5. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO MOLECULAR

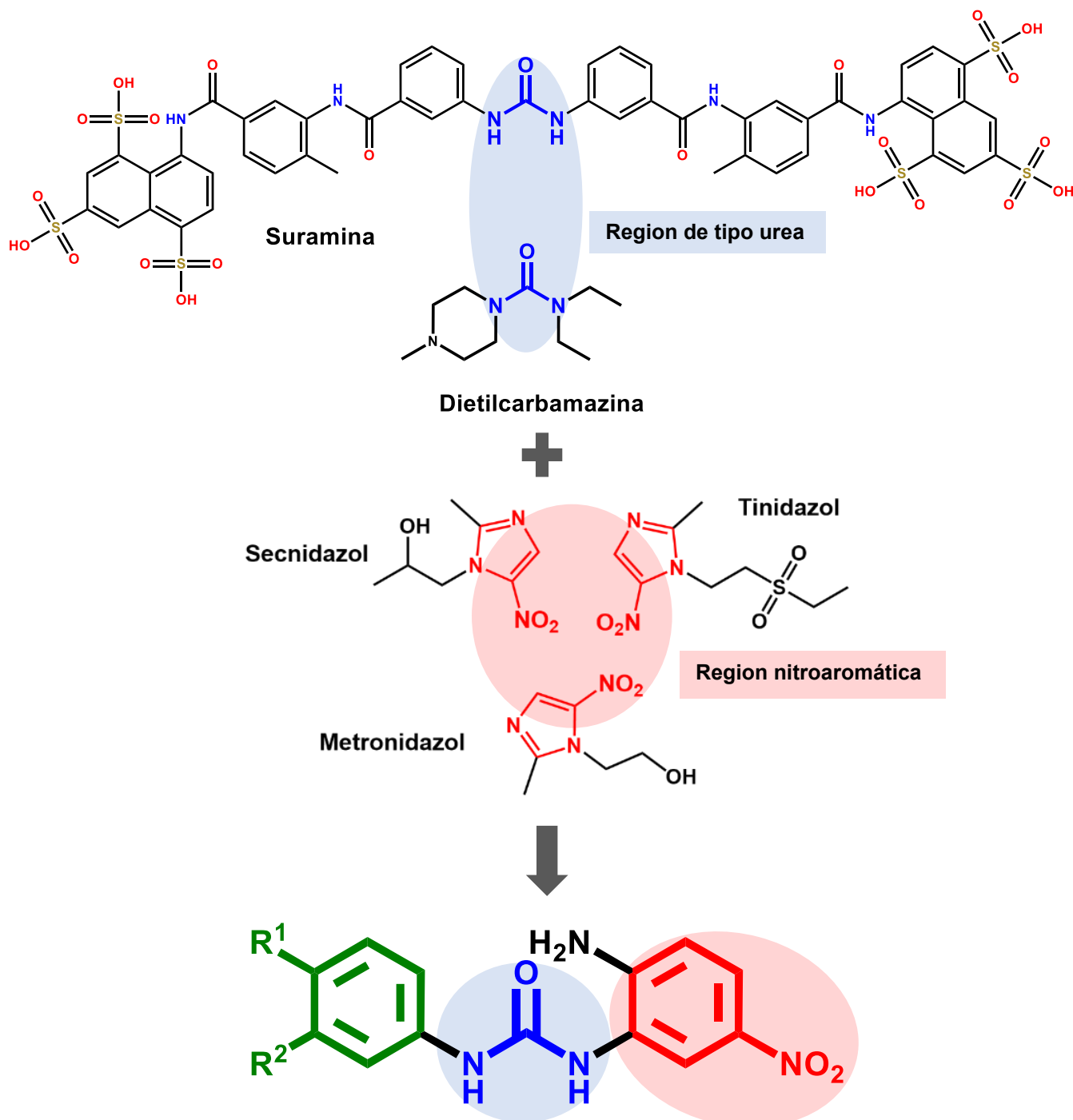


Diagrama 1. Diseño de los compuestos **ALD-1-8**

El diseño molecular está basado en la característica farmacofórica del metronidazol y otros compuestos nitroaromáticos (fármacos antiprotozoarios), que es la presencia del grupo nitro, así como una parte auxofórica de tipo urea como es el caso de los fármacos Suramina y la Dietilcarbamazina que también tienen propiedades antiparasitarias (**Diagrama 1**).^{32,35,36}

La presencia del grupo nitro en la estructura de los compuestos de tipo 5-nitrofenilureas, al igual que en los compuestos nitroaromaticos representa un importante efecto contra organismos anaerobios, ya que su posible reducción y generación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno están directamente ligadas con la muerte de dichos protozoarios.

Los compuestos de tipo 5-nitrofenilureas de igual forma cuentan con una región auxofórica cuyas características estructurales estarían aportando ventajas en el modo de unión con el sitio de interés farmacológico, iniciando con la parte de la urea que conecta con un fenilo sustituido, los enlaces de hidrógeno desempeñan un papel clave debido a su capacidad para estabilizar la interacción ligando-enzima. La capacidad de enlaces de hidrógeno donante-aceptor de estos derivados de la urea es uno de los elementos más importantes de su reconocimiento molecular y bioactividad.^{34,35}

El anillo de fenilo se modificó mediante un reemplazo bioisostérico en la posición R¹ y R² por sustituyentes con características electrodonadoras como son el grupo metoxi y etoxi así como grupos electroattractores como son el CF₃, Cl, F y el grupo nitro que aumentarían las interacciones lipofílicas dentro del sitio de unión (**Tabla 1**).

Tabla 2. Sustituyentes para los compuestos **ALD-1-8**

COMPUESTO	SUSTITUYENTE R ¹	SUSTITUYENTE R ²
ALD-1	H	H
ALD-2	CF₃	H
ALD-3	NO₂	H
ALD-4	Cl	H
ALD-5	O-Et	H
ALD-6	F	H
ALD-7	O-Me	H
ALD-8	Cl	CF₃

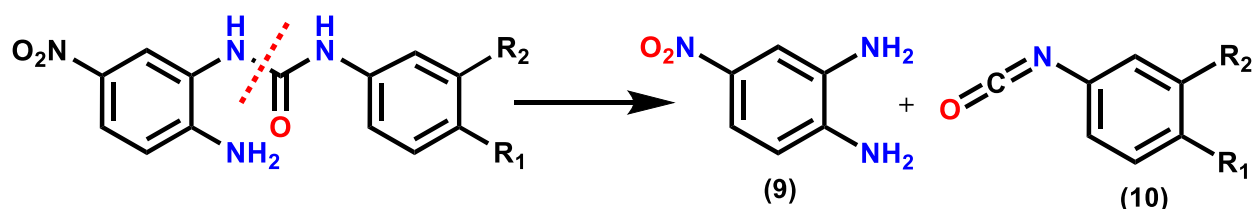
6. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

6.1 Parte química

6.1.1 Retrosíntesis

En la retrosíntesis de los compuestos **ALD 1-8** se realizó una desconexión entre la amina y el anillo de benceno para generar los correspondientes equivalentes sintéticos que en este caso son el 4-nitrobenceno-1,2-diamina y un isocianato de fenilo 2,4-sustituido, los cuales se encuentran comercialmente disponibles.

Compuestos ALD 1-8



6.1.1.1 Metodología general para la síntesis de los compuestos **ALD-1-8**

La síntesis de los compuestos **ALD 1-8**, consiste en la reacción que se lleva a cabo entre el 4-nitrobenceno-1,2-diamina (9) y un isocianato de fenilo 2,4-sustituido (10), en acetonitrilo como disolvente y calentamiento a reflujo.

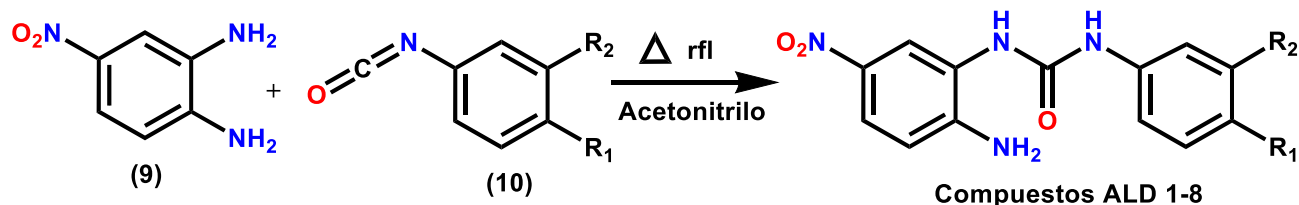


Diagrama. 3 síntesis general de los productos finales ALD 1-8, derivados de 5-nitrofenilurea.

R puede ser :

COMPUESTO	SUSTITUYENTE R ¹	SUSTITUYENTE R ²
ALD-1	H	H
ALD-2	CF ₃	H
ALD-3	NO ₂	H
ALD-4	Cl	H

ALD-5	O-Et	H
ALD-6	F	H
ALD-7	O-Me	H
ALD-8	Cl	CF₃

6.2 Evaluación (*in silico*)

El uso de los programas quimioinformáticos se ha adoptado como parte de un enfoque multidisciplinario para acelerar el descubrimiento de moléculas bioactivas y reducir los costos de investigación. Por lo tanto, en este proyecto se hace uso de diversos programas para calcular las propiedades farmacocinéticas y toxicológicas de las moléculas propuestas, con la finalidad de seleccionar candidatos seguros para su síntesis y posterior evaluación biológica.⁶²

6.2.1 Análisis de consenso farmacológico

El análisis de consenso farmacológico combina los diferentes resultados obtenidos por los programas quimioinformáticos y comprende:

- Predicciones del perfil farmacodinámico
- Predicciones del perfil farmacocinético
- Predicciones del perfil toxicológico

El argumento de este análisis establece que cuantos más cálculos coincidan en que un compuesto será activo, con un perfil farmacocinético adecuado y baja toxicidad, más confiable es la discriminación o selección de un compuesto o serie de compuestos, para que estos últimos tengan mayor probabilidad de presentar efecto biológico. Por lo tanto, los compuestos con las mejores características serán candidatos para su síntesis y su posterior evaluación biológica.⁶²

6.2.2 Predicciones del perfil farmacodinámico

6.2.2.1 Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular o docking es una herramienta que sirve para determinar el posible modo de unión entre un compuesto bioactivo y su receptor. Esto se realiza por medio de un estudio de acoplamiento en donde se aplican modelos computarizados para predecir la mejor orientación de un ligando al unirse al receptor de interés.³⁷ Esta herramienta desempeña un

papel importante en la predicción de la orientación del ligando cuando se une a un receptor de proteína o a una enzima utilizando la forma y las interacciones electrostáticas para cuantificarla.³⁸

El acoplamiento molecular se divide a grandes rasgos en 2 procesos:

1. **Acoplamiento:** donde se pretende encontrar el espacio conformación accesible para el ligando, aquí se busca una conformación que tenga mayor estabilidad del ligando con su receptor.³⁹
2. **Scoring o puntuación:** Se lleva a cabo la evaluación de los resultados que representen una solución calculando la energía de cada complejo proteína-ligando generado, presentando una mayor afinidad del ligando por el receptor aquellos cuyo valor sean más negativos. Este valor está representado en -kcal/mol.³⁹

En este proyecto se hizo uso de los programas Autodock 4.0 y MOE (por sus siglas en inglés *Molecular Operating Environment*) para realizar el estudio de acoplamiento molecular o docking. También se utilizaron programas que permiten visualizar las interacciones de la molécula con el receptor como PyMOL.

6.2.2.1.1 AutoDock

AutoDock es un grupo de herramientas que permiten llevar a cabo el acoplamiento molecular de manera automatizada, dicho programa está diseñado para predecir moléculas pequeñas, como sustratos o candidatos a fármacos que se unen a un receptor de estructura 3D conocida. Autodock es un programa con acceso libre el cual se puede descargar de la web; <http://autodock.scripps.edu/>.⁴⁰

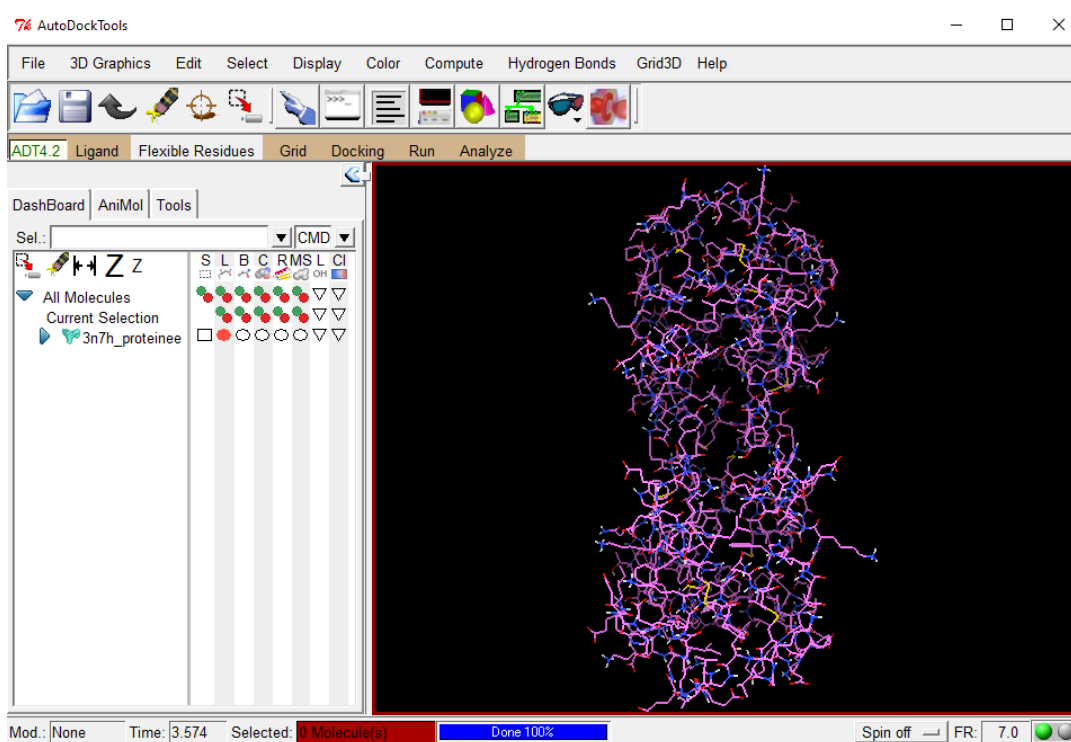


Figura 9. Interfaz del programa Autodock tools.

6.2.2.1.2 Molecular Operating Environment (MOE)

MOE es un software que integra la visualización, el modelado y las simulaciones basado en el descubrimiento de nuevos compuestos con interés farmacológico, el cual requiere de una licencia comercial para su uso y se puede encontrar en su página web: https://www.chemcomp.com/MOEMolecular_Operating_Environment.htm.⁴¹

Este servidor brinda alguna de estas posibilidades:

- Preparación de la proteína y ligando para el uso adecuado en el acoplamiento molecular.
- Estudio de acoplamiento molecular o docking entre proteína y ligando.
- La visualización de las interacciones del complejo proteína-ligando ya sea en 2D o 3D.

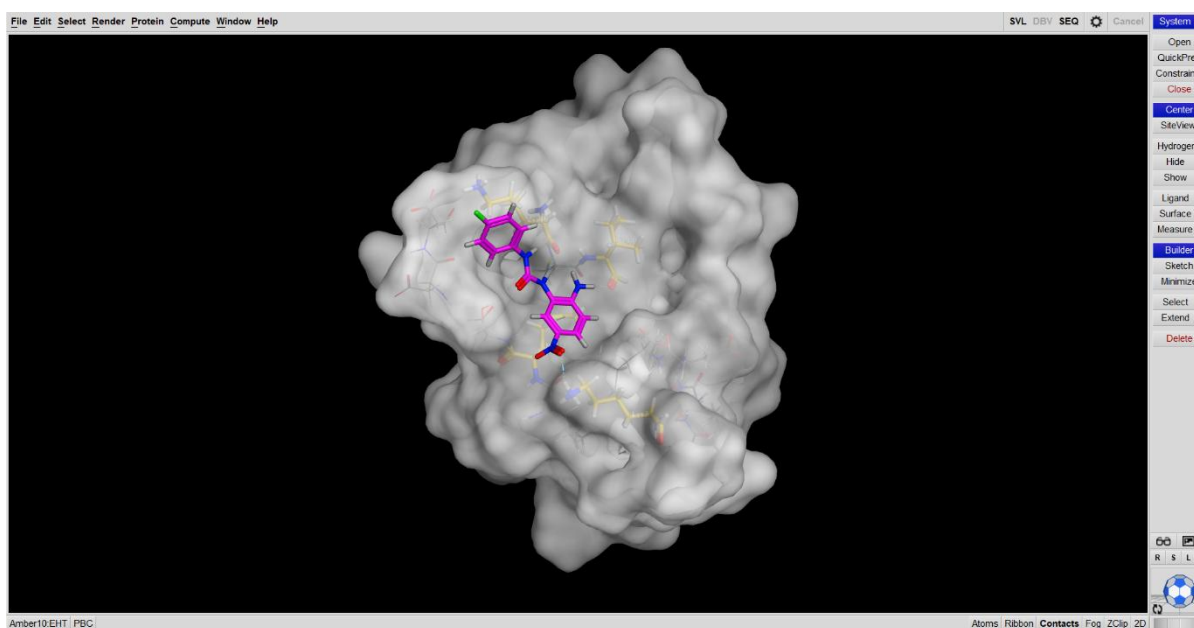


Figura 10. Interfaz del programa MOE.

6.2.2.1.3 Pymol

Es un programa con un sistema de visualización molecular en un código abierto, el cual permite la visualización 3D, de las interacciones presentadas por el complejo ligando-receptor. Existe una versión de acceso libre para la educación que se puede obtener de su página web:

<https://www.pymol.org/pymol>.⁴²

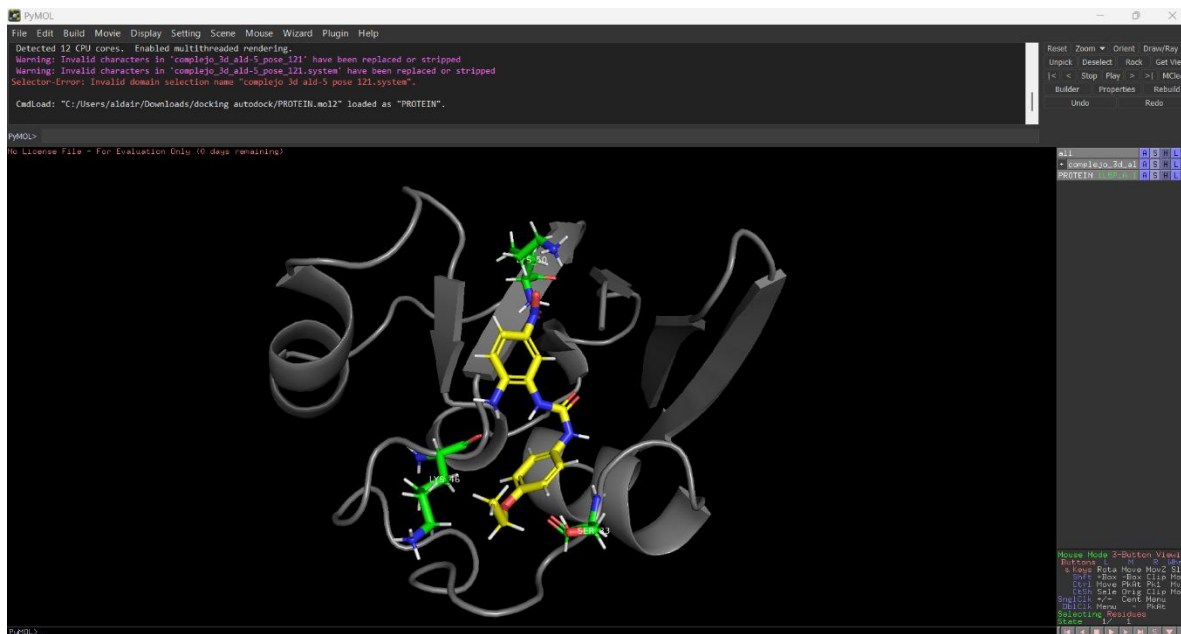


Figura 11. Interfaz del programa PYMOL.

6.2.3 Predicciones del perfil farmacocinético

6.2.3.1 admetSAR 3.0

Las propiedades de absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (ADMET) de los candidatos a fármacos o sustancias químicas ambientales juegan un papel clave en el descubrimiento de fármacos y la evaluación de riesgos ambientales. El servidor de relación estructura-actividad ADMET (admetSAR), es una herramienta para calcular las propiedades ADMET de candidatos a fármacos y productos químicos ambientales.⁴³ El servidor admetSAR es de libre acceso con una interfaz fácil de usar y se puede consultar en la página web <https://lmmd.ecust.edu.cn/admetsar3/predict.php>.

En la **Figura 12** se muestra un ejemplo de una ventana de admetSAR con las propiedades fisicoquímicas del compuesto **ALD-6** dentro de la página.

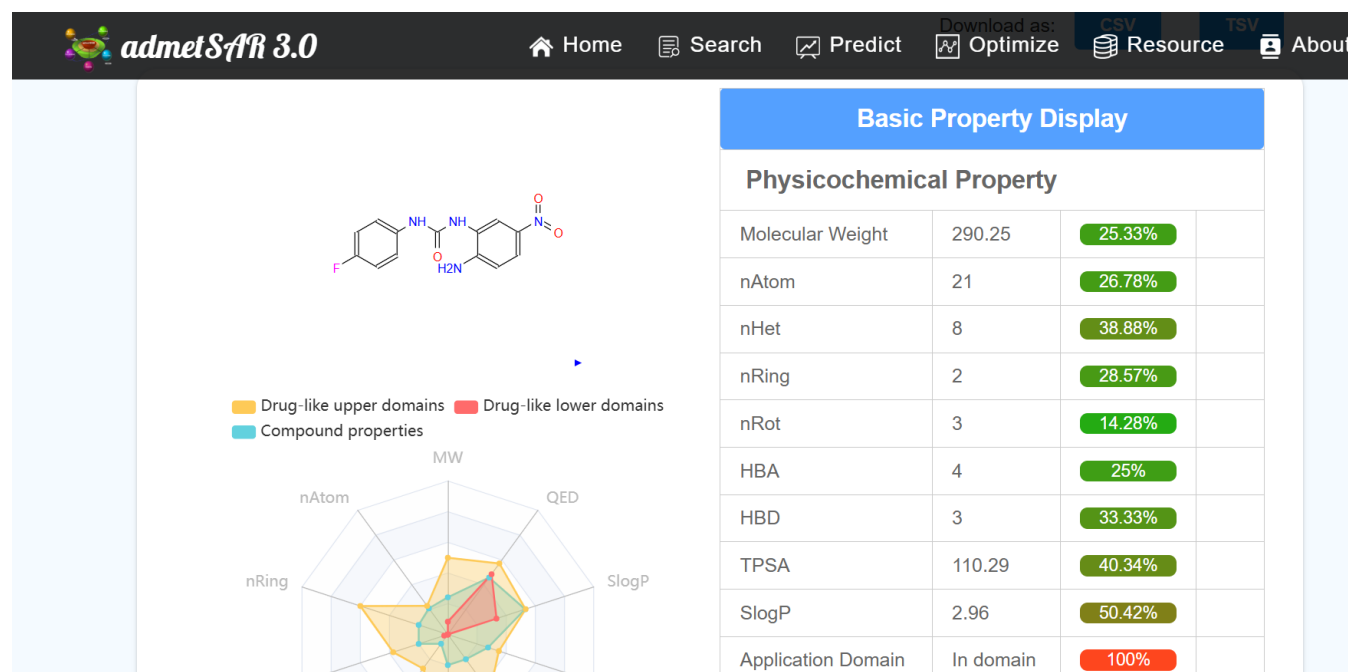


Figura 12. Interfaz del programa admetSAR 3.0

6.2.3.2 Pre-ADMET

Pre-ADMET es un sitio en la web de carácter gratuito y de libre acceso en: <https://preadmet.webservice.bmdrc.org/adme/> esta herramienta evalúa cuatro módulos en los que se incluye; cálculos de descriptores moleculares relacionados a propiedades fisicoquímicas de las moléculas, predicciones de la similitud con fármacos (cuasi-fármaco), evaluación para predecir algunas características farmacocinéticas ADME y toxicológicas.⁴⁴

The screenshot shows the Pre-ADMET website. At the top, there is a header with the logo 'Pre ADMET' on the left. To the right of the logo, contact information is provided: 'Tel: +82-32-212-9550 / Fax: +82-32-212-9572' and 'webmaster@bmdrc.kr'. Below this, the address is listed: '209, Veritas A Hall, Yonsei University 85 Songdogwahak-ro, Yeonsu-gu, Incheon 21983, Republic of Korea'. A navigation bar contains links: 'Home', 'About', 'Druglikeness', 'ADME', 'Toxicity', 'Community', and 'Commercial'. The main content area is titled 'Welcome to the PreADMET'. Below the title, a paragraph describes the application: 'PreADMET is a web-based application for predicting ADME data and building drug-like library using in silico method. PreADMET ver 2.0 is also commercially available in the four editions: Descriptpors, Endpoint, Standard and Professional.' Three main prediction modules are listed with icons: 'Drug-Likeness Prediction' (Lipinski's rule, lead-like rule, Drug DB like rule), 'ADME Prediction' (caco-2, MDCK, BBB, HIA, plasma protein binding and skin permeability data), and 'Toxicity Prediction' (Ames test and rodent carcinogenicity assay). On the right side, there is a 'Lastest News' section with four news items, each with a small thumbnail image and a date: 'G-SFED and Human Nephrotoxicity models will be added in Aug 2017' (January 24, 2017), 'PreADMET Ver 2.1 is coming soon in this month.' (January 9, 2015), '[2008/11] PreADME is one of the most popular sites by Cheminformatics.org.' (November 27, 2008), and '[2008/10] New release of PreADMET v2.0 windows version' (October 27, 2008).

Figura 13. Interfaz de Pre-ADMET.

6.2.3.3 SwissADME

La herramienta web SwissADME permite el cálculo de parámetros clave fisicoquímicos, farmacocinéticos, similares a fármacos y relacionados para una o varias moléculas.⁴⁵

Este sitio es de libre acceso en <http://www.swissadme.ch>. Está pensado para una presentación fácil de usar y un análisis sencillo de los resultados de las moléculas.

Así mismo el portal incluye predicciones sobre cinco modelos diferentes, humano, ratón, rata, vaca y caballo, su base de datos incluye alrededor de 280, 381 moléculas que interactúan con 2, 686 dianas, de las cuales el 66% provienen del humano.⁴⁵

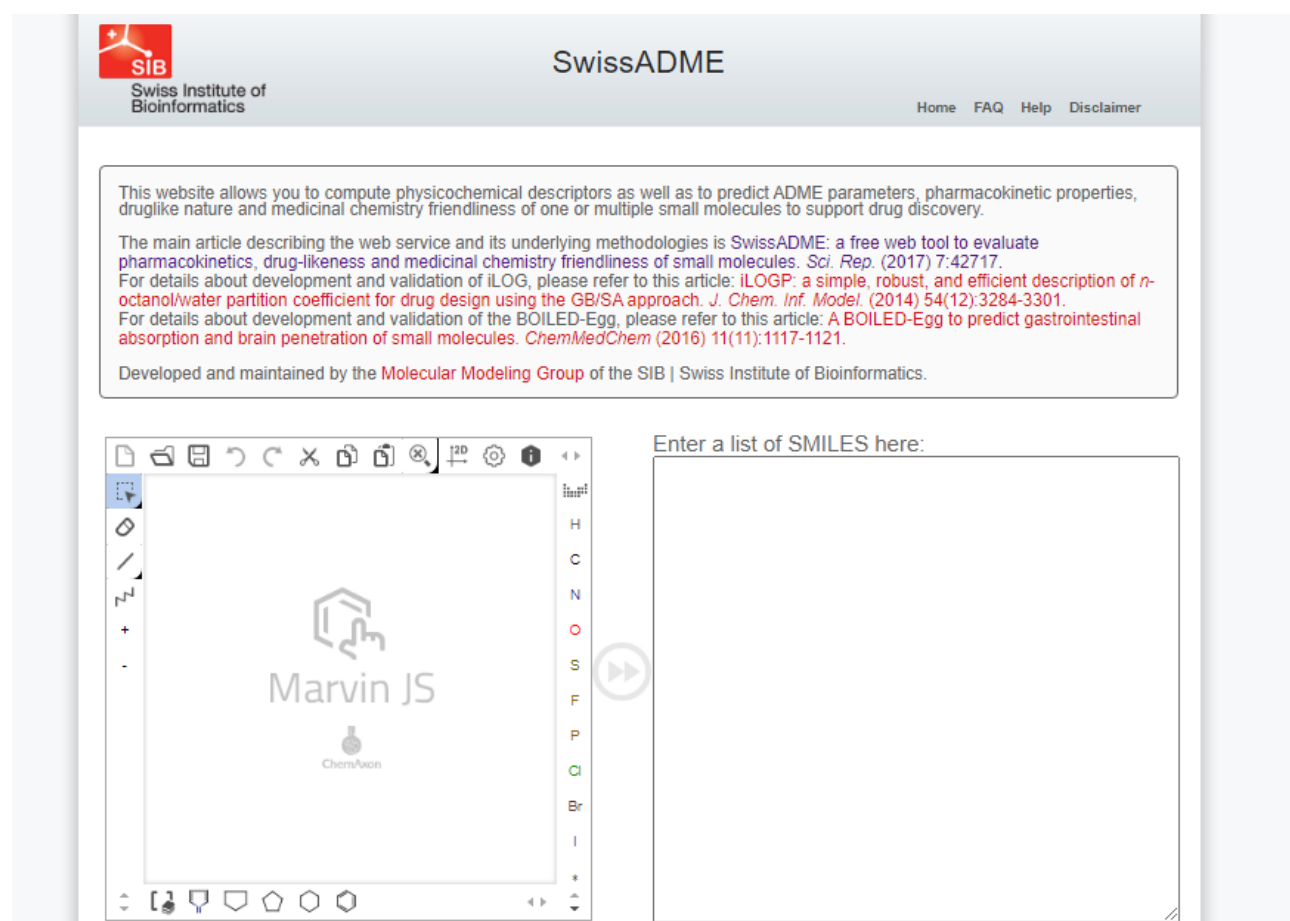


Figura 14. Interfaz del sitio web SwissADME.

6.2.3.4 BioTransformer 3.0 predictor de metabolismo de fase I y II.

El metabolismo de xenobióticos puede darse en dos fases; fase 1 y fase 2. El metabolismo de la fase 1 incluye reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis, que generalmente dan como resultado el aumento de la polaridad del metabolito en comparación con el compuesto inicial o desenmascaran grupos funcionales polares. El metabolismo de la fase 2 consiste en reacciones de conjugación, en el que participan las enzimas pertenecientes principalmente a cinco familias de enzimas: UDP-glucuronosiltransferasas (UGT), glutatión S-transferasas (GST), sulfotransferasas (SULT), *N*-acetiltransferasas (NAT) y metiltransferasas (MT).⁴⁶

BioTransformer 3.0 (**Figura 15**) es un servidor web de acceso libre que predice *in silico* el metabolismo de moléculas pequeñas en distintos entornos: tejidos humanos, microbiota intestinal, así como microbiota ambiental (suelo/agua). Utiliza una base de datos de reacciones ya conocidas, y modelos de aprendizaje automático (machine learning) para predecir reacciones de fase I (CYP450), fase II. El usuario puede ingresar la molécula mediante SMILES o un archivo SDF, y seleccionar el tipo de predicción metabólica. El resultado se presenta como una tabla interactiva con las estructuras predichas de los metabolitos, sus fórmulas, pesos, tipos de reacciones, y las enzimas o procesos responsables.⁴⁷

The screenshot shows the BioTransformer 3.0 web interface. At the top is a red navigation bar with the text 'BioTransformer 3.0' and links for 'Metabolism Prediction', 'About', 'Download', 'Contact', and 'Help'. Below this is a light blue banner featuring the TMIC logo (The Metabolomics Innovation Centre) and the tagline 'Specializing in ready to use metabolomics kits.' The main content area is titled 'Metabolism Prediction' in red. It contains three numbered steps: 1. 'Select a Metabolic Transformation' with a dropdown menu set to 'Phase I (CYP450) Transformation' and a '[help?]' link; 2. 'Select an Input Type' with two options: 'SMILES String' (highlighted in red) and 'Upload SDF File' (in a red-bordered box), separated by 'OR'; 3. 'Number of Reaction Iterations to Calculate*' with a dropdown menu set to '1'. At the bottom of the form are 'Submit' and 'Reset' buttons. A small red text note at the very bottom states: '[Please note that there is a restriction for at most 10 posts per minute and the query]'. The 'CYP450 Mode' is also set to 'Combined' with a '[help?]' link.

Figura 15. Interfaz del programa Bio Transformer 3.0

6.2.3.5 ADMETlab 3.0

Este es un servicio gratuito en la web, diseñado para la predicción *in silico* de posibles sitios de metabolismo de moléculas. La predicción de sitios de transformación metabólica abarca hasta nueve clases de reacciones: hidroxilación alifática, hidroxilación aromática, C-oxidación, N-oxidación, S-oxidación, N-glucuronidación, O-glucuronidación, N-desalquilación y la O-desalquilación.⁴⁸

Este proceso de predicción se basa en la tecnología PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances), creado sobre la base de las principales clases de reacciones de biotransformación, mediadas por cinco isoformas del citocromo P450 y por todas las isoformas de la familia UDP-glucuronosiltransferasa.

En la **Figura 16** se presenta el interfaz del servidor ADMETlab 3.0.⁴⁸

Enter a single SMILES string

Draw a molecule

SMILES

Reset Submit

Example

Tips:

- In case of errors, users should verify the accuracy of the SMILES before submission.
- Molecules composed of more than 128 atoms are not recommended for evaluation.

ABOUT
This website provides easy access to comprehensive, accurate and efficient prediction of ADMET profiles for chemicals. The prediction is founded on a high-quality database of 0.37M entries spanning 77 endpoints and Directed Message Passing Neural Network (DMPNN) framework.

QUICK LINKS
Contact Us
CBDD Group
166,856 Pageviews
Oct. 18th - Nov. 18th

DEV TOOL
Python RDKit dj Flask
E-mail: oriental-cds@163.com

Figura 16. Interfaz del servidor ADMETlab 3.0

6.2.3.6 ADMET-IA

Es una plataforma gratuita en línea que permite predecir propiedades clave de moléculas absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (ADMET) con modelos de aprendizaje automático. Entre otras virtudes, ADMET-AI destaca por ser hasta donde se sabe públicamente el predictor ADMET basado en web más rápido disponible, con una reducción de ~45 % en tiempo respecto a otros servidores públicos. La herramienta ofrece interfaz web fácil de usar: puedes ingresar moléculas mediante SMILES, archivo CSV o dibujarlas, hasta mil moléculas por corrida. Los resultados se presentan comparando cada molécula con un conjunto de ~2,579 fármacos aprobados del DrugBank, lo que ayuda a contextualizar qué tan “prometedora” es la molécula en cuanto a ADMET. En conjunto, ADMET-AI representa una herramienta poderosa, eficiente y accesible para quienes trabajan en descubrimiento de fármacos: acelera la priorización de compuestos con perfil ADMET favorable.⁴⁹

**ADMET-IA** ADMET-AI es una interfaz web simple, rápida y precisa para predecir las propiedades de absorción , distribución , metabolismo , excreción y toxicidad (ADMET) de las moléculas utilizando modelos de aprendizaje automático.

▼ Fondo

▼ Usar

▼ Predicción local

Predecir

Ingrese hasta **1000** moléculas para realizar predicciones ADMET.

Entrada de texto Subir archivo Dibujar molécula Ejemplo

SONRISAS (una por línea)

SONRISAS

Referencia de DrugBank

Cree un conjunto de referencia de DrugBank para proporcionar contexto para las predicciones de ADMET.

Elija un código [anatómico terapéutico químico \(ATC\)](#) para seleccionar un subconjunto de medicamentos aprobados por DrugBank o elija "todos" para todos los medicamentos aprobados.

El código ATC seleccionado " **all** " incluye **2.579** moléculas.

Selecione el código ATC

Figura 17. Interfaz del servidor ADMET-IA.

6.2.4 Predicciones del perfil toxicológico

6.2.4.1 OSIRIS Property Explorer

El explorador de propiedades de OSIRIS permite dibujar estructuras químicas y calcula sobre la marcha varias propiedades relevantes para fármacos siempre que una estructura sea válida. Los resultados de la predicción se valoran y codifican por colores. Las propiedades con alto riesgo de efectos no deseados como mutagenicidad o mala absorción intestinal se muestran en rojo. Mientras que un color verde indica un comportamiento de conformidad con los fármacos.⁵⁰

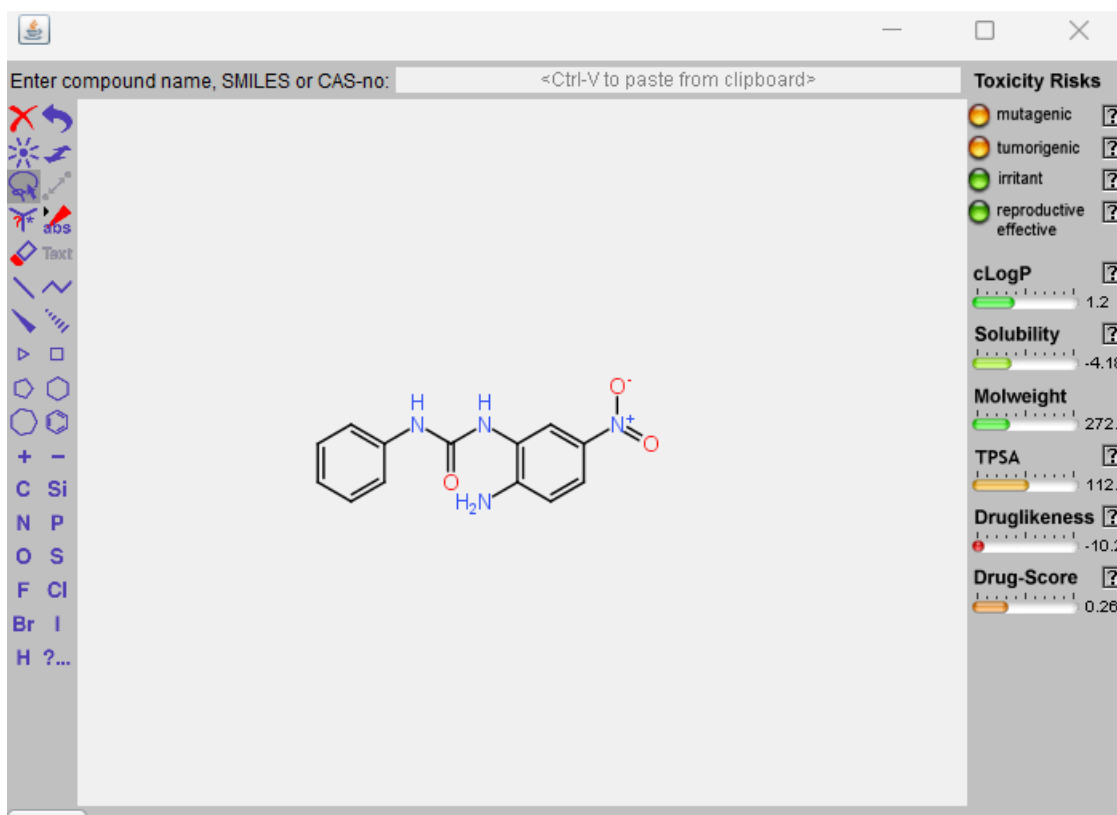


Figura 18. Interfaz del servidor OSIRIS.

