



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

**DISEÑO Y SÍNTESIS DE ANÁLOGOS DE ADIPORON Y
EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIDIABÉTICA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MAESTRO EN FARMACIA

PRESENTA

LF. JOSUÉ MARTÍNEZ MIRANDA

DIRECTORES DE TESIS:

DR. J. GABRIEL NAVARRETE VÁZQUEZ

DR. JAIME ESCALANTE GARCÍA

Cuernavaca, Morelos a 11 de diciembre de 2019
Folio: FF/D/SAc/ CIP /MF/065/2019

L.F. JOSUÉ MARTÍNEZ MIRANDA
ESTUDIANTE DEL PROGRAMA DE MAESTRÍA EN FARMACIA
P R E S E N T E

Por este medio le informo que, con base en la propuesta hecha en su solicitud, el Consejo Interno de Posgrado le asigno el siguiente jurado para evaluar la tesis "**Diseño y síntesis de análogos de AdipoRon y evaluación de su actividad antidiabética**"

Quedando integrado su comité de la siguiente manera:

PRESIDENTE: Dr. Germán Bernal Fernández

SECRETARIO: Dr. Sergio Alcalá Alcalá

V.1. Dr. José Luis Viveros Ceballos

V.2. Dr. Samuel Enoch Estrada Soto

V.3. Dr. Julio César Almanza Pérez

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

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

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia



Dr. Julio César Rivera Leyva.
Jefatura de Posgrado



ccp: archivo, jurado
mitv

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

Nombre del alumno: Josué Martínez Miranda

Título de la tesis: "Diseño y síntesis de análogos de Adiporon y evaluación de su actividad antidiabética"

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

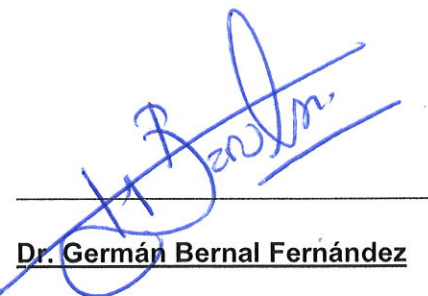
Miembro del jurado: **Dr. Germán Bernal Fernández**

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

La tesis:

- Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):


Dr. Germán Bernal Fernández

Marzo 6 de 2020

Fecha

Nombre del alumno: Josué Martínez Miranda

Título de la tesis: “Diseño y síntesis de análogos de Adiporon y evaluación de su actividad antidiabética”

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Sergio Alcalá Alcalá

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

La tesis:

- Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):


Dr. Sergio Alcalá Alcalá

06 / 03 / 2020

Fecha

Nombre del alumno: Josué Martínez Miranda

Título de la tesis: “Diseño y síntesis de análogos de Adiporon y evaluación de su actividad antidiabética”

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

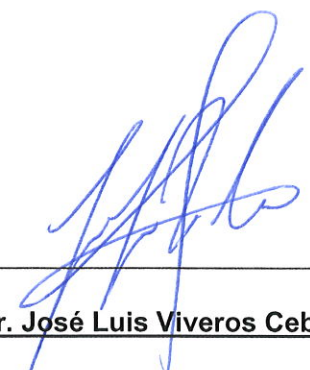
Miembro del jurado: Dr. José Luis Viveros Ceballos

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

La tesis:

- Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):


Dr. José Luis Viveros Ceballos

27 de febrero de 2020

Fecha

Nombre del alumno: Josué Martínez Miranda

Título de la tesis: “Diseño y síntesis de análogos de Adiporon y evaluación de su actividad antidiabética”

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

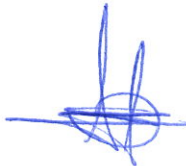
Miembro del jurado: Dr. Samuel Enoch Estrada Soto

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

La tesis:

- Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):



Dr. Samuel Enoch Estrada Soto

4/Marzo/2020

Fecha

Nombre del alumno: Josué Martínez Miranda

Título de la tesis: "Diseño y síntesis de análogos de Adiporon y evaluación de su actividad antidiabética"

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Julio César Almanza Pérez

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

La tesis:

- Si se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):



Dr. Julio César Almanza Pérez

3/ Marzo/ 2020

Fecha

“En esta vida nada debe de ser temido, las cosas están hechas para ser comprendidas y entre más comprendamos, menos tendremos a que temerle”

-Marie Curie-

Esta tesis lleva estos colores debido a que el proyecto sobrevivió temblores, huelgas y hasta una pandemia. Puede que el camino sea difícil pero los resultados valen la pena.

Agradecimientos

A **CONACyT** por el apoyo otorgado para el proyecto de ciencia básica 2015 con el número **253814** y por la beca otorgada durante la realización del proyecto de maestría con el número de registro **889748**.

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

Al Dr. **Emanuel Hernández Núñez** en el Departamento de Recursos del Mar: CINVESTAV; Mérida, Yucatán por su colaboración en los análisis espectroscópicos y espectrométricos.

Al Dr. **Julio César Almanza Pérez** y a la **M en BE. Beatríz Mora Ramiro** por su colaboración en los ensayos *in vitro*.

Al Dr. **Elix Alberto Domínguez Mendoza** y a la **Dra. Diana Elizabeth Giles Rivas** por su colaboración y aportación en los ensayos *in vivo*.

Al comité revisor: **Dr. Sergio Alcalá Alcalá, Dr. German Bernal Fernández, Dr. José Luis Viveros Ceballos, Dr. Samuel E. Estrada Soto, y Dr. Julio César Almanza Pérez** por sus observaciones, aportes y sobre todo por el tiempo invertido en el proceso de revisión de este trabajo de investigación.

Al comité tutorial: al **Dr. Gabriel Navarrete Vázquez, Dr. Jaime Escalante García, Dr. José Luis Viveros Ceballos** y al **Dr. Carlos Alberto Méndez Cuesta** por la revisión de este trabajo semestre a semestre.

Un agradecimiento muy especial al **Dr. Gabriel Navarrete Vázquez** y al **Dr. Jaime Escalante García** por permitirme formar parte de su grupo de investigación, por todo su tiempo y conocimiento compartido en clases, en el laboratorio y fuera de este que me permitieron ser un mejor estudiante y profesional.

Dedicatorias

A mis padres: **Gilberto Martínez Ortiz** y **Mélida Miranda Miranda**, por su importante apoyo, comprensión, inspiración, entusiasmo y por siempre darme ánimos para ser mejor cada día. Por darme la posibilidad de seguir superándome como profesional y como persona, por siempre enseñarme todo lo que ustedes saben y por hacer que las noches de estudio se hicieran más amenas. Los amo

A mis hermanos **Xochitl Emereida Martínez Miranda** y **Noé Martínez Miranda**, por su apoyo incondicional, por sus preocupaciones, por resolver mis dudas y permitirme aprender de ustedes, por los recuerdos inolvidables que me dieron a lo largo de la maestría y por ayudarme a cubrir todas mis metas y necesidades. Este éxito también es de ustedes.

A mis hermanos de la maestría **Yelz** y **Cristian**, que hicieron que toda la maestría fuera más sencilla y divertida. Estos dos años y medio no habrían sido lo mismo sin ustedes.

A todos los compañeros de Laboratorio: Yelz, Cristian, Edgar, Abril, Thalia, Blanca, Miguel, Jorge, Brianda, Valeria, Sergio (Checo), Erick, Samantha, Martín, Wendy, y Aldair, por hacer que la estancia del laboratorio sea mucho más amena y divertida.

A mis amigos del L-12 **Emanuel Gaona** y **Rosario Cortes (Ingrata)** que me acompañaron en la licenciatura y maestría, ya sea de cerca o de lejos, haciendo que todas las tardes fueran divertidas y alejadas de las preocupaciones académicas.

Una dedicatoria y agradecimiento muy especial a la **Dra. Angelica Flores Flores** por sus enseñanzas académicas y no académicas que me permitieron ser una mejor persona, a superar las adversidades con la mejor actitud. Pero más importante por sus revisiones periódicas a los avances de este proyecto y sus tutorías. **TILY ♥♥♥**



ÍNDICE DE CONTENIDO

Contenido

ÍNDICE DE ESPECTROS	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VI
ÍNDICE DE TABLAS	VIII
ÍNDICE DE GRÁFICAS	IX
ABREVIATURAS.....	X
ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS.....	XI
RESUMEN	XIII
ABSTRACT	XIV
1. INTRODUCCIÓN	1
2.- ANTECEDENTES	2
2.1 Definición y Clasificación de la Diabetes.....	2
2.2 Estadísticas y prevalencia de la diabetes alrededor del mundo.....	2
2.3 Diagnóstico de la Diabetes Tipo 2.....	4
2.4 Fisiopatología de la Diabetes Mellitus.....	5
2.4.1 Mecanismo de liberación y resistencia a la insulina.....	5
2.5 Tratamiento de la DT 2	7
2.5.1 Sulfonilureas	8
2.5.2 Tiazolidindionas	9
2.5.3 Biguanidas	10
2.5.4 Meglitidinas.....	10
2.5.5 Inhibidores de α -glucosidasas	11
2.5.6 Terapia basada en incretinas e inhibidores de la enzima dipeptidil peptidasa-4 (DDP-4).....	11
2.5.7 Inhibidores del transportador de sodio/glucosa tipo 2.....	12
2.6 Dianas terapéuticas novedosas para el tratamiento de la DT 2.....	13
2.6.1 Relevancia biológica de la adiponectina y de sus receptores.....	13
2.6.2 Vía de señalización de la Adiponectina	15
2.7 Agonistas sintéticos de los receptores de adiponectina AdipoR ₁ y AdipoR ₂	16
3. JUSTIFICACIÓN	19
4. HIPÓTESIS	20



5. OBJETIVOS	20
6. CONSIDERACIONES QUÍMICO-FARMACÉUTICAS PARA EL DISEÑO MOLECULAR	21
6.1 Reducción de la reactividad.....	22
6.2 Reducción del Log P	23
7. Metodología Experimental.....	24
7.1. Parte química	24
7.1.1 Retrosíntesis.....	24
7.1.2 Esquema General de Síntesis	25
7.2. Parte computacional (<i>in silico</i>).....	27
7.2.1 PASS Online (predicción del espectro de actividad biológica).....	27
7.2.2 admetSAR: predicción de las propiedades ADMET.....	27
7.2.3 Osiris: explorador de propiedades toxicológicas.....	28
7.2.4 ACD/Toxsuite: predicción de la toxicidad y DL ₅₀	29
7.2.5 Acoplamiento molecular refinado.....	29
7.3 Análisis de consenso farmacológico para la selección de un líder computacional seguro (Safe lead).....	32
7.3 Parte farmacológica	33
7.3.1 Curva de tolerancia a la glucosa.....	33
7.3.2 Generación de un modelo murino de diabetes no insulino dependiente	33
7.3.3 Efecto antidiabético agudo en un modelo murino no insulino dependiente	34
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
8.1 Parte química.....	37
8.1.1 Síntesis de los precursores tipo <i>N</i> -(4-hidroxifenil)benzamida (MMJ15-20)	37
8.1.2 Síntesis del compuesto precursor <i>N</i> -(1-bencilpiperidin-4-il)-2-cloroacetamida (MMJ-23)	38
8.1.2 Síntesis de 2-(4-benzoilfenoxi)- <i>N</i> -[1-(fenilmetil)-4-piperidinil]acetamida (AdipoRon).....	38
8.1.3 Procedimiento general de síntesis de los compuestos finales tipo <i>N</i> -(4-(2-((1-bencilpiperidin-4-il)amino)-2-oxoetoxi)fenil)benzamida (MMJ 1-6)	39

8.1.4 Síntesis del compuesto 2-(4-acetamidofenoxi)-N-(1-bencilpiperidin-4-il) acetamida (MMJ-7).....	40
8.1.5 Optimización en la síntesis de AdipoRon.....	41
8.2 Caracterización estructural	44
8.2.1 Resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C	44
8.2.2 Cristalografía de rayos X	63
8.2.3 Espectrometría de masas	63
8.3 Parte <i>in silico</i>	66
8.3.1 Molinspiration.....	66
8.3.2 PASSonline.....	67
8.3.3 admetSAR Predicción de las propiedades farmacocinéticas.....	68
8.3.4 OSIRIS predicción de la toxicidad.....	70
8.3.5 ACD/Toxsuite: predicción de la DL_{50}	71
8.3.5 Probabilidades de inhibición del CYP 450	72
8.3.6 Probabilidades de bloqueo de los canales hERG.....	74
8.3.7 Acoplamiento molecular.....	75
8.4 Análisis de Consenso Farmacológico para la Selección de un Líder Computacional Seguro.....	80
8.5 Evaluación <i>in vitro</i> sobre células de miotubo C2C12	81
8.5.1 Prueba de viabilidad celular.....	81
8.5.2 Evaluación de la fosforilación de la enzima AMPK	83
8.5.3 Ensayo <i>in vitro</i> sobre la expresión de PPAR- γ y GLUT-4	84
8.5.4 Evaluación de la expresión de Adiponectina	85
8.6 Acoplamiento molecular refinado.....	86
8.7 Evaluación <i>in vivo</i> en un modelo murino de diabetes no insulino dependiente	89
8.7.1 Evaluación del efecto antidiabético del compuesto MMJ-1 en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente	90
8.7.2 Evaluación del efecto antidiabético del compuesto MMJ-2 en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente	91
9. CONCLUSIONES.....	92
10. Perspectivas.....	93
11. PARTE EXPERIMENTAL.....	94
11.1 Instrumentación.....	94



11.2 Síntesis de los compuestos finales MMJ 1-7	95
11.2.1 Síntesis de 2-(4-benzoilfenoxi)- <i>N</i> -[1-(fenilmetil)-4-piperidinil]acetamida (AdipoRon).....	95
11.2.2 Optimización de la ruta de síntesis de AdipoRon.....	96
11.2.3 Método general de síntesis de los compuestos MMJ 1-6	97
11.3 Método general de síntesis de los compuestos precursores (MMJ 15-20)	105
11.3.1 Síntesis de <i>N</i> -(4-hidroxifenil)benzamida (MMJ-15).....	105
11.3.2 Síntesis de 4-fluoro- <i>N</i> -(4-hidroxifenil)benzamida (MMJ-16)	106
11.3.3 Síntesis de 4-cloro- <i>N</i> -(4-hidroxifenil)benzamida (MMJ-17).....	106
11.3.4 Síntesis de 2,4-dicloro- <i>N</i> -(4-hidroxifenil)benzamida (MMJ-18).....	107
11.3.5 Síntesis de 3,4-dicloro- <i>N</i> -(4-hidroxifenil)benzamida (MMJ-19).....	107
11.3.6 Síntesis de <i>N</i> -(4-hidroxifenil)-4-(trifluorometil)benzamida (MMJ-20)..	108
11.3.6 Síntesis de <i>N</i> -(1-bencilpiperidin-4-il)-2-cloroacetamida (MMJ-23).....	108
12. Espectros	109
13. BIBLIOGRAFÍA	133

ÍNDICE DE ESPECTROS

Espectro 1. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de AdipoRon	109
Espectro 2. Espectro RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de AdipoRon.....	110
Espectro 3. Espectro de RMN ^1H (600 MHz, DMSO-d_6) del compuesto MMJ-1	111
Espectro 4. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO d_6 , 150 MHz) del compuesto MMJ-1 (A región alifática y B región aromática).....	112
Espectro 5. Espectro de RMN ^1H (600MHz, DMSO d_6) del compuesto MMJ-2	113
Espectro 6. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO d_6 , 150 MHz) del compuesto MMJ-2 (A región alifática y B región aromática).....	114
Espectro 7. Espectro de RMN ^1H (600MHz, DMSO d_6) del compuesto MMJ-3	115
Espectro 8. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO d_6 , 150 MHz) del compuesto MMJ-3 (A región alifática y B región aromática).....	116
Espectro 9. Espectro de RMN ^1H (600MHz, DMSO d_6) del compuesto MMJ-4	117
Espectro 10. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO d_6 , 150 MHz) del compuesto MMJ-4 (A región alifática y B región aromática).....	118
Espectro 11. Espectro de RMN ^1H (600MHz, DMSO d_6) del compuesto MMJ-5	119
Espectro 12. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO d_6 , 150 MHz) del compuesto MMJ-5 (A región alifática y B región aromática).....	120
Espectro 13. Espectro de RMN ^1H (600MHz, DMSO d_6) del compuesto MMJ-6	121
Espectro 14. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO d_6 , 150 MHz) del compuesto MMJ-5 (A región alifática y B región aromática).....	122
Espectro 15. Espectro de RMN ^1H (600MHz, DMSO d_6) del compuesto MMJ-15	123
Espectro 16. Espectro de RMN ^1H (600MHz, DMSO d_6) del compuesto MMJ-16	124
Espectro 17. Espectro de RMN ^1H (600MHz, DMSO d_6) del compuesto MMJ-17	125
Espectro 18. Espectro de RMN ^1H (600MHz, DMSO d_6) del compuesto MMJ-18	126
Espectro 19. Espectro de RMN ^1H (600MHz, DMSO d_6) del compuesto MMJ-19	127
Espectro 20. Espectro de RMN ^1H (600MHz, DMSO d_6) del compuesto MMJ-20	128
Espectro 21. Patrón de fragmentación de AdipoRon modalidad IE.....	129
Espectro 22. Patrón de fragmentación del compuesto MMJ-1 modalidad IE	129
Espectro 23. Patrón de fragmentación del compuesto MMJ-3 modalidad IE	130
Espectro 24. Patrón de fragmentación del compuesto MMJ-2 modalidad IE	130
Espectro 25. Patrón de fragmentación del compuesto MMJ-5 modalidad IE	131
Espectro 26. Patrón de fragmentación del compuesto MMJ-4 modalidad IE	131
Espectro 28. Patrón de fragmentación del compuesto MMJ-7 modalidad IE	132
Espectro 27. Patrón de fragmentación del compuesto MMJ-6 modalidad IE	132

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Número de personas con DM a nivel mundial y la estimación para el año 2045	3
Figura 2. Prevalencia de diagnóstico médico de diabetes según sexo y región en población de 20 y más años.....	4
Figura 3. Mecanismo de liberación de insulina.....	6
Figura 4. Vía de señalización de la insulina.....	7
Figura 5. Tratamiento farmacológico de la DM 2.....	8
Figura 6. Estructura química de las Sulfonilureas.	9
Figura 7. Estructura química de las TZDs	9
Figura 8. Estructura química de las biguanidas.....	10
Figura 9. Estructura química de Meglitinidas.....	10
Figura 10. Estructura química de los inhibidores de α -glucosidasas.....	11
Figura 11. Secuencia de aminoácidos de la exenatida	12
Figura 12. Estructura química de los inhibidores de la enzima DDP-4.....	12
Figura 13. Estructura química de la dapaglifozina.....	13
Figura 14. Estructura tridimensional de la forma trimérica de la adiponectina	14
Figura 15. Estructura tridimensional de ambos receptores de adiponectina	14
Figura 16. Vía de señalización de la adiponectina	15
Figura 17. Estructura química de AdipoRon	16
Figura 18. Efectos de AdipoRon sobre hígado, músculo esquelético y tejido adiposo.....	18
Figura 19. Estructura y farmacóforo de AdipoRon.....	21
Figura 20. Modificaciones estructurales de AdipoRon para la obtención de MMJ 1-6	21
Figura 21. Modificaciones estructurales para la obtención de MMJ-7	22
Figura 22. Formación de una base de Schiff	22
Figura 23. Disminución del Log P en MMJ-7	23
Figura 24. Retrosíntesis de los compuestos finales MMJ 1-6	24
Figura 25. Retrosíntesis del compuesto MMJ-7	25
Figura 26. Síntesis de los compuestos MMJ 15-20 y MMJ-23	25
Figura 27. Síntesis de los compuestos finales MMJ 1-6	26
Figura 28. Síntesis del compuesto MMJ-7	26
Figura 29. Interfaz del servidor en línea PASS online	27
Figura 30. Interfaz del servidor en línea admetSAR	28
Figura 31. Interfaz del programa Osiris	28
Figura 32. Interfaz del programa ACD/Toxsuite	29
Figura 33. Interfaz del programa MOE	31
Figura 34. Interfaz del programa PYMOL.....	32
Figura 35. Síntesis de los compuestos precursores MMJ 15-20	37
Figura 36. Síntesis del compuesto precursor MMJ-23	38
Figura 37. Síntesis de AdipoRon	39



Figura 38. Síntesis de los compuestos finales MMJ 1-8	40
Figura 39. Síntesis del compuesto final MMJ-7	41
Figura 40. optimización en la síntesis de AdipoRon	41
Figura 41. Equipo Monowave 50 y condiciones de reacción usadas.	42
Figura 42. Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, DMSO-d6) del precursor MMJ-15	44
Figura 43. Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, DMSO-d6) del compuesto MMJ-1	46
Figura 44. Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) del compuesto AdipoRon	47
Figura 45. Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃) de AdipoRon.....	48
Figura 46. Estructura cristalina del precursor MMJ-18 (A) y celda unitaria (B).....	63
Figura 47. Resultados del acoplamiento de AdipoRon sobre el receptor AdipoR ¹	75
Figura 48. Resultados del acoplamiento de AdipoRon y MMJ-5 sobre el receptor AdipoR ₁	76
Figura 49. Diagramas en 2D de interacciones entre AdipoRon y MMJ-5 sobre el receptor AdipoR ₁	77
Figura 50. Resultados del acoplamiento de AdipoRon y MMJ-5 sobre el receptor AdipoR ₂	79
Figura 51. Diagramas en 2D de interacciones entre AdipoRon y MMJ-5 sobre el receptor AdipoR ₂	79
Figura 52. Western-blot de la medición de AMPK total y pAMPK.	83
Figura 53. Diagrama de interacciones 3D de AdipoRon y MMJ-1 sobre el receptor AdipoR ₂	87
Figura 54. Diagramas en 2D de interacciones entre AdipoRon y MMJ-1 sobre el receptor AdipoR ₂	87
Figura 55. Diagrama de interacciones 3D de AdipoRon y MMJ-2 sobre el receptor AdipoR ₂	88
Figura 57. Diagramas en 2D de interacciones entre AdipoRon y MMJ-2 sobre el receptorR ₂	89

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de los compuestos precursores MMJ 15-20.	38
Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de los compuestos finales MMJ 1-6	40
Tabla 3. Resultados de la optimización en la síntesis de AdipoRon	42
Tabla 4. Comparación de precios en la obtención de 25 mg de AdipoRon	43
Tabla 5. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H del compuesto precursor MMJ-15	49
Tabla 6. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H del compuesto precursor MMJ-16	50
Tabla 7. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H del compuesto precursor MMJ-17	51
Tabla 8. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H del compuesto precursor MMJ-18	52
Tabla 9. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H del compuesto precursor MMJ-19	53
Tabla 10. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H del compuesto precursor MMJ-20	54
Tabla 11. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H y ¹³ C de AdipoRon.....	55
Tabla 12. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto MMJ-1 ...	56
Tabla 13. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto MMJ-2 ...	57
Tabla 14. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto MMJ-3 ...	58
Tabla 15. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto MMJ-4 ...	59
Tabla 16. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto MMJ-5 ...	60
Tabla 17. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto MMJ-6 ...	61
Tabla 18. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto MMJ-7 ...	62
Tabla 19. Propiedades fisicoquímicas de los compuestos MMJ 1-7 y AdipoRon.....	66
Tabla 20. Espectro de actividades biológicas de los compuestos MMJ 1-7	67
Tabla 21. Propiedades ADMET de los compuestos MMJ 1-4 y AdipoRon.	68
Tabla 22. Propiedades ADMET de los compuestos MMJ 5-7	69
Tabla 23. Resultados de la predicción de la toxicidad de los compuestos MMJ 1-7	70
Tabla 24. Dosis letales medias de los compuestos MMJ 1-7 y AdipoRon.....	71
Tabla 25. Probabilidades de inhibición del CYP 450 compuestos MMJ 1-5 y AdipoRon.....	72
Tabla 26. Probabilidades de inhibición del CYP 450 compuestos MMJ 6-7	73
Tabla 27. Probabilidades de bloqueo de los canales hERG	74
Tabla 28. Resultado del acoplamiento molecular de los compuestos MMJ 1-7 con el receptor AdipoR ₁	76
Tabla 29. Resultados del acoplamiento molecular de los compuestos MMJ 1-7 con el receptor AdipoR ₂	78



Tabla 30. Análisis de Consenso Farmacológico para la Selección de un Líder Computacional Seguro..... 80

Tabla 31. Porcentaje de viabilidad celular de los compuestos **MMJ 1-3**, **MMJ-7** y AdipoRon..... 82

Tabla 32. Resultados del acoplamiento molecular refinado sobre AdipoR₂..... 86

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Efectos anti hiperglucemiantes de AdipoRon vs Adiponectina en ratones db/db 17

Gráfica 2. Porcentaje de viabilidad celular de los compuestos **MMJ 1-3**, **MMJ-7** y AdipoRon..... 82

Gráfica 3. Intensidades relativas de AMPK y pAMPK 83

Gráfica 4. Efecto de AdipoRon, **MMJ 1-3** y **MMJ-7** sobre la expresión de PPAR γ (A) y GLUT4 (B) en células C2C12. 84

Gráfica 5. Efecto de AdipoRon y los compuestos **MMJ 1-3** y **MMJ-7** sobre la expresión de adiponectina en células C2C12 85

Gráfica 6. Efecto de la dosis única (100 mg/kg) del compuesto **MMJ-1** en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente 90

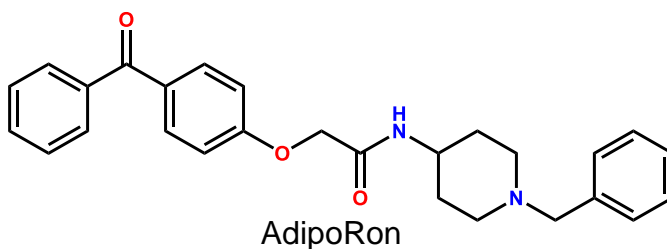
Gráfica 7. Efecto de la dosis única (100 mg/kg) del compuesto **MMJ-2** en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente 91

ABREVIATURAS

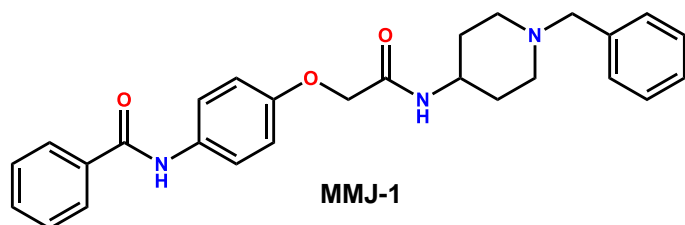
DT 1	Diabetes Tipo 1
DT 2	Diabetes Tipo 2
AdipoR ₁	Receptor de Adiponectina tipo 1
AdipoR ₂	Receptor de Adiponectina tipo 2
OMS	Organización Mundial de la Salud
FID	Federación Internacional de la Salud
RI	Resistencia a la Insulina
ATP	Trifosfato de Adenosina
ADP	Difosfato de Adenosina
K _{ATP}	Canales de Potasio Dependientes de ATP
IRS	Sustrato del Receptor de Insulina
PIK3	Enzima Fosfatidilinositol-3-cinasa
PIP ₂	Bifosfato de Inositol
PIP ₃	Trifosfato de Inositol
PDK-1	Cinasa Dependiente de Inositol
PKC	Enzima Fosfocinasa C
MCP-1	Proteína Quimioatrayente de Monocitos 1
IL-6	Interleucina 6
IL-1 β	Interleucina 1 β
TNF- α	Factor de Necrosis Tumoral
DPP-4	Enzima dipeptidil peptidasa-4
EM IE	Espectrometría de masas en modalidad de impacto electrónico

ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS

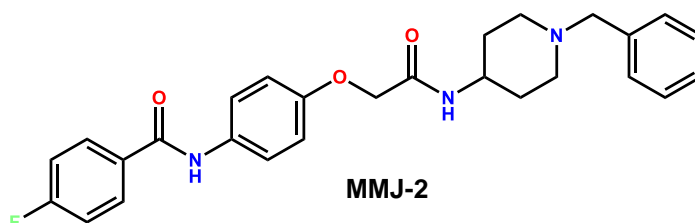
Compuestos Finales



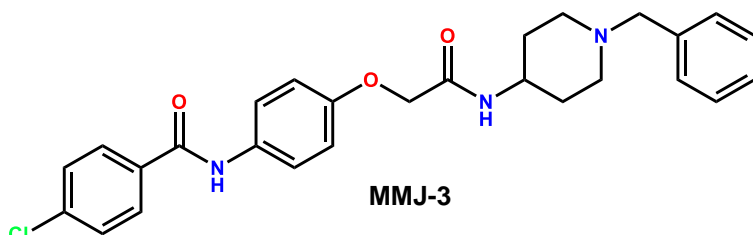
2-(4-Benzoilfenoxi)-N-[1-(fenilmetil)-4-piperidinil]-acetamida



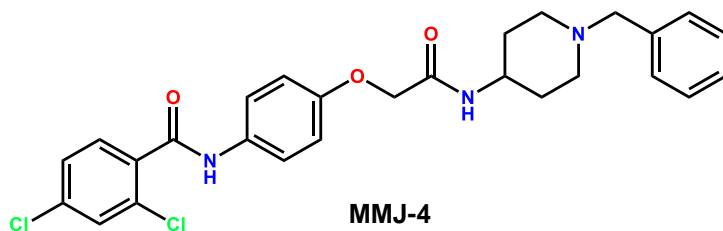
N-(4-(2-((1-Bencilpiperidin-4-il)amino)-2-oxoetoxi)fenil)benzamida



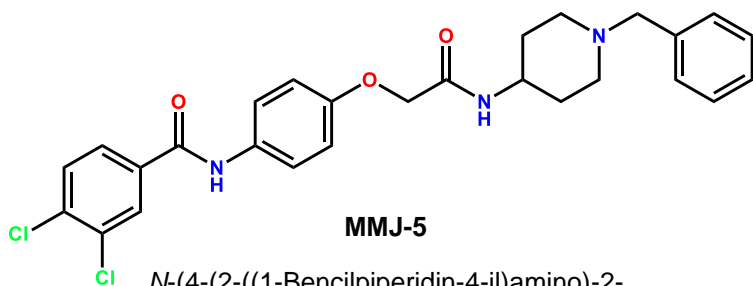
N-(4-(2-((1-Bencilpiperidin-4-il)amino)-2-oxoetoxi)fenil)-4-fluorobenzamida



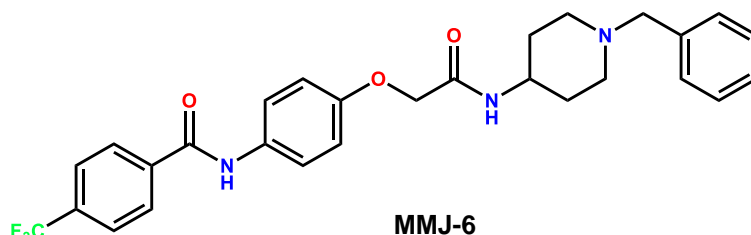
N-(4-(2-((1-Bencilpiperidin-4-il)amino)-2-oxoetoxi)fenil)-4-clorobenzamida



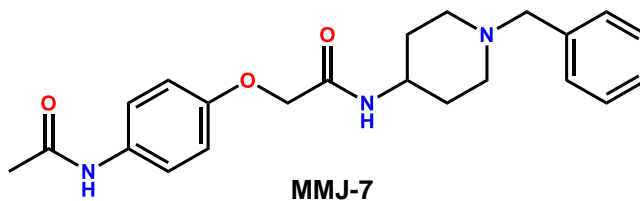
N-(4-(2-((1-Bencilpiperidin-4-il)amino)-2-oxoetoxi)fenil)-2,4-diclorobenzamida



N-(4-(2-((1-Bencilpiperidin-4-il)amino)-2-oxoetoxi)fenil)-3,4-diclorobenzamida

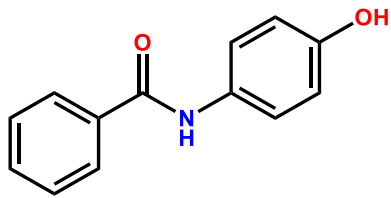


N-(4-(2-((1-Bencilpiperidin-4-il)amino)-2-oxoetoxi)fenil)-4-(trifluorometil) benzamida



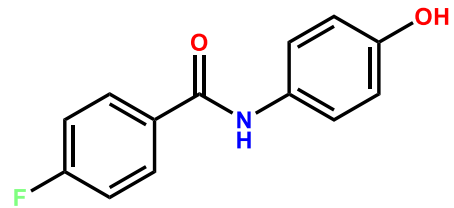
2-(4-Acetamidofenoxi)-N-(1-bencilpiperidin-4-il)acetamida

Compuestos precursores



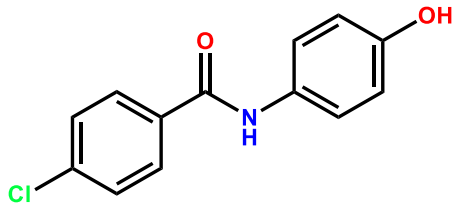
MMJ-15

N-(4-Hidroxifenil)benzamida



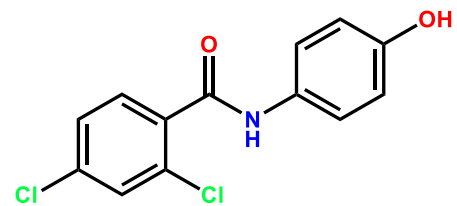
MMJ-16

4-Fluoro-*N*-(4-hidroxifenil)benzamida



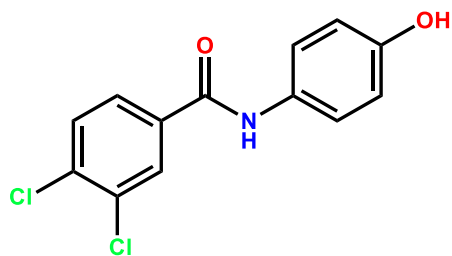
MMJ-17

4-Cloro-*N*-(4-hidroxifenil)benzamida



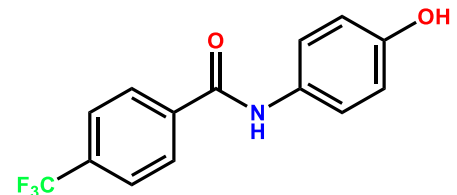
MMJ-18

2,4-Dicloro-*N*-(4-hidroxifenil)benzamida



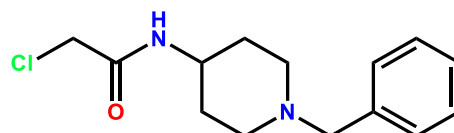
MMJ-19

3,4-Dicloro-*N*-(4-hidroxifenil)benzamida



MMJ-20

N-(4-Hidroxifenil)-4-(trifluorometil)benzamida



MMJ-23a

N-(1-Bencilpiperidin-4-il)-2-cloroacetamida

RESUMEN

En la actualidad la Diabetes es un problema de salud a nivel mundial y nacional de importancia debido a su alta prevalencia, ya que alrededor del mundo existieron 463 millones de personas con este padecimiento durante el año 2019, en comparación con la estadística del 2017 (425 millones de personas) y se espera que las personas con esta enfermedad alcancen los 700 millones para el año de 2045 (incremento del 50%), siendo la Diabetes Tipo 2 (DT 2) la que representa el 90% de los casos reportados a nivel mundial. Esta es una enfermedad crónico-degenerativa caracterizada por niveles altos de glucosa provocados por una deficiencia en la secreción de insulina o por el desarrollo de una resistencia a la acción biológica de esta hormona. Así mismo, se ha observado que una dieta alta en grasas y carbohidratos, además de la presencia mantenida de obesidad e hiperglicemias crónicas favorecen el desarrollo de la resistencia a la insulina, además de reducir los niveles plasmáticos de adiponectina, la cual es una hormona insulinosensibilizadora que favorece el metabolismo tanto de carbohidratos como de lípidos.

Si bien en la terapéutica se cuentan con numerosos fármacos para el tratamiento de la diabetes, muchos carecen de actividad biológica sobre las diversas complicaciones de esta enfermedad, haciendo necesario el uso de dos o más fármacos para el tratamiento de este padecimiento (polifarmacia). Actualmente se han descrito numerosos agonistas sintéticos de los receptores de adiponectina, de los cuales destaca el compuesto conocido como AdipoRon (primer agonista sintético de los receptores de adiponectina) que logran disminuir la resistencia a la insulina y mejoran la calidad de vida de los pacientes.

Debido a lo anterior, el principal objetivo de este proyecto fue diseñar y generar una serie de 7 compuestos (**MMJ 1-7**) análogos de AdipoRon, tomando criterios como: toxicidad, farmacocinética, farmacodinamia a través del uso de diversas herramientas químico-informáticas y a través de un Análisis de Consenso Farmacológico para la Selección de un Líder Computacional Seguro se revisaron diversas propiedades ADMET y farmacodinámicas y de esta manera se determinó que los compuestos **MMJ 1-3** y **MMJ-7** tuvieron los mejores perfiles, por lo cual se priorizó su evaluación *in vitro*. Con base en estos resultados se determinó que los compuestos **MMJ-1** y **MMJ-2** fueron los más activos de las moléculas evaluadas, priorizando de esta manera su evaluación *in vivo* en un modelo murino de diabetes no insulino dependiente, en donde el compuesto **MMJ-1** fue el compuesto con la mejor actividad biológica *in vivo*, teniendo un importante efecto antihiperglicémico y éste fue más significativo que el observado en la molécula de referencia AdipoRon, catalogando al compuesto **MMJ-1** como un compuesto hit experimental y el mejor compuesto de la serie **MMJ 1-7**.

ABSTRACT

Currently, Diabetes Mellitus represents a national and global health problem due to its high prevalence: in the year of 2019 it was estimated that 463 million people was diagnosed with diabetes (compared with 2017 census, year when it was estimated 425 million of people with this disease) and is expected to increase to 700 million (50% increase), where Type 2 Diabetes Mellitus represents 90% of cases. This is a chronic degenerative disease characterized by high blood glucose levels due to abnormal pancreatic β -cell function and/or the development of insuline resistance. It has been observed that a high fat and carbohidrate diet, in addition to a prolonged state of obesity promote the development of insulin resistance and decrease the levels of plasma adiponectin, a hormone with a pontent insulin-sensitizing activity and favors the fat and gluucose metabolism.

Although there are several types of drugs for the diabetes (T1 or T2) treatment, however they lack of effect on the several complicatios of this disease making it necessary to use two or more drugs to treat this condition. Now in days it has been described a new drug family: the synthetic agonists of the adiponectin receptors, wich the molecule know as AdipoRon stands out (the first synthetic agonist of these receptors to be reported) due to its insulin-sensitizing activity and improving the fat and carbohidrate metabolism, and because of this, improving the life spawn of patients.

Due to the above, is that in this proyect a series of 7 compounds (**MMJ 1-7**) analogs to AdipoRon were desingned and synthesized, consideting criteria such as toxicity, pharmacokinetics and pharmacodynamics trough the use of cheminformatics tools and a Pharmacological Consensus Analysis to Generate a Safe Lead. By this analysis it was determinated that compounds **MMJ 1-3** and **MMJ-7** had the best profile and they were prioritized to the *in vitro* essays. In these test, the compouds **MMJ-1** and **MMJ-2** presented the best results and these compounds were prioritized to the *in vivo* tests using a non-insulin dependent murine model. In this biological assay the compound MMJ-1 stands out because it antihyperglucemic effect , wich is more biologically significant than the observed in the reference molecule (AdipoRon). Therefore the compound **MMJ-1** was cataloged as a experimental *hit* and the best compound of the series **MMJ 1-7**.

1. INTRODUCCIÓN

La Diabetes es una patología crónico-degenerativa caracterizada por la presencia de hiperglucemia a pesar de que los pacientes presenten más de ocho horas de ayuno y se ha demostrado que esta condición se favorece al mantener una vida sedentaria sumada a una dieta rica en carbohidratos y grasas. Este desequilibrio en el metabolismo de la glucosa a su vez provoca alteraciones en el metabolismo de lípidos y proteínas generando a su vez las demás complicaciones de esta enfermedad (neuropatía y nefropatía diabética).¹

En la actualidad esta enfermedad se ha vuelto un importante foco de alerta a nivel nacional tanto como mundial debido a su alta prevalencia y mortalidad ya que se estima que en el mundo se estima que existen 422 millones de adultos con este padecimiento lo cual corresponde a 1 de cada 11 personas, indicando que las cifras de diabetes a nivel mundial se ha cuadruplicado desde 1990.² De todos los casos reportados a nivel mundial de esta patología, el 90% corresponde a la Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM 2) en la cual la hiperglicemia está mediada por el desarrollo de una resistencia a la insulina, condición que empeora cuando se desarrolla una deficiencia en la secreción de dicha hormona. Esta hiperglucemia genera a su vez complicaciones micro y macroangiopáticas que derivan en problemas renales, retinopatías, neuropatías así como complicaciones vasculares.³

Debido a lo anteriormente mencionado es que el tratamiento de la DT 2 no solo consiste en generar y mantener un estado euglucémico, si no también mantener niveles adecuados de lípidos y revertir en lo mayor posible la resistencia a la insulina. En la actualidad se han descrito dos dianas terapéuticas novedosas pertenecientes a la familia de los receptores de progesterona y adiponectina Q (PAQR); los receptores de Adiponectina 1 y 2 (AdipoR₁ y AdipoR₂) cuyo agonismo por su ligando endógeno (la hormona adiponectina) genera insulinosensibilización además de promover el metabolismo de carbohidratos y de lípidos, permitiendo que estos regresen a sus valores normales.⁴ Sin embargo, el uso de la adiponectina en la terapéutica es complejo debido a su diversidad estructural (provocando diversas actividades biológicas en diferentes tejidos) y su corto tiempo de vida media ($t_{1/2}$) (75 min aproximadamente) es necesario la investigación y desarrollo de agonistas sintéticos de los receptores AdipoR₁ y AdpoR₂.⁴

Dentro de los agonistas sintéticos de estos receptores destaca la molécula denominada AdipoRon la cual posee una importante actividad antidiabética, logrando disminuir la resistencia a la insulina, mejorando el metabolismo de lípidos y carbohidratos, además de regular el peso corporal y disminuir el proceso de inflamación presente en la DT2.⁵ Debido a esta importante actividad biológica antidiabética es de interés desarrollar más agonistas sintéticos de estos receptores que conserven similitud estructural y actividad biológica con AdipoRon con la finalidad de ampliar las posibilidades en el tratamiento experimental de la DM2

2.- ANTECEDENTES

2.1 Definición y Clasificación de la Diabetes

La Diabetes es una enfermedad crónico degenerativa generada y caracterizada por altas concentraciones de glucosa en sangre, esto se debe a una deficiencia en la producción de insulina por el páncreas o bien cuando el organismo se hace resistente a la acción hipoglucémica de esta hormona.¹

La Organización Mundial de la Salud (OMS), la Federación Internacional de la Diabetes (FID) y otras instituciones reconocen tres tipos de diabetes de acuerdo con el mecanismo fisiopatológico que lo desencadena y se clasifican como Diabetes Mellitus tipo 1, tipo 2 y diabetes gestacional.¹

- Diabetes Tipo 1 (DT1): Este tipo de diabetes está mediada por la destrucción selectiva de las células β -pancreáticas debido a una reacción autoinmune que conlleva a una deficiencia en la producción de insulina, generando de esta manera concentraciones elevadas de glucosa en el torrente sanguíneo.⁶
- Diabetes Tipo 2 (DT2): Este tipo de diabetes se caracteriza por el desarrollo de una resistencia a la acción hipoglucémica de la insulina, manteniendo niveles elevados de glucosa en sangre. Este tipo de diabetes representa del 80 al 90% de los diagnósticos de este padecimiento.¹
- Diabetes Gestacional: Tipo de diabetes desarrollado por mujeres embarazadas usualmente a partir de la semana 24, pero su presencia no siempre indica la existencia de esta enfermedad antes del periodo de gestación.⁷

Sin importar el tipo de diabetes que se presente, este padecimiento genera altas concentraciones de glucosa en sangre y de esta manera generará las diversas complicaciones asociadas a esta enfermedad, tales como nefropatías, neuropatías y retinopatías diabéticas, las cuales impactan de manera significativa en la calidad de vida del paciente además de complicar el tratamiento farmacológico de esta enfermedad.³

2.2 Estadísticas y Prevalencia de la Diabetes Alrededor del Mundo.

Esta es una enfermedad considerada como pandemia ya que alrededor del mundo existen 463 millones de personas con este padecimiento durante el año 2019, en comparación con la estadística del 2017 (año en el cual existieron 425 millones de personas con esta enfermedad) ¹ y se espera que las personas con esta enfermedad alcancen los 700 millones para el año de 2045 (incremento del 50%) (**Figura 1**), afectando de manera principal a adultos entre 20 y 64 años de edad.⁸

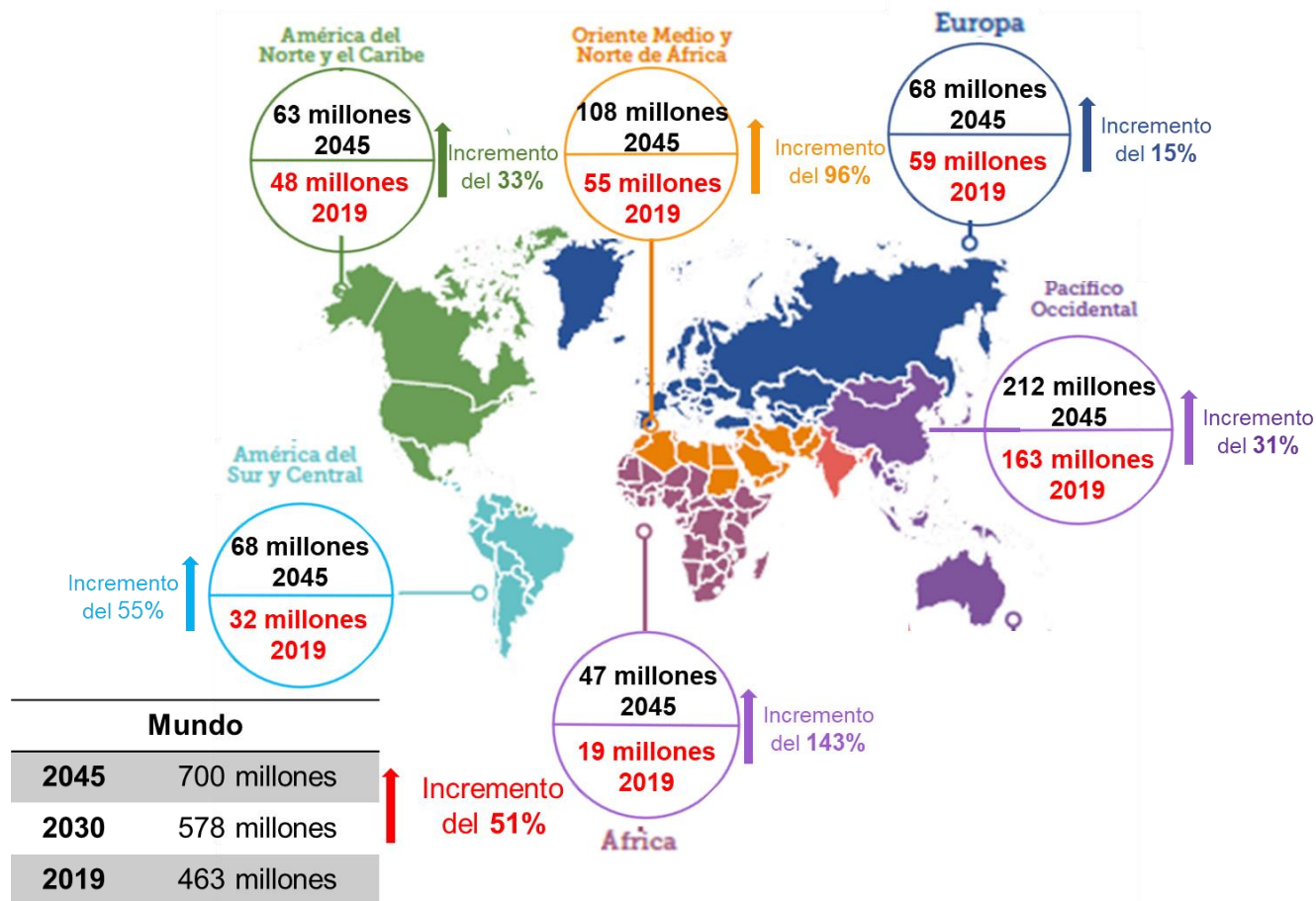


Figura 1. Número de personas con diabetes a nivel mundial y la estimación para el año 2045

Considerando estas cifras, se pueden ubicar dentro de los primeros 6 países a China, India, Estados Unidos, Pakistán, Brasil y México. Analizando el problema a nivel nacional, existieron 12.8 millones de personas con esta enfermedad en 2019⁸ y de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 el 9.4% de los adultos entrevistados confirmaron haber recibido el diagnóstico de Diabetes, presentándose un ligero aumento en la prevalencia de Diabetes con respecto a la ENSANUT 2012 (9.2%) y un aumento significativo con respecto a la ENSANUT 2006 (7.2%), donde en términos regionales la mayor prevalencia de personas con diagnóstico de diabetes se presentó en la región sur del país (Figura 2).⁹

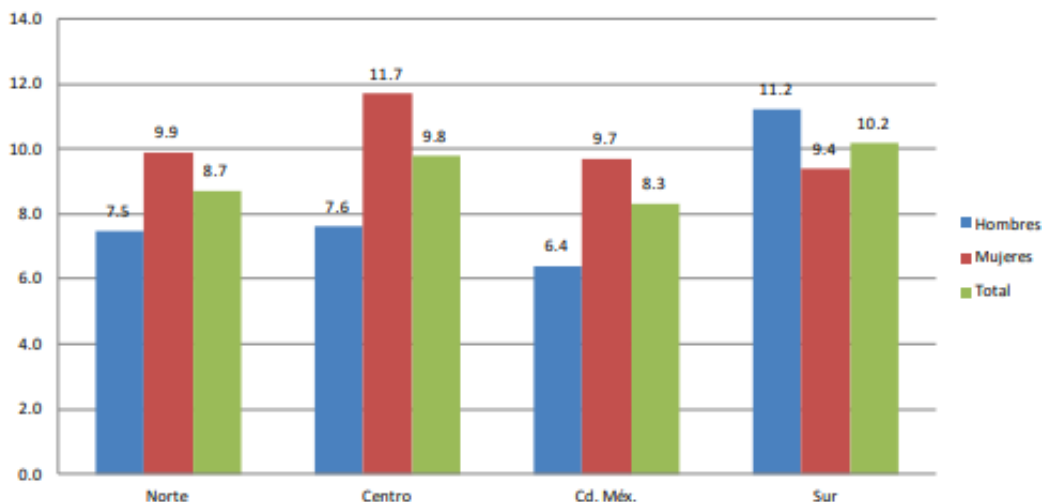


Figura 2. Prevalencia de diagnóstico médico de diabetes según sexo y región en población de 20 y más años

2.3 Diagnóstico de la Diabetes Tipo 2

En México se lleva a cabo el diagnóstico de esta enfermedad de acuerdo a lo establecido por la NOM-015-SSA-2010 para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus si se cumple con cualquiera de los siguientes criterios: ¹⁰

- Presencia de síntomas clásicos y una glucemia plasmática casual ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L)
- Glucemia en ayunas ≥ 126 mg/dL (7 mmol/L)
- Glucemia ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L) a las dos horas después de una carga oral de 75 g de glucosa disuelta en agua.

A pesar de esto, no es posible realizar un diagnóstico adecuado de esta enfermedad realizando sólo un tipo de análisis clínico, por lo cual existen diversos análisis clínicos para su diagnóstico:

➤ Prueba HbA1C

Esta prueba consiste en la medición de los niveles de hemoglobina glicosilada (fracción HbA1C), que puede utilizarse tanto en el diagnóstico de DM como durante su tratamiento.

Esta prueba indica el valor promedio de glucosa en sangre durante los últimos tres meses antes de realizar la prueba.

- Valor normal: 5.7%
- Prediabetes: valores 5.9-6.4 %
- DM 2: valores superiores al 6.5%

➤ Prueba de glucosa en ayuno

Esta es una prueba que mide la cantidad de glucosa en una muestra de sangre, y no debe de realizarse antes de las 8 horas de ayuno.

-Valor normal: 70-100 mg/dL

-Pre-diabetes: 105-125 mg/dL

-Diabetes: valores superiores a 125 mg/dL

➤ Prueba de tolerancia a la glucosa oral

En esta prueba se realizan por lo menos dos mediciones de glucosa en sangre, la primera se realiza al tener un ayuno de por lo menos 8 horas y la segunda a las 2 horas de una ingesta oral de glucosa (regularmente son 75 g disueltos en agua). Esta prueba indica la capacidad del cuerpo para metabolizar y utilizar la glucosa como fuente de energía.

-Valor normal de glucosa: <140 mg/dL

Se lleva a cabo el diagnóstico de DM cuando los valores obtenidos son superiores a 200 mg/dL a las 2 horas de realizada la prueba.¹¹

2.4 Fisiopatología de la Diabetes Mellitus

En condiciones normales, el organismo es capaz de mantener una homeostasis energética regulada mediante retroalimentación entre las células β pancreáticas y los tejidos sensibles a la insulina, en la cual la sensibilidad de estos tejidos determina la respuesta endócrina del páncreas; sin embargo, en un organismo en el cual existen desregulaciones en el metabolismo de glucosa y lípidos se ha reconocido dos mecanismos fisiopatológicos relacionados: el desarrollo de resistencia a la acción biológica de la insulina (RI) y a una deficiencia en la secreción de esta hormona por las células β pancreáticas.¹²

2.4.1 Mecanismo de Liberación y Resistencia a la Insulina.

La secreción de insulina es el principal mecanismo mediante el cual se regula la concentración de glucosa en el torrente sanguíneo y deficiencias en su secreción/función generan alteraciones en el metabolismo de carbohidratos y lípidos.¹³

Esta hormona es producida en las células β -pancreáticas y es empaquetada en gránulos de liberación y cuando se produce un estímulo (ya sea por agentes secretagogos de insulina o por glucosa) se desencadena una cascada de señalización que culmina con la fusión entre los gránulos de almacenamiento y la membrana plasmática de la célula, liberando insulina al torrente sanguíneo.¹³

Esta cascada de señalización inicia cuando la glucosa es captada por las células β pancreáticas mediante el transportador de glucosa GLUT 2. Posteriormente la glucosa es metabolizada oxidativamente (glucólisis y posteriormente mediante el ciclo de Krebs) elevando las concentraciones de ATP, alterando la relación ATP/ADP dentro de la célula lo cual provoca a su vez el cierre de los canales de potasio dependientes de ATP (K_{ATP}) despolarizando la membrana, lo cual promueve la apertura de los canales de calcio y teniendo como acción final la fusión de los gránulos de almacenamiento de insulina con la membrana y liberando esta hormona al torrente sanguíneo (**Figura 3**).^{14,15}

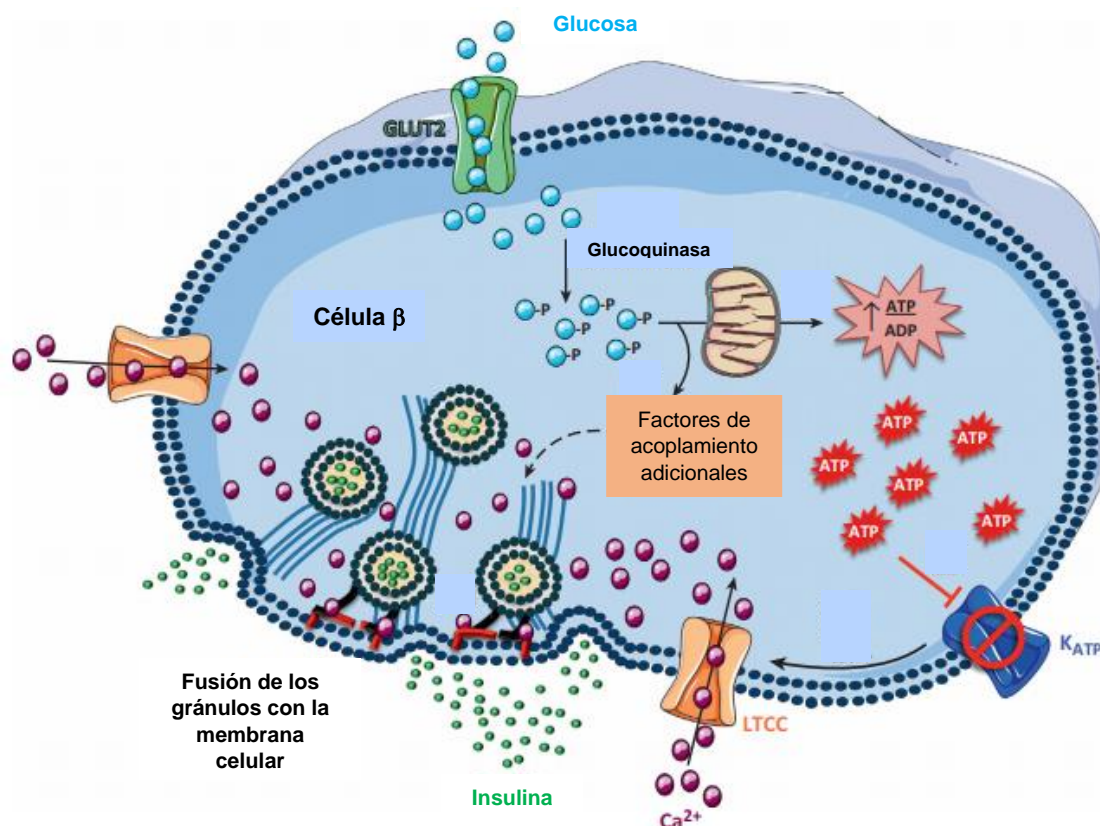


Figura 3. Mecanismo de liberación de insulina.¹⁵

Una vez que esta hormona es liberada al torrente sanguíneo, es captada por los tejidos periféricos, permitiendo que estos puedan utilizar la glucosa para la obtención de energía. Cuando la insulina se une a su receptor, este sufre un cambio conformacional que provoca su autofosforilación en residuos de tirosina, reclutando y fosforilando a los sustratos de este receptor (IRS), activando de esta manera la enzima fosfatidilinositol-3-cinasa (PIK3). Esta enzima transforma bifosfato de inositol (PIP_2) a trifosfato de inositol (PIP_3), activando a la cinasa dependiente de inositol (PDK-1) y posteriormente a la enzima fosfocinasa C (PKC) y Akt, reguladores que permiten la traslocación del transportador de glucosa GLUT 4 a la membrana celular e iniciando así la captación de glucosa por los tejidos sensibles a insulina (**Figura 4**).¹⁶

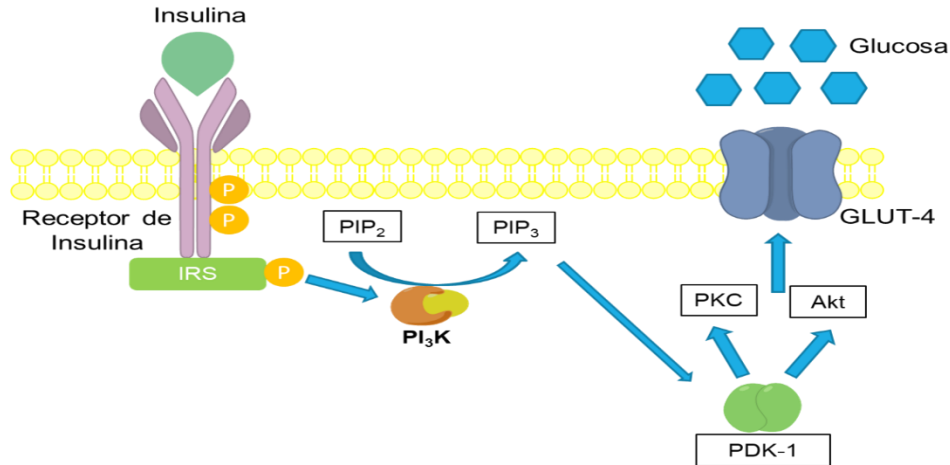


Figura 4. Vía de señalización de la insulina.

