



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

“DISEÑO, CARACTERIZACIÓN ANTIDIABÉTICA Y FARMACODINÁMICA
IN SILICO DE ÁCIDOS 3-(4-BENCILOXIFENIL)PROPANOICOS”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN FARMACIA

PRESENTA:

WENDY YASMIN ARRATIA DAMIAN

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JUAN GABRIEL NAVARRETE VÁZQUEZ

ASESOR TÉCNICO:

MF. CARLOS MARTÍNEZ CONDE



CUERNAVACA MORELOS 2022



AGRADECIMIENTOS

- A CONACyT por el apoyo otorgado para el proyecto de investigación en ciencia básica 2015, numero 253814.
- Al financiamiento interno otorgado por la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM) para la realización de este proyecto.
- Al Gobierno del Estado de Morelos por la beca otorgada durante el periodo 2017- 2018.
- Al comité revisor de tesis: Dra. Blanca Iris Colín Lozano, Dr. Samuel Enoch Estrada Soto, Dra. Vanesa López Guerrero, Mtra. Martha Hernández Labra y Mtra. Ma. Antonieta Castelló Leyva por las puntuales observaciones y aportaciones, pero sobre todo por el tiempo empleado en la revisión de este proyecto.
- Al L.F. Edgar Rosales Ortega, por su apoyo y guía en la parte computacional y química para realización de esta Tesis
- Al Dr. Emanuel Hernández Núñez del CINVESTAV-Mérida por su colaboración en los análisis espectroscópicos.
- Al M.F. Carlos Martínez Conde, por sus aportaciones y asesoría durante el desarrollo de este proyecto.
- Al Dr. Gabriel Navarrete Vázquez un agradecimiento especial, por haberme permitido trabajar en el Laboratorio 5 de la Facultad de Farmacia, por su confianza y apoyo durante la realización de este proyecto, por enseñarme e inspirarme a querer ser mejor profesionista y persona.



ÍNDICE DE CONTENIDO

ABREVIATURAS	5
ÍNDICE DE COMPUESTOS DISEÑADOS	9
1. INTRODUCCIÓN	10
2. ANTECEDENTES	11
2.1. DEFINICIÓN DE LA DIABETES Y ESTADÍSTICAS	11
2.2. CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES	12
2.3. DIABETES TIPO 2	13
2.4. DIAGNÓSTICO	13
2.5. FISIOPATOLOGÍA DE LA DIABETES	14
2.5.1. <i>Liberación de insulina</i>	14
2.5.2. <i>Resistencia a la insulina</i>	16
2.5.3. <i>Señalización</i>	16
2.6. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO	17
2.6.1. <i>Biguanidas</i>	18
2.6.2. <i>Sulfonilureas</i>	19
2.6.3. <i>Glinidas</i>	20
2.6.4. <i>Inhibidores de la α-glucosidasa</i>	20
2.6.5. <i>Análogos de GLP-1</i>	21
2.6.6. <i>Inhibidores de la dipeptidildipeptidasa-4 (DPP-4)</i>	22
2.6.7. <i>Bloqueadores del co-transportador sodio glucosa tipo 2</i>	23
2.6.8. <i>Tiazolidindionas</i>	24
2.7. BLANCOS TERAPÉUTICOS ACTUALES Y NOVEDOSOS	25
2.7.1. <i>PPAR-γ</i>	25
2.7.2. <i>Agonistas del receptor PPAR-γ</i>	26
2.7.3. <i>GPR40</i>	27
2.7.4. <i>Agonistas del receptor GPR40</i>	28
2.7.5. <i>Aldosa reductasa</i>	30
2.7.6. <i>Inhibidores de aldosa reductasa</i>	31
3. JUSTIFICACIÓN	33
4. HIPÓTESIS	33
5.1. OBJETIVO GENERAL:	33
5.2. OBJETIVOS PARTICULARES:	34
6. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO MOLECULAR	35
6.1. BASES PARA EL DISEÑO MOLECULAR	35
7. DESARROLLO EXPERIMENTAL	37
7.1. PARTE <i>IN SILICO</i>	38
7.1.1. <i>PASS: Predicción del Espectro de Actividad Biológica</i>	38
7.1.2. <i>Swiss TargetPrediction</i>	38
7.1.3. <i>Predicción de las propiedades fisicoquímicas: Molinspiration</i>	39
7.1.4. <i>OSIRIS y DataWarrior: Predicción de propiedades cuasi-fármaco (drug-likeness) y puntaje como fármaco (drug-score)</i>	40
7.1.5. <i>ACD/ToxSuite: Predicción de la toxicidad aguda</i>	41
7.1.6. <i>SwissADME</i>	42
7.1.7. <i>admet-SAR: Predicción de las propiedades de absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad.</i>	42
7.1.8. <i>Dia-DB: Acoplamiento Molecular Inverso sobre 18 dianas terapéuticas de importancia en la DM2</i>	43
7.1.9. <i>Acoplamiento molecular dirigido</i>	44



7.2.	PARTE QUÍMICA	45
7.2.1.	<i>Retrosíntesis</i>	45
7.2.2.	<i>Síntesis química propuesta</i>	45
7.2.2.1.	Metodología general para la síntesis del 3-(4- hidroxifenil)propanoato de metilo (WYA-7)	45
7.2.2.2.	Metodología general para la síntesis de los precursores	46
7.2.2.3.	Metodología general para la síntesis de la serie de compuestos WYA 1-6	46
8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
8.1.	PARTE IN SILICO	47
8.1.1.	<i>PASS: Predicción del Espectro de Actividad Biológica de los compuestos WYA 1-6.</i>	47
8.1.2.	<i>Predicción de la actividad biológica por SwissTarget</i>	48
8.1.3.	<i>Predicción de propiedades fisicoquímicas: Molinspiration</i>	49
8.1.4.	<i>Predicción de propiedades biofarmacéuticas: SWISSADME</i>	50
8.1.5.	<i>Predicción de los efectos tóxicos de los compuestos: ACD/ToxSuite</i>	51
8.1.6.	<i>Predicción de las propiedades cuasi-fármaco y riesgos a la salud: OSIRIS y DataWarrior</i>	52
8.1.7.	<i>Predicción de las propiedades farmacocinéticas: AdmetSAR</i>	54
8.1.8.	<i>Dia-DB: Servidor para la predicción de posibles candidatos a fármacos para el tratamiento de la DM2</i>	55
8.1.9.	<i>Acoplamiento molecular refinado</i>	56
8.1.9.1.	Validación del acoplamiento molecular	57
8.1.9.2.	Acoplamiento molecular sobre GPR40	58
8.1.9.3.	Acoplamiento molecular sobre PPAR γ	59
8.1.9.4.	Acoplamiento molecular sobre aldosa reductasa	61
8.2.	PARTE QUÍMICA	63
8.2.1.	<i>Síntesis del 3-(hidroxifenil)propanoato de metilo (WYA-7)</i>	63
8.2.2.	<i>Síntesis del precursor WYA-11</i>	63
8.3.	IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE LOS COMPUESTOS SINTETIZADOS	64
8.3.1.	ESPECTROSCOPÍA DE RMN 1H Y ^{13}C	64
8.3.2.	<i>Análisis de consenso farmacológico (ACOFA) para la selección de un líder computacional seguro (Safe Lead)</i>	67
9.	CONCLUSIONES	70
10.	PERSPECTIVAS	71
11.	PARTE EXPERIMENTAL	72
11.1.	<i>Equipamiento requerido para la síntesis del compuesto precursor WYA-11.</i>	72
11.3.	<i>Síntesis del 3-(hidroxifenil)propanoato de metilo (WYA-7)</i>	73
11.4.	<i>Síntesis del 3-(4-metilbenciloxifenil)propanoato de metilo (WYA-11).</i>	74
12.	ESPECTROS	75
13.	BIBLIOGRAFÍA	77



ABREVIATURAS

AF	Ácido fenilpropanóico
ADA	<i>American Diabetes Association</i>
FFA	Ácidos grasos libres
ATP	Trifosfato de Adenosina
AR	Aldosa reductasa
PHACA	Análisis de consenso farmacológico ACOFA
K _{ATP}	Canales de potasio dependientes de ATP
CYP450	Citocromo P450
CI ₅₀	Concentración inhibitoria media
CCF	Cromatografía en capa fina
DM	Diabetes Mellitus
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPP-4	Dipeptidil Peptidasa-4
DL ₅₀	Dosis Letal Media
EI	Espectrometría de masas de impacto electrónico
TNF- α	Factor de Necrosis Tumoral α
IDF	Federacion Internacional de la Diabetes
FDA	Food and Drug Administration
PI ₃ K	Fosfatidilinositol-3-cinasa
PLC	Fosfolipasa C
GLUT	Transportador de glucosa
GLUT2	Transportador de glucosa 2
GLUT4	Transportador de glucosa 4
GLP	Péptido Insulinotrópico dependiente de glucosa
GLP-1	Péptido semejante al glucagón tipo 1
GRP40	Receptor acoplado a proteína G tipo 40
GTZs	Glitazonas
G6F	Glucosa-6-fosfato
hERG	<i>Human Ether-a-go-go related gene</i>
IL-6	Interleucina 6
cLogP	Logaritmo del coeficiente de partición calculado
NAD	Nicotinamida adenina dinucleótido
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato (forma reducida)
OMS	Organización Mundial de la Salud
OECD	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico
PM	Peso molecular
PASS	Predictor del espectro de actividad biológica para sustancias



Pa	Probabilidad de actividad
Pi	Probabilidad de inactividad
PDB	Protein Data Bank
FABT	Proteína de unión a ácidos grasos
PTP 1B	Proteína Tirosina Fosfatasa 1B
PTPs	Proteína Tirosina Fosfatasa
FATP	Proteína transportadora de ácidos grasos
PPARs	Receptor Activado por Proliferadores de Peroxisomas
PPAR- γ	Receptor Activado por Proliferadores de Peroxisomas- γ
PPAR- α	Receptor Activado por Proliferadores de Peroxisomas- α
FFAR1	Receptor de ácidos grasos libres tipo 1
IR	Receptor de Insulina
RXR	Receptor retinoide X
QSAR	Relación cuantitativa de estructura actividad
SAR	Relación estructura actividad
SGLT2	Transportador de sodio-glucosa tipo 2
TZDs	Tiazolidindionas



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Número de personas con diabetes por región a nivel mundial.....	11
Figura 2. Los diez países con mayor población de adultos (20-79) con diabetes.....	12
Figura 3. Tipos de diabetes.	12
Figura 4. Estructura de la insulina.	15
Figura 5. Mecanismos moleculares de la liberación de insulina.	15
Figura 6. Vías de señalización de la insulina.	17
Figura 7. Fármacos empleados para el tratamiento de la DT2.	18
Figura 8. Estructura química de Galegina y de fármacos biguanidas.	18
Figura 9. Estructura química de algunas sulfonilureas.....	19
Figura 10. Estructura química de las glinidas.	20
Figura 11. Estructura química de los inhibidores de α -glucosidasa.	21
Figura 12. Fármacos análogos de GLP-1.	22
Figura 13. Estructura química de los inhibidores de DPP-4.	23
Figura 14. Estructura química de los bloqueadores del SGLT-2.....	23
Figura 15. Estructura química de las Tiazolidindionas.	24
Figura 16. Mecanismos de regulación genética vía PPAR- γ	26
Figura 17. Sitio de unión de los agonistas de PPAR- γ	27
Figura 18. Mecanismo molecular de liberación de insulina vía GPR40.	28
Figura 19. Ligandos endógenos del receptor GPR40.	28
Figura 20. Agonistas del receptor GPR40.....	29
Figura 21. Sitio de unión de los agonistas de GPR40 30	30
Figura 22. Vía de los polioles.	30
Figura 23. Inhibidores de aldosa Reductasa.	31
Figura 24. Sitio activo de aldosa reductasa.	32
Figura 25. Patrón farmacofórico unificado de los agonistas de GPR40 y PPAR- γ	35
Figura 26. Consideraciones para el diseño de los compuestos WYA 1-6.....	36
Figura 27. Interfaz del servidor en línea PASS online.	38
Figura 28. Interfaz del programa Swiss TargetPrediction.	39
Figura 29. Interfaz del programa Mollinspiration.	39
Figura 30. Interfaz del programa Osiris.....	40
Figura 31. Interfaz del programa Osiris Data Warrior.	41
Figura 32. Interfaz del programa ACD/ToxSuite.	41
Figura 33. Interfaz del programa SwissADME.	42
Figura 34. Interfaz del programa admetSAR.....	43
Figura 35. Interfaz del portal web DIA-DB 43	43
Figura 36. Análisis retrosintético de la serie de compuestos WYA 1-6.....	45
Figura 37. Validación del acoplamiento molecular sobre GPR40.	57
Figura 38. Validación del acoplamiento molecular sobre aldosa reductasa.....	57
Figura 39. Validación del acoplamiento molecular sobre PPAR γ	58
Figura 40. A) Diagrama en 3D y B) diagrama en 2D de las interacciones entre WYA-6 y GPR40 59	59
Figura 41. A) Diagrama 3D del acoplamiento molecular. B) Diagrama 2D de las interacciones moleculares del compuesto WYA-5 con el receptor PPAR γ	60
Figura 42. A) Diagrama en 3D y B) diagrama en 2D de las interacciones entre WYA-5 y aldosa reductasa.....	62
Figura 43. Ruta de síntesis para la obtención del compuesto WYA-7.....	63
Figura 44. Ruta de síntesis para la obtención del compuesto precursor WYA-11.....	63
Figura 45. Espectro de RMN ^1H de WYA-11, ampliaciones de las regiones alifática y aromática 65	65
Figura 46. Espectro de RMN ^{13}C de WYA-11 completo y ampliación de la región aromática.	66



ÍNDICE DE DIAGRAMAS

Diagrama 1. Síntesis del 3-(4-hidroxifenil)propanoato de metilo (WYA-7).	46
Diagrama 2. Síntesis de los precursores WYA 8-13.....	46
Diagrama 3. Síntesis de los precursores WYA 8-13.....	46

ÍNDICE DE TABLAS

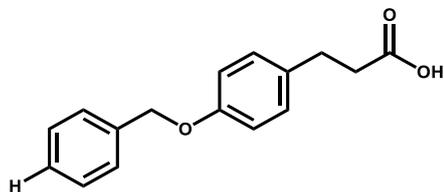
Tabla 1. Células que conforman los islotes de Langerhans. ¹⁴	14
Tabla 2. Predicción de la actividad biológica por PASS de los compuestos WYA 1-6. ..	47
Tabla 3. Predicción de propiedades por SwissTarget de los compuestos WYA 1-6.....	48
Tabla 4. Predicción de propiedades fisicoquímicas de los compuestos WYA 1-6 por Molinspiration.	49
Tabla 5. Predicción de propiedades por SwissADME de los compuestos WYA 1-6.	50
Tabla 6. Resultados obtenidos para WYA 1-6 mediante ACD/ToxSuite.	51
Tabla 7. Resultados obtenidos para los compuestos WYA 1-6 por Osiris y Data Warrior	53
Tabla 8. Predicción de propiedades por admetSAR de los compuestos WYA 1-6.....	54
Tabla 9. Resultado del acoplamiento molecular inverso para los compuestos WYA 1-6.	55
Tabla 10. Resultado del acoplamiento molecular con el receptor GPR40.	58
Tabla 11. Resultado del acoplamiento molecular con el receptor PPAR γ	60
Tabla 12. Resultados de acoplamiento molecular con la enzima aldosa reductasa.	61
Tabla 13. Propiedades físicas y fisicoquímicas de los compuestos precursores.....	64
Tabla 14. Asignación de señales del espectro de RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto WYA-11.	67
Tabla 15. Análisis de consenso farmacológico para los compuestos WYA 1-6.	68
Tabla 16. Sistemas de elución empleados.....	73

ÍNDICE DE ESPECTROS

Espectro 1. RMN ¹³ C (600 MHz, DMSO-d ₆) del compuesto WYA-11.....	75
Espectro 2. RMN ¹ H (150 MHz, DMSO-d ₆) del compuesto WYA-11	76

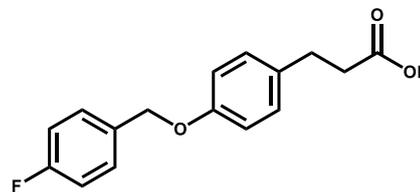


ÍNDICE DE COMPUESTOS DISEÑADOS



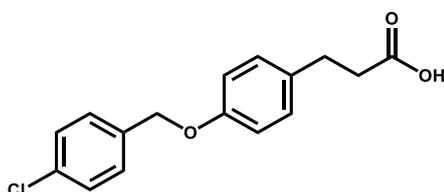
WYA-1

Ácido 3-(4-benciloxifenil)propanoico



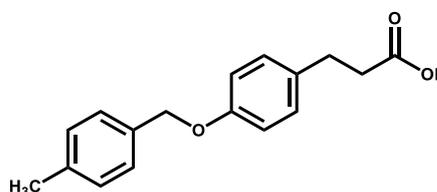
WYA-2

Ácido 3-[4-(4-fluorobenciloxi)fenil]propanoico



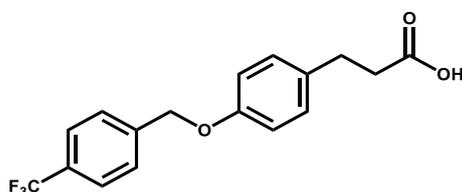
WYA-3

Ácido 3-[4-(4-clorobenciloxi)fenil]propanoico



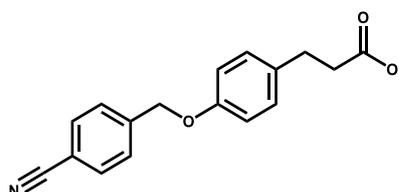
WYA-4

Ácido 3-[4-(4-metilbenciloxi)fenil]propanoico



WYA-5

Ácido 3-[4-(4-trifluorometilbenciloxi)fenil]propanoico



WYA-6

Ácido 3-[4-(4-cianobenciloxi)fenil]propanoico



1. INTRODUCCIÓN

La diabetes es una enfermedad crónica caracterizada por la concentración elevada de glucosa en la sangre (hiperglucemia), esta condición es causada por una deficiencia en la secreción de insulina o por la incapacidad del organismo para utilizarla eficazmente.¹ Esta enfermedad está caracterizada por una desregulación de los niveles de glucosa en sangre, aumento progresivo de la resistencia a la insulina y disminución de la función de las células pancreáticas lo cual conlleva a futuras complicaciones como retinopatías, nefropatías, neuropatías y un alto riesgo de sufrir accidentes vasculares.²

En 2021 la IDF reportó 537 millones de personas diagnosticadas con diabetes, (México con 14 millones de personas) y se estima que esta cifra aumentará a 783 millones de personas en 2045.³ Por lo tanto, este proyecto se enfoca en la búsqueda de compuestos bioactivos para el tratamiento de la diabetes tipo 2 (DT2), la cual se ha convertido en un importante problema de salud pública a nivel mundial ya que afecta a millones de personas y presenta una alta prevalencia y mortalidad.