6.2.4.2 ACD/Tox Suite

Este es un software para la predicción de criterios de toxicidad a partir de la estructura química. ACD / Tox Suite es una colección de módulos de software que predice probabilidades de criterios de valoración básicos de toxicidad. Se personaliza su conjunto de predicciones eligiendo entre varios módulos que incluyen inhibición de canales hERG, inhibición de CYP3A4, genotoxicidad y toxicidad aguda. Las predicciones se hacen a partir de la estructura química y se basan en grandes bases de datos validadas y modelos QSAR, en combinación con conocimientos de química orgánica y toxicología.⁵¹

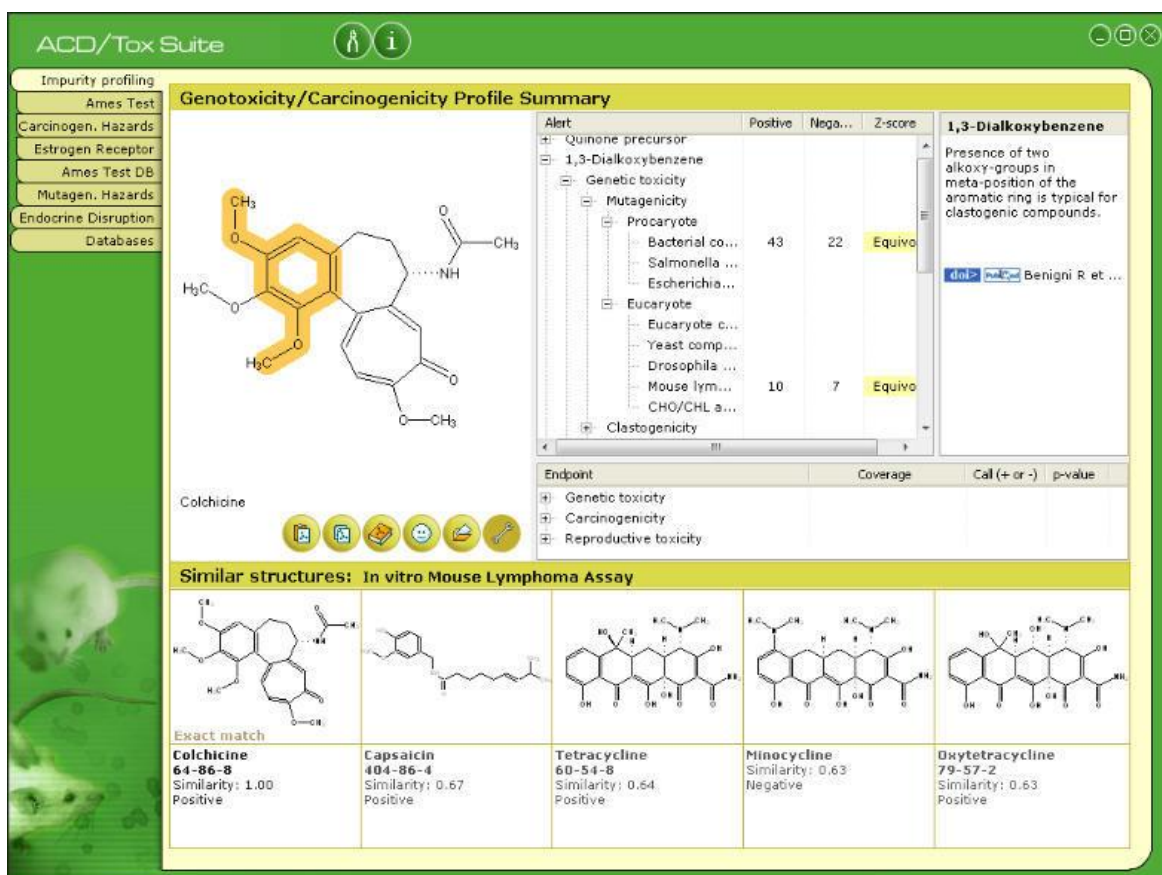


Figura 19. Interfaz del programa ACD/TOXsuite.

6.3 Parte biológica

6.3.1 Pruebas de susceptibilidad *in vitro* contra *T. vaginalis* y *G. intestinalis*.

Los ensayos para la determinación de la actividad antiprotozoaria se realizarán en colaboración con el Doctor Saúl Gómez Manzo del Instituto Nacional de Pediatría y la Doctora Beatriz Hernández Ochoa del Hospital Infantil de México “Federico Gómez”.

Se empleó el método de subcultivos previamente estandarizado. Los compuestos **ALD 1-8** se incubaron a una concentración final de 25 μM en presencia de 2.6×10^5 trofozoítos/mL en el medio TYM durante 24 horas a 37 °C. La actividad anti-trichomonas se evaluó en tubos de 1,5 mL, donde se trataron $2,6 \times 10^5$ trofozoítos/mL con concentraciones crecientes (0–10 μM) de los compuestos **ALD 1-8**. Los tubos se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Después, se utilizaron las pruebas de exclusión de colorantes con tripán azul y el ensayo XTT para evaluar la viabilidad. Se usaron tres controles para cada compuesto: (1) un control negativo que contenía solo trofozoítos, (2) un control negativo que usaba DMSO al 0,06%, y (3) un control positivo usando Albendazol como referencia. El porcentaje de inhibición de crecimiento se determinó en comparación con el control, y posteriormente, mediante análisis Probit se calculó la CI_{50} correspondiente a la concentración que inhiba el 50% del crecimiento de los trofozoítos. Los experimentos se llevaron a cabo por triplicado.⁵²

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

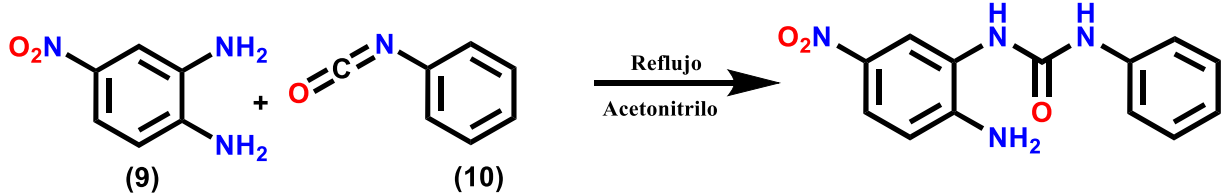
7.1 Síntesis química

En este apartado se describe la metodología utilizada en la síntesis de los compuestos finales, los cuales se obtienen en una reacción de un solo paso. Por otro lado, se muestran las características físicas y los rendimientos obtenidos para los compuestos sintetizados. Finalmente, seguida con la caracterización estructural de estos compuestos, a partir de la RMN ^1H y ^{13}C .

7.1.1 Síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-fenilurea (**ALD-1**)

Para la síntesis del compuesto **ALD-1** se hizo reaccionar la 4-nitrobenceno-1,2-diamina (9) y isocianato de fenilo (10) utilizando acetonitrilo como disolvente a temperatura de reflujo. El rendimiento puro obtenido de este compuesto fue de 52% (**Tabla 2**).

Tabla 3. Características fisicoquímicas del compuesto **ALD-1**

				
Compuesto	Tiempo de reacción	Rendimiento puro	Punto de fusión °C	Aspecto físico
ALD-1	7 h	52 %	>280	Sólido amarillo

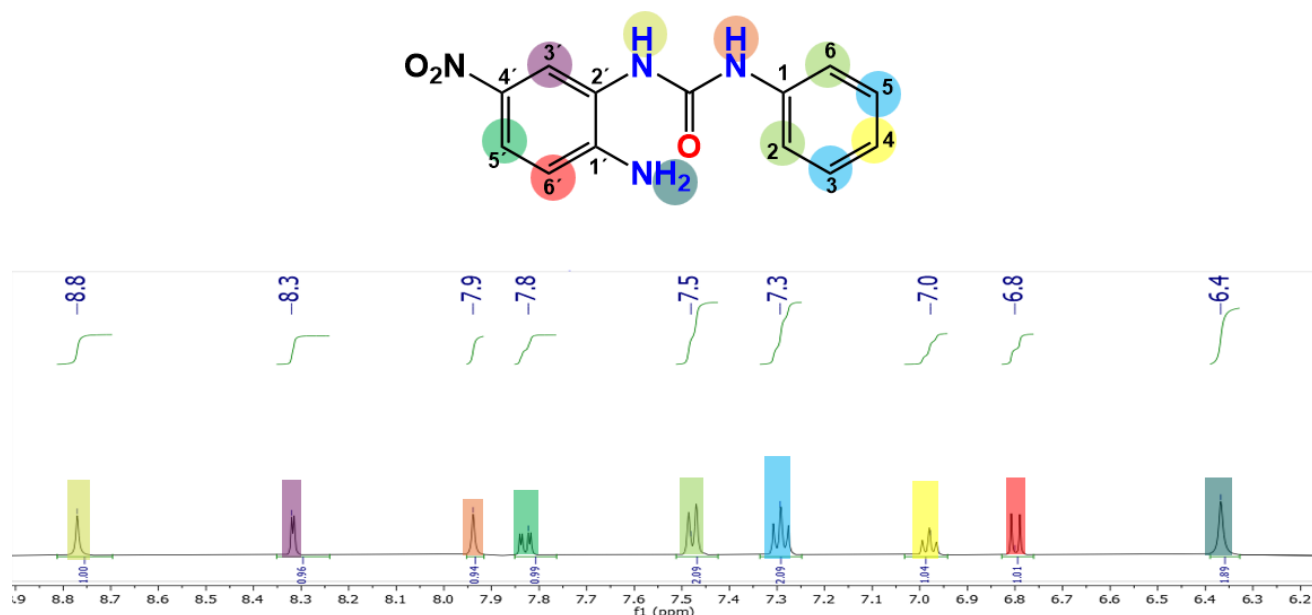


Figura 20. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **ALD-1**.

En el espectro de protón podemos observar un singlete a 6.4 ppm que integra para 2 hidrógenos de la amina del anillo 2 de benceno. A 6.8 ppm se observa un doblete que integra para un hidrógeno de la posición 6' del anillo 2 de benceno. A 7.0 ppm se observa un triplete que integra para un hidrogeno que corresponde al hidrógeno de la posición 4 del anillo 1 de benceno. A 7.3 ppm se observa un triplete que integra para dos hidrógenos en la posición 3 y 5 del anillo de 1 de benceno. A 7.5 ppm se observa un doblete que integra para dos hidrógenos de la posición 2 y 6 del anillo 1 de benceno. A 7.8 ppm se puede ver un doble de dobles que integra para un protón de la posición 1 del anillo 2 de benceno con una constante de acoplamiento orto de 9.0 Hz. A 7.9 ppm se observa un singlete que corresponde a una amina de la urea vecina al anillo 1 de benceno. A 8.3 se puede observar un doblete que pertenece al hidrógeno de la posición 3' del anillo 2 de benceno. Por último, a 8.8 ppm se observa un singlete que integra para un hidrógeno de la amina de la urea del anillo 2 de benceno sustituido con el grupo nitro.

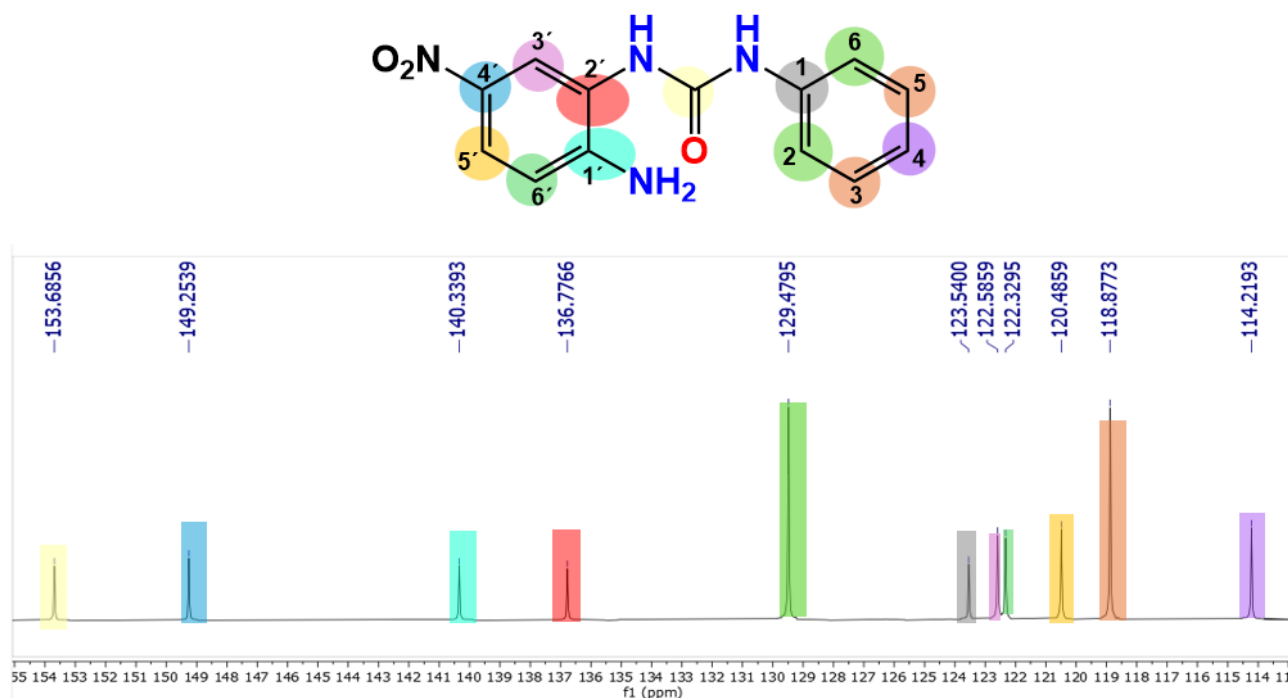


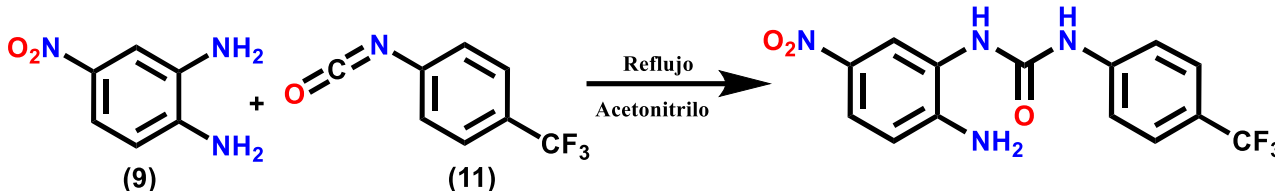
Figura 21. espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **ALD-1**.

En el espectro de ^{13}C del compuesto **ALD-1** podemos observar una señal a 114.2 ppm una señal del carbono de la posición 4 del anillo 1 de benceno, a 118.8 ppm se observa la señal de los carbonos de la posición 3 y 5 del anillo 1 de benceno, a 120.4 se observa una señal del carbono de la posición 5' del anillo 2 de benceno, a 122.3 ppm se observa una señal del carbono de la posición 6' del anillo 2 de benceno, a 122.5 ppm se observa la señal del carbono de la posición 3' del anillo 2 de benceno, a 123.5 ppm se observa la señal del carbono cuaternario de la posición 1 del anillo 1 de benceno, a 129.4 ppm se encuentra una señal del carbono de la posición 2 y 6 del anillo 1 de benceno, a 136.7 ppm se observa una pequeña señal de un carbono cuaternario de la posición 2', a 140.3 ppm se puede observar una señal del carbono de la posición 1' del anillo 2 de benceno, a 149.5 se observa una señal del carbono ipso de la posición 4' de anillo 2 de benceno, por último se puede observar a 153.6 ppm una señal característica de carbono de un grupo carbonilo.

7.1.2 Síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-(trifluorometil)fenil)urea (**ALD-2**)

Para la síntesis del compuesto **ALD-2** se hizo reaccionar la 4-nitrobenceno-1,2-diamina (9) y Isocianato de 4-(trifluorometil) fenilo (11) utilizando acetonitrilo como disolvente a temperatura de reflujo. El rendimiento puro obtenido de este compuesto fue de 65% (**Tabla 3**).

Tabla 4. Características fisicoquímicas del compuesto **ALD-2**

				
Compuesto	Tiempo de reacción	Rendimiento puro	Punto de fusión °C	Aspecto físico
ALD-2	8 h	65 %	222-225	Sólido amarillo

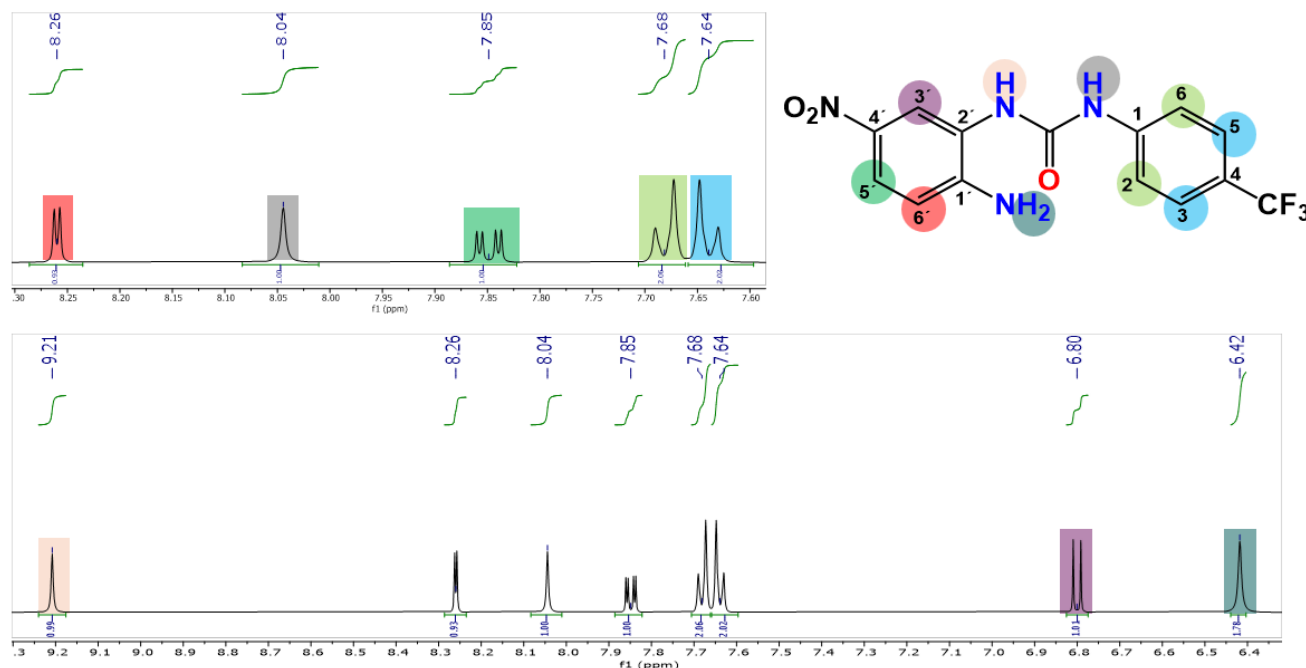


Figura 22. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **ALD-2**.

En el espectro de protón podemos observar un singlete a 6.42 ppm que integra para 2 hidrógenos de la amina del anillo 2 de benceno. A 6.8 ppm se observa un doblete que integra para 1 hidrógeno de la posición 3' del anillo 2. A 7.64 ppm se observa un doblete que integra para dos hidrógenos de la posición 3 y 5 del anillo 1 de benceno. A 7.68 ppm se observa un doblete que integra para dos hidrógenos en la posición 2 y 5 del anillo de 1 de benceno. A 7.85 ppm se observa un doble de dobles que integra para un hidrógeno de la posición 5' del anillo 1 de benceno. A 8.0 ppm se observa un singlete que integra para un hidrógeno de la amina unida al anillo 1 de benceno. A 8.26 ppm aparece un doblete que integra para un hidrógeno de la posición 6' del anillo 2 de benceno. Por último, se observa a 9.21 ppm una señal de un singlete que integra para un hidrógeno de la amina de la urea de la posición 2' unida al anillo 2 de benceno.

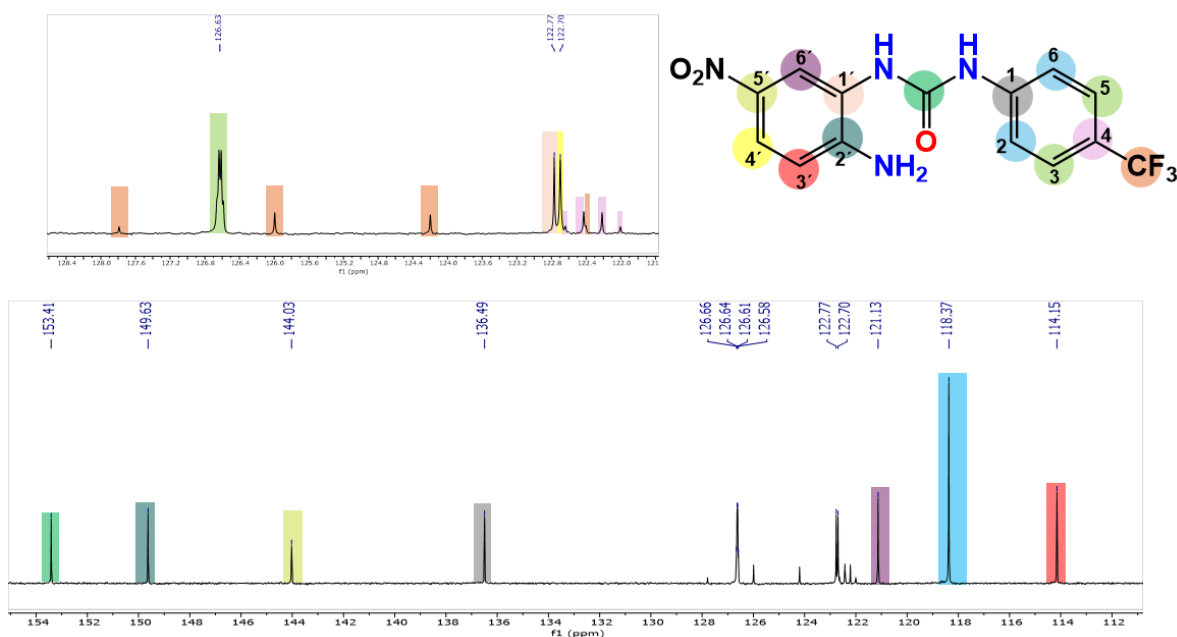


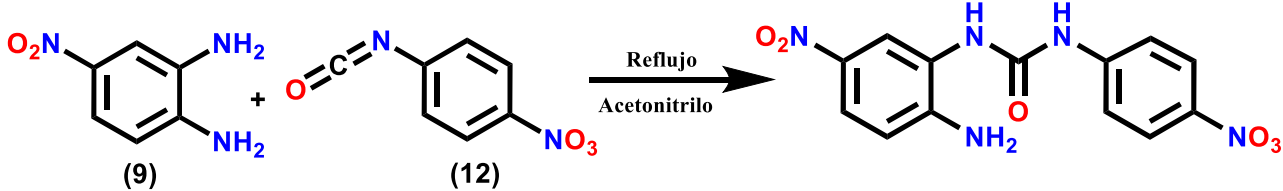
Figura 23. espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **ALD-2**.

En el espectro de ^{13}C del compuesto **ALD-2** podemos observar una señal a 114.1 ppm una señal del carbono de la posición 3' del anillo 2 de benceno, a 118.3 ppm se observa una señal de los carbonos de la posición 2 y 6, a 122.3 ppm se observa un cuarteto del carbono de la posición 4 del anillo 2 de benceno con constante de acoplamiento de 31.96 Hz, a 122.70 ppm se observa una señal del carbono de la posición 4', a 122.77 ppm se observa una señal del carbono de la posición 1', a 125.1 ppm se observa un cuarteto del CF_3 con constante de acoplamiento de 269.32 Hz, a 126.63 ppm se observa un cuarteto de los carbonos de la posición 3 y 5 del anillo de benceno con constante de acoplamiento de 3.85 Hz, a 136.49 ppm se observa una señal del carbono de la posición 1, a 144.03 ppm se observa una señal del carbono de la posición 5', a 149.63 ppm se observa una señal del carbono de la posición 2' unida al grupo amino y por último, se puede observar una señal a 153.4 ppm una señal característica del carbono del carbonilo en este caso de la urea.

7.1.3 Síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-nitrofenil) urea (**ALD-3**)

Para la síntesis del compuesto **ALD-3** se hizo reaccionar la 4-nitrobenceno-1,2-diamina (9) y isocianato de 4-nitrofenilo (12) utilizando acetonitrilo como disolvente a temperatura de reflujo. El rendimiento puro obtenido de este compuesto fue de 51 % (**Tabla 4**).

Tabla 5. Características fisicoquímicas del compuesto **ALD-3**

				
Compuesto	Tiempo de reacción	Rendimiento puro	Punto de fusión °C	Aspecto físico
ALD-3	9 h	51 %	231-233	Sólido amarillo

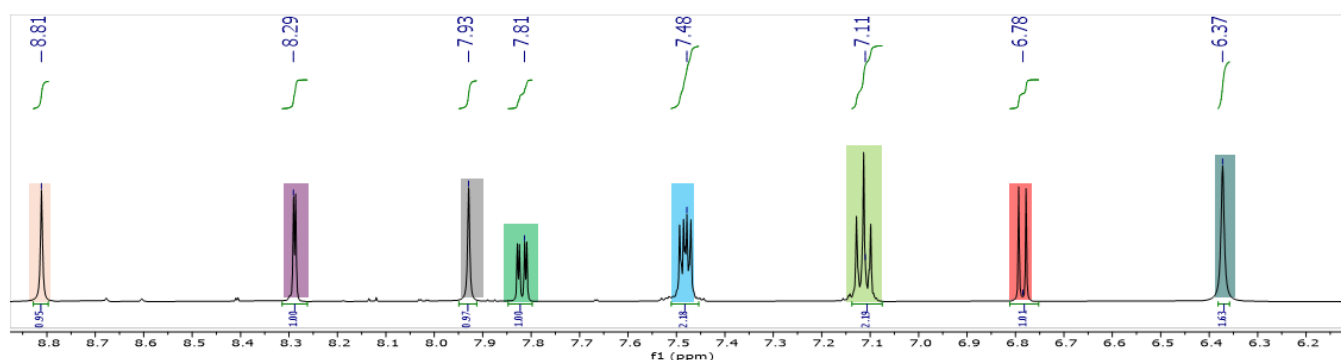
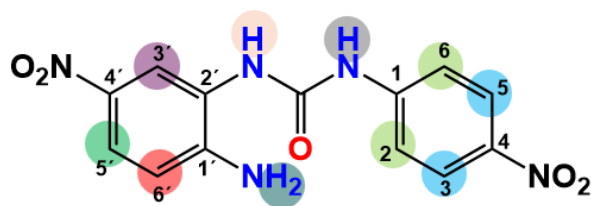


Figura 24. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **ALD-3**.

En el espectro de protón podemos observar un singulete a 6.31 ppm que integra para 2 hidrógenos de la amina del anillo 2 de benceno. A 6.78 ppm se observa un doblete que integra para 1 hidrogeno de la posición 6' del anillo 2. A 7.11 ppm se observa un td que integra para dos hidrógenos de la posición 2 y 6 del anillo 1 de benceno. A 7.48 ppm se observa un qd que integra para dos hidrógenos en la posición 3 y 5 del anillo de 1 de benceno. A 7.81 ppm se observa un doble de doble que integra para un hidrógeno de la posición 5' del anillo 1 de benceno. A 7.93 ppm se observa una señal de un singulete que integra para un protón de la amina unida al anillo 1 de benceno. A 8.29 ppm una señal de doblete que integra para un

hidrógeno de la posición 3' del anillo 2 de benceno. Por último, se observa una señal de un singulete que integra para un hidrogeno de la amina de la urea unida al anillo 2 de benceno.

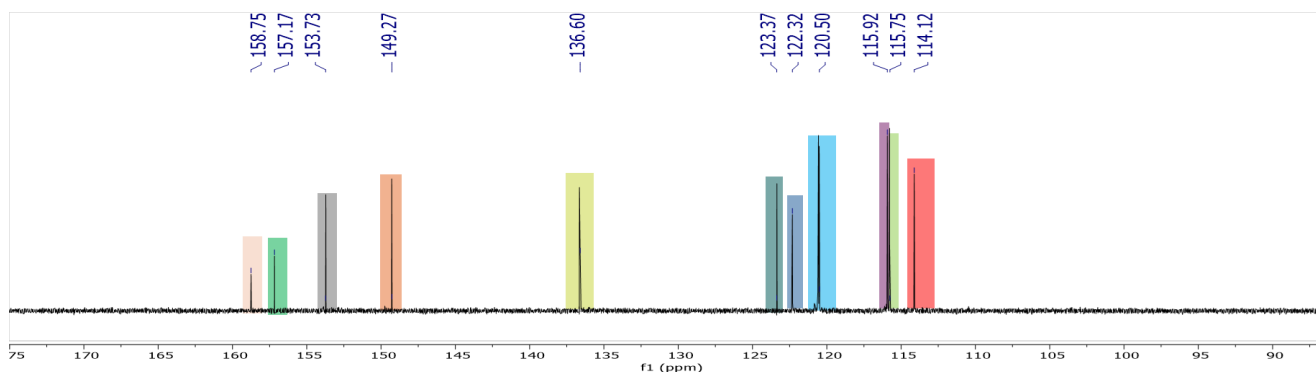
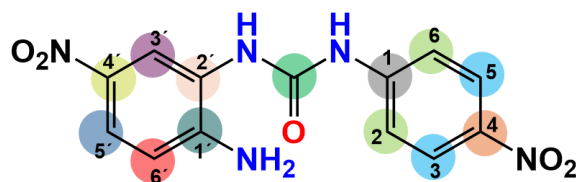


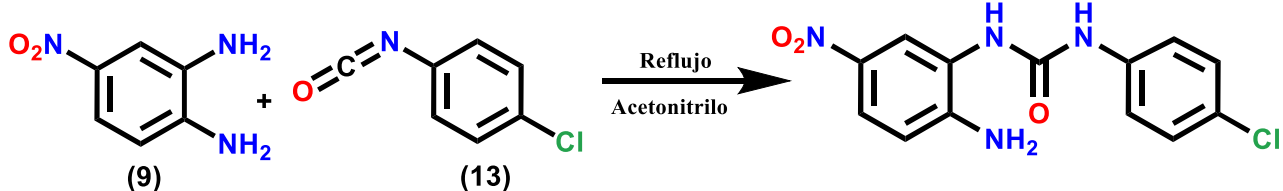
Figura 25. espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **ALD-3**

En el espectro de ^{13}C del compuesto **ALD-3** podemos observar una señal a 114.12 ppm una señal del carbono de la posición 6' del anillo 2 de benceno, a 115.75 ppm se observa una señal de los carbonos de la posición 2 y 6, a 115.92 ppm se observa una señal del carbono de la posición 3' del anillo 2 de benceno, a 120.50 ppm se observa una señal de los carbonos de la posición 3 y 5, a 122.32 ppm se observa una señal del carbono de la posición 5', a 123.37 ppm se observa una señal del carbono de la posición 1', a 136.60 ppm se observa una señal del carbono de la posición 4', a 149.27 ppm se observa una señal del carbono de la posición 4 unida al grupo nitro, a 153.73 ppm se observa una señal del carbono de la posición 1, se puede observar una señal a 153.4 ppm una señal característica del carbono del carbonilo en este caso de la urea y por último, a 158.75 ppm se observa una señal del carbono de la posición 2'.

7.1.4 Síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-clorofenil) urea (**ALD-4**)

Para la síntesis del compuesto **ALD-4** se hizo reaccionar la 4-nitrobenceno-1,2-diamina (9) y isocianato de 4-clorofenilo (13) utilizando acetonitrilo como disolvente a temperatura de reflujo. El rendimiento puro obtenido de este compuesto fue de 51% (**Tabla 5**).

Tabla 6. Características fisicoquímicas del compuesto **ALD-4**

				
Compuesto	Tiempo de reacción	Rendimiento puro	Punto de fusión °C	Aspecto físico
ALD-4	9 h	51 %	218-219	Sólido amarillo

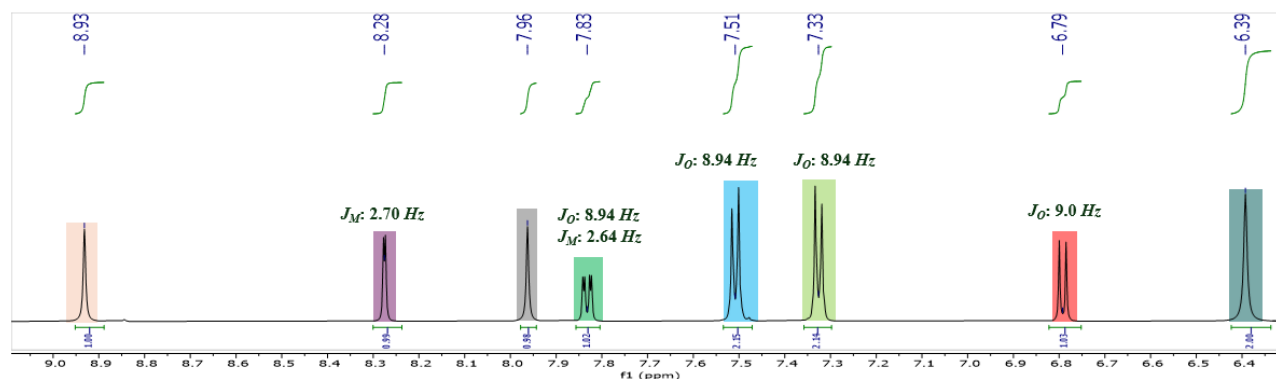
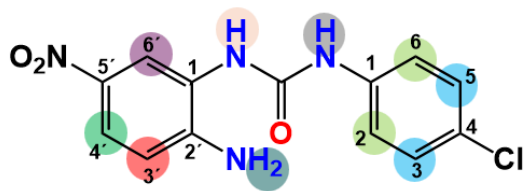


Figura 26. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **ALD-4**

En el espectro de protón podemos observar un singlete a 6.39 ppm que integra para 2 hidrógenos de la amina del anillo 2 de benceno. A 6.79 ppm se observa un doblete que integra para 1 hidrógeno de la posición 3' del anillo 2. A 7.33 ppm se observa un doblete que integra para dos hidrógenos de la posición 2 y 6 del anillo 1 de benceno. A 7.51 ppm se observa un doblete que integra para dos hidrógenos en la posición 3 y 5 del anillo de 1 de benceno. A 7.83 ppm se observa un doble de doble que integra para un hidrógeno de la posición 4' del anillo 1 de benceno. A 7.96 ppm se observa una señal de un singlete que integra para un hidrógeno de la amina unida al anillo 1 de benceno. A 8.28 ppm una señal de doblete que integra para un hidrógeno de la posición 6' del anillo 2 de benceno. Por último, se observa una señal a 8.93 ppm de un singlete que integra para un hidrógeno de la amina de la urea unida al anillo 2 de benceno.

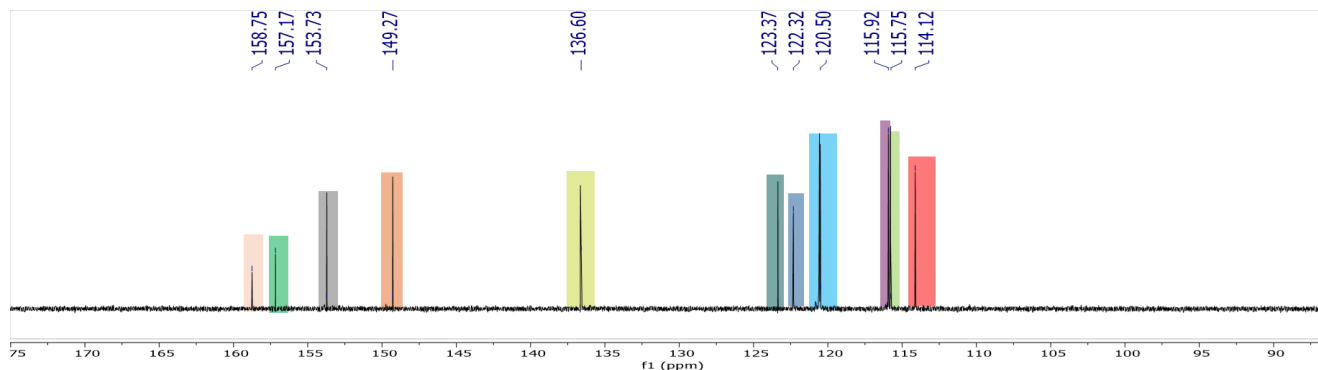
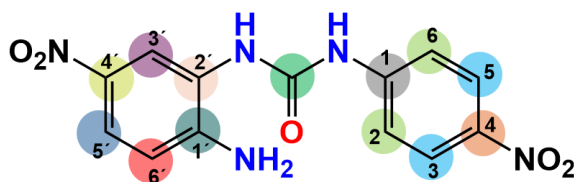


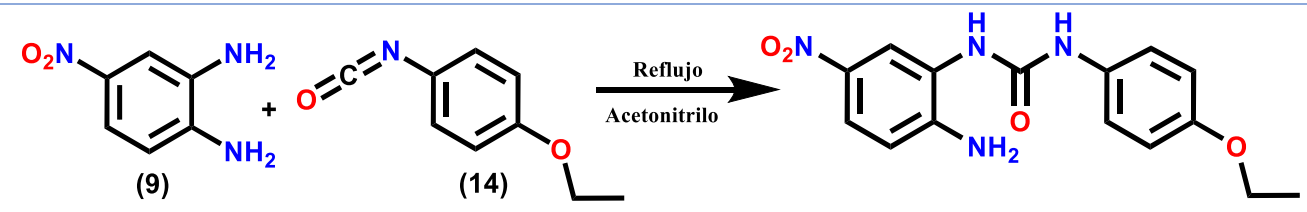
Figura 27. espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **ALD-4**.