Sin embargo, la DM2 se caracteriza por el desarrollo de una resistencia a la acción biológica de esta hormona, la cual puede ser generada por mutaciones en el receptor de insulina o por una alteración en los residuos de aminoácidos que son fosforilados, siendo la más común el aumento en la fosforilación en residuos de Ser/Thr así como en la pérdida de la actividad cinasa de PI3K y Akt.¹⁶

En la actualidad se ha demostrado que un estadio prolongado de obesidad juega un rol fundamental en el desarrollo de la resistencia a la insulina, debido a que el tejido adiposo (además de tener funciones de almacenamiento y liberación de lípidos) tiene ciertas funciones endócrinas, donde una de las quimiocinas de mayor relevancia es la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1) la cual es responsable de la atracción y acumulación de macrófagos en el tejido adiposo, los cuales producen y liberan citocinas proinflamatorias como: interleucina 6 (IL-6), interleucina 1 β (IL-1 β) y factor de necrosis tumoral (TNF- α). Todas estas citocinas están relacionadas con el proceso de inflamación de bajo grado presente en la DT2 y con el desarrollo de la resistencia a la insulina.¹⁷

2.5 Tratamiento de la DT 2

Para el tratamiento de la DT 2 se debe de implementar una triada terapéutica, que consiste en modificar los hábitos alimenticios incorporando una dieta balanceada y reducida en carbohidratos, adicionalmente se requiere aumentar la cantidad de actividad física que realiza el individuo debido a que el ejercicio aumenta la captación muscular de glucosa, mejora la sensibilidad de los tejidos periféricos a la acción de la insulina y al eliminar la obesidad del paciente se revierte el proceso de inflamación de bajo grado, teniendo un impacto benéfico en la salud del individuo.¹⁸

En la actualidad se cuentan con numerosos fármacos comercialmente disponibles para el tratamiento de esta enfermedad y que poseen mecanismos de acción variados los cuales son resumidos en la **Figura 5** y son descritos a continuación.

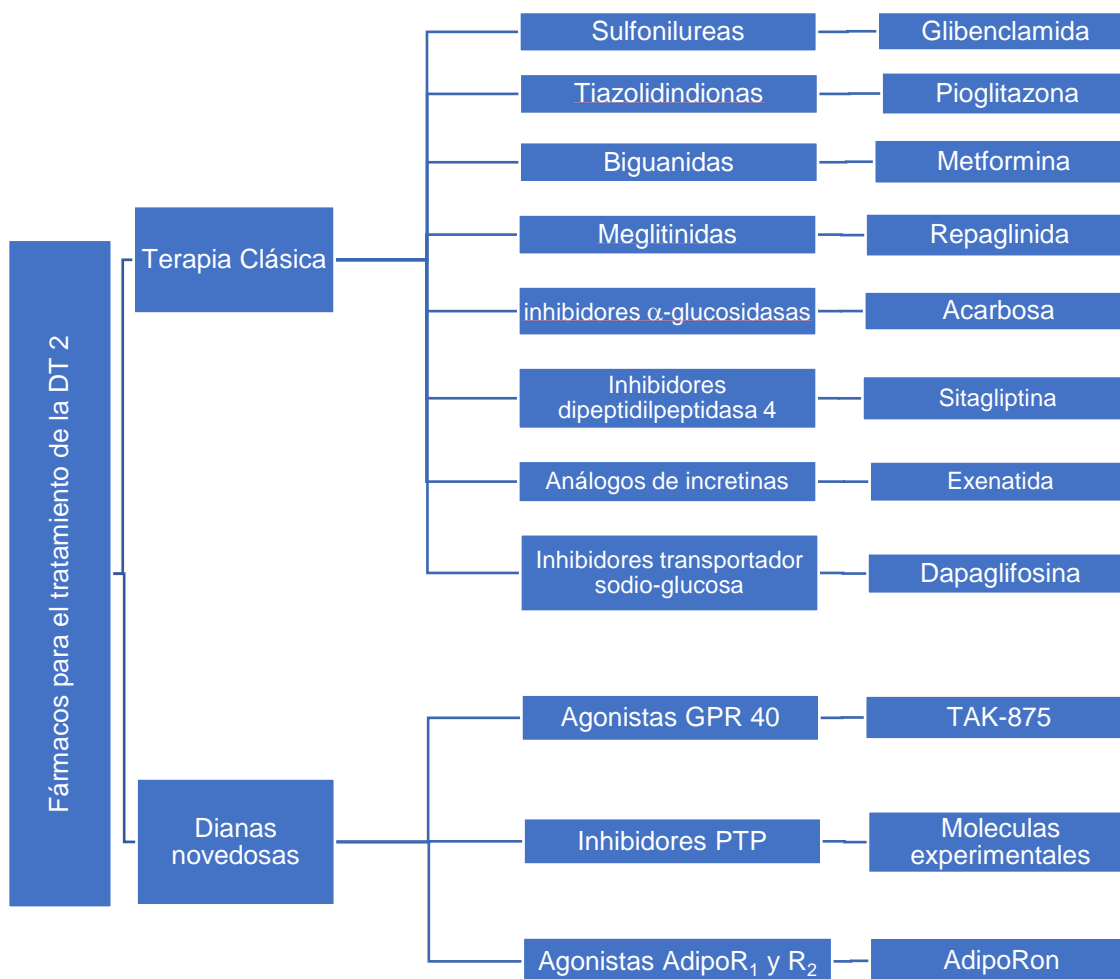


Figura 5. Tratamiento farmacológico de la DT 2

2.5.1 Sulfonilureas (SU)

Estos fármacos ejercen su efecto hipoglucemiante actuando directamente sobre los canales K_{ATP} en las células β pancreáticas, provocando el cierre de estos canales y el inicio de la señalización celular que tiene como resultado final la liberación de insulina logrando así su efecto hipoglucemiante.

Este tipo de fármacos son de bajo costo y están disponibles en diversas formulaciones, siendo las SU más comunes: clorpropamida, glibenclamida y glimepirida (**Figura 6**).

Los principales efectos adversos de estos fármacos son la ganancia en el peso corporal (limitando su uso en pacientes obesos) e hipoglicemia.¹⁹

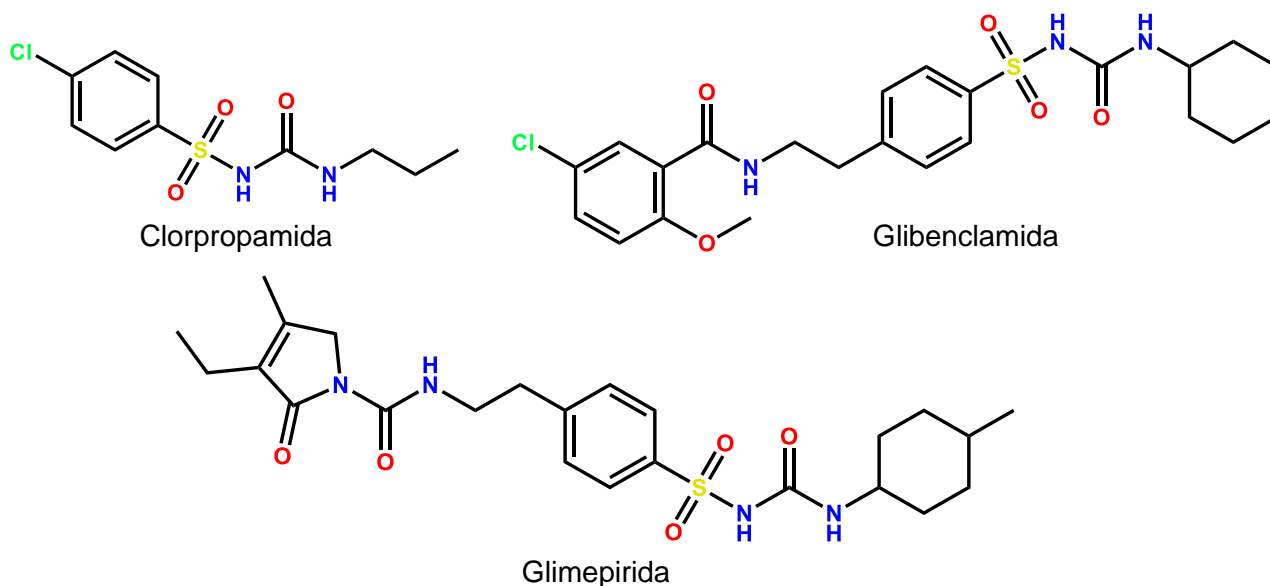


Figura 6. Estructura química de las Sulfonilureas.

2.5.2 Tiazolidindionas

Las tiazolidin-2,4-dionas, también conocidas como glitazonas, son agonistas de los receptores activados por el proliferador de peroxisomas gamma (PPAR γ) y su principal efecto terapéutico es la sensibilización a la insulina en músculo, hígado y tejido adiposo.

Dentro de este grupo de fármacos podemos encontrar a la rosiglitazona y pioglitazona (**Figura 7**), siendo la primera retirada del mercado debido a importantes efectos cardiotóxicos y a la alta probabilidad de desarrollar edema en piernas.²⁰

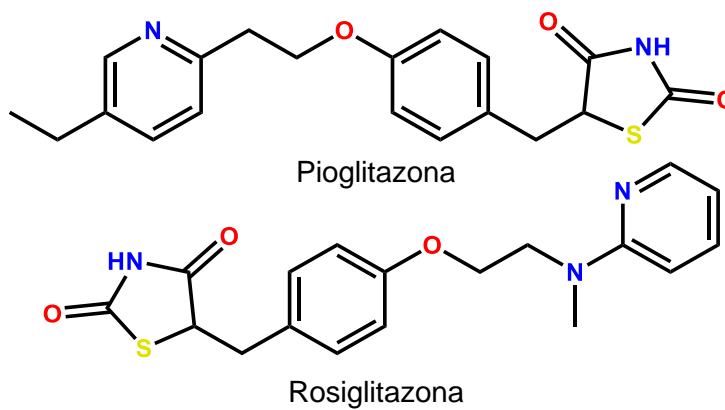


Figura 7. Estructura química de las TZDs

2.5.3 Biguanidas

Estos son fármacos que ejercen su efecto antidiabético principalmente en músculo esquelético (ME) e hígado como sensibilizadores a la acción de la insulina, promoviendo la captación de glucosa para la obtención de energía e inhibiendo su producción en el hígado. Su mecanismo de acción se basa en la activación de la proteína adenosina monofosfatocinasa activada (AMPK). A este grupo pertenecen fármacos como: fenformina, buformina y metformina (**Figura 8**), siendo esta última la única comercialmente disponible debido a la generación de acidosis láctica asociada a la administración de fenformina y buformina.¹⁹

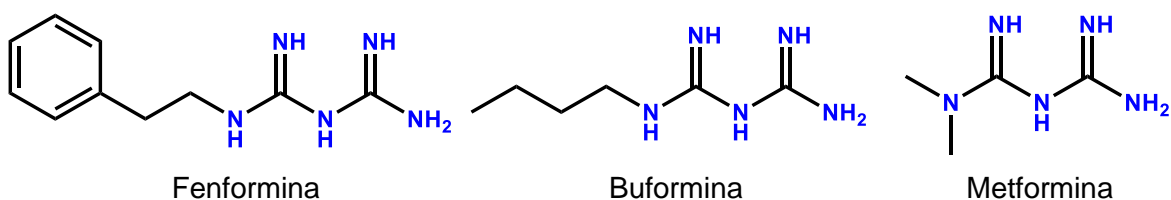


Figura 8. Estructura química de las biguanidas

2.5.4 Meglitidinas

Las meglitidinas, también pertenecen al grupo de los fármacos secretagogos de insulina, con la particularidad que su acción es más rápida y de corta duración. Estos fármacos comparten el mecanismo de acción con las SU actuando sobre los canales de K_{ATP} , con la diferencia de que su mecanismo de acción es dependiente de glucosa, de esta manera se evita la generación de hipoglucemias, además de no provocar la ganancia de peso. A este grupo pertenecen fármacos como la Repaglinida y Nateglinida (**Figura 9**).¹⁹

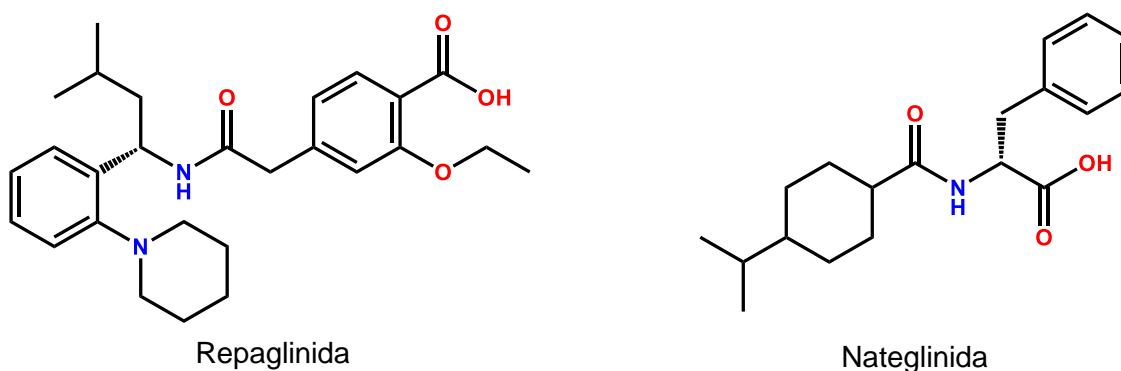


Figura 9. Estructura química de Meglitidinas.

2.5.5 Inhibidores de α -glucosidasas

Estos son fármacos indicados en pacientes con predominio de hiperglucemias posprandiales y su mecanismo de acción se basa en la inhibición competitiva de la enzima α -glucosidasa, enzima responsable de la degradación de los oligosacáridos retrasando y limitando su absorción, logrando así disminuir el pico glucémico posprandial. Actualmente solo se encuentran disponibles el miglitol y acarbosa (**Figura 10**) para su uso en la terapéutica, teniendo buenos resultados y pocos efectos secundarios (la reacción adversa más frecuente es la producción de flatulencias).²¹

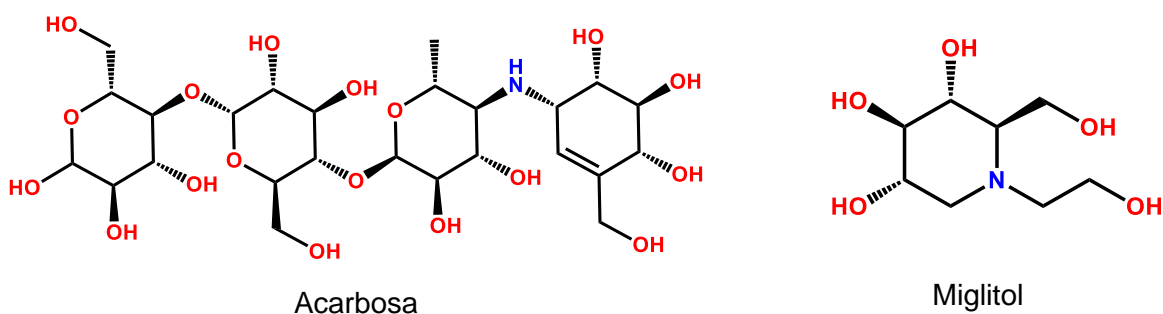
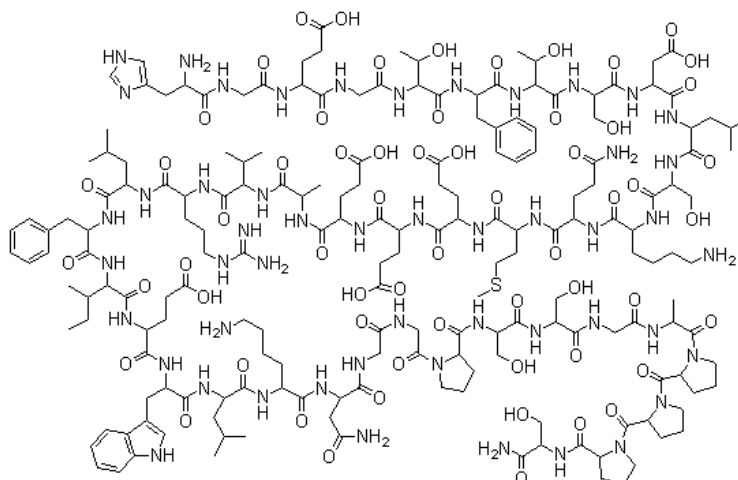


Figura 10. Estructura química de los inhibidores de α -glucosidasas

2.5.6 Terapia basada en incretinas e inhibidores de la enzima dipeptidil peptidasa-4 (DDP-4)

Las incretinas son hormonas peptídicas que son secretadas tras la ingesta de carbohidratos, estimulando la secreción de insulina (son responsables de entre 50-70% de la secreción de insulina posprandial) logrando así disminuir los niveles de glucosa en sangre. Las hormonas más relevantes de este grupo son el péptido similar a glucagón (GLP-1) y el péptido insulínico dependiente de glucosa (GIP). Ambos péptidos tienen un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) corta debido a que son inactivados por la enzima dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4), por lo tanto el uso de estas hormonas como agentes terapéuticos no es una opción viable y por lo cual se han desarrollado terapias usando péptidos incretín miméticos, siendo la exenatida (**Figura 11**) (análogo a GLP-1) el péptido más representativo de este grupo.

Este tipo de terapia tiene varias ventajas, como reducir la ingesta excesiva de alimentos (produce saciedad) además de ayudar a reducir el peso corporal (entre 2 y 3 Kg en 6 meses), además de favorecer la formación de islotes en el páncreas aumentando la masa celular del mismo. Su principal desventaja es la aplicación subcutánea y la generación de náuseas como principal efecto adverso.²¹



His-Gly-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-
Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH₂

Figura 11. Secuencia de aminoácidos de la exenatida

En conjunto a la administración de péptidos incretín miméticos se pueden administrar inhibidores reversibles de la enzima DDP-4 con la finalidad de aumentar el $t_{1/2}$ de estas hormonas. Los fármacos de este tipo comercialmente disponibles son : sitagliptina, vildagliptina y saxagliptina entre otros.¹⁹

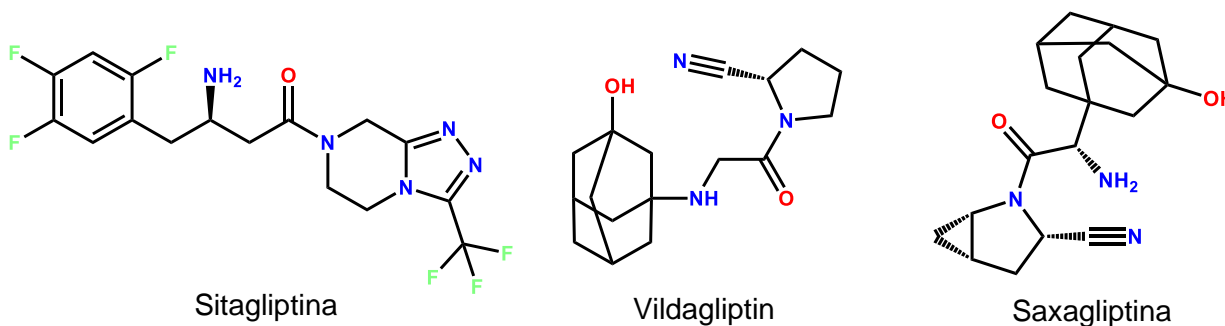


Figura 12. Estructura química de los inhibidores de la enzima DDP-4

2.5.7 Inhibidores del transportador de sodio/glucosa tipo 2

En condiciones fisiológicas normales los riñones filtran cerca de 180 g de glucosa al día, eliminándose mediante la orina menos del 1% de la glucosa filtrada. La reabsorción de glucosa se debe principalmente al transportador de sodio/glucosa, el cual es ampliamente expresado en las células del riñón. Debido a su papel en la reabsorción de glucosa, este transportador se ha vuelto un blanco terapéutico de importancia para el tratamiento de la diabetes debido a que su inhibición permite la eliminación de glucosa del organismo, permitiendo reducir su concentración sanguínea.²²

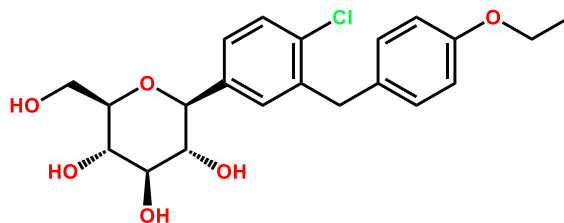


Figura 13. Estructura química de la dapaglifozina

La Dapaglifozina (**Figura 13**) es un inhibidor selectivo y reversible de este transportador y es utilizada en el tratamiento de la DM 2 en conjunto con otros agentes antidiabéticos (metformina o glibenclamida) para un correcto control de los niveles de glucosa en sangre.²²

2.6 Dianas terapéuticas novedosas para el tratamiento de la DT 2

Debido a la diversidad fisiopatológica de la DT 2 en la actualidad se han descrito numerosas dianas terapéuticas novedosas para su tratamiento con la finalidad de obtener mejores resultados y mejorando de manera significativa la calidad de vida del paciente. Este proyecto de investigación se centra los receptores de Adiponectina 1 y 2 (AdipoR₁ y AdipoR₂), cuyo agonismo por ligandos pequeños de origen sintético ha demostrado su potencial uso como agentes antidiabéticos.²³

2.6.1 Relevancia biológica de la adiponectina y de sus receptores.

En la actualidad se ha demostrado que existe una relación directa entre la obesidad y el desarrollo de diversas afectaciones que provocan el desarrollo de diabetes, entre las cuales destaca la resistencia a la insulina, generando de esta manera alteraciones en el metabolismo de lípidos y proteínas. Adicional a esta evidencia se ha demostrado que el tejido adiposo (además de tener funciones de almacenamiento y liberación de lípidos) posee una importante función endócrina en donde destaca la secreción de ácidos grasos libres, leptina, interleucinas pro-inflamatorias (TNF α , IL-1, IL-6) y además de la secreción de adiponectina, una hormona con una importante función insulino sensibilizadora⁴ y se ha observado que en condiciones de prediabetes (obesidad e hiperglicemia postprandial) los niveles de esta hormona se ven disminuidos (siendo los valores sanguíneos normales de esta hormona entre 5-22 $\mu\text{g/mL}$), favoreciendo de esta manera el desarrollo de esta enfermedad.⁴

Esta hormona está compuesta por 244 aminoácidos, que a su vez contiene un átomo de calcio (Ca^{+2}) y tres de sodio (Na^{+}) dentro de su estructura. La adiponectina puede existir de manera monomérica (con un peso molecular de 30 kDa), sin embargo, también posee estructuras poliméricas: dímero, trímero (**Figura 14**), y hexámero, siendo biológicamente activa en todas sus formas.²⁴

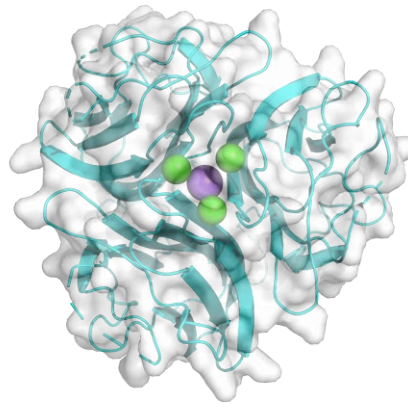


Figura 14. Estructura tridimensional de la forma trimérica de la adiponectina

Para que esta hormona pueda ejercer su actividad insulino sensibilizadora, debe de unirse a los receptores de adiponectina AdipoR₁ o AdipoR₂ (**Figura 15**), los cuales son receptores de siete dominios transmembranales pertenecientes a la familia de receptores de progesterona y adiponectina Q (PAQR) en los cuales el grupo *N*-terminal se encuentra orientado hacia el interior de la célula y el grupo *C*-terminal hacia el exterior, difiriendo de gran manera con aquellos receptores de siete dominios transmembranales acoplados a proteína G. Estos receptores poseen una homología del 80% entre ellos, sin embargo, son expresados en tejidos diferentes: mientras que AdipoR1 se expresa principalmente en músculo esquelético, AdipoR2 se expresa principalmente en el hígado pero estudios recientes demuestran la expresión de ambos receptores en el sistema nervioso central (bulbo olfatorio) y en los riñones ^{25,26} por lo cual el agonismo de ambos receptores por la adiponectina (o un agonista sintético) tendrá diferentes actividades biológicas.

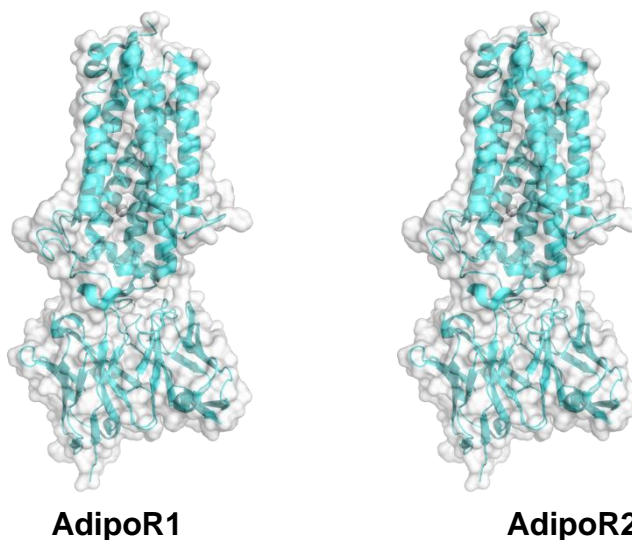


Figura 15. Estructura tridimensional de ambos receptores de adiponectina

2.6.2 Vía de señalización de la Adiponectina

La unión de adiponectina a AdipoR1 va a promover la fosforilación en el residuo Thr-172, activando a esta enzima y promoviendo la oxidación de ácidos grasos, un aumento en la glucólisis y a su vez disminuyendo la síntesis de lípidos y proteínas.²⁴

Por otro lado, la activación de AdipoR2 por la adiponectina va a promover la activación de PPAR α y PPAR γ , teniendo efectos positivos en el uso de lípidos y glucosa para la obtención de energía (**Figura 16**).²⁴

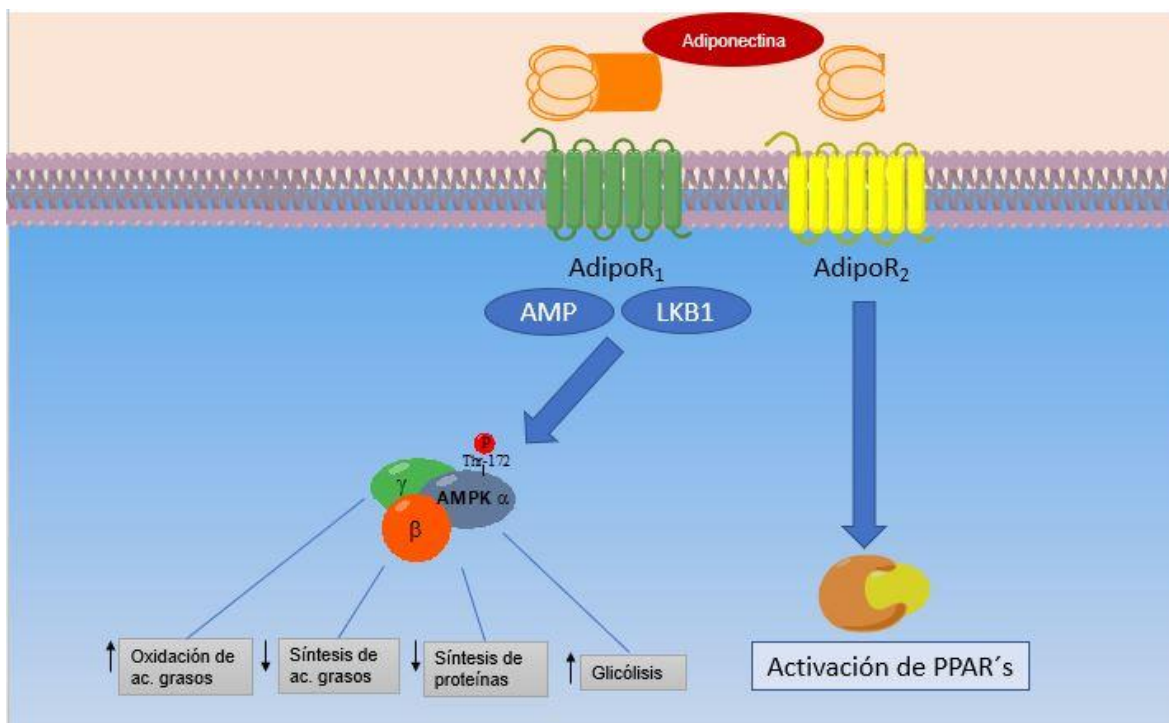


Figura 16. Vía de señalización de la adiponectina

Adicional a su actividad metabólica, se ha demostrado que los receptores de adiponectina tienen un rol importante en diversas patologías. En el hígado, errores en la activación o la inhibición de la expresión de AdipoR $_1$ exacerba los efectos causados por el hígado graso no alcohólico. Por otro lado, el agonismo de estos receptores suprime las vías pro-inflamatorias observadas en la diabetes mellitus, mejorando de manera significativa la resistencia a la insulina presente en este padecimiento.²⁷

Evidencias recientes han demostrado que los receptores de adiponectina se expresan principalmente en hígado y músculo esquelético, este receptor también se ha observado que es expresado en el Sistema Nervioso Central (hipotálamo e hipocampo principalmente) en donde ejerce una importante actividad orexigénica, ejerciendo importantes efectos reguladores en el consumo de alimentos y en el balance energético.²⁸

Se ha demostrado que en un periodo de ayuno prolongado la unión de adiponectina a sus receptores encontrados en el bulbo olfatorio provoca que los individuos sean más sensibles a estímulos olfatorios relacionados con los alimentos, haciendo que la obtención de energía a partir de ellos sea más eficiente.²⁸ Adicional a esta respuesta biológica, la adiponectina ejerce un efecto insulino sensibilizador en el cerebro al incrementar la expresión del receptor de insulina además de promover su fosforilación.²⁸

Cabe resaltar que ambos efectos presentados por esta hormona en el SNC son beneficiosos para el tratamiento de la DT 2 debido a que favorecen el control homeostático de los niveles de glucosa en sangre. Debido a lo anterior, si un agonista sintético de la adiponectina logra atravesar la barrera hematoencefálica tendría una importante actividad reguladora del consumo de alimentos haciendo aún más relevante su actividad como agente antidiabético.

Si bien la adiponectina posee importantes acciones biológicas, su uso en la terapéutica es complicado debido a su diversidad conformacional y estructural, su corto tiempo de vida media (75 minutos) y su administración por una vía parenteral (subcutánea). Debido a esto es que en la actualidad se están buscando nuevos agonistas de los receptores AdipoR₁ y AdipoR₂ de origen sintético, que logren mimetizar las acciones biológicas de esta hormona sin las complicaciones que ésta presenta en su uso.

2.7 Agonistas sintéticos de los receptores de adiponectina AdipoR₁ y AdipoR₂

Debido a su importante actividad insulino sensibilizadora y como reguladora del metabolismo, es que se han buscado numerosos agonistas sintéticos de los receptores de adiponectina, siendo el AdipoRon la primera molécula de este tipo en ser descrita en el año de 2013 (**Figura 17**), la cual posee diversas actividades biológicas benéficas para el tratamiento de la DM 2, tales como: ⁵

- Activación de la enzima AMPK
- Activación de PPAR α y PPAR γ
- Disminución de la inflamación relacionada con la DM 2
- Reducción en la resistencia a la insulina

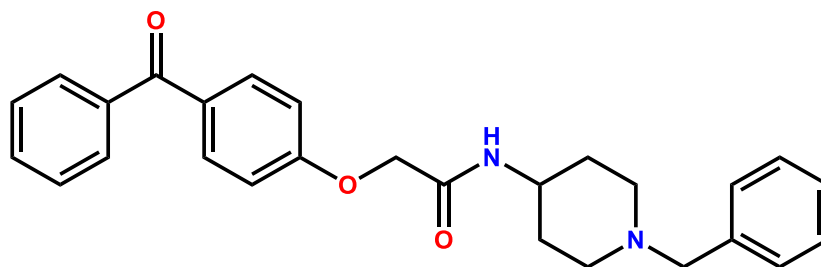
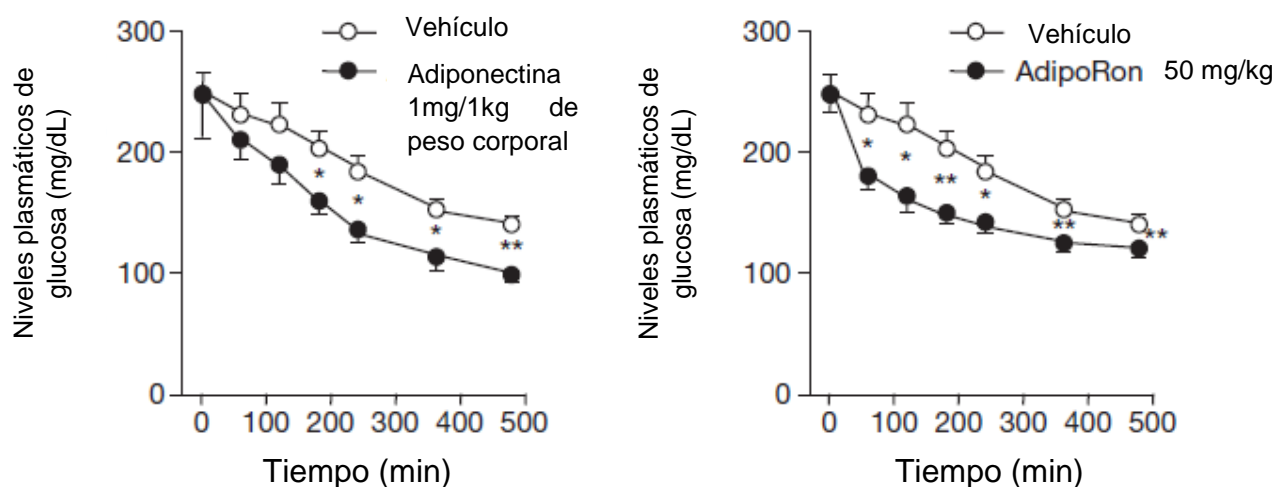


Figura 17. Estructura química de AdipoRon

Durante su descubrimiento se demostró que AdipoRon logra activar las vías metabólicas que involucran a la enzima AMPK y a PPAR α de manera dependiente de ambos receptores de adiponectina, mimetizando de manera importante las acciones biológicas de esta hormona en el organismo. Es debido a estos mecanismos moleculares que AdipoRon presentó una importante actividad antihiperbélica al realizar los ensayos *in vivo* correspondientes logró disminuir de manera considerable los niveles de glucosa sanguínea en ratones *db/db*, teniendo un efecto muy similar a la administración de adiponectina en este modelo animal (Gráfica 1).²⁹



Gráfica 1. Efectos antihiperbélicos de AdipoRon vs Adiponectina en ratones *db/db*²⁹

Adicional a este importante efecto antihiperbélico se observó que la administración de AdipoRon a una dosis de 50 mg/kg durante 15 días en ratones *db/db* logró incrementar la biogénesis mitocondrial en el músculo esquelético, la cual está directamente asociada con un incremento en el rendimiento al realizar actividad física intensa, se incrementó la expresión de genes relacionados con el uso de ácidos grasos para la obtención de energía y la expresión de enzimas involucradas en la disminución del estrés oxidativo.

Mientras tanto, el agonismo de ambos receptores de adiponectina en el hígado promueve la expresión de genes involucrados con la gluconeogénesis, incrementa la activación de PPAR- α y reduce el estrés oxidativo. En la Figura 18 se resumen otras actividades biológicas de AdipoRon y su relación con el tratamiento de la DM 2.

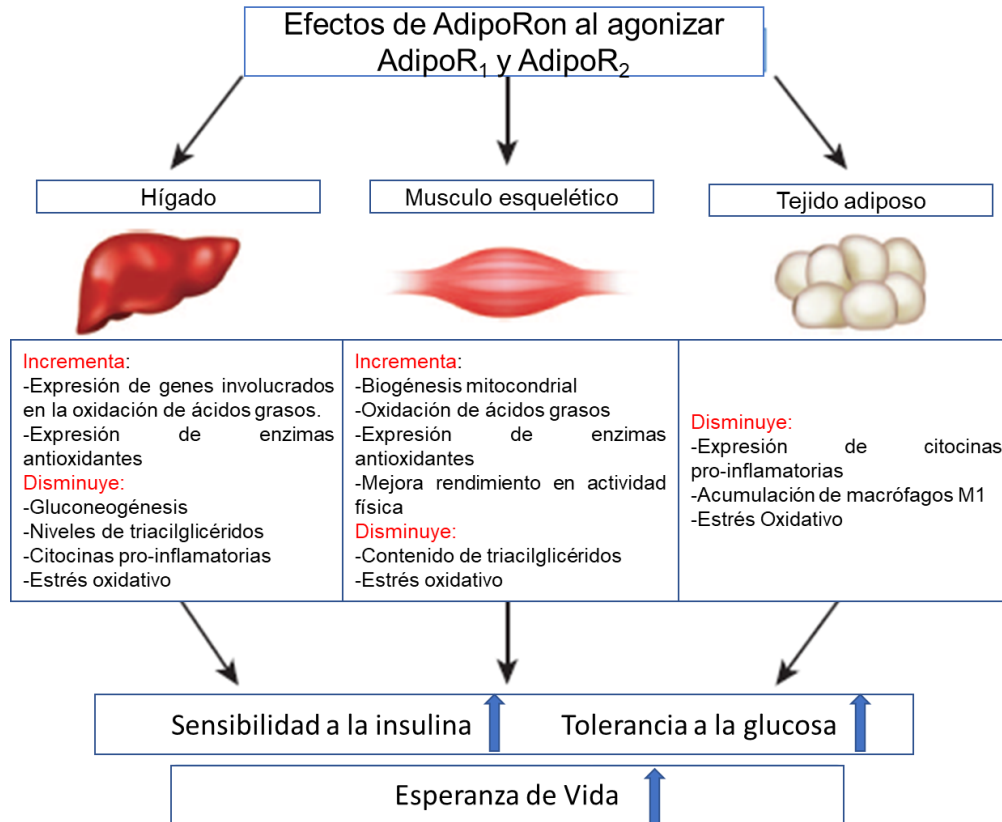


Figura 18. Efectos de AdipoRon sobre hígado, musculo esquelético y tejido adiposo

Adicional a todas estas actividades biológicas, en 2017 se demostró que AdipoRon disminuye el daño renal, una de las principales complicaciones de la DM 2. Una de las causas por las cuales AdipoRon logra reducir este daño es debido a que disminuye la lipotoxicidad al reducir las cantidades de triacilglicéridos y ácidos grasos libres además de disminuir el estrés oxidativo. Estas nuevas actividades biológicas hacen aún más importantes las razones por las cuales se debe de continuar con el diseño y desarrollo de nuevos agonistas sintéticos de ambos receptores de adiponectina con la finalidad de crear una nueva familia de agentes antidiabéticos con efecto polifarmacológico que sean capaces de controlar la principal causa fisiopatológica que desencadena esta enfermedad además de lograr tratar y disminuir las demás complicaciones de esta fisiopatología.²⁶

3. JUSTIFICACIÓN

Debido a la alta prevalencia y mortandad se considera a la DT 2 como un importante problema de salud a nivel mundial y nacional, utilizando un amplio repertorio de fármacos para su tratamiento.

Sin embargo, muchas veces el tratamiento es ineficiente debido a que los fármacos disponibles no poseen efectos sobre las diversas complicaciones de esta enfermedad, por lo cual se recurre a la polifarmacia y de esta manera se aumenta la probabilidad de presentar numerosas reacciones adversas, disminuyendo la eficiencia y adherencia al tratamiento.

Por lo tanto, es importante desarrollar nuevas moléculas afines a dianas terapéuticas novedosas (receptores Adipo R₁ y R₂) con la capacidad de tener un efecto biológico diverso, logrando combatir la resistencia a la insulina, la hiperglicemia, el proceso inflamatorio, además de las diversas complicaciones relacionadas con esta enfermedad y de esta manera generando una nueva familia de agentes antidiabéticos para el tratamiento experimental de la DT 2

4. HIPÓTESIS

Los análogos de AdipoRon **MMJ 1-7** tendrán afinidad hacia los receptores AdipoR₁ y AdipoR₂ y presentarán un efecto antidiabético *in vivo*.

5. OBJETIVOS

Objetivo general:

- Diseñar, sintetizar y caracterizar los compuestos análogos de AdipoRon y evaluarlos *in vitro* e *in vivo* para determinar su actividad antidiabética.

Objetivos particulares:

- Sintetizar y caracterizar los compuestos **MMJ 1-7** mediante técnicas espectroscópicas (RMN ¹H y ¹³C) y espectrométricas (EM).
- Realizar predicciones de las propiedades farmacodinámicas, farmacocinéticas y toxicológicas de los compuestos mediante diversas herramientas químico informáticas.
- Realizar el estudio de acoplamiento molecular de los compuestos sobre los receptores de AdipoR₁ y AdipoR₂.
- Determinar el efecto de los análogos de AdipoRon **MMJ 1-7** sobre la fosforilación de pAMPK y la expresión del RNAm de PPAR γ y AdipoQ.
- Llevar a cabo un análisis de consenso farmacológico para la selección de un líder computacional seguro, con la finalidad de priorizar su evaluación *in vivo* en un modelo murino de diabetes mellitus no insulino dependiente.

6. CONSIDERACIONES QUÍMICO-FARMACÉUTICAS PARA EL DISEÑO MOLECULAR

Para el diseño molecular de los compuesto **MMJ 1-6** se tomó como base a la molécula de AdipoRon, sobre la cual se construyó un farmacóforo, el cual se presenta en la **Figura 19**.

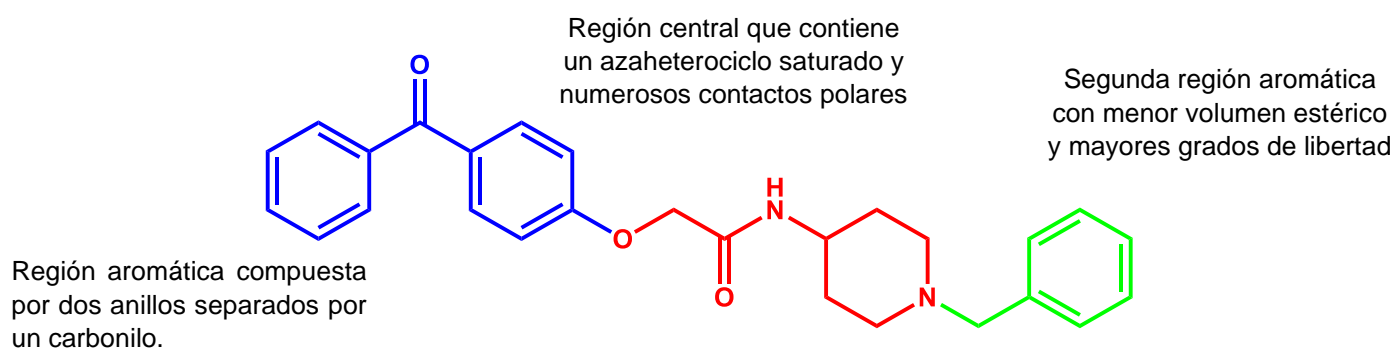


Figura 19. Estructura y farmacóforo de AdipoRon

Con base en este farmacóforo, se proponen las modificaciones estructurales para la generación de los compuestos **MMJ 1-6**, las cuales se presentan en la **Figura 20**.

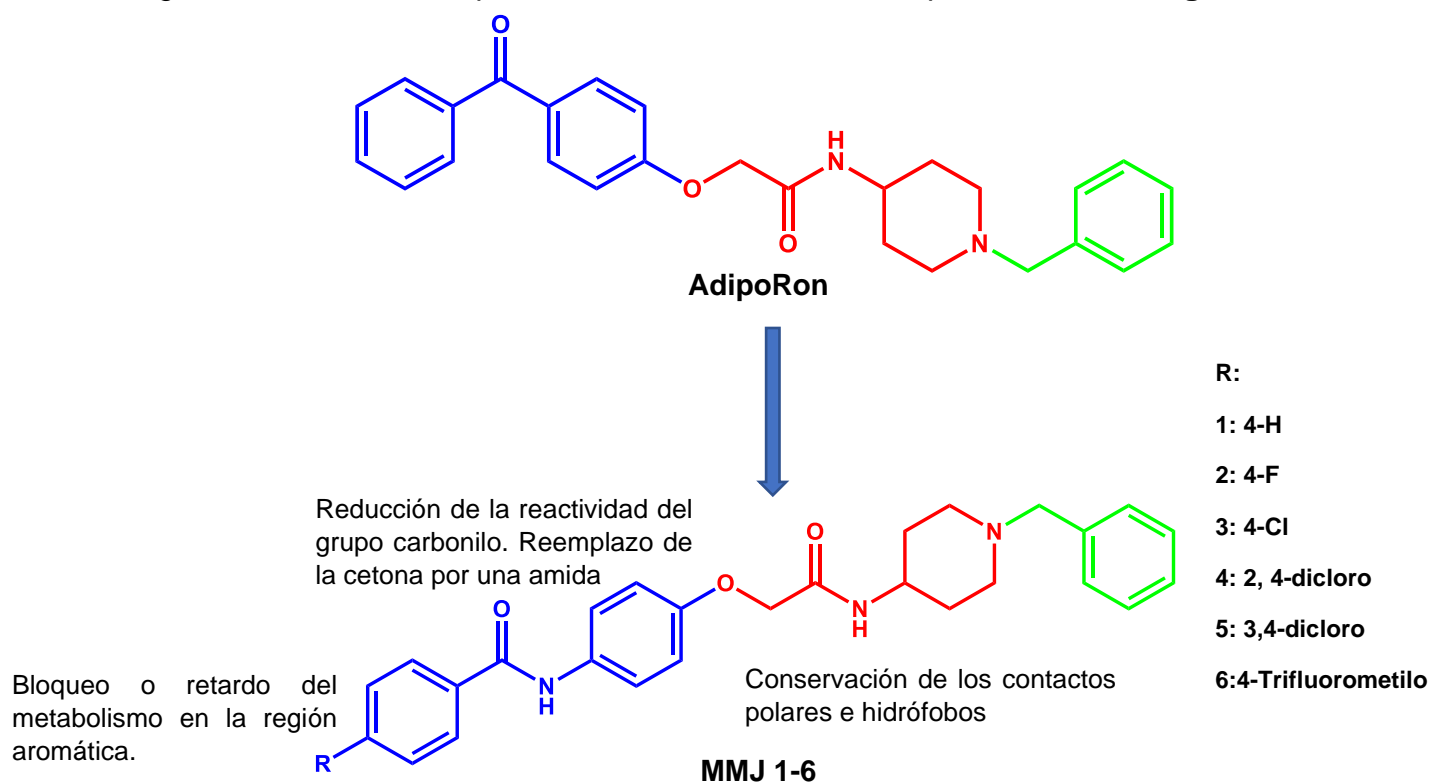


Figura 20. Modificaciones estructurales de AdipoRon para la obtención de **MMJ 1-6**

Por otro lado, para el compuesto **MMJ-7** se decidió partir de los compuestos **MMJ 1-6**, eliminando uno de los anillos aromáticos con la finalidad de disminuir el Log P de la molécula y utilizar una materia prima económica como lo es el paracetamol.

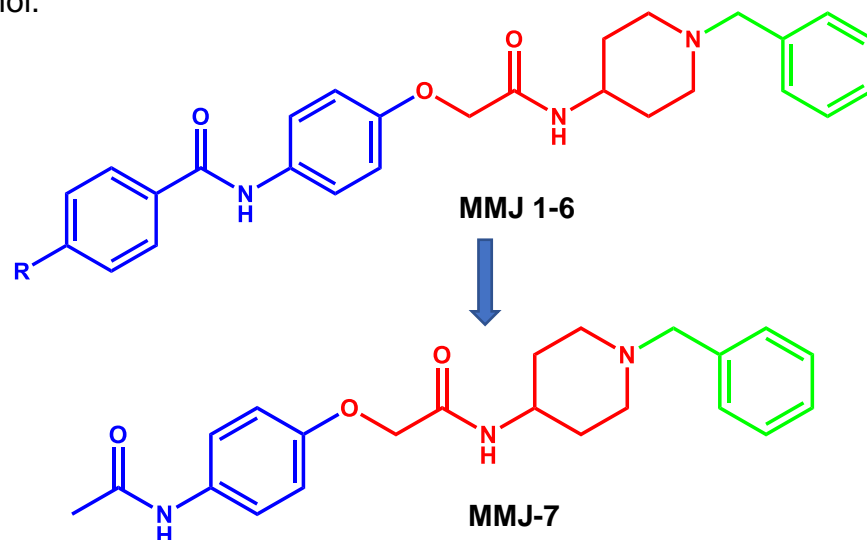


Figura 21. Modificaciones estructurales para la obtención de **MMJ-7**

6.1 Reducción de la reactividad.

En la química farmacéutica existen diversos grupos funcionales los cuales deben de ser excluidos dentro de un diseño racional de compuestos bioactivos debido a su toxicidad intrínseca y debido a esta reactividad pueden generar efectos tóxicos o indeseados al ser administrados a un organismo.

Dentro de estos grupos altamente reactivos se pueden encontrar a los aldehídos y cetonas. La reactividad de este tipo de moléculas se debe a la deficiencia electrónica en el carbonilo, el cual lo hace susceptible al ataque nucleofílico. En un organismo vivo este ataque nucleofílico puede ser realizado por los grupos amino (-NH₂) libres presentes en las proteínas o en las bases nitrogenadas presentes en el ADN, generando de esta manera bases de Schiff, y produciendo aductos (**Figura 21**), generando así efectos tóxicos en el organismo e incluso pudiendo desencadenar respuestas por el sistema inmune.³⁰

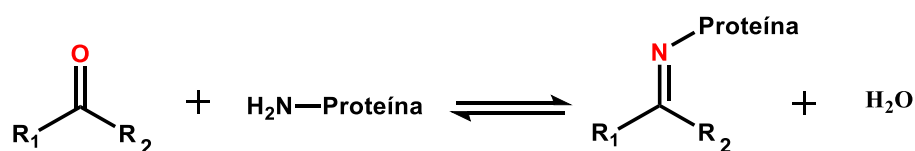


Figura 22. Formación de una base de Schiff

Cabe mencionar que este tipo de reacciones solo ocurre entre cetonas o aldehídos y grupos amino, es debido a esto que se decidió realizar un reemplazo de grupo funcional de la cetona presente en AdipoRon por una amida debido a que este grupo funcional carece de esta reactividad y toxicidad intrínseca.

6.2 Reducción del Log P

El log P se puede definir como el coeficiente de partición de un compuesto orgánico entre una fase orgánica y una fase acuosa, siendo este un factor importante para la absorción intestinal de compuestos bioactivos. En la literatura se ha descrito un valor de Log P adecuado es menor a 5 e ideal entre 2 y 3. Debido a lo anterior para el compuesto **MMJ-7** se consideró la remoción de un anillo aromático con la finalidad de disminuir de log P presente en los compuestos **MMJ 1-6 (Figura 23)**, impactando de manera directa en la solubilidad acuosa del compuesto y en su permeabilidad.³¹

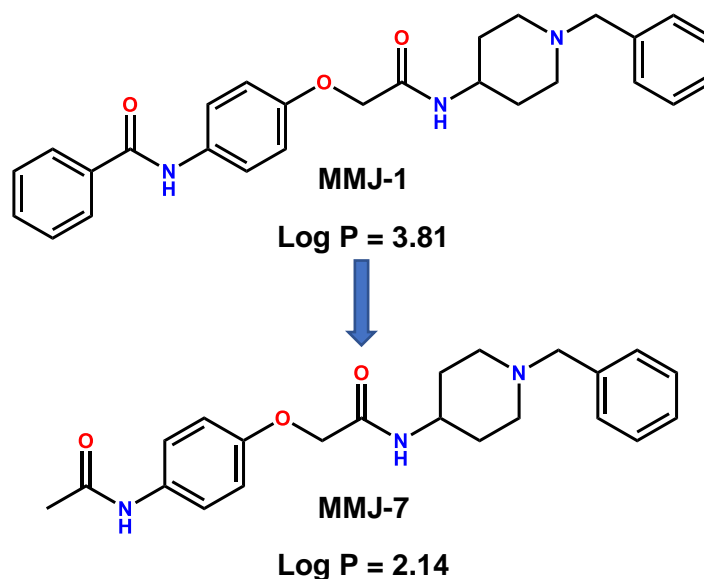


Figura 23. Disminución del Log P en **MMJ-7**

7. Metodología Experimental

7.1. Parte química

El diseño, síntesis y caracterización de los compuestos se realizó en el Laboratorio 5 de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos bajo la dirección del Dr. Gabriel Navarrete Vázquez y del Dr. Jaime Escalante García del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Los análisis espectroscópicos y espectrométricos se realizaron en colaboración con el Dr. Emanuel Hernández Núñez del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN Unidad Mérida y el Dr. Jaime Escalante García del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

7.1.1 Retrosíntesis

Una vez analizadas las consideraciones químico-farmacéuticas para el diseño molecular y las estructuras base de los compuestos **MMJ 1-6** se planteó una ruta retrosintética con la finalidad de obtener las materias primas comercialmente necesarias para el desarrollo de la ruta de síntesis de los compuestos finales. Ésta se plantea en la **Figura 24**.

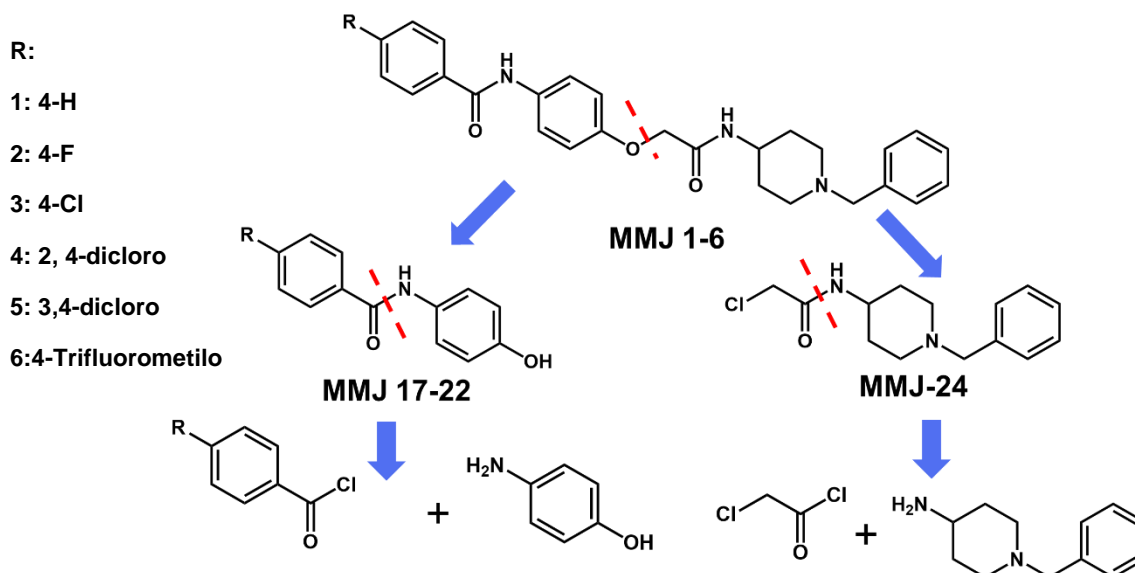


Figura 24. Retrosíntesis de los compuestos finales **MMJ 1-6**

Para el compuesto **MMJ-7** el proceso de Retrosíntesis se presenta en la **Figura 25**, siendo similar a la ruta propuesta para los compuestos **MMJ 1-6**.

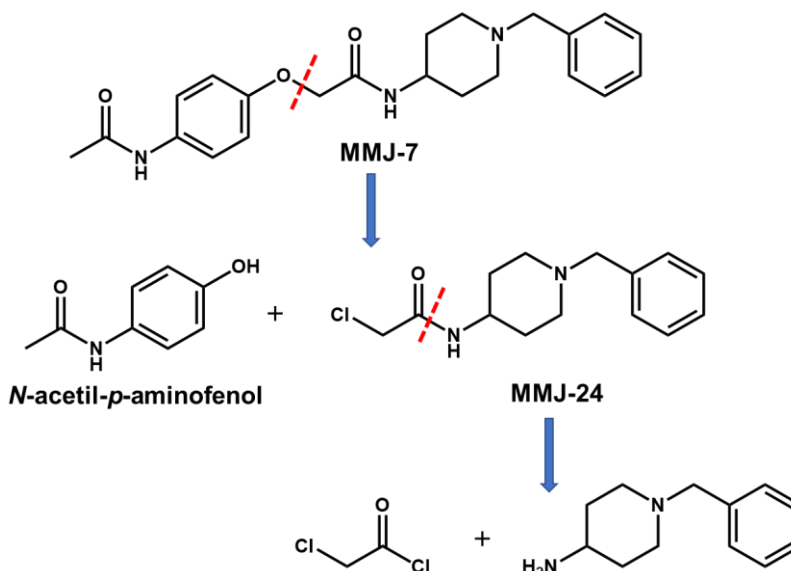


Figura 25. Retrosíntesis del compuesto **MMJ-7**

7.1.2 Esquema General de Síntesis

Para los compuestos **MMJ 1-6** realizó una síntesis convergente, donde en el primer paso para la obtención de los compuestos finales **1-6** se hicieron reaccionar los cloruros de benzoilo debidamente sustituidos (**9-14**) con el 4-aminofenol (**8**) para la obtención de los precursores **15-20**. El segundo paso de la ruta de síntesis consistió en hacer reaccionar la 4-amino-1-bencilpiperidina (**21**) y el cloruro de cloroacetilo (**22**) en condiciones de reacción de Schotten-Baumann para la obtención de *N*-(1-bencilpiperidin-4-il)-2-cloroacetamida (**23**) (**Figura 26**).

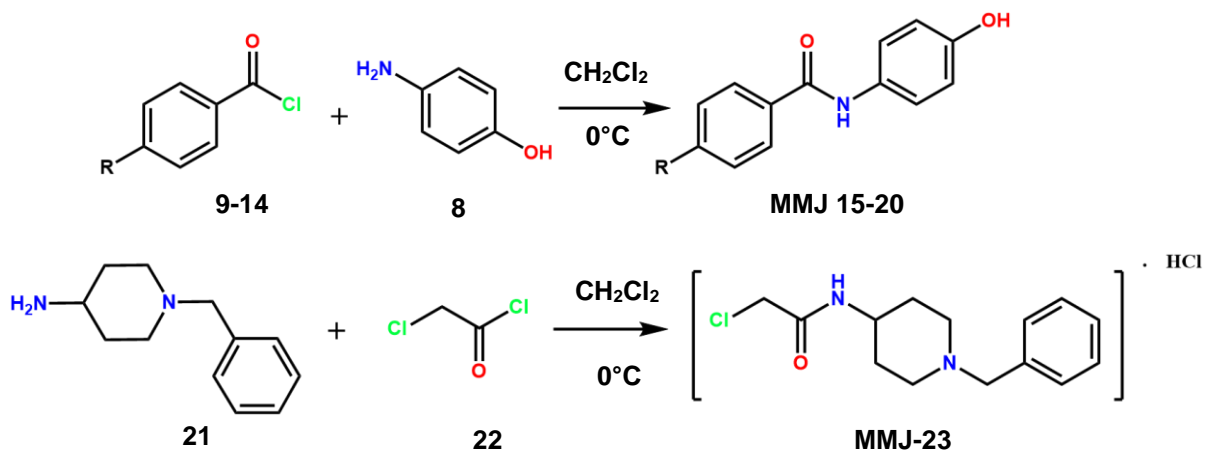


Figura 26. Síntesis de los compuestos **MMJ 15-20** y **MMJ-23**

El último paso de la ruta de síntesis consistió en hacer reaccionar los precursores **23** y **15-20** en condiciones de S_N2 para la obtención de 6 compuestos finales (**MMJ 1-6**) (**Figura 27**).

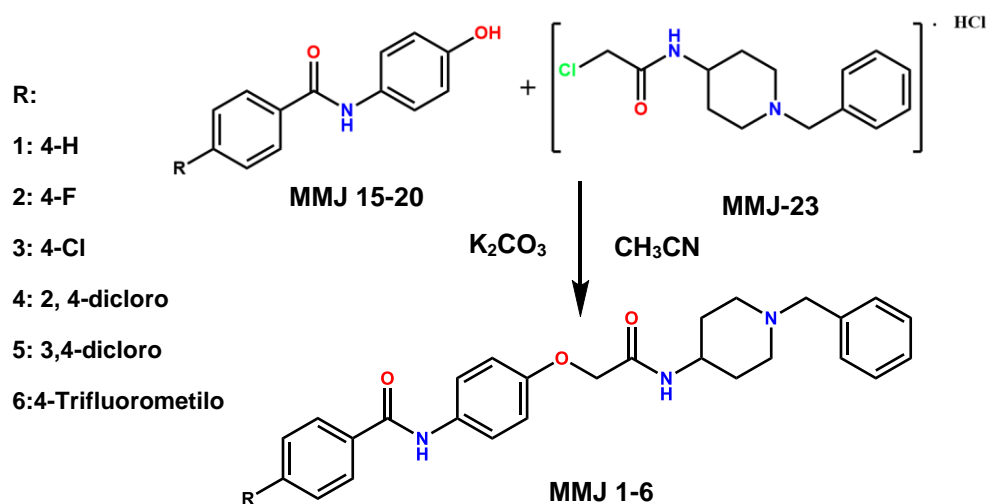


Figura 27. Síntesis de los compuestos finales **MMJ 1-6**

Para el compuesto **MMJ-7** se siguió una metodología similar, haciendo reaccionar al compuesto precursor **MMJ-23** con el *N*-acetil-*p*-aminofenol bajo condiciones S_N2 (**Figura 28**).