Dentro del tratamiento farmacológico disponible en el control de la diabetes se incluyen los secretagogos de insulina, como las sulfonilureas o glitazonas, los antihiperglucemiantes, como metformina o las glinidas, además de otros fármacos con diferentes mecanismos, como los bloqueadores del cotransportador de sodio-glucosa tipo 2 como dapaglifozina y los inhibidores de Dipeptidil peptidasa-4 como sitagliptina. Sin embargo, esos tratamientos no proporcionan un control glicémico satisfactorio en muchos pacientes. Es por eso que en este proyecto se pretende contribuir con compuestos novedosos que posean la propiedad *multitarget*, siendo agonistas de los receptores PPAR- γ y GPR40, y además inhibidores de la enzima aldosa reductasa, dianas asociadas con la diabetes tipo 2 que puedan mantener niveles óptimos de glucosa en sangre y por otra parte reducir los efectos adversos a largo plazo.⁴



2. ANTECEDENTES

2.1. Definición de la diabetes y estadísticas

La diabetes es una enfermedad metabólica crónica caracterizada por concentraciones elevadas de glucosa en la sangre que ocurre cuando el organismo no produce insulina en cantidades suficientes, o por la resistencia a la insulina en los tejidos donde ejerce su actividad. ^{1,3,5,6}

La diabetes es un problema de salud importante que ha alcanzado niveles alarmantes: hoy, más de 500 millones de personas están viviendo con diabetes en todo el mundo. En 2021 la Federación Internacional de la Diabetes (IDF) reportó que 537 millones de personas en el mundo padecen diabetes. Se prevé que para el año 2030 se alcanzarán 643 millones de casos, y un estimado de 783 millones de pacientes con diabetes para el año 2045 (**Figura 1**). ³

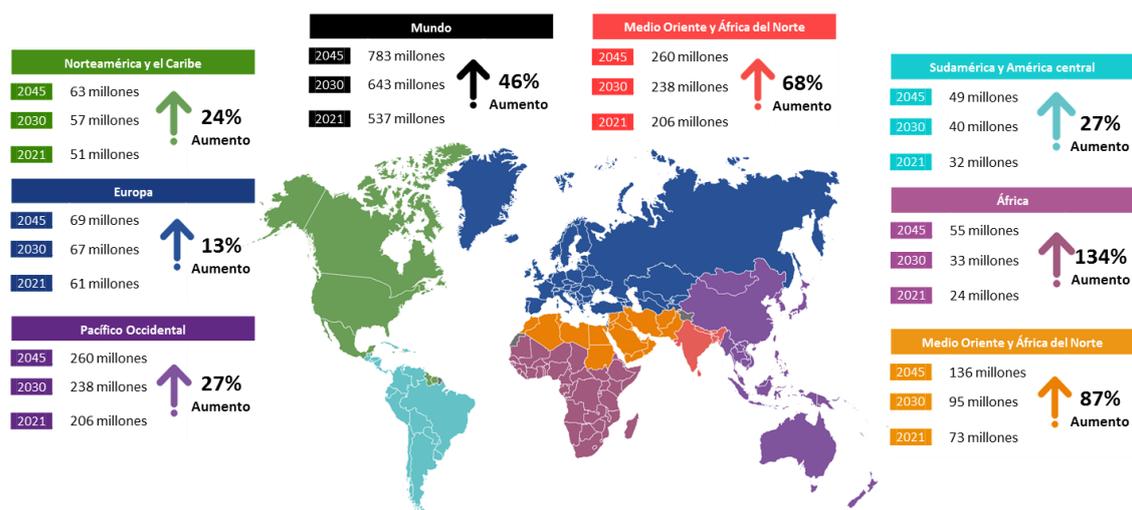


Figura 1. Número de personas con diabetes por región a nivel mundial.

La IDF reportó en 2021 que México se encuentra en el séptimo lugar de los diez países con mayor número de personas diagnosticadas con este padecimiento (14.1 millones de personas) y se prevé que esta cifra aumentará a 21.2 millones aproximadamente para el 2045 (**Figura 2**).³



2021			2045		
Posición	País o territorio	Número de personas con diabetes (millones)	Posición	País o territorio	Número de personas con diabetes (millones)
1	China	140.9	1	China	174.4
2	India	74.2	2	India	124.9
3	Pakistán	33.0	3	Pakistán	62.2
4	E.U.A	32.2	4	E.U.A.	36.3
5	Indonesia	19.5	5	Indonesia	28.6
6	Brasil	15.7	6	Brasil	23.2
7	México	14.1	7	Bangladesh	22.3
8	Bangladesh	13.1	8	México	21.2
9	Japón	11.0	9	Egipto	20.0
10	Egipto	10.9	10	Turquía	13.4

Figura 2. Los diez países con mayor población de adultos (20-79) con diabetes.

2.2. Clasificación de la diabetes

De acuerdo con la OMS, la diabetes se clasifica en tres principales tipos: diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 y diabetes gestacional (Figura 3). A continuación, se describen cada una de ellas: ¹



Figura 3. Tipos de diabetes.

Diabetes de tipo 1:

Este tipo de diabetes también conocido como insulino dependiente, se caracteriza por la destrucción de las células β -pancreáticas de los islotes de Langerhans por parte de una respuesta inmune, lo que provoca deficiencia en la producción de insulina y el incremento de niveles de glucosa en sangre. El principal tratamiento para este tipo de diabetes es la administración diaria de insulina y una dieta estricta baja en carbohidratos. ^{1,7}



Diabetes de tipo 2:

Tipo de diabetes también conocido como no insulino dependiente, se caracteriza por una incorrecta señalización de la insulina por lo que impide su funcionamiento normal, provocando niveles elevados de glucosa en la sangre. Esta enfermedad está en relación con pacientes que padecen síndrome metabólico, ya que dentro de los factores para desarrollar DT2 se encuentra la obesidad y la inactividad física. ^{1,3,8}

Diabetes gestacional:

En la diabetes gestacional (DG) se detectan niveles elevados de glucosa en sangre durante el embarazo, sin embargo, los niveles están por debajo de los criterios de diagnóstico de diabetes. Generalmente se hace notorio su desarrollo durante el segundo o tercer trimestre de gestación, pero puede ocurrir en cualquier etapa del embarazo. La hiperglucemia en estos pacientes es temporal, desaparece tras el término del embarazo, aunque tanto la madre como hijos pueden incrementar el riesgo de desarrollar DT2 en el futuro. Las mujeres con DG tienen mayor riesgo de padecer complicaciones durante el periodo gestacional o en el parto. ^{1,3,9}

2.3. Diabetes tipo 2

Este proyecto se enfoca en la búsqueda de compuestos bioactivos para el tratamiento de la DT2, la cual es más común que la diabetes tipo 1 y la diabetes gestacional, representa alrededor del 90% de la población diagnosticada con esta enfermedad. Se ha observado que este padecimiento se presenta principalmente en personas mayores de 40 años, y está relacionada con una dieta no saludable, obesidad y un estilo de vida sedentaria.

La diabetes tipo 2 se caracteriza por la resistencia a la insulina en los tejidos periféricos, como el hígado, el músculo esquelético y el tejido adiposo; niveles elevados de glucosa en sangre y una consecuente deficiencia de insulina. La insulinoresistencia que se presenta, provoca que las células pancreáticas produzcan en exceso insulina que traerá como consecuencia el deterioro progresivo de las células pancreáticas y un déficit en la secreción de insulina. ^{1-3,10}

2.4. Diagnóstico

La diabetes puede detectarse midiendo los niveles de glucosa en la sangre, diversas instituciones de salud tienen criterios establecidos para el correcto diagnóstico de esta enfermedad y, a pesar de que difieren en los valores, éstos convergen en el uso de 4



pruebas esenciales. En México la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010 “Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus” indica que se considera que una persona tiene diabetes si cumple con los siguientes criterios: ^{3,11}

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

En ausencia de los síntomas característicos, y como medida confirmatoria, se deben repetir las pruebas en un día distinto.

La hemoglobina glicosilada es otra prueba que ayuda para el diagnóstico de diabetes, en los pacientes diabéticos se usa como un marcador para evaluar la eficacia del control de la enfermedad. Se debe mantener un valor de HbA_{1c} del 6.5%, según lo recomendado por la asociación americana de endocrinología clínica. ¹²

2.5. Fisiopatología de la diabetes

2.5.1. Liberación de insulina

El páncreas es un órgano que está situado en la parte superior abdominal y posterior al estómago, y está conformado por células acinares (función exocrina) y por islotes de Langerhans (función endócrina).

Los islotes de Langerhans contienen en su interior al menos 4 tipos de células encargadas de la producción de hormonas con cierta actividad metabólica, las cuales se describen en la **Tabla 1**.¹³

Tabla 1. Células que conforman los islotes de Langerhans. ¹⁴

Tipo De Células	Hormona	Actividad Metabólica
α	Glucagón	Eleva los niveles de glucosa en sangre.
β	Insulina	Disminuye los niveles glucémicos.
δ	Somatostatina	Inhibe la liberación de glucagón e insulina.
ϵ	Grelina	Regula el equilibrio energético.
F	Polipéptido pancreático	Inhibe las secreciones exocrinas del páncreas.

Las células β -pancreáticas están especializadas en la producción y el almacenamiento de la insulina, dichos mecanismos son regulados por factores de transcripción que modulan la expresión, síntesis y secreción de insulina.



La insulina fue descubierta por Banting y Best en 1921, es un péptido compuesto de 51 aminoácidos dispuestos en 2 cadenas polipeptídicas (cadena A y cadena B) que están unidas por puentes disulfuro (Figura 4).

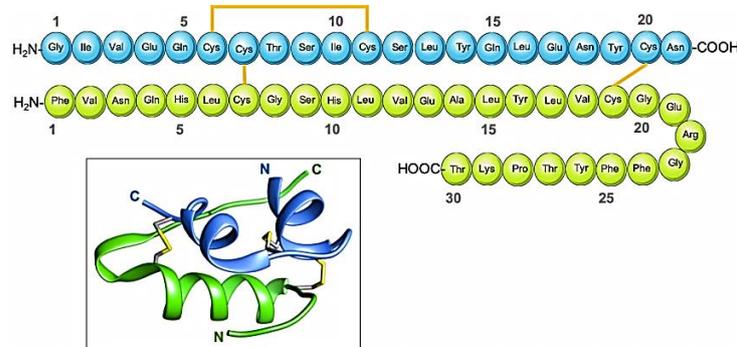


Figura 4. Estructura de la insulina.

La insulina es una hormona que está encargada de regular una variedad de funciones fisiológicas, las cuales se mencionan a continuación: ¹⁵

- Aumenta la absorción de glucosa en las células del músculo y en tejido adiposo.
- Inhibe la gluconeogénesis, glucogenólisis y la cetogénesis en el hígado.
- Regula la actividad de enzimas claves en el metabolismo.
- Regula la contractilidad cardíaca y el tono vascular.

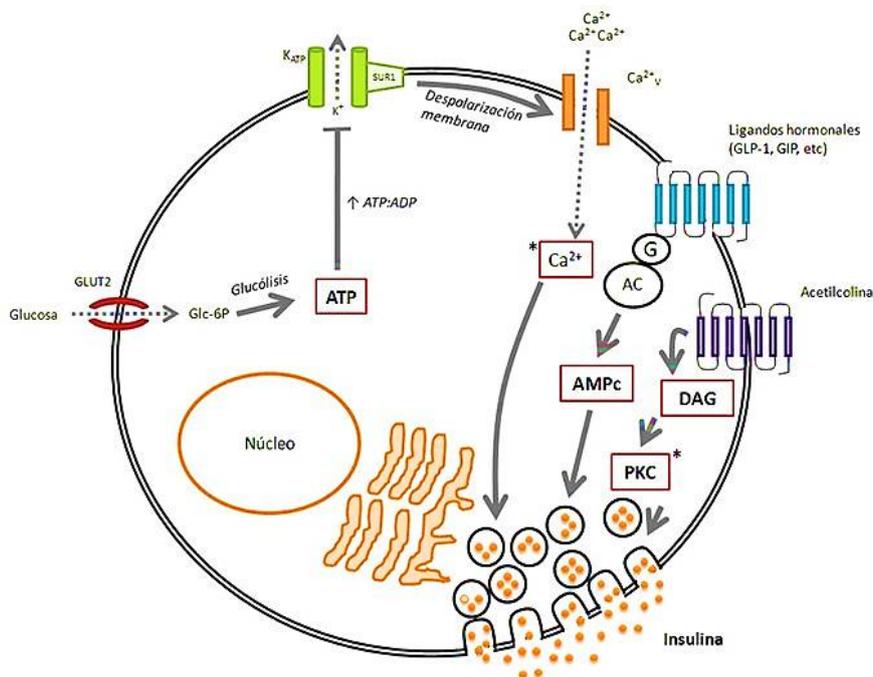


Figura 5. Mecanismos moleculares de la liberación de insulina. ¹⁶



Los mecanismos moleculares de la secreción de insulina (**Figura 5**) se inician con la detección de glucosa en la sangre y su ingreso en las células β -pancreáticas mediante la proteína transportadora GLUT-2. Se incrementa el ATP provocando el cierre de los canales de K^+ sensibles a ATP, lo que ocasiona una despolarización de la membrana y la consiguiente apertura de los canales de calcio (Ca^{2+}) dependientes de voltaje. El flujo de Ca^{2+} extracelular al interior de la célula hará que se fusionen los gránulos de insulina y se libere dicha hormona.^{14,15}

2.5.2. Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina es una característica de la DT2 que ocurre cuando los tejidos blanco de la insulina (músculo, tejido adiposo e hígado) no pueden reconocer de manera adecuada a la insulina, provocando que no se lleve a cabo de manera correcta la señalización, ocasionando un aumento de la concentración de glucosa en sangre. Esta alteración es causada por mutaciones o modificaciones postraduccionales que ocasionan:^{15,17}

- Disminución del número de receptores de insulina o de su actividad catalítica.
- Disminución de la actividad de proteínas cinasas implicadas en la señalización de la insulina (PI3K y Akt).
- Aumento de la fosforilación de los residuos de Ser/Thr.
- Aumento de la actividad de las fosfatasas de residuos de tirosina.
- Defectos en la expresión y función de GLUT-4.

2.5.3. Señalización

El receptor de Insulina (IR) es una proteína que está formada por 4 subunidades, 2 α de 135 KDa y 2 β de 95 KDa. El IR pertenece a la familia de receptores con actividad tirosin-cinasa que es activado por la insulina.

El mecanismo de señalización (**Figura 6**) se da por la unión de la insulina a la subunidad α del IR lo que provoca un cambio conformacional de la proteína que induce la actividad catalítica y la autofosforilación de varios residuos de tirosina (Tyr) localizados en la subunidad β . Los residuos de Tyr fosforilados son reconocidos por proteínas adaptadoras, donde se incluyen la familia del sustrato del receptor de insulina (IRS), principalmente los IRS-1 y los IRS-2. Los IRS desencadenan cascadas de señalización intracelular vía segundos mensajeros como la vía de las cinasas



activada por mitógeno/RAS (MAPK/RAS) y la vía de la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K/Akt).

La vía PI3K/Akt es importante en acciones metabólicas, como la translocación de GLUT-4 hacia la membrana en las células del músculo y tejido adiposo, la síntesis de glucógeno, en la adipogénesis y en la síntesis de proteínas. La translocación de GLUT-4 en la membrana permitirá el ingreso de glucosa al interior de la célula y se disminuirán los niveles de glucosa en la sangre.

Por otro lado, en la vía de las cinasas MAPK/Ra regula la proliferación, la diferenciación y el crecimiento celular, la adipogénesis y la expresión genética de la insulina. ¹⁵

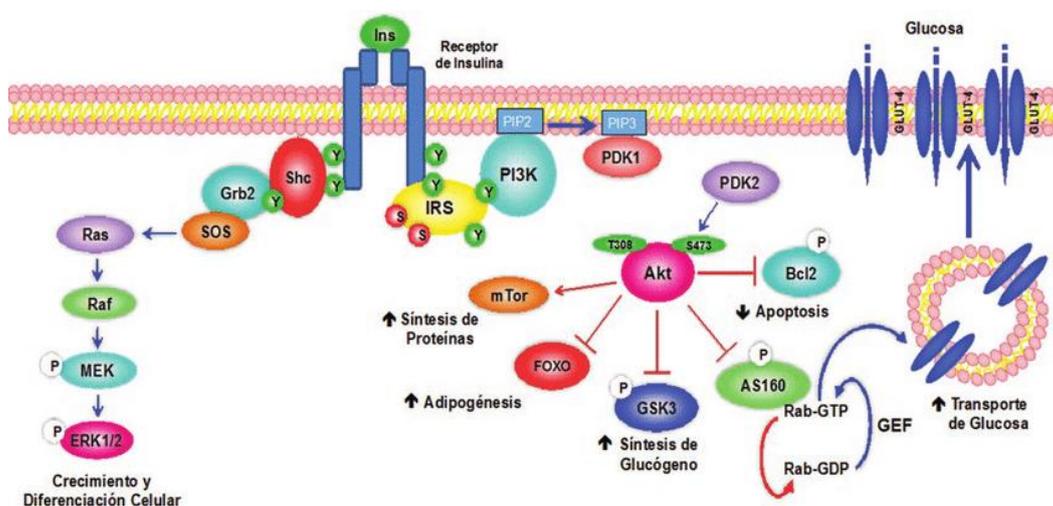


Figura 6. Vías de señalización de la insulina. ¹⁵

2.6. Tratamiento farmacológico

Los medicamentos para la diabetes que se muestran en la **Figura 7** se pueden clasificar en dos categorías: a) Agentes que aumentan el suministro de insulina, como las sulfonilureas, los inhibidores de DPP4 y los análogos de GLP-1; b) Agentes que mejoran la eficacia de la insulina, tales como las biguanidas y las tiazolidindionas. Sin embargo, es importante mencionar que existen fármacos con otros mecanismos de acción como los bloqueadores de SGLT2, o los inhibidores de la α -glucosidasa. ^{12,15,18}



Figura 7. Fármacos empleados para el tratamiento de la DT2.