En el espectro de ^{13}C del compuesto **ALD-4** podemos observar una señal a 114.12 ppm una señal del carbono de la posición 6' del anillo 2 de benceno, a 115.75 ppm se observa una señal de los carbonos de la posición 2 y 6, a 115.92 ppm se observa una señal del carbono de la posición 3' del anillo 2 de benceno, a 120.50 ppm se observa una señal de los carbonos de la posición 3 y 5, a 122.32 ppm se observa una señal del carbono de la posición 5', a 123.37 ppm se observa una señal del carbono de la posición 1', a 136.60 ppm se observa una señal del carbono de la posición 4', a 149.27 ppm se observa una señal del carbono de la posición 4 unida al grupo nitro, a 153.73 ppm se observa una señal del carbono de la posición 1, se puede observar una señal a 153.4 ppm una señal característica del carbono del carbonilo en este caso de la urea y por último, a 158.75 ppm se observa una señal del carbono de la posición 2'.

7.1.5 Síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-etoxifenil) urea (**ALD-5**)

Para la síntesis del compuesto **ALD-5** se hizo reaccionar la 4-nitrobenceno-1,2-diamina (9) y isocianato de 4-etoxifenilo (14) utilizando acetonitrilo como disolvente a temperatura de reflujo. El rendimiento puro obtenido de este compuesto fue de 50 % (**Tabla 6**).

Tabla 7. Características fisicoquímicas del compuesto **ALD-5**

				
Compuesto	Tiempo de reacción	Rendimiento puro	Punto de fusión °C	Aspecto físico
ALD-5	9 h	50 %	197- 199	Solido amarillo

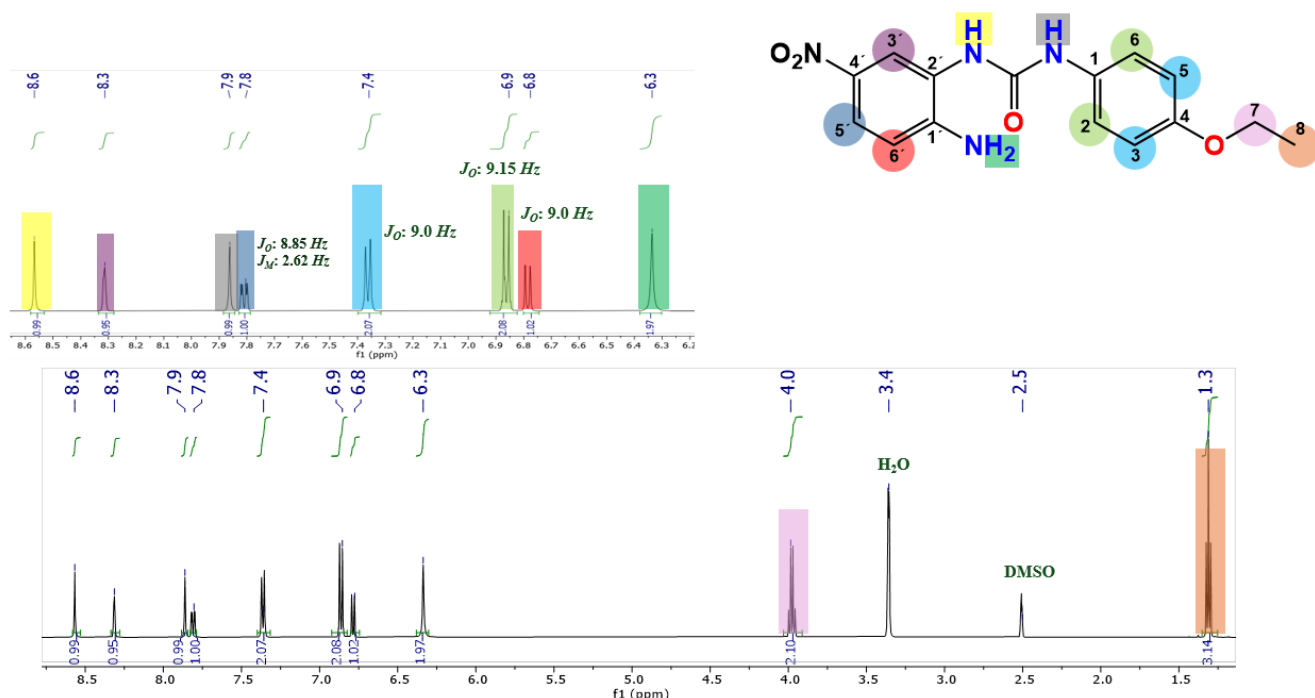
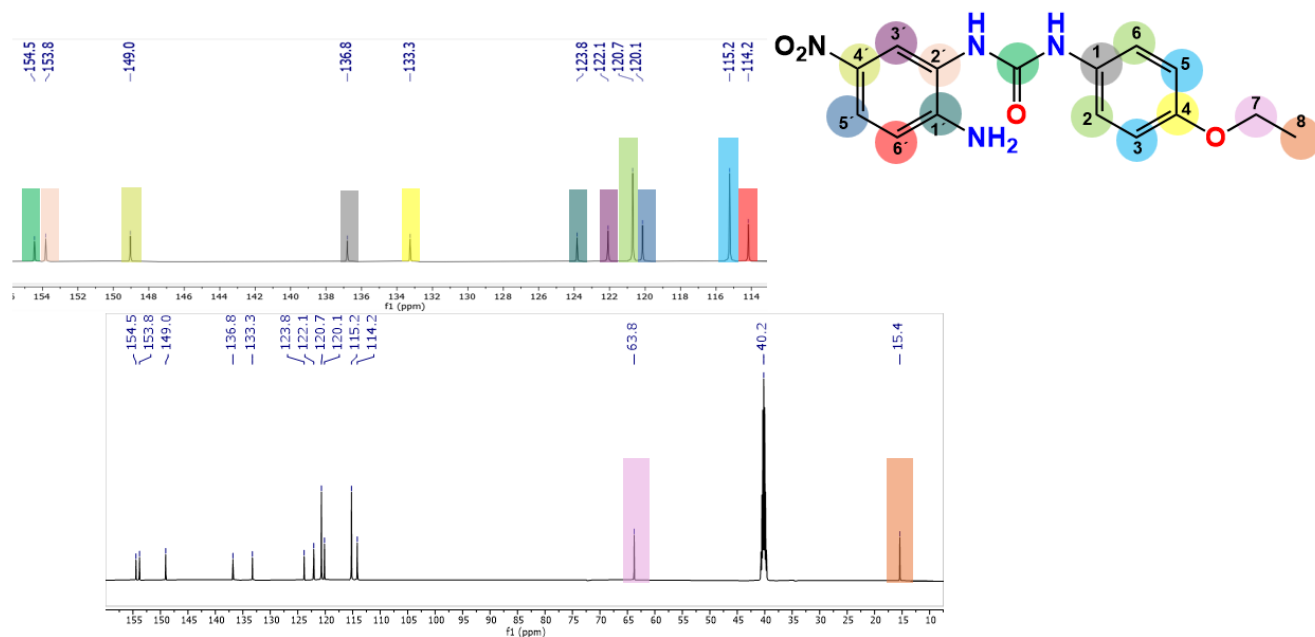


Figura 28. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, DMSO-d₆) del compuesto **ALD-5**.

En el espectro de protón podemos observar un singulete a 1.3 ppm que integra para 3 hidrógenos de la posición 8. A 4.0 ppm se observa un cuarteto que integra para dos hidrógenos de la posición 7 del metileno. A 6.3 ppm se observa un singulete que integra para dos hidrógenos que correspondería a la amina del anillo 2 de benceno. A 6.8 ppm se observa un doblete que integra para un hidrógeno en la posición 3' del anillo de 2 de benceno con una constante de acoplamiento orto de 9.0 *Hz*. A 6.9 ppm se observa un doblete que integra para dos hidrógenos de la posición 2 y 6 del anillo 1 de benceno con una constante de acoplamiento orto de 9.15 *Hz*. A 7.4 ppm se puede ver un doblete que integra para dos hidrógenos de las posiciones 3 y 5 del anillo del anillo 1 de benceno con una constante de acoplamiento orto de 9.0 *Hz*. A 7.8 ppm se observa un doble de dobles del hidrógeno de la posición 5' del anillo 2 de benceno con constantes de acoplamiento orto de 8.85 *Hz* y meta de 2.65 *Hz*. A 7.9 se puede observar un singulete que pertenece a la amina de la urea. A 8.3 ppm se tiene un doblete que integra para un hidrógeno de la posición 3' del anillo 2 de benceno sustituido con el grupo nitro. Por último, a 8.6 ppm se observa un singulete que integra para un hidrógeno de la amina de la urea del anillo 2 de benceno sustituido con el grupo nitro.

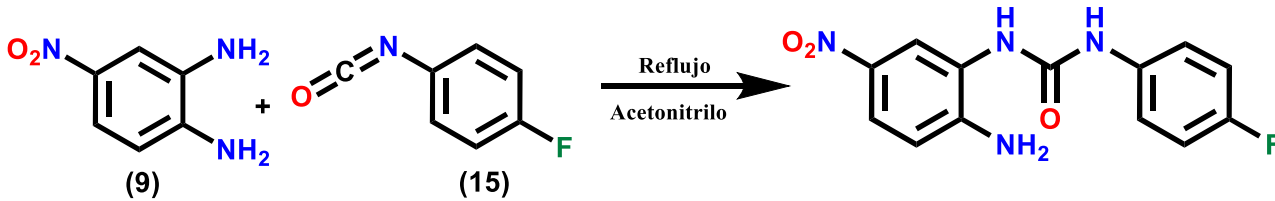


En el espectro de ^{13}C del compuesto **ALD-5** podemos observar una señal a 15 ppm del carbono de la posición 8 perteneciente al metilo terminal, a 63.8 ppm una señal del carbono de la posición 7 del metileno, a 114.2 ppm una señal del carbono de la posición 6' del anillo 2 de benceno sustituido con el grupo nitro, a 115.2 ppm se observa la señal de los carbonos de la posición 3 y 5 del anillo 1 de benceno, a 120.1 se observa una señal del carbono de la posición 5' del anillo 2 de benceno, a 120.7 ppm se observa una señal del carbono de la posición 2 y 6 del anillo 1 de benceno, a 122.1 ppm se observa la señal del carbono de la posición 3' del anillo 2 de benceno, a 123.8 ppm se observa la señal del carbono cuaternario de la posición 1' del anillo 2 de benceno, a 133.3 ppm se encuentra una señal del carbono cuaternario de la posición 4 del anillo 1 de benceno, a 136.8 ppm se observa una pequeña señal de un carbono cuaternario de la posición 1, a 149 ppm se puede observar una señal del carbono de la posición 4' que esta sustituido con el grupo nitro, a 153.8 se observa una señal del carbono ipso de la posición 2' de anillo 2 de benceno, por último se puede observar a 154.5 ppm una señal característica de carbono de un grupo carbonilo.

7.1.6 Síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-fluorofenil) urea (**ALD-6**)

Para la síntesis del compuesto **ALD-6** se hizo reaccionar la 4-nitrobenceno-1,2-diamina (9) y isocianato de 4-fluorobenceno (15) utilizando acetonitrilo como disolvente a temperatura de reflujo. El rendimiento puro obtenido de este compuesto fue de 61 % (**Tabla 7**).

Tabla 8. Características fisicoquímicas del compuesto **ALD-6**

				
Compuesto	Tiempo de reacción	Rendimiento puro	Punto de fusión °C	Aspecto físico
ALD-6	9 h	61 %	> 280	Solido amarillo

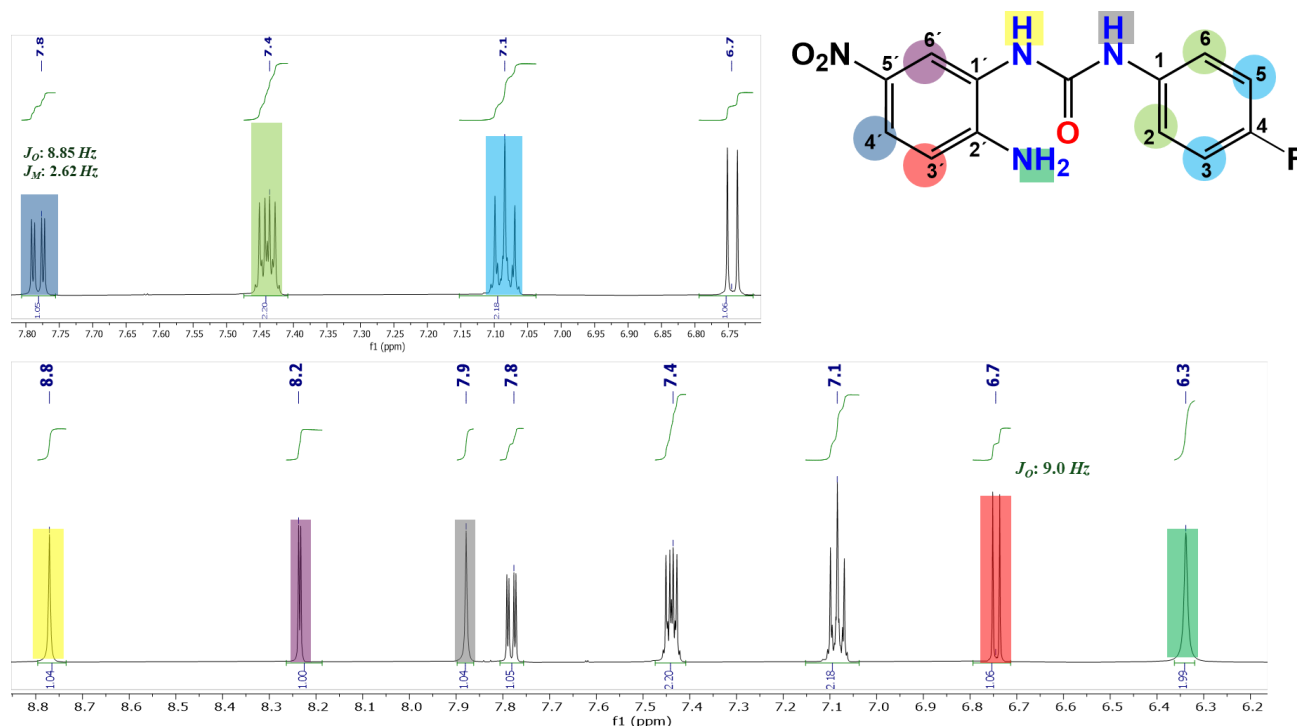


Figura 30. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **ALD-6**.

En el espectro de protón podemos observar un singulete a 6.3 ppm que integra para 2 hidrógenos de la amina posición 2'. A 6.7 ppm se observa un doblete que integra para un hidrógeno de la posición 3' del anillo 2 de benceno. A 7.1 ppm se observa un multiplete que integra para dos hidrógenos de las posiciones 3 y 5. A 7.4 ppm se observa un multiplete que integra para dos hidrógenos de las posiciones 2 y 6. A 7.8 ppm se observa un doble de dobles que integra para un hidrógeno de la posición 4' del benceno 2 con una constante de acoplamiento orto de 8.85 Hz. A 7.9 ppm se puede ver un singulete del hidrógeno de la amina unida al anillo de benceno 1. A 8.2 ppm se observa un doblete del hidrógeno de la posición 6' del anillo 2 de benceno con constante de acoplamiento meta de 2.67 Hz. Por último, a 8.8 ppm se observa un singulete que integra para un hidrógeno de la amina de la urea del anillo 2 de benceno sustituido con el grupo nitro.

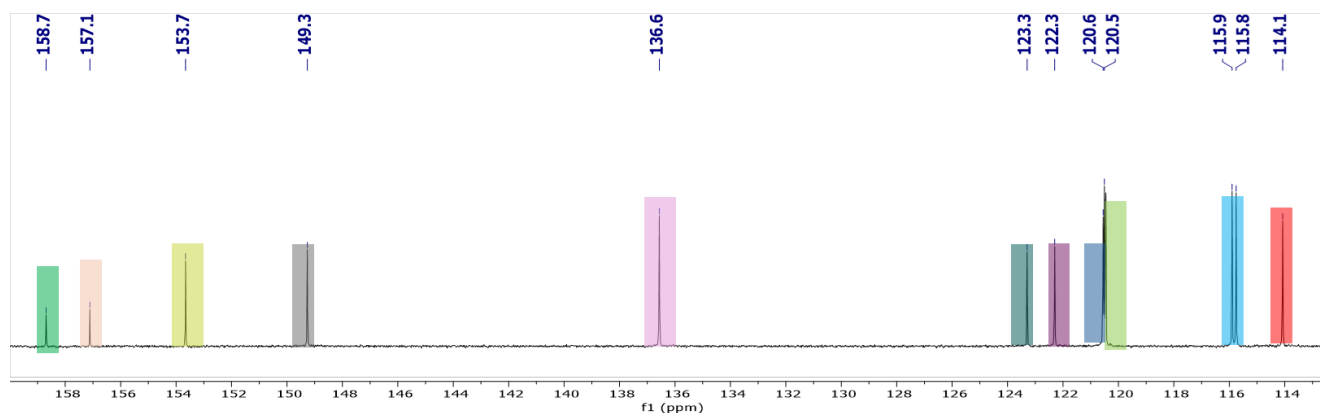
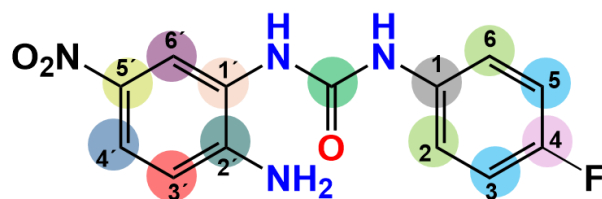


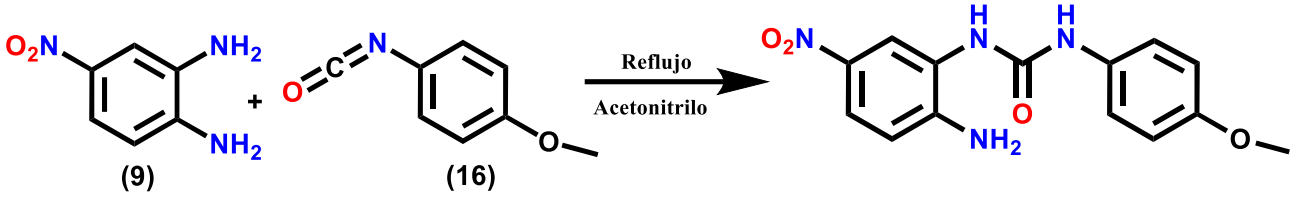
Figura 31. Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **ALD-6**.

En el espectro de ^{13}C del compuesto **ALD-6** podemos observar una señal a 15 ppm del carbono de la posición 8 perteneciente al metilo terminal, a 63.8 ppm una señal del carbono de la posición 7 del metileno, a 114.2 ppm una señal del carbono de la posición 6' del anillo 2 de benceno sustituido con el grupo nitro, a 115.2 ppm se observa la señal de los carbonos de la posición 3 y 5 del anillo 1 de benceno, a 120.1 se observa una señal del carbono de la posición 5' del anillo 2 de benceno, a 120.7 ppm se observa una señal del carbono de la posición 2 y 6 del anillo 1 de benceno, a 122.1 ppm se observa la señal del carbono de la posición 3' del anillo 2 de benceno, a 123.8 ppm se observa la señal del carbono cuaternario de la posición 1' del anillo 2 de benceno, a 133.3 ppm se encuentra una señal del carbono cuaternario de la posición 4 del anillo 1 de benceno, a 136.8 ppm se observa una pequeña señal de un carbono cuaternario de la posición 1, a 149 ppm se puede observar una señal del carbono de la posición 4' que esta sustituido con el grupo nitro, a 153.8 se observa una señal del carbono ipso de la posición 2' de anillo 2 de benceno, por último se puede observar a 154.5 ppm una señal característica de carbono de un grupo carbonilo.

7.1.7 Síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-metoxifenil) urea (**ALD-7**)

Para la síntesis del compuesto **ALD-7** se hizo reaccionar la 4-nitrobenceno-1,2-diamina (9) y isocianato de 4-metoxibenceno (16) utilizando acetonitrilo como disolvente a temperatura de reflujo. El rendimiento puro obtenido de este compuesto fue de 63% (**Tabla 8**).

Tabla 9. Características fisicoquímicas del compuesto **ALD-7**

				
Compuesto	Tiempo de reacción	Rendimiento puro	Punto de fusión °C	Aspecto físico
ALD-7	8 h	63 %	216-217	Solido amarillo

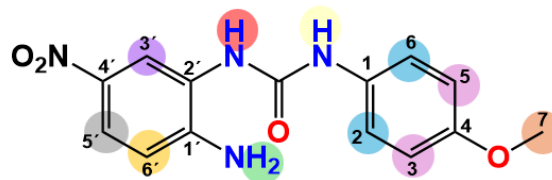
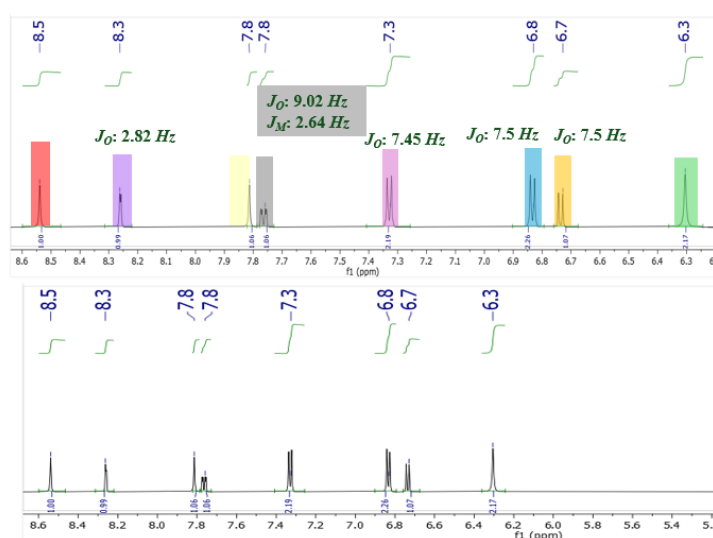


Figura 32. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **ALD-7**.

En el espectro de protón podemos observar un singlete a 3.7 ppm que integra para 3 hidrógenos de la posición 7 del metilo. A 6.3 ppm se observa un singlete que integra para dos hidrógenos correspondientes a la amina del anillo 2 de benceno. A 6.7 ppm se observa un doblete que integra para dos hidrógenos que corresponden a la posición 6'. A 6.8 ppm se observa un doblete que integra dos hidrógenos de las posiciones 2 y 6 del anillo de 1 de benceno con una constante de acoplamiento orto de 7.5 Hz. A 7.3 ppm se observa un doblete que integra para dos hidrógenos de la posición 2 y 6 del anillo 1 de benceno con una constante de acoplamiento orto de 7.5 Hz. A 7.8 ppm se puede ver un doble de dobles que integra para un hidrogeno de la posición 5' del anillo 2 de benceno con una constante de acoplamiento orto de 9.0 Hz y 2.64 Hz. A 7.85 ppm se observa un singlete del hidrógeno de la amina correspondiente a la urea unida al anillo 2 de benceno. A 8.3 se puede observar un doblete que pertenece al hidrogeno de la posición 3' con constante de acoplamiento en meta de 2.82 Hz. Por último, a 8.5 ppm se observa un singlete que integra para un hidrógeno de la amina de la urea del anillo 2 de benceno sustituido con el grupo nitro.

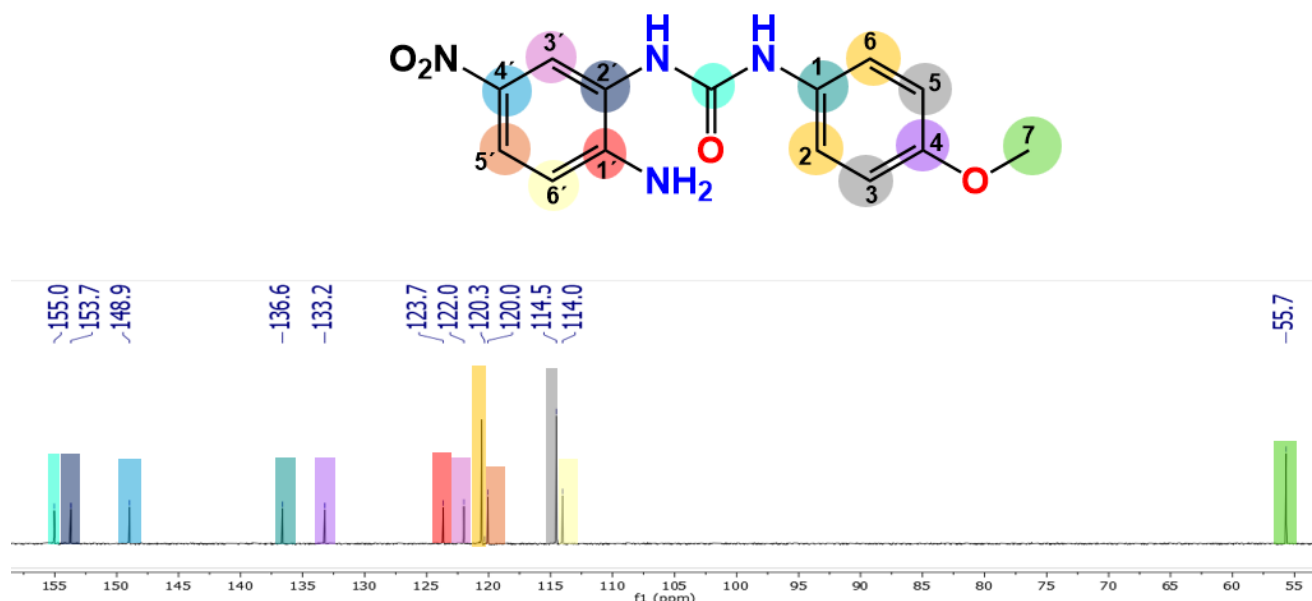


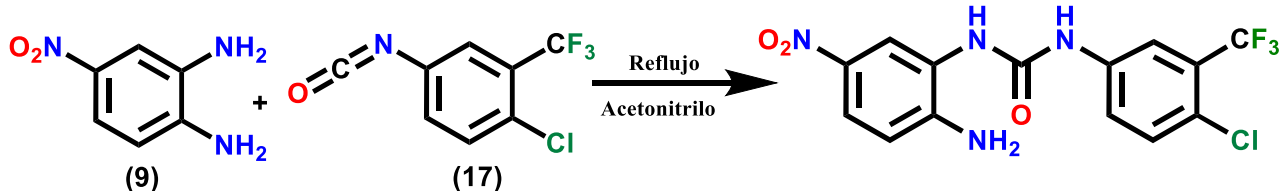
Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **ALD-7**.

En el espectro de ^{13}C del compuesto **ALD-7** podemos observar una señal a 55.7 ppm del carbono de la posición 7 perteneciente al metilo del grupo metoxi, a 114.0 ppm se observa una señal del carbono de la posición 6' del anillo 2 de benceno sustituido con el grupo nitro, a 114.5 ppm se observa la señal de los carbonos de la posición 3 y 5 del anillo 1 de benceno, a 120.0 se observa una señal del carbono de la posición 5' del anillo 2 de benceno, a 120.3 ppm se observa una señal del carbono de la posición 2 y 6 del anillo 1 de benceno, a 122.0 ppm se observa la señal del carbono de la posición 3' del anillo 2 de benceno, a 123.7 ppm se observa la señal del carbono cuaternario de la posición 1' del anillo 2 de benceno, a 133.2 ppm se encuentra una señal del carbono cuaternario de la posición 4 del anillo 1 de benceno, a 136.8 ppm se observa una pequeña señal de un carbono cuaternario de la posición 1, a 148.9 ppm se puede observar una señal del carbono de la posición 4' que esta sustituido con el grupo nitro, a 153.7 se observa una señal del carbono ipso de la posición 2' de anillo 2 de benceno, por último, se puede observar a 154.5 ppm una señal característica de carbono de un grupo carbonilo de la urea.

7.1.8 Síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-cloro-3-(trifluorometil) fenil) urea (**ALD-8**)

Para la síntesis del compuesto **ALD-8** se hizo reaccionar la 4-nitrobenceno-1,2-diamina (9) y isocianato de 4-cloro-3-trifluorometilbenceno (17) utilizando acetonitrilo como disolvente a temperatura de reflujo. El rendimiento puro obtenido de este compuesto fue de 61% (**Tabla 9**)

Tabla 10. Características fisicoquímicas del compuesto **ALD-8**

				
Compuesto	Tiempo de reacción	Rendimiento puro	Punto de fusión °C	Aspecto físico
ALD-8	9 h	61 %	216-218	Solido amarillo

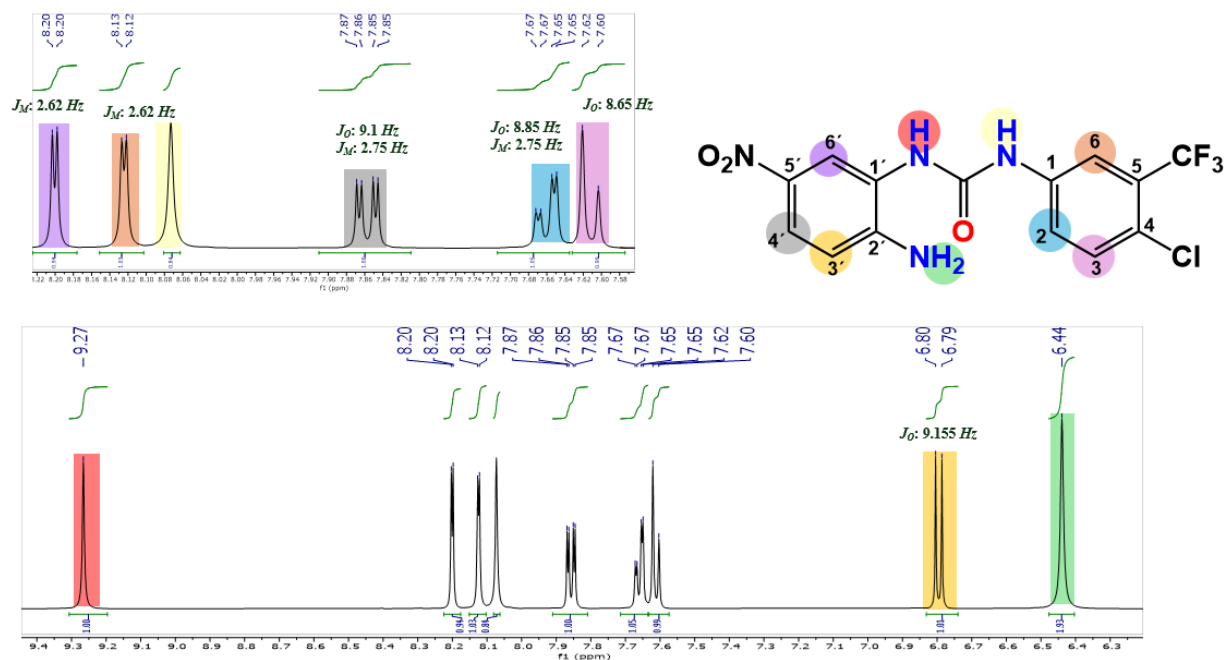


Figura 34. Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **ALD-8**.

En el espectro de protón podemos observar un singlete a 6.4 ppm que integra para 2 hidrógenos de la amina de la posición 2'. A 4.0 ppm se observa un cuarteto que integra para dos hidrógenos de la posición 7 del metileno. A 6.3 ppm se observa un singlete que integra para dos hidrógenos que correspondería a la amina del anillo 2 de benceno. A 6.8 ppm se observa un doblete que integra para un hidrogeno en la posición 3' del anillo de 2 de benceno con una constante de acoplamiento orto de 9.0 *Hz*. A 6.9 ppm se observa un doblete que integra para dos hidrógenos de la posición 2 y 6 del anillo 1 de benceno con una constante de acoplamiento orto de 9.15 *Hz*. A 7.4 ppm se puede ver un doblete que integra para dos hidrógenos de las posiciones 3 y 5 del anillo del anillo 1 de benceno con una constante de acoplamiento orto de 9.0 *Hz*. A 7.8 ppm se observa un doble de dobles del hidrógeno de la posición 5' del anillo 2 de benceno con constantes de acoplamiento orto de 8.85 *Hz* y meta de 2.65 *Hz*. A 7.9 se puede observar un singlete que pertenece al hidrógeno de la amina de la urea. A 8.3 ppm se tiene un doblete que integra para un hidrogeno de la posición 3' del anillo 2 de benceno sustituido con el grupo nitro. Por último, a 8.6 ppm se observa un singlete que integra para un hidrógeno de la amina perteneciente a la urea del anillo 2 de benceno sustituido con el grupo nitro.

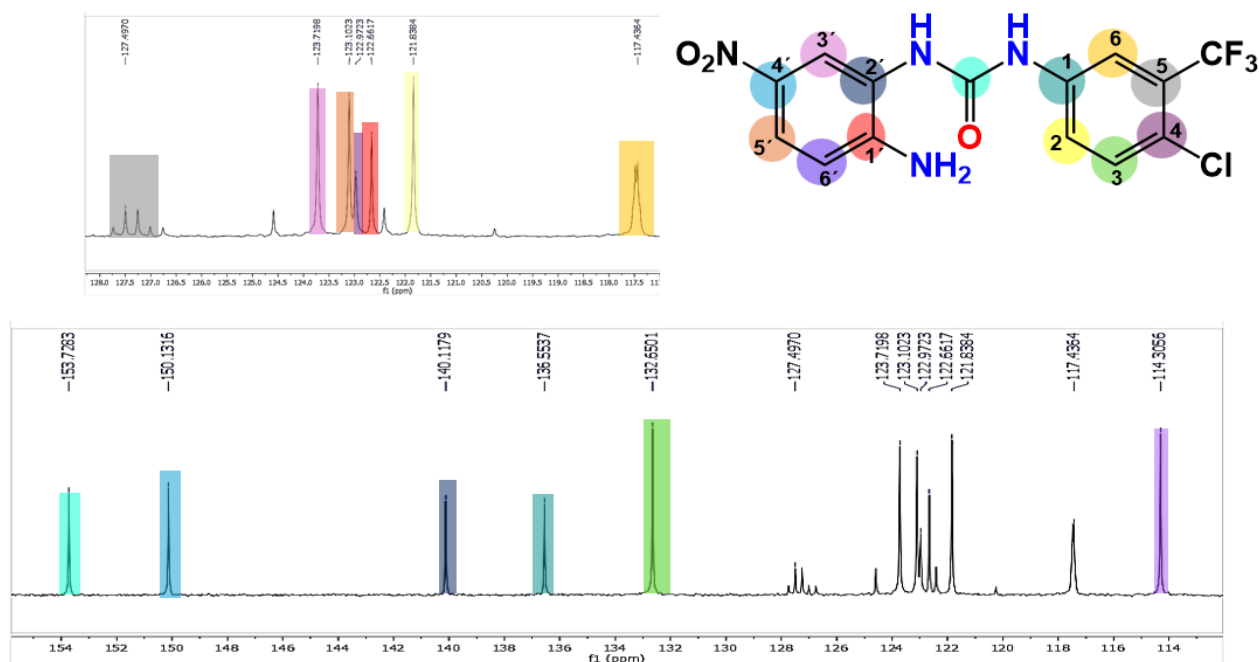


Figura 35. espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **ALD-8**.

En el espectro de ^{13}C del compuesto **ALD-8** podemos observar una señal a 15 ppm del carbono de la posición 8 perteneciente al metilo terminal, a 63.8 ppm una señal del carbono de la posición 7 del metileno, a 114.2 ppm una señal del carbono de la posición 6' del anillo 2 de benceno sustituido con el grupo nitro, a 115.2 ppm se observa la señal de los carbonos de la posición 3 y 5 del anillo 1 de benceno, a 120.1 se observa una señal del carbono de la posición 5' del anillo 2 de benceno, a 120.7 ppm se observa una señal del carbono de la posición 2 y 6 del anillo 1 de benceno, a 122.1 ppm se observa la señal del carbono de la posición 3' del anillo 2 de benceno, a 123.8 ppm se observa la señal del carbono cuaternario de la posición 1' del anillo 2 de benceno, a 133.3 ppm se encuentra una señal del carbono cuaternario de la posición 4 del anillo 1 de benceno, a 136.8 ppm se observa una pequeña señal de un carbono cuaternario de la posición 1, a 149 ppm se puede observar una señal del carbono de la posición 4' que esta sustituido con el grupo nitro, a 153.8 se observa una señal del carbono ipso de la posición 2' de anillo 2 de benceno, por último se puede observar a 154.5 ppm una señal característica de carbono de un grupo carbonilo.