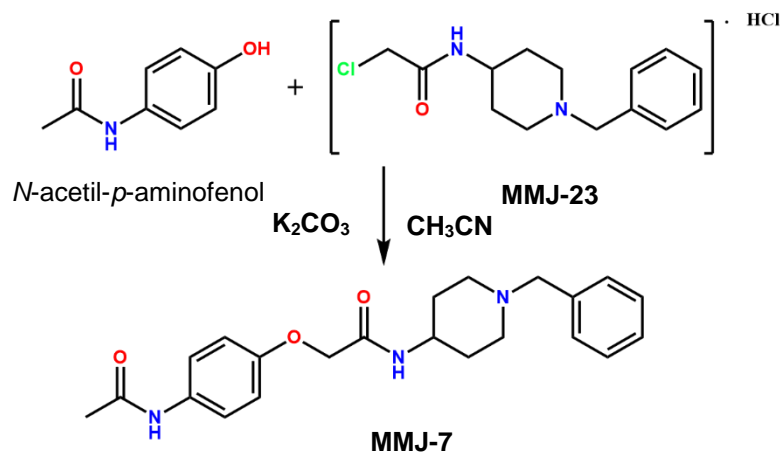


Figura 28. Síntesis del compuesto **MMJ-7**

7.2. Parte computacional (*in silico*)

En la Química Farmacéutica el uso de herramientas químico-informáticas permite predecir el comportamiento farmacocinético (Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción), toxicológico y farmacodinámico de las moléculas, esto con la finalidad de seleccionar los candidatos con mejores propiedades para su evaluación farmacológica, de esta manera disminuyendo los tiempos y costos de investigación. Es debido a esto que en este proyecto de Química Farmacéutica se utilizaron diversas herramientas químico-informáticas las cuales son descritas a continuación.

7.2.1 PASS Online (predicción del espectro de actividad biológica)

PASS online (Figura 29) es un servidor disponible en línea (<http://www.way2drug.com/passonline/index.php>) de libre acceso que permite predecir el espectro de actividad biológica de un compuesto. Este servidor predice estas actividades biológicas al realizar relaciones estructura-actividad (SAR) entre los compuestos que se desean evaluar y una base de datos de más de 300, 000 sustancias activas (fármacos, candidatos a fármacos y compuestos tóxicos). Este servidor presenta los valores estimados de presentar una actividad biológica (P_a) o de inactividad (P_i) en valores que van de 0 al 1.³²

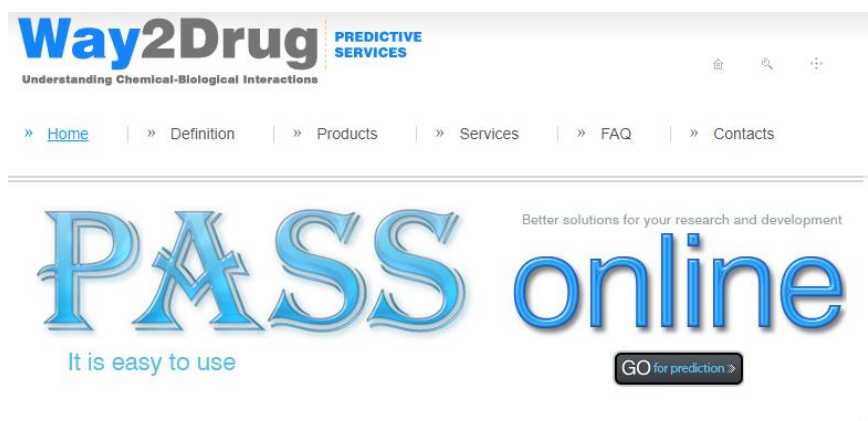


Figura 29. Interfaz del servidor en línea PASS online

7.2.2 admetSAR: predicción de las propiedades ADMET

AdmetSAR (Figura 30) es un portal en línea de acceso gratuito (<http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSar2/>) el cual brinda información acerca de las propiedades ADMET (absorción, distribución, metabolismo, excreción y efectos tóxicos) de los compuestos. El programa realiza una relación estructura-actividad para posteriormente comparar los resultados con una biblioteca virtual, arrojando cálculos de propiedades relacionadas con el proceso ADMET.

Debido a lo anterior, este portal en línea es de mucha ayuda para realizar un cribado virtual de los compuestos a sintetizar y de este modo, elegir los compuestos con mejores propiedades ADMET.³³

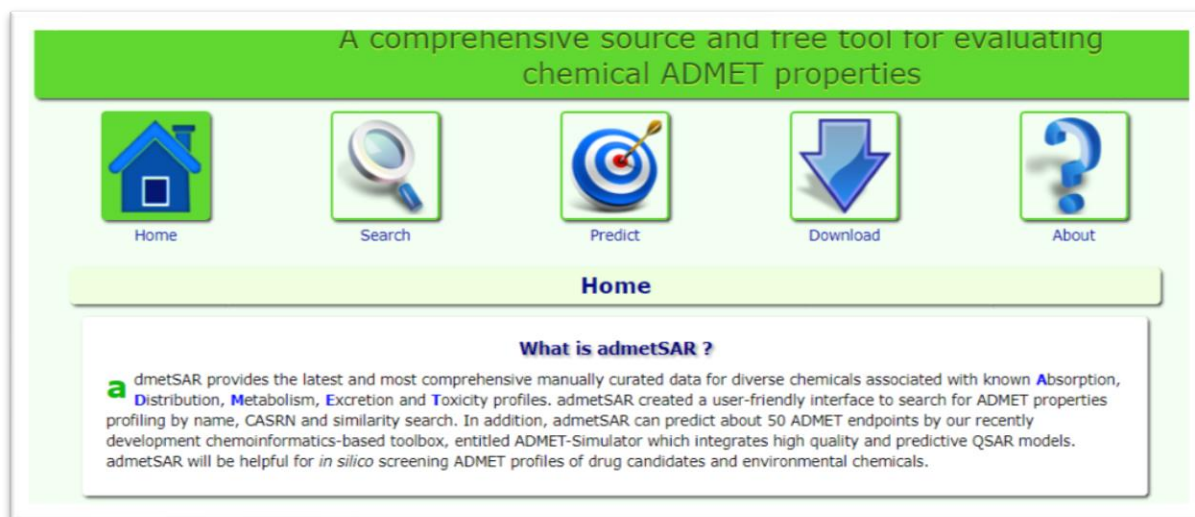


Figura 30. Interfaz del servidor en línea admetsAR

7.2.3 Osiris: explorador de propiedades toxicológicas

Este es un programa gratuito del Portal de Química Orgánica (<https://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>) el cual permite dibujar las estructuras de diversos compuestos y calcula el riesgo de toxicidad como: mutagenicidad, tumorigenicidad, efectos irritantes entre otros. Además, este programa permite calcular el Log P de las moléculas, solubilidad acuosa y el peso molecular de los compuestos, las cuales son propiedades de relevancia en el desarrollo de compuestos bioactivos debido a que tienen un impacto directo en la absorción a nivel intestinal.

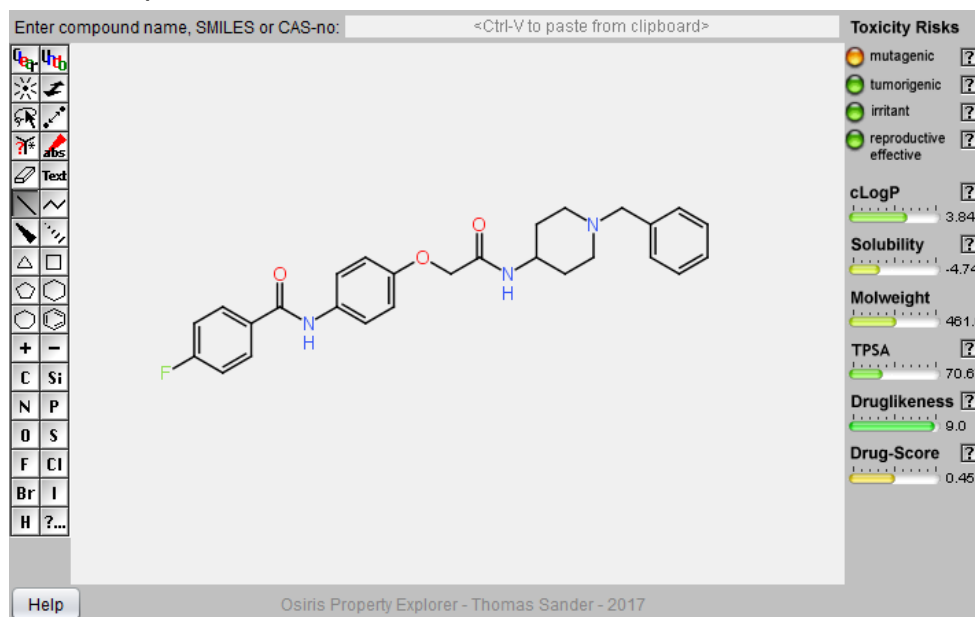


Figura 31. Interfaz del programa Osiris

7.2.4 ACD/Toxsuite: predicción de la toxicidad y DL₅₀

ACD/Toxsuite (**Figura 32**) es un programa comercial el cual necesita de una licencia para su uso. Este programa pertenece al paquete informático proporcionado por la compañía ACD/Labs y Pharma Algoritmo. Este programa permite realizar la predicción de diversos efectos tóxicos que puedan presentar las moléculas a estudiar; estas predicciones incluyen: probabilidad de bloqueo de los canales hERG, inhibición de diversas isoformas del CYP450, toxicidad aguda y DL₅₀.

Las predicciones realizadas por este programa están basadas en una amplia base de datos (contiene más de 100,000 compuestos) por lo cual este software permite comparar las moléculas de interés usando su estructura en 2D, analizando la molécula por fragmentos y comparándolos con aquellos reportados en la biblioteca virtual del programa, estableciendo modelos de relación estructura-actividad cuantitativa. Debido a estas capacidades predictivas, este programa es una herramienta muy valiosa al momento de diseñar compuestos con fines terapéuticos, ya que permite tener un mejor criterio de su toxicidad, excluyendo a aquellos compuestos que presenten mayores probabilidades de presentar efectos tóxicos/adversos.

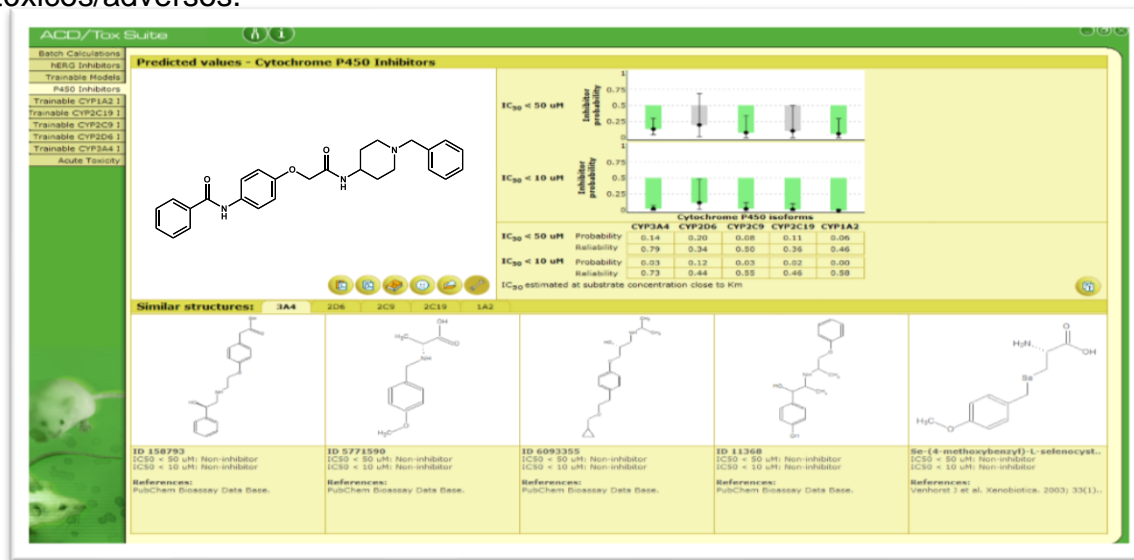


Figura 32. Interfaz del programa ACD/Toxsuite

7.2.5 Acoplamiento molecular refinado

El acoplamiento molecular automatizado (Molecular Docking en inglés) es una herramienta computacional muy útil al momento de diseñar compuestos bioactivos, debido a que permite superponer la estructura tridimensional de un candidato a fármaco sobre la diana terapéutica propuesta, con la finalidad de observar si existe afinidad entre el ligando y el receptor, además de predecir la manera más estable de unión entre la molécula de estudio y la proteína sobre la cual se espera que presente una actividad biológica.^{34,35}

Para este tipo de estudios es necesario conocer la estructura tridimensional de la proteína (obtenida mediante cristalografía de rayos X, por RMN o por homología) y puede predecirse el acoplamiento entre dos macromoléculas (acoplamiento proteína-proteína) o entre una macromolécula y una molécula pequeña (proteína-ligando), siendo este último el estudio computacional más utilizado por grupos de investigación en el desarrollo de candidatos a fármacos.^{34,35}

El acoplamiento molecular consiste básicamente en 2 pasos:

- 1.- Acoplamiento: se busca el espacio conformación accesible para el ligando, es en esta etapa donde se busca la conformación más estable del ligando dentro del receptor.
- 2.- Scoring o puntaje: se evalúan las posibles soluciones empleando funciones de evaluación, calculando la energía de cada complejo proteína-ligando formado y entre más negativos sean estos valores mejor será la afinidad del ligando por el receptor. Este valor está dado en $-kcal/mol$.

Para realizar este tipo de análisis, se quiere de diversos software que permitan la visualización de las estructuras tridimensionales de proteínas como de los compuestos con los cuales se realizará el acoplamiento, tales como:

➤ **Autodock Vina:**

Autodock Vina (disponible de manera gratuita: <http://vina.scripps.edu>) es un programa para realizar el acoplamiento molecular que puede ser usado tanto en el sistema operativo Microsoft Windows y Linux, es una variante del programa AutoDock 4 presentando diversas mejoras como: un scoring más preciso, una velocidad de cálculo mayor de hasta dos órdenes de magnitud en comparación con AutoDock 4. Autodock Vina calcula de manera automática las configuraciones de la malla (grid) al momento de realizar el acoplamiento, además de presentar los resultados obtenidos de una manera más gráfica y entendible para el usuario.

Autodock Vina puede usarse con AutoDock Tools para la preparación de los archivos necesarios para el acoplamiento o por otro lado, puede usarse el plugin de Autodock Vina en Pymol para generar dichos archivos.³⁶

➤ Molecular Operating Environment (MOE)

Molecular Operating Environment (**Figura 33**) es un programa el cual requiere de una licencia comercial para su uso (https://www.chemcomp.com/MOE-Molecular_Operating_Environment.htm) y ofrece una serie de herramientas bastante útiles para el desarrollo y descubrimiento de compuestos bioactivos, entre las cuales incluyen:

- Análisis de la estructura 3D de una proteína
- Modelado molecular de proteínas y pequeños ligandos
- Acoplamiento molecular molécula pequeña-proteína y proteína-proteína
- Generación de un diagrama en 2D de las interacciones proteína-ligando en 2D y 3D.
- Análisis y desarrollo de nuevas relaciones estructura-actividad (SAR) en pequeñas moléculas.

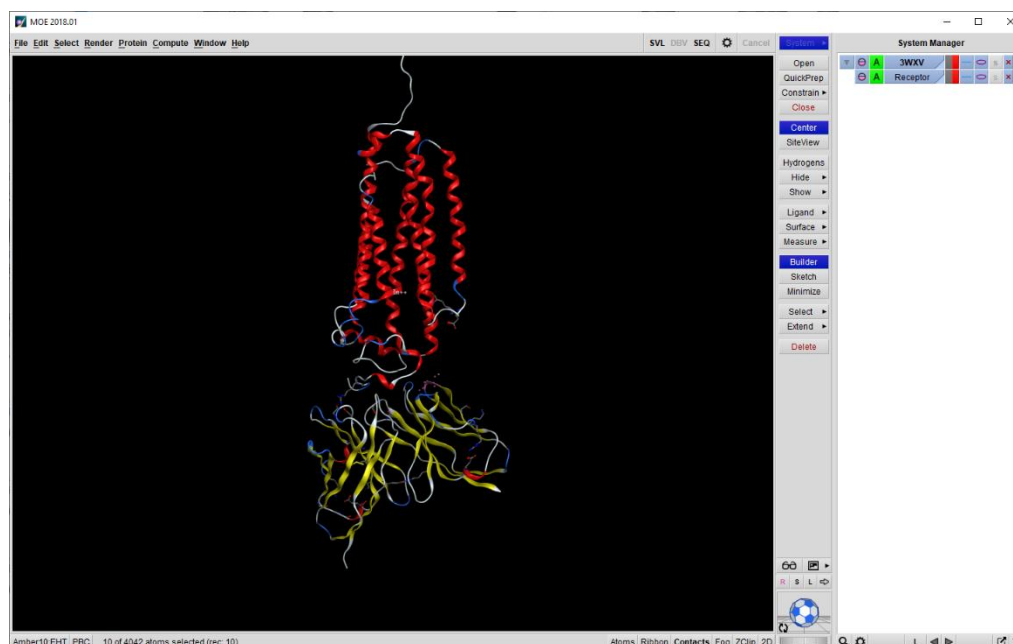


Figura 33. Interfaz del programa MOE

➤ PYMOL

Este es un programa de visualización molecular de libre acceso (existiendo en su versión comercial también) y que es compatible con otros softwares (como Autodock Vina). Este software permite la visualización de las estructuras tridimensionales de proteínas, de los ligandos co-cristalizados y de estructuras generadas con constructores moleculares (**Figura 34**).

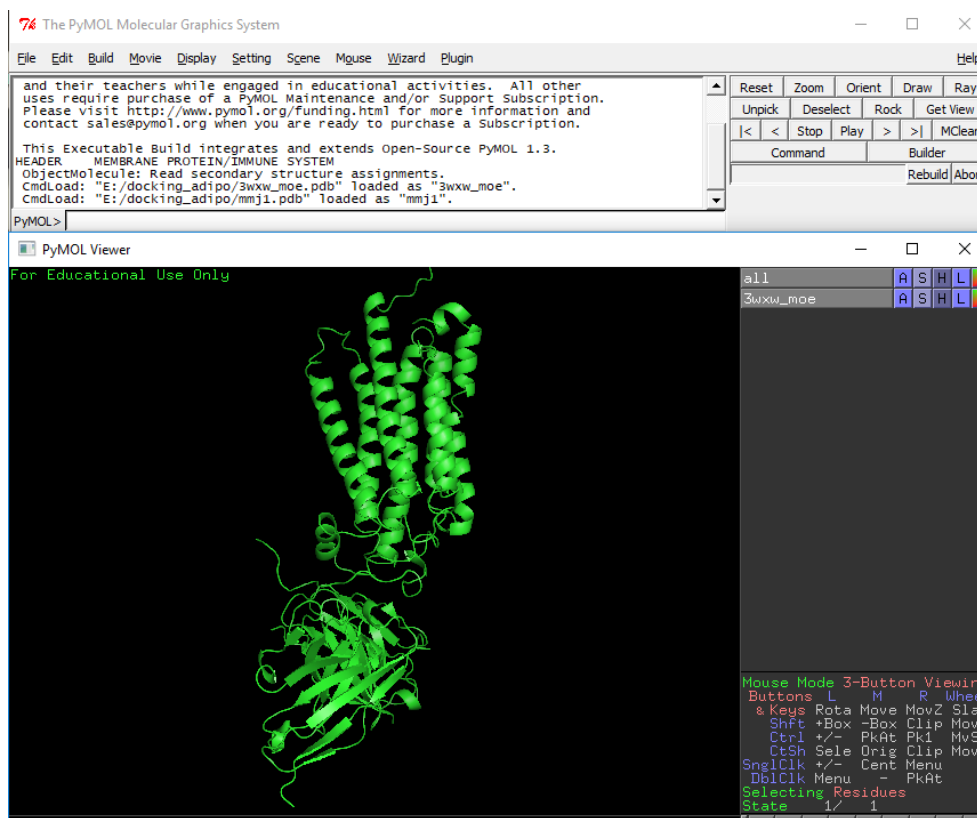


Figura 34. Interfaz del programa PYMOL

7.3 Análisis de consenso farmacológico para la selección de un líder computacional seguro (Safe lead)

Este análisis consiste en analizar todas las propiedades predictivas; farmacocinéticas, farmacodinámicas y toxicológicas para encontrar el (los) compuesto (s) con mejores puntuaciones en esta colección de propiedades, debido a que de esta manera será más probable que sea un mejor agonista de los receptores AdipoR₁ y AdipoR₂ que un compuesto que posea solo una puntuación alta en una categoría. En este análisis se usa con semáforo de colores para indicar las alertas estructurales de los compuestos, siendo el color **verde** para los resultados ideales, **amarillo** para resultados aceptables y **rojo** para valores que representan una alerta de seguridad.

7.3 Parte farmacológica

Evaluación *in vivo*

Se realizó en el Laboratorio 5 de Química Farmacéutica de la Facultad de Farmacia bajo la dirección del Dr. Elix Alberto Domínguez Mendoza y en colaboración con el Dr Samuel Enoch Estrada Soto, bajo la supervisión de la M. F Diana Elizabeth Giles Rivas del Laboratorio 12 de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia. En la evaluación *in vivo* se ensayó el compuesto con mejores características cuasifármaco, seleccionado mediante el Análisis de Consenso Farmacológico para la Selección de un Líder Computacional Seguro.

Reactivos

La nicotinamida y estreptozotocina usadas fueron adquiridas de manera comercial de Sigma-Aldrich (Merk) St Louis, MO, USA.

Animales

Los animales de experimentación se manipularon conforme a la Norma Oficial Mexicana **NOM-062-ZOO-1999 “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio”**. Para todos los experimentos se utilizaron ratones macho de la cepa CD1 entre 20 y 30 g de peso los cuales fueron mantenidos bajo condiciones estándar de laboratorio (ciclos de 12 h día/noche, 23-25°C, humedad 45-65%).

7.3.1 Curva de tolerancia a la glucosa

Los animales fueron divididos en tres grupos (n=6):

1. Control negativo: vehículo (solución del Tween 80 al 10% v/v)
2. Control positivo: AdipoRon 100 mg/kg
3. Grupo Experimental: administración del compuesto a evaluar (100 mg/kg)

Todos los animales fueron administrados inicialmente con la sustancia a ensayar (vehículo, AdipoRon o compuesto experimental) por la vía oral y treinta minutos después se administró una carga de glucosa *per os* (2g/kg) para posteriormente medir las concentraciones de glucosa sanguínea usando un glucómetro (Accu-Chek, Performa; Roche) cada 30 minutos durante dos horas. Los resultados se presentaron de manera directa (glucosa sanguínea mg/dL).

7.3.2 Generación de un modelo murino de diabetes no insulino dependiente

La inducción de diabetes fue mediante la administración de una dosis única de nicotinamida (NIC, 40 mg/kg) disuelta en agua grado inyectable y administrada vía intraperitoneal (i.p) en estado de ayuno (10 h) y 15 min después se realizó la administración de una dosis única de estreptozotocina (STZ, 100 mg/kg) disuelta en un buffer de citratos con pH de 4.5 vía i.p.

La hiperglicemia fue confirmada por la presencia de niveles altos de glucosa en sangre, las cuales fueron determinadas mediante un glucómetro (Accu-Chek, Performa; Roche) una semana después del proceso de inducción. Se utilizaron los animales cuyos niveles de glucosa se encontraron en un rango de 140-170 mg/dL.

7.3.3 Efecto antidiabético agudo en un modelo murino no insulino dependiente

Los animales seleccionados para la experimentación se dividieron en tres grupos (n=6):

1. Control negativo: vehículo (solución del Tween 80 al 10% v/v)
2. Control positivo: AdipoRon (100 mg/kg)
3. Grupo Experimental: administración del compuesto a evaluar (100 mg/kg)

Se midió la glucemia sanguínea al inicio del experimento (T₀), para posteriormente administrar todas las sustancias por la vía oral. La glucemia sanguínea se midió a las 1, 3, 5 y 7 horas posterior a la administración.

Evaluación *in vitro*

Esta se realizó en colaboración con el Dr. Julio César Almanza Pérez y M en BE. Beatríz Mora Ramiro del departamento de ciencias de la salud, UAM Iztapalapa. Todos los experimentos se llevaron a cabo utilizando células de miotubo C2C12 y usando a AdipoRon como control positivo.

Ensayo de viabilidad celular

Este ensayo se realizó utilizando bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 – difeniltetrazolio (MTT) de acuerdo con el método de Mosmann. Las células C2C12 fueron cultivadas en placas de 96 pozos (5000 células/pozo) durante 24 horas, para reemplazar el medio de cultivo por un medio que contuviera los diferentes compuestos a evaluar a diferentes concentraciones (0.1, 1, 10 y 100 μ M). Las células fueron cultivadas durante 24h cada pozo se enjuagó usando un buffer de fosfatos con un pH 7.4 (PBS) y posteriormente se agregó una solución de MTT (0.1 mg/mL) disuelto en PBS. Por último, se agregó una solución de HCl (40 nM) preparado en isopropanol con la finalidad de disolver los cristales de formazan. La densidad óptica de esta solución fue medida a 570 nm y los resultados son presentados como el porcentaje de viabilidad celular.

Western Blot

Se utilizaron células C2C12 las cuales fueron incubadas en placas de 96 pozos a incubadas a 37°C con una concentración de CO₂ al 5%. Posteriormente las células fueron pre-incubadas con los diferentes compuestos seleccionados mediante el Análisis de Consenso Farmacológico para la Selección de un Líder Computacional Seguro además de usar a AdipoRon como control positivo (todos los compuestos

fueron usados a una concentración de 10 μM), incubando los compuestos durante 24 horas. Después de este tiempo las células fueron recuperadas y lavadas con PBS para posteriormente ser centrifugadas a 3300 g. Con la finalidad de recuperar el pellet celular, este fue congelado usando hielo seco por 1 min para posteriormente ser resuspendido en una solución hipotónica (10 mM Hepes a pH 7.9, 10 mM KCl, 1.5 mM MgCl_2 y 1 mM de DTT) y centrifugado a 3300g a 4°C, recolectando el sobrenadante para coleccionar las proteínas citoplasmáticas.

El extracto citoplasmático fue separado en un gel de poliacrilamida y posteriormente fue transferido a una membrana de fluoruro de polivinilideno usando un buffer de transferencia (192 mM glicina, 25 mM Tris-HCl (pH 8.8), 10% metanol (v/v)). Al día siguiente se bloquearon sitios no específicos con leche en polvo reducida en grasa, incubando las membranas durante la noche con un antígeno específico anti AMPK- α 1 (Santa Cruz Biotechnology, Inc., CA.), phospho-AMPK- α 1/2 (Thr 183 / 172) y β -actin (Santa Cruz Biotechnology, Inc., CA), todos diluidos en TBS-Tween y albumina al 1% a 4°C. Posteriormente las membranas fueron incubadas durante 1 h con los anticuerpos secundarios (anti-conejo-HRP (1:20,000 Pierce-Thermo) y anti-ratón-HRP (1:10,000 Pierce-Thermo) a temperatura ambiente, realizando la detección de proteínas mediante quimioluminiscencia. Las señales generadas fueron analizadas con el equipo FX Vilber Lourmat (VILBER Smart Imaging) y las bandas fueron analizadas mediante densitometría.

Aislamiento de ARN total y cuantificación de la expresión de ARN's mensajeros

El ARN se aisló de las células de cultivo usando el reactivo de aislamiento TriPure (Invitrogen). La absorbencia se midió a 260 y 280 nm para cada muestra de ARN y la relación de absorbancia (260-280 nm) es de 1.9 ± 0.2 . Para confirmar la integridad total del ARN, 1 μg fue corrido en un gel de agarosa al 1%. El ARN se reveló con bromuro de etidio y se visualizó usando el equipo Image Gel-logic 212 pro (Kodak/Caarestream). Dos microgramos del ARN total se transcribirán inversamente usando el ImProm II reverse transcription system (Promega, Madison, WI, USA) la relación (20 μL) se incubó en un termociclador (Bioproducts, West Palm Beach, FL, USA) bajo el siguiente programa de ciclos: incubación a 25°C durante 5 min, hasta 42°C por 55 min. La enzima fue inactivada a 70°C por 15 min y finalmente las muestras se enfriaron a 4°C durante 5 min.



Posteriormente un volumen 1/10 de cada reacción fue amplificado usando SYBR Green master mix (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany) conteniendo 0.5 mM de cebadores personalizados de Adiponectina (F5'-AAGGACAAGGCCGTTCTCT-3' R5'-TATGGGTAGTTGCAGTCAGTTGG-3'), PPAR- γ (F-CCAGAGTCTGCTGATCTGCG; R-GCCACCTCTTTGCTCTGCTC), GLUT-4 (FGATTCTGCTGCCCTTCTGTC; R- ATTGGACGCTCTCTCTCCAA) y el gen 36B4 (F5'-AAGCGC GTCCTGGCATTGTCT-3' R5'-CCGCAGGGGCAGCAGTG GT-3') así como la enzima de iniciación rápida, buffer para PCR y 3.5 mM MgCl₂ en un volume final de 10 μ L.

Las reacciones fueron medidas en un Rotor-Gene de tiempo real (Corbett Life Science, Concorde NSW, Australia). Los PCR se llevaron a cabo siguiendo las siguientes condiciones de ciclos: pre-incubación y desnaturalización a 95°C durante 10 min. El umbral de ciclos se midió usando tubos separados y por duplicado. La identidad y pureza de los productos de amplificación fue monitoreado por electrophoresis en gel de agarosa al 2%. LA curva de fusion se analizó al inicio de la amplificación siguiendo las condiciones indicadas por la compañía (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany). Los valores de Δ Ct se calcularon en cada muestra de cada gen de interes como se menciona a continuación: Δ Ct del gen de interés menos Δ Ct del gen de referencia.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Parte química

Se sintetizaron siete compuestos precursores (**MMJ 15-20**) y siete compuestos finales análogos de AdipoRon (**MMJ 1-7**). Adicionalmente se sintetizó AdipoRon debido a que este será el compuesto usado como control positivo en las pruebas *in vivo*. A continuación, se describe la síntesis de cada uno de los compuestos.

8.1.1 Síntesis de los precursores tipo *N*-(4-hidroxifenil)benzamida (**MMJ15-20**)

En un matraz bola de 25 mL provisto de agitación magnética y en baño de hielo se disolvió el 4-aminofenol (**8**) utilizando diclorometano seco como disolvente, dejando enfriar la solución durante 15 minutos. Una vez transcurrido este tiempo se acopló un embudo de adición a presiones igualadas en el cual se colocó 1.5 mL de diclorometano seco que se usó para disolver a los cloruros de benzoilo debidamente sustituidos (**9-14**), el cual fue añadido gota a gota durante 30 min (**Figura 35**). Una vez añadido todo el cloruro de benzoilo se retiró el baño de hielo y se dejó la reacción a temperatura ambiente durante 3.5 a 5.5 h. La reacción se detuvo al rotaevaporar el disolvente y al agregar 1.5 mL de agua fría. En todos los casos se obtuvieron productos en estado sólido los cuales fueron recristalizados en metanol.

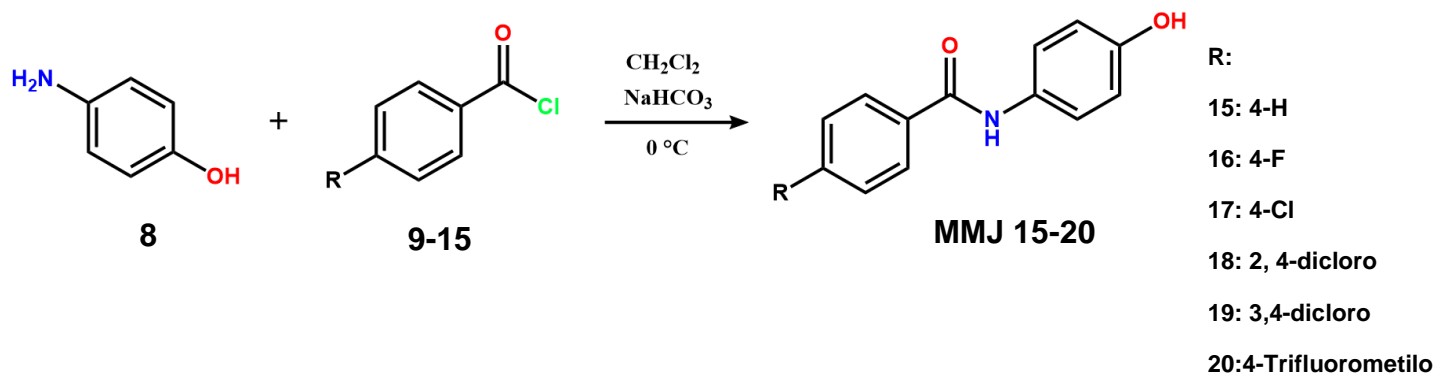


Figura 35. Síntesis de los compuestos precursores **MMJ 15-20**

En la **Tabla 1** se presentan los resultados de la síntesis de los compuestos precursores **MMJ 15-20**, en donde se observa que los tiempos de reacción fueron desde las 3.5 hasta las 5.5 horas, obteniendo todos los compuestos en estado sólido con rendimientos que van desde el 57% hasta el 77% (intermedios a buenos) y con un punto de fusión en un intervalo característico de pureza (no mayor a 2°C). Cabe mencionar que el compuesto **MMJ-18** presentó una estructura cristalina con características difractables y el cual fue analizado mediante por Rayos X.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de los compuestos precursores **MMJ 15-20**.

Compuesto	Tiempo de reacción (h)	Rendimiento global (%)	Estado físico	Punto de fusión (°C)
MMJ-15 (4-H)	3.5	65.5	Sólido	213.5-214.8
MMJ-16 (4-F)	3	57.7	Sólido	233.9-234.9
MMJ-17 (4-Cl)	5.5	67.1	Sólido	247.7-248.7
MMJ-18 (2,4 dicloro)	3.2	43.0	Monocristales	197.6-199.2
MMJ-19 (3,4 dicloro)	4.2	70.3	Sólido	216.8-218.5
MMJ-20 (Trifluorometilo)	2.5	40.0	Sólido	242.0-243.4

8.1.2 Síntesis del compuesto precursor *N*-(1-bencilpiperidin-4-il)-2-cloroacetamida (**MMJ-23**)

En un matraz bola de 25 mL provisto con agitación magnética y en baño de hielo, se disolvió 4-amino-1-bencilpiperidina (**21**) utilizando diclorometano seco, dejando enfriar la solución durante 15 minutos. Transcurrido este tiempo se acopló un embudo de adición a presiones igualadas donde se colocó 1.5 mL de diclorometano seco y cloruro de cloroacetilo, el cual fue añadido gota a gota durante 30 min para posteriormente retirar el baño de hielo, dejando la reacción a temperatura ambiente durante 2.5 h (**Figura 36**). El sólido obtenido fue recuperado por filtración al vacío. Se obtuvo un sólido amorfo de color blanco, con un rendimiento global del 77% y un punto de fusión de 98.9-102.1 °C

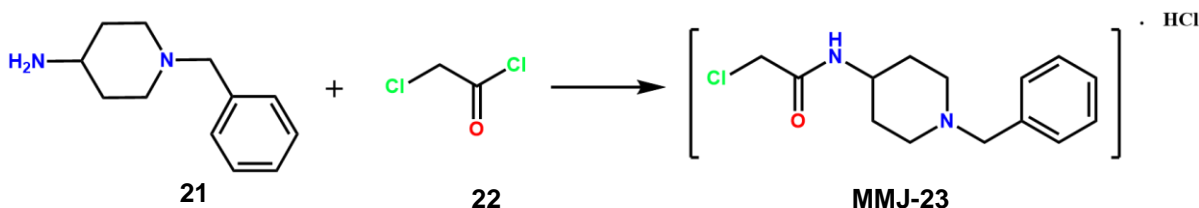


Figura 36. Síntesis del compuesto precursor **MMJ-23**.

8.1.2 Síntesis de 2-(4-benzoilfenoxi)-*N*-[1-(fenilmetil)-4-piperidinil]acetamida (**AdipoRon**)

En un matraz bola de 25 mL acoplado con agitación magnética y baño de aceite se disolvió 4-hidroxibenzofenona usando acetonitrilo seco como disolvente, agregando posteriormente 3.2 equivalentes de carbonato de potasio (K₂CO₃) y agitando la mezcla de reacción durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se agregó el precursor **MMJ-23**, elevando la temperatura a reflujo (83°C) durante 28 h.

La reacción se detuvo al rotaevaporar el disolvente y agregando 2 mL de agua fría, obteniendo un sólido blanco el cual fue recuperado mediante filtración.

El compuesto se recristalizó usando metanol, obteniendo un sólido amorfo de color blanco con un punto de fusión de 111.1-112.5°C el cual corresponde con el reportado en la literatura: 109-112 °C.²³ Rendimiento de reacción: 76 %.

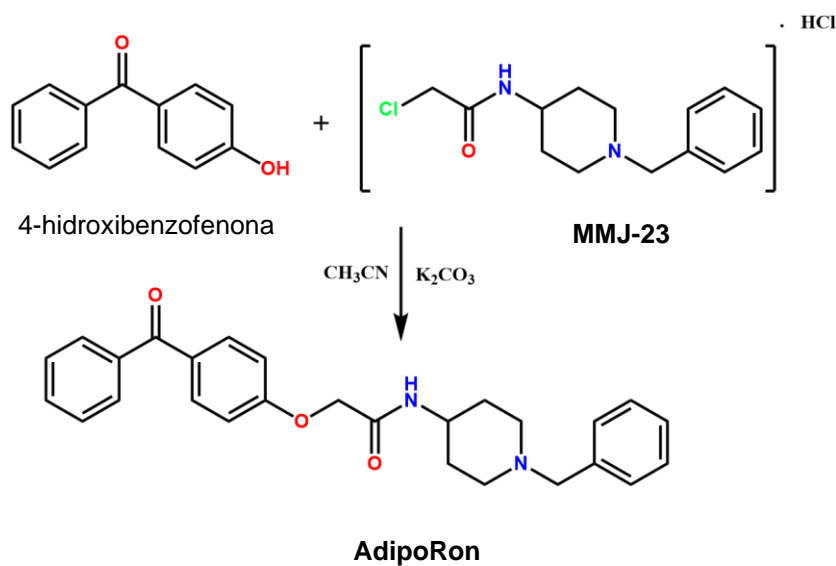


Figura 37. Síntesis de AdipoRon

8.1.3 Procedimiento general de síntesis de los compuestos finales tipo *N*-(4-(2-((1-bencilpiperidin-4-il)amino)-2-oxoetoxi)fenil)benzamida (MMJ 1-6)

Para la obtención de los compuestos finales **MMJ 1-6** se hicieron reaccionar los precursores **MMJ 15-20** y **MMJ-23** bajo condiciones de sustitución nucleofílica bimolecular (acetonitrilo como disolvente y K_2CO_3 como base), **Figura 38**. Para esto, en un matraz bola de 25 mL cada compuesto precursor por separado se disolvió y agregando 3.2 eq de carbonato de potasio, agitando la mezcla de reacción durante 30 min para posteriormente agregar el precursor **MMJ-23** y elevando la temperatura a reflujo (83°C).

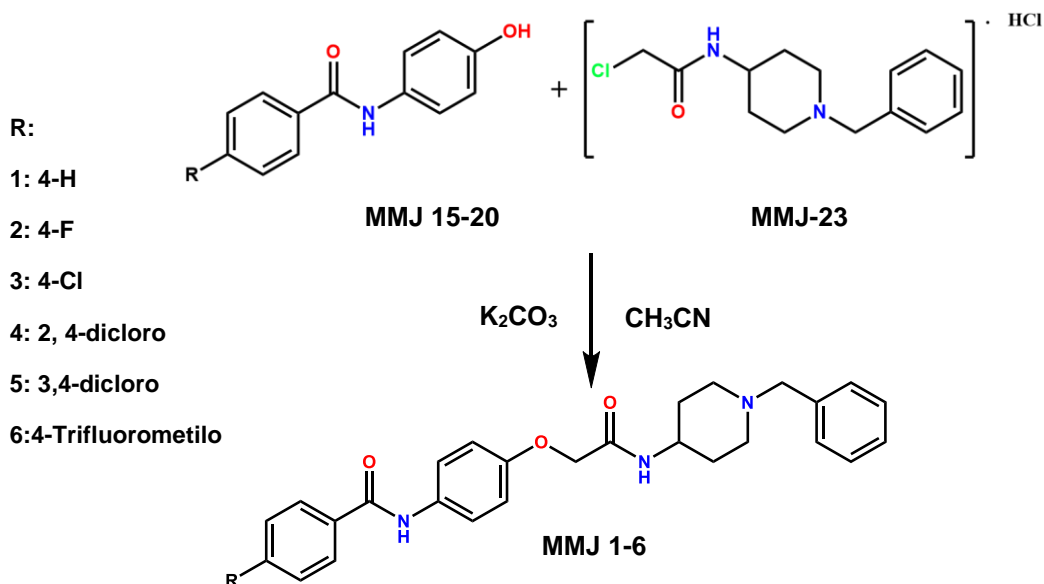


Figura 38. Síntesis de los compuestos finales **MMJ 1-6**

En la **Tabla 2** se resumen los tiempos de reacción y las propiedades fisicoquímicas de los compuestos finales **MMJ 1-6**.

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de los compuestos finales **MMJ 1-6**

Compuesto final	Tiempo de reacción (h)	Rendimiento global (%)	Estado físico	Punto de fusión (°C)
MMJ-1 (4-H)	32	52.2	Sólido	197.0-199.4
MMJ-2 (4-F)	10.5	75.6	Sólido	185.5-186.6
MMJ-3 (4-Cl)	26	38.0	Sólido	212.9-214.8
MMJ-4 (2,4 dicloro)	19	60.0	Sólido	188.7-190.3
MMJ-5 (3,4 dicloro)	29	18.1	Sólido	186.0-187.8
MMJ-6 (Trifluorometilo)	5.5	56	Sólido	213.2-214.7

8.1.4 Síntesis del compuesto 2-(4-acetamidofenoxi)-N-(1-bencilpiperidin-4-il) acetamida (**MMJ-7**)

Para la obtención de este compuesto se partió directamente del *N*-acetil-*p*-aminofenol al hacerlo reaccionar con el compuesto precursor **MMJ-23** en condiciones de sustitución nucleofílica (**Figura 39**). El compuesto se obtuvo en estado sólido (cristales blancos) y con un punto de fusión de 185.8-186.9. Rendimiento global: 46%

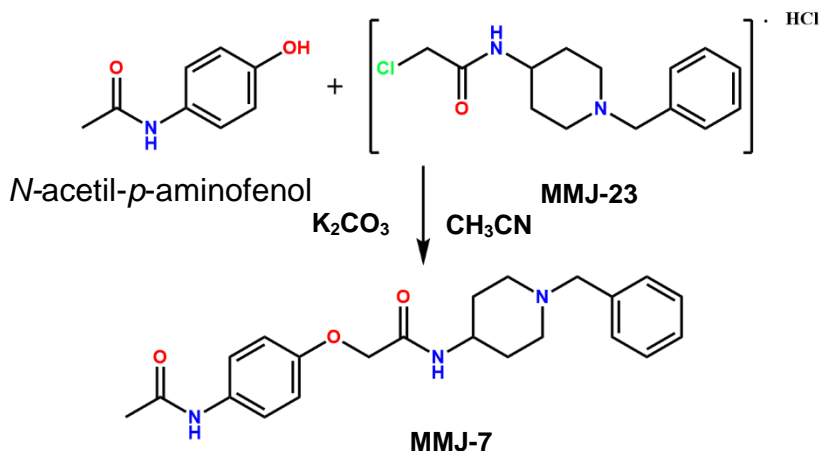


Figura 39. Síntesis del compuesto final MMJ-7

8.1.5 Optimización en la síntesis de AdipoRon.

Debido al prolongado tiempo de reacción (28 horas) para la obtención de AdipoRon (control positivo para todas las evaluaciones biológicas) se consideró optimizar su ruta de síntesis con la finalidad de poder obtener este compuesto en mayores cantidades y con una ruta de síntesis costo-eficiente. Esto es importante debido a que 25 mg de este compuesto que se encuentra comercialmente disponible cuestan \$8,947 pesos (más IVA) en la casa Sigma-Aldrich-Merk. El primer paso para su optimización fue el obtener el precursor **24** en su forma de base libre (**24a**) con la finalidad de reducir la cantidad de base necesaria en la reacción, pasando de (3.5 a 2.5 equivalentes) además de mejorar la solubilidad del precursor en los disolventes orgánicos. Posterior a esto se decidió utilizar acetoneitrilo rotaevaporado y anhidro, manteniendo las mismas condiciones de temperatura, mientras que para la purificación el producto crudo este fue recristalizado con metanol. El esquema general de reacción se presenta en la **Figura 40**.

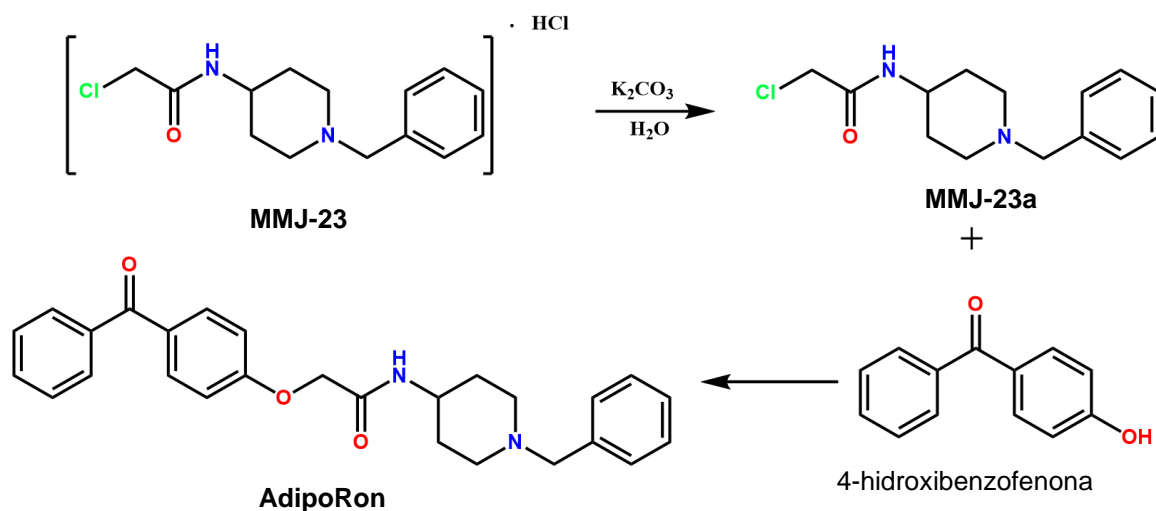


Figura 40. optimización en la síntesis de AdipoRon

Adicional a este experimento, se decidió reemplazar la base usada (K_2CO_3) por DBU (Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno) tanto en el método convencional de síntesis, así como al usar el reactor de Anton Paar Monowave 50 para la optimización de la ruta de síntesis. Este equipo permite alcanzar temperaturas y presiones mayores que utilizando un método de síntesis convencional al utilizar un vial de reacción sellado, teniendo como fundamento de la Ley de Arrhenius. Las condiciones de reacción usadas en este equipo se presentan en la **Figura 41**.

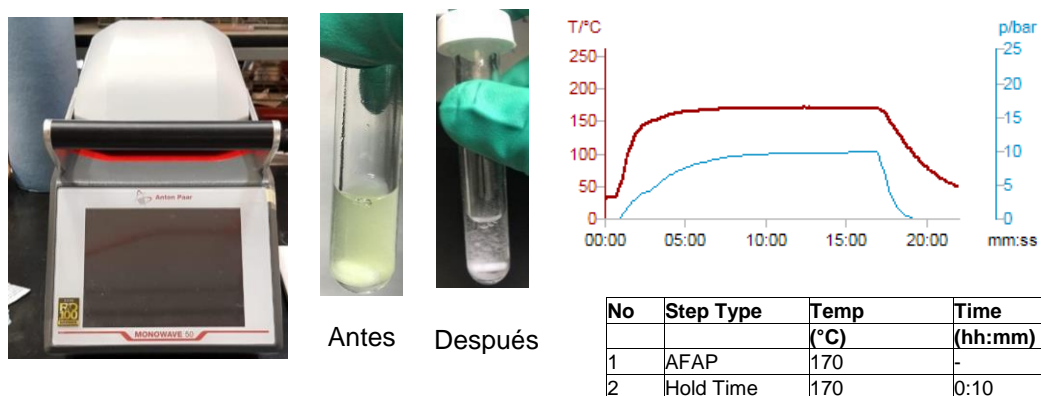


Figura 41. Equipo Monowave 50 y condiciones de reacción usadas.

Los resultados de las diversas rutas de síntesis se presentan en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Resultados de la optimización en la síntesis de AdipoRon

<i>Tiempo de reacción (h)</i>	<i>Rendimiento global (%)</i>	<i>Punto de fusión (°C)</i>
<i>Síntesis inicialmente propuesta</i>		
28	76.52%	111.1-112.5
<i>Síntesis convencional usando DBU como base</i>		
5	75.8%	111.2-112.3
<i>Síntesis usando precursor 23a (base libre)</i>		
3.3	75.6%	110.3-110.8
<i>Síntesis usando el equipo Monowave 50</i>		
0.33 (20 minutos)	78.2%	112.1-113.6

En estas diferentes condiciones de reacción se puede inferir que la solubilidad del compuesto **23** es la variable limitante de la velocidad de reacción, debido a que, al usar este reactivo en su forma de base libre éste es más soluble en disolventes orgánicos y por ende se encuentra en mayor cantidad disponible para reaccionar. Si bien no se mejoró de manera significativa el rendimiento global, además de no observar diferencias significativas al cambiar el tipo de base, si se logró reducir de gran manera el tiempo de reacción, siendo de 28 horas en la ruta de síntesis original hasta 20 minutos usando el equipo Monowave 50.

En todos los casos los puntos de fusión fueron similares y dentro de un intervalo característico de pureza, coincidiendo con el reportado en la literatura (108-110°C)²³ además de poseer un RF (0.70) igual en todos los casos al utilizar una fase móvil compuesta de diclorometano/metanol 95:5.

En la **Tabla 4** se resumen los costos de producción (solo materias primas) de AdipoRon vs la compra de este compuesto en Sigma-Aldrich-Merk, en donde se puede observar una reducción en los precios de manera significativa: 25mg de AdipoRon obtenido por la síntesis optimizada es hasta 140 veces más barato, únicamente considerando los costos de las materias primas.

Tabla 4. Comparación de precios en la obtención de 25mg de AdipoRon

Producto	Costo neto (MXN)	Costo cantidad usada
AdipoRon (Aldich)	25 mg \$8947	25 mg \$8947
4-amino-N-bencilpiperidina	25 g \$2656	0.0312 g \$3.31
Cloruro de cloroacetilo	100 g \$720	0.0196 g \$0.141
4-hidroxibenzofenona	100 g \$4156	0.0147 g \$ 61.00
	Costo por 25 mg AdipoRon sintetizado	\$64.45

8.2 Caracterización estructural

Para la caracterización estructural de los compuestos se utilizó RMN de ^1H y ^{13}C , así como difracción de rayos X en el caso exclusivo del precursor **MMJ-18**.

8.2.1 Resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C

A continuación y a modo de ejemplo de la caracterización estructural de los compuestos, se muestran los espectros de RMN del compuesto precursor **MMJ-15** y del compuesto final **MMJ-1** y AdipoRon.

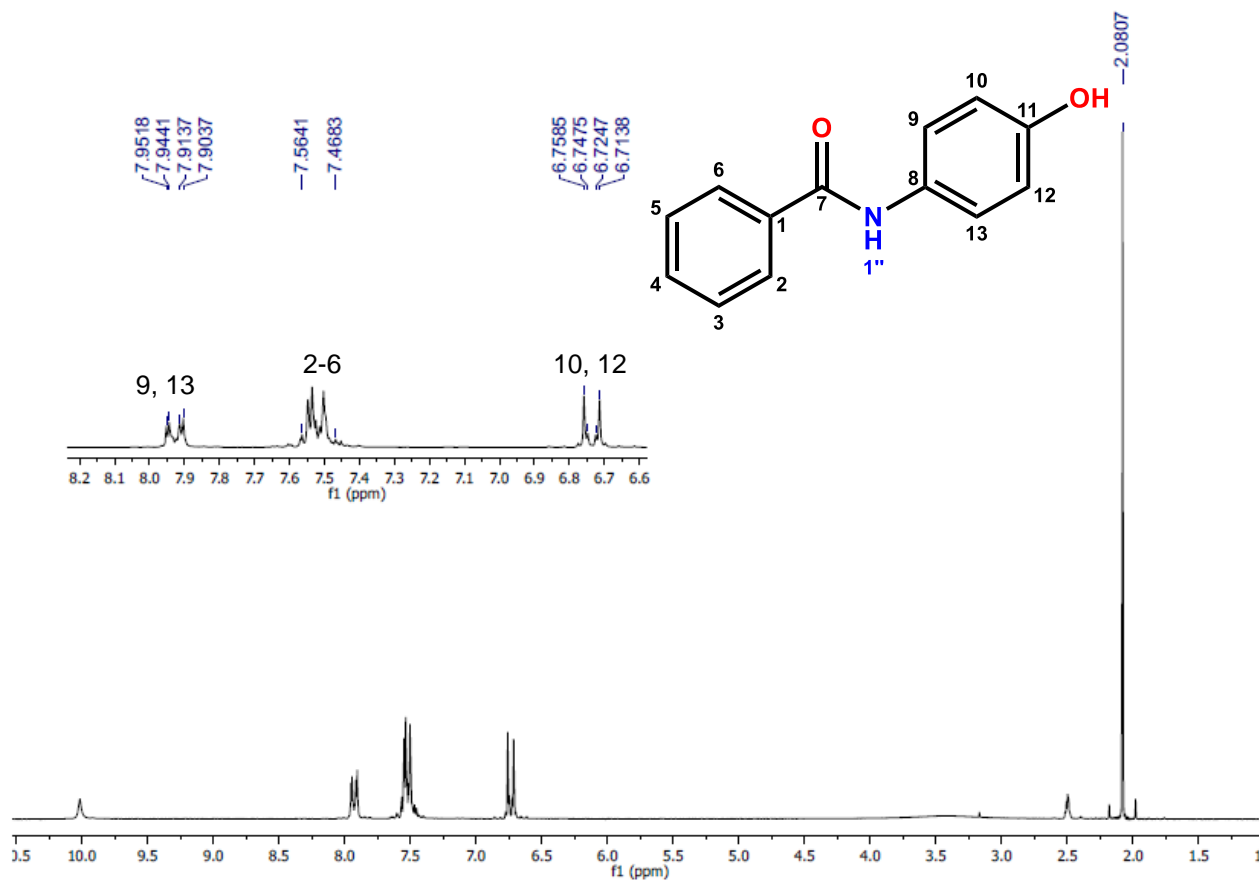


Figura 42. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del precursor **MMJ-15**.

En la **Figura 42** se presenta el espectro de RMN del precursor **MMJ-15** en donde se puede apreciar una señal del tipo doble de dobles (*dd*) a 7.93 ppm con una constante de acoplamiento *orto* ($J_o=9.20$ Hz) y *meta* ($J_m=1.57$ Hz) que corresponden a las posiciones 9 y 13, además de otra señal del tipo *dd* a 6.74 ppm con constantes de acoplamiento $J_o=8.94$ Hz y $J_m=2.60$ Hz que corresponden a las posiciones 10 y 12. Adicional a estas señales se observa una señal múltiple (*m*) entre 7.56 y 7.46 correspondiente a las posiciones 2-6 de la molécula. Por último, se observa una señal de baja intensidad a 10 ppm que corresponde al protón de la amida de la posición 8. Las señales a 2.5 y 2.09 corresponden a DMSO y acetona, respectivamente.

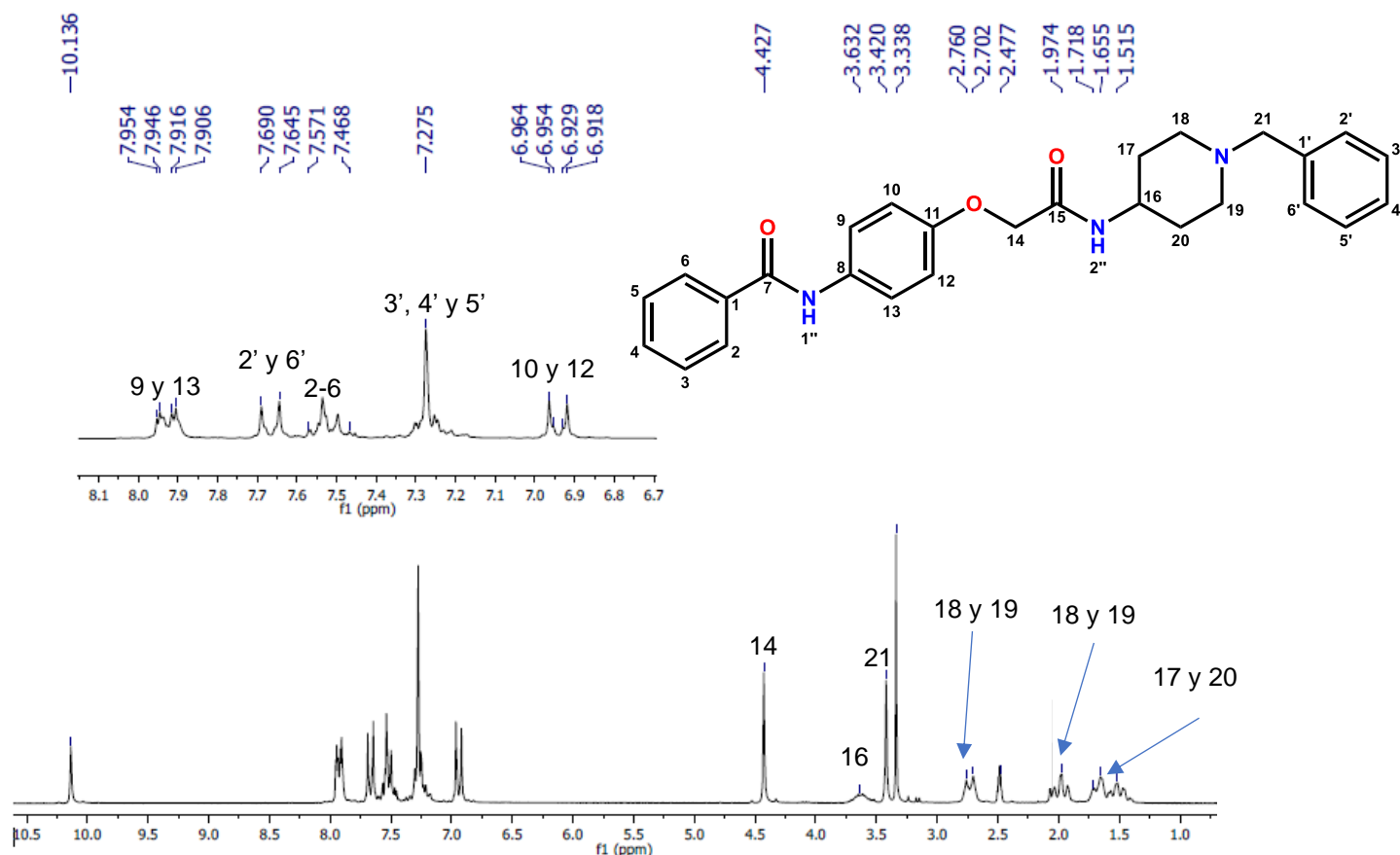


Figura 43. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del compuesto **MMJ-1**

En el espectro de RMN ^1H (**Figura 43**) del compuesto **MMJ-1** se puede observar que se mantienen las señales correspondientes al compuesto precursor (una señal (*dd*) a 7.93 ppm con constantes de acoplamiento ($J_o=9.2$ Hz) y ($J_m=1.57$ Hz) que corresponden a las posiciones 9 y 13, además de otra señal *dd* a 6.94 ppm con constantes de acoplamiento $J_o=8.94$ Hz y $J_m=2.6$ Hz que corresponden a las posiciones 10 y 12.

Adicional a estas señales se observa una señal *d* con una constante de acoplamiento $J_o= 9.0$ Hz que corresponde a las posiciones 2' y 6', además de una señal múltiple (*m*) entre 7.57 y 7.46 correspondiente a las posiciones 2-6 de la molécula, además de la aparición de nuevas señales en la región alifática.