2.6.1. Biguanidas

Los fármacos más conocidos de este grupo son la metformina, la fenformina y la buformina, de los cuales la metformina es en la actualidad ampliamente usada para el tratamiento de la diabetes, mientras que buformina y fenformina ya han sido retirados del mercado debido a que se reportaron casos con acidosis láctica. Las biguanidas son moléculas derivadas de la Galegina (**Figura 8**), un producto natural obtenido a partir de *Galega officinalis*. Químicamente, la galegina es un isoprenoide derivado de la guanidina, mientras que metformina es una biguanida (dos moléculas guanidina fusionadas) con sustituyentes adicionales.¹⁹

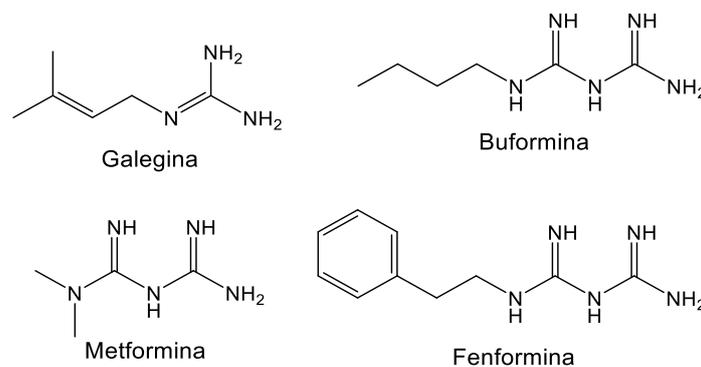


Figura 8. Estructura química de Galegina y de fármacos biguanidas.



El mecanismo de acción propuesto para este fármaco es la disminución de producción de glucosa en el hígado, por inhibición de gluconeogénesis. La metformina inhibe específicamente al complejo de la cadena respiratoria I en las mitocondrias de manera reversible no competitiva. Se ha observado que metformina activa la cinasa activada por AMP, la cual está envuelta en la inhibición de enzimas cruciales en la gluconeogénesis. Además, la metformina incrementa los niveles de AMP intracelular lo que disminuye la gluconeogénesis estimulada por glucagón en el hígado. ¹⁹⁻²¹

2.6.2. Sulfonilureas

Las sulfonilureas (SU) son fármacos antidiabéticos que estimulan la secreción de insulina. Su mecanismo de acción consiste en el cierre de los canales de potasio dependientes de ATP (K_{ATP}). Cuando la SU se une al receptor de sulfonilurea (SUR1) ubicado en el sitio regulador del canal de K_{ATP} ocurre un bloqueo de este canal y se inicia la señalización que promueve la liberación de insulina. Este modo de acción es independiente de los valores de glucosa, por lo tanto, constituye un riesgo de hipoglucemia en más del 10% de la población que consume esta clase de fármacos. En la **Figura 9** se puede observar la estructura química de las sulfonilureas de segunda generación, las cuales son más usadas que las de primera generación (clorpropamida, tolbutamida, tolazamida y acetoxamida). ^{22,23}

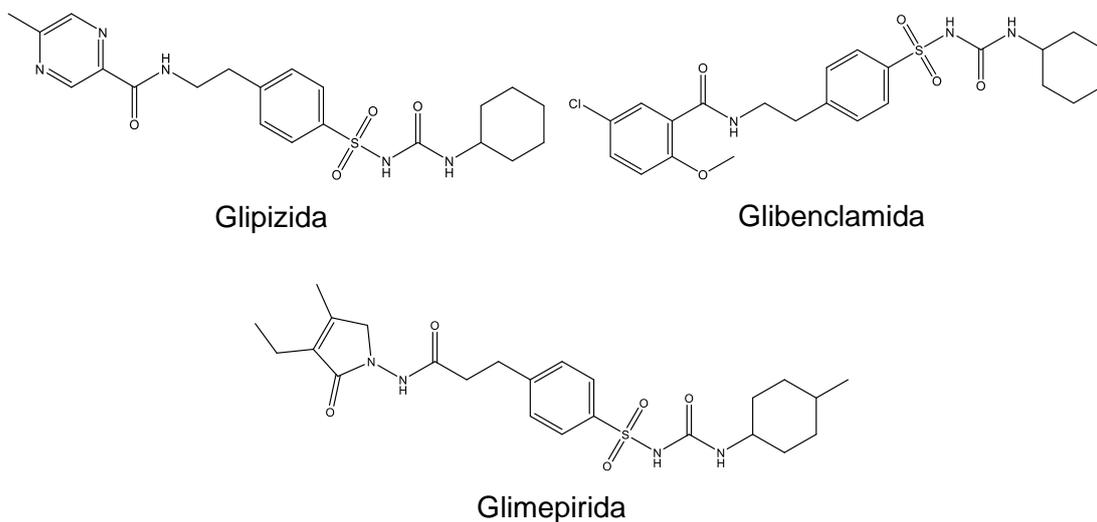


Figura 9. Estructura química de algunas sulfonilureas.



2.6.3. Glinidas

Las glinidas, también llamadas meglitinas, son fármacos empleados para el tratamiento de DT2 del grupo de los secretagogos de insulina, su mecanismo de acción consiste en el bloqueo de los canales de K^+ dependiente de ATP. Se ha observado que son eficaces para reducir los niveles de glucosa postprandial y de hemoglobina glucosilada, además un efecto aditivo cuando se usa en combinación con metformina y glitazonas. Una de las ventajas de esta clase de fármacos es el reducido riesgo de hipoglucemia debido a que su acción es dependiente de los niveles de glucosa.²⁴⁻²⁶

En la **Figura 10** se muestran a los tres fármacos representativos de este grupo que fueron desarrollados en la década de los 90's: nateglinida, repaglinida y mitiglinida.

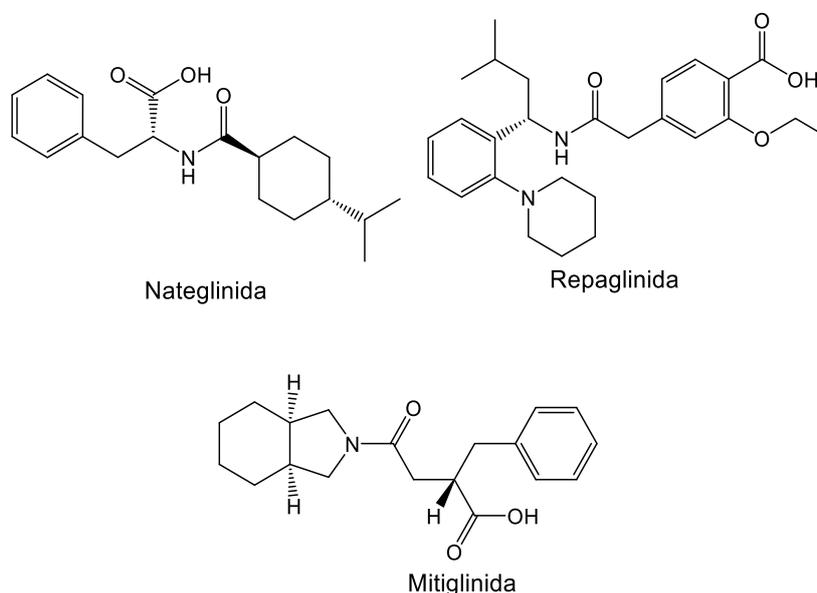


Figura 10. Estructura química de las glinidas.

2.6.4. Inhibidores de la α -glucosidasa

Los inhibidores de α -glucosidasa son fármacos antihiper glucémicos que actúan como inhibidores competitivos reversibles de la α -glucosidasa en el intestino delgado, interrumpiendo la hidrólisis de los polisacáridos y disacáridos en glucosa, al inhibir estas enzimas se retrasa la absorción de la glucosa y por lo tanto contribuye a mejorar los niveles de glucosa postprandial.²⁷

Dentro de este grupo se encuentran acarbosa, miglitol y voglibosa (**Figura 11**) los cuales no presentan riesgo de hipoglucemia o aumento de peso corporal. Los efectos adversos que se presentan mayormente son diarrea, dolor abdominal y flatulencias), y debido a la poca tolerancia se prescriben con poca frecuencia.²⁸

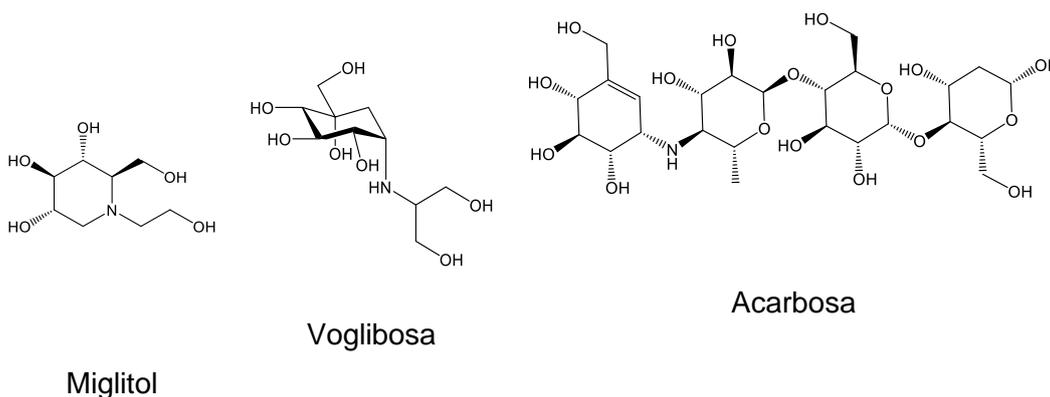


Figura 11. Estructura química de los inhibidores de α -glucosidasa.

2.6.5. Análogos de GLP-1

El péptido similar al glucagón (GLP-1) y el polipéptido inhibidor gástrico (GIP) son incretinas endógenas secretadas en respuesta a la ingesta de nutrientes, que juegan un rol importante en el metabolismo de la glucosa: estimulan la salida de insulina de las células pancreáticas, disminuyen la secreción de glucagón y atenúan la glucosa postprandial. Los pacientes con diabetes tipo dos son parcialmente deficientes para secretar GLP-1. Por lo tanto, los primeros moduladores de incretina incluyen análogos de GLP 1 o miméticos que sean agonistas funcionales del GLP-1.²⁹⁻³¹

El primer miembro de esta clase que fue aprobado fue la exenatida (inyectable) un agonista del receptor de GLP-1, el cual ha mostrado ser eficaz en combinación con metformina y/o sulfonilureas o glitazonas al disminuir los niveles de hemoglobina glicosilada a 1%. Los efectos adversos más frecuentes son náuseas y vómitos, cabe mencionar que no parecen presentar riesgo de hipoglucemia, ni falla cardíaca. Algunos otros fármacos de esta clase de antidiabéticos son los análogos de GLP-1 donde se incluyen liraglutida, semaglutida y dulaglutida (**Figura 12**).^{31,32}

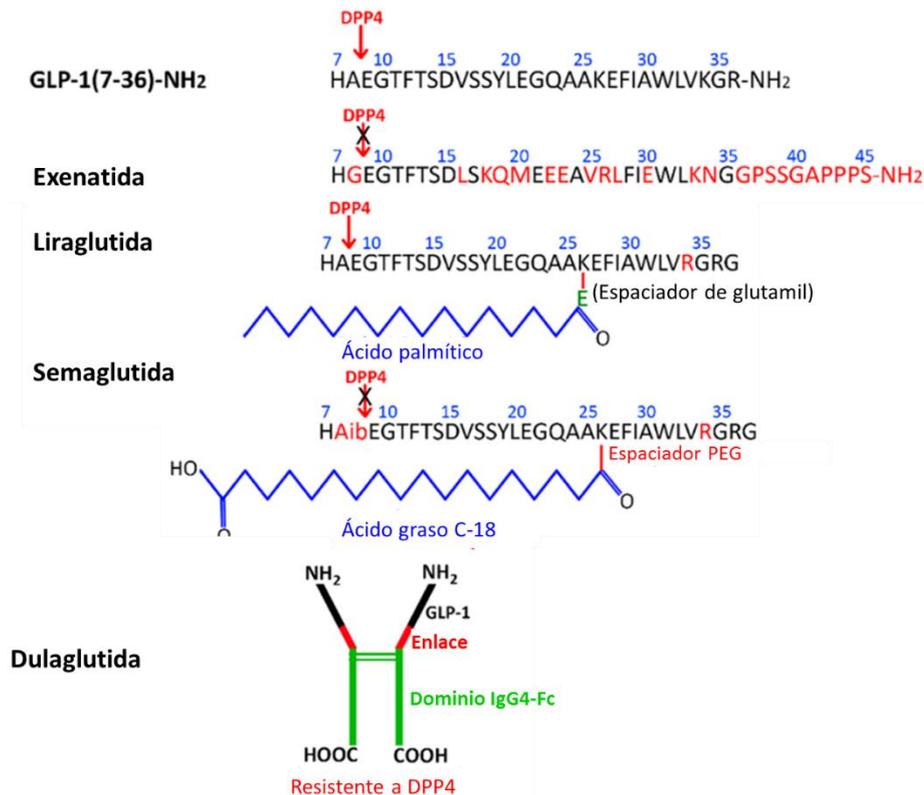
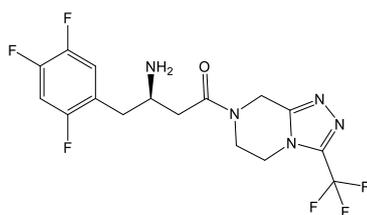


Figura 12. Fármacos análogos de GLP-1.³¹

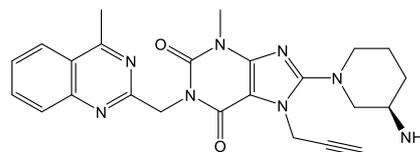
2.6.6. Inhibidores de la dipeptidildipeptidasa-4 (DPP-4)

La enzima DPP-4 es una enzima ampliamente expresada en muchos tejidos (incluyendo hígado, riñón pulmón y el intestino delgado) que degrada rápidamente a GLP-1 y GIP, incretinas involucradas en la secreción de insulina, y como resultado la vida media ($T_{1/2}$) de las incretinas se reduce a minutos.^{31,33,34}

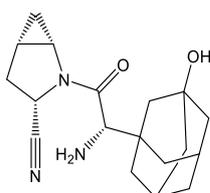
Los inhibidores de la DPP-4 actúan de manera competitiva reversible sobre la enzima, aumentando el $T_{1/2}$ y elevando la concentración de las incretinas GLP-1 y GIP en su forma biológicamente activa, lo que permite restaurar la secreción de insulina y, por ende, normalizar los niveles de glucosa en sangre en los pacientes con DT2. Los fármacos más usados son sitagliptina, linagliptina, vildagliptina, saxagliptina y alogliptina (**Figura 13**) capaces de inhibir la actividad catalítica de DPP-4 hasta en un 70-90%.^{34,35}



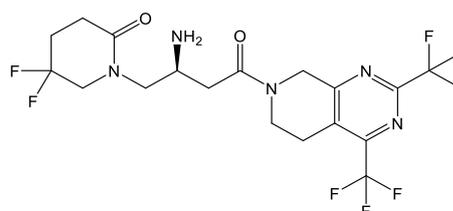
Sitagliptina



Linagliptina



Saxagliptina



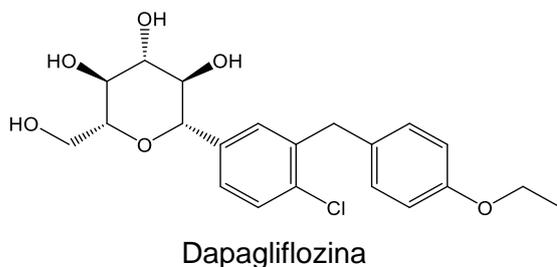
Gemigliptina

Figura 13. Estructura química de los inhibidores de DPP-4.

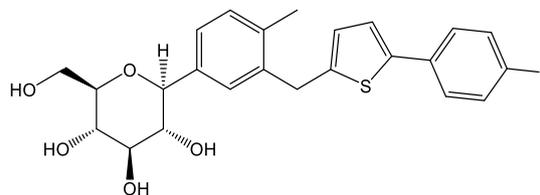
2.6.7. Bloqueadores del co-transportador sodio glucosa tipo 2

El cotransportador de sodio glucosa tipo 2 (SGLT-2), constituye una diana terapéutica de interés para disminuir los niveles de glucosa en sangre de manera independiente de insulina en los pacientes diabéticos. De manera normal, el SGLT-2 permite la reabsorción de glucosa en el túbulo contorneado proximal de alrededor del 90% de la glucosa filtrada en los glomérulos de los riñones para evitar que ésta se elimine en la orina (glucosuria). En pacientes con diabetes es necesario el bloqueo de este co-transportador para que la glucosa sea eliminada en la orina y se disminuya el nivel de glucemia, así como los valores de hemoglobina glucosilada, sin embargo, se presentan algunos efectos adversos como infecciones del tracto urinario o cetoacidosis.^{36,37}

Los bloqueadores del SGLT-2 más conocidos en el mercado son dapagliflozina y canagliflozina, cuya estructura química se muestra en la **Figura 14**.



Dapagliflozina



Canagliflozina

Figura 14. Estructura química de los bloqueadores del SGLT-2.