Tabla 11. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **ALD-1**

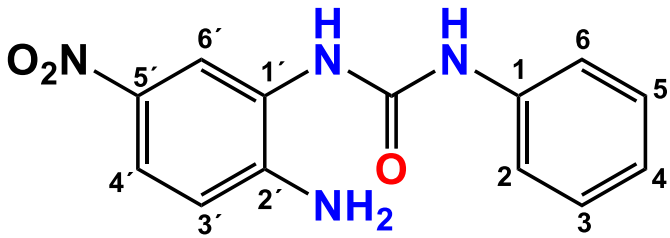
		
Desplazamientos químicos obtenidos en RMN ^1H y ^{13}C del compuesto ALD-1		
Posición	δ (ppm), mult, H, J (Hz)	δ (ppm)
	^1H	^{13}C
1	---	123.54
2	7.51, d, 2H, 8.5 Hz	129.47
3	7.31, t, 2H, 8.7 Hz	118.87
4	7.03, t, 1H, 8.8 Hz	114.21
5	7.31, t, 2H, 8.7 Hz	118.87
6	7.51, d, 2H, 8.5 Hz	129.47
1'	---	136.77
2'	---	140.33
3'	6.82, d, 1H, 8.7 Hz	122.32
4'	7.83, dd, 1H, 2.2 Hz, 7.9 Hz	120.48
5'	---	149.25
6'	8.32, d, 1H, 2.34 Hz	122.58
1-NH	7.91, 1H	---
2'-NH	8.82, 1H	---
NH ₂	6.44, 2H	---
C=O	---	153.68

Tabla 12. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **ALD-2**

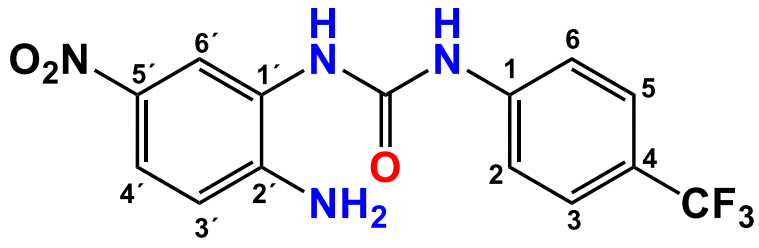
		
Desplazamientos químicos obtenidos en RMN ^1H y ^{13}C del compuesto ALD-2		
Posición	δ (ppm), mult, H, J (Hz)	δ (ppm)
	^1H	^{13}C
1	---	136.49
2	7.67, d, 2H, 8.7 Hz	126.61
3	7.63, d, 2H, 8.88 Hz	118.36
4	---	122.76
5	7.63, d, 2H, 8.88 Hz	118.36
6	7.67, d, 2H, 8.7 Hz	126.61
1'	---	144.02
2'	---	122.69
3'	8.26, d, 1H, 7.8 Hz	114.15
4'	7.84, dd, 1H, 2.2 Hz, 7.9 Hz	126.51
5'	---	149.63
6'	6.80, d, 1H, 2.3 Hz	122.40
1-NH	8.04, 1H	---
2'-NH	9.20, 1H	---
NH ₂	6.41, 2H	---
C=O	---	153.41
$^1\text{CF}_3$	---	122.35, q, 245 Hz
$^2\text{CF}_3$	---	

Tabla 13. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **ALD-3**

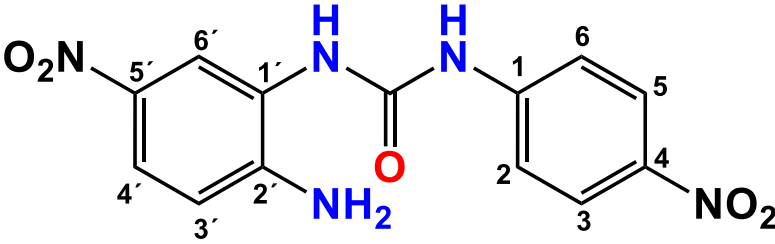
		
Desplazamientos químicos obtenidos en RMN ^1H y ^{13}C del compuesto ALD-3		
Posición	δ (ppm), mult, H, J (Hz)	δ (ppm)
	^1H	^{13}C
1	---	153.73
2	7.11, m, 2H	115.75
3	7.48, m, 2H	120.50
4	---	149.27
5	7.48, m, 2H	120.50
6	7.11, m, 2H	115.75
1'	---	123.37
2'	---	158.75
3'	8.29, d, 1H, $J_M=2.64$ Hz	115.92
4'	---	136.60
5'	7.82, dd, 1H, $J_O: 8.94$ Hz $J_M: 2.58$ Hz	122.32
6'	6.78, d, 1H, $J_O: 8.94$ Hz	114.12
1-NH	7.93, 1H	---
2'-NH	8.81, 1H	---
NH ₂	6.37, 2H	---
C=O	---	157.17

Tabla 14. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **ALD-4**

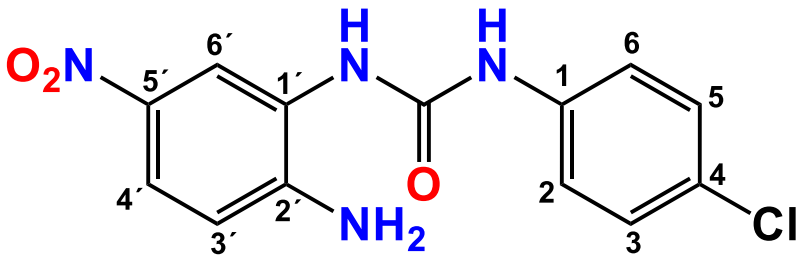
		
Desplazamientos químicos obtenidos en RMN ^1H y ^{13}C del compuesto ALD-5		
Posición	δ (ppm), mult, H, J (Hz)	δ (ppm)
	^1H	^{13}C
1	---	135.82
2	6.90, d, 2H, 9.23 Hz	121.73
3	7.32, d, 2H, 9.02 Hz	115.25
4	---	133.34
5	7.42, d, 2H, 9.0 Hz	115.25
6	6.94, d, 2H, 9.15 Hz	120.72
1'	---	153.02
2'	---	123.82
3'	6.85, d, 1H, 9.0 Hz	114.23
4'	7.90, dd, 1H, 2.75 Hz, 8.66 Hz	120.12
5'	---	149.23
6'	8.45, d, 1H, 2.23 Hz	122.15
1-NH	7.92, 1H	---
2'-NH	8.64, 1H	---
NH ₂	6.33, 2H	---
C=O	---	154.53

Tabla 15. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **ALD-5**

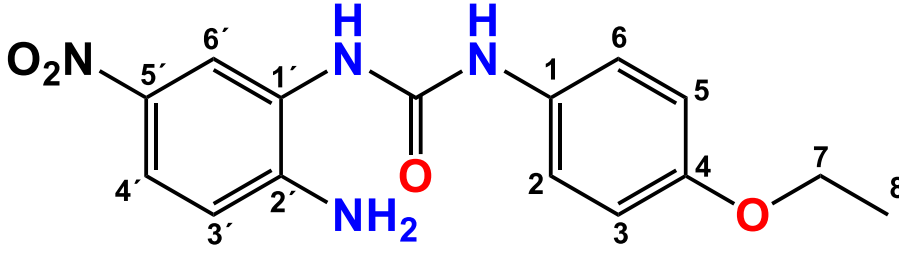
		
Desplazamientos químicos obtenidos en RMN ^1H y ^{13}C del compuesto ALD-5		
Posición	δ (ppm), mult, H, J (Hz)	δ (ppm)
	^1H	^{13}C
1	---	136.82
2	6.94, d, 2H, 9.15 Hz	120.72
3	7.42, d, 2H, 9.0 Hz	115.25
4	---	133.34
5	7.42, d, 2H, 9.0 Hz	115.25
6	6.94, d, 2H, 9.15 Hz	120.72
7	4.0, q, 2H	63.83
8	1.32, t, 3H	15.42
1'	---	153.82
2'	---	123.82
3'	6.85, d, 1H, 9.0 Hz	114.23
4'	7.84, dd, 1H, 2.62 Hz, 8.85 Hz	120.12
5'	---	149.02
6'	8.3, d, 1H, 2.23 Hz	122.15
1-NH	7.92, 1H	---
2'-NH	8.64, 1H	---
NH ₂	6.33, 2H	---
C=O	---	154.53

Tabla 16. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **ALD-6**

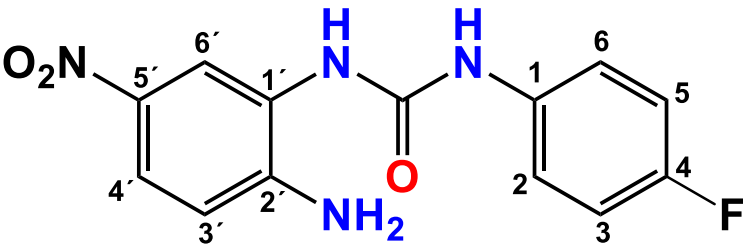
		
Desplazamientos químicos obtenidos en RMN ^1H y ^{13}C del compuesto ALD-6		
Posición	δ (ppm), mult, H, J (Hz)	δ (ppm)
	^1H	^{13}C
1	---	149.33
2	7.42, qd, 2H	120.52
3	7.12, td, 2H	115.85
4	---	136.64
5	7.12, td, 2H	115.85
6	7.42, qd, 2H	120.52
1'	---	157.15
2'	---	123.34
3'	6.72, d, 1H, 9.0 Hz	114.12
4'	7.80, dd, 1H, 2.64 Hz, 8.85 Hz	120.65
5'	---	153.73
6'	8.20, d, 1H,	122.30
1-NH	7.90, 1H	---
2'-NH	8.80, 1H	---
NH ₂	6.33, 2H	---
C=O	---	158.70

Tabla 17. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **ALD-7**

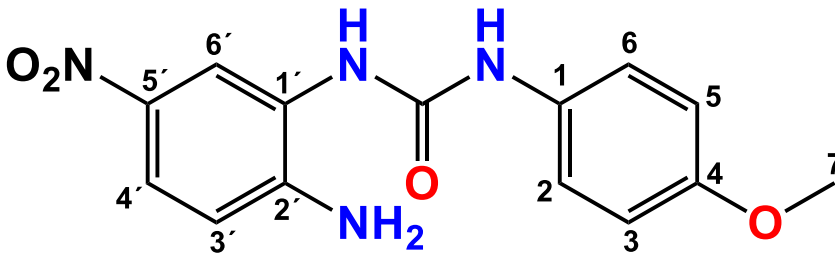
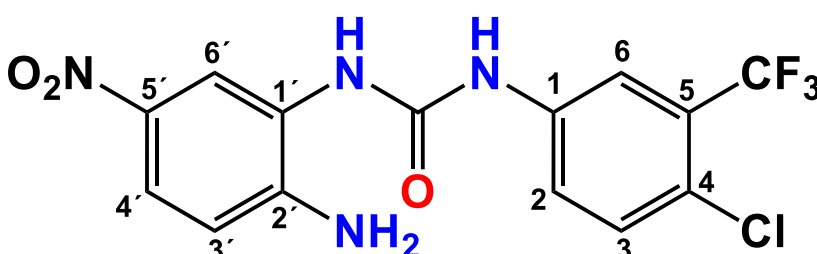
		
Desplazamientos químicos obtenidos en RMN ^1H y ^{13}C del compuesto ALD-7		
Posición	δ (ppm), mult, H, J (Hz)	δ (ppm)
	^1H	^{13}C
1	---	136.62
2	6.82, d, 2H, 7.5 Hz	120.33
3	7.32, d, 2H, 7.45 Hz	114.50
4	---	133.24
5	7.32, d, 2H, 7.45 Hz	114.50
6	6.82, d, 2H, 7.5 Hz	120.33
7	3.70, s, 3H	55.72
1'	---	153.72
2'	---	123.70
3'	6.74, d, 1H, 7.5 Hz	114.0
4'	7.80, dd, 1H, 2.64 Hz, 9.02 Hz	120.0
5'	---	148.90
6'	8.32, d, 1H, 2.82 Hz	122.0
1-NH	7.80, 1H	---
2'-NH	8.50, 1H	---
NH ₂	6.30, 2H	---
C=O	---	155.0

Tabla 18. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **ALD-8**

		
Desplazamientos químicos obtenidos en RMN ^1H y ^{13}C del compuesto ALD-8		
Posición	δ (ppm), mult, H, J (Hz)	δ (ppm)
	^1H	^{13}C
1	---	136.55
2	7.66, dd, 1H, 2.75 Hz, 8.85 Hz	121.83
3	7.62, d, 1H, 8.65 Hz	132.65
4	---	122.97
5	---	127.49
6	8.12, d, 1H, 2.6 Hz	123.10
1'	---	140.11
2'	---	122.55
3'	6.79, d, 1H, 9.15 Hz	114.30
4'	7.85, dd, 1H, 2.75 Hz, 9 Hz	123.10
5'	---	150.31
6'	8.19, d, 1H, 2.75 Hz	123.71
1-NH	8.07, 1H	---
2'-NH	9.26, 1H	---
NH ₂	6.43, 2H	---
C=O	---	153.72
CF ₃	---	

7.2 Parte computacional (*in silico*)

7.2.1 Perfil biofarmacéutico

En este proyecto se usaron las herramientas SwissADME, Admet AI y AdmetLab 3.0 para la predicción de las propiedades biofarmacéuticas de los compuestos diseñados, en donde se usaron como controles los fármacos Albendazol y Metronidazol (**Tabla 18**).

Tabla 19. Propiedades biofarmacéuticas y fisicoquímicas de los compuestos **ALD 1-8**

ALD-1			
Parámetro	SwissADME	ADMET-AI	ADMETLab
Permeabilidad caco-2	NA	1.07 x10 ⁻⁵ cm/s	1.01 X 10 ⁻⁵ cm/s
Solubilidad	0.584 MG/ML	NA	0.418 mg/mL
ALD-2			
Permeabilidad caco-2	NA	7.24 x10 ⁻⁶ cm/s	1.86 X 10 ⁻⁵ cm/s
Solubilidad	1.05E-01 MG/ML		3.64 X10 ⁻⁵ mg/mL
ALD-3			
Permeabilidad caco-2	NA	5.49 x10 ⁻⁶ cm/s	1.06 X 10 ⁻⁵ cm/s
Solubilidad	6.09E-01 MG/ML	NA	0.028 MG/ML
ALD-4			
Permeabilidad caco-2	NA	1.34 x10 ⁻⁵ cm/s	1.16 X10 ⁻⁵ cm/s
Solubilidad	1.69E-01 MG/ML	NA	2.956 X10 ⁻³ mg/mL
ALD-5			
Permeabilidad caco-2	NA	7.94x10 ⁻⁶ cm/s	1.09 X10 ⁻⁵ cm/s
Solubilidad	3.42E-01 MG/ML	NA	0.027 mg/mL
ALD-6			
Permeabilidad caco-2	NA	9.54x10 ⁻⁶ cm/s	1.039 X10 ⁻⁵ cm/s
Solubilidad	4.37 x10 ⁻⁰¹ mg/ml	NA	0.014 mg/mL
ALD-7			
Permeabilidad caco-2	NA	1.02 x10 ⁻⁵ cm/s	1.285 X10 ⁻⁵ cm/s
Solubilidad	2.01 x10 ⁻⁰¹ mg/ml		0.053 mg/mL
ALD-8			
Permeabilidad caco-2	NA	1.09 x10 ⁻⁵ cm/s	1.047 X10 ⁻⁵ cm/s
Solubilidad	2.97 x10 ⁻² mg/ml		1.187 X10 ⁻³ mg/mL
Metronidazol			
Permeabilidad caco-2	NA	2.23 x10 ⁻⁵ cm/s	9.35 x10 ⁻⁶ cm/s
Solubilidad	66.9 mg/ml	48.23 mg/ml	9.8 mg/ml
Albendazol			
Permeabilidad caco-2	NA	2.69 x10 ⁻⁵ cm/s	9.97 x10 ⁻⁶ cm/s
Solubilidad	1.56 x10 ⁻¹ mg/ml	0.010 mg/ml	0.013 mg/ml

Solubilidad acuosa: > 60 mg/ml, Buena solubilidad; 10 – 60 mg/ml Moderada solubilidad; <10 baja solubilidad

Permeabilidad: $\geq 3 \times 10^{-6}$ cm/s, Buena permeabilidad; $< 3 \times 10^{-6}$ cm/s, baja permeabilidad

Los compuestos diseñados en este proyecto mostraron valores de área polar superficial topológica (TPSA) dentro del rango. Los compuestos **ALD 1-8**, mostraron valores de Log D_{7.4} satisfactorios. Otra propiedad que se evaluó fue la solubilidad acuosa, donde la mayoría los compuestos mostraron probabilidades de ser poco solubles. Finalmente, en la permeabilidad en células Caco2 (células de cáncer de colon con glicoproteína P altamente expresada) los compuestos presentaron buenas probabilidades de permear este tipo de células por lo que de acuerdo con el Sistema de Clasificación Biofarmacéutico los compuestos diseñados (**ALD 1-8**) pertenecerían a la clase II que es en donde se encuentran la mayoría de los fármacos disponibles en el mercado.^{53,54}

CLASE I	CLASE II
↑ SOLUBILIDAD ↑ PERMEABILIDAD	↓ SOLUBILIDAD ↑ PERMEABILIDAD
CLASE III	CLASE IV
↑ SOLUBILIDAD ↓ PERMEABILIDAD	↓ SOLUBILIDAD ↓ PERMEABILIDAD

Figura 36. Sistema de Clasificación Biofarmacéutico.

7.2.2 Perfil farmacocinético

En el desarrollo de moléculas bioactivas y fármacos es importante evaluar el perfil farmacocinético. Por lo tanto, en este proyecto se realizaron estimaciones del perfil farmacocinético de los compuestos diseñados con los predictores ADMETlab3.0, SwissADME y AdmetSAR3.0, Admet – AI, biotransformer 3.0 y ACD/ToxSuite, En la Tabla 19 se muestran

las estimaciones de algunas propiedades ADME, para los nuevos compuestos, usando los fármacos Albendazol y Metronidazol como controles.

Tabla 20. Propiedades farmacocinéticas de los compuestos **ALD 1-8**

ALD-1			
Parámetro	ADMETLab	ADMETsar	ADMET-AI
Biodisponibilidad (%)	99	96.5	95
AGI (%)	99	97.9	100
BHE (%)	1	30	22
Sustrato PGp (%)	1	40.6	NO
Unión a proteínas (PPB) (%)	90	88.2	71
T $\frac{1}{2}$ (horas)	0.836	0.20	14
ALD-2			
Parámetro	ADMETLab	ADMETsar	ADMET-AI
Biodisponibilidad (%)	99	100	99
AGI (%)	99	99.2	100
BHE (%)	1	16	90
Sustrato PGp (%)	1	13.71	NO
Unión a proteínas (PPB) (%)	96	95.4	88
T $\frac{1}{2}$ (horas)	0.73	0.016	60
ALD-3			
Parámetro	ADMETLab	ADMETsar	ADMET-AI
Biodisponibilidad (%)	99	98.1	88
AGI (%)	99	96.8	99
BHE (%)	1	55	72
Sustrato PGp (%)	1	21.8	NO
Unión a proteínas (PPB) (%)	84	96	71
T $\frac{1}{2}$ (horas)	0.961	0.064	63
ALD-4			
Parámetro	ADMETLab	ADMETsar	ADMET-AI
Biodisponibilidad (%)	99	98.5	97
AGI (%)	99	99	100
BHE (%)	2	15	87
Sustrato PGp (%)	1	15.6	NO
Unión a proteínas (PPB) (%)	98.5	95.9	89
T $\frac{1}{2}$ (horas)	0.868 horas	0.038 horas	46 hrs
ALD-5			
Parámetro	ADMETLab	ADMETsar	ADMET-AI
Biodisponibilidad (%)	99	98.2	98
AGI (%)	99	98.6	100
BHE (%)	2	36	68

Sustrato PGp (%)	1	54	NO
Unión a proteínas (PPB) (%)	98	97.2	84
T ½ (horas)	0.75	0.107	0
ALD-6			
Parámetro	ADMETLab	ADMETsar	ADMET-AI
Biodisponibilidad (%)	99	99.1	97
AGI (%)	99	98.8	100
BHE (%)	3	30	87
Sustrato PGp (%)	1	22	NO
Unión a proteínas (PPB) (%)	94	95	75
T ½ (horas)	0.928	0.046	57
ALD-7			
Parámetro	ADMETLab	ADMETsar	ADMET-AI
Biodisponibilidad (%)	99	96.3	97
AGI (%)	99	97.5	100
BHE (%)	2	69.4	75
Sustrato PGp (%)	1	56.2	NO
Unión a proteínas (PPB) (%)	89	87.2	79
T ½ (horas)	0.665	0.229	0
ALD-8			
Parámetro	ADMETLab	ADMETsar	ADMET-AI
Biodisponibilidad (%)	99	97.6	94
AGI (%)	99	98.50	100
BHE (%)	1	32	10
Sustrato PGp (%)	1	10.8	NO
Unión a proteínas (PPB) (%)	99	94	97
T ½ (horas)	1.04	0.019	70
Metronidazol			
Parámetro	ADMETLab	ADMETsar	ADMET-AI
Biodisponibilidad (%)	99	99.4	92
AGI (%)	99.0%	95.9%	100
BHE (%)	33.3	3.9	3
Sustrato PGp (%)	1	7.6	NO
Unión a proteínas (PPB) (%)	17.4	2	35.3
T ½ (horas)	2.74	0.19	0.97
Albendazol			
Parámetro	ADMETLab	ADMETsar	ADMET-AI
Biodisponibilidad (%)	99	62	85
AGI (%)	66	98.6	100
BHE (%) *	90.8	96	93

Sustrato PGp (%)	1	18.3	NO
Unión a proteínas (PPB) (%)	99	94	95.37
T $\frac{1}{2}$ (horas)	0.879	1.02	0

Absorción 67 - 100 % Probabilidad alta; 34 - 66 % Probabilidad media; 0 - 33 % Probabilidad baja

Barrera hematoencefálica: 67 - 100 % Probabilidad alta; 34 - 66 % Probabilidad media; 0 - 33 % Probabilidad baja

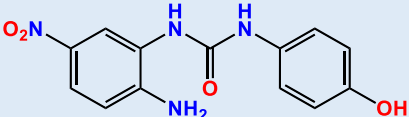
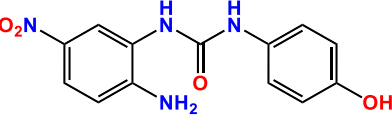
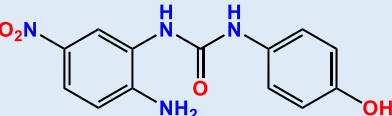
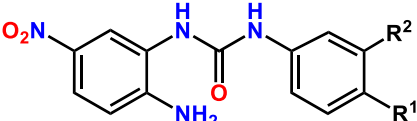
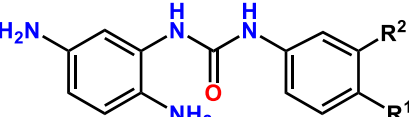
Sustrato glucoproteína P: 0 - 33 % Probabilidad baja; 34 - 66 % Probabilidad media; 67 - 100 % Probabilidad Alta

*En el caso del albendazol, la capacidad de atravesar barrera hematoencefálica es una propiedad satisfactoria ya que dicho fármaco está indicado para el tratamiento contra la neurocisticercosis provocado por *Taenia solium*, a pesar de su baja solubilidad acuosa y su limitada biodisponibilidad.⁵⁵

Como se puede observar en la tabla anterior, todos los compuestos de la serie **ALD 1-8** presentaron buenas probabilidades de ser bien absorbidos en tracto intestinal. Así mismo, todos los compuestos en general presentaron buenas probabilidades de no atravesar la barrera hematoencefálica. Todos los compuestos presentaron probabilidad de no ser sustratos de la glicoproteína P, una bomba de eflujo que se encuentra principalmente en células del intestino y riñón que está implicada en la resistencia de fármacos lo que trae como consecuencia una disminución en la biodisponibilidad y finalmente un tratamiento ineficaz. La mayoría de los compuestos mostraron probabilidades satisfactorias en cuanto al porcentaje de unión a proteínas, teniendo en consideración que un porcentaje muy elevado o bajo de unión a proteínas no es adecuado, pues de eso depende un efecto terapéutico eficaz de un fármaco o un posible efecto toxicológico del mismo. Finalmente, todos los compuestos muestran probabilidades no tan favorables en cuanto a su tiempo de vida media, sin embargo, así mismo los fármacos de referencia muestran estas mismas propiedades.

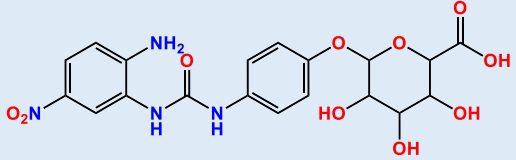
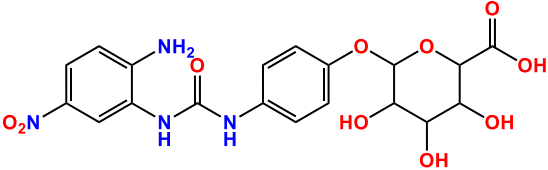
7.2.2.1 Predicción de metabolismo e identificación de metabolitos BIOTRANSFORMER 3.0.

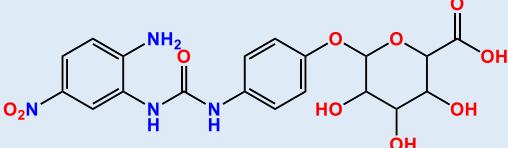
Tabla 21. predicción de metabolismo de fase I de los compuestos **ALD 1-8**

Compuesto	Metabolito fase I	Tipo de reacción	Isoforma responsable
 ALD-1		p-Hidroxilación del anillo de benceno	CYP 1A2
 ALD-5		O-Desalquilación	CYP 1A2
 ALD-7		O-Desalquilación	CYP 1A2
 ALD 1-8		Reducción del grupo nitro	NADPH-citocromo P450 reductasa

En la **Tabla 21** se muestran los posibles metabolitos de la fase II, a partir de los metabolitos de la fase I de los compuestos **ALD 1-8**.

Tabla 22. predicción de metabolismo de fase II de los compuestos **ALD 1-8**

Metabolito fase II	Tipo de reacción	Isoforma responsable
 Metabolito ALD-1	OH-glucuronidación aromática	UDP-glucuronosiltransferasa
 Metabolito ALD-5	OH-glucuronidación aromática	UDP-glucuronosiltransferasa

 Metabolito ALD-7	OH-glucuronidación aromática	UDP-glucuronosiltransferasa
--	------------------------------	-----------------------------

En la predicción de metabolismo de los compuestos **ALD 1-8**, todos mostraron probabilidad de ser metabolizados por el CYP1A2 mediante una p-hidroxilación en el (o los anillos) de benceno monosustituido(s), así como o-desalquilaciones, seguido por reacciones de Fase II, conjugación con ácido glucurónico.

7.2.2.2 Inhibición de CYP450

En el organismo se encuentra un sistema metabolizante conocido como Citocromo P450 (CYP450) encargado de contribuir a la eliminación de compuestos xenobióticos mayormente de carácter lipofílico o apolar que acceden al organismo volviéndolos más polares. Su inhibición puede resultar en un aumento de concentración de compuestos ajenos al cuerpo, en consecuencia, una saturación de procesos enzimáticos, un aumento en la toxicidad de fármacos u otras moléculas, así como interacciones farmacológicas, por ende, la predicción temprana de una posible inhibición de las isoformas del CYP 450 es un parámetro de suma importancia ya que esto puede ayudar a evitar encontrarse con moléculas bioactivas o candidatos a fármacos con estos efectos indeseables.^{56,57}

Tabla 23. Probabilidades de inhibición de isoformas del citocromo P450 de los compuestos **ALD-1-8**

Inhibición de CYP 450					
Compuesto	Isoforma	admetSAR 3.0	Swissadme	ADMETLab 3.0	Resultado
ALD-1	3A4	49.5%	NO	10%	
	2D6	19.3%	NO	10%	
	2C9	23%	SI	33.0%	
	1A2	81.1%	NO	99.0%	
	2C19	38.6%	NO	10%	
ALD-2	3A4	56%	NO	66%	
	2D6	11.6%	NO	10%	
	2C9	68%	SI	45%	
	1A2	83.4%	SI	99.0%	
	2C19	78.2%	NO	10%	
	3A4	34.1%	NO	33%	

ALD-3	2D6	11.2%	NO	10%	
	2C9	27.7%	SI	33%	
	1A2	62.5%	SI	99%	
	2C19	32%	NO	9%	
ALD-4	3A4	69.39%	NO	2%	
	2D6	27.7%	NO	33%	
	2C9	69.9%	SI	33%	
	1A2	95.4%	NO	99%	
	2C19	82.4%	NO	66%	
ALD-5	3A4	49.2%	No	3%	
	2D6	17.1%	SI	2%	
	2C9	30.5%	SI	33%	
	1A2	63.7%	NO	99%	
	2C19	41.4%	NO	99%	
ALD-6	3A4	50.5%	NO	2%	
	2D6	13.4%	NO	33%	
	2C9	40.5%	SI	66%	
	1A2	87.8%	NO	99%	
	2C19	56.49%	NO	1%	
ALD-7	3A4	66.9%	NO	66%	
	2D6	13.9%	NO	2%	
	2C9	23.1%	SI	33%	
	1A2	66.9%	No	97%	
	2C19	34.39%	No	3%	
ALD-8	3A4	81.49%	SI	66%	
	2D6	34.2%	NO	2%	
	2C9	92.1%	SI	99%	
	1A2	94.8%	SI	98%	
	2C19	94.1%	SI	3%	
ABZ	3A4	17.1%	NO	2%	
	2D6	20.1%	NO	3%	
	2C9	40.89%	NO	3%	
	1A2	99.1%	SI	99%	
	2C19	67%	NO	2%	
MTZ	3A4	0.8%	NO	3%	
	2D6	0.3%	NO	2%	
	2C9	1.9%	NO	2%	
	1A2	18.2%	NO	3%	
	2C19	1.8%	NO	3%	

Los datos mostrados en la **Tabla 22** indican que todos los compuestos diseñados en este proyecto (**ALD 1-8**) presentan muy bajas probabilidades de inhibir el CYP 3A4, la isoforma más abundante, y una de las encargadas del casi 50% de las reacciones metabólicas del complejo CYP450. Así mismo, todos los compuestos diseñados en este proyecto mostraron bajas

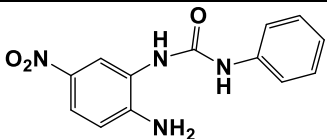
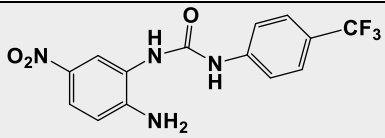
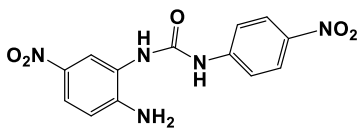
probabilidades de inhibir algunas isoformas, como la 2C9, 2C19, mientras que todos los compuestos presentaron probabilidades altas de inhibir a la isoforma 1A2, sin embargo, esa es una ventaja al inhibir su actividad, ya que estas familias del CYP pueden bioactivar mediante metabolismo a hidrocarburos aromáticos policíclicos procedentes del humo de tabaco, combustión, contaminación para formar metabolitos epóxidos altamente reactivos.⁵⁷

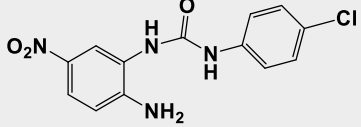
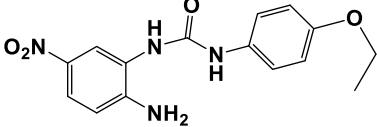
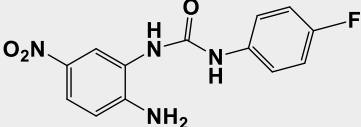
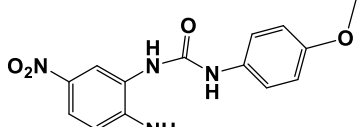
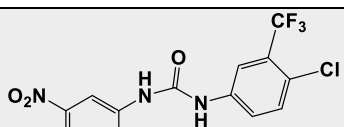
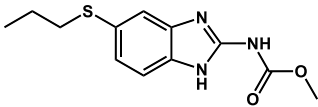
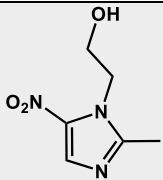
7.2.3 Perfil toxicológico

7.2.3.1 Bloqueo de canales Herg

Los canales hERG (*human ether-a-go-go-related gen*), son canales de K⁺, presentes en células cardiacas y son determinantes en la actividad eléctrica del corazón, pues de estos depende el control del voltaje (potencial de membrana) mediante la regulación del flujo de iones K⁺ al exterior de la célula, su bloqueo puede provocar una salida más lenta de iones K⁺ y esto puede desencadenar una serie de arritmias cardiacas que pueden conducir a la muerte. Por ende, es importante tener presente este parámetro a la hora de diseñar nuevos compuestos y descartar aquellos que puedan presentar afinidad considerable hacia estos canales y así evitar un posible efecto cardiotoxico.^{58,59}

Tabla 24. Probabilidades de Bloqueo de canales hERG de los compuestos **ALD 1-8**

Bloqueo de canales hERG	
Compuesto	Probabilidad de bloqueo de los canales hERG (ki < 10 µM)
 ALD-1	43%
 ALD-2	52%
 ALD-3	50%

 ALD-4	56%
 ALD-5	46%
 ALD-6	48%
 ALD-7	42%
 ALD-8	57%
 ALBENDAZOL	63%
 METRONIDAZOL	18%

En la **Tabla 23** se muestra que los compuestos presentan probabilidades intermedias de ser bloqueadores de los canales hERG, los cuales están estrechamente relacionados con cardiotoxicidad y síndrome de QT largo, siendo menores en todos los casos al compararlos con el albendazol.

7.2.3.2 Predicción de la carcinogenicidad, mutagenicidad y DILI

Tabla 25 Probabilidades del perfil toxicológico de los compuestos **ALD 1-8**

Compuesto	ALD-1	ALD-2	ALD-3	ALD-4	ALD-5	ALD-6	ALD-7	ALD-8	ABZ	MTZ
MUTAGENICIDAD										
CARCINOGENICIDAD										
DILI										



Como se puede apreciar en la tabla anterior, la mayoría de los compuestos diseñados en este proyecto presentaron medianas y altas probabilidades de ser mutagénicos y carcinogénicos a excepción de los compuestos **ALD-1** y **ALD-6** que muestran probabilidades bajas de ser carcinogénicos sin embargo, es importante recordar que las evaluaciones *in silico* no garantizan la seguridad de los compuestos, para corroborar estos datos se deben realizar ensayos biológicos *in vitro* como la prueba de AMES para mutagenicidad. Por último, todos los compuestos muestran probabilidades de ocasionar lesión Hepática Inducida por Fármacos (DILI).

Si bien la presencia del grupo nitro en los compuestos diseñados representa una alerta estructural a priori, y por ende estos programas arrojan valores poco satisfactorios, existen múltiples nitrocompuestos en la terapéutica como el metronidazol, nitazoxanida, etc. Que a pesar de que se han reportado como fármacos mutagénicos y cancerígenos en la mayoría de las herramientas *in silico* que predicen subestructuras potencialmente tóxicas, estos exhiben una toxicidad intrínseca muy baja e índices de selectividad superiores a 600 (índice de selectividad = células de mamíferos CC₅₀/parásitos IC₅₀) como es el caso de la nitaxozanida, a esta clase de compuestos con dichas características se les ha acuñado el termino de 'toxicity cliffs'.⁶⁰

7.2.3.3 Toxicidad aguda (DL₅₀) y categoría OECD

Tabla 26. Predicción de la dosis letal media (DL₅₀) y de la clasificación de la OECD⁶¹

	DL ₅₀ mg/kg				
Compuesto	Rata		Ratón		Categoría
	IP	PO	IP	PO	OECD
ALD-1	550	710	680	740	IV
ALD-2	1000	740	600	710	IV
ALD-3	1200	360	510	660	IV
ALD-4	950	500	680	760	IV
ALD-5	470	400	690	870	IV
ALD-6	840	450	850	680	IV
ALD-7	470	910	700	840	IV
ALD-8	820	1500	830	1000	IV
Metronidazol					

Categoría	Rango de la DL ₅₀	Clasificación
I	DL ₅₀ ≤ 5mg/kg	Altamente tóxico
II	5 mg/kg < DL ₅₀ ≤ 50 mg/kg	Muy tóxico
III	50 mg/kg < DL ₅₀ ≤ 300 mg/kg	Tóxica
IV	300 mg/ kg < DL ₅₀ ≤ 2000 mg/kg	Toxicidad moderada
V	2000 mg/kg < DL ₅₀ ≤ 5000 mg/kg	Sin peligro

En la tabla 25 puede observarse que todos los compuestos diseñados en este proyecto se clasifican de acuerdo con su DL₅₀ dentro de la categoría 4 donde se encuentra la mayoría de los fármacos disponibles en el mercado. Sin embargo, es importante recordar que los ensayos *in silico* no remplazan a los ensayos biológicos, por lo tanto, se debe considerar que estimaciones deben complementarse al realizar pruebas biológicas para la determinación de la toxicidad de los compuestos diseñados.

7.2.4 Perfil farmacodinámico

7.2.4.1 Posible actividad biológica (PASSonline)

En la **Tabla 26** se observa que todos los compuestos **ALD 1-8**, mostraron probabilidades discretas de tener alguna actividad antiprotzoaria, sin embargo, es necesario comentar que debido a que los compuestos diseñados en este proyecto se presentan como moléculas novedosas, el programa PASSonline no obtuvo moléculas de referencia en su base de datos para llevar a cabo una relación estructura actividad y a partir de esto generar un mayor porcentaje de probabilidad de algún efecto antiparasitario.

Tabla 27. Predicción de actividad de los compuestos **ALD 1-8**

ALD-1	
Actividad/proteína	Pa (%)
Antiparasitario	55.5
Antiprotzoario	22.4
Antiprotzoario (<i>Trichomonas</i>)	34.7
ALD-2	
Actividad/proteína	Pa (%)
Antiparasitario	43.4
Antiprotzoario	24.1
Antiprotzoario (<i>Trichomonas</i>)	18.9
ALD-3	
Actividad/proteína	Pa (%)
Antiparasitario	56
Antiprotzoario	23.3
Antiprotzoario (<i>Trichomonas</i>)	35.3
ALD-4	
Actividad/proteína	Pa (%)
Antiparasitario	60.5
Antiprotzoario	26.9
Antiprotzoario (<i>Trichomonas</i>)	33.1
ALD-5	
Actividad/proteína	Pa (%)
Antiparasitario	55.7
Antiprotzoario	21.1
Antiprotzoario (<i>Trichomonas</i>)	31.5
ALD-6	
Actividad/proteína	Pa (%)
Antiparasitario	37.3
Antiprotzoario	0
Antiprotzoario (<i>Trichomonas</i>)	27.9
ALD-7	
Actividad/proteína	Pa (%)
Antiparasitario	52.8
Antiprotzoario	23.1
Antiprotzoario (<i>Trichomonas</i>)	30
ALD-8	
Actividad/proteína	Pa (%)

Antiparasitario	51.9
Antiprotozoario	0
Antiprotozoario (<i>Trichomonas</i>)	20.7
MTZ	
Actividad/proteína	Pa (%)
Antiparasitario	51%
Antiprotozoario	85%
Antiprotozoario (<i>Trichomonas</i>)	96%
ABZ	
Actividad/proteína	Pa (%)
Antiparasitario	81%
Antiprotozoario	0
Antiprotozoario (<i>Trichomonas</i>)	0

7.2.5 Acoplamiento molecular automatizado sobre la proteína PFOR

Se realizó el acoplamiento molecular refinado de los compuestos con la proteína PFOR usando el programa MOE y el archivo 1L5P que fue obtenido de la base de datos Protein Data Bank (PDB) correspondiente a la enzima Piruvato Ferredoxina Oxido Reductasa. En el ensayo de acoplamiento molecular se corrieron 100 salidas con cada compuesto por triplicado.

Para validar el método y evaluar la repetibilidad y confiabilidad del experimento computacional, se llevó a cabo la validación, en donde un valor de RMSD menor a 2 Å indica que los resultados son confiables y que la simulación está validada.