La señal de tipo singulete (*s*) a 4.42 ppm corresponde a la posición 14, mientras que a 3.63 se observa un múltiplete de baja intensidad que corresponde a la posición 16 característico de este protón del anillo de piperidina, mientras que la señal a 3.42 ppm es indicativa de la posición 21. Se puede observar una señal simple a 3.33 ppm que correspondiente a la señal residual de agua.

En la zona alifática también se pueden apreciar una señal del tipo *d* y triplete (*t*) que corresponden a las posiciones 18, 19 a 2.75 y 1.97 ppm con constantes de acoplamiento $J= 11.6$ Hz y $J=12.2$ Hz, respectivamente. Por último, se pueden observar dos señales tipo *d* y *t* a 1.68 y 1.51 ppm con constantes de acoplamiento $J= 11$ Hz para ambas señales y que corresponden a las posiciones 17 y 20.

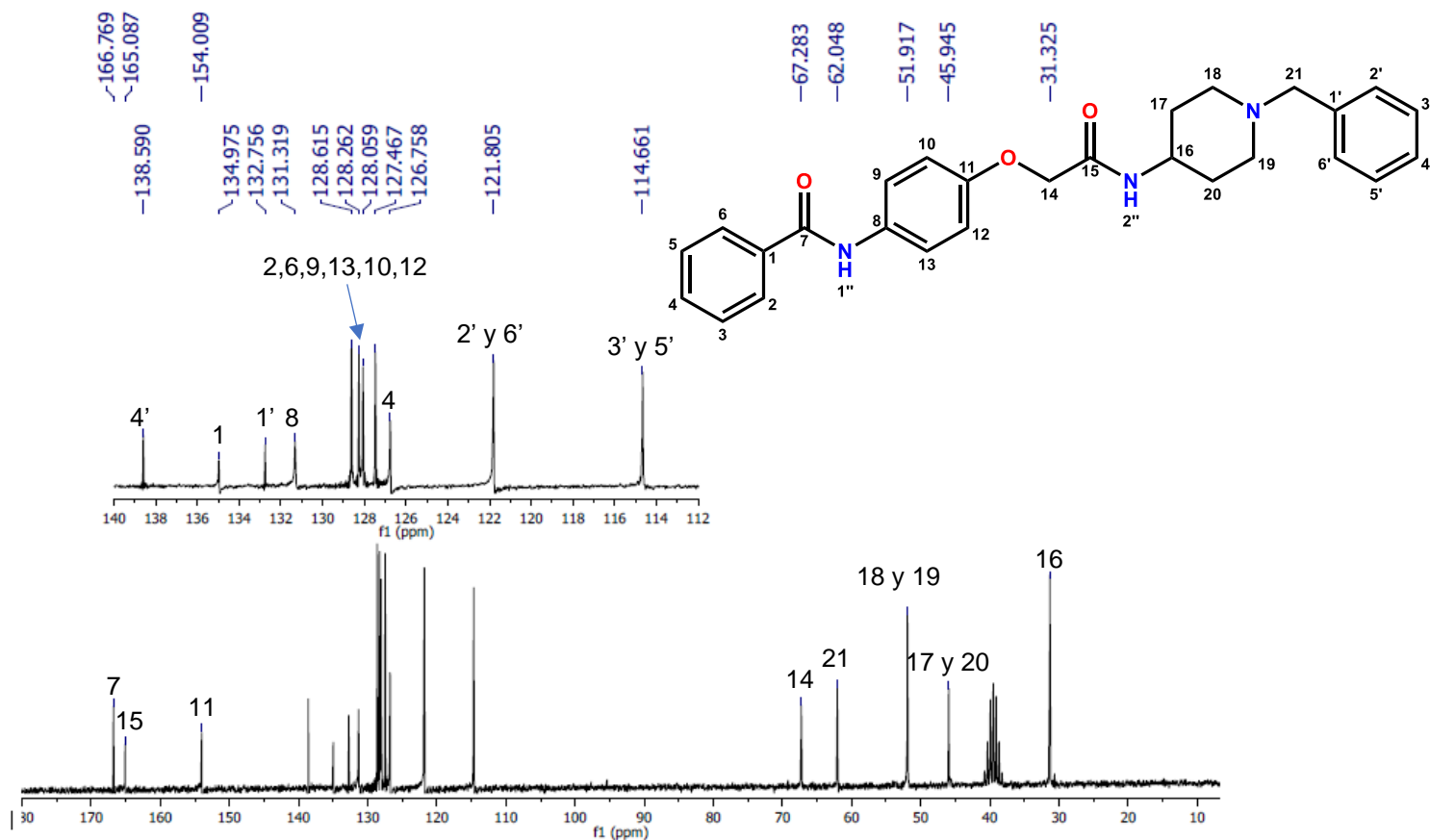


Figura 44. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO-*d*₆) del compuesto **MMJ-1**

En el espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **MMJ-1** se pueden observar las 19 señales esperadas, de las cuales dos señales a 166.7 y 166.0 ppm corresponde a los dos carbonilos de las posiciones 7 y 15.

En la región aromática se aprecian las diversas señales correspondientes a los anillos aromáticos (154.0 hasta 114.6 ppm). Por último, se aprecian las señales de la región alifática, de las cuales la señal a 67.2 ppm corresponde a la posición 14 y la señal a 62.0 ppm corresponde a la posición 21. La señal con un desplazamiento químico de 45.9 ppm corresponde a las posiciones 18 y 19, mientras que la señal a 51.9 ppm corresponde a las posiciones 17 y 20. Por último, la señal a 31.3 ppm es característica de la posición 16 del anillo de piperidina.

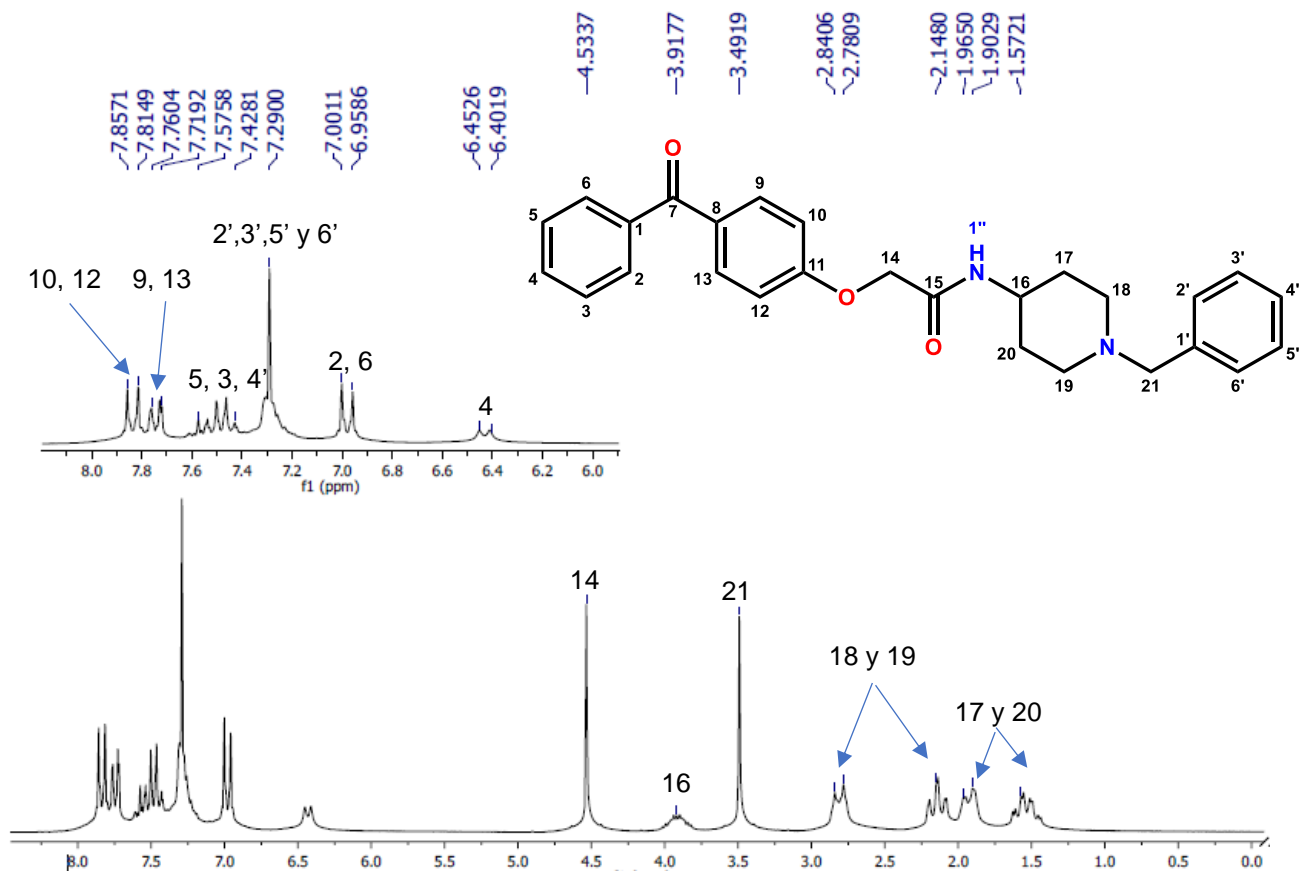


Figura 45. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) del compuesto AdipoRon

En el espectro de RMN ^1H de AdipoRon (**Figura 45**) se pueden observar las señales que corresponden a la región aromática, encontrando una señal *d* ($J_o=8.2$ Hz) a 7.84 ppm correspondiente a las señales 10 y 12, mientras que la señal *d* a 7.74 ppm ($J_o= 7.8$ Hz) corresponde a las posiciones 9 y 13. En 7.48 ppm se observa un múltiplete correspondiente a las posiciones 3,5 y 4'. De manera similar, se observa un múltiplete (solapado con la señal de CDCl_3) que corresponde a las señales 2',3',5' y 6'. Por otra parte, en el desplazamiento químico de 6.97 ppm se observa una señal tipo *d* ($J_o=8.6$ Hz) correspondiente a las posiciones 2 y 6. La última señal (*d*) de la región aromática que se puede observar (6.43 ppm, $J_o= 8.4$ Hz) corresponde a la posición 4.

En la región alifática se puede observar una señal del tipo *s* a 4.53 ppm correspondiente a la posición 14. A 3.91 ppm se puede observar una señal múltiple de baja intensidad característica de la posición 16. A 3.49 ppm se puede observar una señal del tipo *s* correspondiente a la posición 21. La señal del tipo *d* y *t* a 2.80 y 2.14 ppm (con constantes de acoplamiento $J= 12$ Hz y $J= 11.4$ Hz respectivamente) corresponden a las posiciones 18 y 19, mientras las señales 1.93 y 1.57 ppm (constantes de acoplamiento $J=9.2$ Hz y 11.4 Hz) son características de las posiciones 16 y 15. Todas estas señales fueron comparadas con aquellas reportadas en la literatura científica.²³

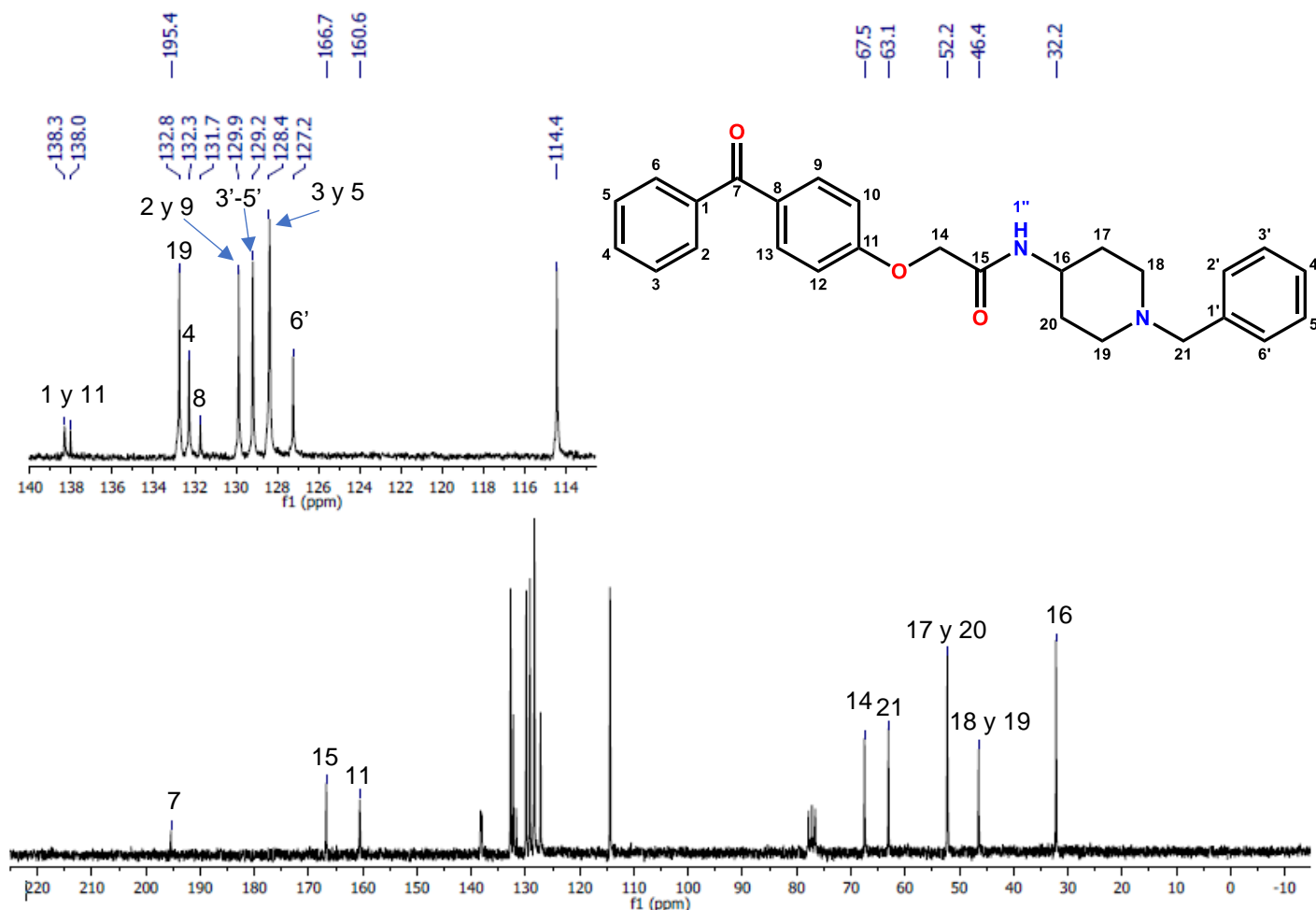
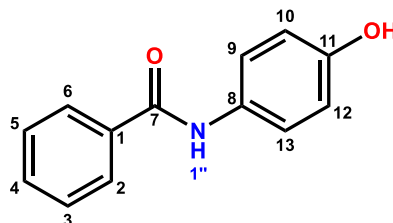


Figura 46. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de AdipoRon

En el espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 46**) del AdipoRon se pueden observar 19 señales (19 señales esperadas), en la cual la señal a 195.7 ppm corresponde al carbonilo de la posición 7, mientras que la señal correspondiente al carbonilo de la posición 15 tiene un desplazamiento químico de 166.7 ppm. La señal a 160.6 ppm corresponde a la posición 11 del anillo de benzofenona. Así mismo se pueden observar diversas señales correspondientes a la señal aromática entre 138.3 y 114.4 ppm. En la región aromática se observa una señal a 67.5 ppm correspondiente a la posición 14, confirmando de esta manera la presencia de un metileno (-CH₂-) entre la región aromática de la benzofenona y el carbonilo de la amida. Por otro lado, la señal a 63.1 ppm corresponde a la posición número 21, confirmando la presencia del metileno encontrado entre el anillo de piperidina y la segunda región aromática de la molécula. Por otro lado, se puede observar una señal característica de la posición 16 de la piperidina a 32.2 ppm. Por último, se observan dos señales a 52.2 y 46.4 ppm correspondientes a las posiciones 17 y 20, 18 y 19 respectivamente. Todas estas señales fueron comparadas con aquellas reportadas en la literatura científica.²³

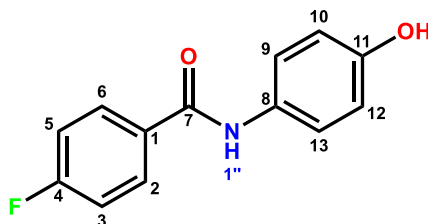
En las **Tablas 5-18** se resumen los desplazamientos químicos de RMN (^1H y ^{13}C) de los compuestos **MMJ 15-20**, **MMJ 1-7** y AdipoRon.

Tabla 5. Desplazamientos químicos de RMN ^1H del compuesto precursor **MMJ-15**



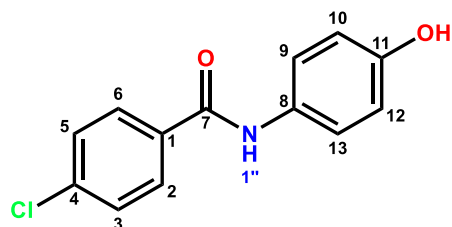
Posición	δ ^1H 200 MHz
1	----
2	7.56-7.46, <i>m</i> , 5H
3	7.56-7.46, <i>m</i> , 5H
4	7.56-7.46, <i>m</i> , 5H
5	7.56-7.46, <i>m</i> , 5H
6	7.56-7.46, <i>m</i> , 5H
7	----
8	----
9	7.92, <i>dd</i> , 2H, $J_m=1.57$ Hz, $J_o=9.62$ Hz
10	6.73, <i>dd</i> , 2H, $J_m=2.79$ Hz, $J_o=8.94$ Hz
11	----
12	6.73, <i>dd</i> , 2H, $J_m=2.79$ Hz, $J_o=8.94$ Hz
13	7.92, <i>dd</i> , 2H, $J_m=1.57$ Hz, $J_o=9.62$ Hz
1''	10.015
-OH	----

Tabla 6. Desplazamientos químicos de RMN ^1H del compuesto precursor **MMJ-16**



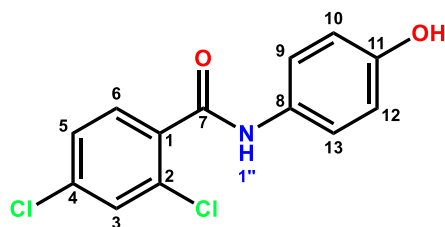
Posición	δ ^1H 600 MHz
1	----
2	8.01, <i>dd</i> , 2H, $J_m = 3.64$ Hz, $J_o = 6$ Hz
3	7.34, <i>t</i> , 2H, $J = 9.0$ Hz
4	----
5	7.34, <i>t</i> , 2H, $J = 9.0$ Hz
6	8.01, <i>dd</i> , 2H, $J_m = 3.64$ Hz, $J_o = 6$ Hz
7	----
8	----
9	7.52, <i>d</i> , 2H, $J_o = 8.4$ Hz
10	6.75, <i>d</i> , 2H, $J_o = 9$ Hz
11	----
12	6.75, <i>d</i> , 2H, $J_o = 9$ Hz
13	7.52, <i>d</i> , 2H, $J_o = 8.4$ Hz
1''	10.04, <i>s</i> , 1H
-OH	9.28, <i>s</i> , 1H

Tabla 7. Desplazamientos químicos de RMN ^1H del compuesto precursor **MMJ-17**



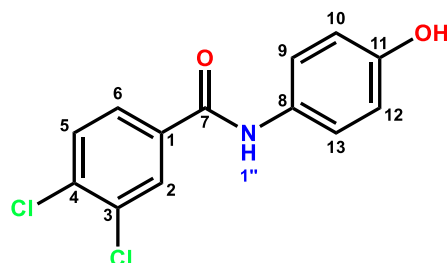
Posición	δ ^1H 600 MHz
1	----
2	8.46, <i>d</i> , 2H, $J_o = 8.4$ Hz
3	8.01, <i>d</i> , 2H, $J_o = 8.4$ Hz
4	----
5	8.01, <i>d</i> , 2H, $J_o = 8.4$ Hz
6	8.46, <i>d</i> , 2H, $J_o = 8.4$ Hz
7	----
8	----
9	8.08, <i>d</i> , 2H, $J_o = 9$ Hz
10	7.24, <i>d</i> , 2H, $J_o = 8.4$ Hz
11	----
12	7.24, <i>d</i> , 2H, $J_o = 8.4$ Hz
13	8.08, <i>d</i> , 2H, $J_o = 9$ Hz
1''	10.55, <i>s</i> , 1H
-OH	9.74, <i>s</i> , 1H

Tabla 8. Desplazamientos químicos de RMN ¹H del compuesto precursor **MMJ-18**



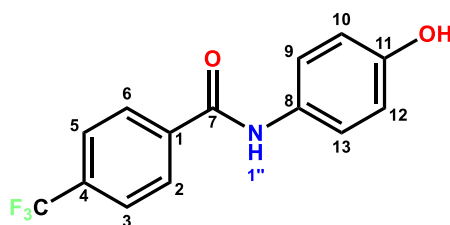
Posición	δ ¹ H 600 MHz
1	----
2	----
3	7.70, <i>d</i> , 1H, <i>J_m</i> = 1.8 Hz
4	----
5	7.50, <i>dd</i> , 1H, <i>J_m</i> =1.2 Hz, <i>J_o</i> = 8.4 Hz
6	7.56, <i>d</i> , 1H, <i>J_o</i> = 8.4 Hz
7	----
8	----
9	7.45, <i>d</i> , 2H, <i>J_o</i> =7.8 Hz
10	6.71, <i>d</i> , 2H, <i>J_o</i> = 7.2 Hz
11	----
12	6.71, <i>d</i> , 2H, <i>J_o</i> = 7.2 Hz
13	7.45, <i>d</i> , 2H, <i>J_o</i> =7.8 Hz
1''	10.23, <i>s</i> , 1H
-OH	9.26, <i>s</i> , 1H

Tabla 9. Desplazamientos químicos de RMN ^1H del compuesto precursor **MMJ-19**

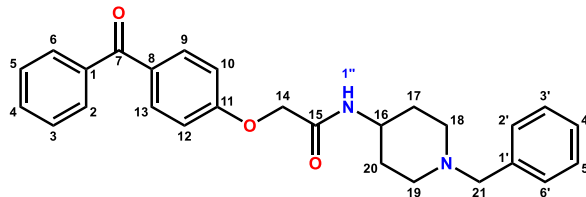


<i>Posición</i>	δ ^1H 600 MHz
1	----
2	8.68, <i>d</i> , 1H, <i>J_m</i> = 1.8 Hz
3	----
4	----
5	8.28, <i>d</i> , 1H, <i>J_o</i> = 8.4 Hz
6	8.42, <i>dd</i> , 1H, <i>J_m</i> = 1.8 Hz, <i>J_o</i> =8.4 Hz
7	----
8	----
9	8.01, <i>d</i> , 2H, <i>J_o</i> = 8.4 Hz
10	7.25, <i>d</i> , 2H, <i>J_o</i> = 9.0 Hz
11	----
12	7.25, <i>d</i> , 2H, <i>J_o</i> = 9.0 Hz
13	8.01, <i>d</i> , 2H, <i>J_o</i> = 8.4 Hz
1''	10.64, <i>s</i> , 1H
-OH	9.78, <i>s</i> , 1H

Tabla 10. Desplazamientos químicos de RMN ¹H del compuesto precursor **MMJ-20**

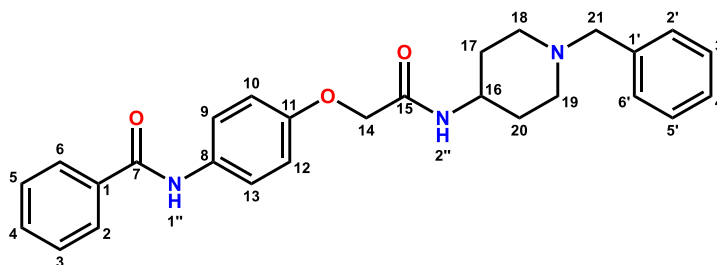


Posición	δ ¹H 600 MHz
1	----
2	8.63, <i>d</i> , 2H, <i>J</i> _o = 7.8 Hz
3	8.39, <i>d</i> , 2H, <i>J</i> _o = 7.8 Hz
4	----
5	8.39, <i>d</i> , 2H, <i>J</i> _o = 7.8 Hz
6	8.63, <i>d</i> , 2H, <i>J</i> _o = 7.8 Hz
7	----
8	----
9	8.04, <i>d</i> , 2H, <i>J</i> _o = 9.0 Hz
10	7.36, <i>d</i> , 2H, <i>J</i> _o = 9.0 Hz
11	----
12	7.36, <i>d</i> , 2H, <i>J</i> _o = 9.0 Hz
13	8.04, <i>d</i> , 2H, <i>J</i> _o = 9.0 Hz
1''	10.71, <i>s</i> , 1H
-OH	9.76, <i>s</i> , 1H

Tabla 11. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C de AdipoRon


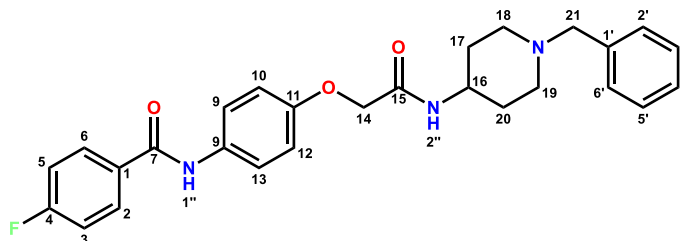
Posición	δ ^1H 200 MHz	δ ^{13}C 50 MHz
1	-----	138.3
2	6.97, <i>d</i> , 2H, $J_o= 8.2$ Hz	129.9
3	7.48, <i>m</i> , 2H	128.4
4	6.43, <i>d</i> , 1H, $J_o= 8.4$ Hz	132.3
5	7.48, <i>m</i> , 2H	128.4
6	6.97, <i>d</i> , 2H, $J_o= 8.6$ Hz	219.9
7	-----	195.4
8	-----	131.7
9	7.74, <i>d</i> , 2H, $J_o= 7.8$ Hz	132.8
10	7.84, <i>d</i> , 2H, $J_o= 8.4$ Hz	114.4
11	-----	161.4
12	7.84, <i>d</i> , 2H, $J_o= 8.4$ Hz	114.4
13	7.74, <i>d</i> , 2H, $J_o= 7.8$ Hz	132.8
14	4.53, <i>s</i> , 2H	67.5
15	-----	166.7
16	3.91, <i>m</i> , 1H	32.2
17	1.92, <i>d</i> , 2H, $J=9.2$ Hz 1.52, <i>qd</i> , 2H, $J=3.4$ Hz, $J=11.4$ Hz	52.2
18	2.80, <i>d</i> , 2H, $J= 12$ Hz 2.13, <i>t</i> , 2H, $J= 11.4$ Hz	46.4
19	2.80, <i>d</i> , 2H, $J= 12$ Hz 2.13, <i>t</i> , 2H, $J= 11.4$ Hz	46.4
20	1.92, <i>d</i> , 2H, $J=9.2$ Hz 1.52, <i>qd</i> , 2H, $J=3.4$ Hz, $J=11.4$ Hz	52.2
21	3.491, <i>s</i> , 2H	63.1
1'	-----	138.0
2'	7.30, <i>m</i> , 5H	127.2
3'	7.30, <i>m</i> , 5H	129.7
4'	7.30, <i>m</i> , 5H	129.7
5'	7.30, <i>m</i> , 5H	129.7
6'	7.30, <i>m</i> , 5H	127.2
1'' (R-NH-R)	-----	-----

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



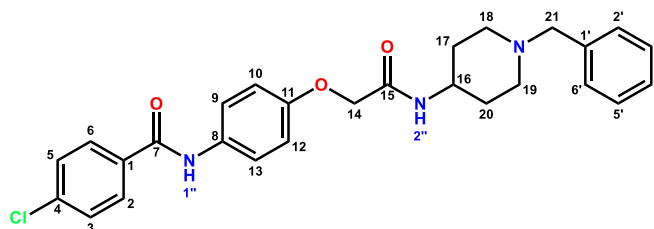
Posición	δ ^1H 200 MHz	$\delta^{13}\text{C}$ 50 MHz
1	-----	134.9
2	7.58-7.45, m, 5H	128.0
3	7.58-7.45, m, 5H	127.4
4	7.58-7.45, m, 5H	126.7
5	7.58-7.45, m, 5H	127.4
6	7.58-7.45, m, 5H	128.0
7	-----	166.7
8	-----	131.3
9	7.92, dd, 2H, $J_m=1.75$ Hz, $J_o=7.84$ Hz,	128.6
10	6.94, dd, 2H, $J_m=2.08$ Hz, $J_o=9.1$ Hz	128.2
11	-----	154.2
12	6.94, dd, 2H, $J_m=2.08$ Hz, $J_o=9.1$ Hz	128.2
13	7.92, dd, 2H, $J_m=1.75$ Hz, $J_o=7.84$ Hz	128.6
14	4.42, s, 2H	67.8
15	-----	165.0
16	3.70, m, 1H	31.3
17	1.67, d, 2H, $J=11$ Hz 1.51, t, 2H, $J=11$ Hz	45.9
18	2.73, d, 2H, $J=11.6$ Hz 1.97, t, 2H, $J=12.2$ Hz	51.9
19	2.73, d, 2H, $J=11.6$ Hz 1.97, t, 2H, $J=12.2$ Hz	51.9
20	1.67, d, 2H, $J=11$ Hz 1.51, t, 2H, $J=11$ Hz	45.9
21	3.42, s, 2H	62.0
1'	-----	132.7
2'	7.66, dd, 2H, $J_m=2.02$ Hz, $J_o=7$ Hz	121.8
3'	7.32-7.19, m, 3H	114.6
4'	7.32-7.19, m, 3H	138.5
5'	7.32-7.19, m, 3H	114.6
6'	7.66, dd, 2H, $J_m=2.02$ Hz, $J_o=7$ Hz	121.8
1'' (R-NH-R)	10.14, s	-----
2'' (R-NH-R)	-----	-----

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



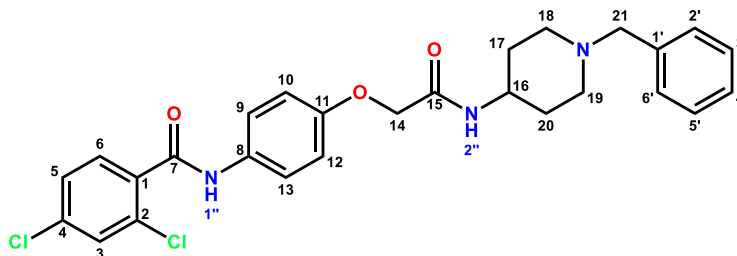
Posición	$\delta^1\text{H}$ 600 MHz	$\delta^{13}\text{C}$ 150 MHz
1	-----	133.102
2	7.99, <i>ddd</i> , 2H, $J_{\text{O}_{\text{H-H}}}=5.4$ Hz, $J_{\text{m}_{\text{H-F}}}=3.0$ Hz	130.7, <i>d</i> , $J_{\text{C-F}}=8.85$ Hz
3	7.32, <i>t</i> , 2H, $J=8.4$ Hz	115.4, <i>d</i> , $J_{\text{C-F}}=22.5$ HZ
4	-----	164.4, <i>d</i> , $J_{\text{C-F}}=246.6$ Hz
5	7.32, <i>t</i> , 2H, $J=8.4$ Hz	115.4, <i>d</i> , $J_{\text{C-F}}=22.5$ HZ
6	7.99, <i>ddd</i> , 2H, $J_{\text{O}_{\text{H-H}}}=5.4$ Hz, $J_{\text{m}_{\text{H-F}}}=3.0$ Hz	130.7, <i>d</i> , $J_{\text{C-F}}=8.85$ Hz
7	-----	167.2
8	-----	131.8
9	7.62, <i>d</i> , 2H, $J_{\text{O}}=9.0$ Hz	128.8
10	6.92, <i>d</i> , 2H, $J_{\text{O}}=9.0$ Hz	115.2
11	-----	154.5
12	6.92, <i>d</i> , 2H, $J_{\text{O}}=9.0$ Hz	115.2
13	7.62, <i>d</i> , 2H, $J_{\text{O}}=9.0$ Hz	128.8
14	4.40, <i>s</i> , 2H	67.6
15	-----	164.4
16	3.61, <i>m</i> , 2H	31.7
17	1.66, <i>d</i> , 2H, $J=13.2$ Hz 1.48, <i>t</i> , 2H, $J=12$ Hz	46.5
18	2.72, <i>d</i> , 2H, $J=9$ Hz 1.96, <i>t</i> , 2H, $J=10.8$ Hz	52.6
19	2.72, <i>d</i> , 2H, $J=9$ Hz 1.96, <i>t</i> , 2H, $J=10.8$ Hz	52.1
20	1.66, <i>d</i> , 2H, $J=13.2$ Hz 1.48, <i>t</i> , 2H, $J=12$ Hz	46.2
21	3.40, <i>s</i> , 2H	62.5
1'	-----	131.8
2'	7.29-7.24, <i>m</i> , 4H	122.8
3'	7.29-7.24, <i>m</i> , 4H	114.9
4'	7.24, <i>m</i> , 1H	128.0
5'	7.29-7.24, <i>m</i> , 4H	114.9
6'	7.29-7.24, <i>m</i> , 4H	122.0
1'' (R-NH-R)	10.15, <i>s</i> , 1H	-----
2'' (R-NH-R)	-----	-----

Tabla 14. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **MMJ-3**



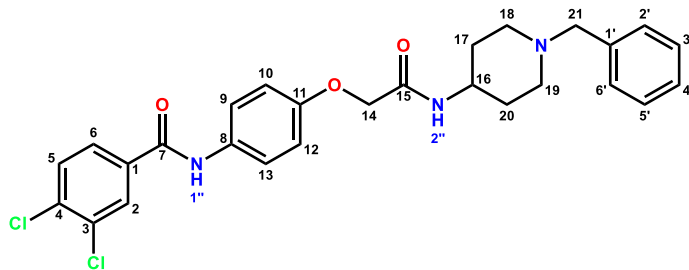
Posición	δ ^1H 600 MHz	δ ^{13}C 150 MHz
1	-----	129.4
2	7.99, <i>t</i> , 2H, $J_o = 9$ Hz	135.4
3	7.33-7.24, <i>m</i> , 6H	128.9
4	-----	139.0
5	7.33-7.24, <i>m</i> , 6H	128.4
6	7.99, <i>t</i> , 2H, $J_o = 9$ Hz	135.4
7	-----	167.3
8	-----	133.3
9	7.62, <i>d</i> , 2H, $J_o = 9$ Hz	128.8
10	6.92, <i>d</i> , 2H, $J_o = 9$ Hz	115.2
11	-----	154.4
12	6.92, <i>d</i> , 2H, $J_o = 9$ Hz	115.2
13	7.62, <i>d</i> , 2H, $J_o = 9$ Hz	128.8
14	4.40, <i>s</i> , 2H	67.6
15	-----	165.6
16	3.60, <i>m</i> , 1H	31.7
17	1.66, <i>d</i> , 2H, $J = 3.0$ Hz 1.48, <i>t</i> , 2H, $J = 11.4$ Hz	46.5
18	2.70, <i>d</i> , 2H, $J = 10.8$ Hz 1.96, <i>t</i> , 2H, 10.8 Hz	52.5
19	2.70, <i>d</i> , 2H, $J = 10.8$ Hz 1.96, <i>t</i> , 2H, 10.8 Hz	52.1
20	1.66, <i>d</i> , 2H, $J = 3.0$ Hz 1.48, <i>t</i> , 2H, $J = 11.4$ Hz	46.2
21	3.40, <i>s</i> , 2H	62.5
1'	-----	127.5
2'	7.33-7.24, <i>m</i> , 6H	121.9
3'	7.33-7.24, <i>m</i> , 6H	114.9
4'	7.20, <i>t</i> , 1H, $J = 9$ Hz	122.6
5'	7.33-7.24, <i>m</i> , 6H	114.9
6'	7.33-7.24, <i>m</i> , 6H	121.5
1'' (R-NH-R)	10.15, <i>s</i> , 1H	-----
2'' (R-NH-R)	-----	-----

Tabla 15. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **MMJ-4**



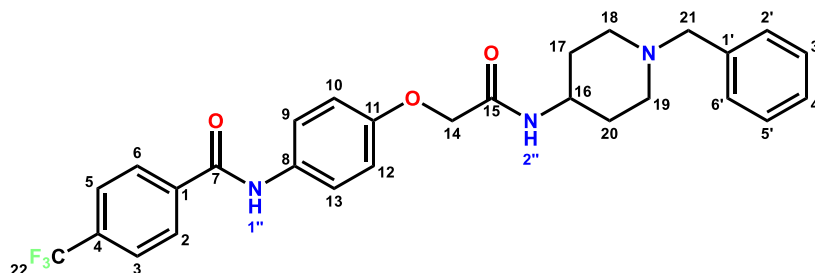
Posición	$\delta^1\text{H}$ 600 MHz	$\delta^{13}\text{C}$ 150 MHz
1	-----	135.1
2	-----	128.8
3	7.71, <i>d</i> , 1H, <i>J</i> _m = 1.8 Hz	127.5
4	-----	126.9
5	7.50, <i>dd</i> , 1H, <i>J</i> _o =9.0 Hz, <i>J</i> _m = 2.4 Hz	127.7
6	7.90, <i>d</i> , 1H, <i>J</i> _o = 7.8 Hz	128.0
7	-----	167.2
8	-----	131.6
9	7.57, <i>dd</i> , 2H, <i>J</i> _o = 6 Hz, <i>J</i> _m = 1.8 Hz	128.3
10	6.93, <i>d</i> , 2H, <i>J</i> _o = 9Hz	129.4
11	-----	154.6
12	6.92, <i>d</i> , 2H, <i>J</i> _o = 9 Hz	129.4
13	7.57, <i>dd</i> , 2H, <i>J</i> _o = 6 Hz, <i>J</i> _m = 1.8 Hz	128.3
14	4.39, <i>s</i> , 2H	67.6
15	-----	164.0
16	3.61, <i>m</i> , 1H	31.8
17	1.50, <i>d</i> , 2H, <i>J</i> =8.4 Hz 1.48, <i>t</i> , 2H, <i>J</i> = 9.6 Hz	46.5
18	1.96, <i>t</i> , 2H, <i>J</i> =11.4 Hz 2.72, <i>d</i> , 2H, <i>J</i> _o = 10.8 Hz	52.6
19	1.96, <i>t</i> , 2H, <i>J</i> =11.4 Hz 2.72, <i>d</i> , 2H, <i>J</i> _o = 10.8 Hz	52.1
20	1.50, <i>d</i> , 2H, <i>J</i> =8.4 Hz 1.48, <i>t</i> , 2H, <i>J</i> = 9.6 Hz	46.5
21	3.40, <i>s</i> , 2H	62.5
1'	-----	132.7
2'	7.29-7.24, <i>m</i> , 4H	121.8
3'	7.29-7.24, <i>m</i> , 4H	115.1
4'	7.20, <i>t</i> , 1H, <i>J</i> = 7.2 Hz	139.0
5'	7.29-7.24, <i>m</i> , 4H	115.4
6'	7.29-7.24, <i>m</i> , 4H	121.5
1'' (R-NH-R)	10.37, <i>s</i> , 1H	-----
2'' (R-NH-R)	-----	-----

Tabla 16. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **MMJ-5**



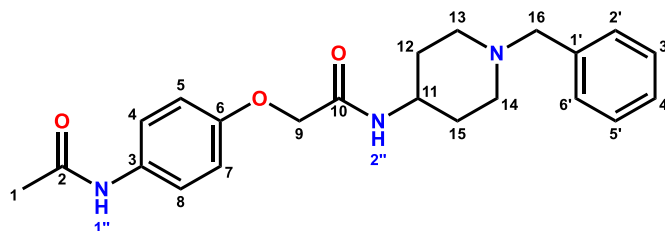
Posición	δ ^1H 600 MHz	δ ^{13}C 150 MHz
1	-----	129.9
2	7.83-7.72, <i>m</i> , 7H	128.4
3	-----	134.6
4	-----	135.7
5	8.35, <i>d</i> , 1H, $J_o=7.8$ Hz	127.2
6	7.83-7.72, <i>m</i> , 7H	131.1
7	-----	167.2
8	-----	131.7
9	7.97, <i>d</i> , 2H, $J_o=9$ Hz	129.1
10	7.39, <i>d</i> , 2H, $J_o=9$ Hz	128.5
11	-----	154.7
12	7.39, <i>d</i> , 2H, $J_o=9$ Hz	128.5
13	7.97, <i>d</i> , 2H, $J_o=9$ Hz	129.1
14	4.90, <i>s</i> , 2H	67.7
15	-----	163.2
16	4.13, <i>m</i> , 1H	31.8
17	2.18, <i>d</i> , 2H, $J=10.5$ Hz 2.00, <i>m</i> , 2H	52.4
18	3.25, <i>d</i> , 2H, $J=10.5$ Hz 3.00, <i>m</i> , 2H	46.4
19	3.25, <i>d</i> , 2H, $J=10.5$ Hz 3.00, <i>m</i> , 2H	46.4
20	2.18, <i>d</i> , 2H, $J=10.5$ Hz 2.00, <i>m</i> , 2H	52.4
21	3.941, <i>s</i> , 2H	62.5
1'	-----	132.8
2'	7.83-7.72, <i>m</i> , 7H	122.4
3'	7.83-7.72, <i>m</i> , 7H	115.2
4'	7.83-7.72, <i>m</i> , 7H	139.1
5'	7.83-7.72, <i>m</i> , 7H	115.2
6'	7.83-7.72, <i>m</i> , 7H	122.4
1'' (R-NH-R)	7.83-7.72, <i>m</i> , 7H	-----
2'' (R-NH-R)	-----	-----

Tabla 17. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **MMJ-6**



Posición	δ ^1H 600 MHz	δ ^{13}C 150 MHz
1	-----	139.1
2	8.40, <i>d</i> , 2H, $J_o=8.4$ Hz	129.1
3	8.30, <i>d</i> , 2H, $J_o=8.4$ Hz	125.8, <i>d</i> , $J_{C-F}=3.6$ Hz
4	-----	131.7, <i>q</i> , $J_{C-F}=31.6$ Hz
5	8.30, <i>d</i> , 2H, $J_o=8.4$ Hz	125.8, <i>d</i> , $J_{C-F}=3.6$ Hz
6	8.40, <i>d</i> , 2H, $J_o=8.4$ Hz	129.1
7	-----	167.2
8	-----	122.4
9	8.16, <i>d</i> , 2H, $J_o=9$ Hz	128.9
10	7.46, <i>d</i> , 2H, $J_o=9$ Hz	115.2
11	-----	154.8
12	7.46, <i>d</i> , 2H, $J_o=9$ Hz	115.2
13	8.16, <i>d</i> , 2H, $J_o=9$ Hz	128.9
14	4.95, <i>s</i> , 2H	67.8
15	-----	164.4
16	4.14, <i>m</i> , 1H	31.8
17	2.2, <i>d</i> , 2H, $J=12$ Hz 2.02, <i>qd</i> , 2H, $J=2.4$ Hz	46.4
18	3.249, 2H, <i>d</i> , $J=12$ Hz 2.51, <i>t</i> , 2H, $J=10.2$ Hz	52.4
19	2.2, <i>d</i> , 2H, $J=12$ Hz 2.02, <i>qd</i> , 2H, $J=2.4$ Hz	52.4
20	2.2, <i>d</i> , 2H, $J=12$ Hz 2.02, <i>qd</i> , 2H, $J=2.4$ Hz	46.4
21	3.94, <i>s</i> , 2H	62.5
22	-----	124.4, <i>d</i> , $J_{C-F}=270.15$ Hz
1'	-----	132.9
2'	7.80, <i>m</i> , 4H	128.5
3'	7.80, <i>m</i> , 4H	127.2
4'	7.73, <i>d</i> , 1H, $J=9$ Hz	139.2
5'	7.80, <i>m</i> , 4H	127.2
6'	7.80, <i>m</i> , 4H	128.5
1'' (R-NH-R)	10.81, <i>s</i> , 1H	-----
2'' (R-NH-R)	-----	-----

Tabla 18. Desplazamientos químicos de RMN de ^1H y ^{13}C del compuesto **MMJ-7**



Posición	δ ^1H 200 MHz	δ ^{13}C 50 MHz
1	2.0, s, 3H	52.4
2	-----	168.2
3	-----	133.5
4	7.48, d, 2H, $J_o= 9.0$ Hz	128.5
5	6.88, d, 2H, $J_o= 9.0$ Hz	129.1
6	-----	153.9
7	6.88, d, 2H, $J_o= 9.0$ Hz	129.1
8	7.48, d, 2H, $J_o= 9.0$ Hz	128.5
9	4.40, s, 2H	67.7
10	-----	167.3
11	3.62, m, 1H	31.8
12	1.68, d, 2H, $J= 9.6$ Hz 1.52, t, 2H, $J= 11.2$ Hz	46.4
13	2.76, d, 2H, $J= 11.4$ Hz 2.50, t, 2H, $J= 11.8$ Hz	24.2
14	2.76, d, 2H, $J= 11.4$ Hz 2.50, t, 2H, $J= 11.8$ Hz	24.2
15	1.68, d, 2H, $J= 9.6$ Hz 1.52, t, 2H, $J= 11.2$ Hz	46.4
16	3.40, s, 2H	62.5
1'	-----	139.0
2'	7.35-7.72, m, 5H	120.8
3'	7.35-7.72, m, 5H	115.2
4'	7.35-7.72, m, 5H	127.2
5'	7.35-7.72, m, 5H	115.2
6'	7.35-7.72, m, 5H	120.8
1'' (R-NH-R)	7.35-7.72, m, 5H	-----
2'' (R-NH-R)	-----	-----

8.2.2 Cristalografía de rayos X

Como se mencionó anteriormente el compuesto **MMJ-18** presentó una estructura cristalina con características óptimas para su difracción. En la **Figura 47** se muestra la forma del cristal, así como la celda unitaria del compuesto.

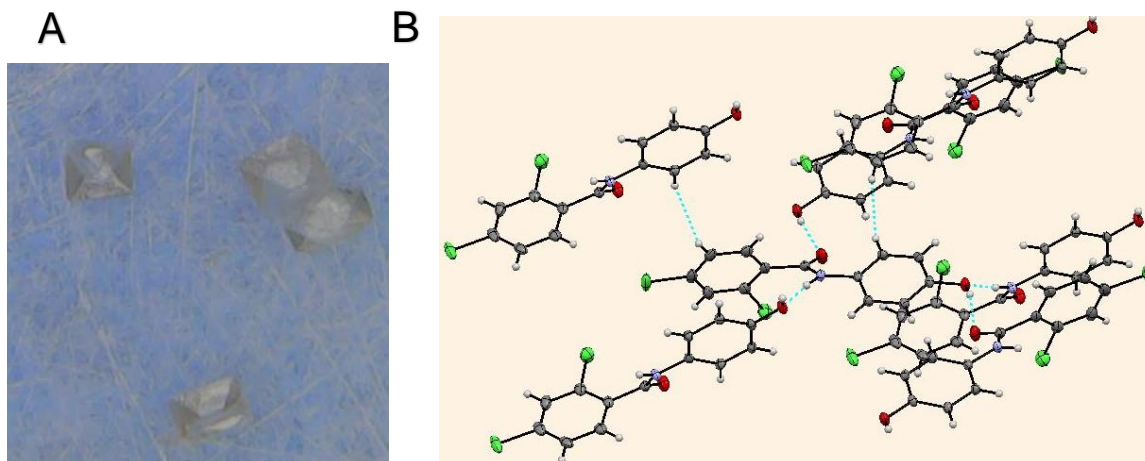


Figura 47. Estructura cristalina del precursor **MMJ-18** (A) y celda unitaria (B)

8.2.3 Espectrometría de masas

En la **Figura 48** se presenta el espectro de masas por impacto electrónico de AdipoRon, en donde no se puede observar un pico que corresponda con el ión molecular (M^+) a una relación masa-carga (M/Z) de 428, sin embargo si se pueden observar dos fragmentos que permitieron, junto con la técnica de RMN 1H y ^{13}C identificar la molécula.

De estos dos picos destaca aquel con una M/Z de 77 unidades (pico base) que corresponde al ion fenilo, con una abundancia relativa del 100%. El segundo pico que destaca es aquel con M/Z de 105 unidades y una abundancia relativa del 55% perteneciente al ion benzoilo. Cabe mencionar que ambos fragmentos provienen de la benzofenona contenida en la molécula de AdipoRon.

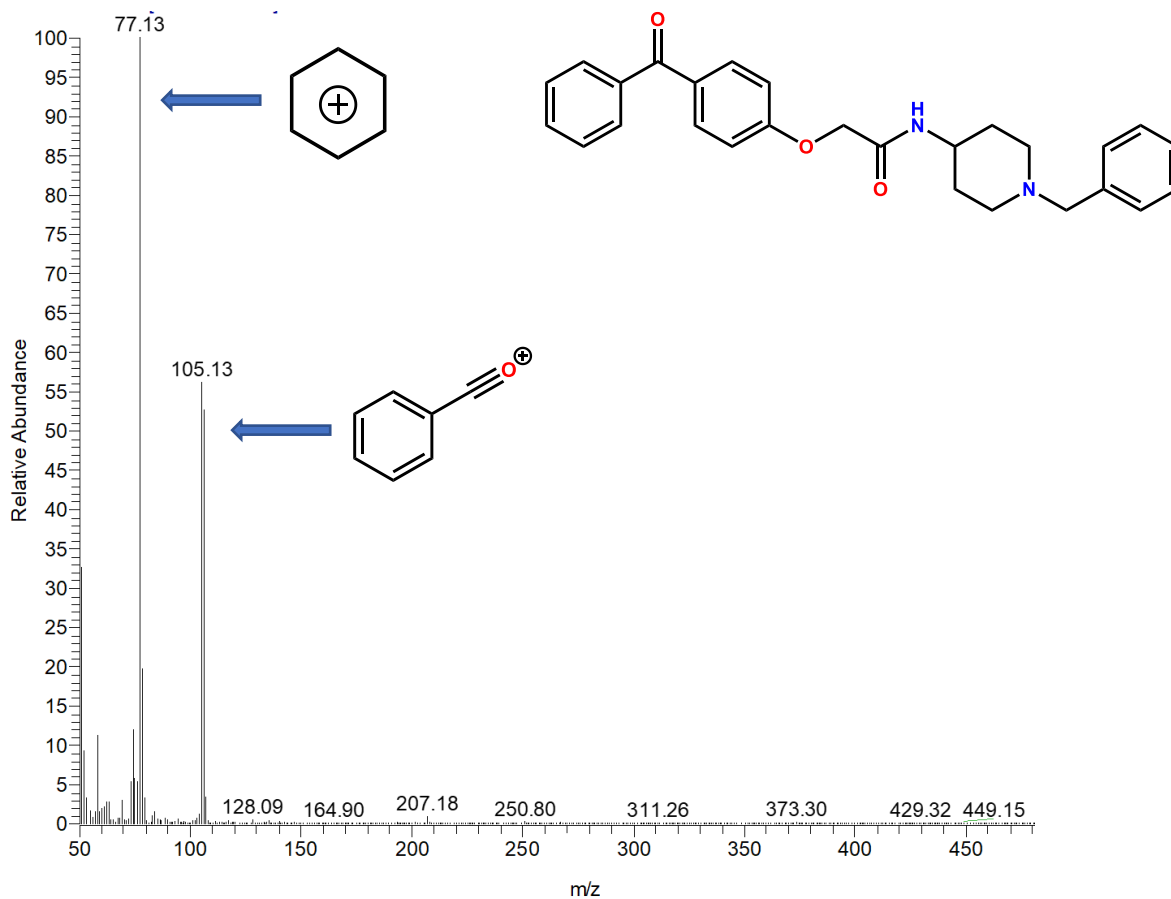


Figura 48. Espectro de masas IE de AdipoRon.

Por otro lado, en la **Figura 49** se presenta el espectro de masa IE del compuesto **MMJ-1** en el cual, de manera similar al espectro de AdipoRon no se aprecia un pico correspondiente al ion molecular, sin embargo, el pico base se observa a M/Z de 91 con una abundancia relativa del 95% correspondiente al ion tropilio, el cual a su vez sufre una fragmentación generando un catión de 5 miembros (ion ciclopentadienilo) con M/Z de 65 y una abundancia relativa menor al 15%, el ultimo fragmento apreciable es aquel con una relación M/Z de 173 y que corresponde a un fragmento que contiene a la N-bencilpiperidina.

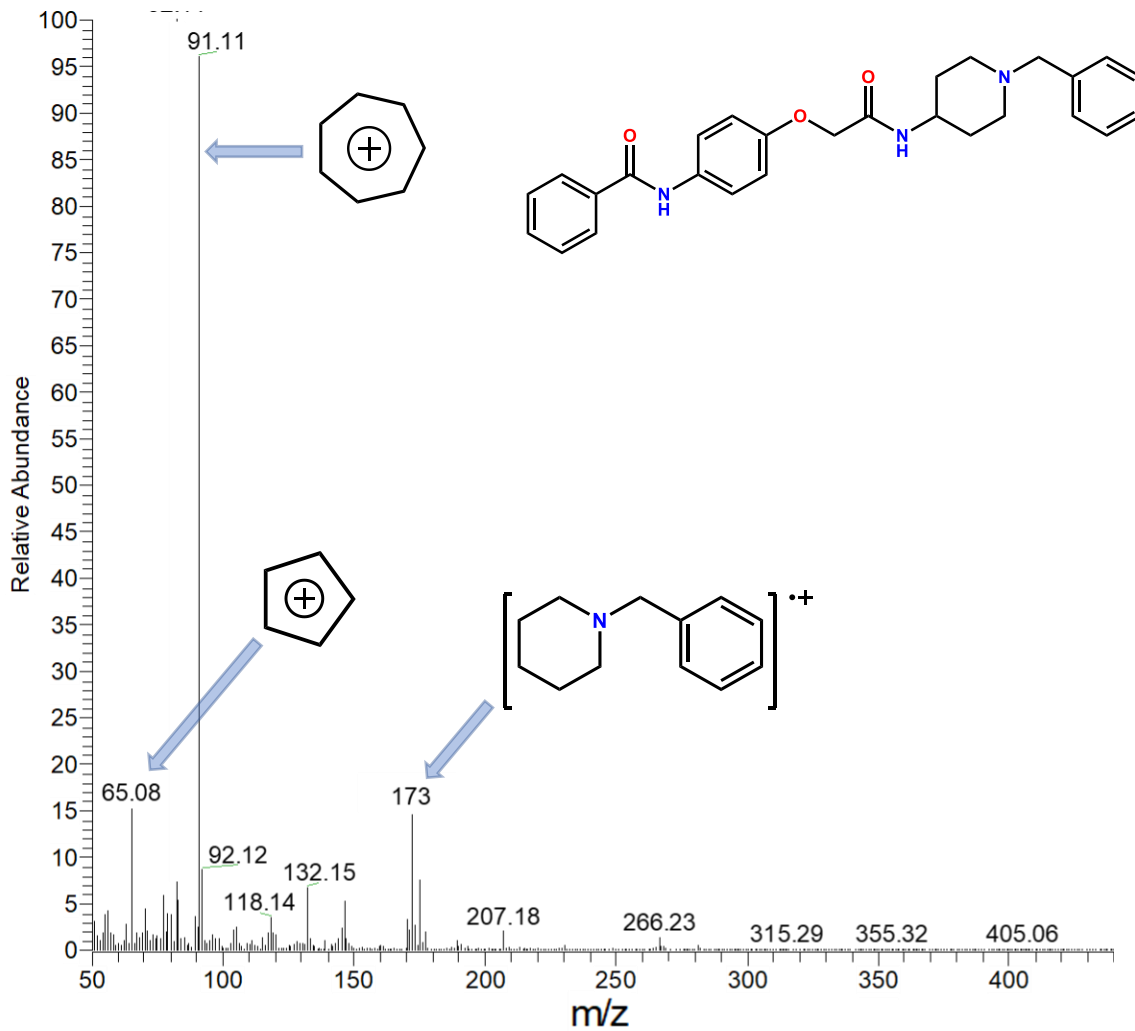


Figura 49. Espectro de masas IE del compuesto MMJ-1

8.3 Parte *in silico*

La finalidad de realizar estas diversas predicciones en cuanto al perfil ADMET y farmacocinético de los diferentes compuestos es la de llevar a cabo un análisis de consenso farmacológico para seleccionar al (los) candidato(s) con las mejores propiedades con el objetivo de priorizar su evaluación *in vivo/in vitro*.

8.3.1 Molinspiration

Las primeras propiedades en ser exploradas son las propiedades fisicoquímicas dentro de las cuales podemos encontrar el peso molecular, LogP, área polar superficial, así como el número de donadores y aceptores de puentes de H. Estos resultados se resumen en la **Tabla 19**.

Tabla 19. Propiedades fisicoquímicas de los compuestos **MMJ 1-7** y AdipoRon

Compuesto	Propiedades fisicoquímicas					
	PM	cLog P	Aceptores de puente de H	Donadores de puente de H	TPSA	# de Violaciones
	<500 g/mol	<5	<10	<5	<180 Å ²	<2
AdipoRon	428.53	4.7	5	1	58.64	0
MMJ-1	443.55	3.88	6	1	61.88	0
MMJ-2	461.54	4.04	6	1	61.88	0
MMJ-3	477.99	4.55	6	1	61.88	0
MMJ-4	512.43	4.32	6	1	61.88	1
MMJ-5	512.43	3.93	7	1	71.11	1
MMJ-6	381.48	12.4	6	2	70.67	0
MMJ-7	551.54	4.71	6	1	70.67	1

Con base en estos resultados se determinó que los compuestos poseen propiedades muy similares a las de la molécula de referencia (AdipoRon), observándose que los compuestos **MMJ 1-3** no presentan violaciones a los postulados de Lipinski a pesar de tener valores muy cercanos a los valores de referencia, por lo cual no se espera que presenten problemas relacionados con permeabilidad/absorción al ser administrados por la vía oral. De manera contraria, los compuestos **MMJ 4,5** y **6** presentan una violación a dichos postulados al poseer un peso molecular superior a lo estipulado, por lo cual se prevé que presenten alteraciones menores en la permeabilidad intestinal.

8.3.2 PASSonline

Mediante la herramienta PASSonline se calculó las probabilidades del espectro de actividad biológica de los compuestos. Este programa arroja resultados en forma de porcentaje de probabilidad (P.a) y porcentaje de inactividad (P.i), sin embargo, una gran limitante de este programa son los compuestos recientemente descritos cuyos descriptores moleculares aún no se encuentran registrados en la base de datos de esta herramienta. Los resultados de esta evaluación se resumen en la **Tabla 20**.

Tabla 20. Espectro de actividades biológicas de los compuestos **MMJ 1-7**

Compuesto	Antidiabético		Inductor del metabolismo de lípidos	
	<i>P.a</i>	<i>P.i</i>	<i>P.a</i>	<i>P.i</i>
AdipoRon	21%	5%	---	---
MMJ-1	---	---	---	---
MMJ-2	18%	10%	---	---
MMJ-3	18%	10%	---	---
MMJ-4	18%	11%	13%	9%
MMJ-5	22%	14%	---	---
MMJ-6	26%	10%	---	---
MMJ-7	---	---	---	---

A pesar de que AdipoRon es una molécula cuya actividad biológica como un agente antidiabético ha sido demostrada, se puede observar que para este se predijo una baja actividad antidiabética y de manera similar con los compuestos **MMJ 1-7**, esto se debe a que los descriptores moleculares de los compuestos aún no se han introducido de manera adecuada en el servidor de PASSonline y este no puede establecer una relación estructura-actividad de manera certera. Por otro lado, se puede observar que para los compuestos **MMJ 1-7** se obtienen diversos resultados, en los cuales las moléculas **MMJ 1-7** presentan bajas probabilidades de tener actividad antidiabética, Para ambos casos los resultados indican que los compuestos pueden presentar actividades biológicas benéficas para el tratamiento de la DM 2. Cabe mencionar que debido a que existen pocos agonistas de los receptores AdipoR₁ y AdipoR₂ el servidor no puede realizar de manera certera una relación estructura-actividad, pero esto no indica que los compuestos carezcan de actividad biológica.

8.3.3 admetSAR Predicción de las propiedades farmacocinéticas.

En el desarrollo de nuevas moléculas bioactivas es muy importante tener un panorama del perfil farmacocinético de las moléculas y es debido a esto que es necesario llevar a cabo la predicción de estas propiedades con la finalidad de encontrar aquellos compuestos con mejores propiedades ADMET. Los resultados de estas predicciones se presentan en las **Tablas 21 y 22**.

Tabla 21. Propiedades ADMET de los compuestos **MMJ 1-4** y AdipoRon.