2.6.8. Tiazolidindionas

Las tiazolidindionas o glitazonas son fármacos antidiabéticos insulinosensibilizadores que mejoran el control metabólico disminuyendo los valores glucémicos en los pacientes diabéticos. El mecanismo de acción se basa en el agonismo del receptor PPAR- γ dando como efecto terapéutico una reducción de la resistencia a la insulina en el tejido adiposo, en músculo y en el hígado.³⁸

En la **Figura 15** se muestra la estructura química de las tiazolidindionas, desarrolladas hace 30 años: troglitazona, rosiglitazona y pioglitazona, de las cuales troglitazona y rosiglitazona fueron retiradas del mercado, el primero por ser hepatotóxico, mientras que el segundo se relacionó con problemas cardiotoxicos y sólo la última permanece en el mercado. El uso de pioglitazona se ha relacionado con riesgo de fractura ósea en las mujeres y no se recomienda el uso en personas con osteoporosis, además está contraindicada en personas con falla cardiaca debido a que está asociada con edema y aumento de peso.¹²

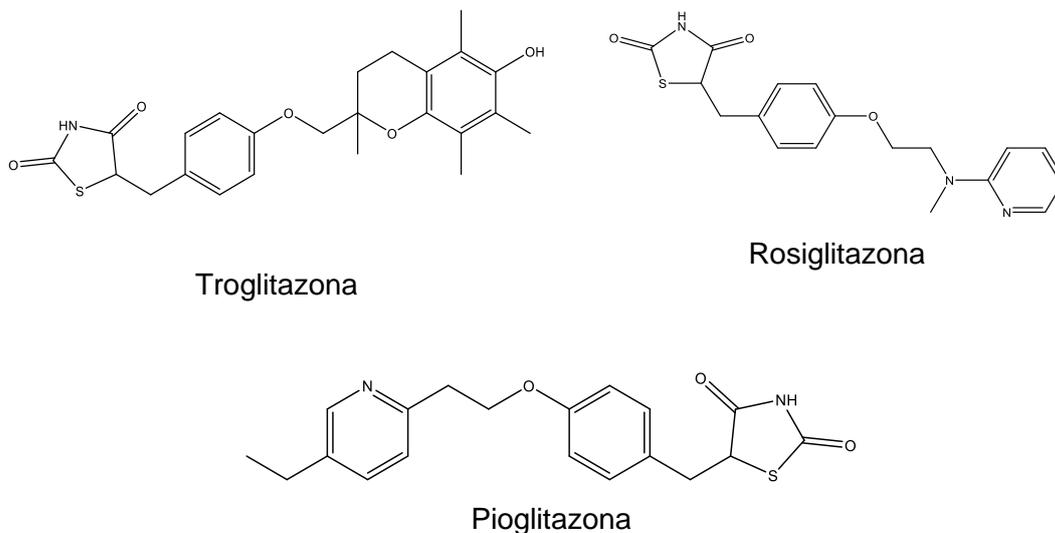


Figura 15. Estructura química de las Tiazolidindionas.



2.7. Blancos terapéuticos actuales y novedosos

2.7.1. PPAR- γ

Los receptores activados por proliferador de peroxisomas (PPARs) son miembros de la superfamilia de receptores nucleares responsables de funciones metabólicas como el metabolismo, el crecimiento y diferenciación celular y de homeostasis energética.

Existen tres isotipos: PPAR- α , PPAR- γ y PPAR- δ . Cada subtipo regula genes diana específicos en los tejidos actuando como reguladores de la homeostasis de glucosa y sensores de lípidos. Las isoformas PPAR α y PPAR- γ son los objetivos moleculares de varios medicamentos de la clase de fármacos hipolipidémicos como los fibratos y de la clase de fármacos sensibilizadores de la insulina como las tiazolidindionas respectivamente.^{39,40}

PPAR- γ es un factor de transcripción activado por ligando que está altamente expresado en los adipocitos, promueve la captación de lípidos, su activación regula el metabolismo de carbohidratos y disminuye los niveles de lípidos en la sangre. El receptor PPAR- γ está situado en el retículo endoplásmico, y al unirse con su ligando (endógeno o sintético) puede resultar en un proceso de transactivación o de transrepresión de genes. Como se puede observar en la **Figura 16** ocurre cuando éste se une a su ligando para después formar un heterodímero con el receptor retinoide X (RXR) y trasloca al núcleo donde es reconocido por la región promotora de los genes diana y ocurre un cambio conformacional que resulta en la transcripción o represión de los genes implicados en el metabolismo de lípidos y en el balance energético, incluyendo los que codifican para la proteína transportadora de ácidos grasos, la enzima glucoquinasa, el transportador de glucosa GLUT4, etc.⁴¹

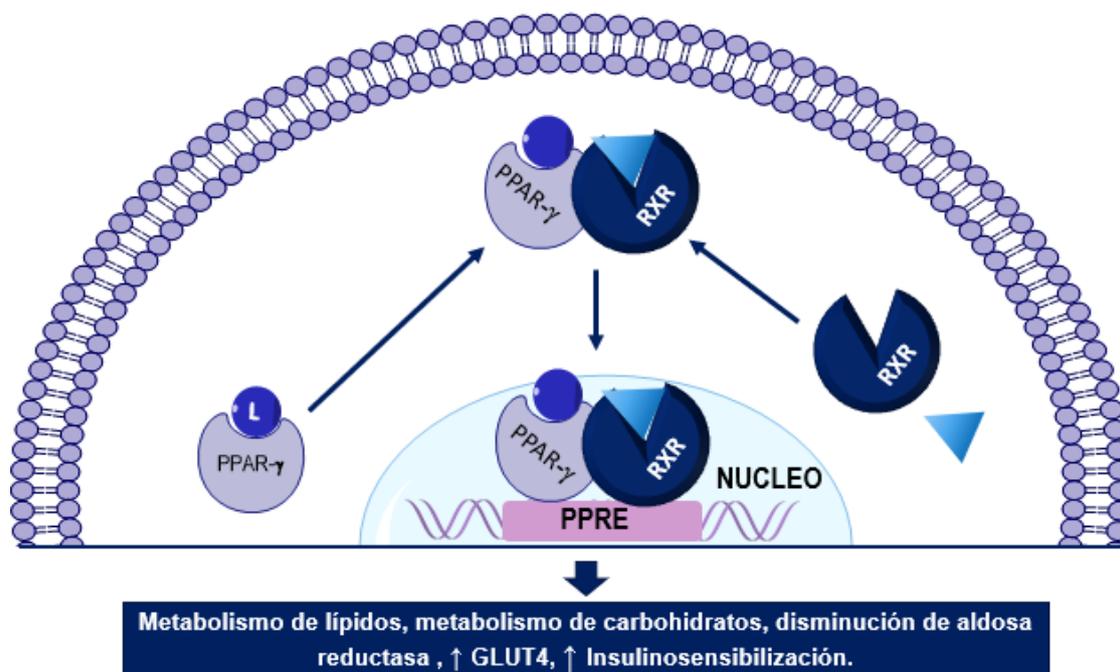


Figura 16. Mecanismos de regulación genética vía PPAR- γ .

2.7.2. Agonistas del receptor PPAR- γ

Actualmente la pioglitazona es un fármaco del grupo de las tiazolidindionas que es usado en el tratamiento de la DT2 debido a su acción farmacológica como agonista del receptor PPAR- γ . Sin embargo, el uso de este fármaco se ha asociado con varios efectos adversos, como aumento de peso, fracturas óseas, complicaciones cardiovasculares y edema, por lo tanto se realizan continuos esfuerzos en la búsqueda de compuestos con actividad agonista sobre el receptor PPAR- γ que no presenten tantos efectos adversos.⁴²

La estructura farmacofórica de los agonistas de PPAR- γ consta de cuatro partes: un grupo de cabeza ácida, un anillo aromático, un enlazador que consiste en unidades de metileno flexibles y una fracción de cola hidrofóbica. El grupo de cabeza ácida es crucial ya que forma una red de enlaces de hidrógeno con los residuos polares clave que se encuentran en la cavidad de unión al ligando: Gln 286, Ser 289, His 323, Tyr 327, Lys 367, His 449 y Tyr 473. La fracción hidrofóbica, ocupa la gran cavidad del dominio de unión al ligando interactuando con los residuos hidrofóbicos, como Ile281, Gly284, Ile341, y Leu353. En la **Figura 17** se muestra las características químicas de los agonistas de PPAR- γ (lado izquierdo), y la estructura cristalográfica de PPAR- γ con el compuesto rosiglitazona donde se observan los aminoácidos clave presentes en el sitio de unión al ligando (lado derecho).⁴²

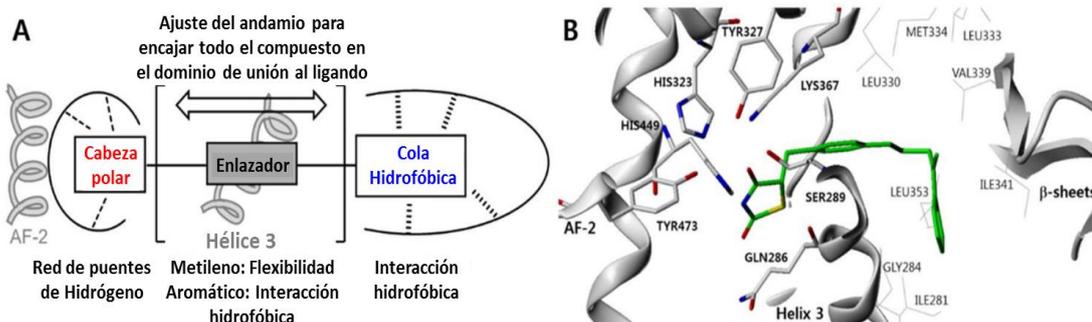


Figura 17. Sitio de unión de los agonistas de PPAR- γ .⁴²

2.7.3. GPR40

El receptor acoplado a proteína G 40 (GPR40), también denominado receptor de ácido graso libre 1 (FFA1), es un receptor transmembranal de siete dominios que está acoplado a la proteína G (GPCR) y está ampliamente expresado en las células β -pancreáticas cuya activación por ligandos provoca una mayor secreción de insulina dependiente únicamente de niveles elevados de glucosa.⁴³

Por lo tanto GPR40 se ha convertido en una interesante diana terapéutica para el tratamiento de la DT2 ya que tiene un escaso o nulo riesgo de hipoglucemia en comparación con otros fármacos secretagogos disponibles actualmente en el mercado.⁴⁴

La unión de los ácidos grasos a GPR40 parece activar el complejo proteico G α q/11, lo que resulta en la activación de la fosfolipasa C (PLC). La PLC hidroliza los lípidos de la membrana que contienen fosfatidilinositol para generar inositol 1,4,5-trisfosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG). A su vez, el IP3 induce el aumento de los niveles de Ca²⁺ intracelular que se produce después de la activación del GPR40. El DAG induce la fosforilación y la activación de la fosfolipasa D1 (PKD1), que modula la reorganización de la red de actina cortical que se encuentra debajo de la secreción de insulina de segunda fase (**Figura 18**).^{45,46}

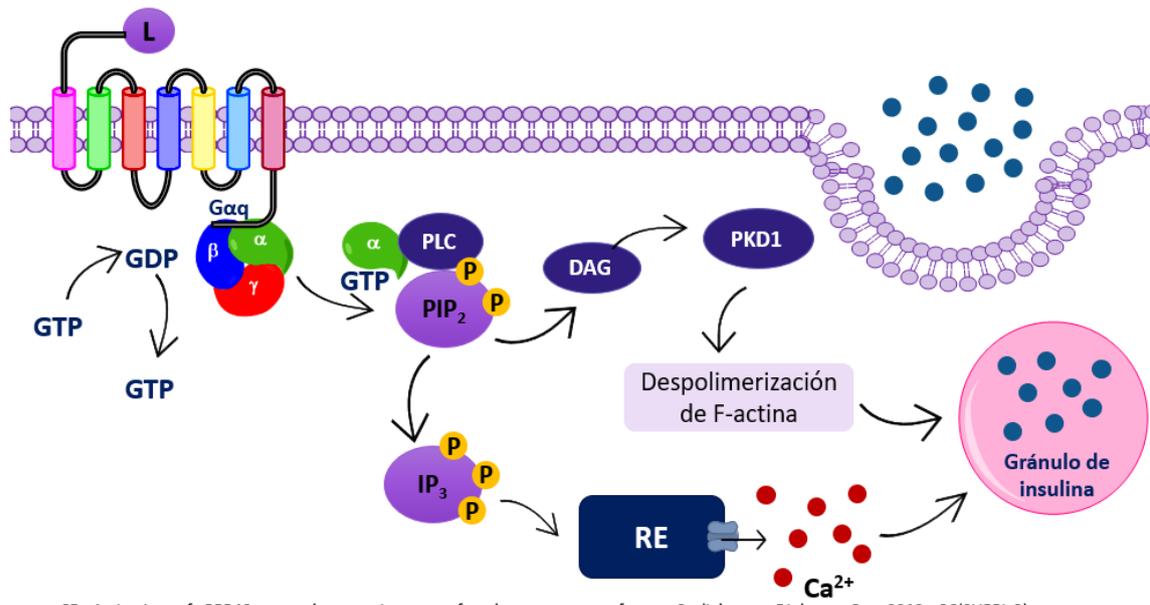
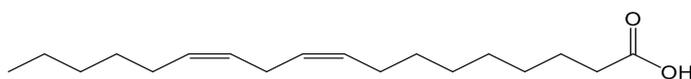


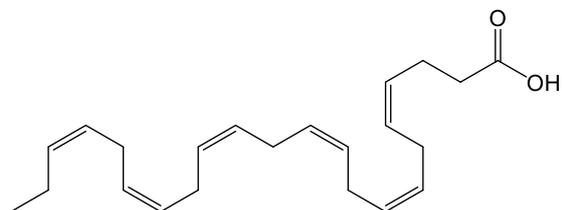
Figura 18. Mecanismo molecular de liberación de insulina vía GPR40. ⁴⁶

2.7.4. Agonistas del receptor GPR40

Varios estudios han reportado que los ácidos grasos de cadena larga o mediana, como el ácido linoleico o el ácido docosahexaenoico pueden actuar como ligandos endógenos de GPR40 y activarlo (Figura 19). ^{43,47,48}



Ácido linoleico



Ácido docosahexaenoico

Figura 19. Ligandos endógenos del receptor GPR40.

Basados en la estructura del ácido docosahexaenoico, se encontró que el ácido 3-(4 hidroxifenil)propanoico mostraba cierta actividad como agonista de GPR40 y con base en estos resultados se han realizado modificaciones en su estructura en la búsqueda de un compuesto con buena actividad biológica sobre esta diana terapéutica. ⁴⁸



Los compuestos TAK-875, GW9508, TUG-770 y ACB-1 (**Figura 20**) han mostrado actividad agonista sobre GPR40 en ensayos in vivo^{40,49}, de los cuales el compuesto TAK-875 (fasiglifam) fue seleccionado para pruebas clínicas de fase III, sin embargo, este fue discontinuado debido a hepatotoxicidad.⁴⁹

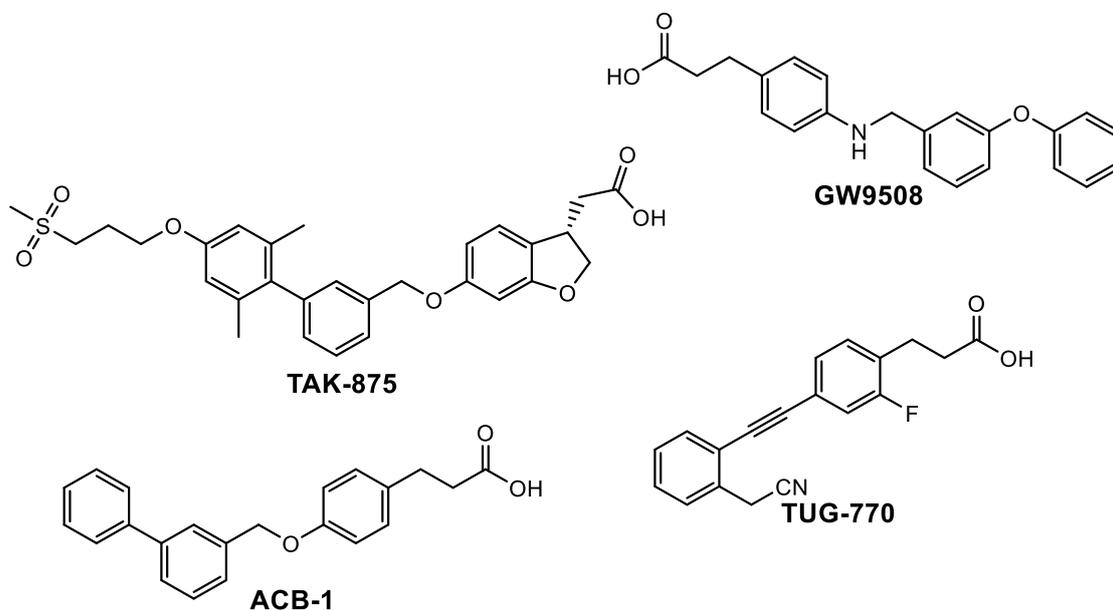


Figura 20. Agonistas del receptor GPR40.

El farmacóforo típico de los agonistas de GPR40 consta de 4 regiones: una cabeza ácida, un anillo aromático central, un espaciador flexible y una cola hidrofóbica, cabe resaltar que estas características farmacofóricas son muy similares a las de los agonistas de PPAR- γ , y por lo cual se le ha denominado farmacóforo unificado de compuestos antidiabéticos.⁴¹ La importancia de la presencia de estos grupos radica en las interacciones presentes entre la cabeza ácida y los aminoácidos polares presentes en la cavidad alostérica Arg-183, Arg-258, Tyr-91 y Tyr-240, dichas interacciones pueden observarse en la **Figura 21**.^{50,51}

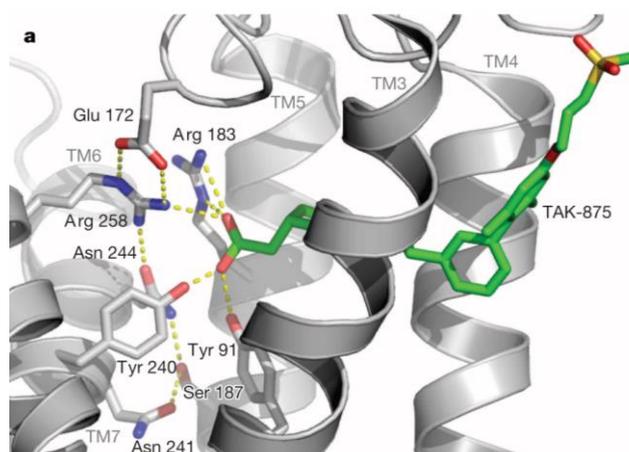


Figura 21. Sitio de unión de los agonistas de GPR40 ⁵¹

2.7.5. Aldosa reductasa

La aldosa reductasa es una enzima aldo ceto-reductasa dependiente de NADPH que, en condiciones normales, juega un papel importante en la degradación de aldehídos tóxicos principalmente originados por la peroxidación de lípidos. Sin embargo, en condiciones de hiperglucemia (Diabetes), la aldosa reductasa juega un papel crucial en la conversión de glucosa en sorbitol mediante la reducción del aldehído en un alcohol. El sorbitol es oxidado a fructosa por la enzima sorbitol deshidrogenasa (**Figura 22**). ^{40,52}

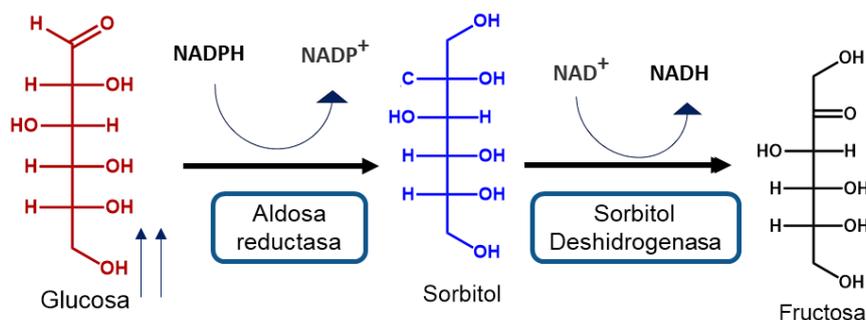


Figura 22. Vía de los polioles.