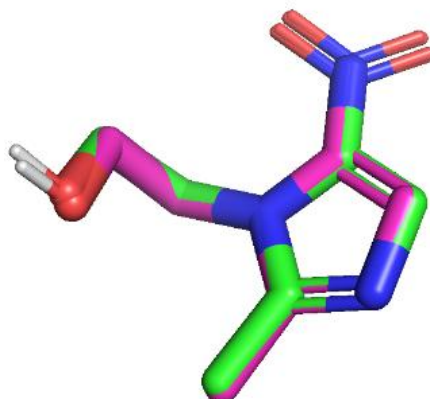


Figura 37. Validación del acoplamiento molecular de metronidazol sobre PFOR.

Tabla 28. Validación del acoplamiento molecular dirigido.

Acoplamiento Molecular en MOE		
Compuesto	Scoring (Kcal/mol)	RMSD (Å)
Metronidazol	-4.435 ± 0.057	0.889 ± 0.005

En el acoplamiento molecular, el metronidazol mostró una energía de unión de -4.435 Kcal/mol y valor de RMSD de 0.889 Å validando así el método. Para visualizar los datos de manera gráfica, en la figura se muestra que el Metronidazol que se reacopló (color verde) adoptó la misma posición a su estructura cristalográfica (color magenta). En la figura 34 se observa el diagrama 3D y 2D, en este último se observan interacciones con los residuos de Lys46, Met332 y Ser33.

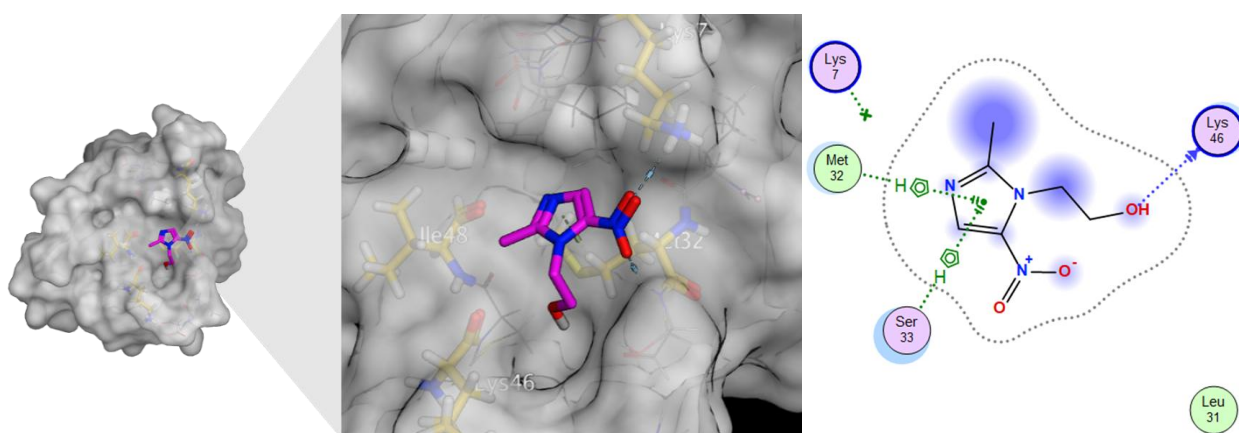


Figura 38. (A) representación 3D acoplamiento molecular del metronidazol y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el metronidazol y la enzima PFOR.

Los resultados de los acoplamientos realizados de los compuestos **ALD 1-8** sobre la proteína PFOR se muestran en la **Tabla 28**.

Tabla 29 Acoplamiento molecular refinado de los compuestos con la proteína PFOR.

Compuesto / referencia	Score (Kcal/mol)	Ranking
ALD-1	-5.246 ± 0.000	7
ALD-2	-5.426 ± 0.004	2
ALD-3	-5.275 ± 0.002	5

ALD-4	-5.236± 0.001	8
ALD-5	-5.714 ± 0.000	1
ALD-6	-5.353 ± 0.002	3
ALD-7	-5.285 ± 0.000	4
ALD-8	-5.261 ± 0.031	6
Metronidazol	-4.435 ± 0.057	

En la **Figura 39** AB se observa el acoplamiento molecular del compuesto **ALD-1** con un ΔG de -5.246 kcal/mol, presentando este compuesto dos de las interacciones esperadas con Met 32 interaccionando con el anillo de benceno. En cuando a Lys 46 esta presenta una interacción polar con el oxígeno del grupo nitro de la molécula, así como otra interacción con el residuo de Ile48.

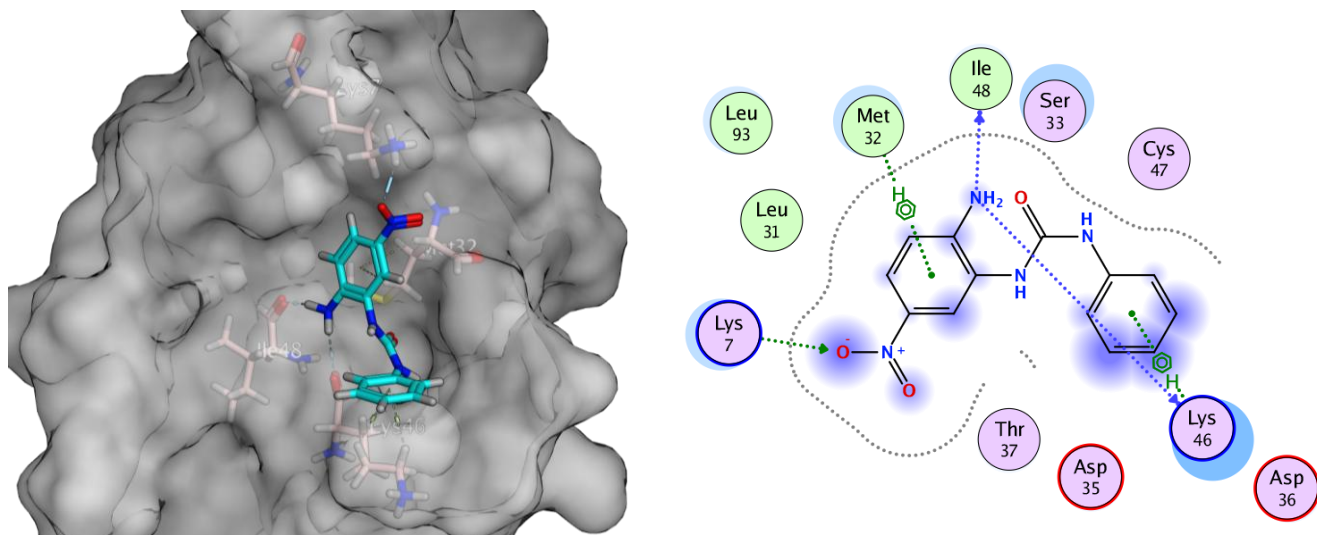


Figura 39. (A) representación 3D acoplamiento molecular de compuesto **ALD-1** y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el compuesto **ALD-1** y la enzima PFOR.

En la **Figura 40** AB se observa el acoplamiento molecular del compuesto **ALD-2** con un ΔG de -5.436 kcal/mol, presentando este compuesto interacciones esperadas con Lys46 interaccionando con un puente de hidrogeno. En cuando a Lys7 esta presenta una interacción polar con el oxígeno del grupo nitro de la molécula, así como otra interacción con el residuo de Ile48.

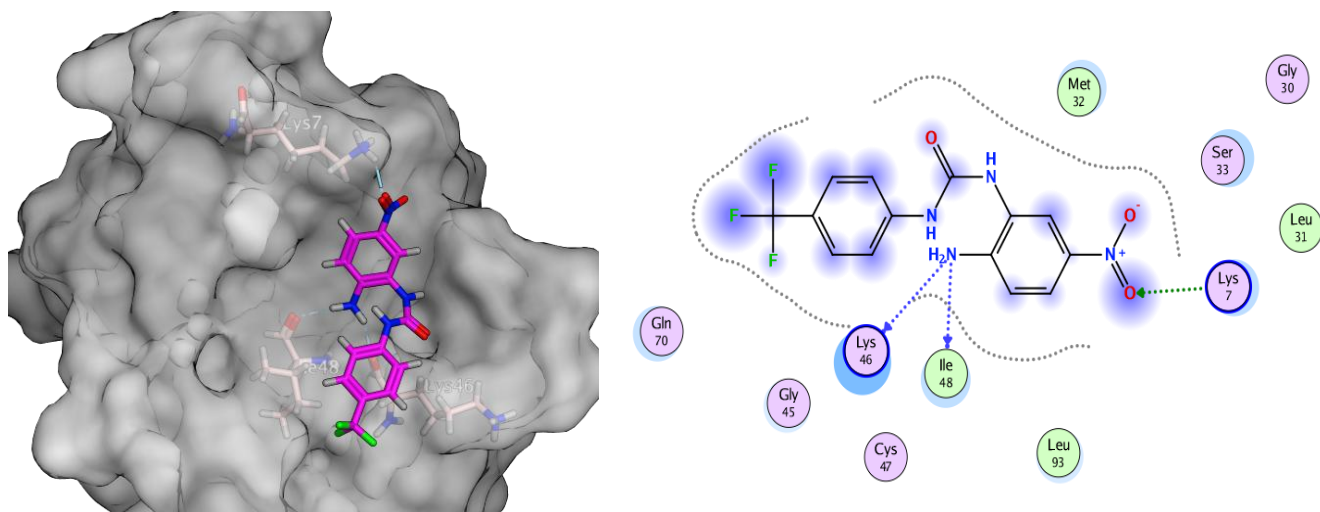


Figura 40. (A) representación 3D acoplamiento molecular de compuesto **ALD-2** y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el compuesto **ALD-2** y la enzima PFOR.

En la **Figura 41** AB se observa el acoplamiento molecular del compuesto **ALD-3** con un ΔG de -5.275 kcal/mol, presentando este compuesto interacción de un residuo de Ile48 y el anillo de benceno. En cuando a Lys 46 esta presenta una interacción polar con el oxígeno del grupo nitro de la molécula, así como otra interacción parecida con el residuo Lys50.

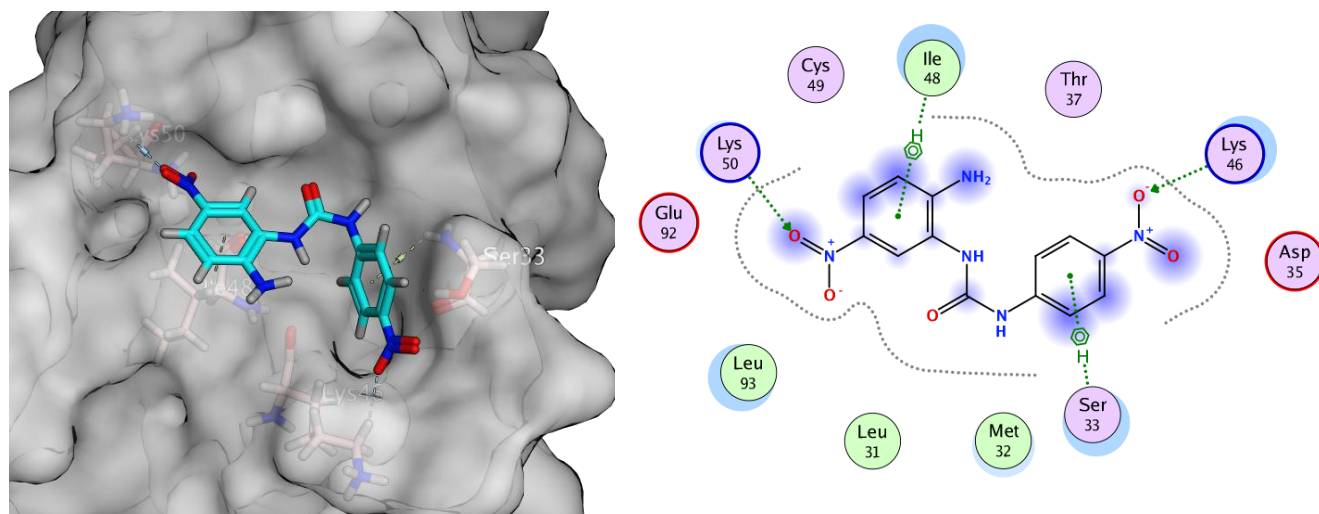


Figura 41. (A) representación 3D acoplamiento molecular de compuesto **ALD-3** y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el compuesto **ALD-3** y la enzima PFOR.

En la **Figura 42** AB se observa el acoplamiento molecular del compuesto **ALD-4** con un ΔG de -5.236 kcal/mol, presentando este compuesto interacciones esperadas con Ser33 interaccionando con el anillo de benceno. En cuando a Lys46 esta presenta una interacción polar con la amina de la molécula, así como otra interacción polar del oxígeno del grupo nitro de la molécula con el residuo de Lys50.

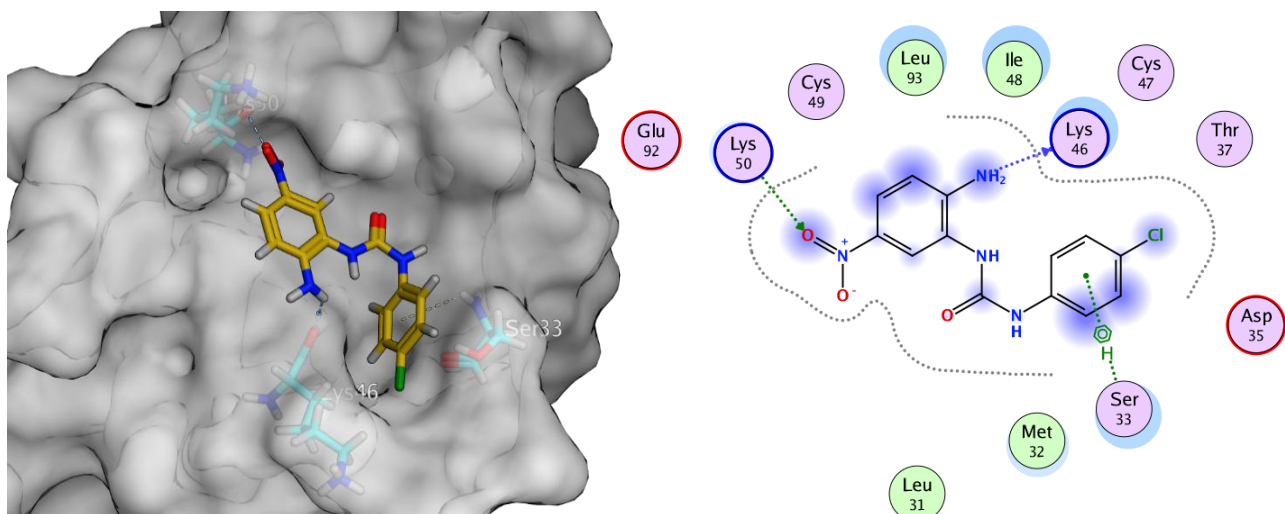


Figura 42. (A) representación 3D acoplamiento molecular de compuesto **ALD-4** y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el compuesto **ALD-4** y la enzima PFOR.

En la **Figura 43** AB se observa el acoplamiento molecular del compuesto **ALD-5** con un ΔG de -5.714 kcal/mol, mostrando interacciones con Ser33 interaccionando con el anillo de benceno. En cuando a Lys 46 presenta una interacción polar, así como otra interacción con el residuo de Lys50 que presenta una interacción polar con el oxígeno del grupo nitro de la molécula.

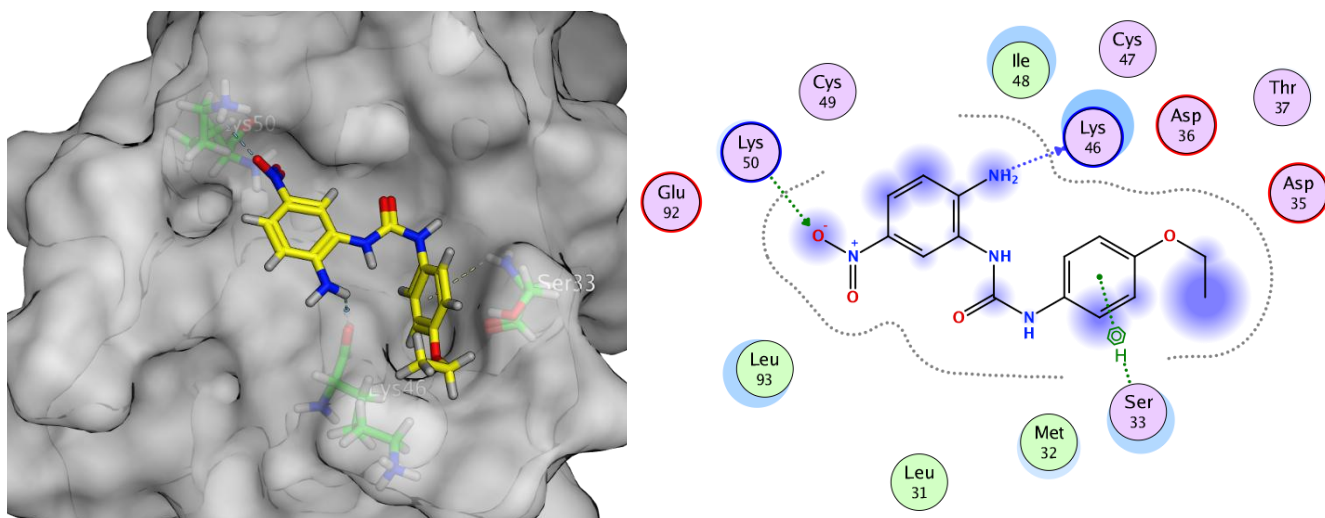


Figura 43. (A) representación 3D acoplamiento molecular de compuesto **ALD-5** y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el compuesto **ALD-5** y la enzima PFOR.

En la **Figura 44** AB se observa el acoplamiento molecular del compuesto **ALD-6** con un ΔG de -5.353 kcal/mol, mostrando interacciones con Met32 interaccionando con el anillo de benceno. En cuando a los residuos de Lys 46 y ILe48 presentan interacciones polares, así como otra interacción con el residuo de Lys7 que presenta una interacción polar con el oxígeno del grupo nitro de la molécula.

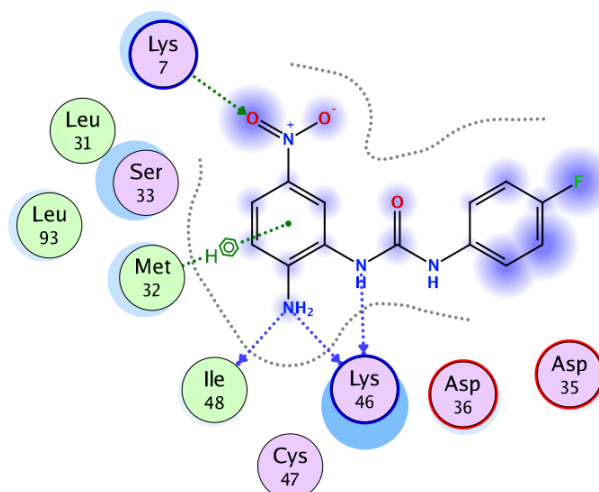
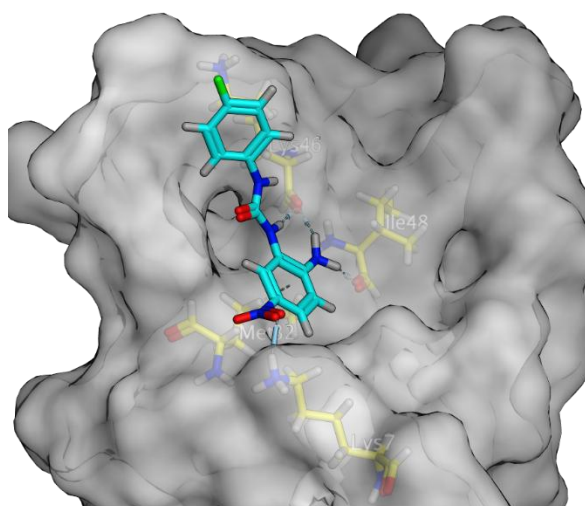


Figura 44. (A) representación 3D acoplamiento molecular de compuesto **ALD-6** y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el compuesto **ALD-6** y la enzima PFOR.

En la **Figura 45** AB se observa el acoplamiento molecular del compuesto **ALD-7** con un ΔG de -5.285 kcal/mol, mostrando interacciones con Ser33 interaccionando con el anillo de benceno. En cuando a Lys 46 presenta una interacción polar, así como otra interacción con el residuo de Lys50 que presenta una interacción polar con el oxígeno del grupo nitro de la molécula

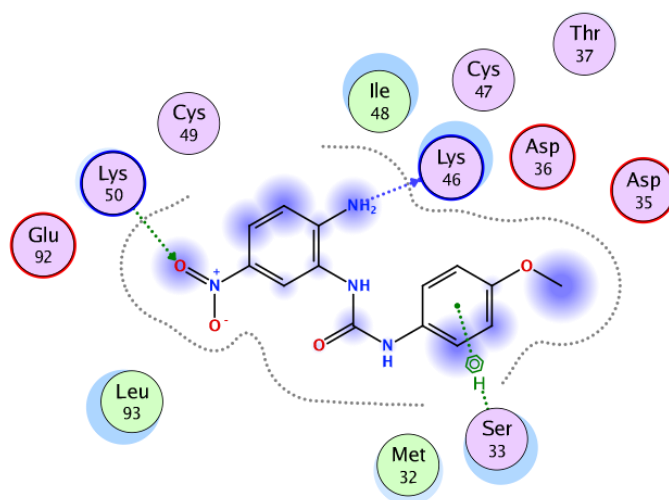
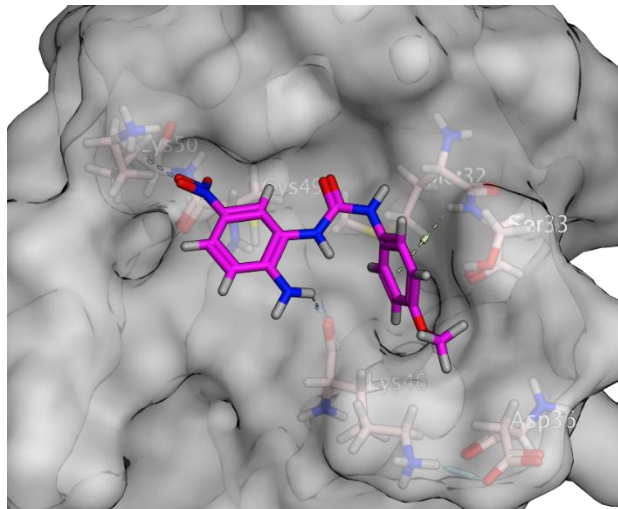


Figura 45. (A) representación 3D acoplamiento molecular de compuesto **ALD-7** y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el compuesto **ALD-7** y la enzima PFOR.

En la **Figura 46** AB se observa el acoplamiento molecular del compuesto **ALD-6** con un ΔG de -5.261 kcal/mol, mostrando interacciones con Ser33 e Ile48 interaccionando con los anillos de benceno de cada extremo, así como otra interacción con el residuo de Lys7 que presenta una interacción polar con el oxígeno del grupo nitro de la molécula.

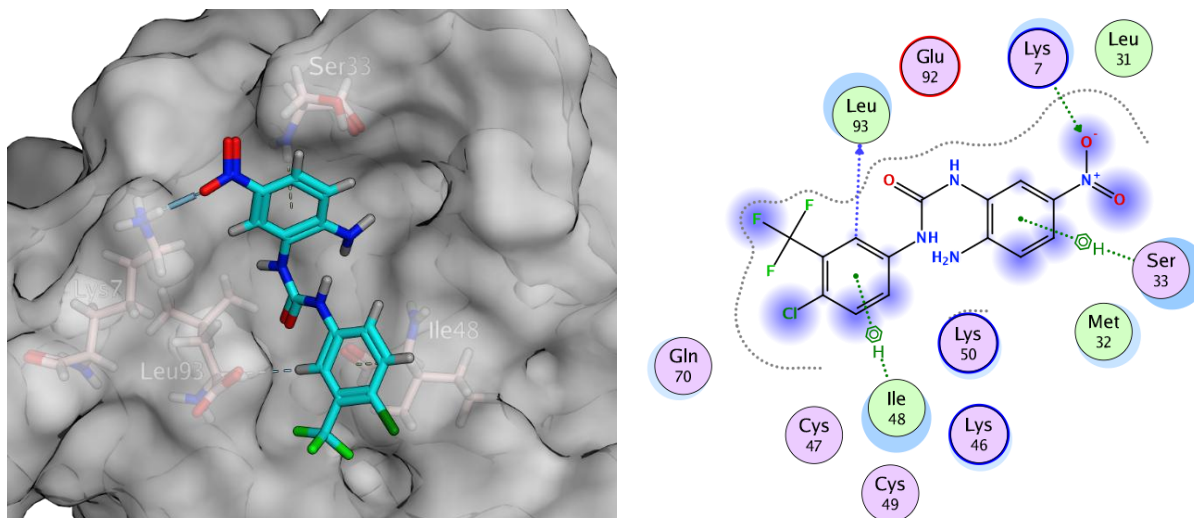


Figura 46. (A) representación 3D acoplamiento molecular de compuesto **ALD-8** y la enzima PFOR. (B) representación 2D de las interacciones entre el compuesto **ALD-8** y la enzima PFOR.

7.2.6 Análisis de consenso farmacológico para la selección de un líder computacional seguro

En el análisis de consenso farmacológico (**Tabla 29**) se resumieron todos los datos recabados en la evaluación *in silico* de las propiedades biofarmacéuticas, farmacocinéticas, farmacodinámicas y toxicológicas de los compuestos diseñados en este proyecto. El propósito del consenso es la selección de hits computacionales seguros para priorizar su síntesis y bioevaluación con base los resultados obtenidos en cada una de las categorías. Los resultados se muestran en la tabla representados con un código de colores tipo semáforo que indica lo siguiente: **Color verde**: resultado muy satisfactorio; **Color amarillo**: resultado satisfactorio; y **Color rojo**: resultado poco satisfactorio. Para cada color se ha asignado un valor numérico, facilitando así la selección de los hits computacionales seguros. Para el color verde, se asigna un valor de 1, para el color amarillo se asigna el valor de 0, y para el color rojo se asigna el valor -1. Como se muestra en la tabla, los compuestos presentaron buenas propiedades biofarmacéuticas, los compuestos mostraron alertas en cuanto a la solubilidad, sin embargo, esta propiedad podría modificarse o mejorarse.

En la evaluación de las propiedades farmacocinéticas todos los compuestos mostraron buenas propiedades predictivas, solo el $T_{1/2}$ mostraron valores poco favorables. En el perfil farmacodinámico todos los compuestos presentaron buenas energías de unión en el ensayo de acoplamiento molecular.

En la parte toxicológica, todos los compuestos presentaron probabilidades intermedias de ser bloqueadores de los canales hERG, quienes están estrechamente relacionados con síndrome de QT largo y cardiotoxicidad. Finalmente, en este mismo perfil, los compuestos presentaron probabilidades intermedias y altas de ser mutagénicos y carcinogénicos y valores bajos de llegar a causar toxicidad aguda.

A partir de los datos obtenidos y los argumentos anteriormente mencionados se hizo un punto de corte en valor numérico de 9, por lo tanto, se optó por priorizar la síntesis y bioevaluación de la mayoría de los compuestos así mismo teniendo en cuenta la disponibilidad de materias primas.

Tabla 30 Análisis de consenso farmacológico de los compuestos **ALD-8**

	Compuestos									
	ALD-1	ALD-2	ALD-3	ALD-4	ALD-5	ALD-6	ALD-7	ALD-8	MTZ	ABZ
	Perfil Fisicoquímico y biofarmacéutico									
Lipinski										
Log D _{7.4}										
Solubilidad										
Permeabilidad										
	Perfil farmacocinético									
HIA										
BHE										
Sustrato Pgp										
Inhibidor de 3A4										
Biodisponibilidad										
Unión a proteínas (PPB)										
T 1/2										
	Perfil farmacodinámico									
Actividad (%)										
Docking MOE										
	Perfil toxicológico									
Bloqueo de canales hERG (%)										
Mutagenicidad										
Carcinogenicidad										
Toxicidad aguda										
Puntaje	10	9	8	9	9	10	9	8		

HIA= Absorción intestinal; BHE= Barrera hematoencefálica

Resultado muy satisfactorio (+1)

Resultado satisfactorio (0)

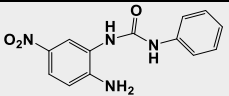
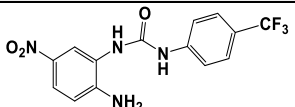
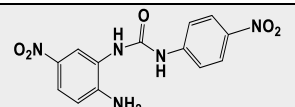
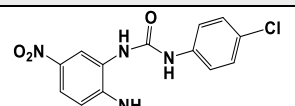
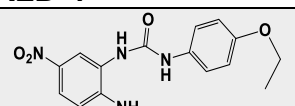
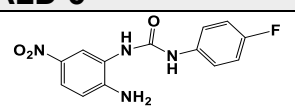
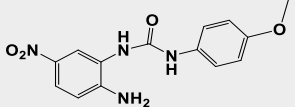
Resultado poco satisfactorio (-1)

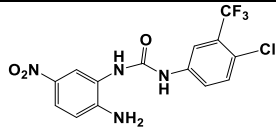
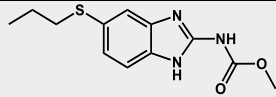
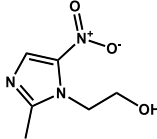
7.3 Parte biológica

Una vez sintetizados y caracterizados, los compuestos se enviaron a evaluación de su efecto antiprotozoario que fue determinado especialmente en el Instituto de Pediatría de la Ciudad de Mexico bajo la tutela del Dr. Saul González Manso y la Dra. Beatriz Hernández Ochoa.

A continuación, se presenta el efecto antiprotozoario de los compuestos evaluados **ALD 1-8**, en Concentraciones Inhibitorias medias (CI₅₀) valores µM, frente a, *G. intestinalis* y *T.vaginalis*. Los resultados se compararon con la CI₅₀ de Albendazol el cual se utilizó como control positivo.

Tabla 31. Concentración inhibitoria media (CI₅₀) contra *G. intestinalis* y *T. vaginalis* de los compuestos **ALD 1-8** y albendazol.

Compuesto	CI ₅₀ ± SD (µM) <i>T. vaginalis</i>	CI ₅₀ ± SD (µM) <i>G. intestinalis</i>
 ALD-1	10.0 ± 0.52	32.78 ± 2.8
 ALD-2	181.6 ± 9.2	18.15 ± 0.84
 ALD-3	16.9 ± 1.02	39.85 ± 1.9
 ALD-4	13.33 ± 0.8	155.2 ± 8.8
 ALD-5	10.13 ± 0.6	204.4 ± 11.2
 ALD-6	9.19 ± 0.5	204.2 ± 10.4
 ALD-7	31.10 ± 1.5	236.6 ± 13.1

 ALD-8	99.73 ± 4.2	28.81 ± 1.0
 ALBENDAZOL	16.34 ± 1.0	0.0216 ± 0.001
 METRONIDAZOL	10.62 ± 1.30	3.5 ± 0.91

Se determinó experimentalmente la concentración inhibitoria media (Cl₅₀) de los compuestos **ALD 1-8** frente a *G. intestinalis*. Todos los compuestos obtuvieron valores *in vitro* pobres de Cl₅₀ en comparación con el albendazol y metronidazol que mostraron un Cl₅₀ de 0.0216 µM y 3.5 ± 0.91 µM respectivamente. De acuerdo con estos valores, los compuestos **ALD-1**, **ALD-2**, **ALD-3** y **ALD-8** se encuentran clasificados como compuestos ordinarios > 10 µM y los compuestos **ALD 4-7** como inactivos.

Así mismo, se determinó la concentración inhibitoria media (Cl₅₀) de los compuestos **ALD 1-8** frente a *T. vaginalis*.

De acuerdo con los resultados presentados en la **Tabla 30**, se muestran los valores de Cl₅₀ de los compuestos **ALD 1-8** contra *T. vaginalis*. Los compuestos **ALD-1**, **ALD-5** y **ALD-6** presentaron actividad contra *T. vaginalis*, se puede observar que son equipotentes y que estos se catalogan como *hits* experimentales a partir de los valores encontrados en el rango micromolar de Cl₅₀ presentados contra *T. vaginalis*.

En la **Figura 47** se muestra la gráfica de la potencia relativa de **ALD 1-8** vs Albendazol en cuanto a la actividad frente a *T. vaginalis*, donde el compuesto **ALD-3** exhibió ser equipotente con albendazol, **ALD-1** mostro 1.6 veces más potencia que Albendazol el fármaco de referencia, **ALD-4** presento 1.2 veces más potencia que albendazol, **ALD-5** fue 1.6 veces más potente que el compuesto de referencia y finalmente **ALD-6** fue 1.7 veces más potente que albendazol, siendo este último el compuesto con mayor actividad trichomonocida de toda la serie.

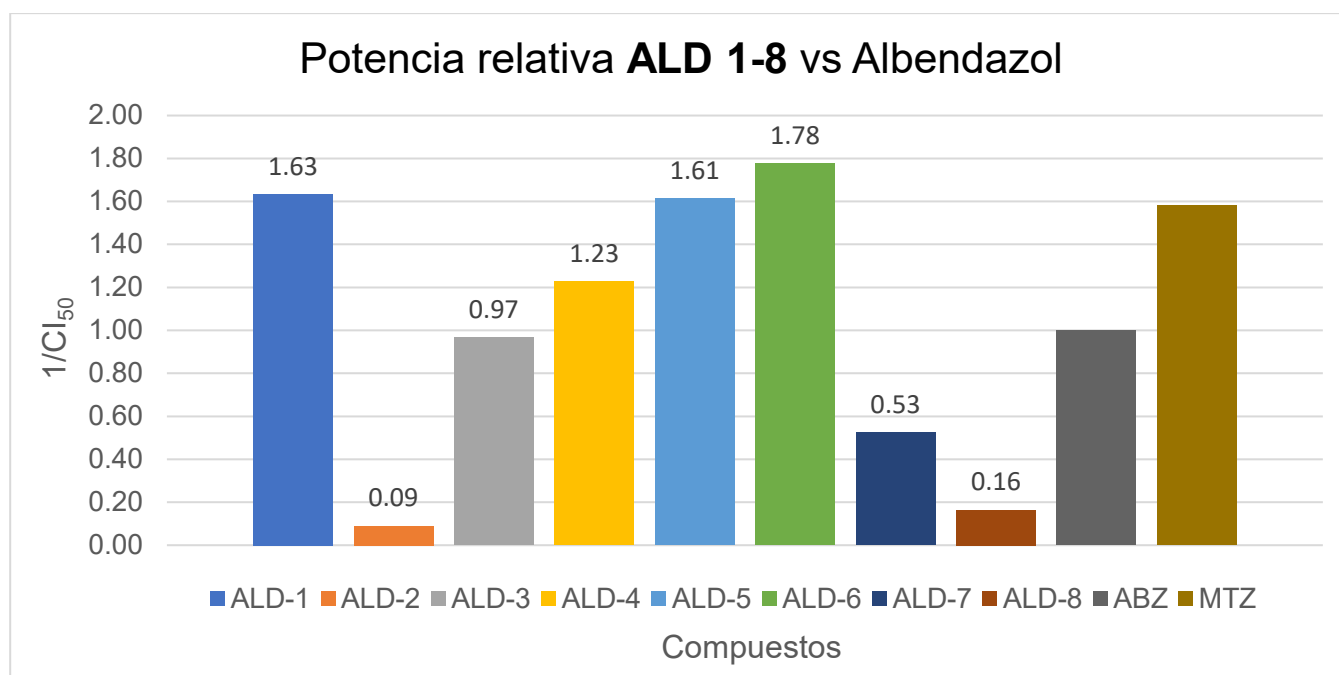


Figura 47. Potencia relativa de los compuestos **ALD 1-8** vs Albendazol frente a *T. vaginalis*.

En la **Figura 48** se muestra la gráfica de la potencia relativa de **ALD 1-8** vs metronidazol en cuanto a la actividad frente a *T. vaginalis*, donde se puede observar que los compuestos **ALD-1**, **ALD-5** y **ALD-6** mostraron ser equipotentes comparados con el metronidazol.

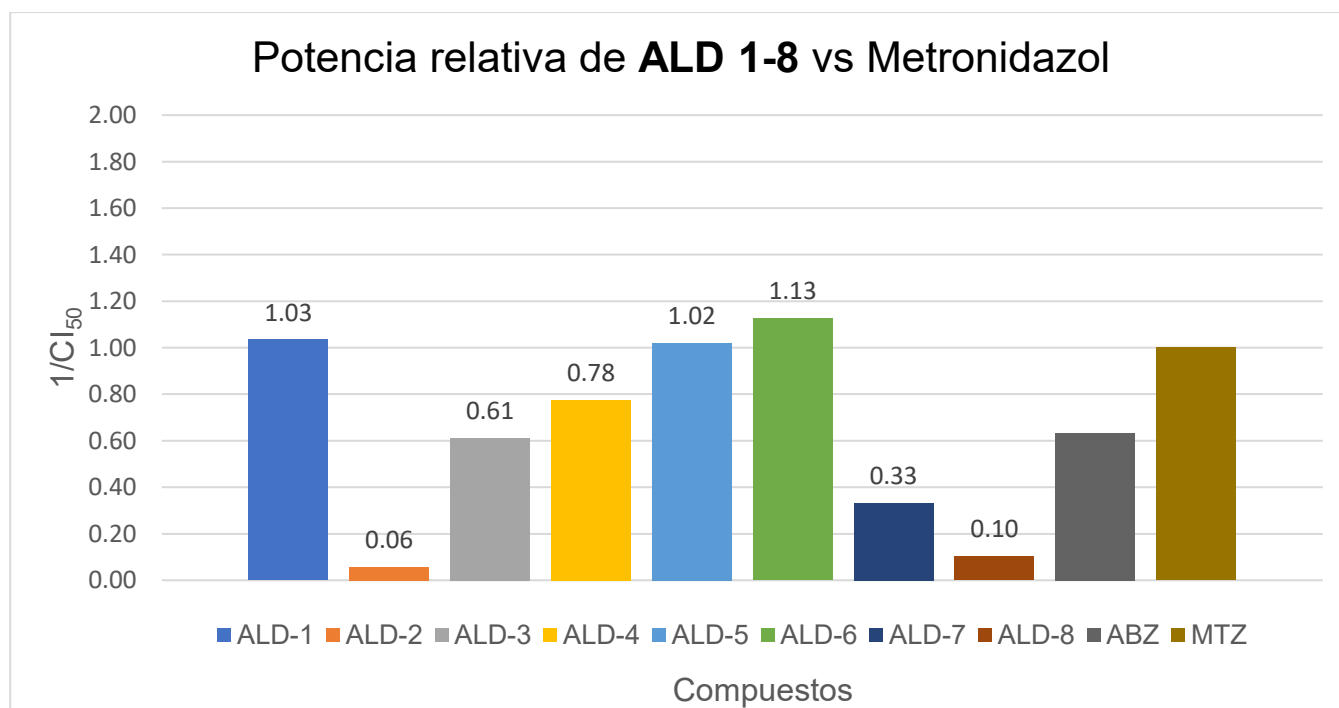


Figura 48. Potencia relativa de los compuestos **ALD 1-8** vs Metronidazol I frente a *T. vaginalis*.