Parámetro	AdipoRon	MMJ-1	MM-2	MMJ-3	MM-4
Absorción					
Absorción células de intestino humanas	98%	95%	97%	97%	96%
Sustrato de glicoproteína P	60%	72%	74%	72%	72%
Inhibición de glicoproteína P	84%	88%	91%	89%	93%
Metabolismo					
Sustrato CYP 2C9	83%	14%	11%	14%	15%
Inhibición CYP 2C9	11%	8%	23%	72%	41%
Sustrato CYP 3A4	57%	57%	58%	62%	65%
Inhibidor CYP 3A4	12%	18%	16%	20%	30%
Sustrato CYP 2D6	83%	17%	24%	22%	23%
Inhibidor CYP 2D6	47%	30%	23%	31%	35%
Toxicidad					
Toxicidad de AMES	No tóxico	No tóxico	No tóxico	No tóxico	No tóxico
Carcinogenicidad	No tóxico	Moderada	Moderada	No tóxico	No tóxico

Tabla 22. Propiedades ADMET de los compuestos **MMJ 5-7**

Parámetro	MMJ-5	MMJ-6	MMJ-7
Absorción			
Absorción células de intestino humanas	96%	99%	98%
Sustrato de glicoproteína P	72%	52%	78.9%
Inhibición de glicoproteína P	93%	84%	89.1%
Metabolismo			
Sustrato CYP 2C9	15%	100%	19%
Inhibición CYP 2C9	41%	78%	13%
Sustrato CYP 3A4	65%	65%	63%
Inhibidor CYP 3A4	34%	64%	16%
Sustrato CYP 2D6	13%	47%	16%
Inhibidor CYP 2D6	35%	80%	20%
Toxicidad			
Toxicidad de AMES	No tóxico	No tóxico	No tóxico
Carcinogenicidad	No tóxico	No tóxico	No tóxico

De acuerdo con los valores predictivos obtenidos se espera que todos los compuestos sean bien absorbidos en el intestino (de esta manera correlacionando con los resultados de la evaluación con la regla de Lipinski) además de observar altas probabilidades de ser sustratos e inhibidores de la glicoproteína P, indicando pocos problemas de absorción a nivel intestinal.

En cuanto al metabolismo, los compuestos presentan de bajas a medianas probabilidades de ser sustratos de las diversas isoformas del CYP 450, siendo el compuesto **MMJ-6** el que mayores probabilidades tiene de inhibir la isoforma 2C9 y 3A4, sin embargo, los demás valores de este compuesto son aceptables debido a que aun quedarían disponibles otras isoformas para su metabolismo. Es importante recalcar que altas probabilidades de inhibición de las diversas isoformas del CYP 450 pueden sugerir probabilidades de presentar interacciones fármaco-fármaco, generando posibles efectos adversos y tóxicos. Adicionalmente los otros valores de probabilidad de inhibición y de ser sustratos indican que los compuestos podrían presentar tiempos de vida media ($t_{1/2}$) aceptables.

































Así mismo se predicen bajas probabilidades de inhibición de cualquiera de estas isoformas (excepto para el compuesto **MMJ-6**), esperándose pocas interacciones fármaco-fármaco a consecuencia de este proceso de inhibición. En el apartado de toxicidad se predice que los compuestos no generarán efectos genotóxicos y carcinogénicos lo cual es ideal debido a que todos los agentes antidiabéticos son de administración crónica lo cual podría representar un riesgo permanente para el paciente.

8.3.4 OSIRIS predicción de la toxicidad

En el programa Osiris los resultados de los compuestos se arrojan utilizando un código de tres colores para indicar estas propiedades (las propiedades negativas son marcadas con color rojo, las alertas son dadas en color amarillo, mientras que las propiedades deseadas son dadas en color verde).

Para el estudio de las propiedades cuasifármaco el programa OSIRIS utiliza una lista de 5,300 fragmentos de moléculas, se comparándolos con las muestras a analizar y reportando las coincidencias. Los resultados de las moléculas **MMJ 1-7** se resumen en la **Tabla 23**.

Tabla 23. Resultados de la predicción de la toxicidad de los compuestos **MMJ 1-7**

Compuesto	Propiedad			
	Carcinógeno	Tumorigeno	Irritante	Efectos sistema reproductor
AdipoRon				
MMJ-1				
MMJ-2				
MMJ-3				
MMJ-4				
MMJ-5				
MMJ-6				
MMJ-7				

De acuerdo con los resultados anteriores se puede observar que los compuestos **MMJ-1**, **MMJ 4-5** y **MMJ-7** no presentan alertas de toxicidad (de manera similar a AdipoRon) en los diferentes apartados considerados por la herramienta OSIRIS por lo cual se considera que los compuestos no tendrán problemas de toxicidad al ser administrados en el modelo murino de diabetes.

Por otro lado, los compuestos **MMJ-2**, **3** y **7** presentan una alerta moderada en el apartado de carcinogenicidad, esto se puede deber a la monosustitución en posición 4 con un halógeno, alerta que desaparece al aumentar el número de sustituyentes en el anillo aromático por lo cual se tomarán en cuenta estas alertas estructurales al momento de realizar la priorización de los compuestos para ser evaluados con la finalidad de elegir al compuesto con menores alertas estructurales (menor riesgo de presentar efectos tóxicos/adversos)

8.3.5 ACD/Toxsuite: predicción de la DL₅₀

Se calculó la dosis letal media (DL₅₀) (en ratón o rata) con la herramienta ACD/Toxsuite con la finalidad de predecir la existencia de posibles efectos tóxicos agudos que puedan generar los compuestos y de esta manera observar si su administración por diferentes vías (haciendo énfasis en la administración por la vía oral) podría tener efectos negativos de importancia en la salud. Estos resultados se resumen en la **Tabla 24**.

Tabla 24. Dosis letales medias de los compuestos **MMJ 1-7** y AdipoRon

DL₅₀ (mg/kg) por especie y vía de administración.

Compuesto	Ratón				Rata		Categoría OECD
	IP	Oral	IV	SC	IP	Oral	
MMJ-1	430	1400	40	910	430	1800	4
MMJ-2	510	960	64	1600	270	1000	4
MMJ-3	460	1100	42	800	340	1500	4
MMJ-4	410	1400	39	600	310	1600	4
MMJ-5	460	1400	48	540	410	1600	4
MMJ-6	400	1100	78	710	390	1800	4
MMJ-7	330	1300	67	1100	330	1400	4
AdipoRon	130	930	40	270	190	830	4
<i>IP: Intraperitoneal. IV: intravenosa. SC: subcutáneo</i>							
Categoría 1 OECD	DL ₅₀ ≤ 5mg/kg Altamente tóxico						
Categoría 2 OECD	5 ≤ DL ₅₀ ≤ 50 mg/kg Muy Tóxico						
Categoría 3 OECD	50 ≤ DL ₅₀ ≤ 300 mg/kg Tóxico						
Categoría 4 OECD	300 ≤ DL ₅₀ ≤ 2000 mg/kg Toxicidad moderada						
Categoría 5 OECD	DL ₅₀ ≥ 2000 mg/kg No tóxico						

Como se puede observar, los compuestos **MMJ 1-7** presentan dosis letales medias (DL₅₀) de moderadas (I.P, SC y oral) a bajas (I.V) en todos los compuestos (tanto en rata como en ratón), haciendo especial énfasis en la vía de administración oral donde las DL₅₀ superan los 900 mg/kg y siendo en la mayoría de los casos superiores a la DL₅₀ del AdipoRon. Por lo cual, se clasifican a estos compuestos en la categoría 4 de la OECD (compuestos moderadamente tóxicos), pero se debe mencionar que la mayoría de los fármacos comercialmente disponibles se colocan en esta categoría, descartando la posibilidad de que estos compuestos presenten efectos tóxicos agudos a dosis terapéuticas ya que se necesitarían cerca de 65 g de cada uno de los compuestos para causar efectos tóxicos agudos en una persona sana de 70 kg.



8.3.5 Probabilidades de inhibición del CYP 450

Mediante las herramientas ACD/Toxsuite y AdmetSar se evaluaron las probabilidades de que los compuestos **MMJ 1-7** inhiban las diversas isoformas del CYP 450. Estos resultados se resumen en las **Tabla 25** y **26**.

Tabla 25. Probabilidades de inhibición del CYP 450 compuestos **MMJ 1-5** y AdipoRon

Isoforma	Programa	ACD/Toxsuite	admetSAR
		AdipoRon	
	3A4	29%	12%
	2D6	48%	47%
	2C9	10%	11%
	2C19	12%	56%
	1A2	0%	4%
MMJ-1			
	3A4	23%	18%
	2D6	42%	30%
	2C9	5%	15%
	2C19	4%	67%
	1A2	0%	8%
MMJ-2			
	3A4	28%	16%
	2D6	43%	27%
	2C9	5%	17%
	2C19	4%	63%
	1A2	0%	13%
MMJ-3			
	3A4	45%	20%
	2D6	51%	31%
	2C9	8%	23%
	2C19	6%	18%
	1A2	0%	23%
MMJ-4			
	3A4	48%	44%
	2D6	54%	35%
	2C9	14%	41%
	2C19	8%	17%
	1A2	0%	16%
MMJ-5			
	3A4	55%	34%
	2D6	57%	35%
	2C9	15%	41%
	2C19	8%	83%
	1A2	0%	26%

Tabla 26. Probabilidades de inhibición del CYP 450 compuestos **MMJ 6-7**

<i>Isoforma</i>	<i>Programa</i>	ACD/Toxsuite	admetSAR
MMJ-6			
3A4			64%
2D6			80%
2C9			78%
2C19			50%
1A2			68%
MMJ-7			
3A4		12%	63%
2D6		27%	17%
2C9		8%	11%
2C19		7%	50%
1A2		0%	5%
Clotrimazol (control positivo)			
3A4		85%	84%
2D6		7%	89%
2C9		41%	89%
2C19		80%	89%
1A2		12%	91%

Al comparar los resultados obtenidos de los compuestos **MMJ 1-7** se pueden observar probabilidades de bajas a medias de inhibir a las diversas isoformas del CYP 450, siendo en la mayoría de los casos la isoforma 2D6 la que tiene mayores probabilidades de ser inhibida. Sin embargo, se espera que la inhibición de las demás isoformas sea mínima y por ende estén disponibles para el metabolismo de los compuestos y reducir posibles efectos adversos o posibles interacciones fármaco-fármaco. Así mismo, se debe de hacer énfasis en que las probabilidades de inhibición presentadas por estos compuestos son mucho menores que al fármaco de referencia (Clotrimazol) el cual a pesar de ser un reconocido inhibidor de estas enzimas metabólicas es utilizado de manera común y en ocasiones de manera crónica para el tratamiento de infecciones causadas por hongos, por lo cual se espera que la administración de estos compuestos sea segura en cuestiones de toxicidad o presente escasas interacciones fármaco-fármaco.

8.3.6 Probabilidades de bloqueo de los canales hERG

Esta propiedad toxicológica fue evaluada mediante la herramienta ACD/Toxsuite y admetSAR, la cual arroja la probabilidad de bloqueo de los canales hERG los cuales son canales de potasio expresado en cardiomiocitos y cuyo bloqueo provoca arritmias (síndrome QT Largo), por lo cual es importante explorar esta propiedad toxicológica de los compuestos **MMJ 1-7**, además de AdipoRon, los cuales serán comparados con un fármaco de referencia (Clorfenamina). Estos resultados son resumidos en la **Tabla 27**.

Tabla 27. Probabilidades de bloqueo de los canales hERG

Compuesto	Probabilidad de Bloqueo	Tipo de Bloqueador
AdipoRon	78%	Débil
MMJ-1	81%	Débil
MMJ-2	71%	Débil
MMJ-3	92%	Débil
MMJ-4	97%	Débil
MMJ-5	97%	Débil
MMJ-6	96%	Débil
MMJ-7	51%	Débil
Clorfenamina	96%	Débil

Los resultados de ambos programas indican que los compuestos tienen altas probabilidades de ser bloqueadores de estos canales de potasio debido a que las moléculas poseen aminas básicas, ausencia de grupos ionizables (que generen una carga negativa en la molécula), la ausencia de donadores de puentes de hidrógeno y alta lipofiliidad, por lo cual los programas detectan estos fragmentos como una alerta. Sin embargo, se espera que los compuestos sean bloqueadores débiles de estos canales, sumado a esto, no existen evidencias experimentales del bloqueo de canales hERG por AdipoRon y/o los diversos análogos experimentales reportados, por lo cual es necesaria la corroboración de esta propiedad con datos experimentales (pruebas in vitro).

En adición a lo anterior, también debe de tomar en cuenta que este tipo de alertas de toxicidad las poseen otros fármacos comercialmente disponibles, tales como el ketoconazol y la clorfenamina, a los cuales se le atribuyen este tipo de efectos tóxicos y que sin embargo es usado en la terapéutica debido a su efectividad y a la carencia de demás opciones farmacológicas. Debido a lo anterior es que se debe considerar al compuesto con mejores propiedades cuasifármaco para ser evaluado con la finalidad de evitar estos efectos tóxicos y si estos son presentados, que sean de la menor intensidad posible.

8.3.7 Acoplamiento molecular

Para realizar el acoplamiento molecular se usaron los programas Autodock Vina y el programa MOE con la finalidad de comparar la capacidad predictiva de ambos programas de acoplamiento. Las estructuras cristalizadas de los receptores AdipoR₁ y AdipoR₂ se pueden consultar en el Protein Data Bank con los códigos: **3WXV** y **3WXW** respectivamente.

Dentro de las consideraciones para validar el acoplamiento molecular se tomaron los resultados previamente obtenidos en nuestro grupo de investigación. Estos resultados se resumen en la **Figura 50**.³⁷

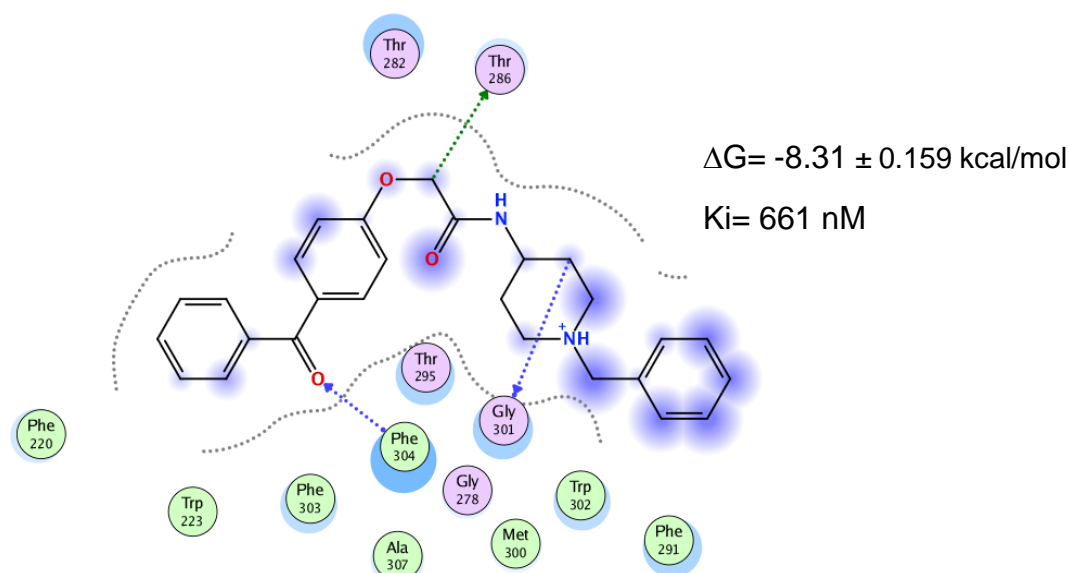


Figura 50. Resultados del acoplamiento de AdipoRon sobre el receptor AdipoR¹

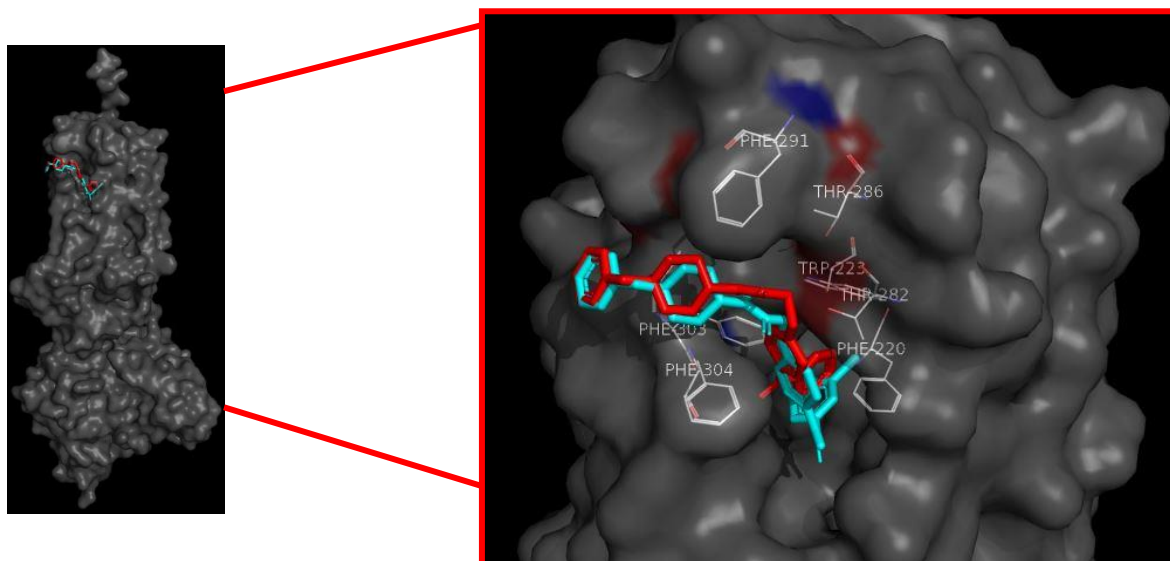
En la **Tabla 28** se resumen los resultados del acoplamiento de los compuestos **MMJ 1-7** sobre el receptor AdipoR₁ obtenidos mediante Autodock Vina y MOE, en los cuales se tomó en cuenta tanto la afinidad de unión (ΔG (kcal/mol)) y el RMSD entre las conformaciones de mayor energía de afinidad obtenidas con ambos programas.

En la **Tabla 28** se puede observar que en la mayoría de los casos, los resultados obtenidos con Autodock Vina presentan desviaciones estándar menores en comparación con los obtenidos con MOE, confirmando de esta manera que la versión “Vina” de este programa realiza el acoplamiento molecular de una manera más precisa y reproducible.³⁶

Tabla 28. Resultado del acoplamiento molecular de los compuestos **MMJ 1-7** con el receptor AdipoR₁

Compuesto	ΔG MOE	ΔG Autodock Vina	Ki [nM]	RMSD
Adiporon	-8.34 ± 0.069 kcal/mol	-8.31 ± 0.159 kcal/mol	770.13	0.156 \AA^2
MMJ-1	-8.38 ± 0.265 kcal/mol	-8.34 ± 0.084 kcal/mol	731.97	0.037 \AA^2
MMJ-2	-8.26 ± 0.241 kcal/mol	-8.10 ± 0.115 kcal/mol	1099.15	1.506 \AA^2
MMJ-3	-8.37 ± 0.216 kcal/mol	-8.43 ± 0.048 kcal/mol	628.47	0.823 \AA^2
MMJ-4	-8.31 ± 0.264 kcal/mol	-8.30 ± 0.105 kcal/mol	783.29	1.094 \AA^2
MMJ-5	-8.64 ± 0.069 kcal/mol	-8.60 ± 0.066 kcal/mol	471.22	0.523 \AA^2
MMJ-6	-8.4 ± 0.393 kcal/mol	-8.3 ± 0.249 kcal/mol	770.13	0.120 \AA^2
MMJ-7	-7.8 ± 0.426 kcal/mol	-7.5 ± 0.251 kcal/mol	3037.10	0.135 \AA^2

De los compuestos **MMJ 1-7** el que mayor presenta afinidad hacia el receptor AdipoR₁ es el compuesto **MMJ-5**, el cual posee una energía de unión incluso superior a la observada en AdipoRon (-8.64 kcal/mol vs -8.34 kcal/mol) y una constante de afinidad en el bajo orden nanomolar (471 nM vs 770.13), por lo cual se espera que este sea el compuesto que mayores probabilidades tenga de activar este receptor. En la **Figura 51** se esquematiza el modo de unión del compuesto **MMJ-5** (azul) y AdipoRon (rojo) en el receptor AdipoR₁. Se destaca la internalización de ambos compuestos en una de las cavidades extramembranales del receptor en donde ambos compuestos presentan una disposición espacial muy similar.



$$\Delta G \text{ AdipoRon (rojo)} = -8.34 \pm 0.069 \text{ kcal/mol}$$

$$\Delta G \text{ MMJ-5 (azul)} = -8.64 \pm 0.069 \text{ kcal/mol}$$

Figura 51. Resultados del acoplamiento de AdipoRon y **MMJ-5** sobre el receptor AdipoR₁

En los diagramas en 2D (**Figura 52**) de interacciones se puede observar que tanto AdipoRon y el compuesto **MMJ-5** mantienen interacciones muy similares, de las cuales destacan todas las interacciones lipofílicas y del tipo $\pi-\pi$ con residuos de aminoácidos aromáticos, de los cuales destacan Phe220, Trp223, Phe304, Trp302 y Phe 291. Adicional a estas interacciones lipofílicas se aprecian interacciones polares con los residuos Thr282, Thr286 y Thr295. En el caso de AdipoRon se observa un puente de hidrógeno entre el carbonilo de la benzofenona y el residuo Phe304, interacción que se pierde en el compuesto **MMJ-5** debido a la disposición espacial que adquieren ambos anillos aromáticos gracias al aumento de los grados de libertad al haber realizado un intercambio de grupo funcional de la cetona por la amida. Sin embargo, la pérdida de esta interacción no tiene impactos significativos en la afinidad de los compuestos hacia este receptor.

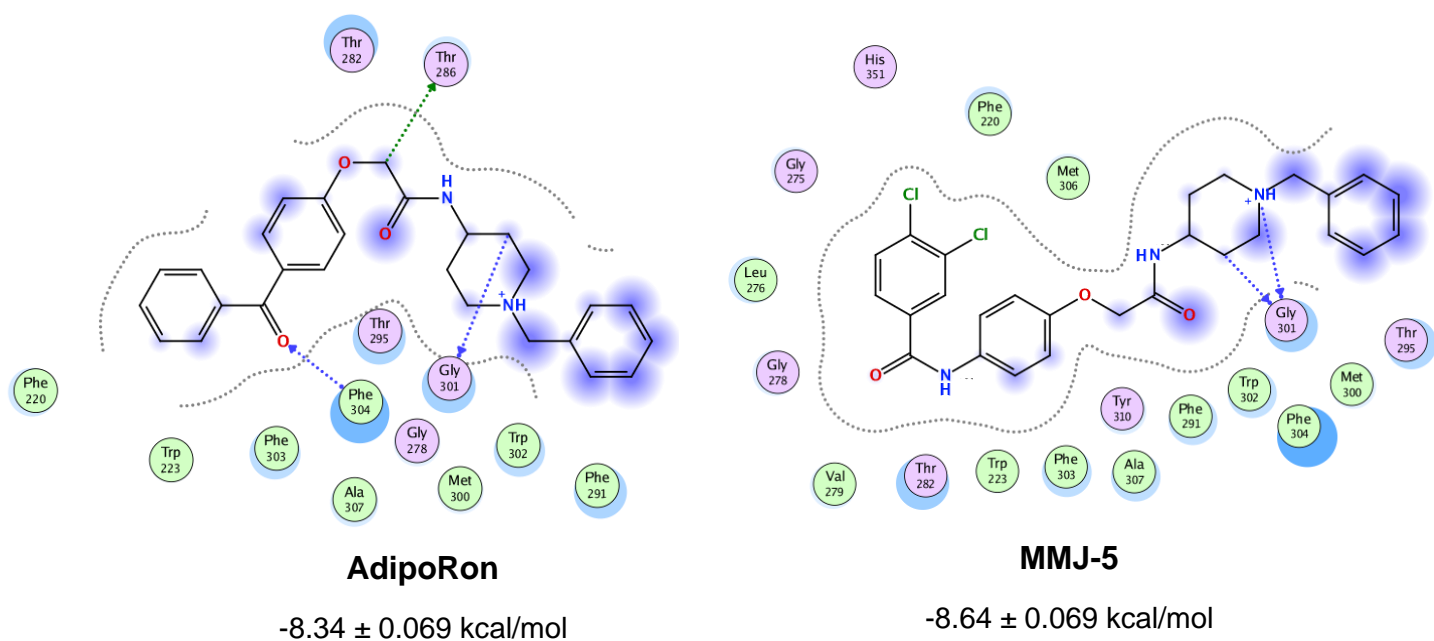


Figura 52. Diagramas en 2D de interacciones entre AdipoRon y **MMJ-5** sobre el receptor AdipoR₁

De igual manera se realizó el acoplamiento molecular de los compuestos sobre el receptor AdipoR_2 con ambos programas (Autodock Vina y MOE), los cuales se resumen en la **Tabla 29**.

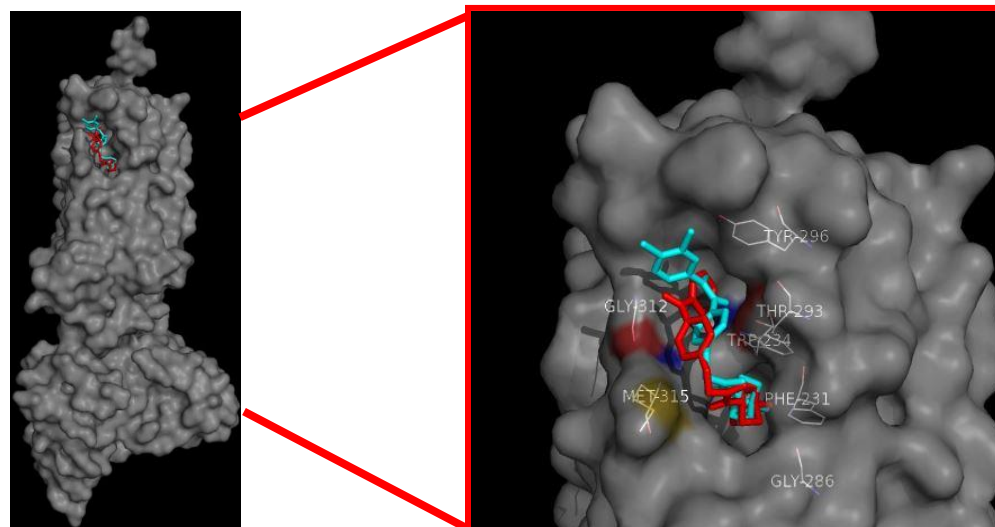
Tabla 29. Resultados del acoplamiento molecular de los compuestos **MMJ 1-7** con el receptor AdipoR_2

Compuesto	ΔG MOE	ΔG Autodock Vina	[Ki]	RMSD
Adiporon	-9.21 ± 0.314 kcal/mol	-9.24 ± 0.279 kcal/mol	159.36	1.57 \AA^2
MMJ-1	-9.05 ± 0.084 kcal/mol	-9.16 ± 0.069 kcal/mol	182.49	1.59 \AA^2
MMJ-2	-9.26 ± 0.051 kcal/mol	-9.26 ± 0.051 kcal/mol	154.06	1.23 \AA^2
MMJ-3	-9.26 ± 0.084 kcal/mol	-9.33 ± 0.067 kcal/mol	136.83	0.29 \AA^2
MMJ-4	-8.42 ± 0.358 kcal/mol	-8.39 ± 0.317 kcal/mol	672.53	2.33 \AA^2
MMJ-5	-9.6 ± 0.087 kcal/mol	-9.6 ± 0.046 kcal/mol	86.61	0.21 \AA^2
MMJ-6	-9.04 ± 1.09 kcal/mol	-9.05 ± 0.954 kcal/mol	223.63	0.350 \AA^2
MMJ-7	-9.2 ± 0.985 kcal/mol	-8.9 ± 0.458 kcal/mol	170.54	0.149 \AA^2

A comparación del receptor AdipoR_1 , los compuestos **MMJ 1-5** presentan una afinidad superior hacia AdipoR_2 , sin embargo, y parecido a lo ocurrido en el receptor AdipoR_1 , el compuesto **MMJ-5** fue el que mayor energía de unión presentó y siendo mayor que la observada por Adiporon (-9.21 kcal/mol vs -9.6 kcal/mol).

En todos los casos los compuestos presentaron constantes de afinidad (Ki) en el bajo orden nanomolar por lo cual se espera una alta afinidad hacia este receptor. De igual manera se observó el mismo comportamiento de ambas herramientas de acoplamiento molecular donde Autodock Vina generó resultados con un menor margen de error. Para este receptor los valores de RMSD son mayores, lo cual indica que ambos programas son incapaces de repetir de manera precisa el arreglo espacial de las moléculas, por lo cual en los diagramas en 3D se consideraran los arreglos espaciales obtenidos con Autodock Vina debido a la mayor precisión de estos resultados.

En la **Figura 53** se presenta el diagrama en 3D de las interacciones del compuesto **MMJ-5** (azul) y adiporón (rojo) con el receptor AdipoR_2 . En ambos casos las moléculas se internaron en la cavidad extracelular del receptor y adoptando una disposición espacial muy similar, quedando orientados de la misma manera los tres anillos aromáticos.



AdipoRon (rojo): -9.24 ± 0.279 kcal/mol

MMJ-5 (azul): -9.6 ± 0.046 kcal/mol

Figura 53. Resultados del acoplamiento de AdipoRon y **MMJ-5** sobre el receptor AdipoR₂.

En el diagrama 2D (**Figura 54**) se puede observar que tanto adipoRon como **MMJ-5** conservan ciertas interacciones con AdipoR₂, de las cuales destacan las interacciones lipofílicas entre ambos compuestos con los residuos Phe 231, Tyr296, Phe302, Tyr321, His362. Adicional a estos contactos lipofílicos se observa una interacción del tipo π -H (pi-protón) con Trp234 conservada en ambos compuestos, adicional de puentes de H entre el anillo de piperidina y el residuo Gly286. En el caso de AdipoRon se puede observar un puente de hidrógeno con el residuo de Gly312 no conservado por **MMJ-5** debido a los grados de libertad ganados por el enlace amida que su vez permite establecer un puente de hidrógeno con el residuo Thr293 y de esta manera ganando cierta afinidad hacia este receptor.

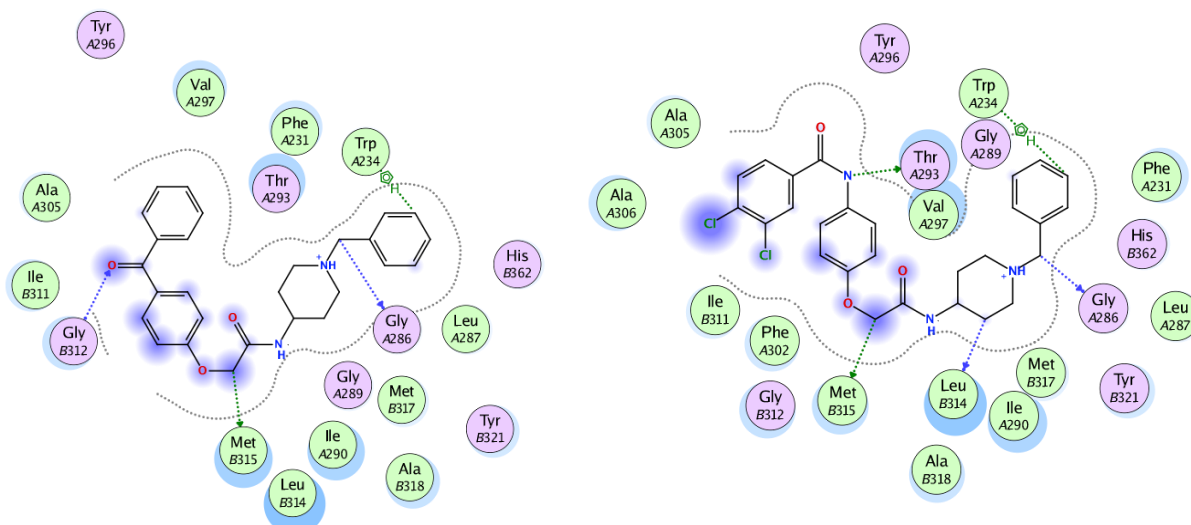


Figura 54. Diagramas en 2D de interacciones entre AdipoRon y **MMJ-5** sobre el receptor AdipoR₂

8.4 Análisis de Consenso Farmacológico para la Selección de un Líder Computacional Seguro

Este análisis consiste en analizar todas las propiedades predictivas; farmacocinéticas, farmacodinámicas y toxicológicas para encontrar el (los) compuesto (s) con mejores puntuaciones en esta colección de propiedades, debido a que de esta manera será más probable que sea un mejor agonista de los receptores AdipoR₁ y AdipoR₂ que un compuesto que posea solo una puntuación alta en una categoría. Este análisis se resume en la **Tabla 30** en la cual se usa con semáforo de colores para indicar las alertas estructurales de los compuestos, siendo el color **verde** para los resultados ideales, **amarillo** para resultados aceptables y **rojo** para valores que representan una alerta de seguridad.

Tabla 30. Análisis de Consenso Farmacológico para la Selección de un Líder Computacional Seguro

Propiedad	Adipo	MMJ-1	MMJ-2	MMJ-3	MMJ-4	MMJ-5	MMJ-6	MMJ-7
Propiedades Físicas								
PM	428.53	443.55	461.54	477.9	512.43	512.43	381.48	551.54
Log P	4.7	3.88	4.04	4.55	4.32	3.93	2.14	4.71
Sol. Agua mg/mL	2.3x10 ⁻³	4.9x10 ⁻³	3.5x10 ⁻³	4.7x10 ⁻⁴	3.6x10 ⁻⁴	3.6x10 ⁻⁴	8.9x10 ⁻²	2.7x10 ⁻⁴
Lipinski								
Síntesis								
Propiedades Farmacodinámicas								
PASS	21%	N/A	18%	18%	18%	22%	N/A	26%
Docking AdipoR ₁	-8.3	-8.3	-8.1	-8.4	-8.3	-8.6	-7.5	-8.3
Docking AdipoR ₂	-9.2	-9.1	-9.2	-9.3	-8.3	-9.6	-8.9	-9.0
Propiedades Farmacocinéticas								
Abs. Intes.								
BHE (+)								
Sus. Pgp								
Inhi. Pgp								
AMES								
hERG								
CYP								

Con base en estos resultados se jerarquizó los candidatos a evaluar *in vitro*. Debido a que el compuesto **MMJ-2** no viola ninguno de los postulados de Lipinski, presentó una solubilidad acuosa calculada moderada, además de presentar una afinidad aceptable hacia ambos receptores de adiponectina, una moderada probabilidad de ser agente antidiabético (calculada mediante Pass online) y no presentar alertas estructurales en cuanto a toxicidad y farmacocinética, es seleccionado para priorizar su evaluación. De manera similar los compuestos **MMJ-1**, **MMJ-3** y **MMJ-7** son seleccionados debido a que poseen las mejores propiedades al presentar pocas alertas estructurales de importancia.

Si bien el compuesto **MMJ-5** es el que mayor energía de afinidad presentó en el docking, este se descartó debido a la dificultad de síntesis (es el compuesto con el segundo tiempo de reacción más largo además de presentar el rendimiento global más bajo de la serie). Sumado a lo anterior el compuesto **MMJ-5** presentó una solubilidad acuosa calculada baja, siendo este criterio con bastante relevancia debido a que es necesario que los compuestos presenten buena solubilidad acuosa para poder ser administrados por la vía enteral al momento de ser evaluado biológicamente.

Cabe mencionar que este análisis de consenso permitió seleccionar los candidatos con mejores propiedades fisicoquímicas, farmacodinámicas y de ADMET con la finalidad de priorizar su evaluación, ahorrando tiempo y recursos en el proceso de investigación y desarrollo de moléculas bioactivas.

8.5 Evaluación *in vitro* sobre células de miotubo C2C12

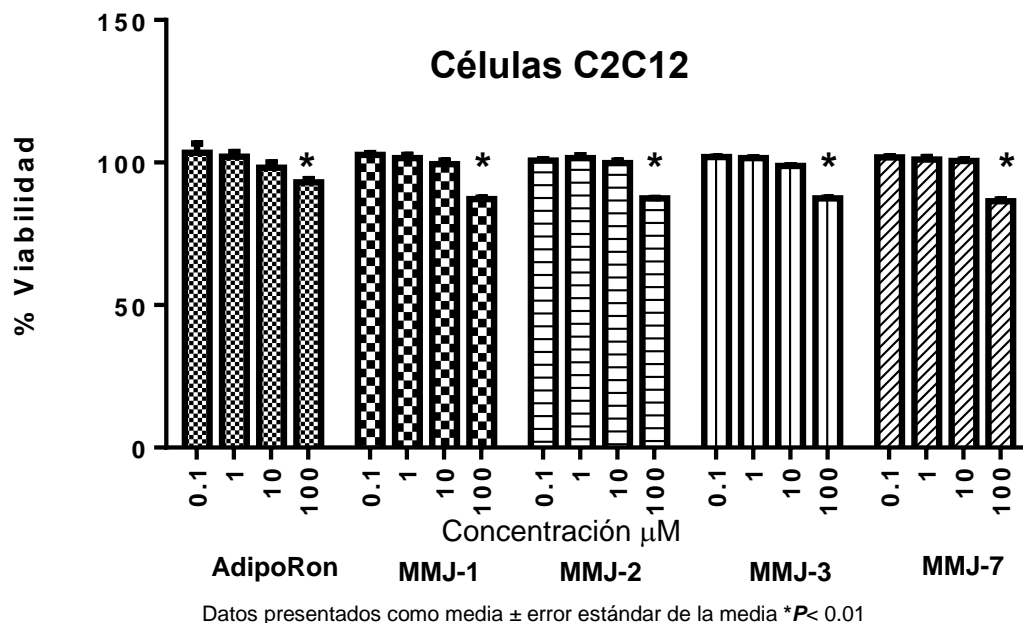
Todas las evaluaciones *in vitro* sobre la línea celular C2C12 fueron realizadas en colaboración con el Dr. Julio Cesar Almanza Pérez del Departamento de ciencias de la salud, UAM Iztapalapa.

8.5.1 Prueba de viabilidad celular.

Estas pruebas de viabilidad celular se basan en el uso de MTT, el cual es un compuesto que al ser reducido por las células metabólicamente activas genera como producto al formazán, el cual es colorido. Esta técnica es ampliamente utilizada para medir las células metabólicamente activas (basado en la actividad mitocondrial de las enzimas deshidrogenasas, tales como la succinato deshidrogenasa).³⁸

Este tipo de ensayos es importante que se lleven a cabo debido a que de esta manera se puede tener indicio de la citotoxicidad de los compuestos, además de encontrar una concentración adecuada para llevar a cabo el resto de los ensayos biológicos (pruebas *in vitro*) para determinar la potencia de cada una de las moléculas a evaluar.

En la **Gráfica 2** y **Tabla 31** se presentan los resultados del ensayo de viabilidad celular en miotubos C2C12 de los compuestos **MMJ 1-3** y **MMJ-7**, además de AdipoRon, en donde todos los compuestos fueron incubados a 0.1, 1, 10 y 100 μM .



Gráfica 2. Porcentaje de viabilidad celular de los compuestos **MMJ 1-3**, **MMJ-7** y AdipoRon

Tabla 31. Porcentaje de viabilidad celular de los compuestos **MMJ 1-3**, **MMJ-7** y AdipoRon.

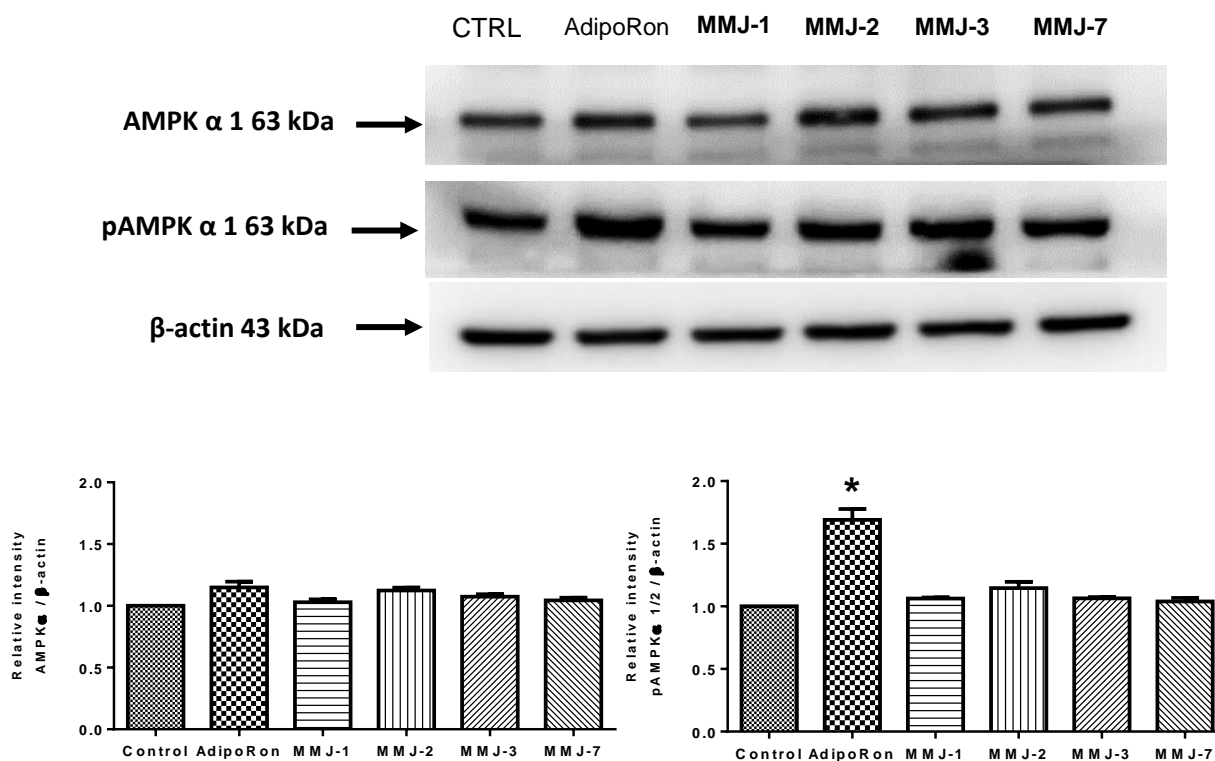
Concentración (μM)	AdipoRon	MMJ-1	MMJ-2	MMJ-3	MMJ-7
0.1	103.45	102.65	100.68	101.93	101.81
1	102.07	101.59	101.61	101.61	101.06
10	98.22	99.47	99.81	98.75	100.56
100	93.04	87.23	87.43	87.39	86.46

De acuerdo con estos resultados ninguno de los compuestos evaluados provocó una disminución de manera significativa de la viabilidad celular en el rango de concentraciones que van desde 0.1 a 10 μM , por lo cual se descarta la citotoxicidad intrínseca de los compuestos a estas concentraciones, sin embargo, en todos los casos se observó una disminución significativa de la viabilidad celular al ser incubados con una concentración de 100 μM y es debido a estos resultados que se seleccionó la concentración de 10 μM para realizar los demás ensayos *in vitro*.

8.5.2 Evaluación de la fosforilación de la enzima AMPK

Debido a que la fosforilación de la enzima AMPK es parte de la vía de señalización a raíz de la activación del receptor AdipoR₁ se evaluó la cantidad de AMPK fosforilada (pAMPK) en células C2C12. La medición de la cantidad de enzima activada se realizó mediante Western-blot (**Figura 53 y Gráfica3**), en donde se puede apreciar que ninguno de los compuestos logró aumentar de manera significativa la cantidad de enzima fosforilada.

Figura 55. Western-blot de la medición de AMPK total y pAMPK.



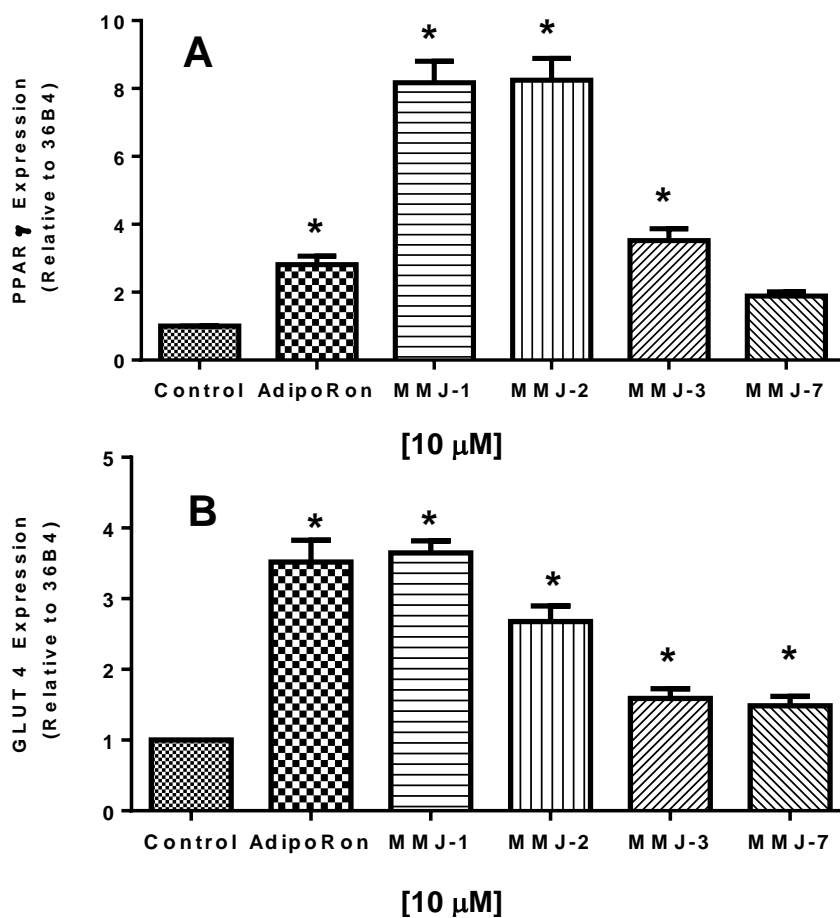
Datos presentados como media ± error estándar de la media * $P < 0.01$

Gráfica 3. Intensidades relativas de AMPK y pAMPK

De acuerdo con estos resultados se puede observar que solo AdipoRon logró aumentar la cantidad de la enzima pAMPK la cual está ampliamente relacionada con el mecanismo de acción de esta molécula (activación indirecta de la AMPK a raíz del agonismo del receptor AdipoR₁). Sin embargo, ninguno de los demás compuestos evaluados a esta concentración (10 μ M) logró aumentar la cantidad de pAMPK de manera significativa, pudiendo indicar que a esta concentración los compuestos **MMJ 1-3** y **MMJ-7** no son capaces de activar al receptor AdipoR₁ y desencadenar toda la vía de señalización que tiene como producto final la regulación del metabolismo de carbohidratos y lípidos.

8.5.3 Ensayo *in vitro* sobre la expresión de PPAR- γ y GLUT-4

El principal efecto del agonismo del AdipoR₂ es la expresión y activación de PPAR γ , receptor nuclear que a raíz de su activación se promueve la expresión de GLUT 4 (entre otras proteínas de interés biológico). Es debido a esto que los compuestos **MMJ 1-3** y **MMJ-7** fueron evaluados sobre miotubos C2C12 para observar si estos son capaces de promover la expresión de PPAR γ así como de sus productos de activación (GLUT 4 principalmente). Los resultados de esta evaluación se presentan en la **Gráfica 4**.



Datos presentados como media \pm error estándar de la media * $P < 0.01$

Gráfica 4. Efecto de AdipoRon, **MMJ 1-3** y **MMJ-7** sobre la expresión de PPAR γ (A) y GLUT4 (B) en células C2C12.

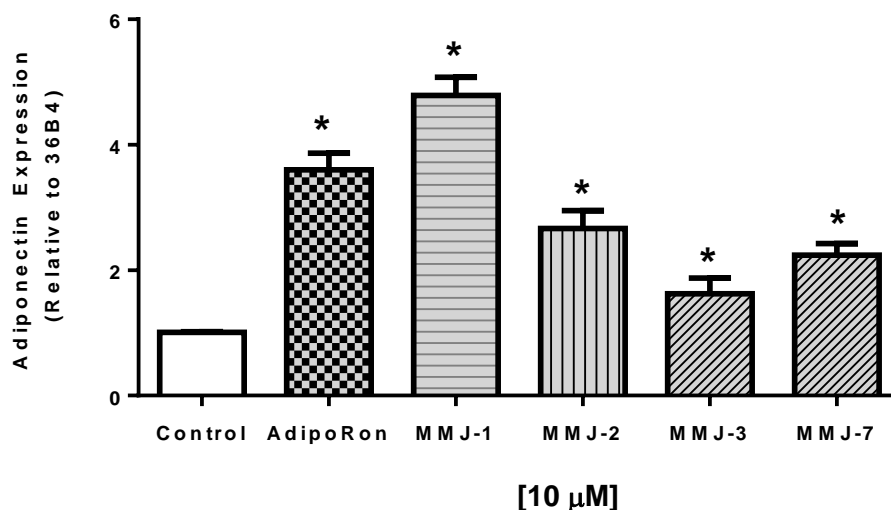
Con base en estos resultados se puede observar que AdipoRon logra aumentar hasta en tres veces más la expresión de PPAR γ a comparación del control y confirmando lo reportado en la literatura.⁵

Por otra parte, los compuestos **MMJ-1** y **MMJ-2** incrementaron de manera significativa (8 veces más comparadas con el control) la expresión de PPAR γ siendo incluso mejores que la molécula de referencia (AdipoRon), mientras que el compuesto **MMJ-3** promueve la expresión de este receptor hasta 4 veces más que el control, siendo similar su efecto que AdipoRon.

Adicional a estos resultados se puede observar que todos los compuestos (AdipoRon, **MMJ 1-3** y **MMJ-7**) aumentan de manera significativa la expresión del transportador GLUT4, siendo los compuestos **MMJ-1** y **MMJ-2** los que mayores índices de expresión presentaron (cuatro y tres veces más respectivamente en comparación con el control). Estos resultados son significativos debido a que la expresión y activación de PPAR γ es el resultado del agonismo del receptor AdipoR2, por lo cual se puede esperar que estos compuestos ejerzan actividad insulinosensibilizadora.

8.5.4 Evaluación de la expresión de Adiponectina

Continuando con la exploración de la actividad biológica de los compuestos se ensayó la capacidad de estos para incrementar la expresión relativa de Adiponectina, hormona endógena altamente insulinosensibilizadora y que al incrementar su expresión podría ejercer un efecto aditivo a la actividad biológica de los compuestos **MMJ 1-3** y **MMJ-7** en la regulación del metabolismo y en el tratamiento experimental de la DM 2. En la **Gráfica 5** se presentan los resultados de este ensayo *in vitro*.



Datos presentados como media \pm error estándar de la media * P < 0.01

Gráfica 5. Efecto de AdipoRon y los compuestos **MMJ 1-3** y **MMJ-7** sobre la expresión de adiponectina en células C2C12

Con base en estos resultados se puede observar que todos los compuestos lograron aumentar la cantidad de adiponectina que es expresada en las células, siendo nuevamente los compuestos **MMJ-1** y **MMJ-2** los más sobresalientes en este ensayo. Estos resultados son bastante significativos debido a que en la actualidad no existen reportes en la literatura que demuestren que AdipoRon o sus análogos logren aumentar la expresión de adiponectina mediante ensayos *in vitro*. Esta nueva actividad biológica es de importancia debido a que podría significar la presencia de un efecto sinérgico entre la actividad biológica de AdipoRon y los compuestos **MMJ-1**, **MMJ-2**, **MMJ-3** y **MMJ-7** con la adiponectina, teniendo así numerosos efectos positivos en el tratamiento de la DM 2 así como de sus complicaciones, disminuyendo de manera importante la resistencia a la insulina y a la vez mejorando el metabolismo de lípidos y carbohidratos.

8.6 Acoplamiento molecular refinado

Debido a los resultados obtenidos de los ensayos *in vitro* se realizó el acoplamiento molecular refinado de los compuestos **MMJ-1** y **MMJ-2** debido a que fueron las moléculas con mejores resultados. La finalidad de este análisis es proponer un posible modo de unión entre los compuestos sintetizados y el receptor de adiponectina AdipoR₂, debido a que los ensayos *in vitro* dan indicios de la posible expresión y activación de PPAR_γ como resultado del agonismo del receptor AdipoR₂.⁵

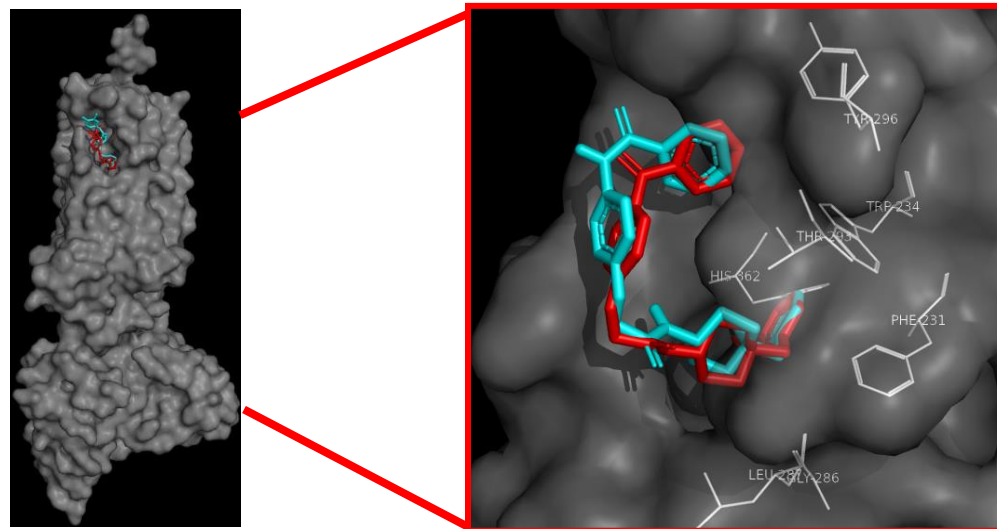
De igual manera ambos análisis de acoplamiento molecular se realizaron con los programas de acoplamiento Autodock Vina y MOE con la finalidad de comparar ambos resultados. La estructura cristalizada de adipoR₂ se puede consultar en el Protein Data Bank con el código **3WXW**. Los resultados del acoplamiento molecular refinado se resumen en la **Tabla 32**.

Tabla 32. Resultados del acoplamiento molecular refinado sobre AdipoR₂

Compuesto	ΔG MOE	ΔG Autodock Vina	[Ki]	RMSD
Adiporon	-9.23 ± 0.214 kcal/mol	-9.27 ± 0.179 kcal/mol	151.47	1.57 \AA^2
MMJ-1	-9.15 ± 0.054 kcal/mol	-9.18 ± 0.046 kcal/mol	176.41	1.59 \AA^2
MMJ-2	-9.20 ± 0.051 kcal/mol	-9.24 ± 0.081 kcal/mol	159.36	1.23 \AA^2

Los resultados de este acoplamiento molecular indican una alta afinidad de los compuestos hacia el receptor AdipoR₂, observándose que el compuesto **MMJ-2** presentó una energía de afinidad muy similar a la de AdipoRon, encontrando una correlación entre los resultados de los ensayos *in vitro* y del acoplamiento molecular.

En la **Figura 56** se muestra el diagrama de interacciones en 3D del compuesto **MMJ-1** y AdipoRon sobre el receptor AdipoR₂.

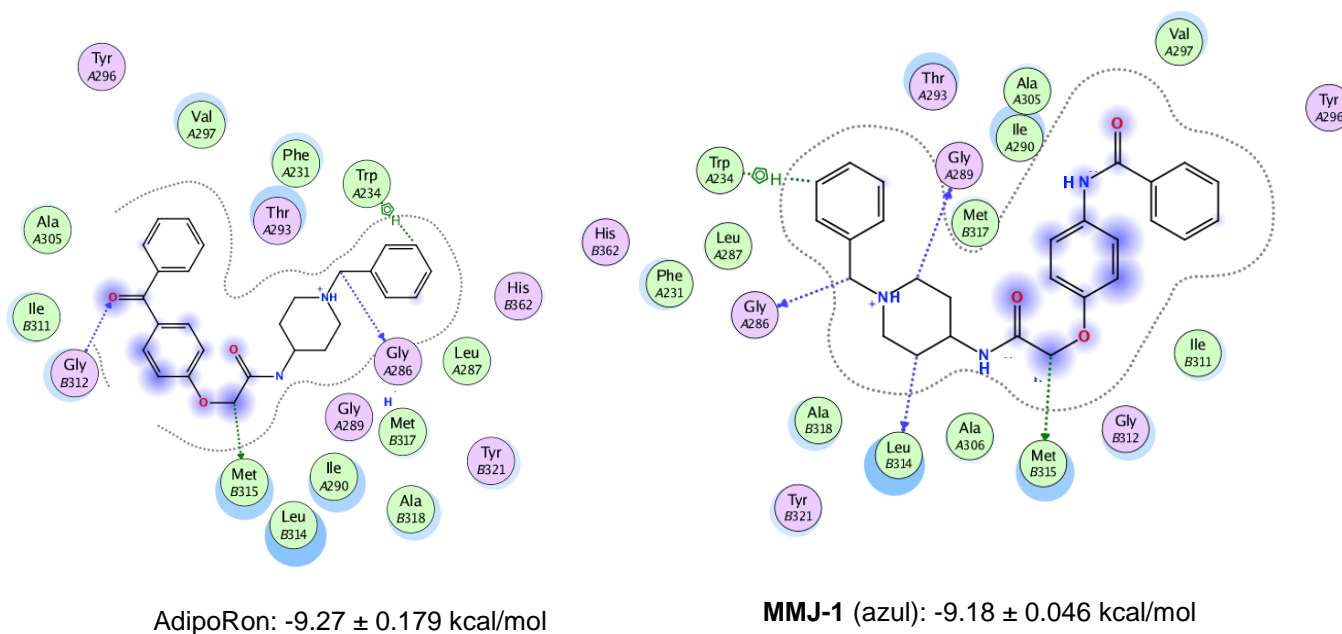


AdipoRon (rojo)= -9.27 ± 0.179 kcal/mol

MMJ-1 (azul)= -9.18 ± 0.046 kcal/mol

Figura 56. Diagrama de interacciones 3D de AdipoRon y MMJ-1 sobre el receptor AdipoR₂

El compuesto **MMJ-1** adoptó una conformación espacial muy similar a AdipoRon dentro de la cavidad del receptor AdipoR, además de presentar las mismas interacciones ligando-receptor que AdipoRon. En la **Figura 57** se presentan los diagramas de interacciones en 2D de ambos compuestos.



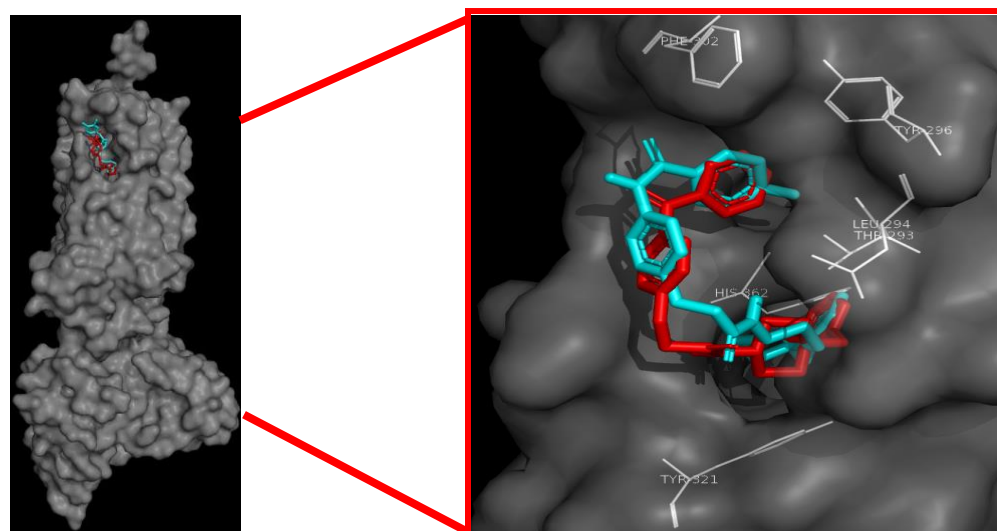
AdipoRon: -9.27 ± 0.179 kcal/mol

MMJ-1 (azul): -9.18 ± 0.046 kcal/mol

Figura 57. Diagramas en 2D de interacciones entre AdipoRon y MMJ-1 sobre el receptor AdipoR₂

En el diagrama 2D (**Figura 58**) se puede observar que tanto AdipoRon como **MMJ-1** conservan interacciones con AdipoR₂, de las cuales destacan los contactos lipofílicos entre ambos compuestos con los residuos Phe 231, Tyr296, Phe302, Tyr321, His362. Adicional a estos, se observa una interacción del tipo π -H (pi-protón) con Trp234 conservada en ambos compuestos, adicional de puentes de H entre el anillo de piperidina y el residuo Gly286. Estas interacciones se consideran importantes al presentarse en ambos compuestos y es debido a este comportamiento que se puede explicar el comportamiento de esta molécula en los ensayos *in vitro*.