El sorbitol tiende a acumularse en la célula y aumenta su osmolaridad, y el desbalance osmolar en adición con el aumento de la vía de los polioles inducen un estado de pseudohipoxia que contribuye al desarrollo de estrés oxidativo mediante la acumulación de especies reactivas de oxígeno (EROS). A su vez, las EROS desencadenan la activación de las isoformas de la proteína quinasa C (PKC), las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK) y la poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP), así como la cascada inflamatoria, que sostiene la patogénesis de la lesión.



Además, el aumento de los niveles de fructosa relacionado con la activación de la vía de los polioles acelera el desarrollo de estas complicaciones, ya que la fructosa y sus metabolitos son agentes de glicación no enzimáticos casi 10 veces más potentes que la glucosa.⁵³

Es por lo antes mencionado que, el sorbitol y la fructosa se han asociado con diversas complicaciones presentadas en los pacientes diabéticos, tales como retinopatías, fallo renal, enfermedades cardiovasculares, entre otras. Por lo tanto, la aldosa reductasa se ha convertido en una diana terapéutica de interés para el tratamiento de las complicaciones implicadas en la diabetes.⁵⁴

2.7.6. Inhibidores de aldosa reductasa

En los últimos 10 años, los inhibidores de la enzima aldosa reductasa han sido ampliamente estudiados. Se han diseñado y patentado muchos compuestos sintéticos principalmente de tipo ácido fenilpropanóico basados en el ya conocido inhibidor zopolrestat (**Figura 23**), de esta manera los compuestos presentarían teóricamente el modo de unión que presenta zopolrestat en el sitio activo de aldosa reductasa.

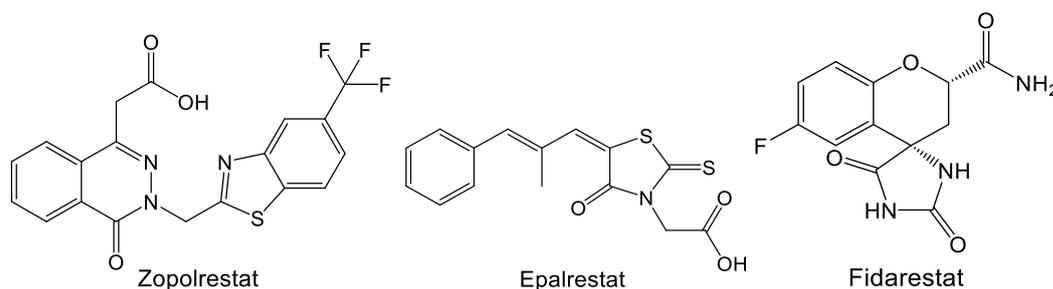


Figura 23. Inhibidores de aldosa Reductasa.

El sitio activo de aldosa consta de dos subcavidades altamente hidrofóbicas: el sitio de unión a anión bordeada por los aminoácidos Tyr-48, His-110, Lys-77 y la coenzima NADPH, y una segunda subcavidad, que está bordeada por los aminoácidos Trp111, Tyr-309, Cys-303, Phe-122, Ser-302, Leu-300, Phe-121 y Trp-219, Val-47, Pro-218, Leu-300, y Leu-301 (**Figura 24**).⁵³

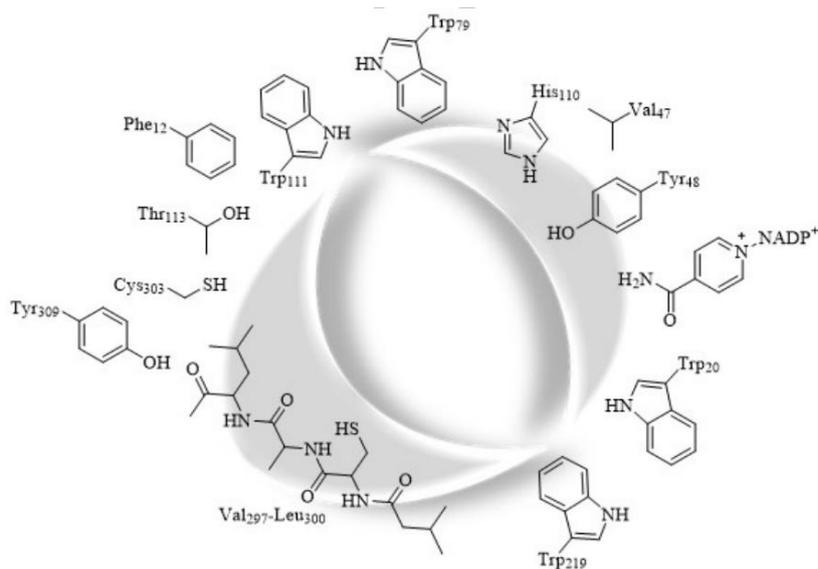


Figura 24. Sitio activo de aldosa reductasa. ⁵³

Recientemente, Shendelman⁵⁵ patentó dos nuevas series de derivados de ftalazino y pirazinopiridazino que poseen un residuo borónico que sustituye a la fracción de ácido carboxílico. Esto proporciona un enfoque químico bastante nuevo para el desarrollo de inhibidores activos. Estos compuestos recién desarrollados se están probando activamente para comprobar su eficacia en trastornos cardiovasculares y diabéticos en animales y humanos. ⁵⁵

Cabe resaltar que, actualmente, epalrestat (**Figura 23**) es el único inhibidor de aldosa reductasa que se está utilizando, en Japón, India y China, para tratar a pacientes con neuropatía diabética. ⁵⁵



3. JUSTIFICACIÓN

La diabetes tipo 2 se encuentra entre una de las primeras causas de muerte a nivel mundial y nacional; su alta prevalencia y continuo incremento de la población diagnosticada con este padecimiento la convierten en un importante problema de salud pública. El tratamiento de los pacientes con diabetes tiene como consecuencia altos costos para el sector sanitario debido a un mayor uso de los servicios de salud y el apoyo a largo plazo que se otorga a complicaciones relacionadas con la enfermedad. Actualmente, el tratamiento dietético tiene que ser combinado con una variedad de medicamentos, ya que, un sólo fármaco no es capaz de tratar todas las complicaciones presentadas en un paciente diabético, debido a esto es necesario recurrir a la polifarmacia lo que implica un aumento del riesgo a presentar efectos adversos y/o interacciones farmacológicas.

Por lo tanto, este proyecto pretende contribuir con compuestos novedosos derivados del ácido fenilpropanóico con posible efecto *multitarget* que actúen como inhibidores de aldosa reductasa y como agonistas de los receptores PPAR- γ y GPR40, dianas asociadas en el tratamiento de DT2, que, en combinación con un seguimiento nutricional adecuado, contribuyan al mejor pronóstico de los pacientes con DT2.

4. HIPÓTESIS

Los compuestos derivados del ácido fenilpropanóico diseñados en este proyecto poseerán afinidad *in silico* sobre GPR40, PPAR- γ , y aldosa reductasa, ya que presentan el patrón farmacofórico unificado de compuestos antidiabéticos y además mostrarán buenas propiedades farmacocinéticas calculadas.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general:

Diseñar los compuestos WYA 1-6 y evaluar *in silico* sus propiedades farmacocinéticas, farmacodinámicas y toxicológicas y el posible modo de unión de los compuestos con los receptores GPR40 y PPAR- γ y con la enzima aldosa reductasa.



5.2. Objetivos particulares:

- Diseñar seis compuestos derivados del ácido 3-(4-benciloxifenil)propanoico (**WYA 1-6**).
- Llevar a cabo predicciones *in silico* de la posible actividad antidiabética, así como de las características farmacodinámicas, farmacocinéticas y toxicológicas de los compuestos diseñados empleando herramientas químioinformáticas.
- Realizar estudios de acoplamiento molecular de la serie de compuestos **WYA 1-6** para determinar el posible modo de unión sobre aldosa reductasa y los receptores PPAR- γ y GPR40.
- Realizar un análisis de consenso farmacológico *in silico* (ACOFA/PHACA) para la selección de un *Hit* computacional seguro para realizar evaluaciones biológicas a futuro.
- Proponer una ruta de síntesis química para la obtención de los compuestos diseñados.



6. CONSIDERACIONES PARA EL DISEÑO MOLECULAR

El diseño racional de los compuestos **WYA 1-6** se basó en los compuestos reportados en la literatura con actividad agonista sobre los receptores PPAR- γ y GPR40, y con actividad inhibitoria sobre aldosa reductasa. Además, se tomó en cuenta el patrón farmacofórico unificado de los agonistas duales de los receptores GPR40 y PPAR- γ (**Figura 25**).⁵⁶

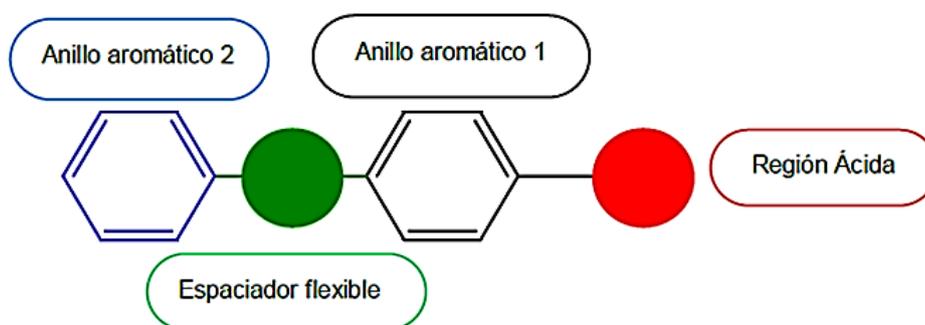


Figura 25. Patrón farmacofórico unificado de los agonistas de GPR40 y PPAR- γ .⁴¹

6.1. Bases para el diseño molecular

Dentro de las consideraciones para el diseño de los compuestos **WYA 1-6** (**Figura 26**), se incluye a los compuestos GW9508 y **ACB-1** (agonistas experimentales de GPR40) y al fármaco pioglitazona (agonista de PPAR- γ), dichos compuestos presentan una similitud estructural que consta de una parte ácida que permitirá la formación de puentes de hidrógeno con el sitio de unión, una región aromática unido a la parte ácida que proporcionará interacciones de tipo π - π con la parte aromática de los residuos de aminoácido, además un espaciador flexible, y una segunda región aromática que permitirá la formación de interacciones no polares con el sitio de unión. Por otro lado, se tomó en cuenta a lidorestat (inhibidor de aldosa reductasa), el cual posee 2 características farmacofóricas que consiste en una región ácida que permitirá interacciones en el sitio de unión a anión y una región lipofílica que interactúa con la cavidad flexible del sitio activo.

Cabe mencionar que, en el caso de la pioglitazona se llevó a cabo un intercambio bioisotérico del anillo de tipo tiazolidindiona con pKa de 6.35 por un ácido carboxílico



con pKa de 4.7 conservando la misma cantidad de átomos entre en anillo aromático y el carbonilo del ácido carboxílico.

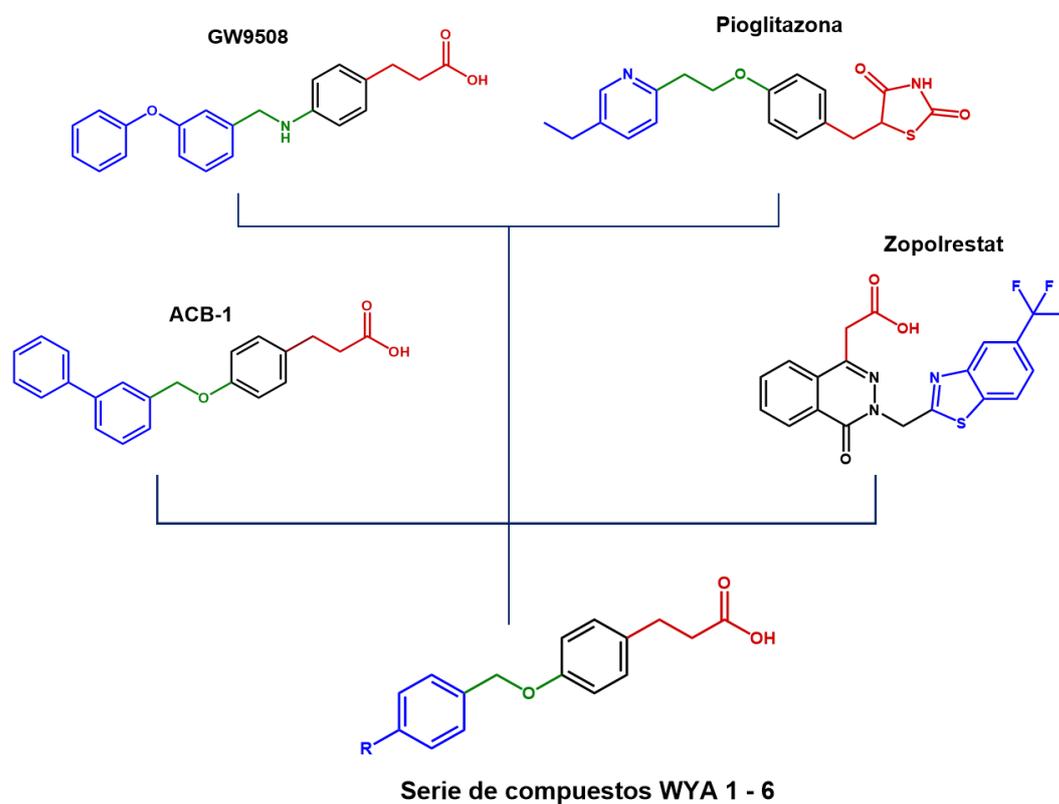


Figura 26. Consideraciones para el diseño de los compuestos WYA 1-6.



7. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Las metodologías empleadas para el desarrollo de este proyecto de tesis se dividieron en dos partes:

b) Parte *in silico*

Realizada en el Laboratorio 5 de la Facultad de Farmacia, UAEM bajo la asesoría del Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez. Para esta parte se usaron herramientas químioinformáticas para la predicción de las propiedades farmacocinéticas (AdmetSAR), para la predicción del espectro de actividad biológica (PASS y Swiss Target prediction), y para la predicción del perfil toxicológico (ACD/Tox. Suite, Osiris y DataWarrior).

Por otro lado, el estudio de acoplamiento molecular inverso se realizó a través del servidor DIA-DB. El acoplamiento molecular dirigido de la serie de compuestos **WYA 1-6** con los receptores GPR40 y PPAR- γ , y con la enzima aldosa reductasa se llevó a cabo usando los servidores Autodock Vina, Autodock 4 y MOE en el laboratorio 5 de la Facultad de Farmacia bajo la asesoría del L.F. Edgar Rosales Ortega.

a) Parte química

El diseño, el análisis retrosintético y la síntesis de alguno de los precursores de los compuestos **WYA 1-6** se llevó a cabo en el Laboratorio 5 de Química Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (FF-UAEM) bajo la dirección del Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez y con la asesoría de L.F. Edgar Rosales.



7.1. Parte *in silico*

7.1.1. PASS: Predicción del Espectro de Actividad Biológica

El servidor PASS (**Figura 27**) es una herramienta químico-informática de libre acceso disponible en línea (<http://www.way2drug.com/PASSOnline/index.php>) que está diseñado para predecir efectos biológicos (tanto farmacológicos como tóxicos) de los compuestos que se están evaluando. Los cálculos se realizan con base en un análisis de similitud estructural entre los compuestos ingresados y los compuestos ya reportados en la base de datos del portal.

Los resultados se representan como probabilidad de actividad (P_a) y probabilidad de inactividad (P_i). Valores de $P_a > 0.7$ indican una buena probabilidad de presentar actividad biológica experimental, valores de P_a entre 0.5 y 0.7 indican una mediana probabilidad y valores de $P_a < 0.5$ indican una baja probabilidad, sin embargo, no significa que los compuestos serán inactivos experimentalmente, si no que los compuestos similares no tienen reportadas las actividades de interés. ⁵⁷



Figura 27. Interfaz del servidor en línea PASS online.

7.1.2. Swiss TargetPrediction

El programa computacional Swiss TargetPrediction (**Figura 28**) es un servidor disponible en la web de manera gratuita que brinda predicciones del espectro de actividad de los compuestos sobre una variedad de dianas terapéuticas permitiendo conocer el posible mecanismo de acción de los compuestos. Esta herramienta se basa en el análisis de la similitud estructural, así como similitud de la conformación tridimensional de los compuestos que se están estudiando con aquellos ya reportados con determinada actividad y que se encuentran disponibles en la biblioteca de su sistema. ⁵⁸



No es seguro | swisstargetprediction.ch

Click2Drug | SwissDock | SwissParam | SwissSidechain | SwissBioSostere | **SwissTargetPrediction** | SwissADME | SwissSimilarity | About us

SIB
Swiss Institute of Bioinformatics

SwissTargetPrediction

Home | FAQ | Help | Download | Contact | Disclaimer | old.swisstargetprediction.ch

This website allows you to estimate the most probable macromolecular targets of a small molecule, assumed as bioactive. The prediction is founded on a combination of 2D and 3D similarity with a library of 370'000 known actives on more than 3000 proteins from three different species.

The webtool is described in detail here: [SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules, Nucl. Acids Res. \(2019\)](#). For technical information about the prediction algorithm, you can refer to: [Shaping the interaction landscape of bioactive molecules, Bioinformatics \(2013\) 29:3073-3079](#).

Select a species

- Homo sapiens
- Mus musculus
- Rattus norvegicus

Chemical structure editor interface showing a toolbar and a central canvas with a house icon.

Figura 28. Interfaz del programa Swiss TargetPrediction.