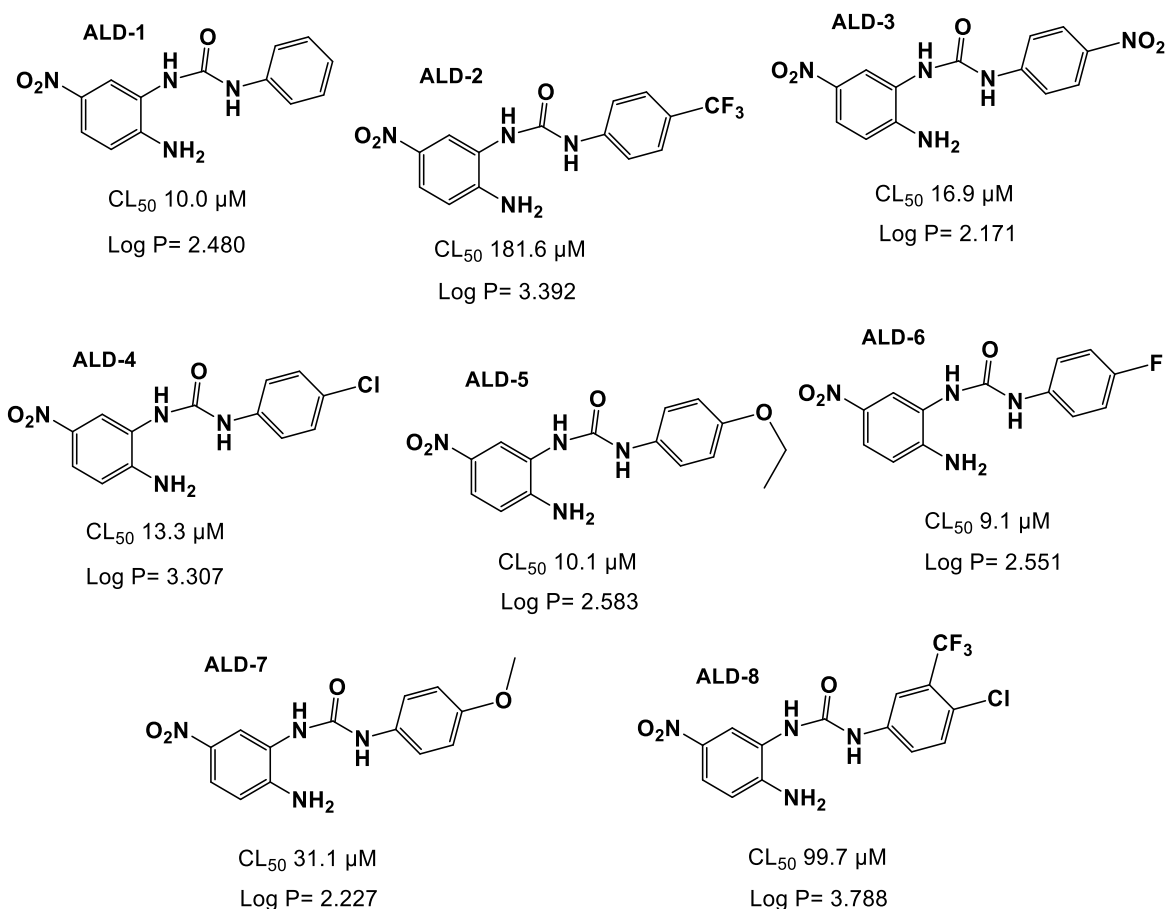


Figura 49. SAR *T. vaginalis*

El análisis SAR vs *T. vaginalis* mostro que la presencia del fluor, un grupo metoxi en los compuesto **ALD-5** y **ALD-6** favorecen a la actividad frente a *T. vaginalis* ya que dichos grupos proporcionan una mayor lipofilicidad a la molécula. Así mismo, si se hace una relación en cuanto a los valores de log P de los compuestos y lo que estos pueden aportar, se observa que los compuestos más activos; **ALD-1**, **ALD-5** y **ALD-6** presentan valores similares de log P y con rangos óptimos de log P para que estos puedan a travesar de manera correcta las membranas celulares de los protozoarios en este caso de trofozoítos de *T. vaginalis*.

8. CONCLUSIONES

- Se sintetizaron, purificaron y caracterizaron 8 compuestos finales mediante técnicas espectroscópicas (RMNde ^1H y ^{13}C).
- Los compuestos **ALD 1-8** presentaron propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas apropiadas en la evaluación *in silico*.
- Se seleccionaron a los compuestos **ALD-1, ALD-2, ALD-4, ALD-5, ALD-6 y ALD-7** como hits computacionales seguros para priorizar su síntesis y su bioevaluación.
- Por su facilidad y disponibilidad, se sintetizaron todos los compuestos con rendimientos finales de discretos a intermedios.
- Los compuestos **ALD-1, ALD-5 y ALD-6** presentaron actividad considerable contra *T. vaginalis* por ende se catalogan como hits experimentales a partir de los valores de CI_{50} en el bajo orden micromolar ($<10\mu\text{M}$) presentados, siendo equipotentes al comparar con el metronidazol, y ligeramente más potentes que el albendazol. Estos compuestos también fueron hits computacionales en el análisis de consenso por lo existe una correlación.
- Finalmente, los compuestos presentaron buenas energías de unión con la enzima PFOR de *T. vaginalis*, por lo que no se descarta la inhibición de esta enzima como posible blanco terapéutico tricomonida.

9. PERSPECTIVAS

- Realizar la caracterización de los compuestos mediante técnicas espectrométricas (Masas-IE).
- Llevar a cabo ensayos de dinámica molecular de los compuestos con mejor actividad tricomonocida con la enzima PFOR.
- Completar la citotoxicidad en células no tumorales de los compuestos más activos y determinar su índice de selectividad.

10. ANEXOS

10.1 Instrumentación

La síntesis de los compuestos **ALD 1-8** se realizaron con reactivos obtenidos comercialmente de Aldrich®.

Para efectuar la síntesis de los compuestos se utilizó una parrilla de calentamiento con agitación magnética marca Science Med. Se utilizaron matraces bola de 10 y 25 mL equipados con agitación magnética. Para llevar las reacciones en condiciones de reflujo, se hizo el uso de refrigerante de vidrio.

La evaporación de los disolventes se llevó a cabo a presión reducida empleando un rotaevaporador de la marca BUCHI R-II, con bomba de vacío marca vacuubrand, modelo vacuum pump, vacío de 100mbar y equipo recirculador enfriador marca PolyScience®, R134A.

Los puntos de fusión (pf) de los compuestos, se midieron en un aparato marca Santford Research System) EZ-Melt, modelo MPA 120, utilizando capilares de vidrio.

10.2 Cromatografía

El monitoreo del avance de las reacciones químicas realizadas se monitoreo por cromatografía en capa fina (ccf) en placas de 2.5 cm x 4 cm recubiertas con sílice gel 60 (Merck- F254).

La visualización se llevó a cabo con lámpara de luz ultravioleta a longitudes de onda de 254/366 nm (entela UVGL-25) y con vapores de yodo.

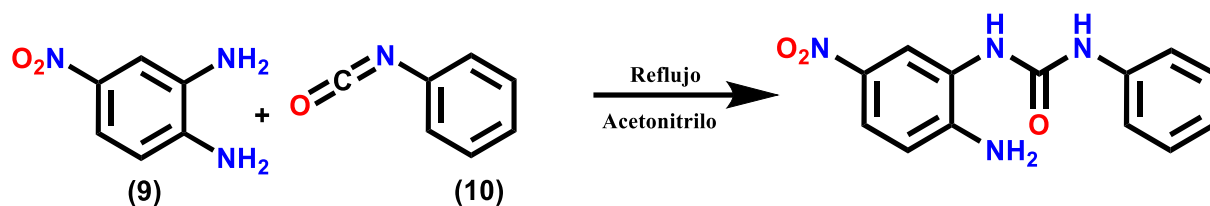
Para la elución de las placas cromatográficas se utilizaron los siguientes sistemas.

Tabla 32 Sistemas de elución utilizados

Sistema	Composición	Proporción
I	CH ₂ Cl ₂ :MeOH	95:05
II	CH ₂ Cl ₂ :MeOH	96:04

10.3 Síntesis de los compuestos finales **ALD 1-8**

10.3.1 Síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-fenilurea (**ALD-1**)

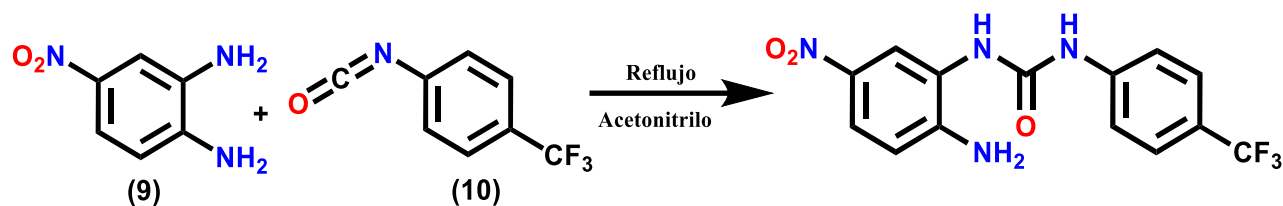


En un matraz bola de 25 mL equipado con parrilla de agitación, embudo de adición de presiones igualadas, se colocaron 3 mL de CH₃CN y 0.200 g (0.0013 mol) de 4-nitrobenceno-1,2-diamina y se dejó en agitación durante 10 minutos. Una vez pasado el tiempo se adicionaron 2 mL de CH₃CN con 0.152 mL (1.1 equivalentes) de isocianato de fenilo gota a gota. Una vez adicionado, se dejó reaccionar a reflujo. La reacción fue monitoreada con CCF a los 60 minutos y posteriormente cada hora usando el sistema I, la duración de la reacción fue de 7 h. Posteriormente se rotaevaporó el disolvente, y una vez eliminado se procedió a añadir con una pipeta Pasteur 5 mL de agua fría al matraz, se dejó en agitación durante 20 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se procedió a filtrar con vacío el precipitado. Se obtuvo un sólido amarillo con un peso de 0.263 g y un rendimiento crudo de 78.7%. El compuesto fue purificado mediante lavados con metanol. Se obtuvo un sólido amarillo con un rendimiento final de 52% y un punto de fusión >280 °C.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ: 6.44 (s, 2H, NH₂), 6.82 (d, 1H, H-3', J_O= 8.7 Hz), 7.03 (t, 1H, H-4, J_O= 8.8 Hz), 7.31 (t, 2H, H-3, H-5, J_O= 8.7 Hz), 7.51 (d, 2H, H-2, H-6, J_O= 8.5 Hz), 7.83 (dd, 1H, H-4', J_m= 2.2 Hz, J_O= 7.9 Hz), 7.91 (s, 1H, 1-NH), 8.32 (d, 1H, H-6', J_O= 2.34 Hz), 8.82 (s, 1H, 2'-NH) ppm.

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 114.21 (C-4), 118.87 (C-3, C-5), 120.48 (C-4'), 122.32 (C-3'), 122.8 (C-6'), 123.54 (C-1), 129.47 (C-2, C-6), 136.77 (C-1'), 140.33 (C-2'), 149.25 (C-5'), 153.68 (C=O) ppm.

10.3.2 Síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-(trifluorometil)fenil)urea (**ALD-2**)

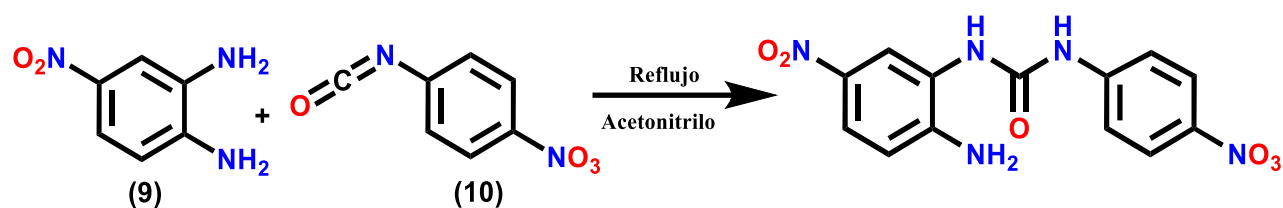


En un matraz bola de 25 mL equipado con parrilla de agitación, embudo de adición de presiones igualadas, se colocaron 3 mL de CH₃CN y 0.150 g (0.000979 mol) de 4-nitrobenceno-1,2-diamina y se dejó en agitación durante 10 minutos. Una vez pasado el tiempo se adicionaron 2 mL de CH₃CN con 0.202 mL (1.1 equivalentes) de Isocianato de 4-(trifluorometil)fenilo gota a gota. Una vez adicionado, se dejó reaccionar a reflujo. La reacción fue monitoreada con CCF a los 60 minutos y posteriormente cada hora usando el sistema II, la duración de la reacción fue de 8 h. Posteriormente se rotaevaporó el disolvente, y una vez eliminado se procedió a añadir con una pipeta Pasteur 5 mL de agua fría al matraz, se dejó en agitación durante 20 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se procedió a filtrar con vacío el precipitado. Se obtuvo un sólido amarillo con un peso de 0.290 g y un rendimiento crudo de 87.0 %. El compuesto fue purificado mediante lavados con metanol. Se obtuvo un sólido amarillo con un rendimiento final de 65% y un punto de fusión con intervalo de 222-225 °C.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ: 6.42 (s, 2H, NH₂), 6.82 (d, 1H, H-3', J_o= Hz), 7.64 (d, 2H, H-3, H-5, J_o= Hz), 7.68 (d, 2H, H-2, H-6, J_o= Hz), 7.85 (dd, 1H, H-5', J_o= Hz), 8.0 (s, 1H, 1-NH), 8.26 (d, 1H, H-6'), 9.21 (s, 1H, 2'-NH) ppm.

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 114.10 (C-3'), 118.30 (C-2, C-6), 120.48 (C-4'), 122.30 (q, C-4, ²JCF₃= 31.96 Hz), 122.70 (C-4'), 122.77 (C-1'), 125.10 (q, CF₃, ¹JCF₃= 269.32 Hz), 126.63 (q, C-3, C-5, ³JCF₃= 3.85 Hz), 136.49 (C-1), 144.03 (C-5'), 149.63 (C-2') 153.40 (C=O) ppm.

10.3.3 Síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-nitrofenil)urea (**ALD-3**)

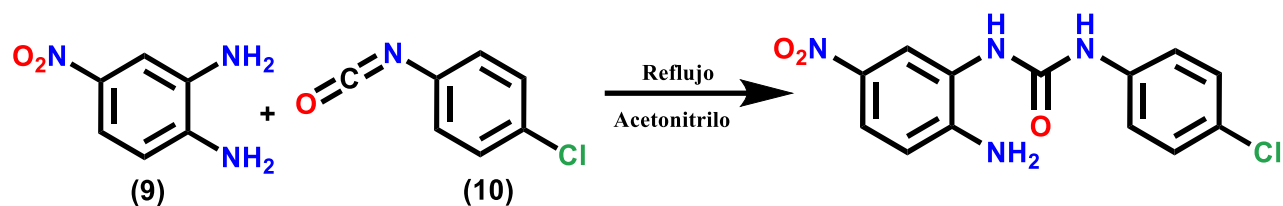


En un matraz bola de 25 mL equipado con parrilla de agitación, embudo de adición de presiones igualadas, se colocaron 3 mL de CH₃CN y 0.200 g (0.000130 mol) de 4-nitrobenceno-1,2-diamina y se dejó en agitación durante 10 minutos. Una vez pasado el tiempo se adicionaron 2 mL de CH₃CN con 0.213 g (1.1 equivalentes) de isocianato de 4-nitrofenilo gota a gota. Una vez adicionado, se dejó reaccionar a reflujo. La reacción fue monitoreada con CCF a los 60 minutos y posteriormente cada hora usando el sistema II, la duración de la reacción fue de 8 h. Posteriormente se rotaevaporó el disolvente, y una vez eliminado se procedió a añadir con una pipeta Pasteur 5 mL de agua fría al matraz, se dejó en agitación durante 20 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se procedió a filtrar con vacío el precipitado. Se obtuvo un sólido amarillo con un peso de 0.310 g y un rendimiento crudo de 74.87%. El compuesto fue purificado mediante lavados con metanol. Se obtuvo un sólido amarillo con un rendimiento final de 51% y un punto de fusión con intervalo de 231-233°C.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ: 6.37 (s, 2H, 1'-NH), 6.78 (d, 1H, H-6', J_O= 8.94 Hz), 7.11 (m, 2H, H-2, H-6), 7.48 (m, 2H, H-3, H-5), 7.82 (dd, 1H, H-5', J_O: 8.94 Hz, J_M: 2.58 Hz), 7.93 (s, 1H, 1-NH), 8.29 (d, 1H, H-3', J_M: 2.64 Hz), 8.81 (s, 1H, 2'-NH) ppm.

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 114.12 (C-6'), 115.75 (C-2, C-6), 115.92 (C-3'), 122.50 (C-3, C-5), 122.32 (C-5'), 123.37 (C-1'), 136.60 (C-4'), 149.27 (C-4), 153.73 (C-1), 157.17 (C=O), 153.40 (C-2') ppm.

10.3.4 Síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-clorofenil)urea (**ALD-4**)

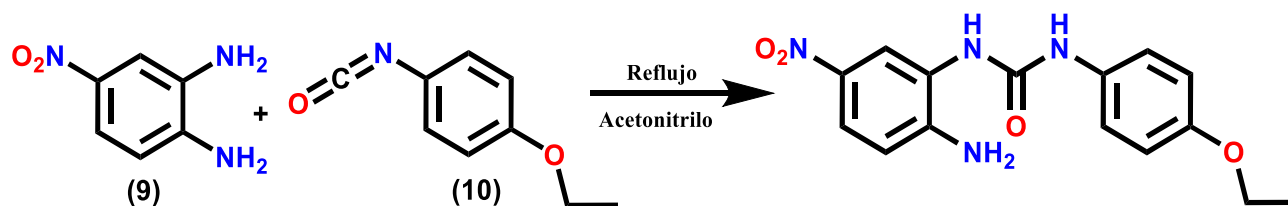


En un matraz bola de 25 mL equipado con parrilla de agitación, embudo de adición de presiones igualadas, se colocaron 3 mL de CH₃CN y 0.150 g (0.000979 mol) de 4-nitrobenceno-1,2-diamina y se dejó en agitación durante 10 minutos. Una vez pasado el tiempo se adicionaron 2 mL de CH₃CN con 0.165 g (1.1 equivalentes) de isocianato de 4-clorofenilo gota a gota, el cual, previamente se mantuvo en agitación por media hora debido a la baja solubilidad de este. Una vez adicionado, se dejó reaccionar a reflujo. La reacción fue monitoreada con CCF a los 60 minutos y posteriormente cada hora usando el sistema II, la duración de la reacción fue de 9 h. Posteriormente se rotaevaporó el disolvente, y una vez eliminado se procedió a añadir con una pipeta Pasteur 5 mL de agua fría al matraz, se dejó en agitación durante 20 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se procedió a filtrar con vacío el precipitado. Se obtuvo un sólido amarillo con un peso de 0.206 g y un rendimiento crudo de 68.66%. El compuesto fue purificado mediante lavados con metanol. Se obtuvo un sólido amarillo con un rendimiento final de 51% y un punto de fusión con intervalo de 218-219°C.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ: 6.39 (s, 2H, 2'-NH), 6.79 (d, 1H, H-3', J_O= 9.0 Hz), 7.33 (d, 2H, H-2, H-6, J_O= 8.94 Hz), 7.51 (d, 2H, H-3, H-5, J_O= 9.94 Hz), 7.83 (dd, 1H, H-4', J_O: 8.94 Hz J_M: 2.64 Hz), 7.96 (s, 1H, 1-NH), 8.28 (d, 1H, H-6', J_M= 2.70 Hz), 8.93 (s, 1H, 1-NH) ppm.

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 114.14 (C-3'), 120.26 (C-2, C-6), 120.81 (C-6'), 122.47 (C-4'), 123.14 (C-4), 125.98 (C-1'), 129.11 (C-3, C-5), 136.60 (C-1), 139.30 (C-5'), 149.42 (C-2'), 153.53 (C=O) ppm.

10.3.5 síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-etoxifenil)urea (**ALD-5**)

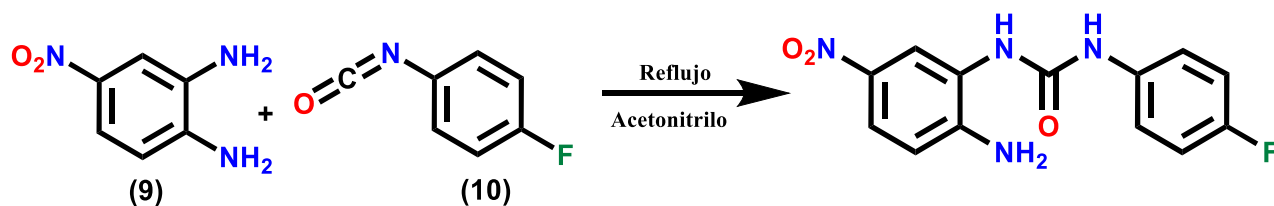


En un matraz bola de 25 mL equipado con parrilla de agitación, embudo de adición de presiones igualadas, se colocaron 3 mL de CH₃CN y 0.100 g (0.0065 mol) de 4-nitrobenceno-1,2-diamina y se dejó en agitación durante 10 minutos. Una vez pasado el tiempo se adicionaron 2 mL de CH₃CN con 0.103 ml (1.1 equivalentes) de isocianato de 4-etoxifenilo gota a gota, el cual, previamente se mantuvo en agitación por media hora debido a la baja solubilidad de este. Una vez adicionado, se dejó reaccionar a reflujo. La reacción fue monitoreada con CCF a los 60 minutos y posteriormente cada hora usando el sistema II, la duración de la reacción fue de 9 h. Posteriormente se rotaevaporó el disolvente, y una vez eliminado se procedió a añadir con una pipeta Pasteur 5 mL de agua fría al matraz, se dejó en agitación durante 20 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se procedió a filtrar con vacío el precipitado. Se obtuvo un sólido amarillo con un peso de 0.148 g y un rendimiento crudo de 72.19%. El compuesto fue purificado mediante lavados con metanol. Se obtuvo un sólido amarillo con un rendimiento final de 50% y un punto de fusión con intervalo de 197-199°C.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ: 1.3 (t, 3H, H-8), 4.0 (q, 2H, H-7), 6.3 (s, 2H, 1'-NH₂), 6.8 (d, 1H, H-6', J_O= 9.0 Hz), 6.9 (d, 2H, H-2, H-6, J_O: 9.15 Hz), 7.4 (d, 2H, H-3, H-5, J_O= 9.0 Hz), 7.8 (dd, 1H, H-5', J_O= 8.85 Hz, J_M= 2.62 Hz), 7.9 (s, H, 1-NH), 8.3 (s, 1H, H-3'), 8.6 (s, 1H, 2'-NH) ppm.

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 15.4 (C-8), 63.8 (C-7), 114.2 (C-6'), 115.2 (C-3, C-5), 120.1 (C-5'), 120.7 (C-2, C-6), 122.1 (C-3'), 123.8 (C-1'), 133.30 (C-4), 136.8 (C-1), 149.0 (C-4'), 153.8 (C-2'), 154.5 (C=O) ppm.

10.3.6 síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-fluorofenil)urea (**ALD-6**)

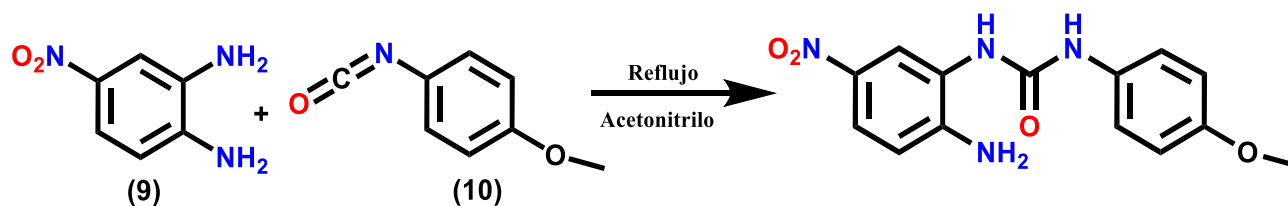


En un matraz bola de 25 mL equipado con parrilla de agitación, embudo de adición de presiones igualadas, se colocaron 3 mL de CH₃CN y 0.100 g (0.0065 mol) de 4-nitrobenceno-1,2-diamina y se dejó en agitación durante 10 minutos. Una vez pasado el tiempo se adicionaron 2 mL de CH₃CN con 0.080 ml (1.1 equivalentes) de isocianato de 4-fluorobenceno gota a gota. Una vez adicionado, se dejó reaccionar a reflujo. Después de agregar 30 % más de 1-fluoro-4-isocianatobenceno ya que este se había consumido casi totalmente y aun había 4-nitrobenceno-1,2-diamina. La reacción fue monitoreada con CCF a los 60 minutos y posteriormente cada hora usando el sistema II, la duración de la reacción fue de 9 h. Posteriormente se rotaevaporó el disolvente, y una vez eliminado se procedió a añadir con una pipeta Pasteur 5 mL de agua fría al matraz, se dejó en agitación durante 20 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se procedió a filtrar con vacío el precipitado. Se obtuvo un sólido amarillo con un peso de 0.153 g y un rendimiento crudo de 81.38%. El compuesto fue purificado mediante lavados con metanol/ acetona. Se obtuvo un sólido amarillo con un rendimiento final de 61% y un punto de fusión de > 280 °C.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ: 6.3 (s, 2H, 2'-NH), 6.79 (d, 1H, H-3', J_O= 9.0 Hz), 7.1 (m, 2H, H-3, H-5), 7.4 (m, 2H, H-2, H-6), 7.83 (dd, 1H, H-4', J_O: 9.0 Hz, J_M: 2.76 Hz), 7.9 (s, 1H, 1-NH), 8.2 (d, 1H, H-6', J_M= 2.76 Hz), 8.8 (s, 1H, 1'-NH) ppm.

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 114.06 (C-3'), 115.75 (C-3, C-5, ²J_{CF}: 22.0 Hz), 120.40 (C-2, C-6, ³J_{CF}: 7.89 Hz), 120.55 (C-4'), 122.30 (C-6'), 123.30 (C-2'), 136.56 (C-1'), 149.26 (C-5'), 153.66 (C=O), 149.42 (C-2'), 157.90 (C-4, ¹J_{CF}: 236.64 Hz) ppm.

10.3.7 síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-metoxifenil)urea (**ALD-7**)

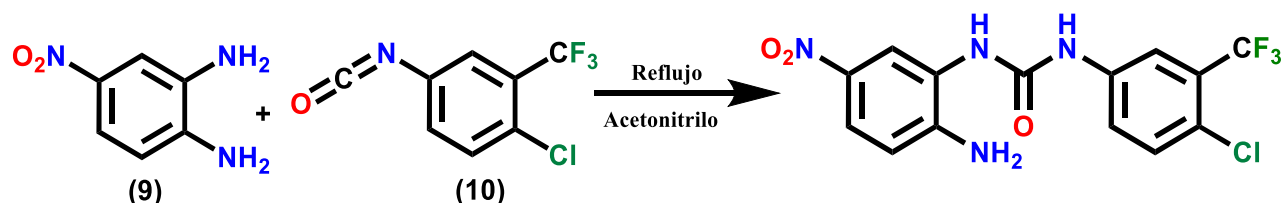


En un matraz bola de 25 mL equipado con parrilla de agitación, embudo de adición de presiones igualadas, se colocaron 3 mL de CH₃CN y 0.200 g (0.00130 mol) de 4-nitrobenceno-1,2-diamina y se dejó en agitación durante 10 minutos. Una vez pasado el tiempo se adicionaron 2 mL de CH₃CN con 0.080 ml (1.1 equivalentes) de isocianato de 4-metoxifenilo gota a gota. Una vez adicionado, se dejó reaccionar a reflujo. Después de agregar 30 % más de 1-isocianato-4-metoxibenceno ya que este se había consumido casi totalmente y aun había 4-nitrobenceno-1,2-diamina. La reacción fue monitoreada con CCF a los 60 minutos y posteriormente cada hora usando el sistema II, la duración de la reacción fue de 8 h. Posteriormente se rotaevaporó el disolvente, y una vez eliminado se procedió a añadir con una pipeta Pasteur 5 mL de agua fría al matraz, se dejó en agitación durante 20 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se procedió a filtrar con vacío el precipitado. Se obtuvo un sólido amarillo con un peso de 0.288 g y un rendimiento crudo de 73.46 %. El compuesto fue purificado mediante lavados con metanol/acetona. Se obtuvo un sólido amarillo con un rendimiento final de 63% y un punto de fusión de 216-217 °C.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ: 3.7 (s, 3H, CH₃), 6.3 (s, 2H, 1-NH), 6.7 (d, 1H, H-6', J_O= 7.7 Hz), 6.8 (d, 2H, H-2, H-6, J_O=7.5 Hz), 7.3 (d, 2H, H-3, H-5, J_O: 7.45 Hz), 7.8 (dd, 1H, H-5', J_O=9.02 Hz, J_M= 2.64 Hz), 7.87 (s, 1H, 1-NH), 8.3 (d, 1H, H-3', J_M= 2.82 Hz), 8.5 (s, 1H, 2'-NH) ppm.

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 55.7 (C-7), 114.0 (C-6'), 114.5 (C-3, C-5), 120.0 (C-5'), 120.3 (C-2, C-6), 122.0 (C-3'), 123.7 (C-1'), 133.2 (C-4), 136.6 (C-1), 148.9 (C-4'), 153.7 (C-2'), 155.0 (C=O) ppm.

10.3.8 Síntesis de 1-(2-amino-5-nitrofenil)-3-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)urea (**ALD-8**)



En un matraz bola de 25 mL equipado con parrilla de agitación, embudo de adición de presiones igualadas, se colocaron 3 mL de CH₃CN y 0.100 g (0.0065 mol) de 4-nitrobenceno-1,2-diamina y se dejó en agitación durante 10 minutos. Una vez pasado el tiempo se adicionaron 2 mL de CH₃CN con 0.080 ml (1.1 equivalentes) de isocianato de 4-clo-3-trifluorofenilo gota a gota. Una vez adicionado, se dejó reaccionar a reflujo. Después de agrego 30 % más de 1-fluoro-4-isocianatobenceno ya que este se había consumido casi totalmente y aun había 4-nitrobenceno-1,2-diamina. La reacción fue monitoreada con CCF a los 60 minutos y posteriormente cada hora usando el sistema II, la duración de la reacción fue de 9 h. Posteriormente se rotaevaporó el disolvente, y una vez eliminado se procedió a añadir con una pipeta Pasteur 5 mL de agua fría al matraz, se dejó en agitación durante 20 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se procedió a filtrar con vacío el precipitado. Se obtuvo un sólido amarillo con un peso de 0.153 g y un rendimiento crudo de 81.38%. El compuesto fue purificado mediante lavados con metanol/ acetona. Se obtuvo un sólido amarillo con un rendimiento final de 61% y un punto de fusión de > 280 NP.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ: 6.44 (s, 2H, 2'-NH₂), 6.79 (d, 1H, H-3', J_O= 9.15 Hz), 7.61 (d, 1H, H-3, J_O= 8.65 Hz), 7.67 (dd, 1H, H-2, J_M=2.75 Hz, J_O= 8.85 Hz), 7.85 (dd, 1H, H-4', J_M: 2.75 Hz, J_O= 8.85 Hz), 8.07 (s, 1H, 1-NH), 8.12 (d, 1H, H-6, J_M= 2.62 Hz), 8.20 (d, 1H, H-6', J_M= 2.62 Hz), 9.27 (s, 1H, 1'-NH) ppm.

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ: 114.30 (C-6'), 117.43 (C-6), 121.83 (C-2), 122.66 (C-1'), 123.10 (C-5'), 123.50 (CF₃), 123.71 (C-3'), 127.49 (C-5), 136.55 (C-1), 140.11 (C-2'), 150.13 (C-4'), 153.72 (C=O) ppm.

11. REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la salud, Enfermedades tropicales desatendidas; Disponible en internet: http://www.who.int/topics/tropical_diseases/qa/faq/es/ <http://www.who.int/features/qa/58/es/> Fecha de consulta: 17/06/26
2. Abdulrazzaq Mohammed Hamood. Review Article- Parasites: Introduction, Classification, Lifecycle and Relationship with their Hosts. International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology. 2021 Mar 28;8(2):141–6.
3. Romero-Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias; Editorial Panamericana 3ª Edición **2007**, p.p 1279-13.
4. Prats G. Microbiología clínica; Editorial Panamericana 1er Edición: p.p 127.
5. M. M. Elbishti L, Fheel Alboom H, Abd Twair F, Akhalleeefah M. Parasite Microorganisms: Their Pathogenesis, Biology, and Prevention Practices. Clinical Research and Studies. 2025 Feb 24;04(01):01–5.
6. Fernández-Núñez, Fernando, Microbiología y Parasitología Medicas; Capítulo 78. Pág. 32.
7. Capela R, Moreira R, Lopes F. An overview of drug resistance in protozoal diseases. Vol. 20, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2019.
8. Burgos LM, Farina J, Liendro MC, Saldarriaga C, Liprandi AS, Wyss F, Mendoza I, Baranchuk A; Neglected Tropical Diseases and other Infectious Diseases affecting the Heart (NET-Heart project): Rationale and Design. Glob Heart. 2020 Sep.
9. Romero Cabello R. Microbiología y parasitología humana: bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. 5a ed. Bogotá: Editorial Médica Panamericana; 2023.
10. Giardiasis (consultado el 16/06/26) Disponible en internet: <https://www.cdc.gov/dpdx/giardiasis/index.html>
11. Uribarren-Berrueta T. Departamento de Microbiología y Parasitología Recursos en Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM. Disponible en Internet:

<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/giardiasis.html> Fecha de consulta: 21/05/24

12. Becerril M. Parasitología Médica; Mc Graw Hill 4ª Edición
13. Ansell BRE, McConville MJ, Ma'ayeh SY, Dagley MJ, Gasser RB, Svärd SG, et al. Drug resistance in *Giardia duodenalis*. Vol. 33, Biotechnology Advances. Elsevier Inc.; 2015. p. 888–901.
14. Dialnet-EpidemiologiaYDiagnosticoEnLatinoamericaDeGiardiaL-9438670. (n.d.).
15. Lagunas-Rangel FA. Exploration of *Giardia* small nucleolar RNAs (snoRNAs) and their possible microRNA derivatives. Parasitology. Cambridge University Press; 2024.
16. Gaona-López C, Martínez-Vázquez AV, Villalobos-Rocha JC, Juárez-Rendón KJ, Rivera G. Analysis of *Giardia lamblia* Nucleolus as Drug Target: A Review. Vol. 16, Pharmaceuticals. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.
17. Klimczak S, Packi K, Rudek A, Wenclewska S, Kurowski M, Kurczabińska D, et al. The Influence of the Protozoan *Giardia lamblia* on the Modulation of the Immune System and Alterations in Host Glucose and Lipid Metabolism. Vol. 25, International Journal of Molecular Sciences. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.
18. Einarsson E, Svärd SG. Encystation of *Giardia intestinalis*—a Journey from the Duodenum to the Colon. Vol. 2, Current Tropical Medicine Reports. Springer Verlag; 2015. p. 101–9.
19. Santos Diéguez, I. (n.d.). Tricomoniasis: una visión amplia. In *IATREIA* (Vol. 27, Issue 2).
20. Boletín Epidemiológico del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Disponible en internet: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/957115/sem44.pdf> fecha de consulta :17/06/2026
21. Riches A, Hart CJS, Trenholme KR, Skinner-Adams TS. Anti- *Giardia* Drug Discovery: Current Status and Gut Feelings. Vol. 63, Journal of Medicinal Chemistry. American Chemical Society; 2020. p. 13330–54.