En la **Figura 58** se presenta el diagrama de interacciones 3D del compuesto **MMJ-2** y AdipoRon sobre el AdipoR₂, en donde se puede observar que ambas moléculas adoptan una conformación espacial muy similar dentro de la cavidad del receptor, conservando las mismas interacciones de importancia.



AdipoRon (rojo)= -9.27 ± 0.179 kcal/mol

MMJ-2 (azul)= -9.24 ± 0.081 kcal/mol

Figura 58. Diagrama de interacciones 3D de AdipoRon y **MMJ-2** sobre el receptor AdipoR₂

De igual manera que el caso anterior, el compuesto **MMJ-2** conserva las mismas interacciones que AdipoRon sobre el receptor AdipoR₂ (Phe 231, Tyr296, Phe302, Tyr321, His362, adicional a la formación de puentes de H entre el anillo de piperidina y el residuo Gly286) que se presentan en la **Figura 59**.

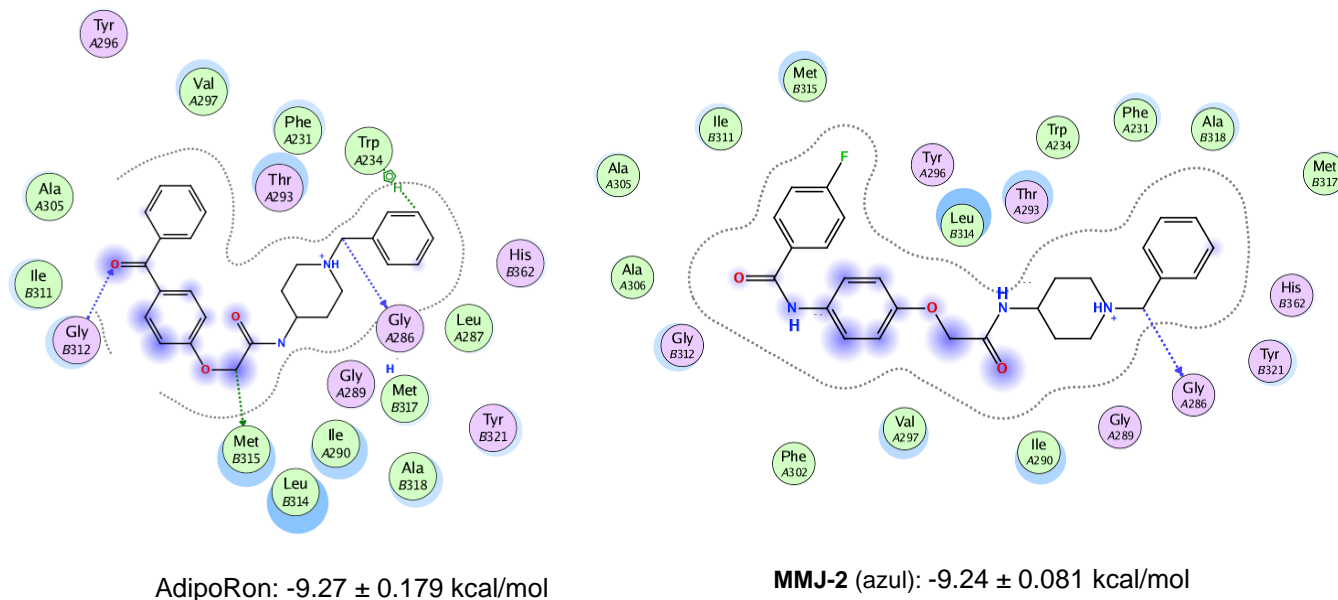


Figura 59. Diagramas en 2D de interacciones entre AdipoRon y **MMJ-2** sobre el receptor R_2

Con base en lo anterior se encontró una relación entre los análisis *in silico* (PASSonline y acoplamiento molecular) con los resultados *in vitro*, debido a que los cuatro compuestos seleccionados mediante el Análisis de Consenso Farmacológico dos de ellos presentaron actividades biológicas de importancia e incluso superiores a las presentadas por AdipoRon. Es debido a esta correlación *in silico-in vitro* que los compuestos **MMJ-1** y **MMJ-2** se consideran compuestos Hits computacionales/experimentales, priorizando de esta manera su evaluación en ensayos *in vivo*.

8.7 Evaluación *in vivo* en un modelo murino de diabetes no insulino dependiente

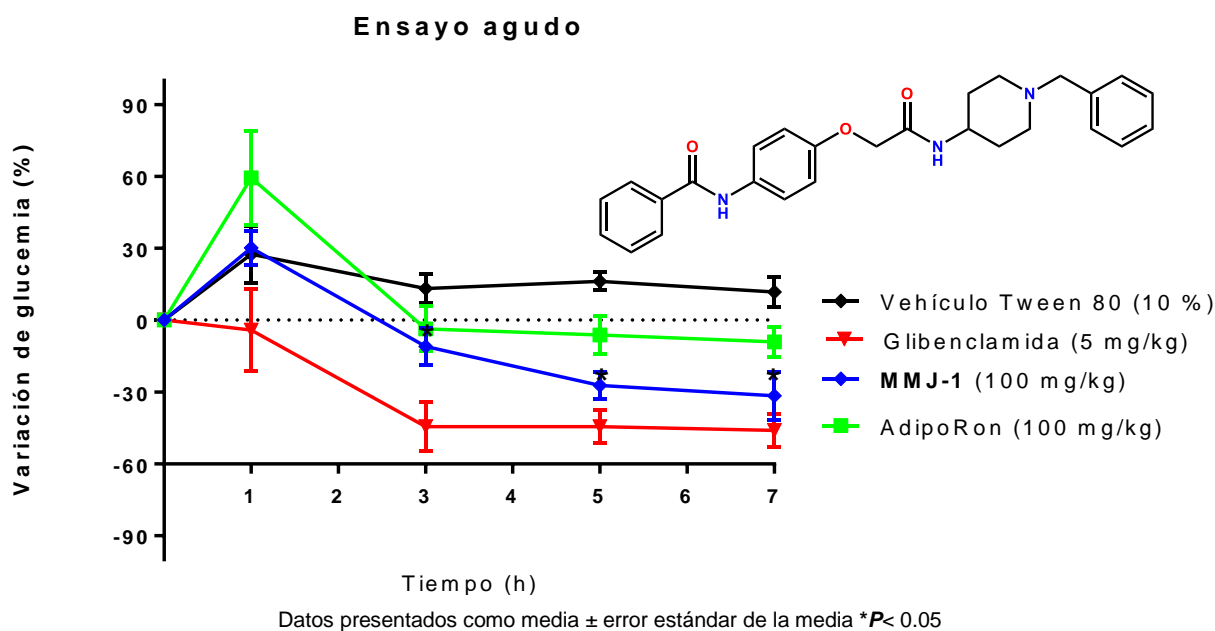
De acuerdo con los resultados obtenidos en la evaluación *in vitro* de los compuestos se decidió priorizar la evaluación *in vivo* de los compuestos con los mejores resultados (**MMJ-1** y **MMJ-2**). Esta evaluación biológica se llevó a cabo utilizando un modelo murino de diabetes no insulino dependiente y los resultados de la evaluación de estos compuestos se presentan en la **Gráfica 6** y **Gráfica 7**.

Cabe mencionar que en estos estudios se utilizó a la Glibenclamida (2 mg/kg) y AdipoRon (100 mg/kg) como controles positivos, mientras que los compuestos **MMJ-1** y **MMJ-2** se evaluaron a una dosis de 100 mg/kg.

8.7.1 Evaluación del efecto antidiabético del compuesto **MMJ-1** en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente

De todos los compuestos evaluados *in vitro* el que presentó mejores resultados fue la molécula **MMJ-1** y es debido a esto que se priorizó su evaluación *in vivo*.

En la **Gráfica 6** se presentan estos resultados, en donde se puede observar un aumento en la glucemia a la primera hora posterior de la administración (tanto del vehículo, AdipoRon y del compuesto **MMJ-1**) sin embargo, a partir de la tercera hora se observa una disminución en estos valores, destacando el compuesto **MMJ-1** el cual presentó una diferencia estadísticamente significativa a partir de la tercera hora y que continuó con esta tendencia hasta el final del experimento. Cabe mencionar que a partir de la quinta hora del experimento el compuesto **MMJ-1** presentó un comportamiento similar al de Glibenclamida y conservando esta tendencia hasta el final del experimento, reduciendo los valores de glicemia hasta de un 40% en comparación con el grupo control



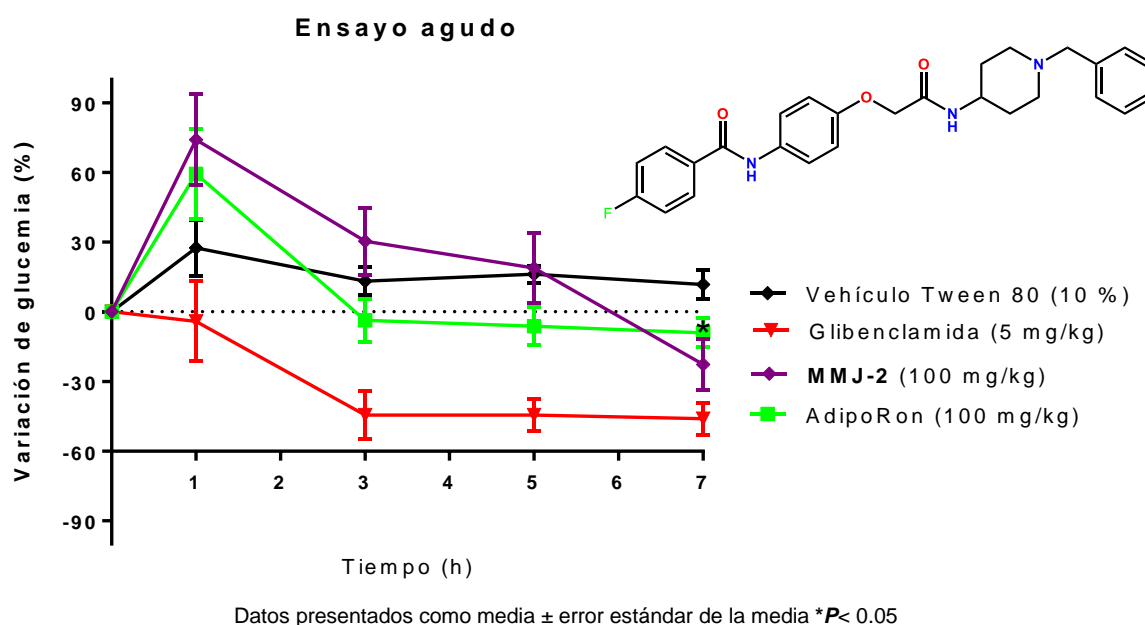
Gráfica 6. Efecto de la dosis única (100 mg/kg) del compuesto **MMJ-1** en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente

La disminución de la glucemia a partir de la quinta hora posterior a la administración tanto de AdipoRon como del compuesto **MMJ-1** se puede deber a que ambos compuestos presentaron actividad *in vitro* sobre PPAR γ , cuyo mecanismo de acción se lleva a cabo a nivel de transcripción de genes y se requiere de tiempo para poder observar un efecto farmacológico. Sin embargo, se puede apreciar que el caso del compuesto **MMJ-1** este logró disminuir los valores de glucemia por debajo de las concentraciones normales, lo cual puede sugerir un efecto sinérgico entre la activación de PPAR γ y la expresión de adiponectina de acuerdo con lo observado en los resultados de la parte *in vitro*.

8.7.2 Evaluación del efecto antidiabético del compuesto **MMJ-2** en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente.

El segundo compuesto en ser priorizado de acuerdo con los resultados de la evaluación *in vitro* fue **MMJ-2**.

En la **Grafica 7** se presentan los resultados de la evaluación *in vivo* de este compuesto, en la cual se puede observar que no se presentaron diferencias estadísticamente significativas al compararlas con el grupo control, si no hasta la séptima hora en la cual el compuesto **MMJ-2** tuvo un comportamiento similar a AdipoRon.



Grafica 7. Efecto de la dosis única (100 mg/kg) del compuesto **MMJ-2** en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente

Si bien el compuesto presentó buenos resultados *in vitro*, no existe una correlación con lo observado en los ensayos *in vivo*, esto se puede deber a problemas de absorción del compuesto a nivel intestinal debido a su lipofilidad y a su baja solubilidad acuosa, pudiendo tener una absorción retardada y una excreción directa desde el tracto gastro intestinal, de esta manera limitando la cantidad de compuesto absorbido y por ende su limitando su actividad biológica. Una posible solución al problema de solubilidad sería obtener el clorhidrato del compuesto correspondiente, de esta manera mejorando de manera significativa su solubilidad acuosa y por ende su absorción, por lo cual para futuros ensayos se considerará la evaluación de los clorhidratos correspondientes de los compuestos.

9. CONCLUSIONES

- Se sintetizaron y caracterizaron los compuestos **MMJ 1-7** además de AdipoRon.
- Se llevó a cabo la optimización en la síntesis de AdipoRon, logrando disminuir los costos y el tiempo de reacción de manera significativa, generado una ruta de síntesis costo-efectiva.
- Los análisis de acoplamiento molecular indican que todos los compuestos poseen afinidad hacia ambos receptores de adiponectina, mostrando mejores energías de afinidad hacia el receptor AdipoR₂ cuyo agonismo provoca la expresión y activación de PPAR γ y PPAR α .
- De acuerdo con el Análisis de Consenso Farmacológico para la Selección de un Líder Computacional Seguro los compuestos **MMJ 1-3** y **MMJ-7** presentaron el mejor perfil, catalogando a estos compuestos como *Leads* computacionales.
- Los compuestos **MMJ-1** y **MMJ-2** presentaron los mejores resultados en los ensayos *in vitro* al aumentar la expresión de PPAR γ (8 veces más en comparación con el grupo control) a una concentración de 10 μ M, considerando ambos compuestos como *Hits* experimentales.
- La evaluación *in vivo* del compuesto **MMJ-1** demostró que este posee una importante actividad antidiabética, catalogándose como el mejor compuesto de la serie.

10. Perspectivas

- Obtener el clorhidrato del compuesto **MMJ-2** y realizar su evaluación in vivo en un modelo murino de diabetes no insulino-dependiente.
- Determinar la CE_{50} de los compuestos **MMJ-1** y **MMJ-2** para el agonismo del receptor AdipoR₂.
- Determinar las propiedades ADMET de los compuestos **MMJ-1** y **MMJ-2**.

11. PARTE EXPERIMENTAL

11.1 Instrumentación

La síntesis de los compuestos finales **MMJ 1-7** y los precursores **MMJ 15-21** se llevó a cabo con reactivos de Sigma Aldrich®

Producto	Costo neto (MXN)
4-amino- <i>N</i> -bencilpiperidina	25 g \$2656
Cloruro de cloroacetilo	100 g \$720
4-hidroxibenzofenona	100 g \$4156
Cloruro de Benzoilo	100 mL \$1003
Cloruro de 4-fluorbenzoilo	5 g \$467
Cloruro de 4-clorobenzoilo	5 g \$820
Cloruro de 2,4-diclorobenzoilo	5 g \$666
Cloruro de 3,4-diclorobenzoilo	25 g \$1105
Cloruro de 4-(trifluorometil)benzoilo	1 g \$718

Se utilizaron matraces bola de 25 mL provistos con agitación magnética, parrillas de calentamiento de la marca Science MED MS-H-S y en el caso de la optimización de la síntesis de AdipoRon se usó el equipo de Anton Paar Monowave 50.

La evaporación de los disolventes se realizó a presión reducida empleando un rotaevaporador de la marca BUCHI R-II acoplado a bomba de vacío marca vacuubrand, modelo vacuum pump.

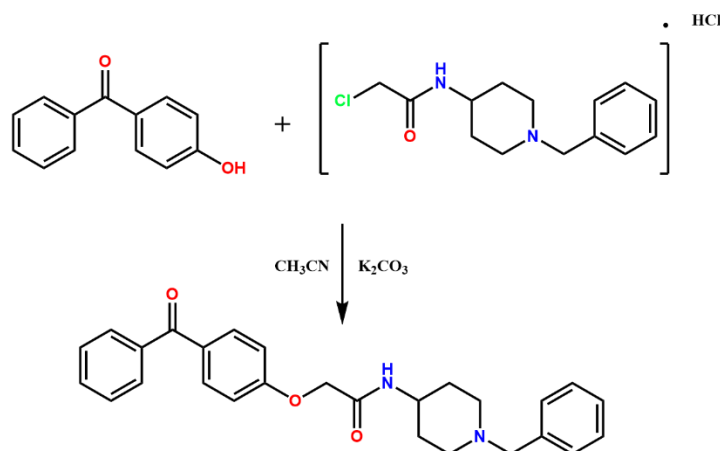
Los puntos de fusión (pf) de los compuestos se midieron en un aparato marca Stanford Research System EZ-Melt, modelo MPA 120.

Los espectros de RMN fueron determinados en un equipo marca Varian modelo Mercury, utilizando DMSO deuterado como disolvente y los desplazamientos químicos están reportados en partes por millón (ppm).

El avance de las reacciones químicas se monitoreo por cromatografía en capa fina (ccf) en placas de 2.5 cm x 4 cm recubiertas con sílice gel 60 (Merk-F254) y su visualización se llevo a cabo con lampara de luz ultravioleta a longitudes de onda de 254/366 nm. En todos los casos las placas fueron eludidas con una fase móvil compuesta por diclorometano/metanol 95:5.

11.2 Síntesis de los compuestos finales MMJ 1-7

11.2.1 Síntesis de 2-(4-benzoilfenoxi)-N-[1-(fenilmetil)-4-piperidinil]acetamida (AdipoRon)



En un matraz bola de 25 mL acoplado con agitación magnética y baño de aceite se disolvió 4-hidroxibenzofenona (0.550 g, 2.8 mmol, 1 eq) usando acetonitrilo seco como disolvente, agregando posteriormente 3.2 equivalentes (1.2 g) de carbonato de potasio (K₂CO₃) y agitando la mezcla de reacción durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se agregó el precursor **MMJ-23** (1.26 g, 4.2 mmol, 1.5 eq), elevando la temperatura a reflujo (83°C) durante 28 h.

La reacción se detuvo al rotaevaporar el disolvente y agregando 2 mL de agua fría, obteniendo un sólido blanco el cual fue recuperado mediante filtración. El compuesto se recrystalizó usando metanol, obteniendo un sólido amorfo de color blanco con un punto de fusión de 111.1-112.5°C el cual corresponde con el reportado en la literatura.²³ Rendimiento de reacción: 76 %. CCF RF (CH₂Cl₂/MeOH 95:5): 0.5

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ: 7.844 (*d*, 2H, *J*_o=8.4 Hz, H-10, H-12), 7.74 (*d*, 2H, *J*_o= 7.82Hz, H-9, H-13) 7.482 (*m*, 2H, H-3, H-5), 7.30 (*m*, 5H, H 2'-6'), 6.97 (*d*, 2H, *J*_o = 8.5 Hz, H-2, H-6), 6.43 (*d*, 1H, *J* = 8.4 Hz, H-4), 4.53 (*s*, 2H, H-14), 3.91 (*m*, 1H, H-16), 3.49 (*s*, 2H, H-20), 2.809 (*d*, 2H, *J* = 12 Hz, H-17, H-18), 2.138 (*t*, 2H *J* = 11.4 Hz, H-17, H-18), 1.926 (*d*, 2H, *J* = 11.4 Hz, *J* = 3.9 Hz, H-16, H-19), 1.526 (*qd*, 2H, *J* = 3.4 Hz *J* = 11.4 Hz, H-16, H-19).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 195.39 (C-7), 166.76 (C-15), 161.4 (C-11), 138.34 (C-1), 129.9 (C-6), 132.80 (C-9, C-13), 132.30 (C-4), 131.75(C-8), 129.90 (C-2), 128.4 (C-5), 127.22 (C-6'), 114.43 (C-12), 67.50 (C-14), 63.1 (C-63), 52.21 (C-17, C-20), 46.44 (C-18, C-19), 32.19 (C-16)

MS/IE: m/z (%int.rel): 77 (M-323) 100%, 105 (M-351) 55%

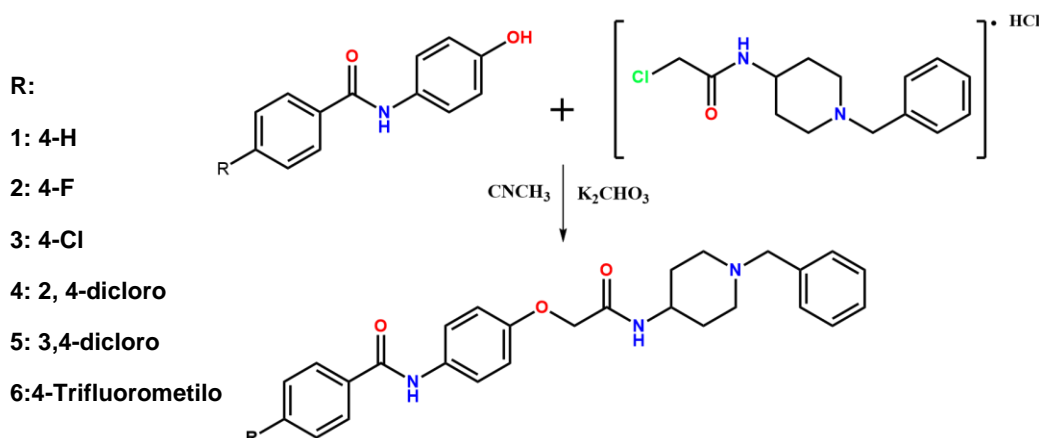
11.2.2 Optimización de la ruta de síntesis de AdpoRon.

Metodología convencional: En un matraz bola de 25 mL acoplado con agitación magnética y baño de aceite se disolvió 4-hidroxibenzofenona (0.550 g, 2.8 mmol, 1 eq) usando acetonitrilo seco como disolvente, agregando posteriormente 3.2 equivalentes (1.2 g) de carbonato de potasio (K_2CO_3) y agitando la mezcla de reacción durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se agregó el precursor **MMJ-23a** (base libre) (1.12 g, 4.2 mmol, 1.5 eq), elevando la temperatura a reflujo (83°C) durante 3.3 h.

La reacción se detuvo al rotaevaporar el disolvente y agregando 2 mL de agua fría, obteniendo un sólido blanco el cual fue recuperado mediante filtración. El compuesto se recristalizó usando metanol, obteniendo un sólido amorfo de color blanco con un punto de fusión de 110.3-110.8 °C. Rendimiento de reacción: 75 %. CCF RF ($CH_2Cl_2/MeOH$ 95:5): 0.5

Metodología Monowave 50: En un tubo de reacción se disolvió la 4-hidroxifenona (0.155g, 0.782 mmol, 1 eq) utilizando acetonitrilo como disolvente y posteriormente se agregó 2.1 eq de DBU (0.309 g, 0.304 mL, 2 mmol) y esta solución se dejó en agitación bajo atmosfera de nitrógeno durante 30 min. Pasado este tiempo se agregó el precursor MMJ-23a, se selló el tubo de reacción y se introdujo en el equipo. La reacción se llevó a cabo a 170°C, 10 bares de presión en ciclos de 5 minutos. Después de cada ciclo de reacción se llevó a cabo el monitoreo de la reacción usando ccf ($CH_2Cl_2/MeOH$ 95:5). Una vez observada la completa conversión de los reactivos la reacción fue transferida a un matraz bola de 10 mL, se rotaevaporó el disolvente y se agregó 1 mL de agua fría, obteniendo un sólido color beige el cual fue recristalizado en MeOH obteniendo un sólido amorfo color blanco con un punto de fusión de 112.1-113.6 °C. Rendimiento de reacción: 78%. CCF RF ($CH_2Cl_2/MeOH$ 95:5): 0.5.

11.2.3 Método general de síntesis de los compuestos MMJ 1-6

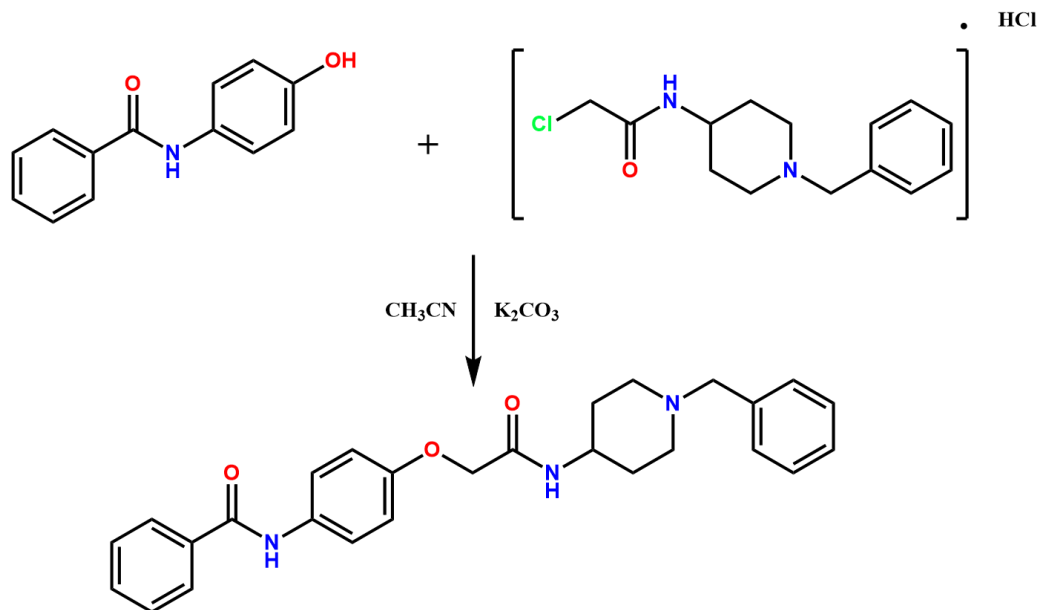


En un matraz bola de 25 mL acoplado con agitación magnética y baño de aceite se disolvieron los precursores correspondientes (**MMJ 15-20**) usando acetonitrilo seco como disolvente, agregando posteriormente 3.2 equivalentes de carbonato de potasio (K_2CO_3) y agitando la mezcla de reacción durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se agregó el precursor **MMJ-23** (1.5 eq), elevando la temperatura a reflujo ($83^\circ C$).

La reacción se detuvo al rotaevaporar el disolvente y agregando 2 mL de agua fría, obteniendo un sólido blanco el cual fue recuperado mediante filtración.

Una vez obtenido y purificado los compuestos estos se analizaron mediante RMN de 1H y ^{13}C y por espectrometría de masas por impacto electrónico

11.2.3.1 Síntesis de N-(4-(2-((1-bencilpiperidin-4-il)amino)-2-oxoetoxi)fenil)benzamida (MMJ-1)



Se disolvió el compuesto precursor **MMJ-15** (0.590 g, 2.8 mmol, 1 eq) usando acetonitrilo seco como disolvente, agregando posteriormente 3.2 equivalentes (1.2 g) de carbonato de potasio (K₂CO₃) y posteriormente se agregó el precursor **MMJ-23** (1.26 g, 4.2 mmol, 1.5 eq).

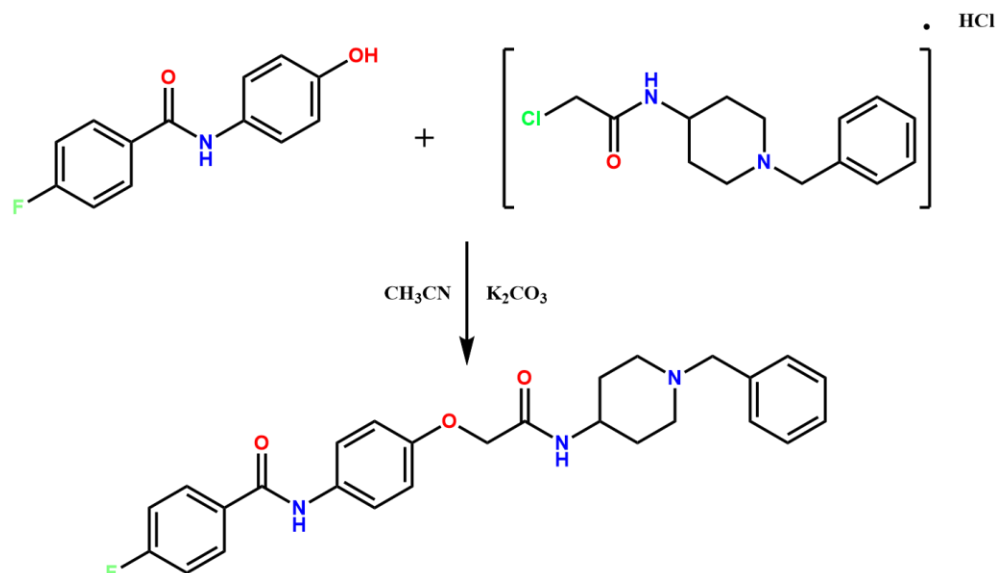
La reacción se detuvo al rotaevaporar el disolvente y agregando 2 mL de agua fría, obteniendo un sólido blanco el cual fue recuperado mediante filtración. Se obtuvieron cristales de color blanco con un punto de fusión de 197.0-199.4°C Rendimiento de reacción: 52 %.

¹H RMN (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.14 (s, 1H, H-1''), 7.926 (*dd*, 2H, *J*_m=1.75, *J*_o = 7.84 Hz, H-9, H-13), 7.666 (*dd*, 2H, *J*_m=2.02 Hz, *J*_o= 7 Hz, H- 2', H-6'), 7.588-7.453 (*m*, 5H, H 1-5), 7.321-7.194 (*m*, 3H, H 3'-5'), 6.941 (*dd*, *J*_m=2.08, *J*_o = 9.1 Hz, 2H, H-10, H-13), 4.427 (s, 2H, H-14), 3.702-3.529 (*m*, 1H, H-16), 2.73 (*d*, 2H, *J* = 11.6 Hz, H-18, H-19), 1.974 (*t*, 2H, 12.2 Hz H-18, H-19), 1.679 (*d*, 2H, *J* = 11 Hz, H-17, H-20), 1.514 (*t*, 2H, *J* = 11 Hz).

¹³C RMN (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ 166.76 (C-7), 165.10 (C-14), 154.02 (C-11), 138.60 (C-4'), 134.99 (C-1) , 132.7 (C-1'), 131.33 (C-8), 128.61 (C-8, C-13), 128.26 (C-10, C-12), 128.06 (C-2, C-6), 127.46 (C-5, C-3), 126.75 (C-4), 121.81 (C-2', C-6'), 114.67 (C-3', C-5') , 67.29 (C-14), 62.05(C-21), 51.92(C-18,C-19), 45.95 (C-17, C-20), 31.33 (C-16).

MS/IE: m/z (%int.rel): 91 (M-352) 95%, 65 (M-378) 15%, 173 (M-270) 15%

11.2.3.2 Síntesis de *N*-(4-(2-((1-bencilpiperidin-4-il)amino)-2-oxoetoxi)fenil)-4-fluorobenzamida (MMJ-2)



Se disolvió el compuesto precursor **MMJ-16** (0.646 g, 2.8 mmol, 1 eq) usando acetonitrilo seco como disolvente, agregando posteriormente 3.2 equivalentes (1.2 g) de carbonato de potasio (K_2CO_3). Posteriormente se agregó el precursor **MMJ-23** (1.26 g, 4.2 mmol, 1.5 eq), elevando la temperatura a reflujo ($83^\circ C$).

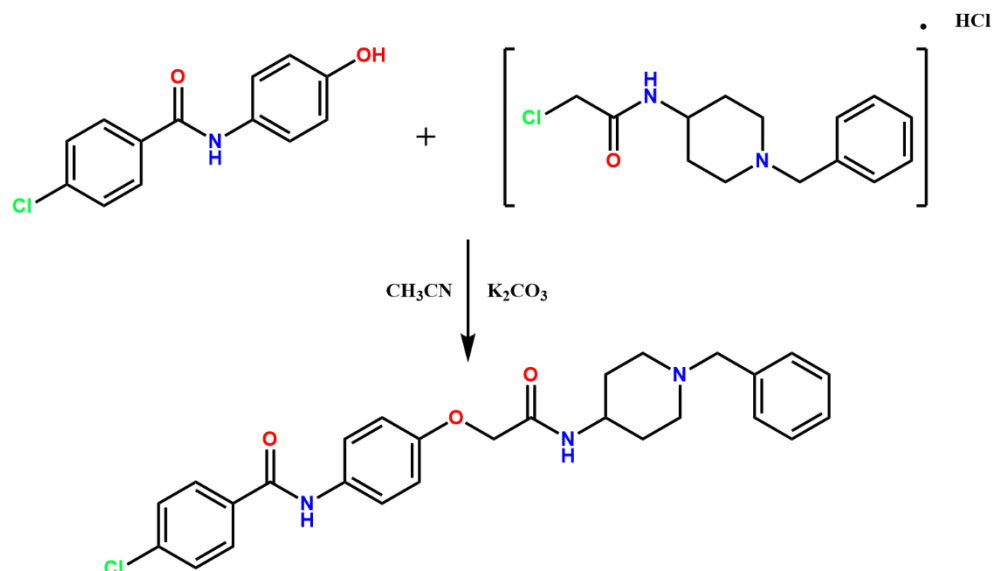
La reacción se detuvo al rotaevaporar el disolvente y agregando 2 mL de agua fría, obteniendo un sólido blanco el cual fue recuperado mediante filtración. El compuesto se recristalizó usando metanol, obteniendo cristales de color blanco con un punto de fusión de $185.5-186.6^\circ C$ Rendimiento de reacción: 75.6 %.

1H RMN (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ 10.15 (s, 1H, 1''), 7.997 (ddd, 2H $J_{O-H-H} = 5.4$ Hz, $J_{m-H-F} = 3.0$ Hz, H-2, H-6), 7.629 (d, 2H $J_o = 9.0$ Hz, H-9, H-13), 7.32 (t, 2H, $J = 8.4$ Hz, H-5, H-3), 7.295 (m, 4H, H 2'-3', H 5'-6'), 7.246 (m 1H, H-4'), 6.921 (d, 2H, $J_o = 9.0$ Hz, H-10, H-12), 4.409 (s, 2H, H-14), 3.61 (m, 1H, H-16), 3.407 (s, 2H, H-21), 2.723 (d, 2H, $J = 9$ Hz, H-18, H-19), 1.966 (t, 2H, $J = 10.8$ Hz, H-18, H-19), 1.668 (d, 2H, $J = 13.2$ Hz, H-17, H-20), 1.487 (t, 2H, $J = 12.0$ Hz, H-17, H-20).

^{13}C RMN (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ 167.29 (C-7), 164.49 (C-15), 164.41 (d, $J_{C-F} = 246.6$ Hz), 154.53 (C-11), 133.12 (C-1), 131.81 (C-1'), 131.84 (C-8), 130.77 (C-2, C-6), 128.85 (C-9, C-13), 128.31 (C-4'), 122.83 (C-2'), 122.00 (C-6'), 115.45 (d, $J_{C-F} = 22.5$ Hz, C-3, C-5), 115.29 (C-10, C-12), 114.97 (C-3', C-5'), 67.68 (C-14), 62.53 (C-21), 52.69 (C-18, C-19), 46.27 (C-17, C-20), 31.79 (C-16).

MS/IE: m/z (%int.rel): 91 (M-370) 100%, 172 (M-288) 18%, 69 (M-392) 13%

11.2.3.3 Síntesis de *N*-(4-(2-((1-bencilpiperidin-4-il)amino)-2-oxoetoxi)fenil)-4-clorobenzamida (MMJ-3)



Se disolvió el precursor **MMJ-17** (0.691 g, 2.8 mmol, 1 eq) usando acetonitrilo seco como disolvente, agregando posteriormente 3.2 equivalentes (1.2g) de carbonato de potasio (K_2CO_3). Posteriormente se agregó el precursor **MMJ-23** (1.26 g, 4.2 mmol, 1.5 eq), elevando la temperatura a reflujo (83°C).

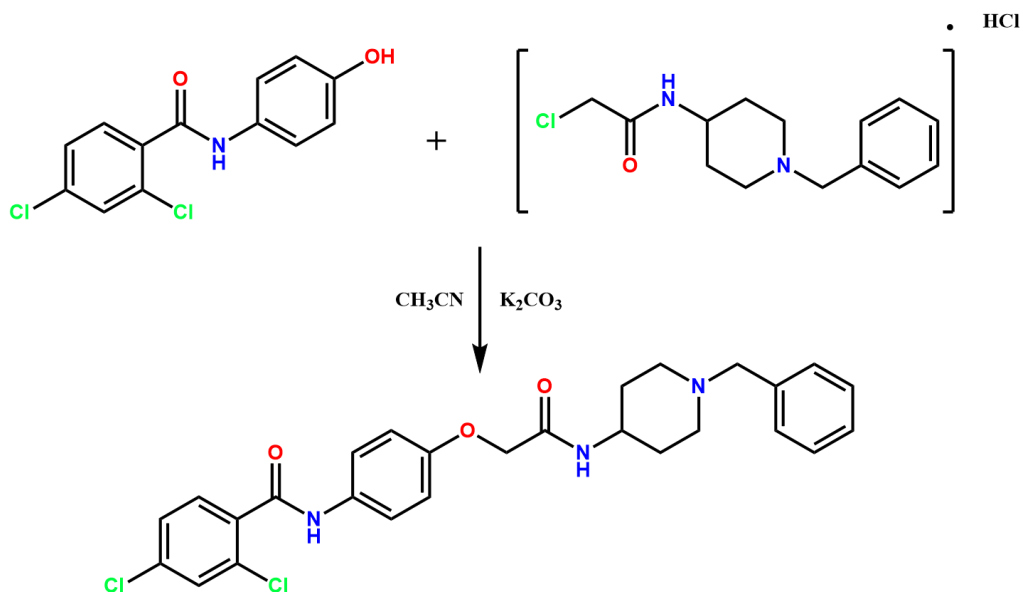
La reacción se detuvo al rotaevaporar el disolvente y agregando 2 mL de agua fría, obteniendo un sólido blanco el cual fue recuperado mediante filtración. El compuesto se recristalizó usando metanol, obteniendo cristales de color blanco con un punto de fusión de 212.9-214.8°C Rendimiento de reacción: 38 %.

1H RMN (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ 10.15 (s, 1H, 1''), 7.99 (t, 2H, $J_o = 9$ Hz, H-2, H-6), 7.63 (d, 2H, $J_o = 9.0$ Hz, H-9, H-13), 7.33-7.243 (m, 6H, H-3, H-5, H-2', H-3', H-5', H-6'), 7.26 (t, 1H, $J_o = 9$ Hz, H-4'), 6.92 (d, 2H, $J_o = 9.1$ Hz, H-10, H-12), 4.41 (s, 2H, H-14), 3.41 (s, 2H, H-21), 2.71 (d, $J = 11.3$ Hz, 3H), 1.97 (t, $J = 11.0$ Hz, 3H), 1.66 (d, $J = 11.9$ Hz, 2H), 1.48 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H)

^{13}C RMN (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ 167.30 (C-7), 165.61 (C-7), 154.47 (C-11), 139.04 (C-4), 135.41 (C-2, C-6), 133.21 (C-8), 129.41 (C-1), 128.97 (C-3, C-5), 128.85 (C-9, C-13), 127.55 (C-1'), 122.64 (C-4'), 121.95 (C-2', C-6'), 115.29 (C-10, C-12), 114.97 (C-3', C-5'), 67.69 (C-14), 62.53 (C-21), 52.58 (C-18), 52.13 (C-19), 46.56 (C-17), 46.32 (C-20), 31.79 (C-16).

MS/IE: m/z (%int.rel): 91 (M-386) 85%, 65 (M-412) 10%, 173 (M-304) <10%

11.2.3.4 Síntesis de *N*-(4-(2-((1-bencilpiperidin-4-il)amino)-2-oxoetoxi)fenil)-2,4-diclorobenzamida (MMJ-4)



Se disolvió el precursor **MMJ-18** (0.786 g, 2.8 mmol, 1 eq) usando acetonitrilo seco como disolvente, agregando posteriormente 3.2 equivalentes (1.2 g) de carbonato de potasio (K_2CO_3). Posteriormente se agregó el precursor **MMJ-23** (1.26 g, 4.2 mmol, 1.5 eq), elevando la temperatura a reflujo (83°C).

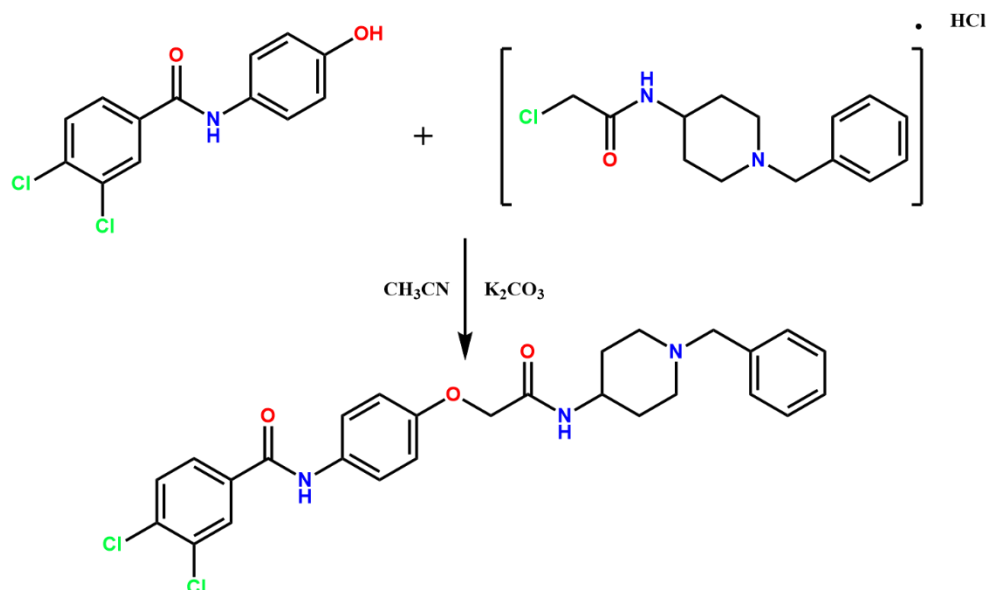
La reacción se detuvo al rotaevaporar el disolvente y agregando 2 mL de agua fría, obteniendo un sólido blanco el cual fue recuperado mediante filtración. El compuesto se recristalizó usando metanol, obteniendo cristales de color blanco con un punto de fusión de 212.9-214.8°C Rendimiento de reacción: 38 %.

1H RMN (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ 10.38 (s, 1H, H-1''), 7.90 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz, H-6), 7.71 (d, 1H, $J_m = 1.8$ Hz, H-3), 7.57 (dd, 2H, $J_m = 1.8$ Hz, $J_o = 6$ Hz, H-9, H-13), 7.50 (dd, 1H, $J_m = 2.4$ Hz, $J_o = 9$ Hz, 2.0 Hz, H-5), 7.29 (m, 4, H-2', H-3', H-5', H-6'), 7.20 (t, 1H, $J = 7.2$ Hz, H-4), 6.92 (d, 2H, $J = 9$ Hz, H-10, H-12), 4.39 (s, 2H, H-14), 3.61 (s, 2H, H-16), 3.40 (s, 2H, H-21), 2.72 (d, 2H, $J = 10.8$ Hz, H-18, H-19), 1.96 (t, 2H, $J = 11.4$ Hz, H-18, H-19), 1.50 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, H-17, H-20), 1.48 (d, 2H, $J = 9.6$ Hz, H-17, H-20).

^{13}C RMN (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ 167.22 (C-7), 164.04 (C-15), 154.62 (C-11), 139.07 (C-4'), 135.16 (C-1), 132.85 (C-1'), 131.68 (C-8), 129.40 (C-10, C-12), 128.86 (C-2), 128.33 (C-9, C-13), 128.04 (C-6), 127.70 (C-5), 127.54 (C-3), 126.98 (C-4), 121.81 (C-2'), 121.55 (C-6'), 115.49 (C-5'), 115.17 (C-3'), 67.69 (C-14), 62.54 (C-21), 52.61 (C-18), 52.15 (C-19), 46.58 (C-20), 46.31 (C-17), 31.80 (C-16).

MS/IE: m/z (%int.rel): 172 (M-370) 100%, 144 (M-398) 25%

11.2.3.5 Síntesis *N*-(4-(2-((1-bencilpiperidin-4-il)amino)-2-oxoetoxi)fenil)-3,4-diclorobenzamida (MMJ-5)



Se disolvió el precursor **MMJ-19** (0.786 g, 2.8 mmol, 1 eq) usando acetonitrilo seco como disolvente, agregando posteriormente 3.2 equivalentes (1.2 g) de carbonato de potasio (K_2CO_3). Posteriormente se agregó el precursor **MMJ-23** (1.26 g, 4.2 mmol, 1.5 eq), elevando la temperatura a reflujo (83°C) durante 29 h.

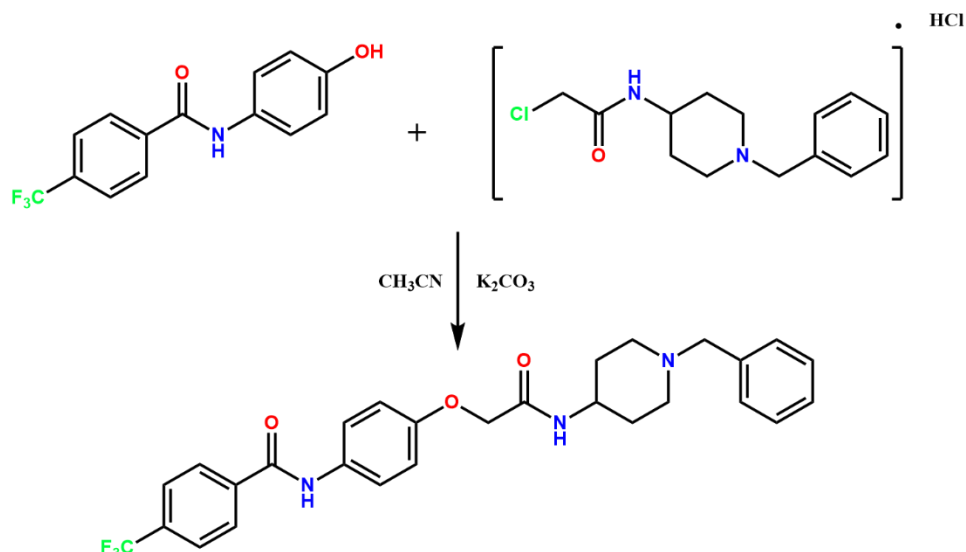
La reacción se detuvo al rotaevaporar el disolvente y agregando 2 mL de agua fría, obteniendo un sólido blanco el cual fue recuperado mediante filtración. El compuesto se recristalizó usando metanol, obteniendo cristales de color blanco con un punto de fusión de 186.0-187.8°C. Rendimiento de reacción: 18.1 %.

1H RMN (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ 10.27 (s, 1H, H-1''), 8.35 (d, 1H, $J_o = 7.8$), 7.97 (d, 2H, $J_o = 9.0$ Hz, H-9, H-13), 7.83-7.739 (m, 7H, H-2, H-6, H 2'-6'), 7.74, 7.39 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz, H-10, H-11), 4.90 (s, 2H, H-14), 4.13 (m, 1H, H-16), 3.94 (s, 2H, H-21), 3.25 (d, 2H, $J = 11.4$ Hz, H-18, H-19), 3.01 (m, 2H, H-18, H-19), 2.19 (d, 2H, $J = 10.5$ Hz, H-17, H-20), 2.01 (m, 2H, $J = 11.4$ Hz, H-17, H-20).

^{13}C RMN (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ 167.27 (C-7), 163.21 (C-15), 154.79 (C-11), 139.14 (C-4'), 135.77 (C-4), 134.66 (C-3), 132.88 (132.8), 131.74 (C-8), 131.17 (C-6), 129.99 (C-1), 129.14 (C-9, C-13), 128.59 (C-10, C-12), 128.41 (C-2), 127.28 (C-5), 122.47 (C-2', C-6'), 115.24 (C-3', C-5'), 67.79 (C-14), 62.57 (C-21), 52.44 (C-17), 46.48 (C-18, C-19), 31.85 (C-16).

MS/IE: m/z (%int.rel): 91 (M-421) 85%, 172 (M-370) 10%, 65 (M-447) 10%, 144 (M-398) <5%

11.2.3.6 síntesis de *N*-(4-(2-((1-bencilpiperidin-4-il)amino)-2-oxoetoxi) fenil)-4-(trifluorometil)benzamida (MMJ-6)



Se disolvió el precursor **MMJ-20** (0.780 g, 2.8 mmol, 1 eq) usando acetonitrilo seco como disolvente, agregando posteriormente 3.2 equivalentes (1.2 g) de carbonato de potasio (K_2CO_3). Posteriormente se agregó el precursor **MMJ-23** (1.26 g, 4.2 mmol, 1.5 eq), elevando la temperatura a reflujo (83°C) durante 5.5 h.

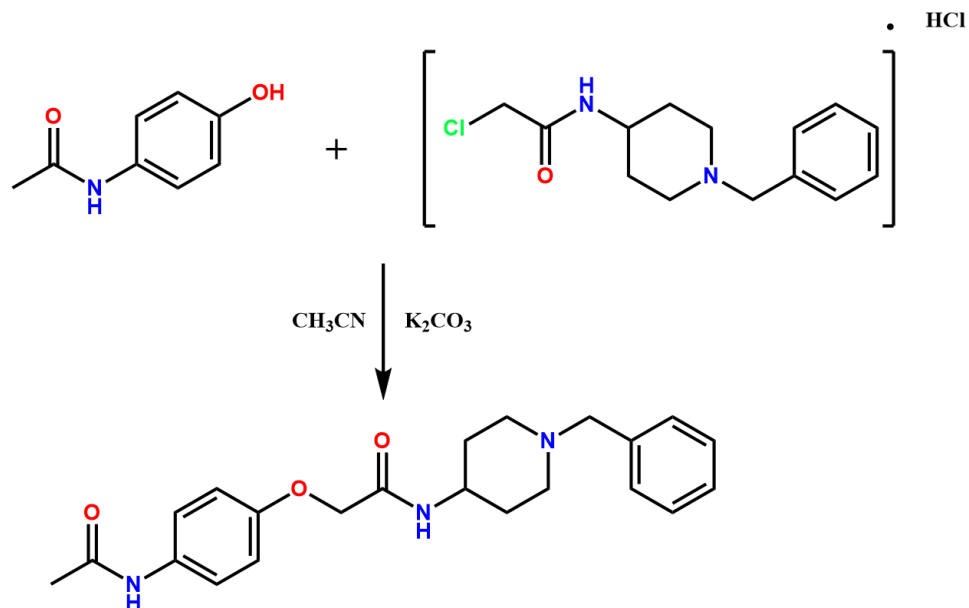
La reacción se detuvo al rotaevaporar el disolvente y agregando 2 mL de agua fría, obteniendo un sólido blanco el cual fue recuperado mediante filtración. El compuesto se recristalizó usando metanol, obteniendo cristales de color blanco con un punto de fusión de 213.2-214.7°C. Rendimiento de reacción: 56 %.

1H RMN (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ 10.81 (s, 1H, H-1''), 8.40 (d, 2H, $J_o = 8.4$ Hz, H-2, H-6), 8.30 (d, 2H $J_o = 8.4$ Hz, H-3, H-5), 8.16 (d, 2H $J = 9.0$ Hz, H-9, H-13), 7.83 – 7.77 (m, 4H, H-2', H-3', H-5', H-6'), 7.73 (d, 1H $J_o = 9.0$ Hz, H-4'), 7.46 (d, 2H, $J_o = 9.0$ Hz, H-10, H-12), 4.95 (s, 2H, H-14), 3.94 (s, 2H, H-21), 3.25 (d, 2H, $J = 12$ Hz, H-18, H-19), 2.52 (d, 2H, $J = 10.2$ Hz, H-18, H-19), 2.20 (d, 2H, $J = 12.0$ Hz, H-17, H-20), 2.02 (qd, 2H, $J = 2.4$ Hz, H-17, H-20).

^{13}C RMN (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ 167.28, 164.43 (C-7), 154.80 (C-11), 139.28 (C-4'), 139.13 (C-1), 132.91 (C-1'), 131.73 (q, $J = 31.6$ Hz), 129.15 (C-2, C-6), 128.95 (C-9, C-13), 128.59 (C-2', C-6'), 127.28 (C-3', C-5'), 125.81 (d, $J_{C-F} = 3.6$ Hz, C-3, C-5), 124.4 (d, $J_{C=F} = 270$ Hz, C-22), 122.44 (C-8), 115.26 (C-10, C-12), 67.80 (C-14), 62.57 (C-21), 52.44 (C-18, C-19), 46.48 (C-17, C-20), 31.86 (C-16).

MS/IE: m/z (%int.rel): 149 (M-362) 100%, 107 (M-404) 33%, 57 (M-454) 23%, 71 (M-440) 20%

11.2.3.7 Síntesis de 2-(4-acetamidofenoxi)-*N*-(1-bencilpiperidin-4-il)acetamida (MMJ-7)



En un matraz bola de 25 mL acoplado con agitación magnética y baño de aceite se disolvió el *N*-acetil-*p*-aminofenol (0.422 g, 2.8 mmol, 1 eq) usando acetonitrilo seco como disolvente, agregando posteriormente 3.2 equivalentes (1.2 g) de carbonato de potasio (K_2CO_3) y agitando la mezcla de reacción durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se agregó el precursor **MMJ-23** (1.26 g, 4.2 mmol, 1.5 eq), elevando la temperatura a reflujo (83°C) durante 11.5 h.

La reacción se detuvo al rotaevaporar el disolvente y agregando 2 mL de agua fría, obteniendo un sólido blanco el cual fue recuperado mediante filtración. El compuesto se recrystalizó usando metanol, obteniendo cristales de color blanco con un punto de fusión de 185.8-186.9 °C. Rendimiento de reacción: 46 %.

^1H RMN (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.82 (s, 1H, H-1''), 7.48 (d, 2H, $J_o = 9.0$ Hz, H-4, H-8), 7.282 (m, 5H, H 2'-6'), 6.88 (d, 2H, $J_o = 9.0$ Hz, H-5, H-7), 4.40 (s, 2H, H-9), 3.62 (s, 1H, H-11), 3.40 (s, 3H, H-16), 2.76 (d, 2H, $J = 11.5$ Hz, H13, H14), 2.50 (t, 2H, $J = 11.8$ Hz, H-13, H-14), 2.00 (s, 3H, H-1), 1.680 (d, 2H, $J = 9.6$ Hz, H-12, H-13), 1.59 (t, 2H, $J = 11.2$ Hz).

^{13}C RMN (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 168.24 (C-2), 167.33 (C-10), 153.96 (C-6), 139.09 (C-1'), 129.14 (C-5, C-7), 128.58 (C-4, C-8), 127.27 (C-4'), 120.86 (C-2', C-6'), 115.22 (C-3', C-5'), 67.77 (C-9), 62.55 (C-16), 52.43 (C-1), 46.44 (C-12, C-15), 31.81 (C-11), 24.24 (C-13, C-14).

MS/IE: m/z (%int.rel): 164 (M-217) 100%, 150 (M-231) 85%

11.3 Síntesis de compuestos precursores (MMJ 15-20)

R:

1: 4-H

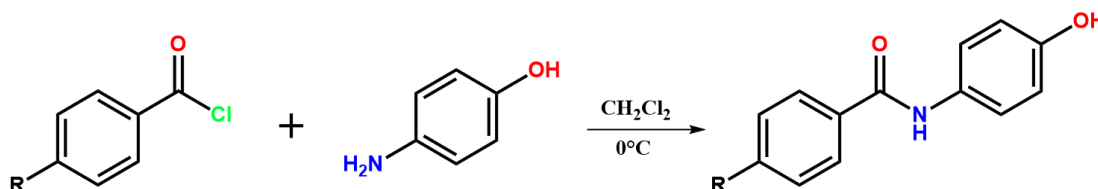
2: 4-F

3: 4-Cl

4: 2, 4-dicloro

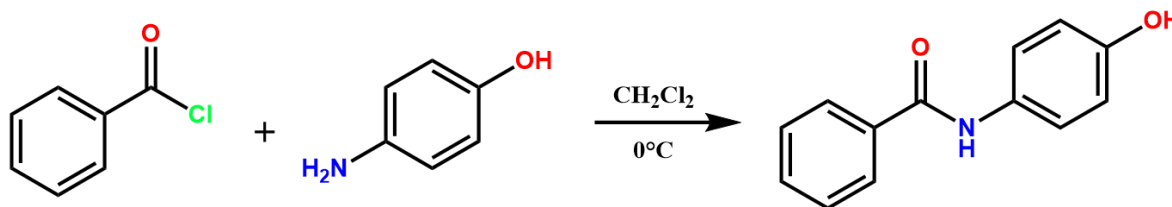
5: 3,4-dicloro

6: 4-Trifluorometilo



En un matraz bola de 25 mL acoplado a agitación magnética y baño de hielo se disolvió el 4-aminofenol usando diclorometano seco como disolvente, permitiendo enfriar la solución durante 15 minutos. Transcurrido este tiempo se acopló un embudo de adiciones igualadas en donde se colocó 3 mL de diclorometano seco para disolver el cloruro de benzoilo debidamente sustituido. Esta solución se agregó por goteo durante 30 minutos. Posterior a este tiempo se retiró el baño de hielo y la reacción se dejó agitando a temperatura ambiente durante 3.5 horas. La reacción se detuvo al rotaevaporar el disolvente y agregando 1.5 mL de agua fría dejando en agitación durante 15 min y todos los compuestos fue recristalizados en metanol,

11.3.1 Síntesis de *N*-(4-hidroxifenil)benzamida (MMJ-15)

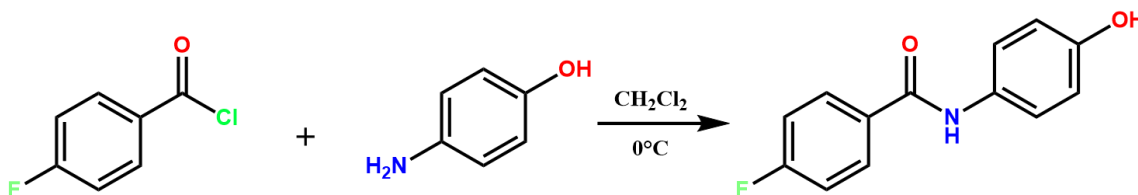


En un matraz bola de 25 mL acoplado a agitación magnética y baño de hielo se disolvió el 4-aminofenol (2 g, 18.3 mmol, 1 eq). Posteriormente se acopló un embudo de adiciones igualadas en donde se colocó 3 mL de diclorometano seco para disolver el cloruro de benzoilo (2.5 g 20 mmol, 1.1 eq).

Se obtuvieron cristales nacarados color rosa con un punto de fusión de 213.5-214.8°C. Rendimiento de la reacción: 65.5%

^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 10.015 (s, 1H, H-1''), 7.924 (*dd*, 2H, $J_m= 1.57$ Hz, $J_o= 9.62$, H-9 H-13), 7.564-7.468 (*m*, 5H, H 2-6), 6.737 (*dd*, 2H, $J_m=2.79$ Hz, $J_o= 8.94$ Hz).

11.3.2 Síntesis de 4-fluoro-*N*-(4-hidroxifenil)benzamida (MMJ-16)

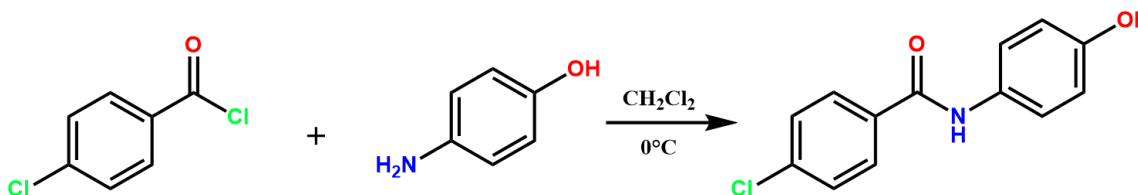


En un matraz bola de 25 mL acoplado a agitación magnética y baño de hielo se disolvió el 4-aminofenol (2 g, 18.3 mmol, 1 eq). Posteriormente se acopló un embudo de adiciones igualadas en donde se colocó 3 mL de diclorometano seco para disolver el cloruro de 4-fluorbenzoilo (3.17 g 20 mmol, 1.1 eq).