7.1.3. Predicción de las propiedades fisicoquímicas: Molinspiration

La herramienta Molinspiration es un portal en línea (**Figura 29**), disponible de manera gratuita que calcula propiedades fisicoquímicas de los compuestos ingresados: peso molecular, lipofilicidad (log P), número de donadores de puentes de hidrógeno, número de aceptores de puentes de hidrógeno, área polar superficial

Dichas propiedades están ampliamente relacionadas con el perfil biofarmacéutico y farmacocinético de la molécula en cuestión y por lo tanto son importantes para el diseño de los compuestos.

molinspiration

Calculation of Molecular Properties and Bioactivity Score

Enter SMILES

or draw molecule below

Calculate Properties

Predict Bioactivity

Galaxy 3D Generator

[Molinspiration home](#)

[Molinspiration products and services](#)

[Molinspiration services FAQ](#)

[Terms of service](#)

© Molinspiration Cheminformatics 2020

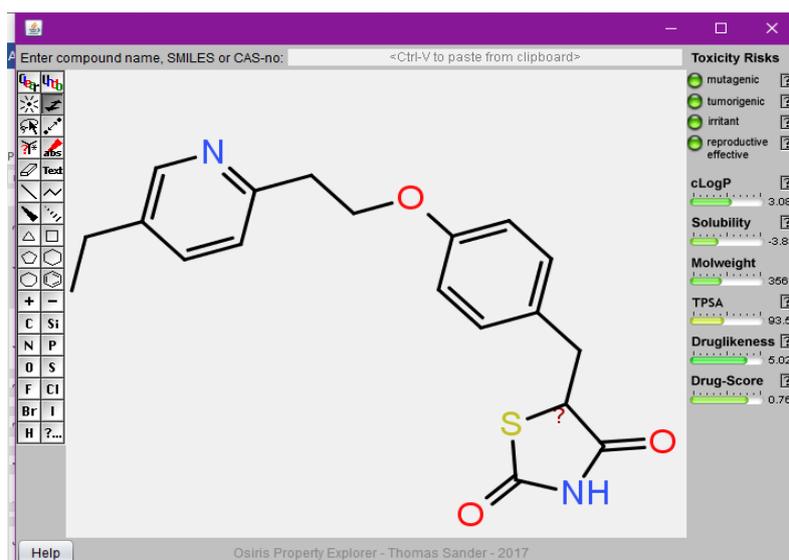
Figura 29. Interfaz del programa Mollinspiration.



7.1.4. OSIRIS y DataWarrior: Predicción de propiedades cuasi-fármaco (drug-likeness) y puntaje como fármaco (drug-score)

Los programas Osiris y DataWarrior son herramientas químioinformáticas de libre descarga que nos permiten predecir algunas de las propiedades toxicológicas de los compuestos como carcinogenicidad irritabilidad y tumorigenicidad, así como algunas de las características biofarmacéuticas como el coeficiente de partición, la solubilidad acuosa y el área polar superficial. Realiza un cálculo computacional de los compuestos con las bases de datos de los programas, con los que se determinan las propiedades tipo fármaco y cuasi-fármaco.⁵⁹

En Osiris los resultados están representados por código de colores, las propiedades con alto riesgo de efectos indeseables se representan en color rojo, mientras que las propiedades aceptables son representadas en color verde (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.).



. **Figura 30.** Interfaz del programa Osiris

En DataWarrior, los resultados son representados en una tabla muy práctica que permite identificar el compuesto con los mejores resultados de manera fácil y rápida (**Figura 31**).

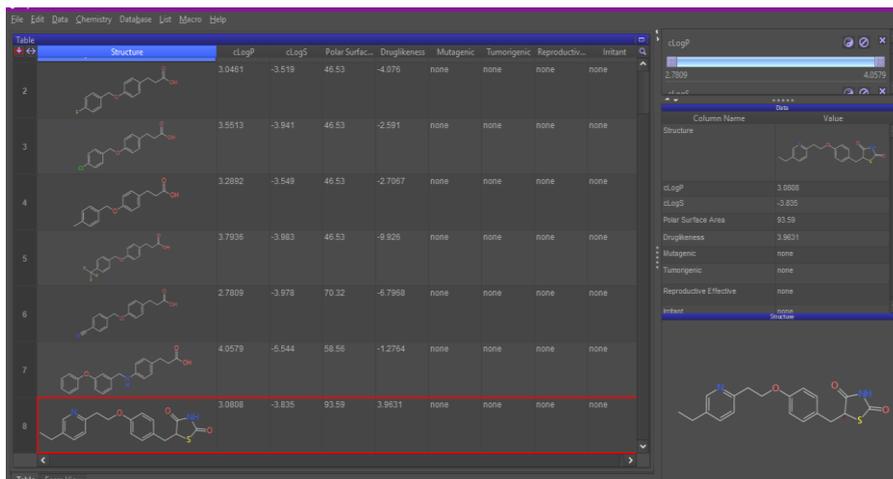


Figura 31. Interfaz del programa Osiris Data Warrior.

7.1.5. ACD/ToxSuite: Predicción de la toxicidad aguda

El servidor ACD/ToxSuite es un programa que requiere licencia para su uso, está conformada por módulos que permiten predecir cuantitativamente algunos de los parámetros de toxicidad (Figura 32), que incluyen la inhibición de isoformas del CYP450, DL₅₀, el bloqueo de canales hERG y la toxicidad aguda. Su análisis se realiza mediante la relación estructura-actividad de las moléculas que sean ingresadas en la base que son comparadas con los miles compuestos dispuestos en su compleja base de datos. Dichas características hacen de este programa una importante herramienta para la investigación y desarrollo en la química farmacéutica ya que sus resultados son útiles como criterios de selección dentro de un análisis de consenso farmacológico.

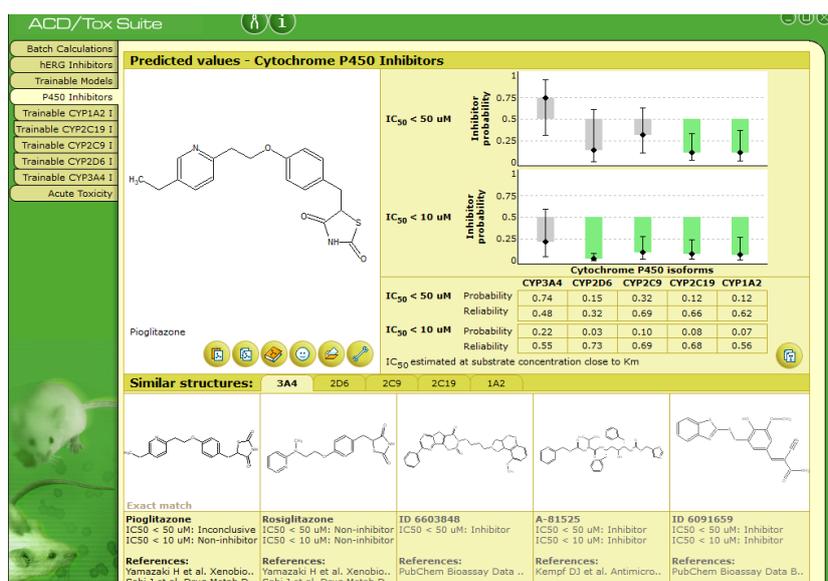


Figura 32. Interfaz del programa ACD/ToxSuite.



7.1.6. SwissADME

El programa SwissADME (**Figura 33**) es una herramienta de libre acceso en la web (<http://www.swissadme.ch/index.php>) que brinda predicciones acerca del perfil biofarmacéutico, farmacocinético, el programa proporciona una evaluación DrugLikenes basándose en diferentes postulados que evalúan propiedades fisicoquímicas como TPSA, Log P, número de donadores o aceptores de hidrógeno y peso molecular; además, predice información químico-farmacéutica de importancia para el diseño racional de compuestos: Alertas PAIN, y Accesibilidad de síntesis de los compuestos ingresados.

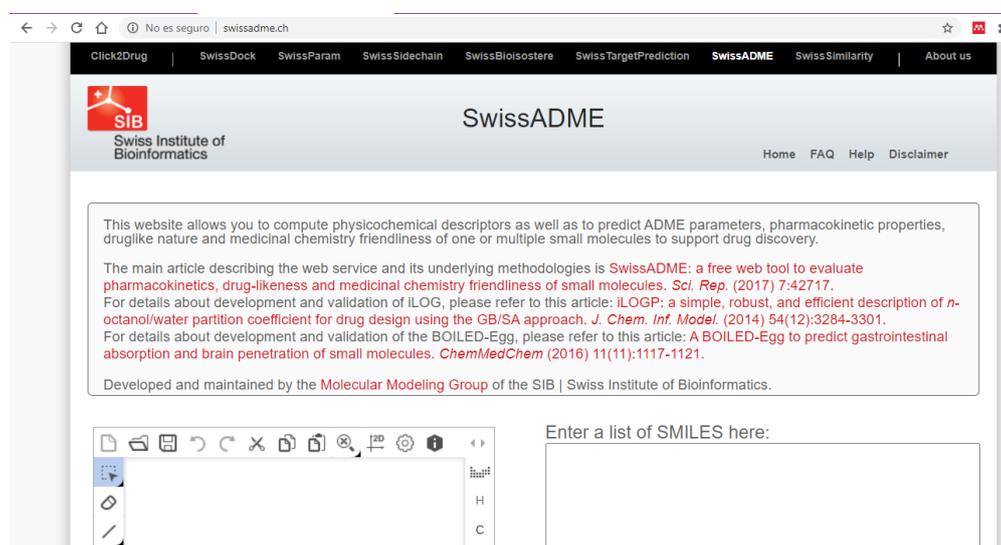


Figura 33. Interfaz del programa SwissADME.

7.1.7. admet-SAR: Predicción de las propiedades de absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad.

El portal admetSAR (**Figura 34**) es una herramienta quimioinformática de libre acceso en línea (<http://lcmd.ecust.edu.cn/admetSar2>). Este servidor permite realizar predicciones de las propiedades fisicoquímicas, farmacocinéticas y toxicológicas de los compuestos ingresados a la base. Además, realiza una relación Estructura-Actividad de manera similar al programa Pass, de aproximadamente 96 000 compuestos contenidos en su base de datos.⁶⁰

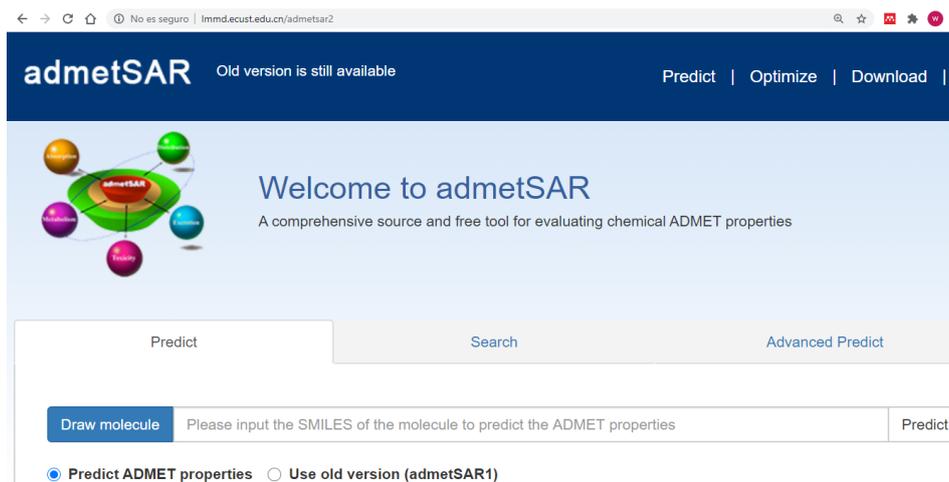


Figura 34. Interfaz del programa admetSAR

7.1.8. Dia-DB: Acoplamiento Molecular Inverso sobre 18 dianas terapéuticas de importancia en la DM2

Es un portal en línea gratuito (<http://bio-hpc.ucam.edu/diadb/index.php>) de la Universidad Católica de Murcia (Figura 35). El servidor lleva a cabo un análisis de comparación de similitud estructural con moléculas de su base de datos conformada por fármacos y moléculas experimentales para realizar un acoplamiento molecular sobre 18 dianas terapéuticas relacionadas con el tratamiento de la DT2 para conocer el posible modo de unión de las moléculas experimentales.⁶¹

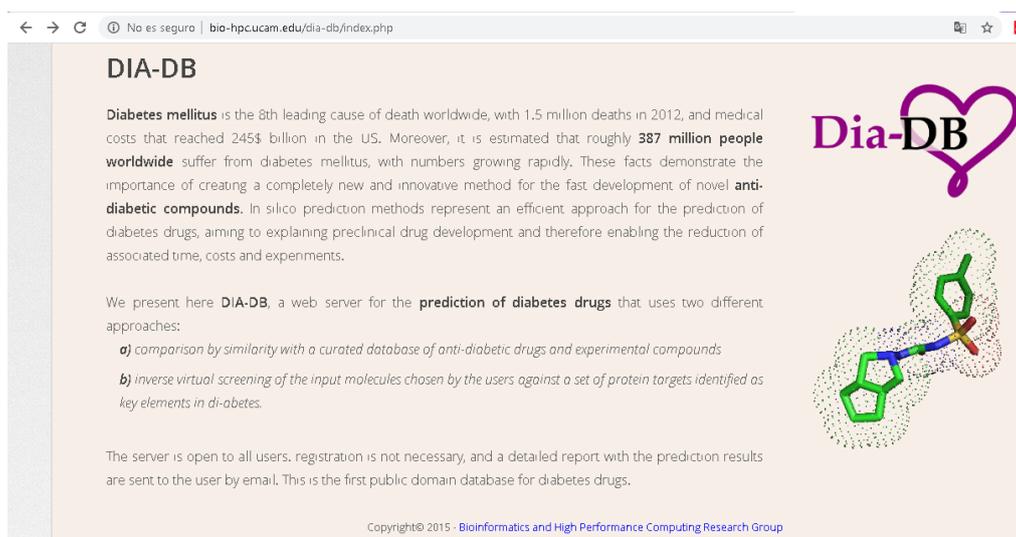


Figura 35. Interfaz del portal web DIA-DB



7.1.9. Acoplamiento molecular dirigido

El acoplamiento molecular es una herramienta computacional que juega un papel clave en el diseño y desarrollo de fármacos asistido por computadora que permite superponer los ligandos sobre proteínas y examinar virtualmente grandes bibliotecas digitales de compuestos para reducir los costos y acelerar el descubrimiento de fármacos. A medida que se determinan experimentalmente más estructuras proteínicas mediante cristalografía de rayos X o espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN), el acoplamiento molecular se utiliza cada vez más como herramienta para el descubrimiento de fármacos. En las últimas décadas se han desarrollado varios programas informáticos, entre los que se encuentran algunos ejemplos muy conocidos, como AutoDock 4, AutoDock Vina, DockThor, GOLD FlexX, MOE y Molegro Virtual Docker.^{62,63}

El acoplamiento molecular es un método que analiza la conformación y la orientación (denominada conjuntamente "pose") de las moléculas en el sitio de unión de un blanco macromolecular. Puede utilizarse para identificar las dianas con las que los ligandos presentan una buena complementariedad (ajuste inducido), además permite predecir los patrones de interacción para evaluar los posibles modos de unión de ligando-receptor y de esta manera proponer el posible mecanismo de acción. Además, el acoplamiento también se emplea actualmente para la identificación de nuevos usos de compuestos químicos con perfiles de seguridad ya optimizados (reposicionamiento de medicamentos).^{62,64,65}

Este estudio ejecuta algoritmos de búsqueda en el que la conformación del ligando se evalúa de forma recursiva hasta que se alcanza la convergencia con la energía mínima. Calcula principalmente el grado de coincidencia de la conformación, y la suma de todas las interacciones para cuantificarlo mediante una puntuación de acoplamiento que representa la potencialidad de la unión. Estos algoritmos de acoplamiento no sólo predicen el modo de unión de una molécula, sino también su afinidad de unión en el sitio de unión. Finalmente, se emplea una función de puntuación de afinidad, ΔG (en kcal/mol) para clasificar las poses del candidato como la suma de las energías electrostática y van der Waals, etc. El ligando que más se ajusta en un espacio rotatorio y encaja en el sitio de unión puede servir como un compuesto lead para el diseño de fármacos.^{62,64,65}



7.2. Parte química

7.2.1. Retrosíntesis

El análisis retrosintético es una pieza clave previa al desarrollo de la síntesis química ya que nos permite determinar las materias primas y establecer una ruta de síntesis.

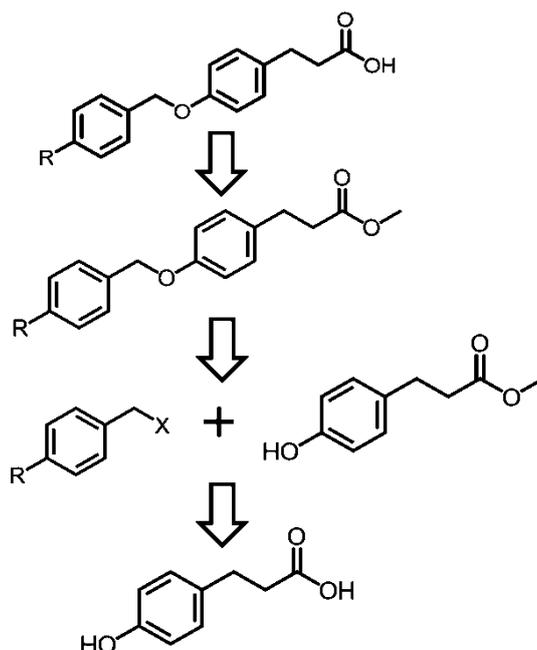


Figura 36. Análisis retrosintético de la serie de compuestos WYA 1-6.

La retrosíntesis (**Figura 36**) se inicia con un intercambio de grupo funcional del ácido carboxílico por un éster, seguido de una desconexión en el enlace carbono-oxígeno del éter generando los halogenuros de bencilo correspondientes que están comercialmente disponibles, y el 3-(4-hidroxifenil)propanoato de metilo al cual se le hace un intercambio de grupo funcional del éster por ácido carboxílico, dando así como materia prima el ácido 3-(4-hidroxifenil)propanoico que está disponible en el mercado.