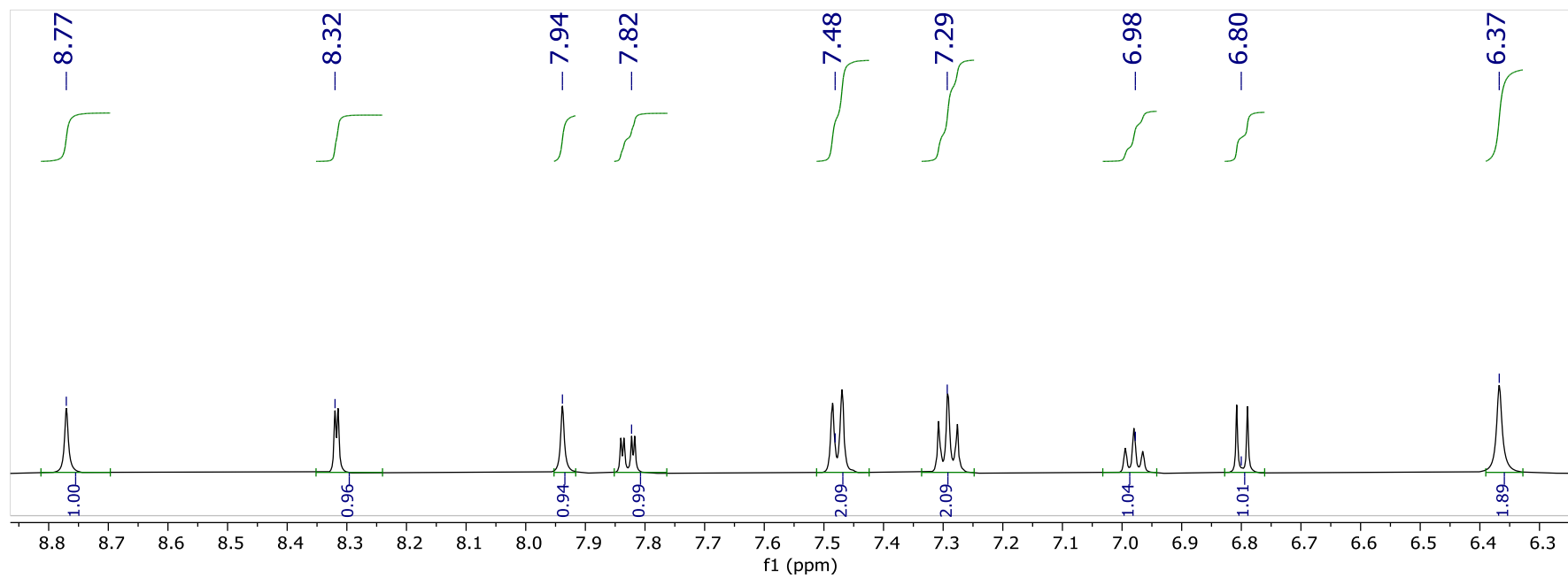
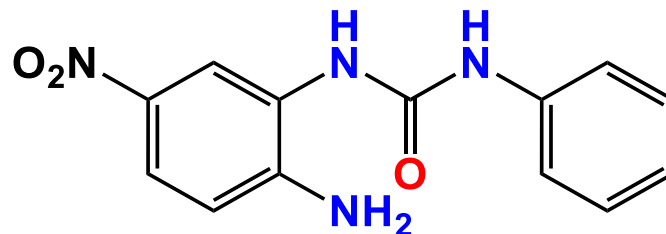
22. Argüello-García R, Leitsch D, Skinner-Adams T, Ortega-Pierres MG. Drug resistance in Giardia: Mechanisms and alternative treatments for Giardiasis. In: Advances in Parasitology. Academic Press; 2020. p. 201–82.
23. Adam RD. Giardia duodenalis: Biology and Pathogenesis. 2021.
24. Gutiérrez L, Bartelt L. Current Understanding of Giardia lamblia and Pathogenesis of Stunting and Cognitive Deficits in Children from Low- and Middle-Income Countries. Vol. 11, Current Tropical Medicine Reports. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2024. p. 28–39.
25. van Gerwen OT, Opsteen SA, Graves KJ, Muzny CA. Trichomoniasis. Vol. 37, Infectious Disease Clinics of North America. W.B. Saunders; **2023**. p. 245–65.
26. Núñez-Troconis J. Trichomonas vaginalis: Pathogenesis and its role in cervical cancer. Investigacion Clinica (Venezuela). 2020;61(4):349–75.
27. Ryan CM, de Miguel N, Johnson PJ. Trichomonas vaginalis: Current understanding of host-parasite interactions. Essays in Biochemistry. 2011;51(1):161–75.
28. Marques-Silva M, Lisboa C, Gomes N, Rodrigues AG. Trichomonas vaginalis and growing concern over drug resistance: a systematic review. Vol. 35, Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. John Wiley and Sons Inc; **2021**. p. 2007–21.
29. Aguayo-Ortíz, R., Méndez-Lucio. O., Romo-Mancillas, A., Castillo, R., YépezMulia, Lilián., Medina-Franco, J. L., Hernández-Campos, A. Molecular basis for benzimidazole resistance from a novel β -tubulinbinding site model. J Mol Graph. 2013, vol. 45, p.p 26-37.
30. Aguayo-Ortíz, R., Méndez-Lucio. O., Romo-Mancillas, A., Castillo, R., YépezMulia, Lilián., Medina-Franco, J. L., Hernández-Campos, A. Towards the identification of the binding site of benzimidazoles to B-tubulin of Trichinella spiralis: Insights from computational and experimental data. J Mol Graph. 2013, vol. 41, p.p 12-19.
31. Aguayo-Ortiz, R., Cano-González, L., Castillo, R., Hernández-Campos, A., Domínguez, L. Structure-based approaches for the design of benzimidazole2-carbamate derivatives as tubulin polymerization inhibitors. CBDD. 2016.

32. Nepali K, Lee HY, Liou JP. Nitro-Group-Containing Drugs. Vol. 62, Journal of Medicinal Chemistry. American Chemical Society; 2019. p. 2851–93.
33. Crossnoe, C. R., Germanas, J. P., LeMagueres, P., Mustata, G., & Krause, K. L. (2002). The crystal structure of *Trichomonas vaginalis* ferredoxin provides insight into metronidazole activation. *Journal of Molecular Biology*, 318(2), 503–518.
34. Ghosh AK, Brindisi M. Urea Derivatives in Modern Drug Discovery and Medicinal Chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2020 Mar 26;63(6):2751–88.
35. Ronchetti R, Moroni G, Carotti A, Gioiello A, Camaioni E. Recent advances in urea- And thiourea-containing compounds: focus on innovative approaches in medicinal chemistry and organic synthesis. Vol. 12, *RSC Medicinal Chemistry*. Royal Society of Chemistry; 2021. p. 1046–64.
36. Risch F, Kazakov A, Specht S, Pfarr K, Fischer PU, Hoerauf A, et al. The long and winding road towards new treatments against lymphatic filariasis and onchocerciasis. Vol. 40, *Trends in Parasitology*. Elsevier Ltd; 2024. p. 829–45.
37. Meenakshi, G., Ruchika, S., Anoop, K. Docking Techniques in Pharmacology: How Much Promising? *Computational Biology and Chemistry*. **2018**; 76: 210-217.
38. Pagadala, N. S., Syed, K., Tuszynski, J. Software for molecular docking: a review. *Biophysical Reviews*. **2017**; 9: 91-102.
39. Martínez-Miranda, J. Síntesis de derivados del ácido ferúlico afines in silico a múltiples dianas terapéuticas relacionadas en el abordaje experimental de la DM 2. Tesis de licenciatura, Facultad de Farmacia. UAEM. **2018**.
40. Autodock disponible en la web: <http://autodock.scripps.edu>.
41. MOE (Molecular Operating Environment) disponible en la web: https://www.chemcomp.com/MOE-Molecular_Operating_Environment.htm.
42. PyMOL disponible en la web: <https://www.pymol.org>.

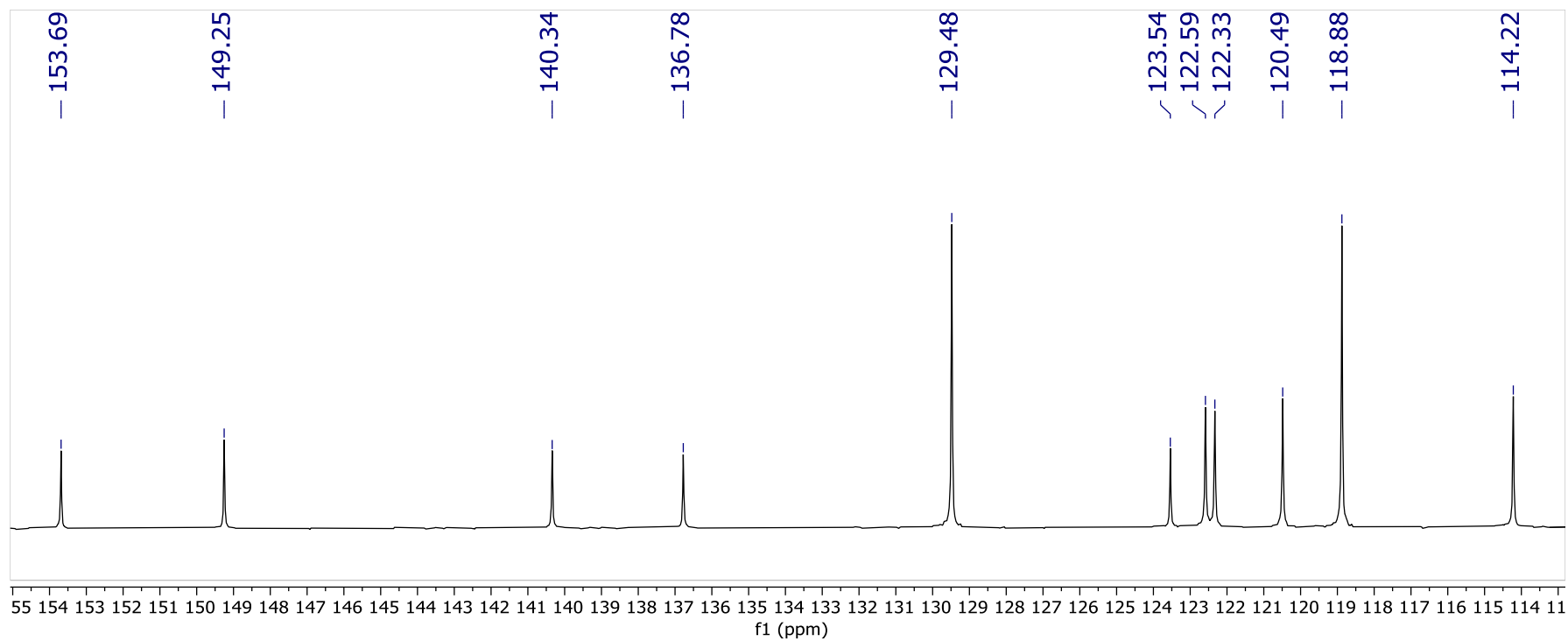
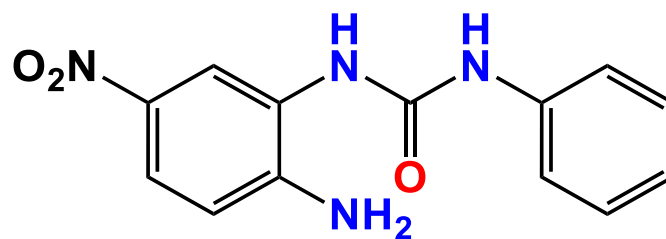
43. Hongbin Yang, Chaofeng Lou, Lixia Sun, Jie Li, Yinchun Cai, Zhuang Wang, Weihua Li, Guixia Liu, Yun Tang*, admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties. *Bioinformatics* 2019, 35, 1067-1069.
44. S.K.Lee, G.S.Chang, I.H.Lee, J.E.Chung, K.Y.Sung, K.T.No, "The PreADME: PC-BASED PROGRAM FOR BATCH PREDICTION OF ADME PROPERTIES", EuroQSAR 2004, 2004, 9.5-10, Istanbul, Turkey.
45. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*. 2017 Mar 3;7.
46. de Bruyn Kops C, Šícho M, Mazzolari A, Kirchmair J. GLORYx: Prediction of the Metabolites Resulting from Phase 1 and Phase 2 Biotransformations of Xenobiotics. *Chemical Research in Toxicology*. 2021 Feb 15;34(2):286–99.
47. Wishart D.S., Tian S., Allen D., Oler E., Peters H.M., Lui V.W., Gautam V., Djoumbou-Feunang Y., Greiner R., Metz T.O. (2022). *BioTransformer 3.0 — a web server for accurately predicting metabolic transformation products*. **Nucleic Acids Research**, 50(W1): W115–W123.
48. Reaction Atom disponible en la web: <http://www.way2drug.com/RA/>.
49. Swanson K, Walther P, Leitz J, Mukherjee S, Wu JC, Shivnaraine R v, et al. ADMET-AI: A machine learning ADMET platform for evaluation of large-scale chemical libraries. 2024.
50. Osiris property. Disponible en internet: <https://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>.
51. ACD/ToxSuite versión 15.0, Advanced Chemistry Development Inc., Toront ON, Canada, www.acdlabs.com, 2015
52. Martínez-Rosas V, Navarrete-Vázquez G, Ortega-Cuellar D, Arreguin-Espinosa R, Pérez de la Cruz V, Calderón-Jaimes E, Enríquez-Flores S, Wong-Baeza C, Baeza-Ramírez I, Morales-Luna L, Vázquez-Bautista M, Rojas-Alarcón MA, Hernández-Ochoa B, Gómez-Manzo S. Imidazole Carbamates as a Promising Alternative for Treating Trichomoniasis: In Vitro Effects on the Growth and Gene Expression of *Trichomonas vaginalis*. *Molecules*. 2024 May 31;29(11):2585.

53. Samineni R, Chimakurthy J, Konidala S. Emerging Role of Biopharmaceutical Classification and Biopharmaceutical Drug Disposition System in Dosage form Development: A Systematic Review. Vol. 19, Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences. Turkish Pharmacists Association; 2022. p. 706–13.
54. Chavda H v., Patel CN, Anand IS. Biopharmaceutics classification system. Vol. 1, Systematic Reviews in Pharmacy. 2010. p. 62–9.
55. Garcia HH, Nash TE, Del Brutto OH. Clinical symptoms, diagnosis, and treatment of neurocysticercosis. *Lancet Neurol*. 2014 Dec;13(12):1202-15
56. Guengerich, F. P. Cytochrome P450 and Chemical Toxicology. *Chemical Research Toxicology*. 2008, 21 (1), 70–83.
57. Di L, Kerns E. Drug-Like Properties: Concepts, Structure Design and Methods from ADME to Toxicity Optimization. Published online January 13, 2016:1-560
58. Perry M, Sanguinetti M, Mitcheson J. Revealing the structural basis of action of hERG potassium channel activators and blockers. *J Physiol*. 2010;588(Pt 17):3157-3167.
59. Garrido A, Lepailleur A, Mignani SM, Dallemagne P, Rochais C. hERG toxicity assessment: Useful guidelines for drug design. *Eur J Med Chem*. 2020;195:112290.
60. Medina-Franco JL, Navarrete-Vázquez G, Méndez-Lucio O. Activity and property landscape modeling is at the interface of chemoinformatics and medicinal chemistry. *Future Med Chem*. 2015;7(9):1197-211.
61. OECD (2002), Test No. 420: Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris
62. Domínguez-Mendoza EA, Galván-Ciprés Y, Martínez-Miranda J, et al. Design, Synthesis, and In Silico Multitarget Pharmacological Simulations of Acid Bioisosteres with a Validated In Vivo Antihyperglycemic Effect. *Molecules* 2021.

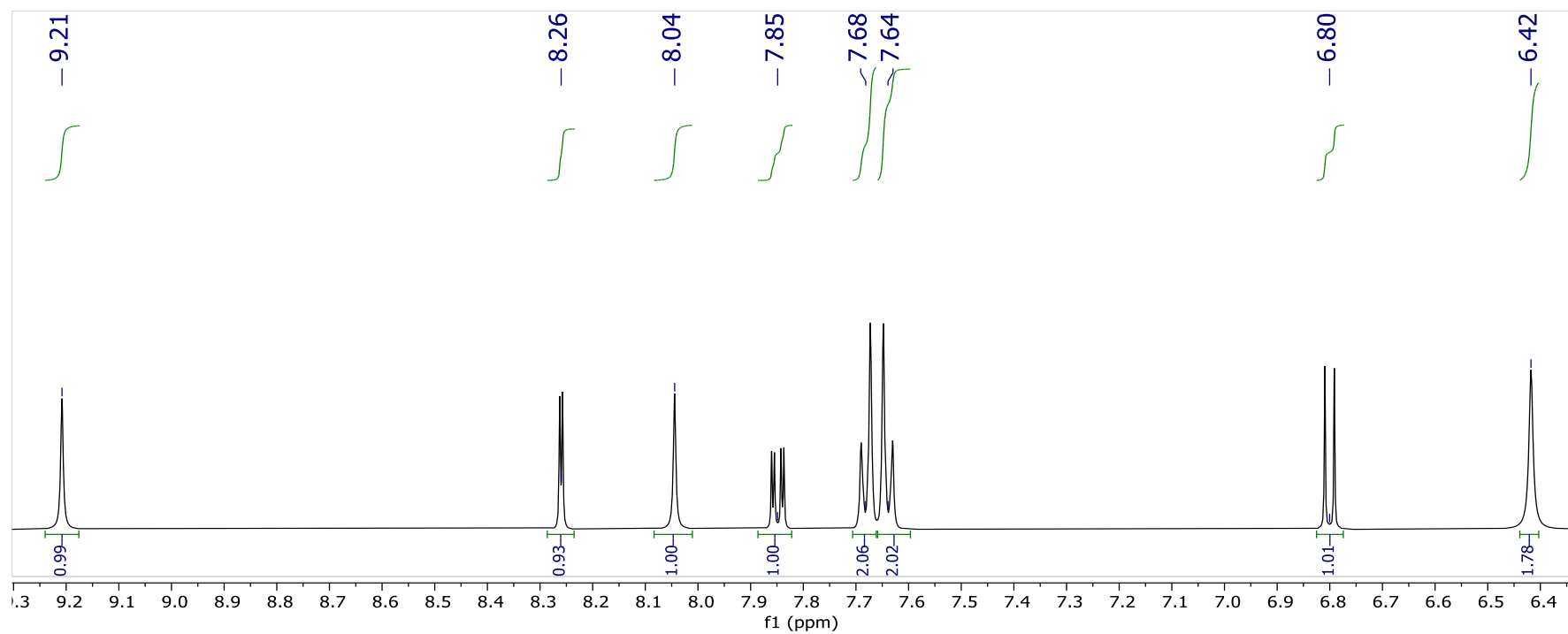
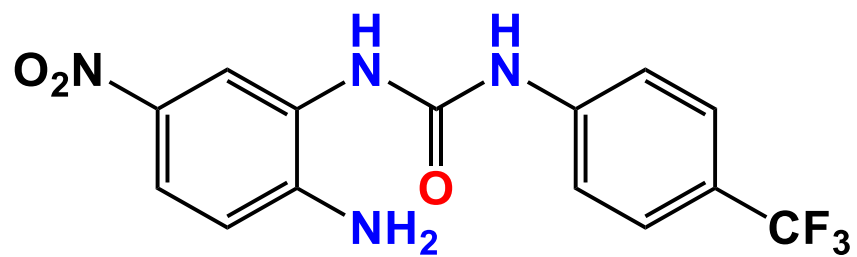
12. ESPECTROS



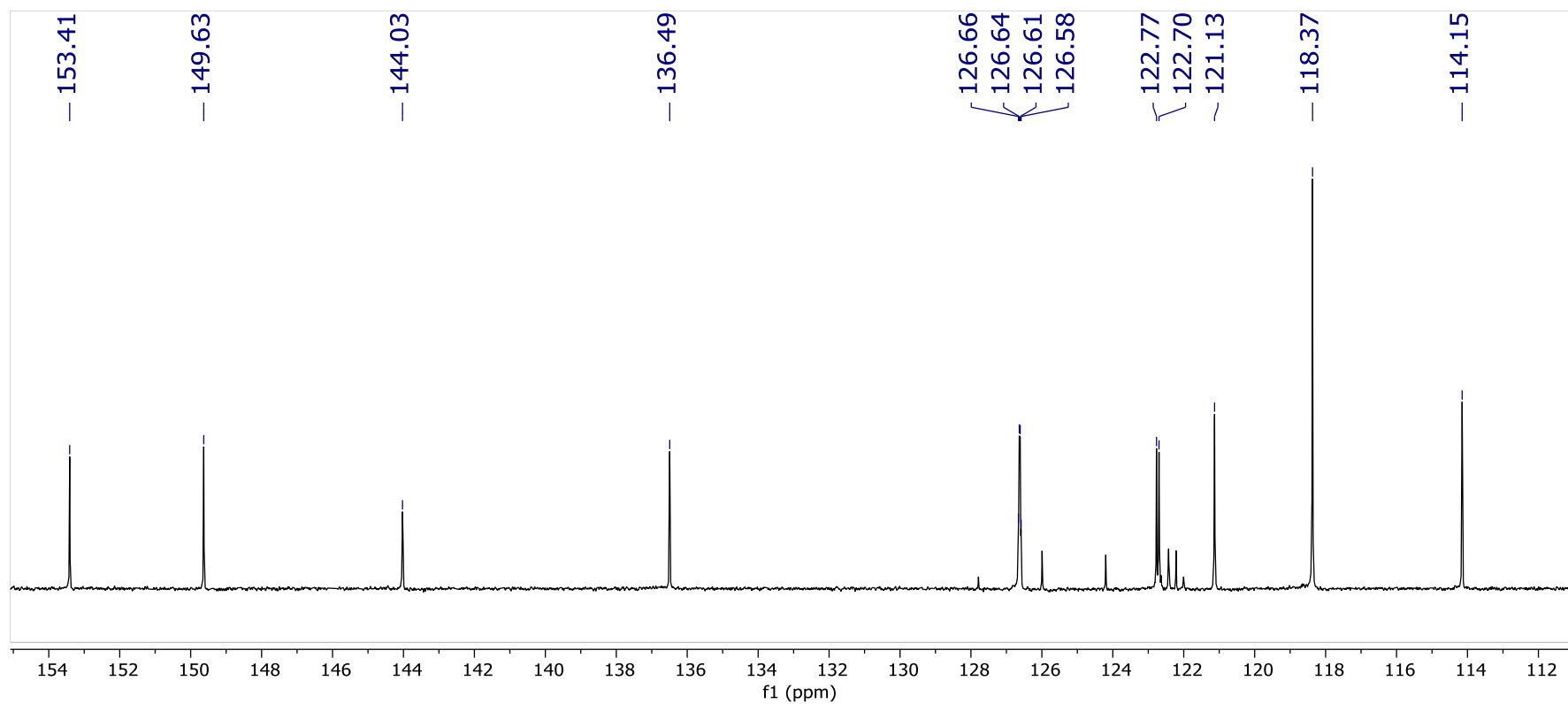
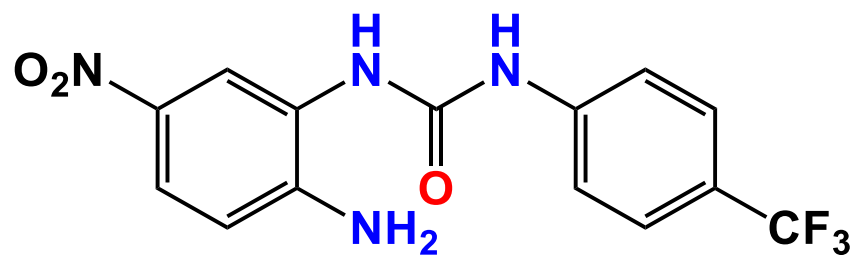
Espectro 1. de RMN ^1H del compuesto **ALD-1**



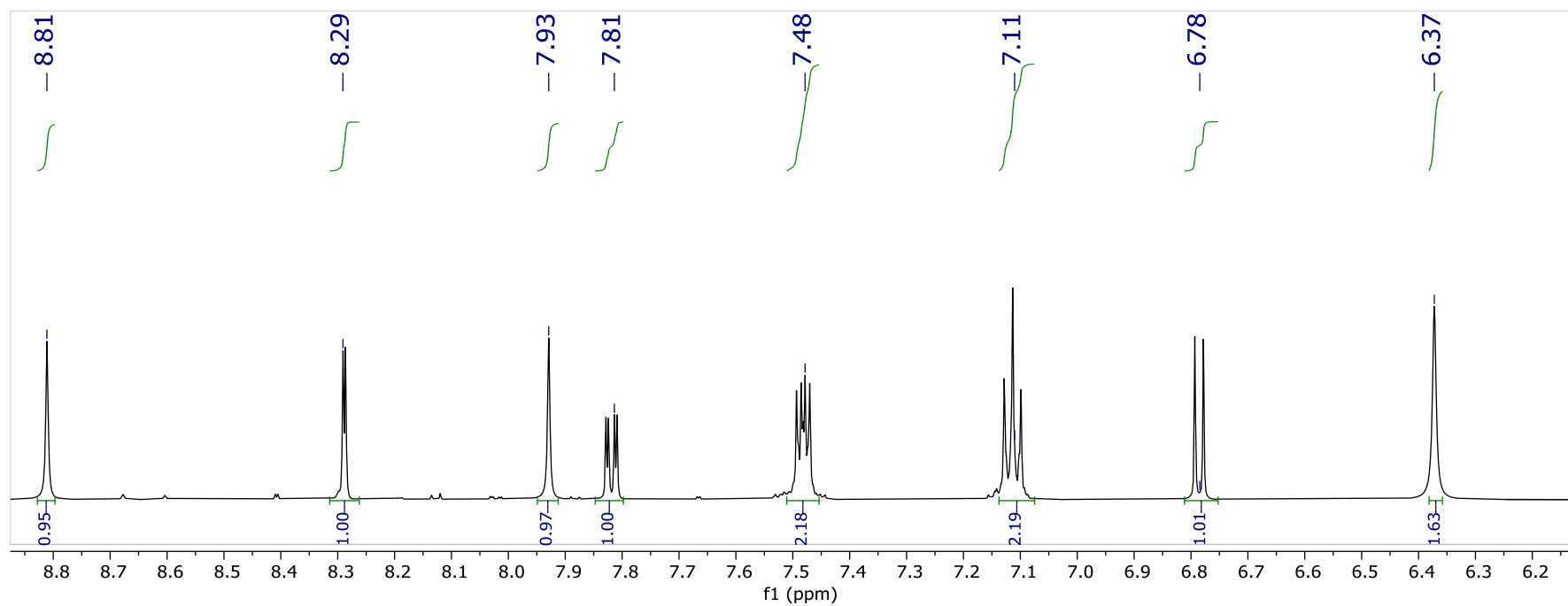
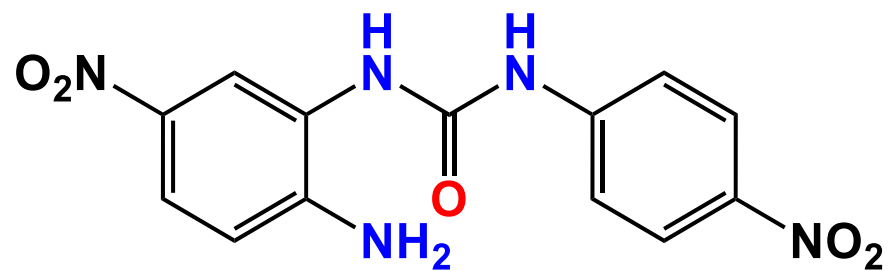
Espectro 2. de RMN ^{13}C del compuesto **ALD-1**



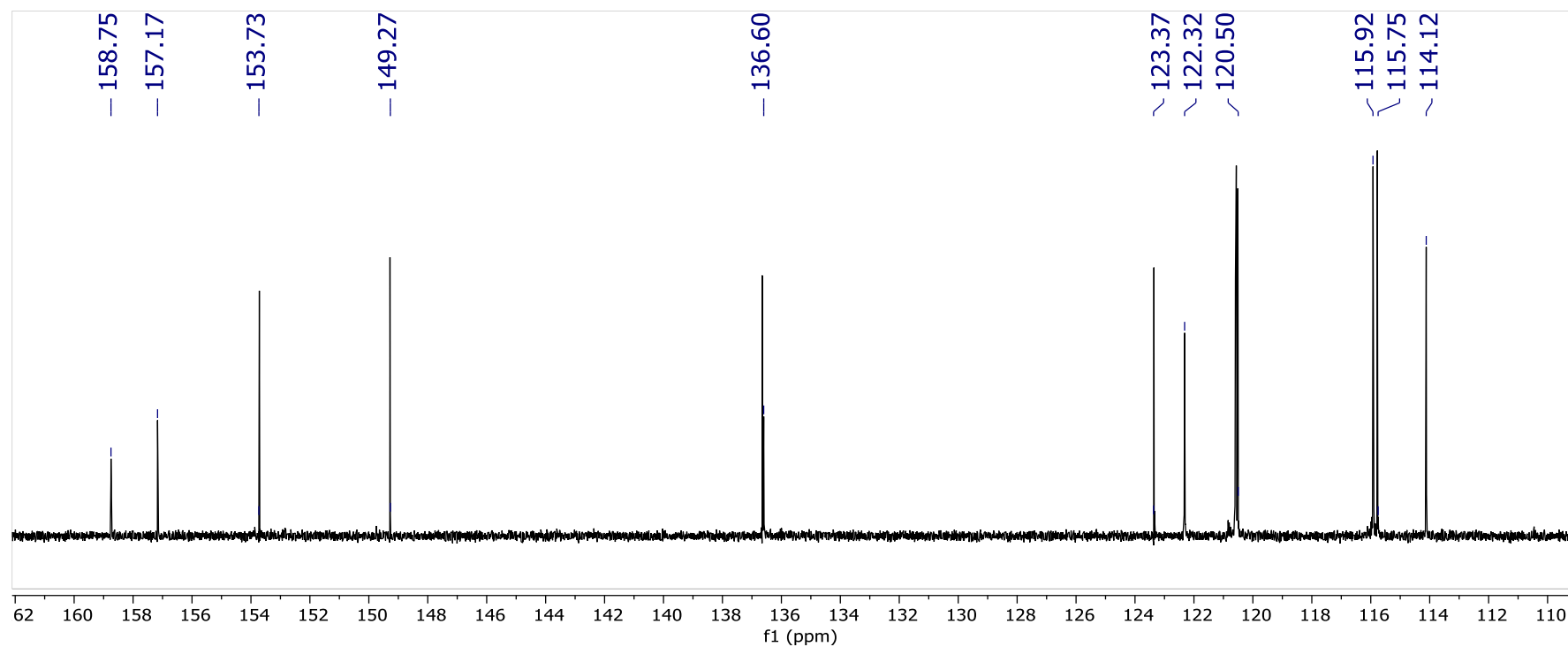
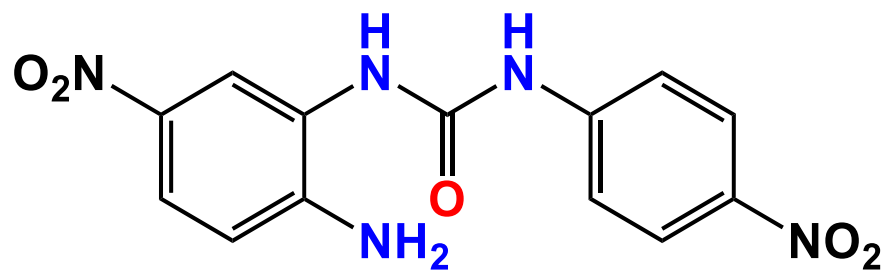
Espectro 3.de RMN ¹H del compuesto **ALD-2**



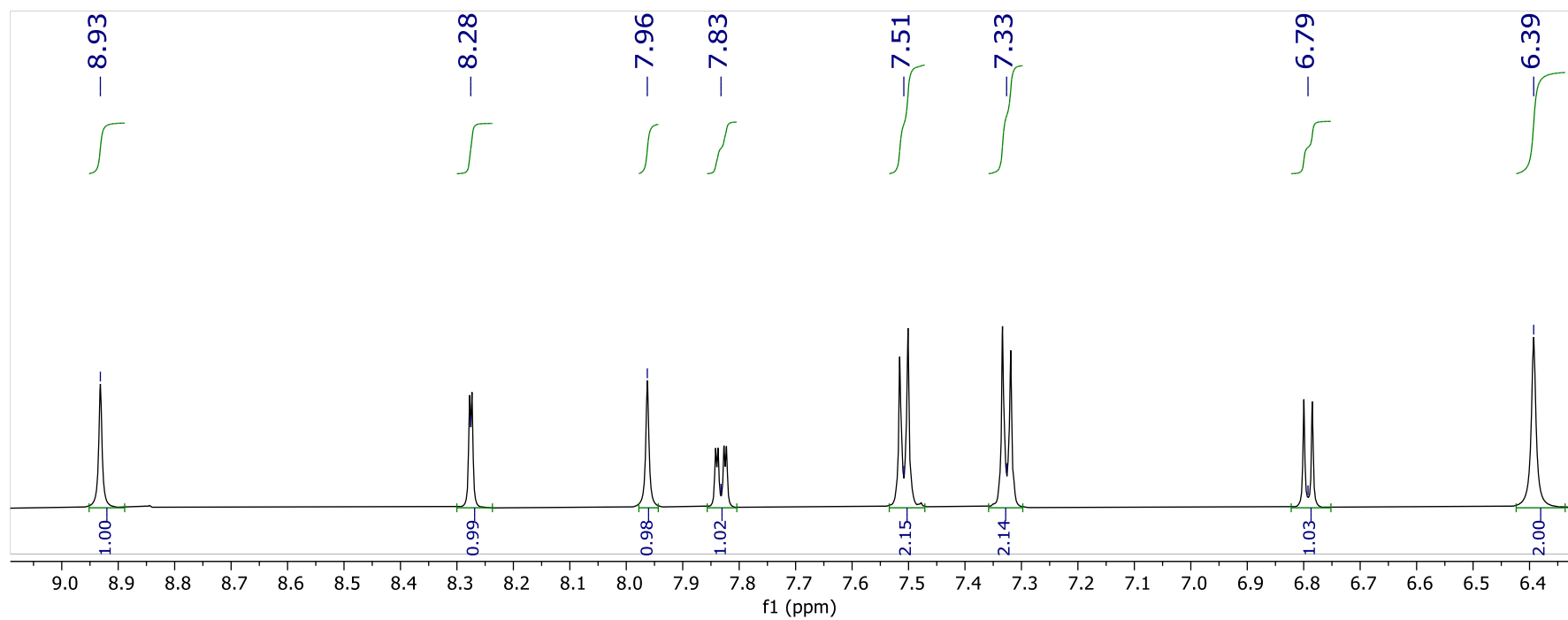
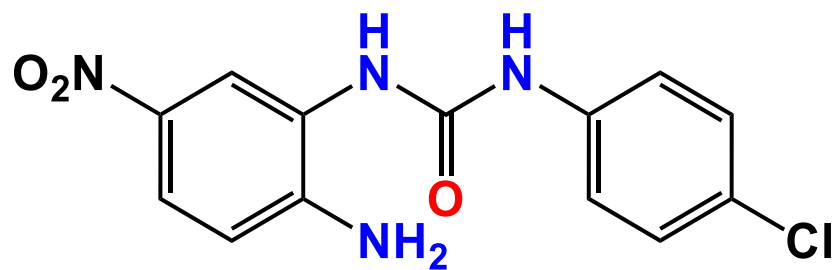
Espectro 4. de RMN ^{13}C del compuesto **ALD-2**



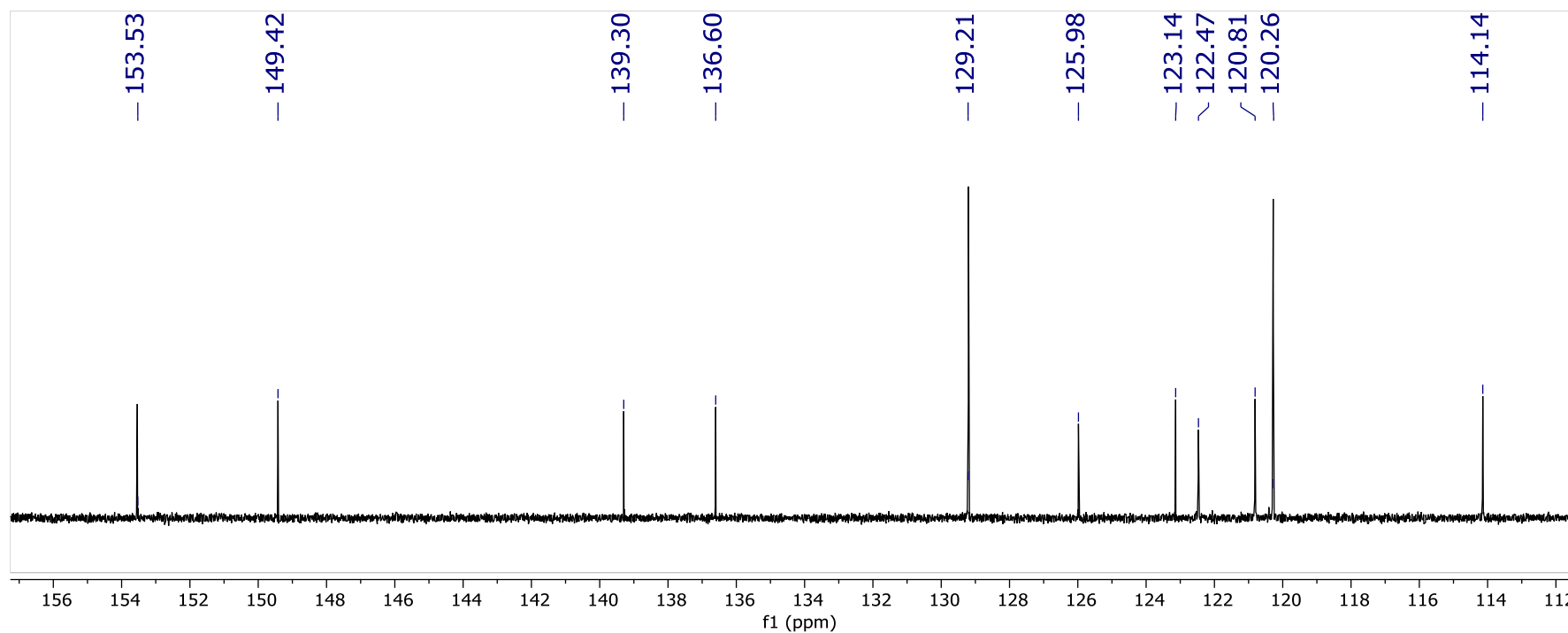
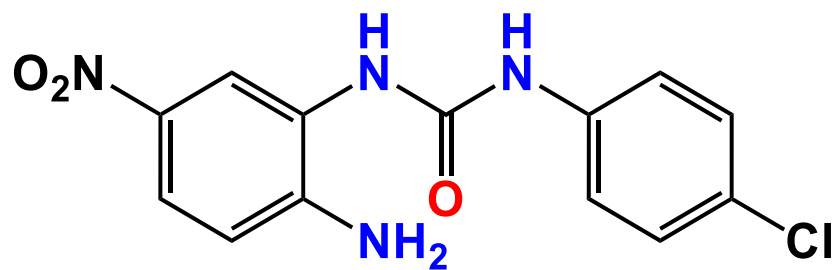
Espectro 5. de RMN ^1H del compuesto **ALD-3**