Se obtuvieron cristales nacarados color rosa pálido con un punto de fusión de 233.9-234.9 °C. Rendimiento de la reacción: 57.7 %

¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.04 (s, 1H, H-1''), 9.28 (s, 1H, -OH), 8.016 (*dd*, 2H, *J*_m = 3.64, *J*_o = 6 Hz, H-2, H-6), 7.520 (*d*, 2H, *J*_o = 8.4 Hz, H-9, H-13), 7.342 (*t*, 2H, *J* = 9.0 Hz, H-3, H-5), 6.750 (*d*, 2H *J*_o = 9.0 Hz, H-10, H-13).

11.3.3 Síntesis de 4-cloro-*N*-(4-hidroxifenil)benzamida (MMJ-17)

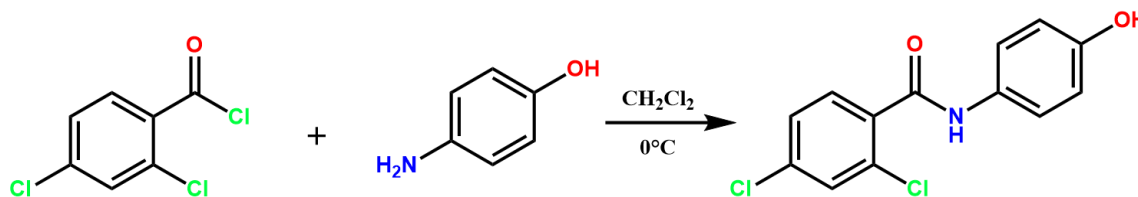


En un matraz bola de 25 mL acoplado a agitación magnética y baño de hielo se disolvió el 4-aminofenol (2 g, 18.3 mmol, 1 eq). Posteriormente se acopló un embudo de adiciones igualadas en donde se colocó 3 mL de diclorometano seco para disolver el cloruro de 4-clorobenzoilo (3.5 g 20 mmol, 1.1 eq)..

Se obtuvieron cristales nacarados color rosa con un punto de fusión de 247.7-248.7 °C. Rendimiento de la reacción: 67.1 %

¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.559 (s, 1H, H-1'), 9.743 (s, 1H, -OH), 8.467 (*d*, 2H, *J*_o = 8.4 Hz, H-2, H-6), 8.083 (*d*, 2H, *J*_o = 9 Hz, H-9, H-13), 8.019 (*d*, 2H, *J* = 8.4 Hz, H-3, H-5), 7.247 (*d*, 2H, *J* = 8.4 Hz, H-10, H-12).

11.3.4 Síntesis de 2,4-dicloro-*N*-(4-hidroxifenil)benzamida (MMJ-18)

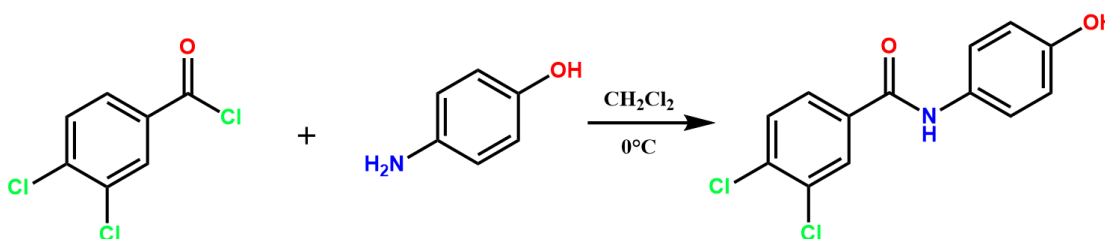


En un matraz bola de 25 mL acoplado a agitación magnética y baño de hielo se disolvió el 4-aminofenol (2 g, 18.3 mmol, 1 eq). Posteriormente se acopló un embudo de adiciones igualadas en donde se colocó 3 mL de diclorometano seco para disolver el cloruro de 2,4-diclorobenzoilo (4.18 g 20 mmol, 1.1 eq).

Se obtuvieron monocristales difractables incoloros con un punto de fusión de 197.6-199.2 °C. Rendimiento de la reacción: 43.0 %

¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.23 (s, 1H, H-1''), 9.27 (s, 1H, -OH), 7.70 (d, 1H, *J*_m = 1.8 Hz, H-3), 7.562 (d, 1H, *J*_o = 8.4 Hz, H-6), 7.50 (dd, 1H, *J*_m = 1.2 Hz, *J*_o = 8.2 Hz, H-5), 7.45 (d, 2H, *J*_o = 7.8 Hz, H-9, H-13), 6.71 (d, 2H *J*_o = 7.2 Hz, H-10, H-12).

11.3.5 Síntesis de 3,4-dicloro-*N*-(4-hidroxifenil)benzamida (MMJ-19)

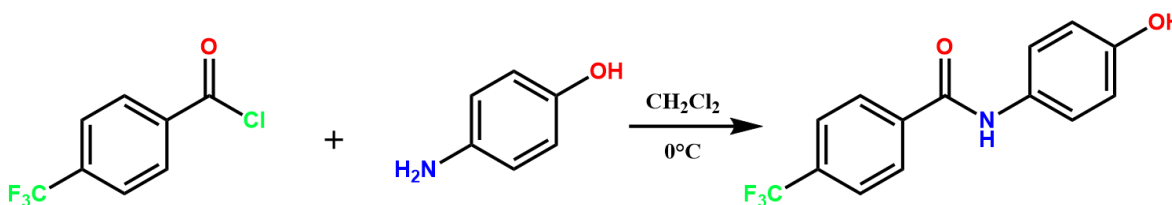


En un matraz bola de 25 mL acoplado a agitación magnética y baño de hielo se disolvió el 4-aminofenol (2 g, 18.3 mmol, 1 eq) Posteriormente se acopló un embudo de adiciones igualadas en donde se colocó 3 mL de diclorometano seco para disolver el cloruro de 3,4-diclorobenzoilo (4.18 g 20 mmol, 1.1 eq).

Se obtuvieron monocristales difractables incoloros con un punto de fusión de 216.8-218.5 °C. Rendimiento de la reacción: 70.3 %

¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.65 (s, 1H, H-1''), 9.79 (s, 1H, -OH), 8.685 (d, 1H, *J*_m = 1.8 Hz, H-2), 8.42 (dd, 1H, *J*_m = 1.8 Hz, *J*_o = 8.4 Hz, H-6), 8.288 (d, 1H, *J*_o = 8.4 Hz, H-5), 8.019 (d, 2H, *J*_o = 8.4 Hz, H-9, H-13), 7.259 (d, 2H, *J*_o = 8.8 Hz, H-10, H-12).

11.3.6 Síntesis de *N*-(4-hidroxifenil)-4-(trifluorometil)benzamida (MMJ-20)

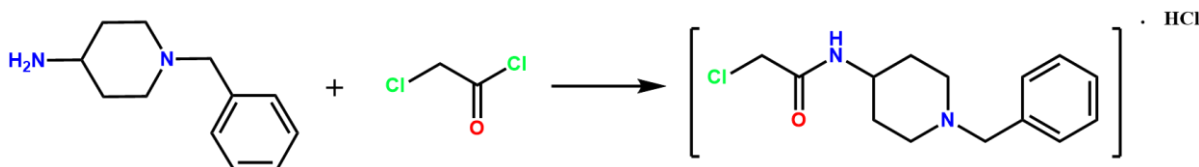


En un matraz bola de 25 mL acoplado a agitación magnética y baño de hielo se disolvió el 4-aminofenol (2 g, 18.3 mmol, 1 eq). Posteriormente se acopló un embudo de adiciones igualadas en donde se colocó 3 mL de diclorometano seco para disolver el cloruro de 4-(trifluorometil)benzoilo (4.17 g 20 mmol, 1.1 eq).

Se obtuvieron cristales blancos con un punto de fusión de 242.0-243.4 °C. Rendimiento de la reacción: 40.0 %

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ 10.72 (s, 1H, -NH), 9.77 (s, 1H, -OH), 8.63 (d, 2H, $J_o = 7.8\text{Hz}$, H-2, H-6), 8.39 (d, 2H, $J_o = 7.8\text{ Hz}$, H-3, H-5), 8.04 (d, 2H, $J_o = 9\text{ Hz}$, H-9, H-13), 7.27 (d, 2H, $J = 9\text{Hz}$, H-10, H-12).

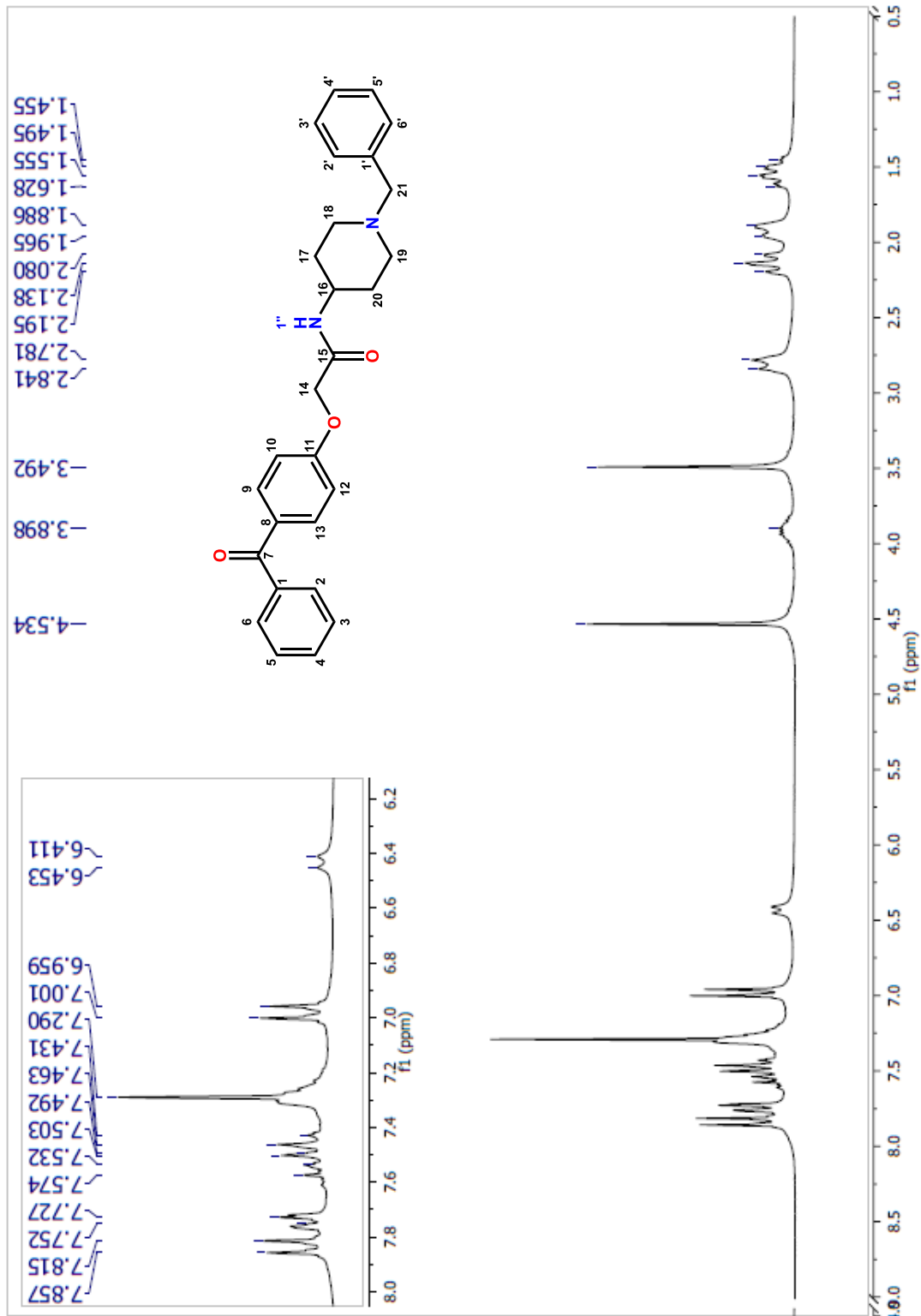
11.3.6 Síntesis de *N*-(1-bencilpiperidin-4-il)-2-cloroacetamida (MMJ-23)



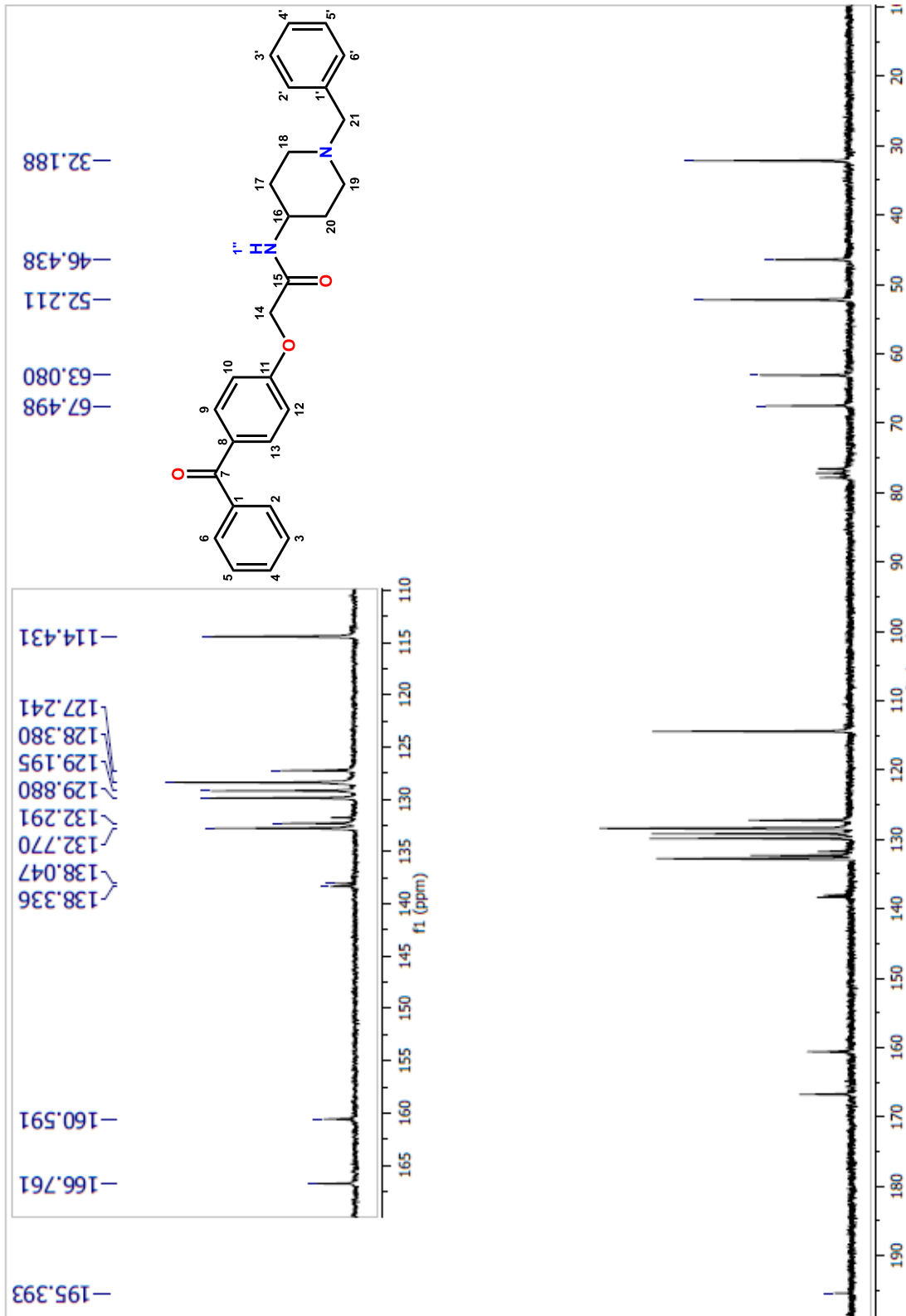
En un matraz bola de 25 mL acoplado a agitación magnética y baño de hielo se disolvió la 4-amino-1-bencilpiperidina (10 g, 52.5 mmol, 1 eq) en diclorometano seco, permitiendo enfriar la solución durante 15 minutos. Transcurrido este tiempo se acopló un embudo de adiciones igualadas en donde se colocó 5 mL de diclorometano seco para disolver el cloruro de cloroacetilo (8.90 g, 78.82 mmol, 1.5 eq). Esta solución se agregó por goteo durante 30 minutos. Posterior a este tiempo se retiró el baño de hielo y la reacción se dejó agitando a temperatura ambiente durante 2.5 horas.

La reacción se detuvo al rotaevaporar el disolvente y agregando 1.5 mL de agua fría dejando en agitación durante 15 min, obteniendo un sólido color blanco el cual fue recuperado por filtración. Se obtuvo un sólido amorfo de color blanco, con un rendimiento global del 77% y un punto de fusión de 98.9-102.1 °C

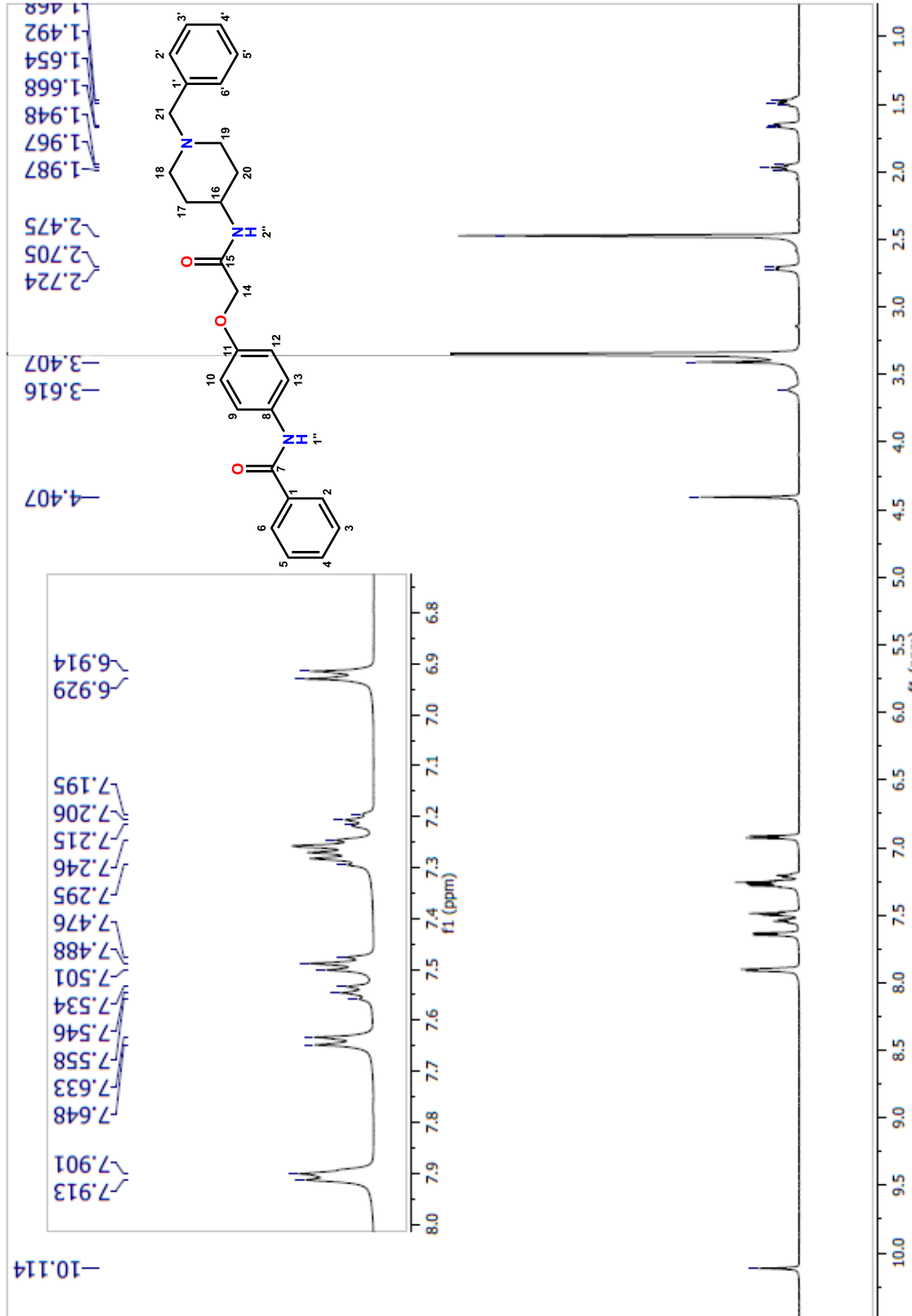
12. Espectros



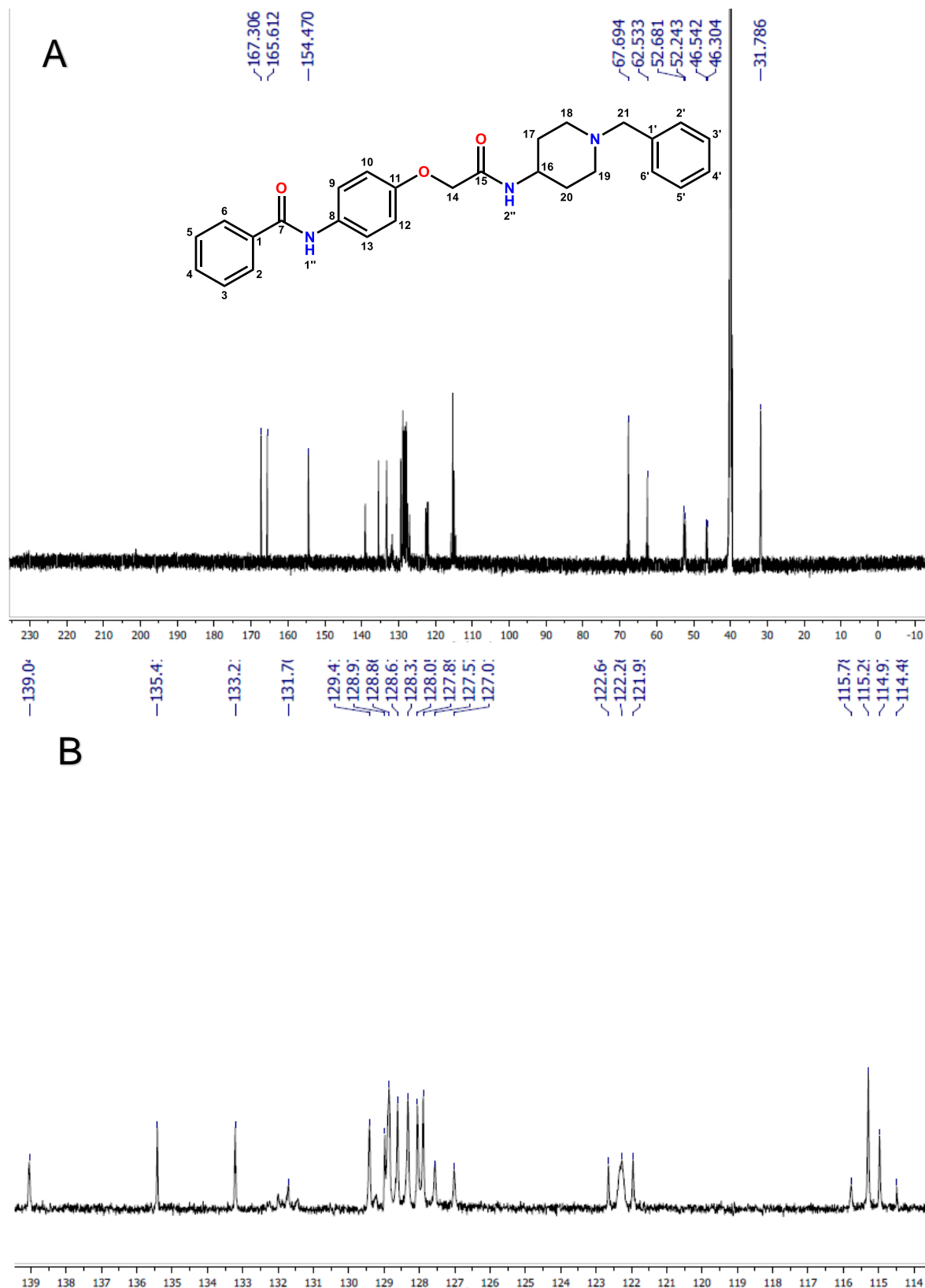
Espectro 1. Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) de AdipoRon



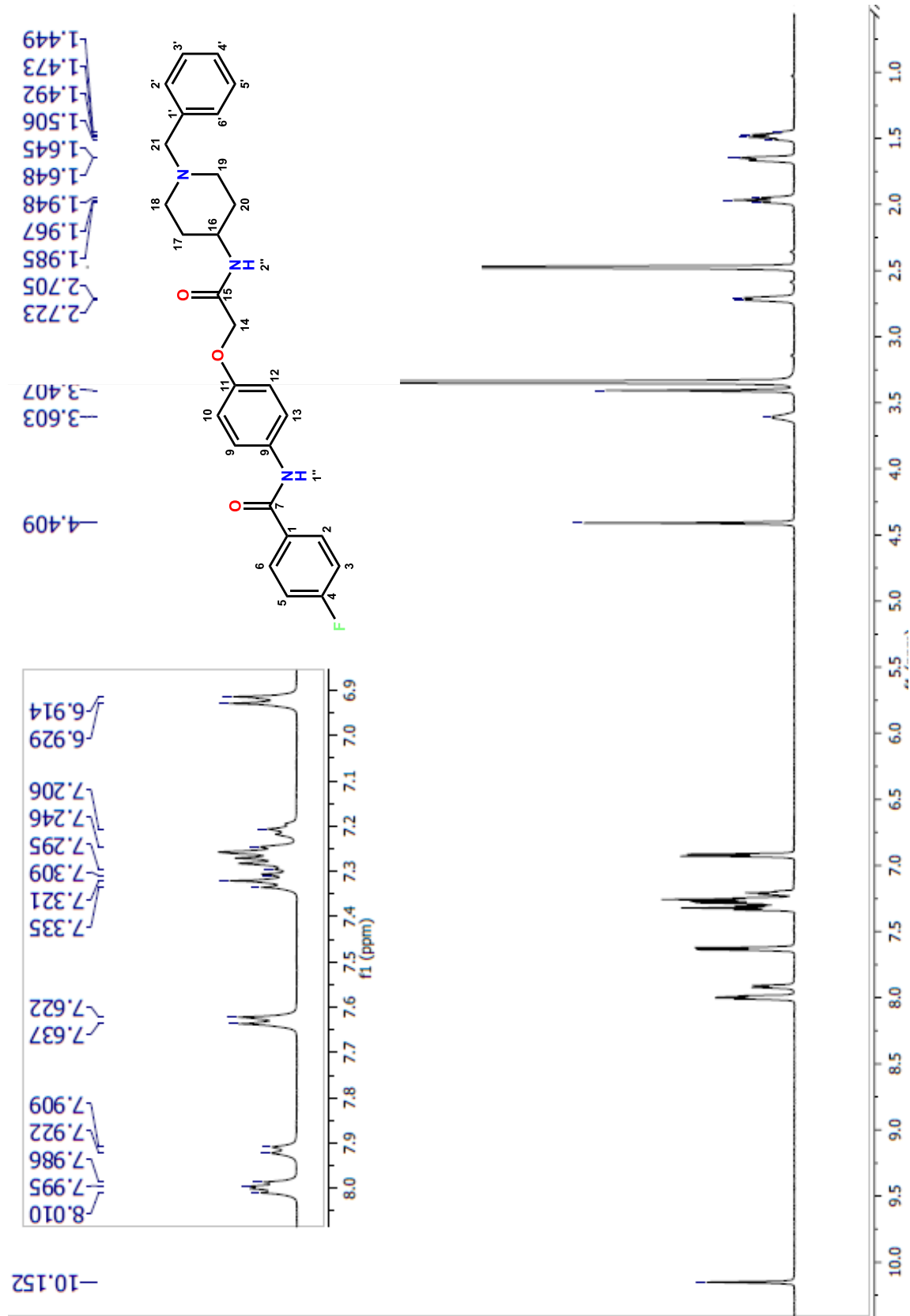
Espectro 2. Espectro RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de AdipoRon



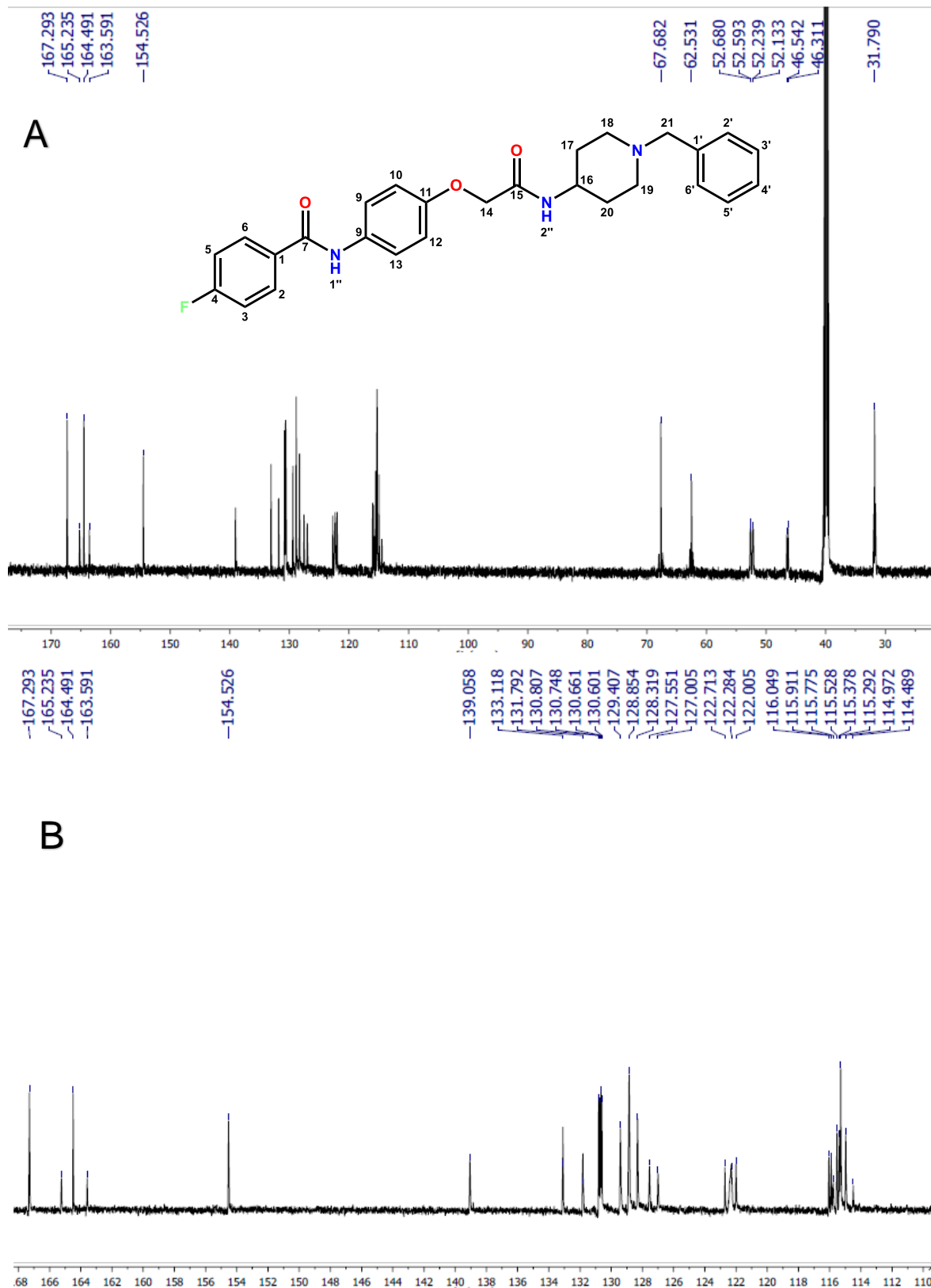
Espectro 3. Espectro de RMN ^1H (600 MHz, DMSO-d_6) del compuesto **MMJ-1**



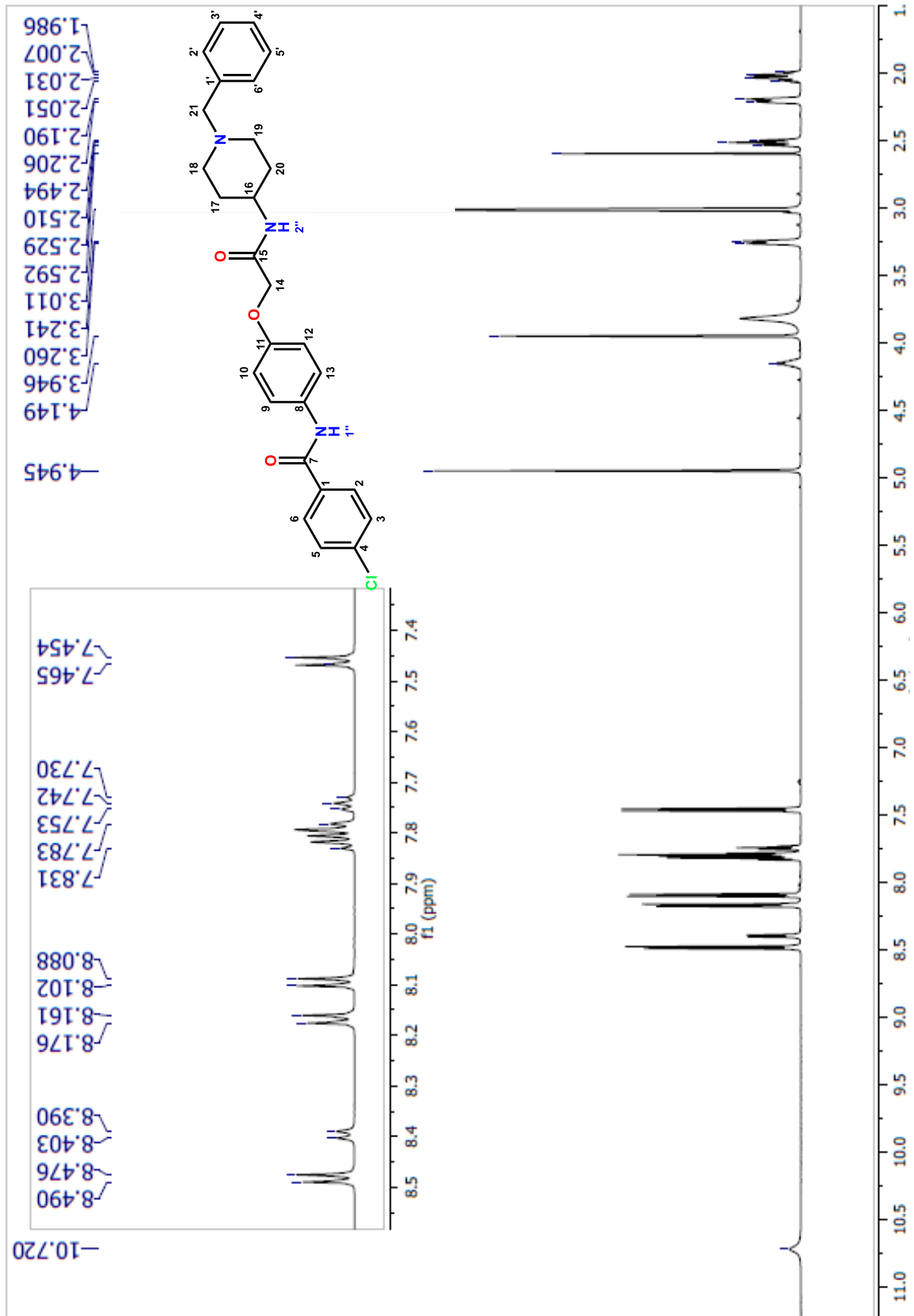
Espectro 4. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO d_6 , 150 MHz) del compuesto **MMJ-1**
(A región alifática y B región aromática)



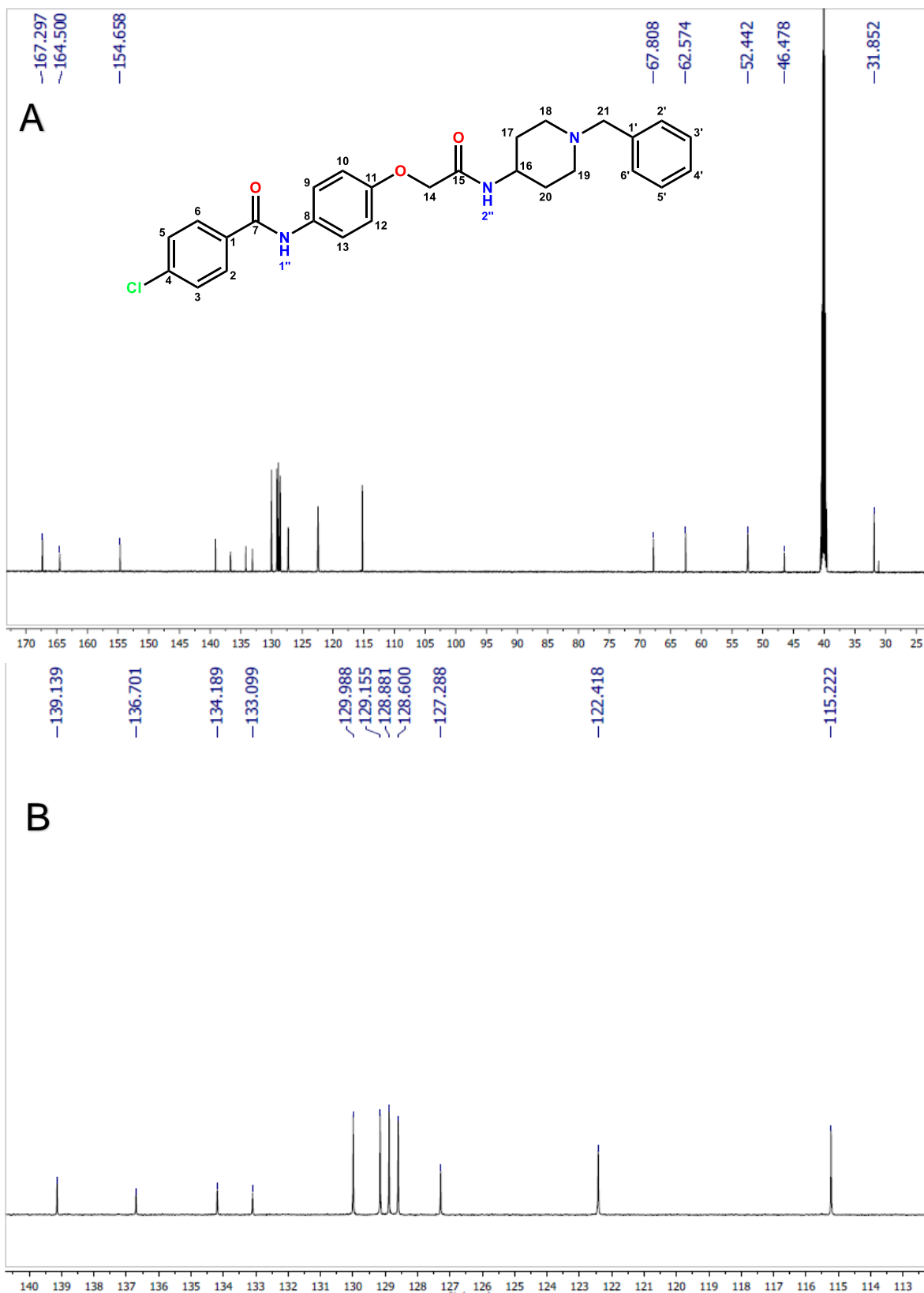
Espectro 5. Espectro de RMN ¹H (600MHz, DMSO d₆) del compuesto **MMJ-2**



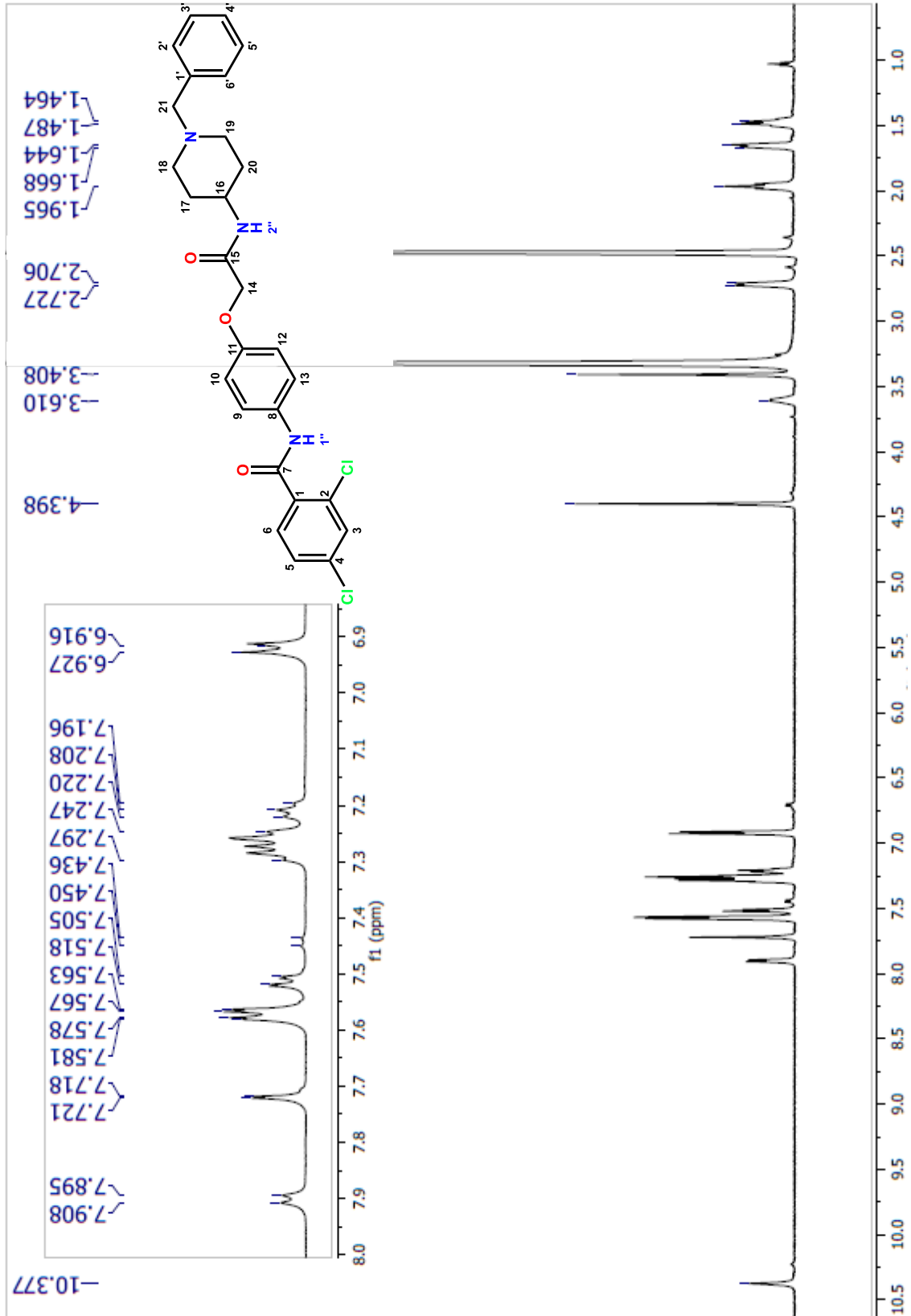
Espectro 6. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO d_6 , 150 MHz) del compuesto **MMJ-2**
(A región alifática y B región aromática)



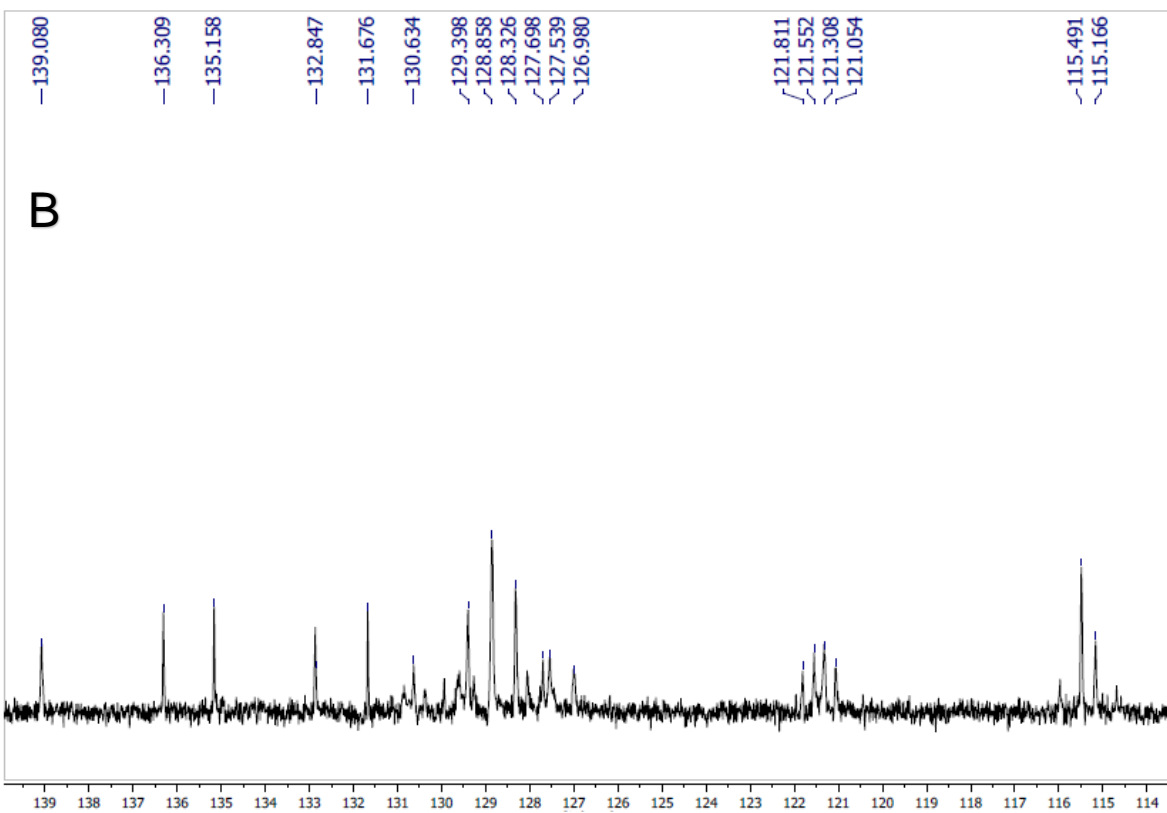
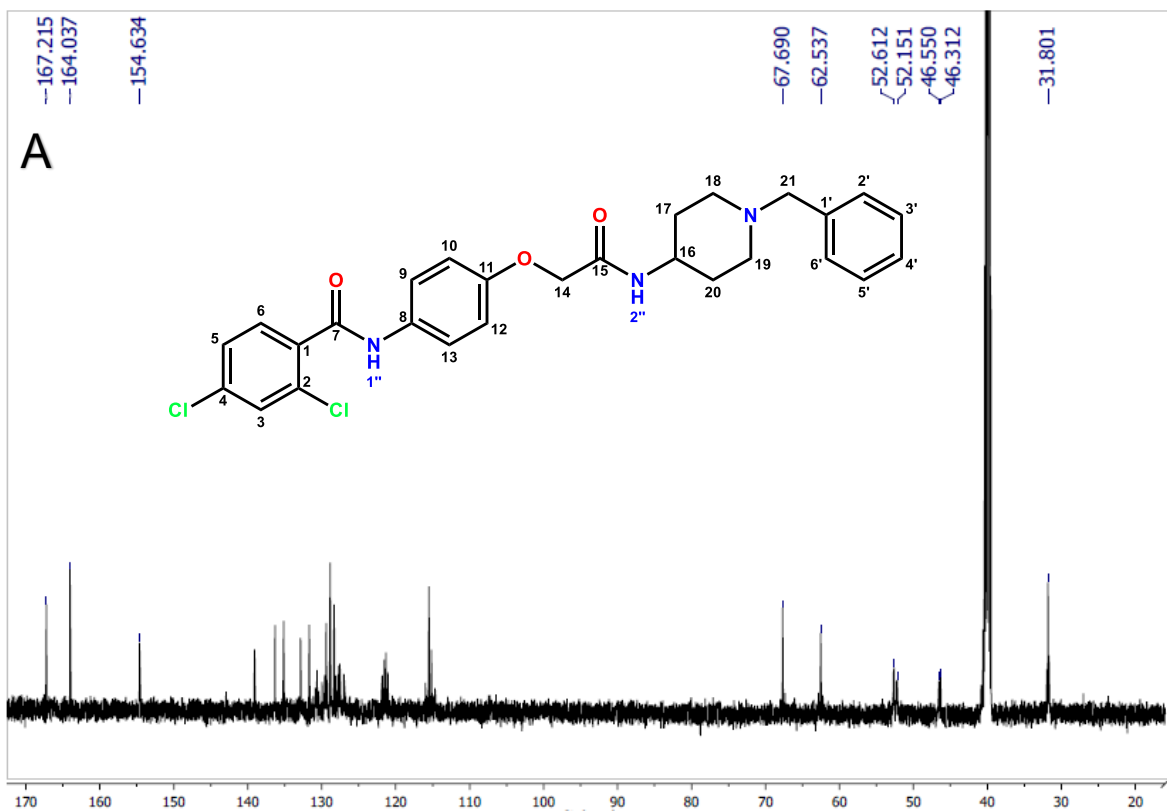
Espectro 7. Espectro de RMN ¹H (600MHz, DMSO *d*₆) del compuesto **MMJ-3**



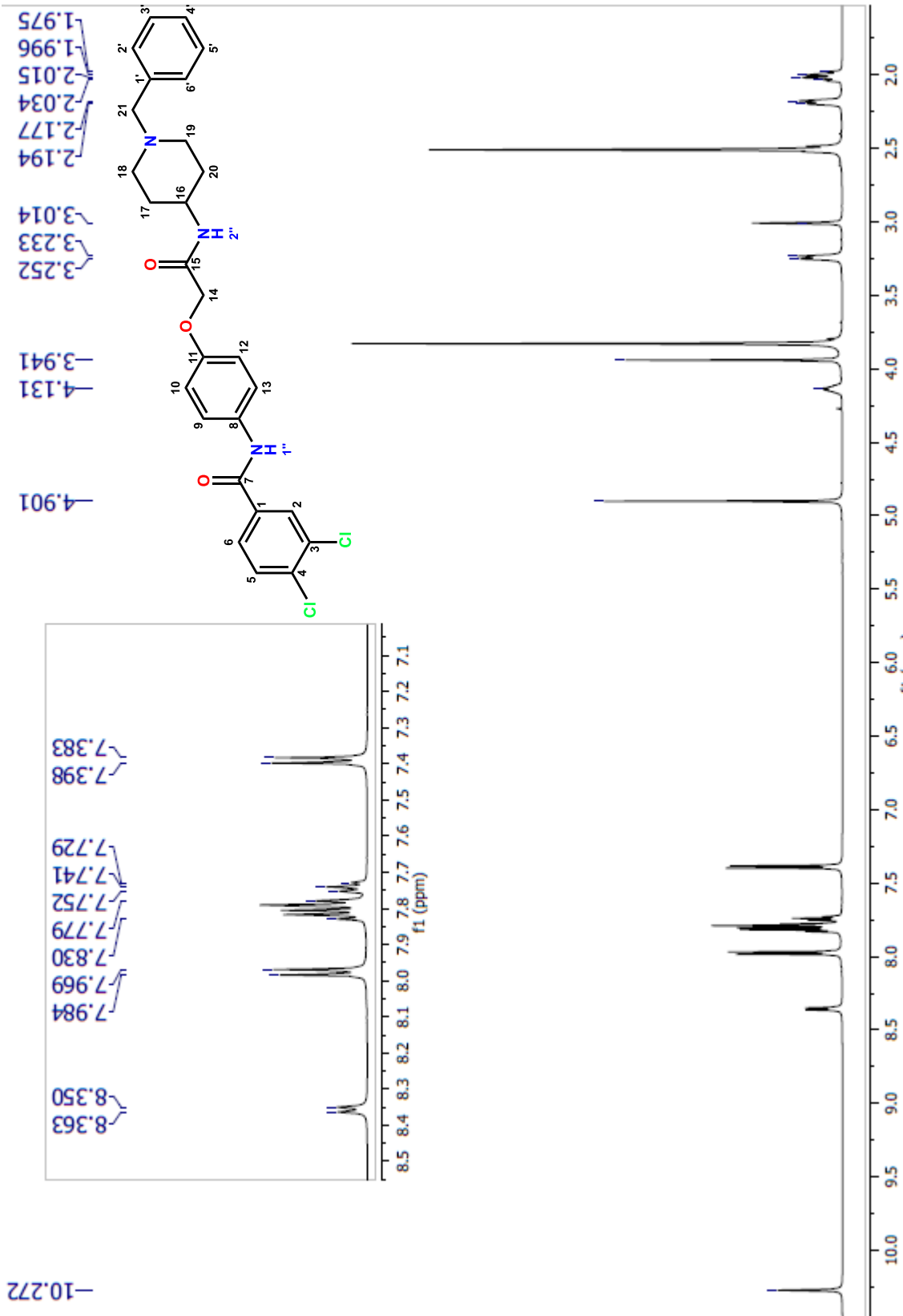
Espectro 8. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO d_6 , 150 MHz) del compuesto **MMJ-3**
(A región alifática y B región aromática)



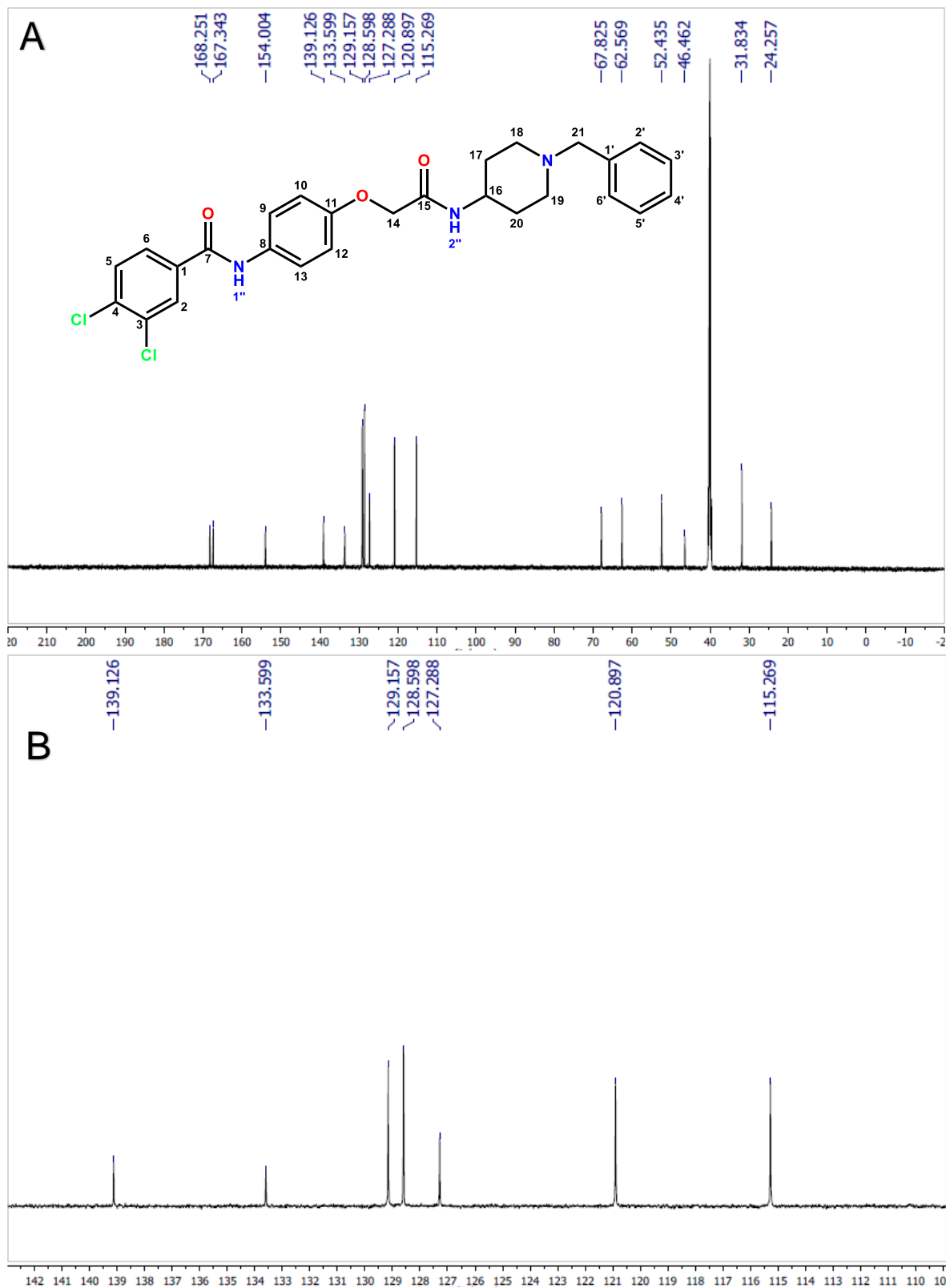
Espectro 9. Espectro de RMN ^1H (600MHz, DMSO d_6) del compuesto **MMJ-4**



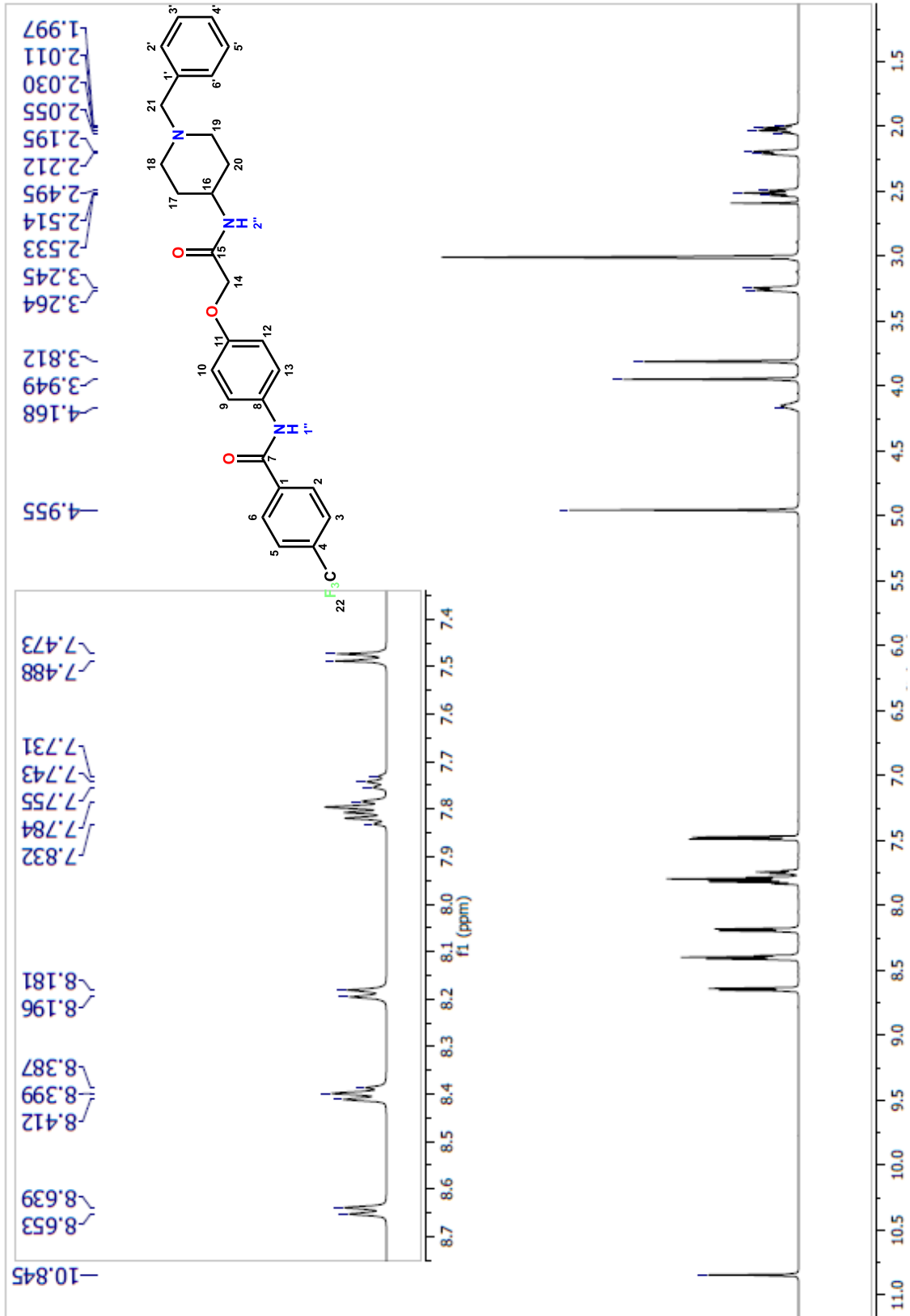
Espectro 10. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO d_6 , 150 MHz) del compuesto **MMJ-4**
(A región alifática y B región aromática)