7.2.2. Síntesis química propuesta

7.2.2.1. Metodología general para la síntesis del 3-(4-hidroxifenil)propanoato de metilo (WYA-7)

Para la protección del ácido carboxílico se llevó a cabo la esterificación de Fischer, en donde se hizo reaccionar el ácido 3(4-hidroxifenil)propanoico con metanol con una gota de ácido sulfúrico para la obtención del 3-(4-hidroxifenil)propanoato de metilo (**WYA-7**). (**Diagrama 1**)

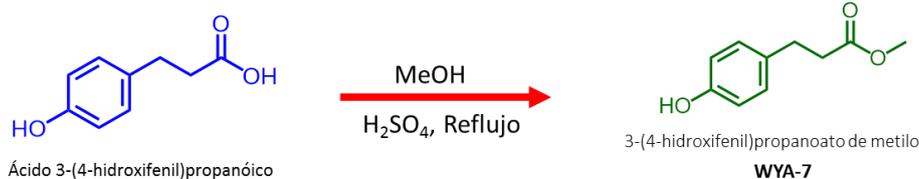


Diagrama 1. Síntesis del 3-(4-hidroxifenil)propanoato de metilo (WYA-7).

7.2.2.2. Metodología general para la síntesis de los precursores

Para la síntesis de los precursores **WYA 8-13** se llevó a cabo una reacción de Williamson para la formación de éteres, se hace reaccionar el 3-(4-hidroxifenil)propanoato de metilo (**7**) con K₂CO₃ para la formación del fenóxido, el cual mediante una sustitución nucleofílica bimolecular (S_N²) se hace reaccionar con los distintos halogenuros de bencilo debidamente sustituidos usando acetonitrilo como disolvente (**Diagrama 2**).

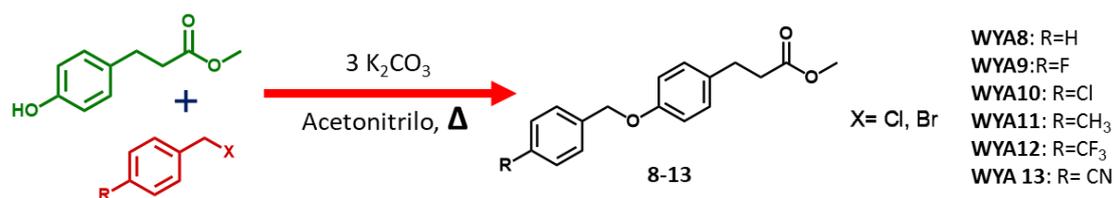


Diagrama 2. Síntesis de los precursores **WYA 8-13**.

7.2.2.3. Metodología general para la síntesis de la serie de compuestos

WYA 1-6

Para la obtención de los compuestos finales se lleva a cabo una reacción de hidrólisis básica de los precursores ésteres. Se hace reaccionar los compuestos **WYA 8-13** con KOH (2 equivalentes) al 10% y etanol, para obtener como productos a los compuestos **WYA 1-6** (**Diagrama 3**)

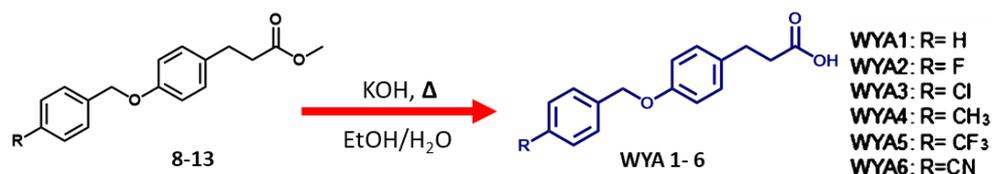


Diagrama 3. Síntesis de los precursores **WYA 8-13**.



8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Parte in silico

8.1.1. PASS: Predicción del Espectro de Actividad Biológica de los compuestos WYA 1-6.

Se llevó a cabo la predicción de las posibles actividades de los compuestos finales **WYA 1-6** sobre distintos blancos terapéuticos relacionados en el tratamiento de la diabetes utilizando el programa quimio-informático PASS (**Tabla 2**). Se incluyeron 3 controles positivos: lidorestat (Inhibidor de aldosa reductasa), pioglitazona (Agonista del receptor PPAR- γ), y el compuesto GW9508 (Agonista del receptor GPR40)⁶⁶ con el fin de observar la capacidad predictiva del programa PASS.

Tabla 2. Predicción de la actividad biológica por PASS de los compuestos **WYA 1-6**.

Actividad	Agonista GPR40		Inhibidor de aldosa reductasa		Agonista PPAR- γ		Antidiabético	
	<i>P.a</i>	<i>P.i</i>	<i>P.a</i>	<i>P.i</i>	<i>P.a</i>	<i>P.i</i>	<i>P.a</i>	<i>P.i</i>
WYA-1	0.373	0.1	0.078	0.030	0.266	0.006	0.550	0.017
WYA-2	0.460	0.001	0.102	0.018	0.210	0.008	0.532	0.019
WYA-3	0.217	0.002	0.083	0.026	0.220	0.008	0.535	0.019
WYA-4	0.357	0.001	0.075	0.032	0.248	0.007	0.527	0.020
WYA-5	0.465	0.001	0.088	0.023	0.273	0.006	0.625	0.010
WYA-6	0.217	0.002	--	--	0.018	0.010	0.534	0.019
PIOGLITAZONA	--	--	0.106	0.016	0.942	0.002	0.976	0.003
GW9508	-----	-----	-----	-----	0.141	0.014	0.377	0.05
LIDORESTAT	-----	-----	0.752	0.001	-----	-----	0.711	0.005

P.a= Probabilidad de actividad, P.i= Probabilidad de inactividad

En la **Tabla 2** se puede observar que los compuestos presentaron probabilidades intermedias de ser agonistas de GPR40 y PPAR- γ , siendo el compuesto **WYA-5** el que presentó los mejores valores predictivos sobre estas dianas, mostraron bajas o nulas probabilidades de ser inhibidores de la enzima aldosa reductasa, sin embargo, esto no quiere decir que los compuestos no vayan a ser activos experimentalmente, sino que no se han registrado en su base de datos compuestos similares con dicha actividad como se puede observar en el caso del compuesto control GW9508, el cual ha mostrado actividad sobre GPR40 en ensayos experimentales y en el predictor Pass



muestra resultados aparentemente no favorables. En caso de que los compuestos presentados en este proyecto llegaran a ser bioactivos en ensayos experimentales estaríamos hablando de nuevas entidades químicas.

8.1.2. Predicción de la actividad biológica por SwissTarget

El programa SwissTarget sirvió para calcular las probabilidades de unión de los compuestos a diversas proteínas dispuestas en su base de datos, en la **Tabla 3** se muestran los resultados de la probabilidad de actividad de los compuestos diseñados sobre las tres dianas terapéuticas de interés en este proyecto.

Tabla 3. Predicción de propiedades por SwissTarget de los compuestos **WYA 1-6**

	PROBABILIDAD DE UNIÓN		
	GPR40	PPAR- γ	Aldosa reductasa
WYA-1	100%	11%	---
WYA-2	62%	50%	---
WYA-3	39%	10%	10%
WYA-4	54%	10%	---
WYA-5	15%	10%	----
WYA-6	42%	9%	---
GW9508	100%	93%	----
Pioglitazona	9%	100%	
Lidorestat	10%	10%	100%

Se utilizaron los compuestos **GW9508**, lidorestat y pioglitazona como controles positivos en esta evaluación computacional ya que se ha comprobado su actividad biológica sobre las dianas terapéuticas evaluadas en este servidor. De esta manera los resultados obtenidos por nuestras moléculas pueden ser validados y comparados.

Para tener cierta referencia que se pudiera aplicar como validación para este análisis de actividad biológica se usaron como compuestos control a los compuestos **GW9508** y lidorestat, así como al fármaco pioglitazona los cuales ya se ha comprobado su actividad sobre las respectivas dianas terapéuticas que se están estudiando en este proyecto.

Como se puede observar en la **Tabla 3**, los compuestos presentaron probabilidades de discretas a buenas de unirse a GPR40, se resalta al compuesto **WYA-1**, el cual presentó una probabilidad de unión equivalente al compuesto **GW9508**.



Así mismo, mostraron probabilidades de discretas a medias de unirse a PPAR- γ , donde se destaca al compuesto **WYA-2** que mostró el mejor resultado sobre los otros compuestos en estudio. Respecto a la enzima aldosa reductasa, solo el compuesto **WYA-3** mostró una probabilidad discreta y los demás compuestos no presentan probabilidades, esto significa que aún no se han reportado estructuras similares en la base de datos del programa, por lo cual no las reconoce y no arroja un valor predictivo.

8.1.3. Predicción de propiedades fisicoquímicas: Molinspiration

El análisis que se hizo fue el cálculo de las propiedades fisicoquímicas que poseen cada uno de los compuestos **WYA 1-6**.

Dentro de los valores obtenidos de este programa, se incluye el valor máximo permitido en cada una de las propiedades, así como el número de violaciones que presenta cada compuesto. Para hacer una comparación se incluyen las propiedades de los compuestos GW9508 y pioglitazona. (**Tabla 4**)

Tabla 4. Predicción de propiedades fisicoquímicas de los compuestos **WYA 1-6** por Molinspiration.

Criterio	LogP	PM	nON	nOHNH	# Violaciones
	<5	<500	<10	<5	<2
WYA-1	3.53	256.3	3	1	0
WYA-2	3.7	274.29	3	1	0
WYA-3	4.21	290.75	3	1	0
WYA-4	3.98	270.33	3	1	0
WYA-5	4.43	324.3	3	1	0
WYA-6	3.29	281.31	4	1	0
GW9508	4.87	347.41	4	2	0
Pioglitazona	3.07	356.45	5	1	0

Los compuestos evaluados con Molinspiration no presentan ninguna violación a los postulados de Lipinski, que consisten en valores biofarmacéuticos de importancia en la probabilidad de absorción y permeación de los compuestos. La predicción del log P de los compuestos analizados presentó un valor menor a 5, lo cual se encuentra dentro del rango establecido.



En cuanto al peso molecular se encuentran de igual manera dentro de lo establecido y son similares al peso molecular de pioglitazona. Finalmente, los donadores y aceptores de hidrógeno se encuentran por debajo del rango, así que se espera que los compuestos no presenten problemas de absorción gastrointestinal y posean buena biodisponibilidad.

8.1.4. Predicción de propiedades biofarmacéuticas: SWISSADME

Para poder predecir las propiedades biofarmacéuticas de los compuestos que estamos estudiando, se usó el programa SwissADME. Al igual que en los demás análisis, se empleó como compuesto de referencia a pioglitazona y al compuesto GW9508.

Tabla 5. Predicción de propiedades por SwissADME de los compuestos WYA 1-6.

	Log P	Solubilidad	Absorción intestinal	BBB	Biodisponibilidad	Alerta PAINS
WYA-1	3.10	Buena	Alta	No	85%	No
WYA-2	3.41	Intermedia	Alta	No	85%	No
WYA-3	3.64	Intermedia	Alta	No	85%	No
WYA-4	3.44	Intermedia	Alta	No	85%	No
WYA-5	4.15	Intermedia	Alta	No	85%	No
WYA-6	2.86	Intermedia	Alta	No	85%	No
PIOGTZ	3.11	Intermedia	Alta	Si	55%	No
GW9508	4.20	Intermedia	Alta	No	85%	No

En la **Tabla 5** se puede observar que la mayoría de los compuestos evaluados para este proyecto, así como las referencias presentaron probabilidad intermedia de ser solubles en agua, se destaca que el compuesto **WYA-1** mostró una probabilidad buena de ser soluble.

Los compuestos **WYA1-6** mostraron valores de log P similares al valor predicho para pioglitazona, el cual se encuentra dentro los valores óptimos para un diseño racional de fármacos.



Todos los compuestos ingresados presentaron alta probabilidad de absorberse en el intestino, así como probabilidad alta de ser biodisponibles, incluso muestran mayor probabilidad que pioglitazona, un fármaco que ya se encuentra en el mercado. Por lo tanto, se puede esperar que los compuestos posean una buena absorción en el intestino y una buena biodisponibilidad.

Cabe mencionar que los compuestos diseñados no presentaron alerta PAINS, compuestos que ya se tienen reportados y que son conocidos por interferir en el progreso de los ensayos de alto rendimiento dando falsos positivos.⁶⁷

8.1.5. Predicción de los efectos tóxicos de los compuestos:

ACD/ToxSuite

Se llevó a cabo la predicción algunas de las propiedades toxicológicas de los compuestos **WYA 1-6** obteniéndose resultados favorables como se muestra en la **Tabla 6**, como control se usó al fármaco pioglitazona.

Tabla 6. Resultados obtenidos para WYA 1-6 mediante ACD/ToxSuite.

Compuesto	Probabilidad de inhibición de CYP (IC ₅₀ < 10 μM)					Probabilidad de bloqueo de canales hERG (Ki < 10 μM)	DL50 mg/kg				Categoría OCDE
	3A4	2D6	2C9	2C19	1A2		Rata		Ratón		
							IP	PO	IP	PO	
WYA-1	4%	4%	6%	10%	4%	2%	480	2500	1100	2100	4-5
WYA-2	3%	5%	7%	9%	4%	1%	430	1500	990	2000	4-5
WYA-3	5%	5%	11%	15%	5%	3%	510	2100	880	1700	4-5
WYA-4	4%	4%	6%	9%	3%	1%	420	3100	920	2100	4-5
WYA-5	5%	3%	7%	11%	2%	9%	720	4600	480	2800	4-5
WYA-6	5%	2%	5%	5%	3%	2%	1200	5600	560	1100	5
Pioglitazona	22%	3%	10%	8%	7%	10%	400	1100	440	1900	5

Categoría OCDE 1: DL50 ≤ 5mg/kg (Peligro, mortal en caso de ingestión),
 Categoría OCDE 2: 5mg/kg < DL50 ≤ 50mg/kg (Peligro, mortal en caso de ingestión),
 Categoría OCDE 3: 50mg/kg < DL50 ≤ 300mg/kg (Peligro, tóxico en caso de ingestión),
 Categoría OCDE 4: 300mg/kg < DL50 ≤ 2000mg/kg (Advertencia, tóxico en caso de ingestión),
 Categoría OCDE 5: 2000mg/kg < DL50 ≤ 5000mg/kg (Advertencia, puede ser nocivo en caso de ingestión)



Los compuestos presentaron probabilidades muy bajas de inhibir algunas de las isoformas del complejo CYP450 relacionadas ampliamente con interacciones farmacológicas, y en comparación con pioglitazona, presentaron menor probabilidad de inhibir a CYP3A4, la isoforma más abundante en los seres humanos, y por lo tanto una enzima de importancia clínica que se evalúa para reducir efectos indeseados. Se destaca al compuesto **WYA-2** que mostró el valor más bajo (3%), mientras que los demás compuestos mostraron valores de 4% y 5%.

En los resultados se observa que los compuestos presentan muy baja probabilidad de bloquear los canales hERG los cuales se han asociado con cardiotoxicidad, se resalta al compuesto cuatro con valor de 1%, cabe mencionar que los valores son menores que el arrojado para el fármaco pioglitazona.⁶⁸

Finalmente, con relación a la toxicidad aguda, los compuestos se clasificaron dentro de las categorías 4 y 5 de la OECD donde se encuentra la mayoría de los fármacos actualmente disponibles en el mercado. Se resalta al compuesto **WYA-5**, que fue el que mostró el mejor valor de dosis letal media (DL_{50}), 5600 mg/kg por vía oral. Con esta predicción podemos discutir que los compuestos tienen alta probabilidad de no presentar efectos tóxicos a dosis terapéuticas, y por lo tanto se consideran compuestos seguros que podrían administrarse vía oral ya que se requeriría administrar aproximadamente 15 gramos o más para que se presenten efectos tóxicos y un daño a la salud.

Dados los resultados, se espera que nuestros compuestos no afecten el metabolismo de otros fármacos y así mismo, se espera que no sean un riesgo para la salud a dosis terapéuticas.

8.1.6. Predicción de las propiedades cuasi-fármaco y riesgos a la salud: OSIRIS y DataWarrior

Se evaluó el perfil toxicológico y los posibles efectos negativos a la salud de los compuestos **WYA 1-6** mediante los programas Osiris y Data Warrior, y se usó como moléculas control el fármaco pioglitazona y el compuesto GW9508.



Tabla 7. Resultados obtenidos para los compuestos WYA 1-6 por Osiris y Data Warrior

Compuesto	LogP	Sol	TPSA	Mut	Tum	Irr	Rep	DLi	Dsc
WYA-1	2.95	-3.2	46.53	●	●	●	●	-9.79	0.43
WYA-2	3.05	-3.52	46.53	●	●	●	●	-1.73	0.47
WYA-3	3.55	-3.94	46.53	●	●	●	●	0.01	0.57
WYA-4	3.29	-3.55	46.53	●	●	●	●	-2.27	0.44
WYA-5	3.79	-3.98	46.53	●	●	●	●	-8.19	0.36
WYA-6	2.78	-3.98	70.32	●	●	●	●	-9.23	0.4
PIO	3.08	-3.83	93.53	●	●	●	●	5.02	0.76
GW9508	4.06	-5.54	58.56	●	●	●	●	0.08	0.42

Pio= Pioglitazona, ClogP = log P calculado, Sol = Solubilidad, TPSA = Área superficial polar. Mtg = Mutagenicidad, Tmg = Tumorigenicidad, Irr = Irritante, Rep = Efectos reproductivos, DLi= Druglikeness, Dsc= Drug-score

En la **Tabla 7** se puede observar que los compuestos **WYA 1-6** muestran resultados favorables en el perfil toxicológico, ya que presentan buenas probabilidades de no ser agentes tumorigénicos, mutagénicos ni afectar en la reproducción, sin embargo, este experimento no reemplaza las pruebas *in vitro* e *in vivo* que deben realizarse para conocer realmente los posibles efectos negativos a la salud.

En la parte biofarmacéutica, todos los compuestos mostraron valores favorables de Log P, donde **WYA-1** y **WYA-6** obtuvieron un valor de Log P óptimo (2-3); en la parte de TPSA, todos los compuestos se encuentran por debajo de los 150 Å² lo que favorece la absorción intestinal y restringe el paso a través de la barrera hematoencefálica, por último, los compuestos diseñados mostraron una solubilidad acuosa pobre debido a la estructura química de los compuestos.

En cuanto a los resultados de la categoría DrugLikeness, la molécula **WYA-3** mostró el mejor resultado, sin embargo, todos se mostraron con puntaje bajo en comparación con pioglitazona y el compuesto GW9508, debido a que mostraron alerta en la parte de solubilidad y porque posiblemente no hay moléculas similares en su base de datos, ya que el receptor GPR40 y la enzima aldosa reductasa son blancos terapéuticos



relativamente novedosos. Finalmente, respecto a los resultados en la categoría de Drug-score, los compuestos presentaron puntaje pobre a intermedio debido a que los valores DrugLikeness fueron bajos.