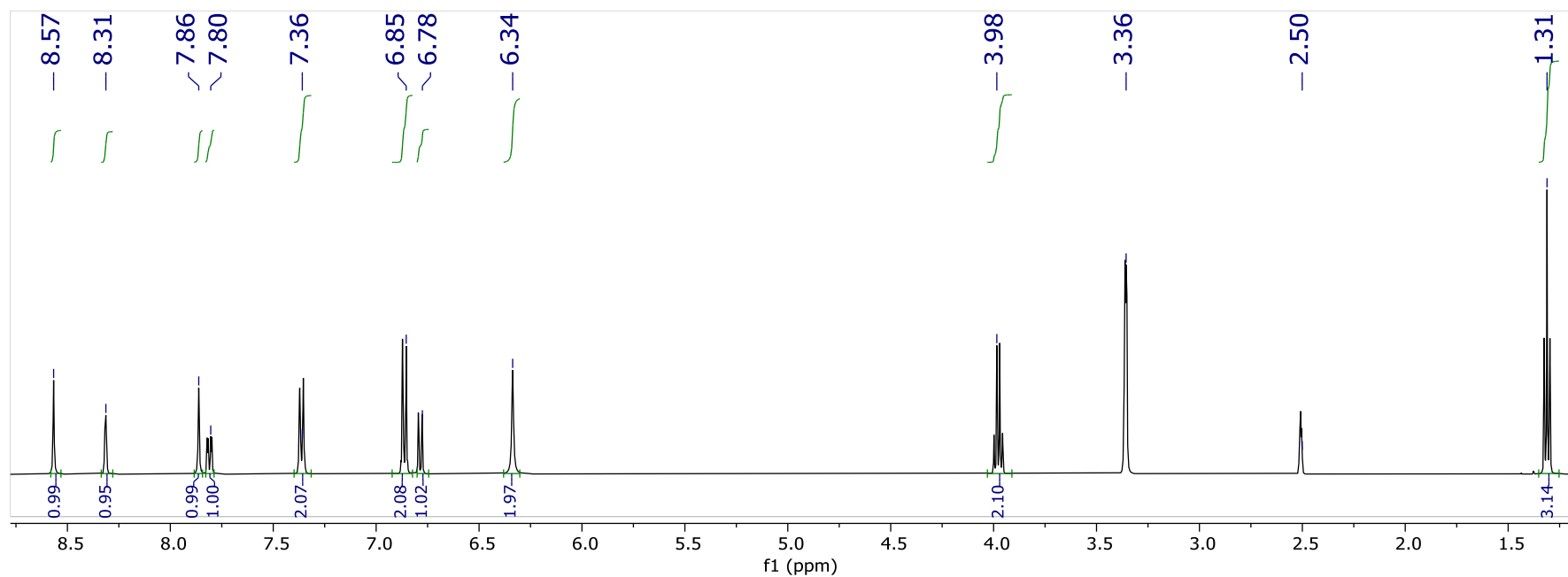
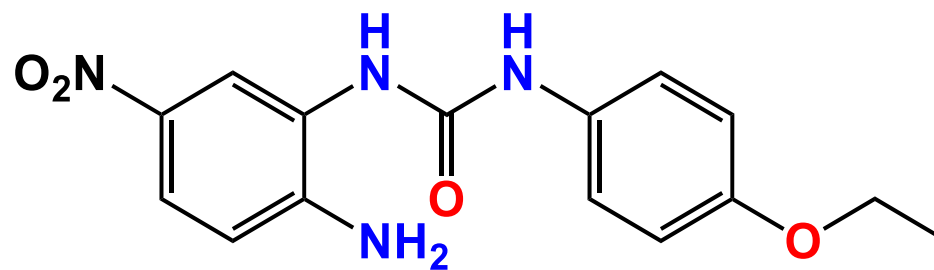
Espectro 6. de RMN ^{13}C del compuesto **ALD-3**



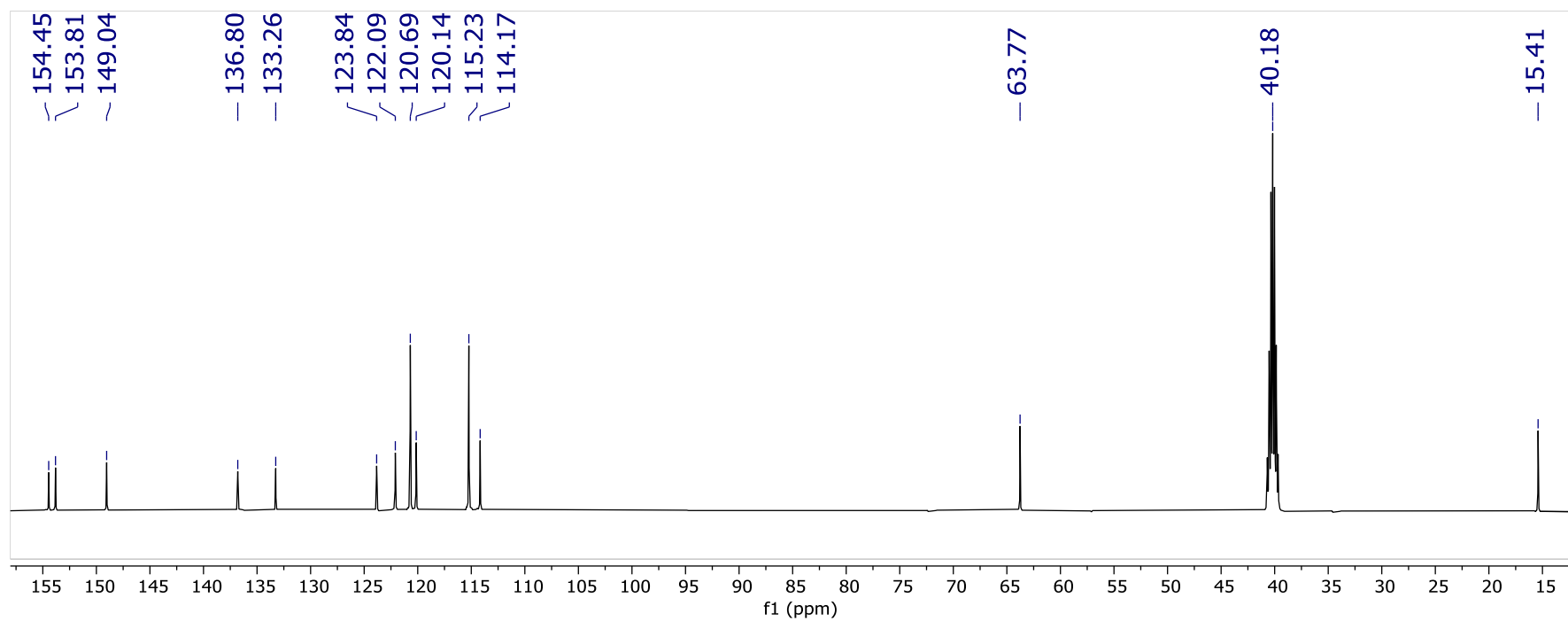
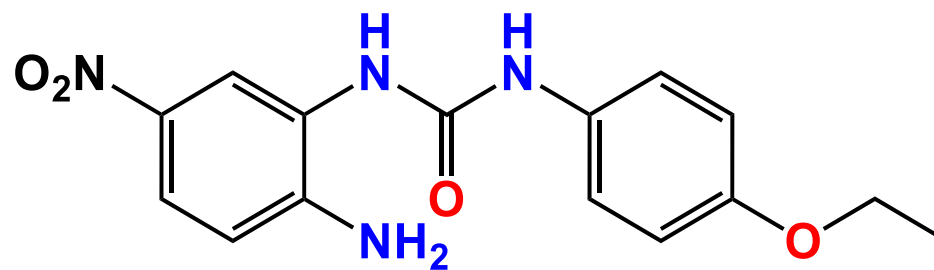
Espectro 7. de RMN ¹H del compuesto **ALD-4**



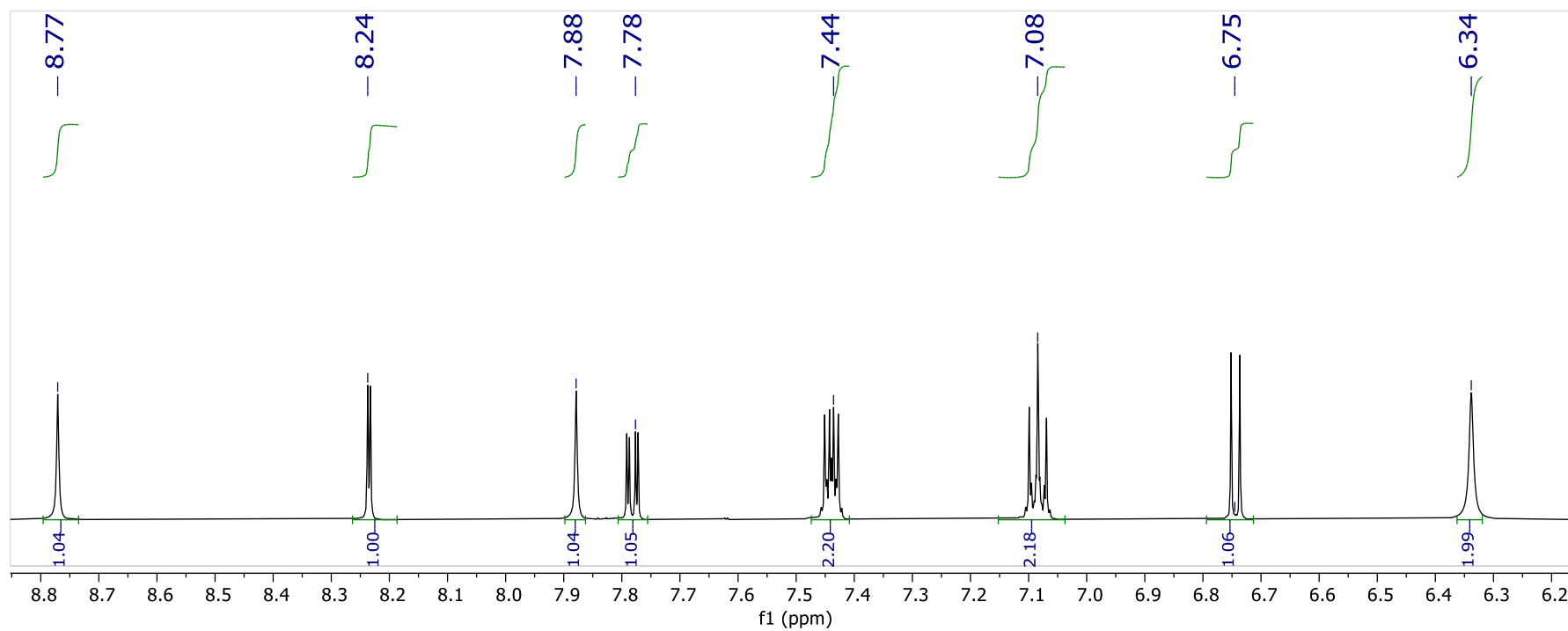
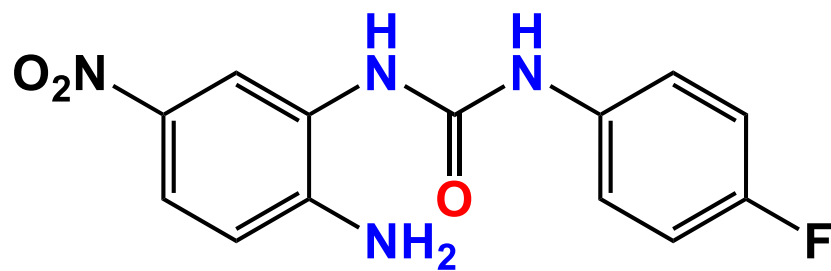
Espectro 8. de RMN ^{13}C del compuesto **ALD-4**



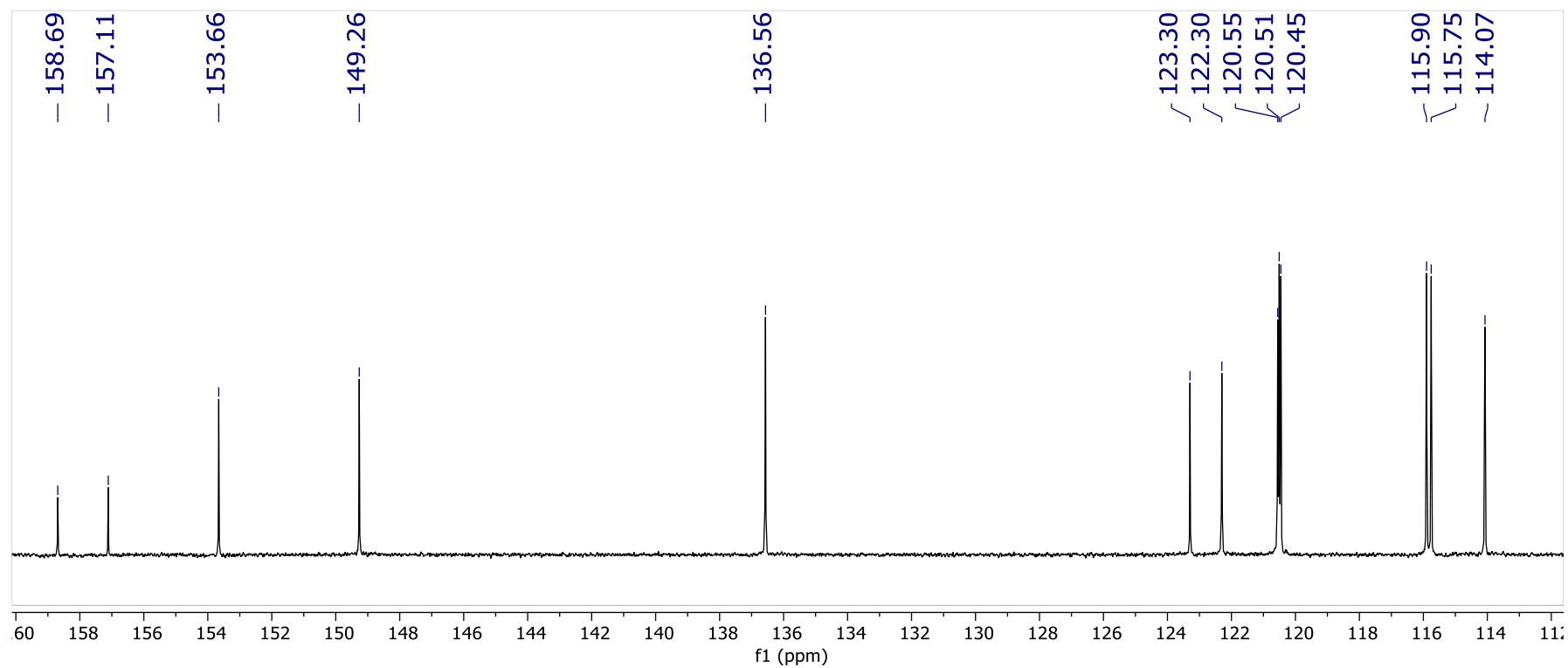
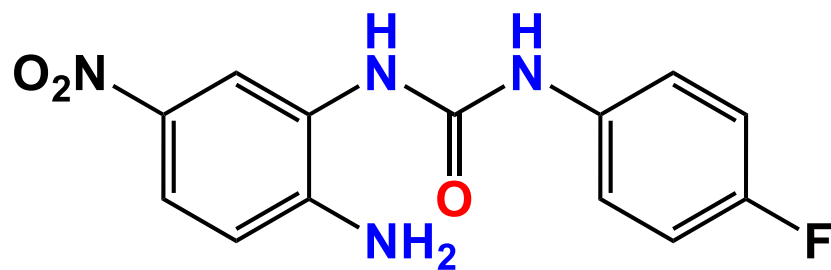
Espectro 9. de RMN ¹H del compuesto **ALD-5**



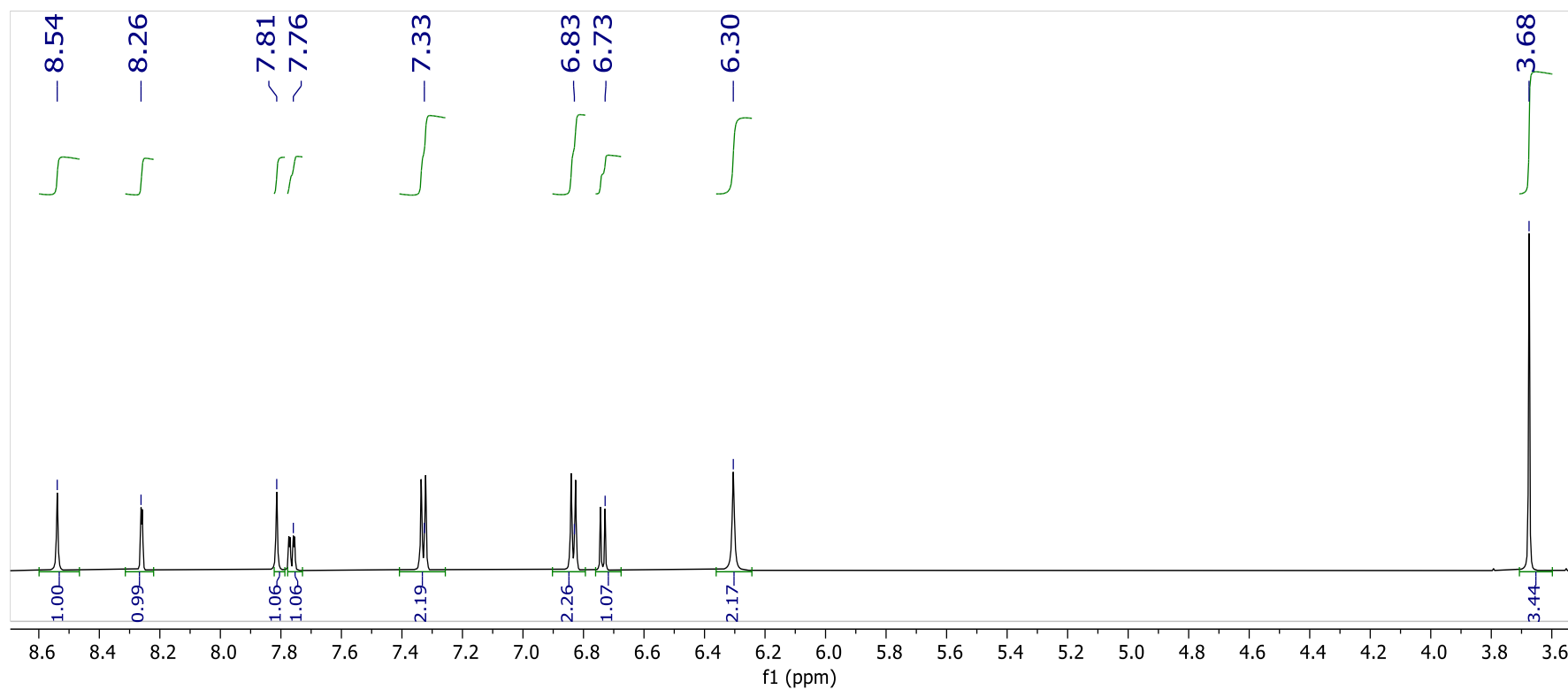
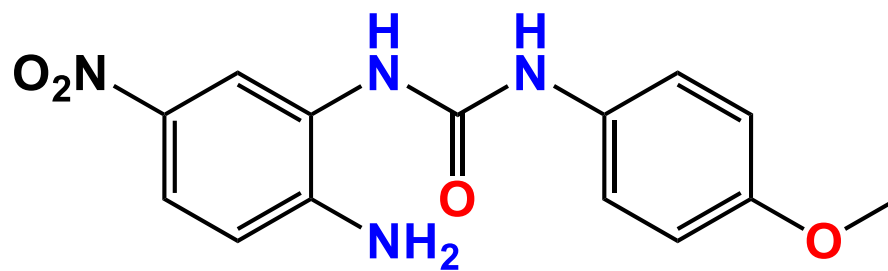
Espectro 10. de RMN ^{13}C del compuesto **ALD-5**



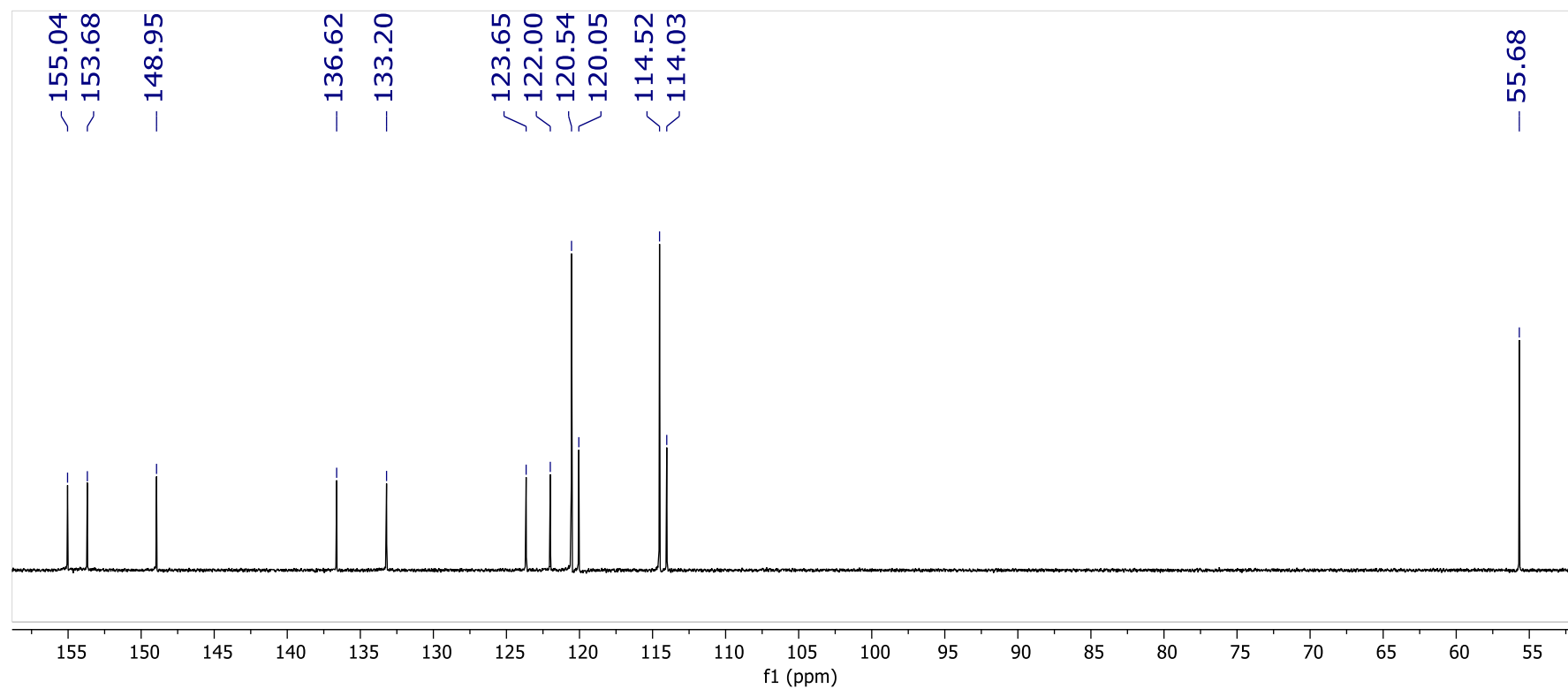
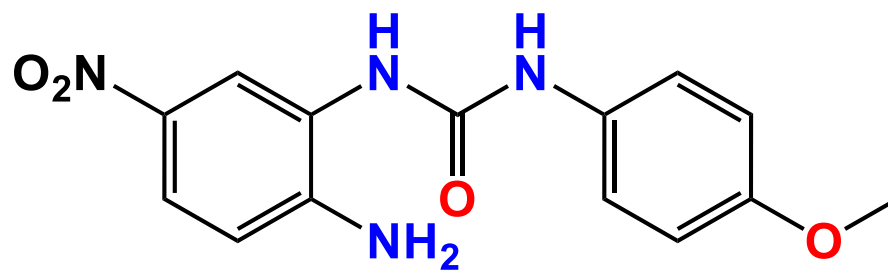
Espectro 11. de RMN ¹H del compuesto **ALD-6**



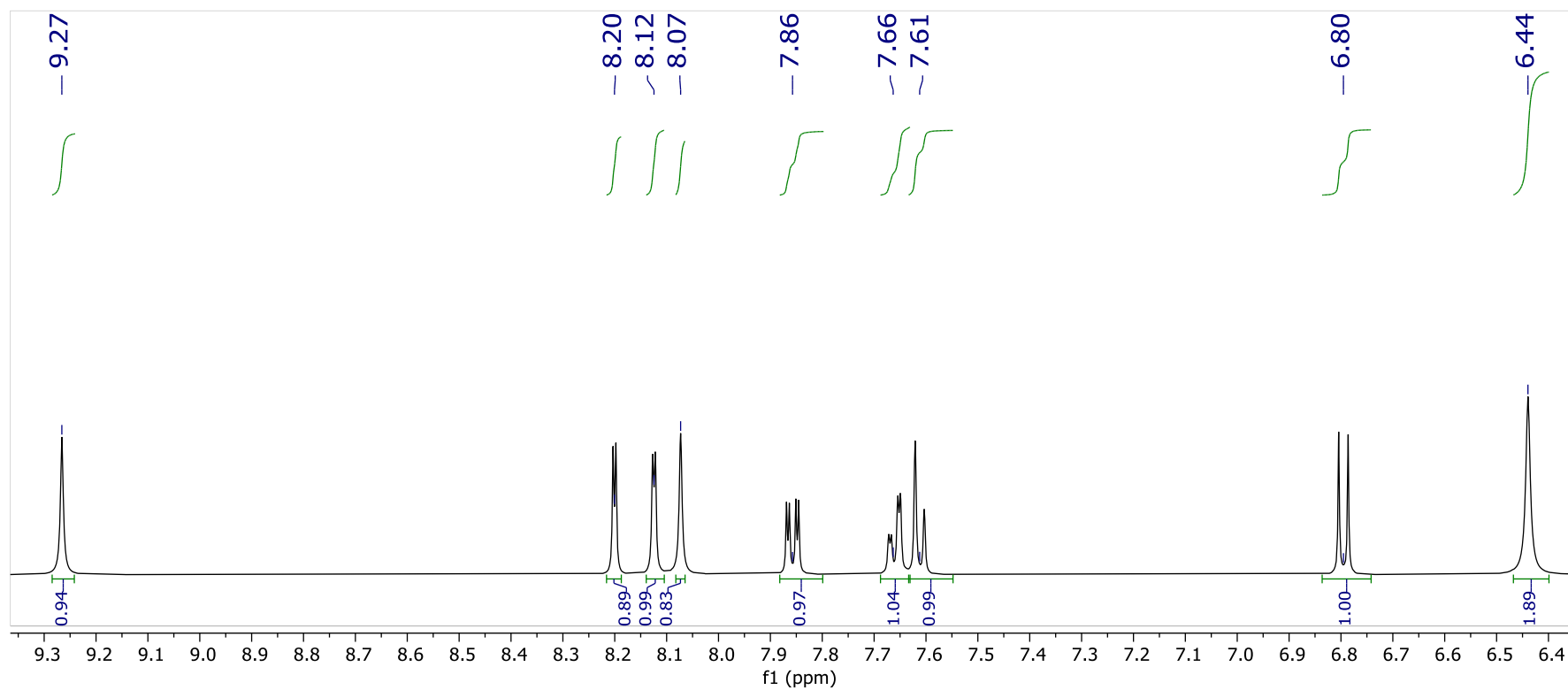
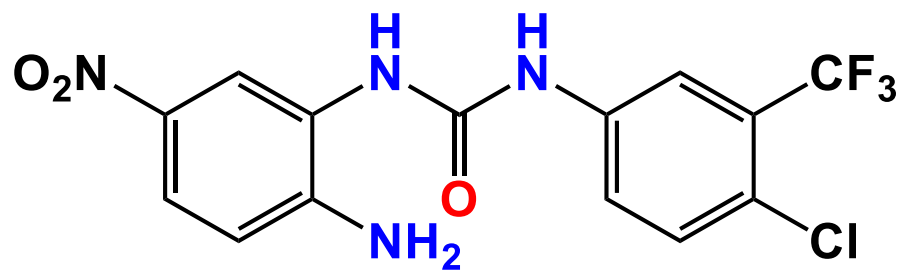
Espectro 12. de RMN ^{13}C del compuesto **ALD-6**



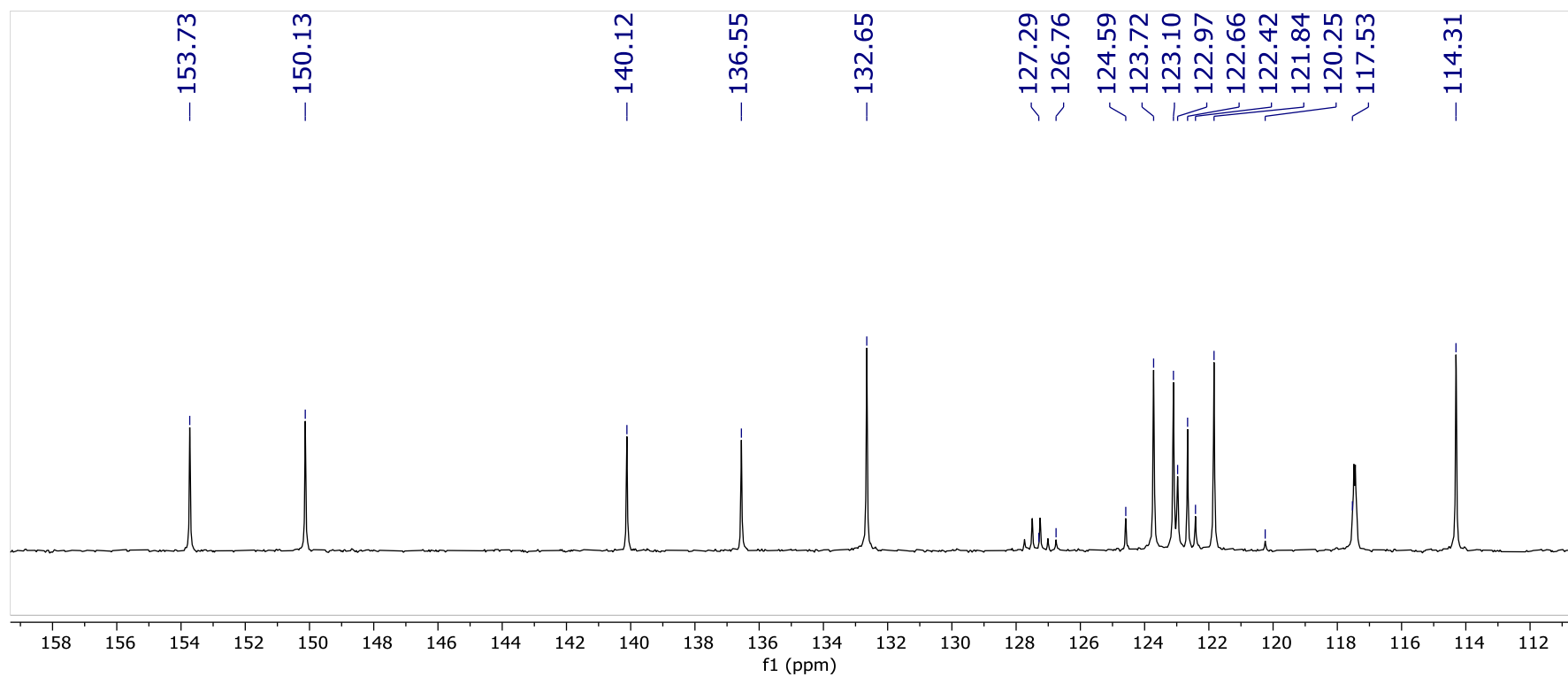
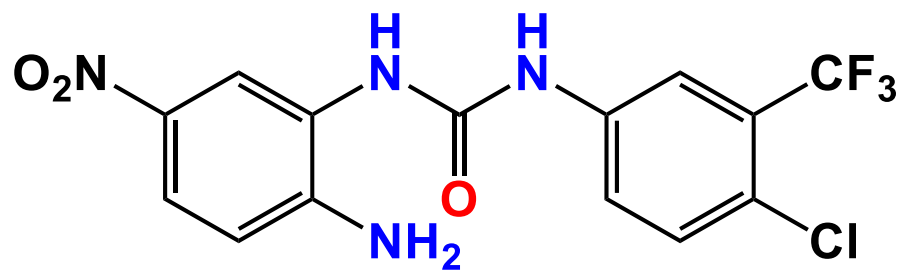
Espectro 13. de RMN ^1H del compuesto **ALD-7**



Espectro 14. de RMN ^{13}C del compuesto **ALD-7**



Espectro 15. de RMN ^1H del compuesto **ALD-8**



Espectro 16. de RMN ^{13}C del compuesto **ALD-8**

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

Nombre del alumno: Aldair Castillo Agustín

Título de la tesis: "DISEÑO, SÍNTESIS Y BIOEVALUACIÓN DE 5-NITROFENILUREAS COMO AGENTES ANTIPARASITARIOS"

Grado a obtener:

 X Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Samuel Enoch Estrada Soto

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

La tesis:

 X Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo): _____

Dr. Samuel Enoch Estrada Soto

Firma del miembro del jurado

24/08/26

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

SAMUEL ENOCH ESTRADA SOTO | Fecha:2026-08-24 20:39:53 | FIRMANTE

Gdvcz0dfFf+Y+Xg9/mrYwi8hvZCZ8556ZqCUyP4xOkLoz5HciN6mY0TZljHZZ4heLZYJ82t6S5qH+ylJOS8vBpbB56PFUjnukdqtlQbApk507nuRnLJqDiFILct+HjO4BpwwgIKw5RWj7tX4anJa0Zy74bPjFuAbLI5TIu0xMYxnTw1Bg/8ZEgHvak/BKZGSGkrYuvC7eoASw+cqgy9UIKLSWUBhorY/vHOXRksy8/SmJD2sbSIIT2bpgmP1Rd7LJpaXXOIDyW3/qJptWtrVqkpYlg0CvEdAAWBmpKUEUdKlhb3+ZC3gXjMWbC+ran7ii0SyLadx/+giU/d0z0XiWWw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



KQVyeB3mp

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/RL6ST5i2BLdxJofVvUQ3LrB3gh8bG8OR>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029

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

Nombre del alumno: Aldair Castillo Agustín

Título de la tesis: "DISEÑO, SÍNTESIS Y BIOEVALUACIÓN DE 5-NITROFENILUREAS COMO AGENTES ANTIPARASITARIOS"

Grado a obtener:

 X Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. Judith González Christen

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

La tesis:

 X Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo): _____

Dra. Judith González Christen

Firma del miembro del jurado

24/08/26

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

JUDITH GONZALEZ CHRISTEN | Fecha:2026-08-27 10:01:55 | FIRMANTE

BDTwD+llqnd46dqjNUacG551BTdK3GUIBQAUGVSciRAZZGE4DWIlvWEj1Bow/tJzg5dWd4TPY0JwTFRJpQzchlXIIConPk7FA9edZt8JPQFCPOCTQCa4CcnOCusbP8xwEf
Vb7oJnMtyr1mvDR7SLDQ28+LxkkGnVa93MYjE6XB4L4ZI61gXZ1B0GirC4QWHWj0NL75vtZoljiwu2c061BDNb6lpJcWqgK0/eSzN7TAUC1eQL3v5Puvxz7eisUAwSeS/6z9
Wm3iiFhueXSeU4kS7megGCXyFuPA3LT9pJnclSTMm5qWnJBZONGGbKIFhmbt3GIQAuesn+AQ0x0P/UAW==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



QajsZiN3b

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/OQc4IueDNErkl8fa4DW3UWLQYPutpsbS>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029

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

Nombre del alumno: Aldair Castillo Agustín

Título de la tesis: "DISEÑO, SÍNTESIS Y BIOEVALUACIÓN DE 5-NITROFENILUREAS COMO AGENTES ANTIPARASITARIOS"

Grado a obtener:

 X Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Carlos Martínez Conde

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

La tesis:

 X Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo): _____

Dr. Carlos Martínez Conde

Firma del miembro del jurado

24/08/26

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

CARLOS MARTÍNEZ CONDE | Fecha:2026-08-24 10:00:08 | FIRMANTE

e4WPv5/mbyUtBm5Kv67XiSjfw72o5tWr5oJ/WYAClmguf7eEPRPT4HPMjWX6moDnRlrv71kna2N1KQxILNbRDfPYG49k2I/UKTEJjNQu9L6OcnRbYruYqVDueCFiPlcdoyaf02iXqUMcwYv3eBzTXGKmcCSgA+ucjsCuWOjGW7jlaYGwhqBstjovHsFSF9s/6JlJf46ogSBHzXvBTt2rtjQdmMqu64CrxrfakZmS2iyKojdlvGsrI2iOEGvoYCMsqVjVLQwAx9HqhVwk6seTenVH9lJrztSz5lAhgopVopWMcudovVmmxenL/h4u2KsKXnWbdQf30qq9JC59g6Xpw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



W0HZaRXIf

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/0Po0prT5gehKB1tEjhnHQNMMZ8d575DUg>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029

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

Nombre del alumno: Aldair Castillo Agustín

Título de la tesis: "DISEÑO, SÍNTESIS Y BIOEVALUACIÓN DE 5-NITROFENILUREAS COMO AGENTES ANTIPARASITARIOS"

Grado a obtener:

 X Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. Angélica Flores Flores

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

La tesis:

 X Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo): _____

Dra. Angélica Flores Flores

Firma del miembro del jurado

24/08/26

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

ANGELICA FLORES FLORES | Fecha:2026-08-26 19:30:12 | FIRMANTE

pEdylJDGDkr1Nd38Pc+xcv85JOpmAA+kOg8lq+bY9H0kA0Qq4JVfHl3276QhgzZ7J9XBPRUMoqgKlmyjHqAU5Ku8kpS9VLiaCpUpffJoJEKpGTdgpIl5/yp15xobxUxNy4vrr35doia83rZ69Zg8xtkJxxlGFW9XjttDlXR+6YAVa+8+E+8ZkJFruW+ZX/AmrYNCMoH/ECsMNqc17w2NYuyyW0obEC/56JbltPuzjzYWq82DgPG1k90cFVQvnUPh/siwzkrmVWwHkKXvsUGkhxsYOP4fxeF44SAk+LzfBj92ILhLnRPb2/wBiaEMP5wG1deVFjJSFICbl28J5z90Q==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



N38wJf7Ky

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/Qo2PYic1rEonFJPK05LoGo9Z8ayZYPiv>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029

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

Nombre del alumno: Aldair Castillo Agustín

Título de la tesis: "DISEÑO, SÍNTESIS Y BIOEVALUACIÓN DE 5-NITROFENILUREAS COMO AGENTES ANTIPARASITARIOS"

Grado a obtener:

 X Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

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

La tesis:

 X Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo): _____

Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

Firma del miembro del jurado

24/08/26

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

JUAN GABRIEL NAVARRETE VAZQUEZ | Fecha:2026-08-24 13:19:50 | FIRMANTE

TNzZ6RZ/1KhmM2NHNb3FmiERgL3/jhZfAo5igcgHv+KOLX7SBHrM6Rwxc5/IGRbVD3oUk1rgGy93c3Yw6LqTeOsQAd0VNpRGEKB9s4RJ83MUFoLPo4vIwGJOVU+5kmbzPvQxty5b63Lm0D7fC2HQVT8HDwWYQhC8//fsV2K2tPJv8UD9cpbDCHb96T1GW75BeuX3gtuYLo8Wvi04a5Bi50SMNndE+usAp9dLevK1x7By7omKcl3df/0RffykjQPI+eSxESL3p+h88H+MQ3yJJUuRFKhrLq6Lp0lxgcTWqlDX+iXSxyvyl14YUDwpS3eAzrra8IES2YjES8Ab4dqhw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



EDtc6bzgP

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/hHrO9jPSwwn5Qv94TFcuHqCODjM8j8VM>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029