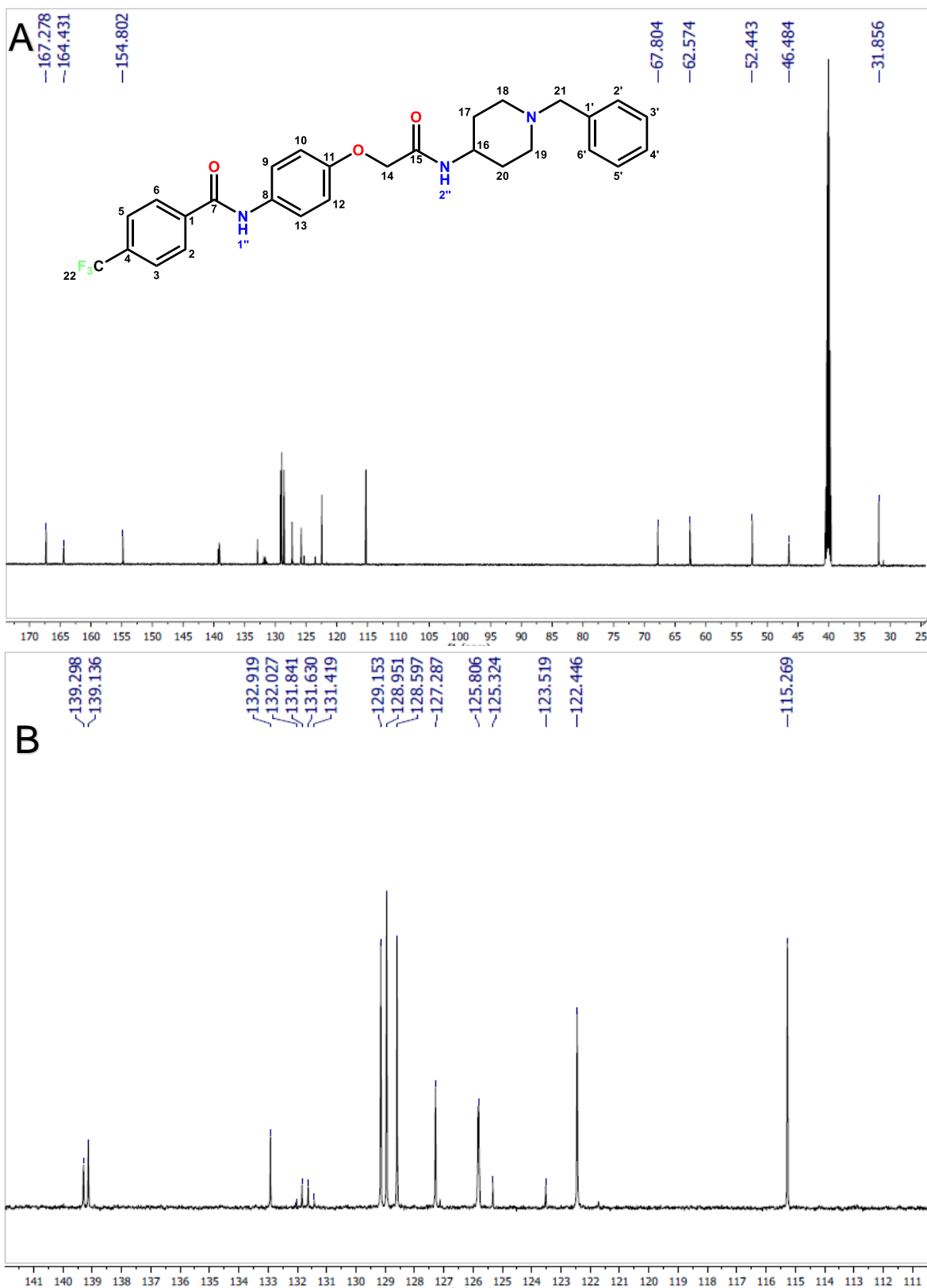
Espectro 11. Espectro de RMN ^1H (600MHz, DMSO d_6) del compuesto **MMJ-5**



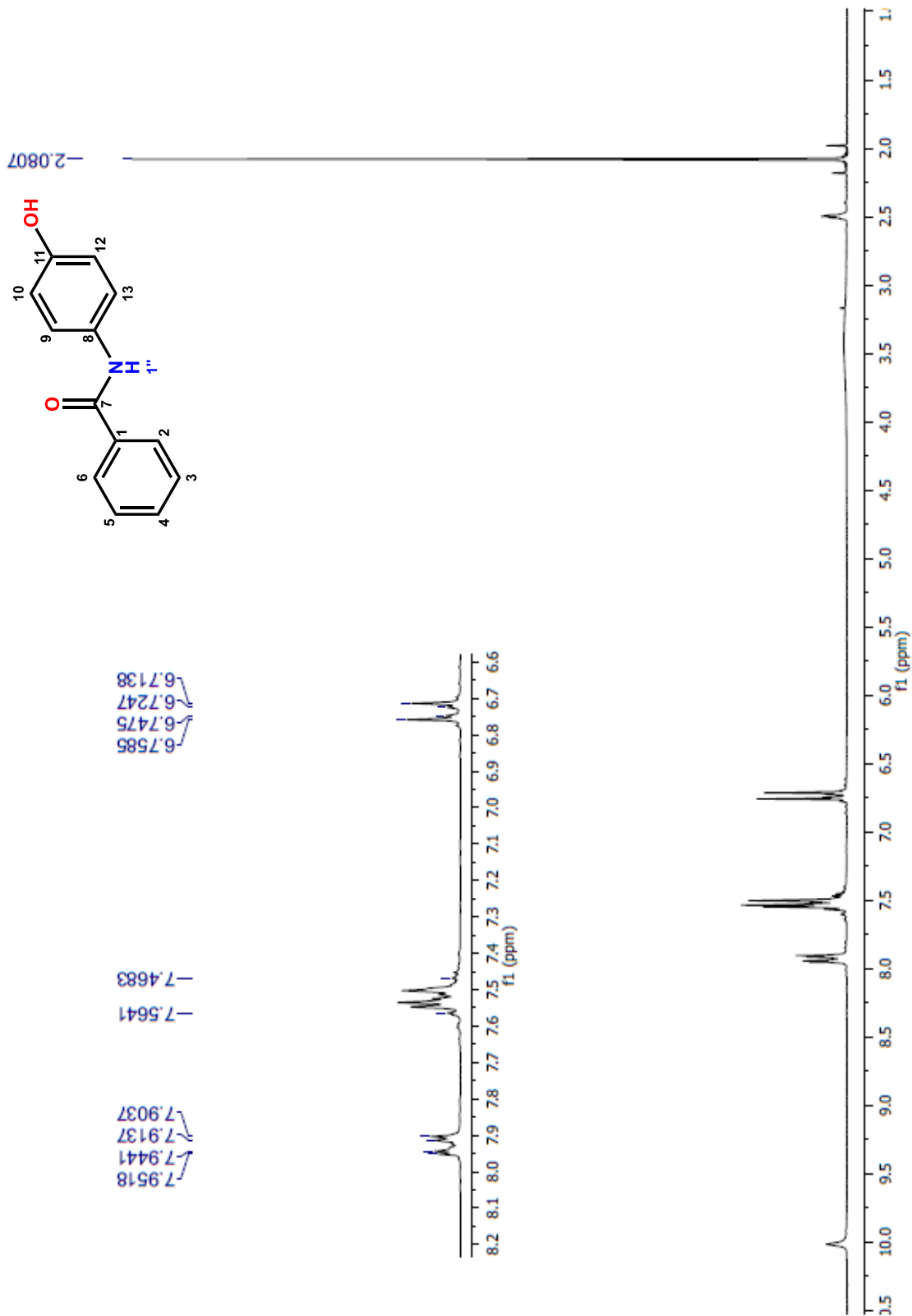
Espectro 12. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO d_6 , 150 MHz) del compuesto **MMJ-5**
(A región alifática y B región aromática)



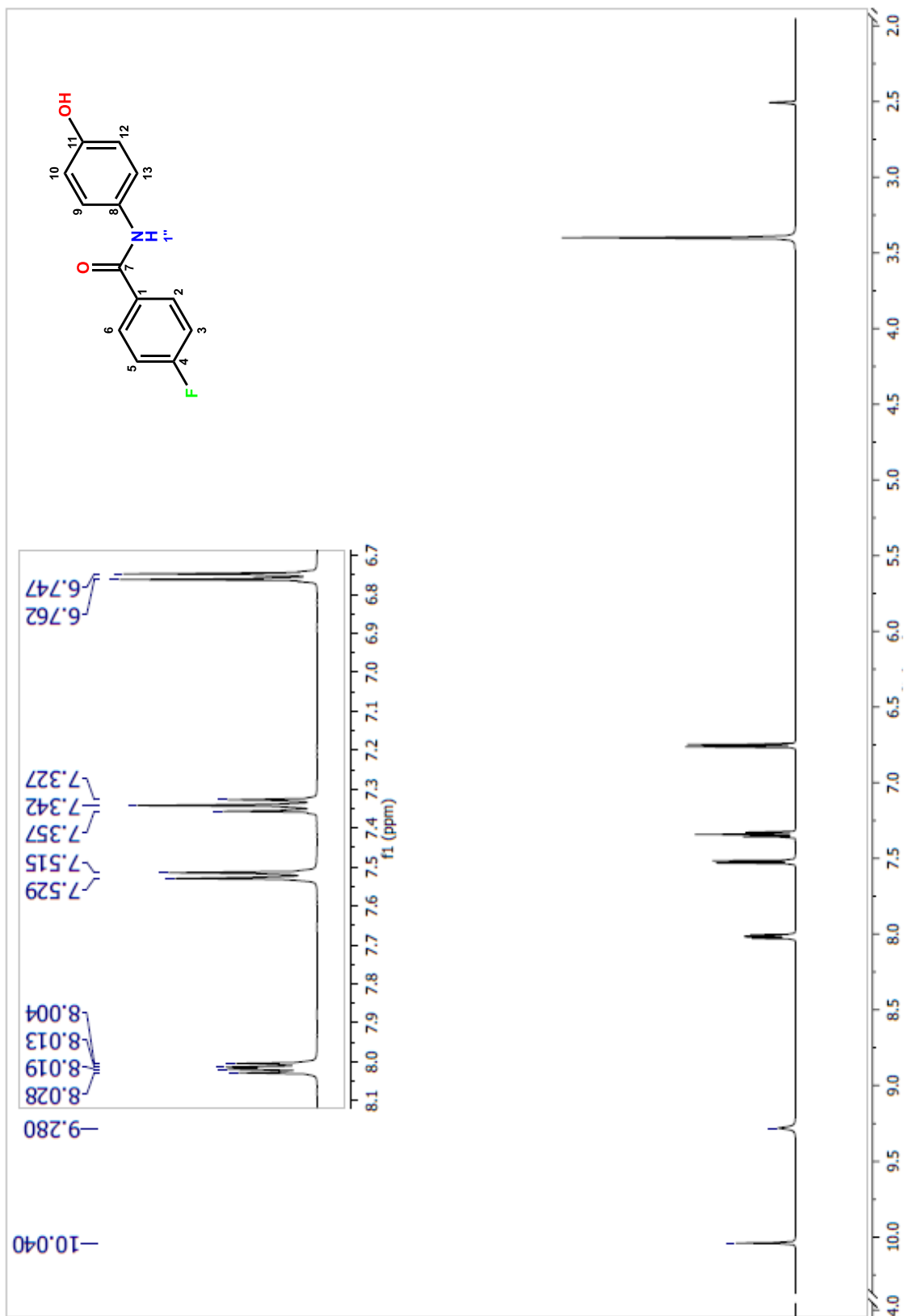
Espectro 13. Espectro de RMN ¹H (600MHz, DMSO *d*₆) del compuesto **MMJ-6**



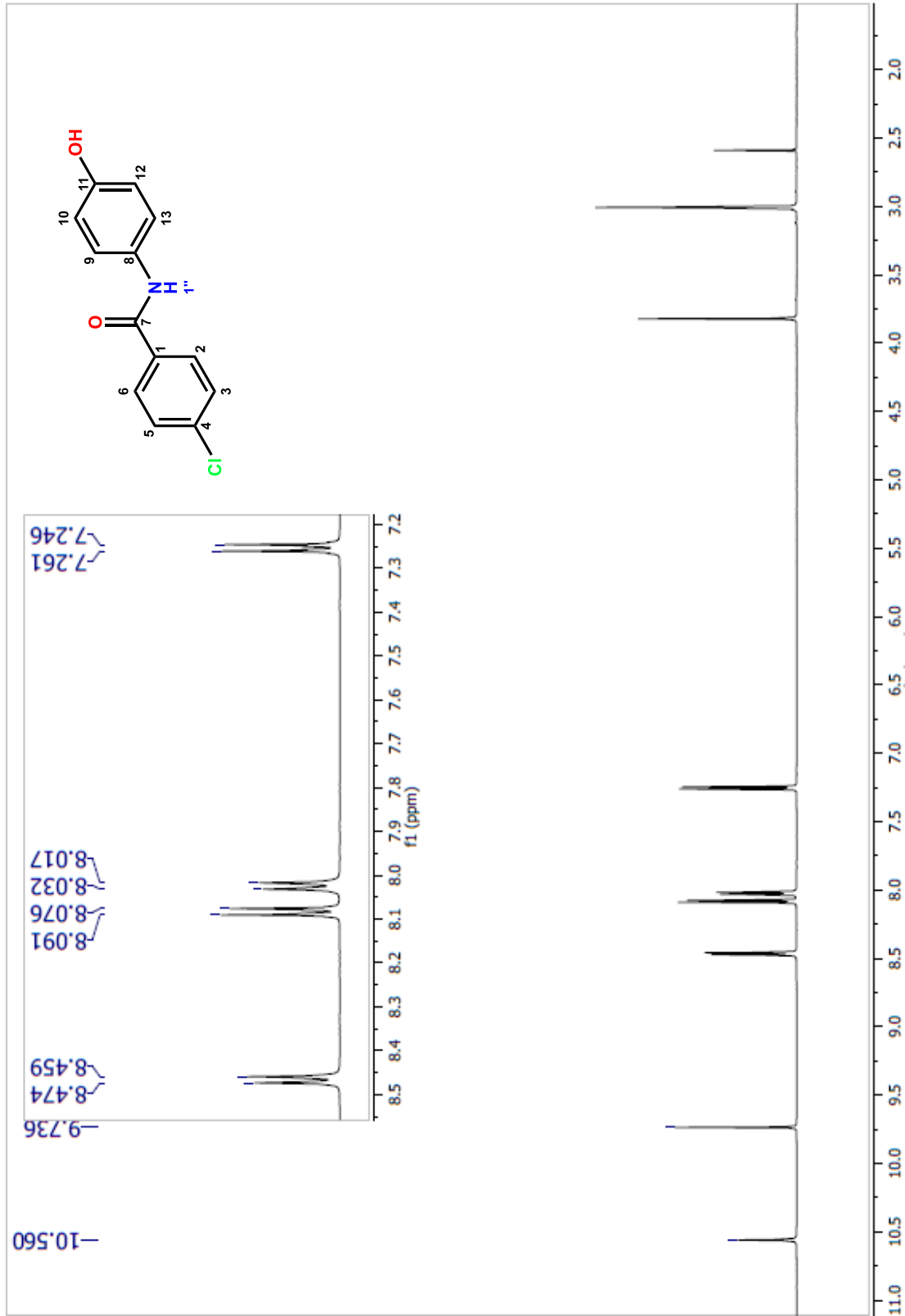
Espectro 14. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO d_6 , 150 MHz) del compuesto **MMJ-5**
(A región alifática y B región aromática)



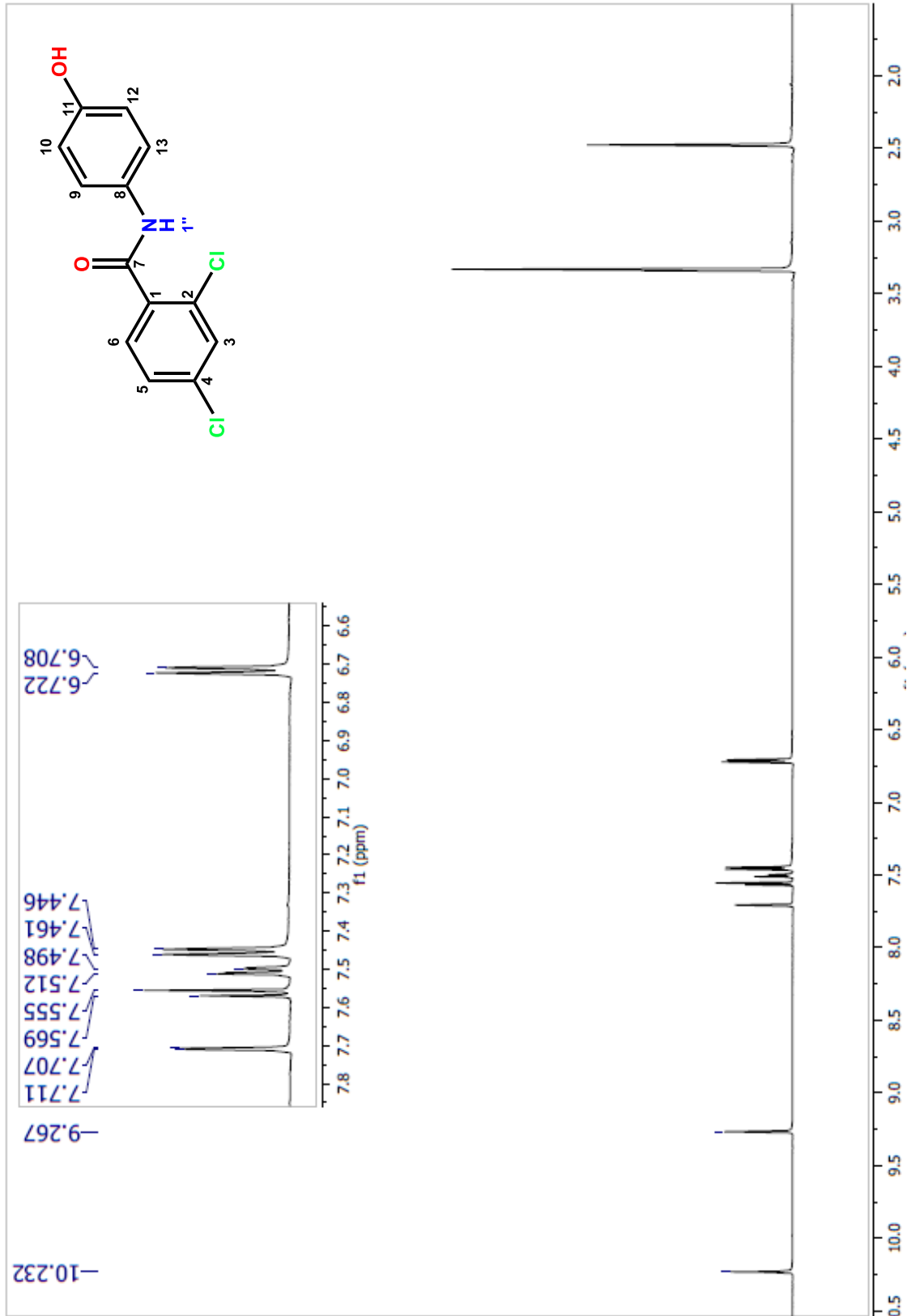
Espectro 15. Espectro de RMN ¹H (600MHz, DMSO d₆) del compuesto **MMJ-15**



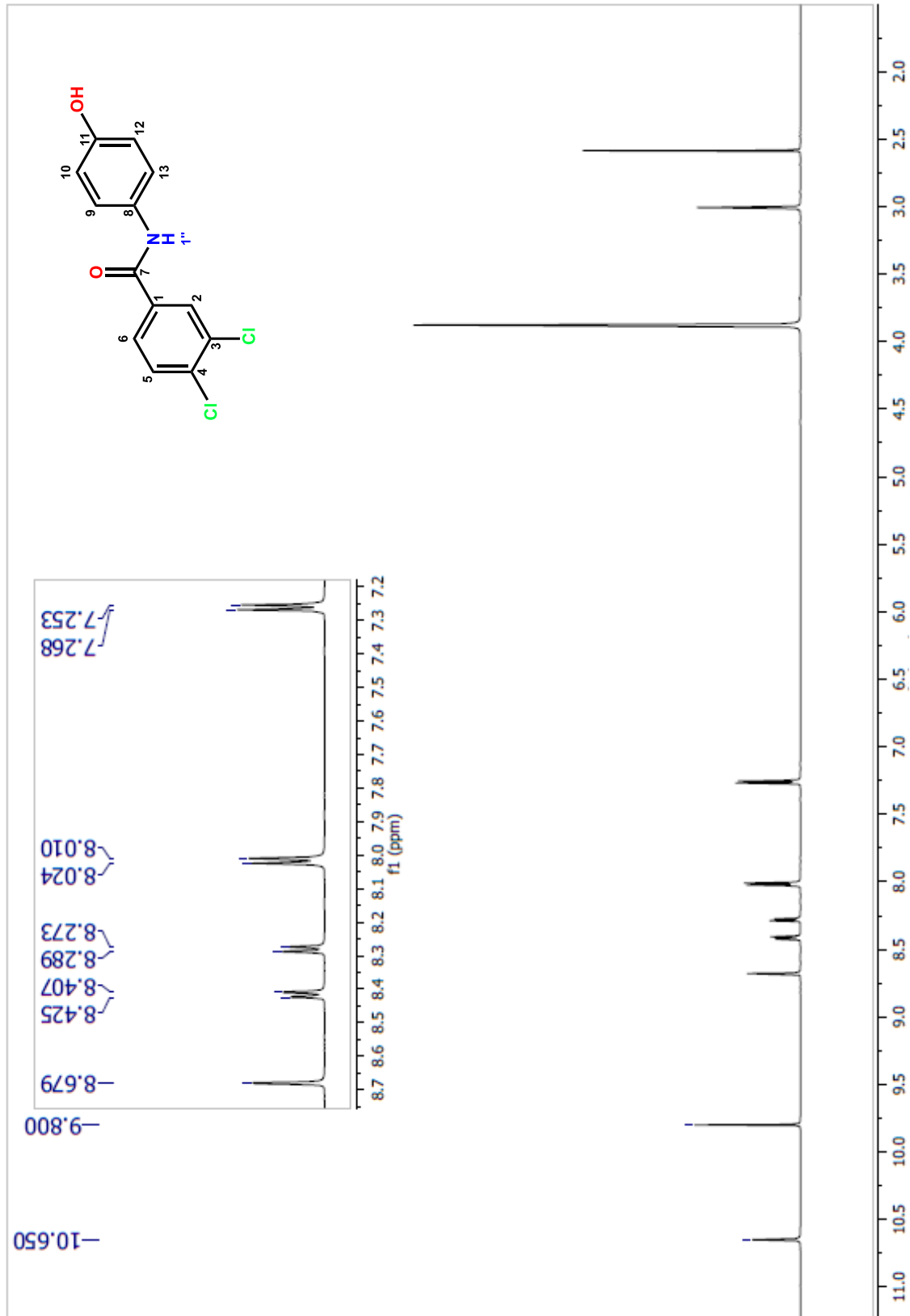
Espectro 16. Espectro de RMN ¹H (600MHz, DMSO *d*₆) del compuesto **MMJ-16**



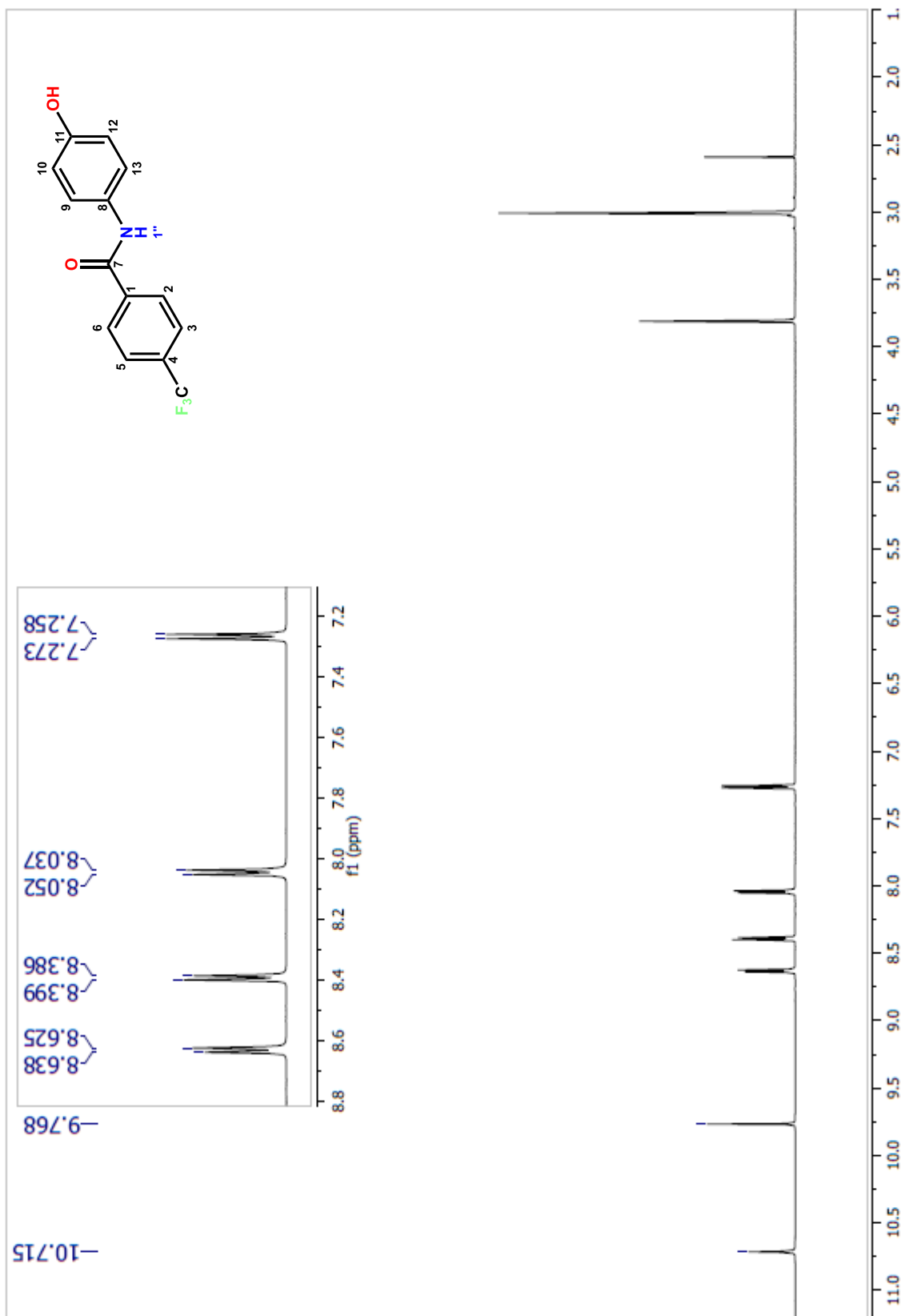
Espectro 17. Espectro de RMN ¹H (600MHz, DMSO *d*₆) del **compuesto MMJ-17**



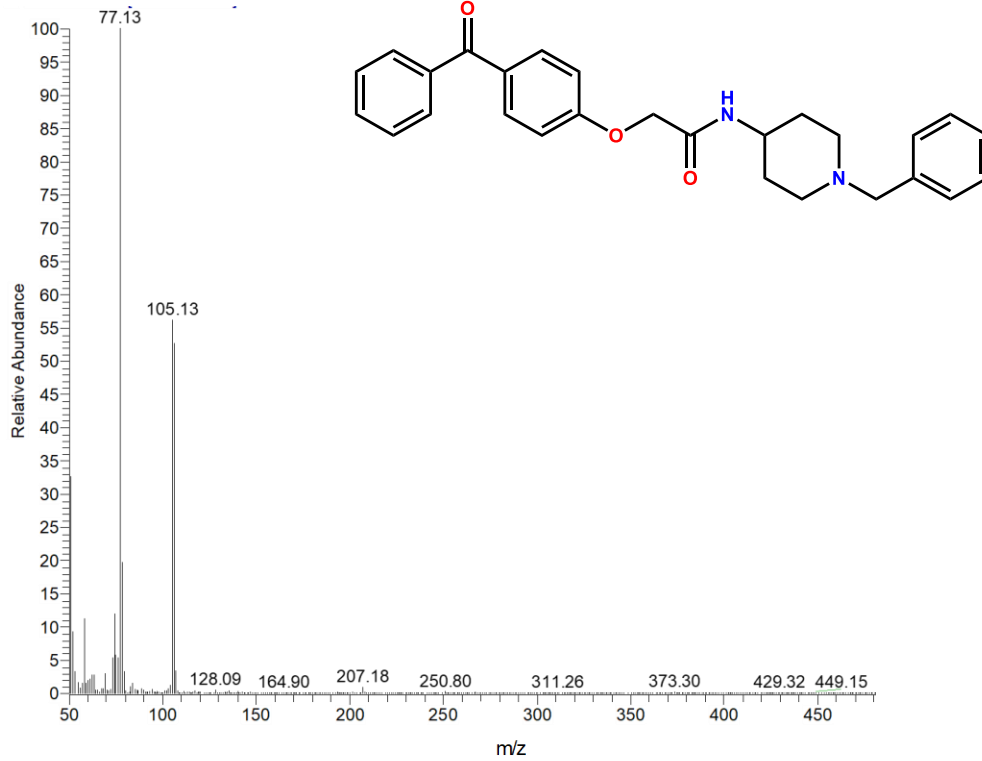
Espectro 18. Espectro de RMN ^1H (600MHz, DMSO d_6) del compuesto **MMJ-18**



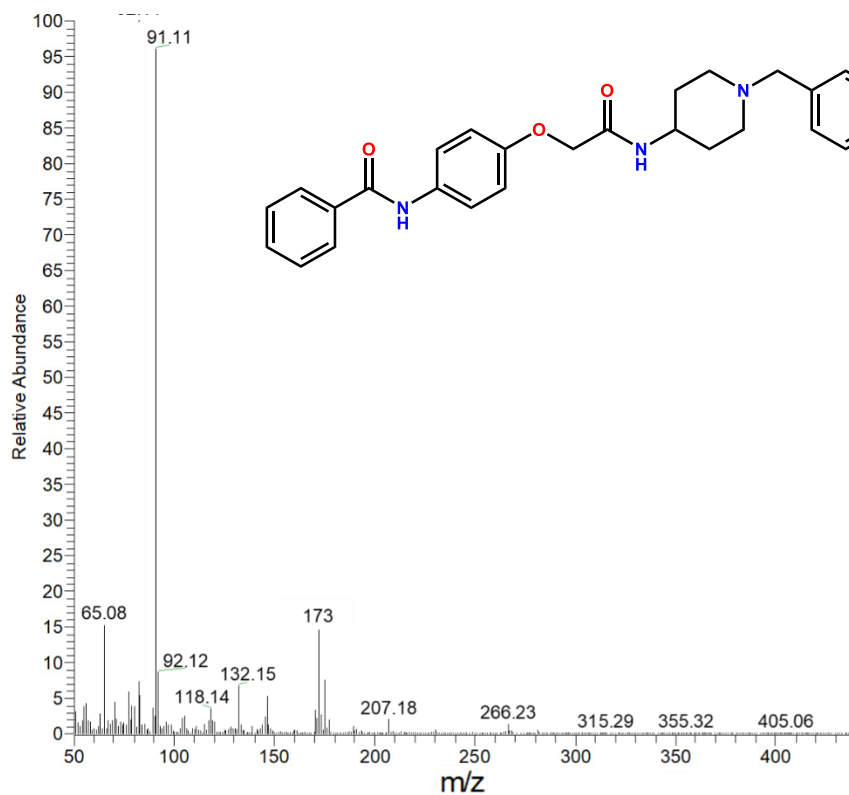
Espectro 19. Espectro de RMN ^1H (600MHz, DMSO d_6) del compuesto **MMJ-19**



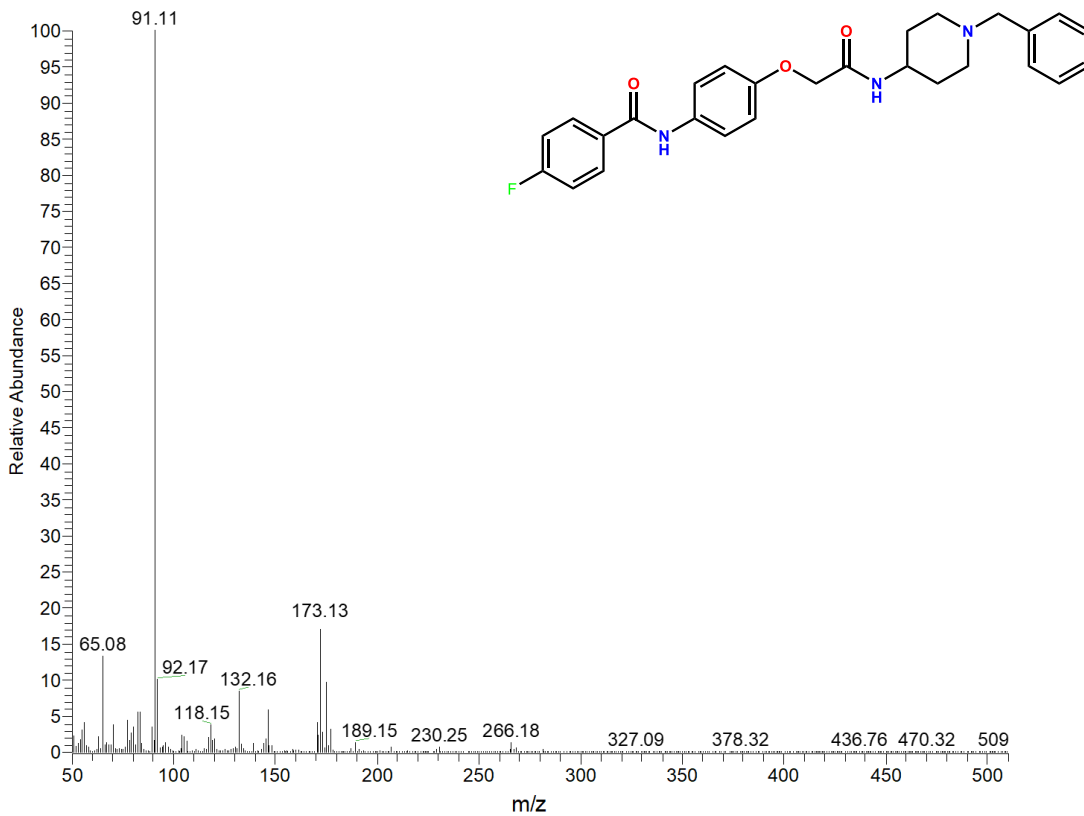
Espectro 20. Espectro de RMN ¹H (600MHz, DMSO *d*₆) del compuesto **MMJ-20**



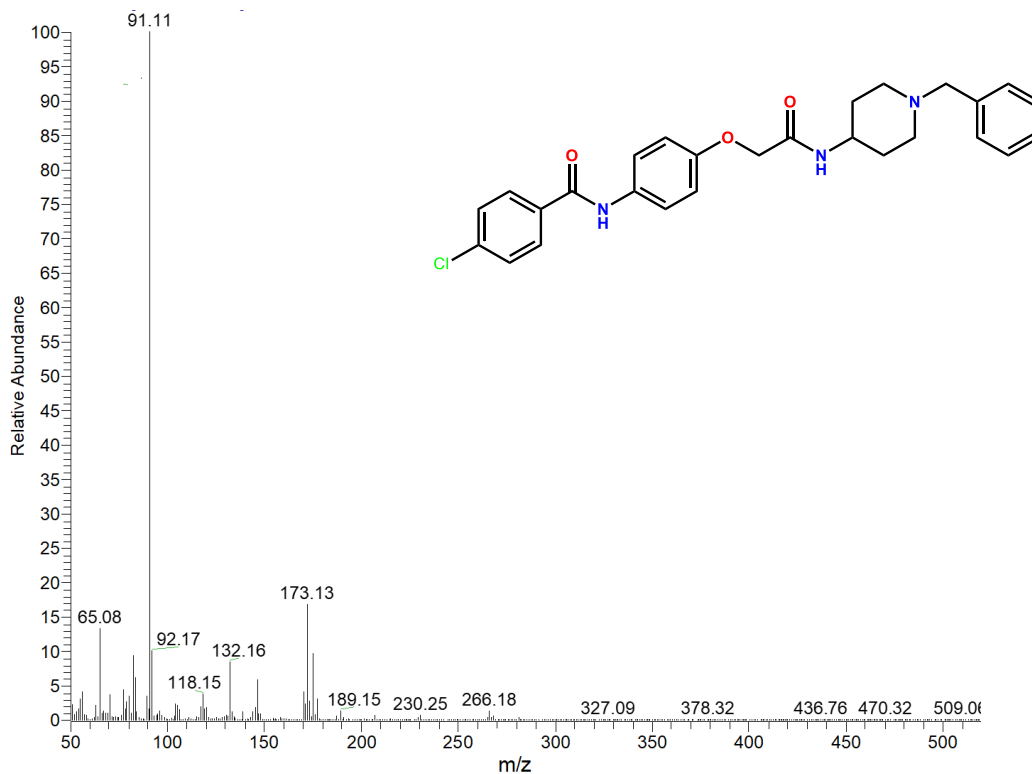
Espectro 21. Patrón de fragmentación de AdipoRon modalidad IE.



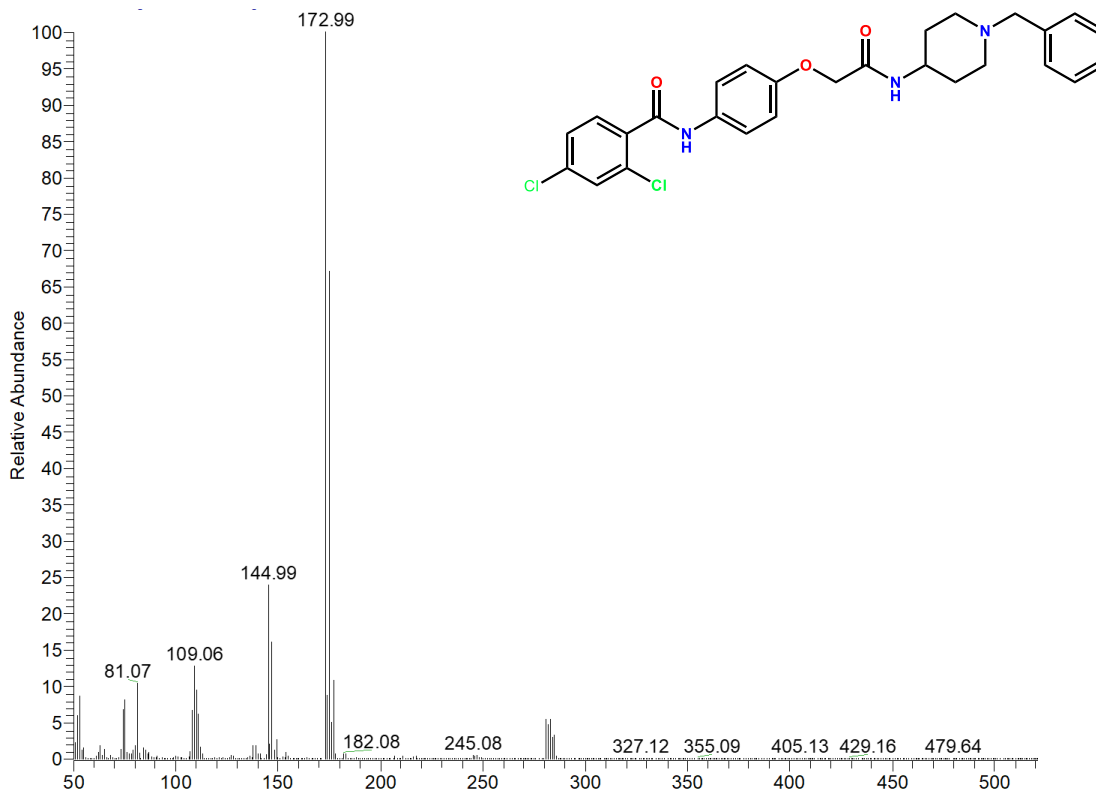
Espectro 22. Patrón de fragmentación del compuesto **MMJ-1** modalidad IE



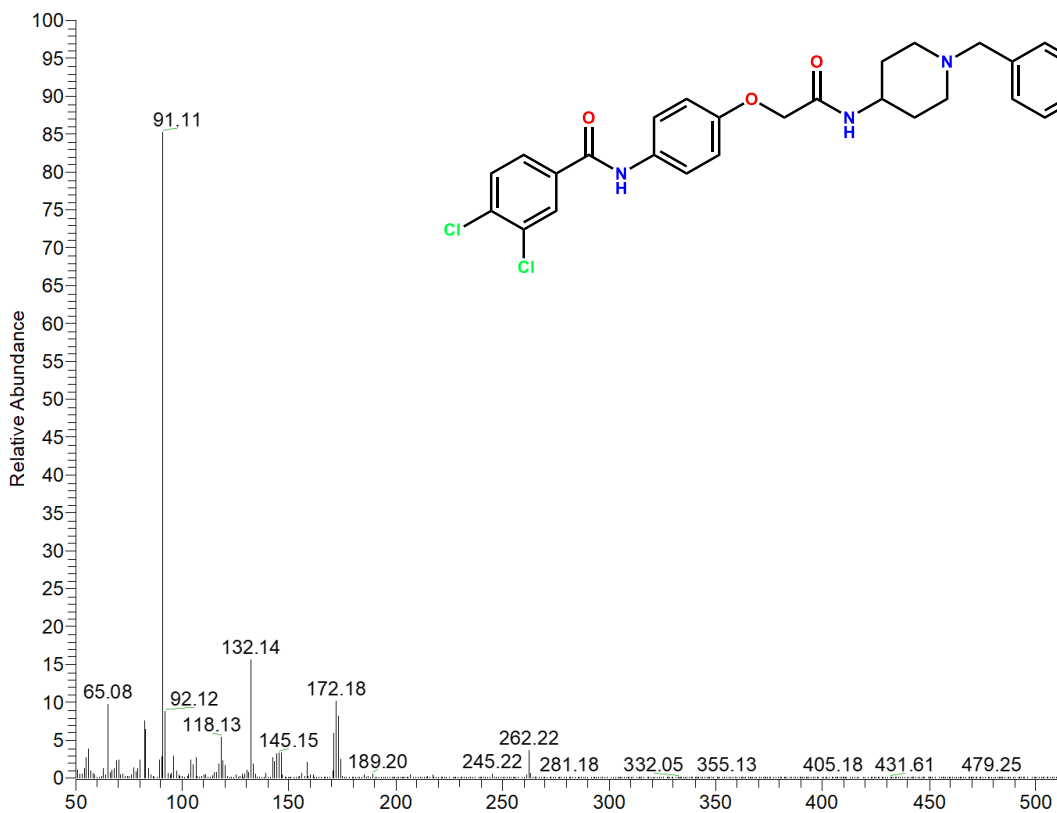
Espectro 24. Patrón de fragmentación del compuesto **MMJ-2** modalidad IE



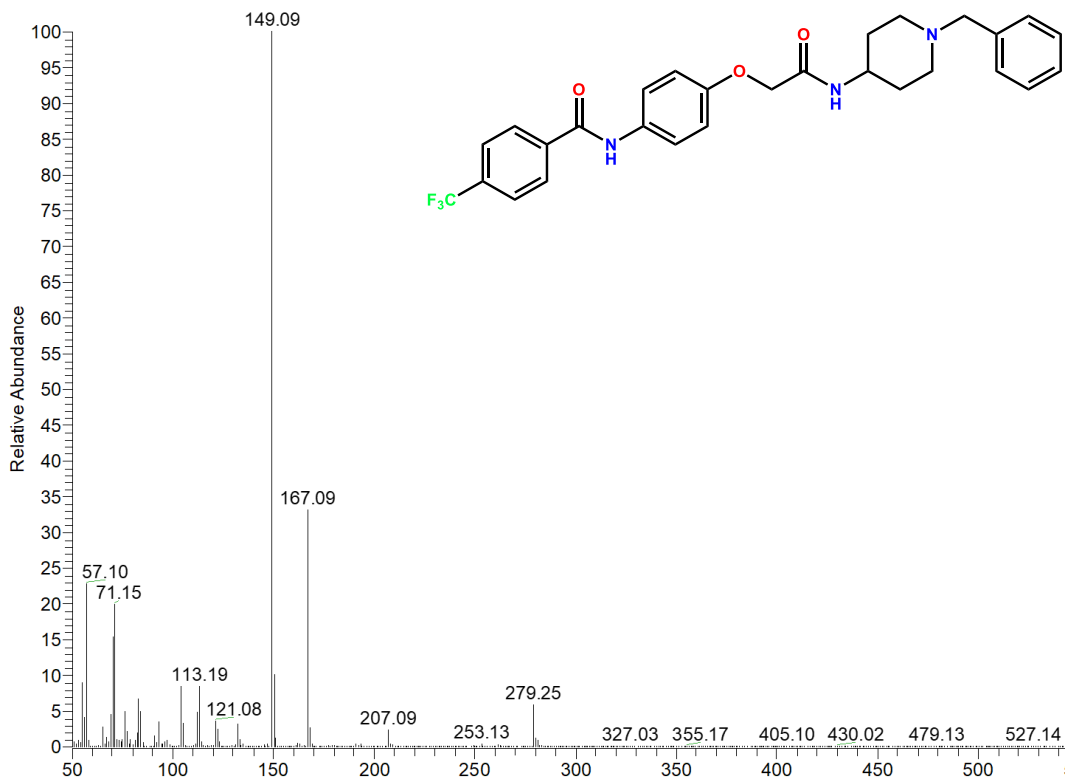
Espectro 23. Patrón de fragmentación del compuesto **MMJ-3** modalidad IE



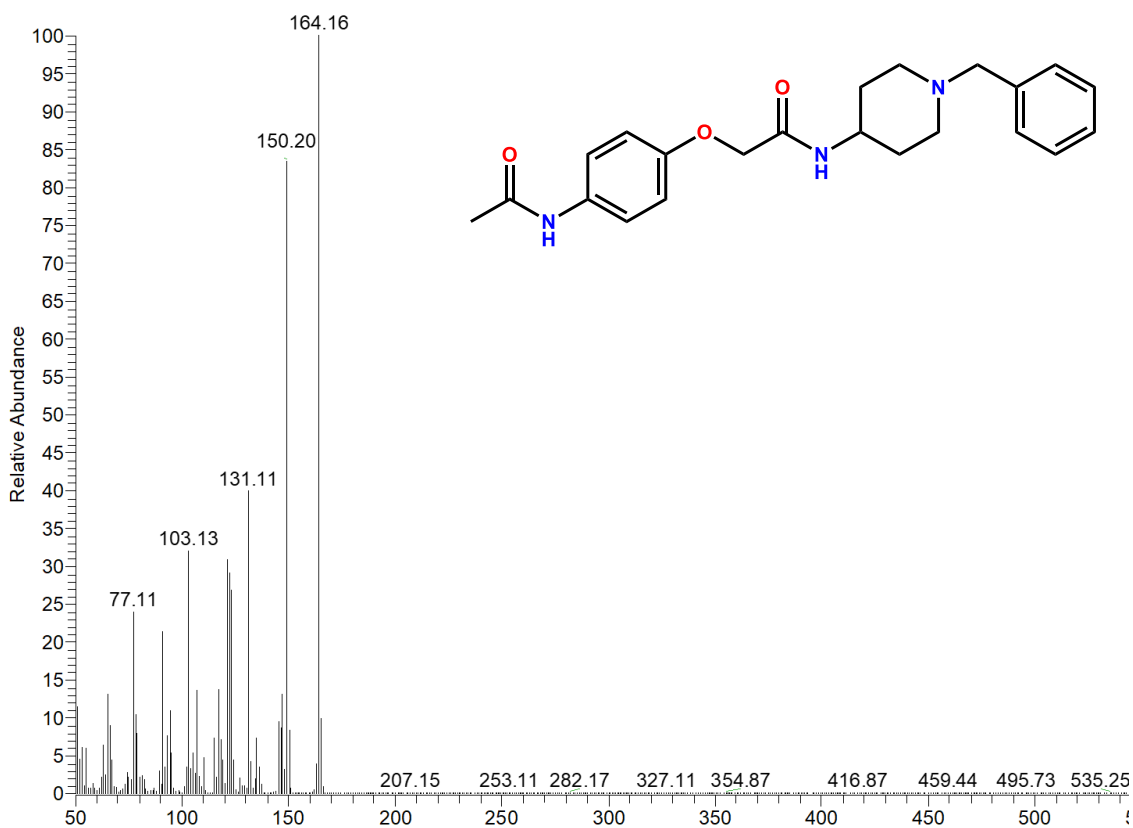
Espectro 26. Patrón de fragmentación del compuesto **MMJ-4** modalidad IE



Espectro 25. Patrón de fragmentación del compuesto **MMJ-5** modalidad IE



Espectro 28. Patrón de fragmentación del compuesto **MMJ-6** modalidad IE



Espectro 27. Patrón de fragmentación del compuesto **MMJ-7** modalidad IE

13. BIBLIOGRAFÍA

- (1) International Diabetes Federation. *Atlas de La Diabetes de La Federación Internacional de Diabetes*; 2017.
- (2) Organización Mundial de la Salud. *Datos y Cifras Sobre La Diabetes: Infografías*; 2019.
- (3) International Diabetes Federation. Complicaciones de la Diabetes mellitus tipo 2 <http://www.idf.org/node/26454?language=es>.
- (4) Kadowaki, T.; Yamauchi, T. Adiponectin and Adiponectin Receptors. *Endocr. Rev.* **2005**, 26 (3), 439–451.
- (5) Okada-Iwabu, M.; Yamauchi, T.; Iwabu, M.; Honma, T.; Hamagami, K. I.; Matsuda, K.; Yamaguchi, M.; Tanabe, H.; Kimura-Someya, T.; Shirouzu, M.; et al. A Small-Molecule AdipoR Agonist for Type 2 Diabetes and Short Life in Obesity. *Nature* **2013**, 503 (7477), 493–499.
- (6) Conget, I. Diagnóstico, Clasificación y Patogenia de La Diabetes Mellitus . Sociedad Española de Cardiología. *Rev. Española Cardiol.*
- (7) American Diabetes Association. Gestational Diabetes <http://www.diabetes.org/diabetes-basics/gestational/?referrer=https://www.google.com.mx/>.
- (8) Federation, I. D. *IDF Diabetes Atlas - 2019*; 2019.
- (9) Rojas Graciela. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2016. *Univ. Chile* **2013**, 2016 (Ensanut), 1–154.
- (10) Diario Oficial de la Federación Secretaría de gobierno. NORMA Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, Para La Prevención, Tratamiento y Control de La Diabetes Mellitus.
- (11) Díaz, O.; Cabrera, E.; Orlandi, N.; Araña, M.; Díaz-Horta, O. Aspectos Epidemiológicos de La Prediabetes, Diagnóstico y Clasificación. *Rev. Cuba. Endocrinol.* **2011**, 22 (1), 3–10.
- (12) Kahn, S. E.; Cooper, M. E.; Del Prato, S. Pathophysiology and Treatment of Type 2 Diabetes: Perspectives on the Past, Present, and Future. *Lancet (London, England)* **2014**, 383 (9922), 1068–1083.
- (13) Hoang Do, O.; Thorn, P. Insulin Secretion from Beta Cells within Intact Islets: Location Matters. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **2015**, 42 (4), 406–414.
- (14) Cantley, J.; Ashcroft, F. M. Q&A: Insulin Secretion and Type 2 Diabetes: Why Do β -Cells Fail? *BMC Biol.* **2015**, 13 (1), 1–7.
- (15) Mancini, A. D.; Poitout, V. The Fatty Acid Receptor FFA1/GPR40 a Decade Later: How Much Do We Know? *Trends Endocrinol. Metab.* **2013**, 24 (8), 398–407.

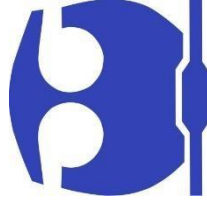
- (16) Olivares Reyes, J. A.; Arellano Plancarte, A. Bases Moleculares de Las Acciones de La Insulina. *Reb* **2008**, 27 (1), 9–18.
- (17) Castillo Barcias, J. A. Mellitus Tipo 2 (DM2). *Fisiopatol. la diabetes Mellit. tipo 2* **2000**, 2, 18–21.
- (18) Organizacion Panamericana de la Salud. *Guías ALAD de Diagnóstico, Control y Tratamiento de La Diabetes Mellitus Tipo 2*; 2008.
- (19) Hollander, P. A Review of Type 2 Diabetes Drug Classes. *US Endocrinol.* **2008**, 4 (1), 58–61.
- (20) Hauner, H. The Mode of Action of Thiazolidinediones. *Diabetes. Metab. Res. Rev.* **2002**, 18 (SUPPL. 2), 10–15.
- (21) Elena del Olmo González; Margarita Carrillo Pérez; Susana Aguilera Gumpert. Actualización Del Tratamiento Farmacológico de La Diabetes Mellitus Tipo 2. *Inf Ter Sist Nac Salud* **2008**, 32, 1–16.
- (22) Mudaliar, S.; Polidori, D.; Zambrowicz, B.; Henry, R. R. Sodium-Glucose Cotransporter Inhibitors: Effects on Renal and Intestinal Glucose Transport from Bench to Bedside. *Diabetes Care* **2015**, 38 (12), 2344–2353.
- (23) Okada-Iwabu, M.; Yamauchi, T.; Iwabu, M.; Honma, T.; Hamagami, K. I.; Matsuda, K.; Yamaguchi, M.; Tanabe, H.; Kimura-Someya, T.; Shirouzu, M.; et al. A Small-Molecule AdipoR Agonist Fie Type 2 Diabetes and Short Life in Obesity: Supplementary Information. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2013**, 503 (7477), 5985–5991.
- (24) Ruan, H.; Dong, L. Q. Adiponectin Signaling and Function in Insulin Target Tissues. **2016**, 8, 101–109.
- (25) Miranda-martínez, A.; Mercado-gómez, O. F.; Arriaga-ávila, V.; Guevara-guzmán, R. Distribution of Adiponectin Receptors 1 and 2 in the Rat Olfactory Bulb and the Effect of Adiponectin Injection on Insulin Receptor Expression. **2017**, 2017.
- (26) Kim, Y.; Lim, J. H.; Kim, M. Y.; Kim, E. N.; Yoon, H. E.; Shin, S. J.; Choi, B. S.; Kim, Y.-S.; Chang, Y. S.; Park, C. W. The Adiponectin Receptor Agonist AdipoRon Ameliorates Diabetic Nephropathy in a Model of Type 2 Diabetes. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2018**, 29 (4), 1108–1127.
- (27) Yamauchi, T.; Iwabu, M.; Okada-iwabu, M.; Kadowaki, T. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism Adiponectin Receptors : A Review of Their Structure , Function and How They Work. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* **2014**, 28 (1), 15–23.
- (28) Miranda-Martínez, A.; Mercado-Gómez, O. F.; Arriaga-Ávila, V.; Guevara-Guzmán, R. Distribution of Adiponectin Receptors 1 and 2 in the Rat Olfactory Bulb and the Effect of Adiponectin Injection on Insulin Receptor Expression. *Int. J. Endocrinol.* **2017**, 2017, 1–9.



- (29) Okada-Iwabu, M.; Yamauchi, T.; Iwabu, M.; Honma, T.; Hamagami, K.; Matsuda, K.; Yamaguchi, M.; Tanabe, H.; Kimura-Someya, T.; Shirouzu, M.; et al. A Small-Molecule AdipoR Agonist for Type 2 Diabetes and Short Life in Obesity. *Nature* **2013**, *503* (7477), 493–499.
- (30) Mcmurry, J. *Química Orgánica*; 2008.
- (31) Di, L.; Kerns, E. H. *Drug-Like Properties: Concepts, Structure, Design and Methods from ADME to Toxicity Optimization*, 2da edición.; 2014.
- (32) Department for Bioinformatics Laboratory for Structure-Function Based Drug Design. Way 2Drug; PASS Online <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/>.
- (33) Yang, H.; Lou, C.; Sun, L.; Li, J.; Cai, Y.; Wang, Z.; Li, W.; Liu, G.; Tang, Y. AdmetSAR 2.0: Web-Service for Prediction and Optimization of Chemical ADMET Properties. *Bioinformatics* **2019**, *35* (6), 1067–1069.
- (34) Medina-Franco, J. L.; Fernán-Dezde Gortari, E.; Jesús Naveja, J. Avances En El Diseño de Fármacos Asistido Por Computadora. *Educ. Quim.* **2015**, *26* (3), 180–186.
- (35) Medina-Franco, J. L.; Lopez-Vallejo, F.; Castillo, R. Diseño de Farmacos Asistidos Por Computadora. *Educ. Química* **2006**, *17*, 452–457.
- (36) Trott, O.; Olson, A. Autodock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking. *J. Comput. Chem.* **2010**, *31* (2), 455–461.
- (37) Martínez Conde, C. Preparación y Evaluación de Análogos de Fenformina y AdipoRon, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 2018.
- (38) Riss, T. L.; Moravec, R. A.; Niles, A. L.; Duellman, S.; Benink, H. A.; Worzella, T. J.; Minor, L. Cell Viability Assays. *Assay Guid. Man.* **2004**, No. Md, 1–25.



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Química



Otorga la presente:

Constancia

A:

Josué Martínez Miranda, Jaime Escalante García, Gabriel Navarrete Vázquez

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

"Diseño y síntesis de análogos de AdipoRon y la evaluación de su actividad antidiabética in silico"

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

"Por Mi Raza Hablará El Espíritu"

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

Dr. Andrés Navarrete Castro
Jefe Depto. De Farmacia

Dr. Alfonso S. Lira Rocha
Comité Organizador



"INNOVACIÓN Y DESARROLLO FARMACÉUTICO
CON IMPACTO EN LA SALUD Y BIENESTAR DE LA POBLACIÓN"

LI Congreso Nacional de CIENCIAS FARMACÉUTICAS



La Asociación Farmacéutica Mexicana. A.C.

otorga el presente

RECONOCIMIENTO a:

Josue Martinez Miranda, Jaime Escalante Garcia, Gabriel Navarrete Vázquez

**Por la presentación del trabajo:
Diseño, síntesis de analogos de AdipoRon y su actividad antidiabética**

Dr. Efrén Hernández Baltazar
Presidencia de la Asociación Farmacéutica Mexicana, A. C.

Septiembre 2018, Puerto Vallarta, Jalisco.

Dra. Verónica Rodríguez López
Dirección de Ciencia y Tecnología de la Asociación Farmacéutica Mexicana, A. C.



International
Pharmaceutical
Students Federation



LA FEDERACIÓN FARMACÉUTICA MEXICANA A.C.

FEFARMEX

A través de la sección Estado de México
Otorga la Presente

RECONOCIMIENTO

A: Josué Martínez Miranda

Por su destacada participación en la presentación de trabajos de investigación modalidad póster con el cartel titulado "Síntesis alternativa de AdipoRon y una serie de análogos con potencial actividad antidiabética" durante la realización del 4^{to} Simposio Nacional para la Integración Farmacéutica: "Revolucionando al Profesional Farmacéutico"

Del 22 al 26 de octubre de 2019 en la Ciudad de Toluca, Estado de México.

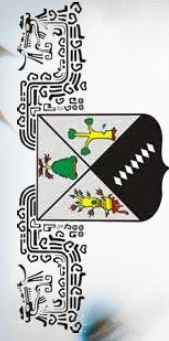
L.F Harim Ernesto González Pech
Presidente de la Federación
Farmacéutica Mexicana
FEFARMEX A.C.

Q.F Edwin Daniel Rivera Sánchez
Secretario de la Oficina Regional
Panamericana de la International
Pharmaceutical Students Federation.

Q.F.B Alexander Jair Hinojosa Jimenez
FEFARMEX

Coordinador de la sección Estado de
México de la Federación Farmacéutica
Mexicana FEFARMEX A.C.





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Academia Mexicana de Química Orgánica

Universidad Autónoma del Estado de Morelos

otorgan la presente

Constancia a

Josué Martínez Miranda, Jaime Escalante García, Gabriel Navarrete Vázquez

Por la presentación del cartel

Diseño, síntesis de análogos de AdipoRon y evaluación antidiabética *in silico*

En el marco de la XV Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica celebrada los días 11 y 12 de abril de 2019 en la ciudad de Cuernavaca, Mor.

Dra. Ma. Guadalupe Hernández Linares
Presidente de la AMQO

Dr. Ivan Omar Romero Estudillo
Comité Organizador Local