8.1.7. Predicción de las propiedades farmacocinéticas: AdmetSAR

En la **Tabla 8** podemos apreciar los resultados obtenidos de la predicción de algunas propiedades de los compuestos **WYA 1-6** mediante el programa AdmetSAR, los cuales están organizados en dos apartados: absorción y toxicidad.

Tabla 8. Predicción de propiedades por admetSAR de los compuestos WYA 1-6.

Modelo	Resultado	Probabilidad WYA-1	Probabilidad WYA-2	Probabilidad WYA-3	Probabilidad WYA-4	Probabilidad WYA-5	Probabilidad WYA-6	Probabilidad GW9508
Absorción								
Absorción intestinal	HIA +	0.9735	0.9777	0.9792	0.9874	0.9796	0.9573	0.9552
Barrera Hematoencefálica	BBB +	0.8994	0.9728	0.9730	0.8859	0.9765	0.8978	0.8998
Biodisponibilidad oral	Biodisponible -	0.5857	0.5714	0.5000	0.5286	0.5857	0.5571	0.6143
Sustrato glucoproteína P	No sustrato	0.9624	0.9247	0.9804	0.9537	0.9342	0.9423	0.8071
Inhibidor glucoproteína P	No inhibidor	0.9305	0.8970	0.8325	0.8068	0.6798	0.8023	0.4507
Toxicidad								
Toxicidad de AMES	No tóxico	0.7200	0.7700	0.8700	0.8300	0.8200	0.7900	0.6300
Carcinogénesis	No carcinogénico	0.8064	0.8064	0.8064	0.7350	0.8207	0.8064	0.6429

En la categoría de absorción, todos los compuestos presentaron altas probabilidades de no absorberse en el intestino ya que son compuestos de tipo ácido y por lo tanto se encontrarán de manera ionizada en esta parte del tracto gastrointestinal. Los resultados arrojaron altas probabilidades de atravesar la barrera hematoencefálica y valores intermedios en cuanto a la biodisponibilidad. Además, se puede observar que los compuestos tienen buena probabilidad de no ser sustrato y no inhibir la glicoproteína P, proteína relacionada con problemas de resistencia a fármacos.



En cuanto a la parte toxicológica, muestran altas probabilidades de no presentar riesgos a salud relacionados con carcinogenicidad, así como mutagenicidad y genotoxicidad (toxicidad de AMES).

8.1.8. Dia-DB: Servidor para la predicción de posibles candidatos a fármacos para el tratamiento de la DM2

Los compuestos diseñados en este proyecto fueron evaluados mediante el programa Dia-DB para conocer el grado y el modo de unión con 18 dianas terapéuticas establecidas en el programa y que están relacionadas con la diabetes. En la **Tabla 9** se muestran los valores de energía de unión obtenidos, donde se resaltan a las dianas aldosa reductasa, receptor GPR40, receptor PPAR- γ , y DPP-4 con las mejores energías de unión con los compuestos **WYA 1-6**.

Tabla 9. Resultado del acoplamiento molecular inverso para los compuestos **WYA 1-6**.

DIANA TERAPÉUTICA	CÓDIGO PDB	ENERGÍA DE UNIÓN DE LOS COMPUESTOS WYA (kcal/mol)					
		1	2	3	4	5	6
GPR40	4PHU	-9.5	-9.6	-9.6	-9.9	-9.8	-9.6
Aldosa reductasa	3G5E	-9.5	-9.6	-9.7	-10.1	-10.5	-10
Proteína transportadora de retinol tipo IV	2WR6	-9	-9.4	-9.1	-9.4	-9.4	-8.4
PPAR- γ	1FM9	-8.4	-8.7	-8.5	-8.7	-9.6	-8.6
	2FVJ	-7.9	-8	-8.2	-8	-8.5	-8.3
Glucoquinasa	3IMX	-8.3	-8.4	-8.8	-8.4	-9.3	-8.2
Dipeptidil peptidasa IV (DPP4)	4A5S	-8	-7.9	-7.9	-7.9	-8.8	-7.4
PPAR- δ	3PEQ	-7.9	-8.2	-8.1	-8.2	-8.8	-7.8
11- β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo I	4K1L	-7.6	-7.9	-7.9	-7.9	-8.6	-7.6
α -Amilasa pancreática	4GQR	-7.9	-7.6	-7.5	-7.6	-7.9	-7.3
Piruvato deshidrogenasa	4MPC	-7.6	-7.4	-7	-7.4	-7.7	-7.5
Maltasa glucoamilasa	3L4Y	-7.3	-7.4	-7.5	-7.4	-7.7	-7.3
PPAR- α	3FEI	-7	-7.1	-7.2	-7.1	-7.8	-7
PTP	4GE6	-6.8	-7	-6.8	-7	-7.1	-7
Receptor nuclear	4DOR	-6.7	-6.9	-6.8	-6.9	-7	-6.6
Quinasa del receptor de insulina	3EKN	-6.7	-6.8	-6.9	-6.8	-7.2	-6.8
Glucógeno fosforilasa	3DDS	-6.4	-6.8	-6.6	-6.8	-7.3	-6.6
Fructosa-1,6-bifosfatasa	2JJK	-5.1	-5.2	-5.1	-5.2	-5.4	-5



El uso de esta herramienta informática nos permitirá llevar a cabo el acoplamiento molecular refinado de manera asertiva, ya que nos proporcionó una idea de la afinidad de los compuestos **WYA 1-6** a los blancos terapéuticos para el tratamiento de la DT2.

De acuerdo con los resultados proporcionados por Dia-DB, todos los compuestos mostraron mejor energía de unión sobre aldosa reductasa, así mismo, se observaron interacciones de tipo puente de hidrógeno entre la cabeza ácida y los residuos de aminoácido de las dianas terapéuticas que poseen donadores de puente de hidrógeno. Por último, se observaron interacciones de tipo π - π entre la región aromática de los compuestos y los residuos de aminoácidos como fenilalanina y tirosina de los receptores GPR40 y PPAR- γ , esto muestra que son grupos importantes en la base de la estructura química del farmacóforo.

8.1.9. Acoplamiento molecular refinado

El acoplamiento molecular refinado nos sirve para visualizar de manera más clara las interacciones que poseen los compuestos con las dianas terapéuticas de interés.

Con base en los resultados obtenidos a través del acoplamiento molecular inverso mediante el programa Dia-DB, se seleccionaron las 3 proteínas con mayor energía de unión a las cuales se le realizó el acoplamiento molecular dirigido mediante los programas Autodock vina y Autodock 4. Para dicho análisis se utilizaron los siguientes archivos pdb obtenidos de la base de datos de la página web Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>):

- 2XKW: Receptor PPAR- γ con el ligando cristalizado pioglitazona.
- 4PHU: Receptor GPR40 con el ligando cristalizado TAK-875.
- 3G5E: Enzima aldosa reductasa con el ligando cristalizado IDD-740.

Los datos de importancia obtenidos con el acoplamiento molecular incluyen: energía de unión, constante de afinidad o inhibición (K_i) y eficiencia del ligando (LE). La eficiencia del ligando es un valor que se calcula a partir de la energía de unión obtenida en el acoplamiento molecular y se define a partir de la siguiente ecuación:

$$LE = \frac{\Delta G}{HA}$$

Donde:

ΔG = energía de unión del compuesto.
HA= Número de átomos pesados



De manera que la eficiencia del ligando nos permite saber cómo es que los átomos pesados (diferentes a hidrógeno) contribuyen a la energía de unión de los compuestos con las respectivas dianas terapéuticas, y por lo tanto es utilizada en la priorización de los fragmentos de los compuestos hits para convertirlos en leads. Los valores ideales establecidos para la eficiencia del ligando son de 0.29 a 0.38^{69,70}

8.1.9.1. Validación del acoplamiento molecular

La validación del acoplamiento molecular es un método que nos permite conocer la confiabilidad de las simulaciones realizadas con los programas Autodock Vina y Autodock Tools. Para esto, se realizó el acoplamiento molecular del ligando co-cristalizado bajo las mismas condiciones en que se llevarán a cabo los acoplamientos de los compuestos **WYA 1-6**. Un valor de RMSD menor a 2 Å indica que los resultados son confiables y que la simulación está validada.

En la **Figura 37** se muestra la validación para el receptor GPR40 donde se observa que ligando TAK 875 al que se le realizó el acoplamiento (color rojo) adoptó una conformación similar al compuesto co-cristalizado (color azul) y presentó un valor de RMSD de 0.813 Å.

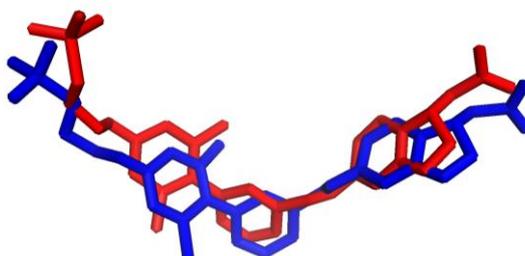


Figura 37. Validación del acoplamiento molecular sobre GPR40.

En la validación del acoplamiento sobre aldosa reductasa se pudo observar que la conformación adoptada por el ligando del acoplamiento (color rojo) es muy similar al ligando de la estructura cristalográfica (color azul) con un RMSD de 0.346 Å (**Figura 38**).

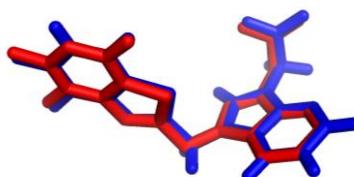


Figura 38. Validación del acoplamiento molecular sobre aldosa reductasa.



En la **Figura 39** se puede observar que la estructura reacomplada adoptó una conformación parecida al ligando de la estructura cristalográfica, el valor obtenido de RMSD fue de 0.346 Å.

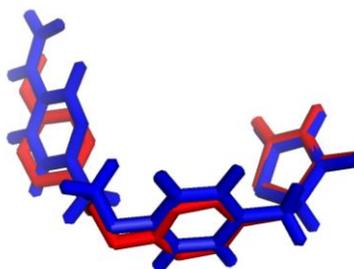


Figura 39. Validación del acoplamiento molecular sobre PPAR γ

8.1.9.2. Acoplamiento molecular sobre GPR40

Debido a la cantidad de acoplamientos realizados, solo se muestra el acoplamiento molecular del compuesto **WYA-6** que obtuvo mayor energía de unión con el receptor GPR40 y se describen las interacciones presentes.

Tabla 10. Resultado del acoplamiento molecular con el receptor GPR40.

Compuesto	Scoring (kcal/mol)	LE	DS	Ranking
WYA1	-11.48	0.60	± 1.53	4
WYA2	-11.30	0.58	± 0.06	6
WYA3	-11.73	0.59	± 0.73	3
WYA4	-11.43	0.57	± 0.94	5
WYA5	-11.92	0.52	± 0.73	2
WYA6	-12.25	0.58	± 0.73	1

En la **Tabla 10** se muestran las energías de unión resultantes en el acoplamiento molecular realizado. Además, se muestran los valores de la eficiencia del ligando (LE), datos de importancia en este proyecto. El compuesto **WYA-6** mostró una energía de unión de -12.25 kcal/mol y un valor de eficiencia del ligando aceptable (0.59).

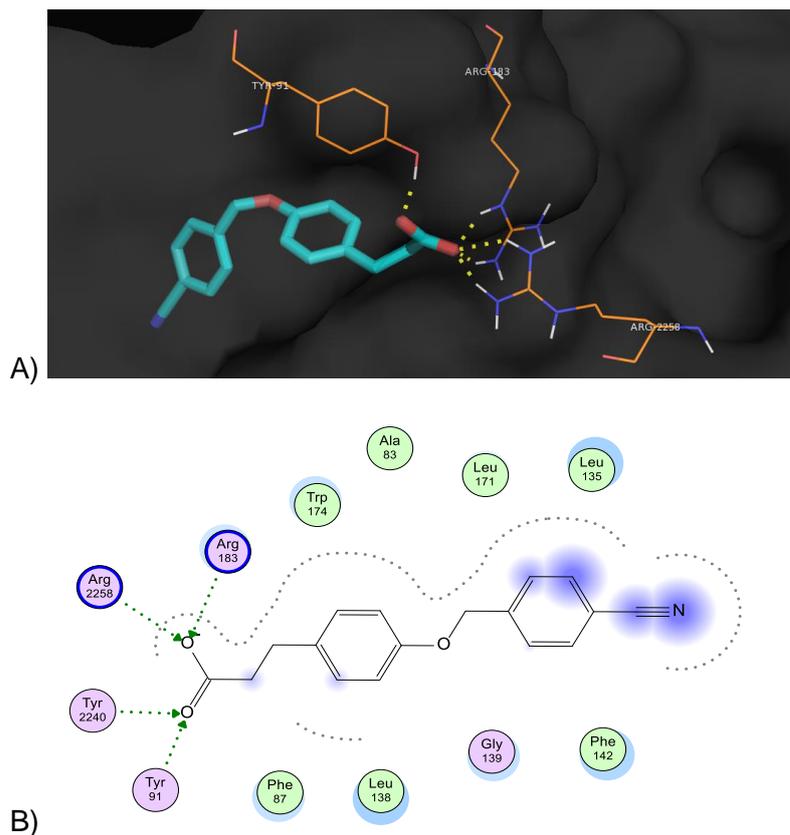


Figura 40. A) Diagrama en 3D y B) diagrama en 2D de las interacciones entre **WYA-6** y GPR40

En el diagrama en 3D (**Figura 40**) se pueden observar la unión de tipo puente de hidrógeno entre el compuesto **WYA6** y el residuo Tyr 91, además, la formación de un doble puente de hidrógeno entre la cabeza ácida del compuesto y los residuos Arg 183 y Arg-2258. En el Diagrama 2D se observa una interacción adicional de tipo puente de hidrógeno entre la cabeza ácida del compuesto **WYA-6** y el residuo de aminoácido Tyr-2240, mismas que ya han sido observadas en la estructura cristalizada de GPR40 con el agonista **TAK-875**.⁵⁶ Dichas interacciones se encuentran dentro de la lista de las interacciones clave de los agonistas parciales con el sitio de unión alostérico del receptor.

8.1.9.3. Acoplamiento molecular sobre PPAR γ

En la **Tabla 11** se muestra el resultado de las energías de unión obtenidas en el acoplamiento molecular de cada uno de los compuestos con el receptor PPAR. Se puede observar que el compuesto **WYA-5** obtuvo la mejor energía de unión (-7.99 kcal/mol), con una eficiencia del ligando de 0.35.



Tabla 11. Resultado del acoplamiento molecular con el receptor PPAR γ .

Compuesto	Scoring (kcal/mol)	LE	DS	Ranking
WYA1	-7.20	0.38	± 0.68	6
WYA2	-7.72	0.39	± 1.16	4
WYA3	-7.82	0.39	± 0.54	3
WYA4	-7.68	0.38	± 1.69	5
WYA5	-7.99	0.35	± 1.04	1
WYA6	-7.83	0.37	± 0.86	2

En la **Figura 41** se puede observar una interacción de tipo puente de hidrógeno entre el carboxilato del compuesto **WYA-5** y el residuo de aminoácido His-323 que se encuentra en la región polar del sitio activo del receptor. La interacción con el residuo His-323 también se observa en la estructura cristalizada entre el receptor PPAR- γ y pioglitazona. Esta es una de las interacciones cruciales que se han reportado para la actividad de los agonistas de PPAR- γ .

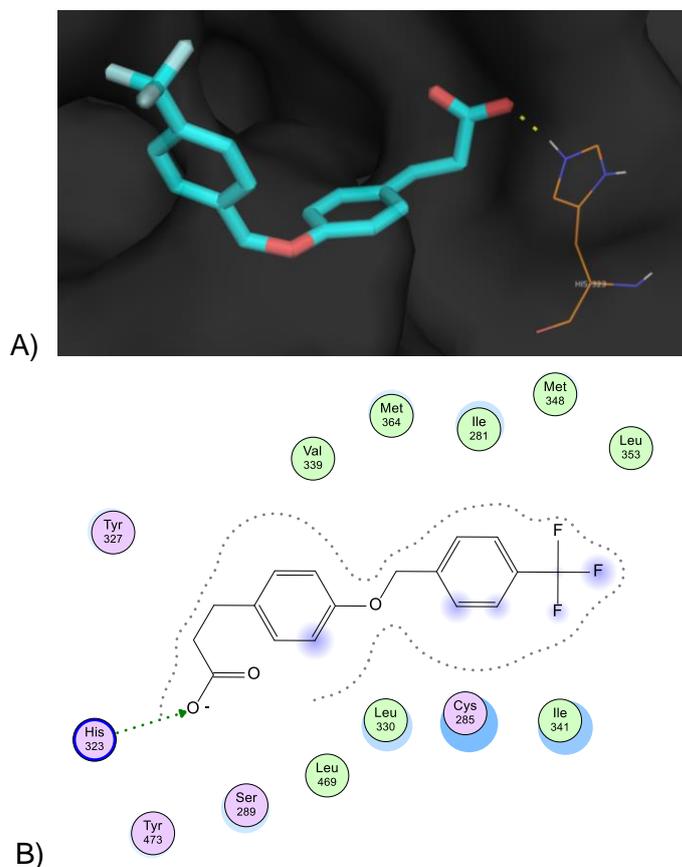


Figura 41. A) Diagrama 3D del acoplamiento molecular. B) Diagrama 2D de las interacciones moleculares del compuesto WYA-5 con el receptor PPAR γ .



8.1.9.4. Acoplamiento molecular sobre aldosa reductasa

Finalmente, en la **Tabla 12** se muestran los resultados de acoplamiento molecular de los compuestos frente a la enzima aldosa reductasa. En la tabla se puede observar que el compuesto **WYA-5** mostró la mejor energía de unión (-11.02 kcal/mol). Obtuvo una eficiencia de ligando aceptable de 0.51.

Tabla 12. Resultados de acoplamiento molecular con la enzima aldosa reductasa.

Compuesto	Scoring (kcal/mol)	LE	SD	Ranking
WYA1	-10.55	0.55	±1.32	5
WYA2	-10.99	0.55	±0.62	2
WYA3	-10.35	0.52	±3.19	6
WYA4	-10.69	0.54	±3.19	4
WYA5	-11.02	0.48	±3.19	1
WYA6	-10.77	0.51	±3.21	3

En el Diagrama en 3D (**Figura 42**) se observan interacciones de tipo polar del compuesto WYA-6 con los residuos Tyr-48, His-110 y con Asn-160 que se encuentran en el sitio de unión a anión del sitio activo de la enzima.

En el Diagrama 2D se muestra una interacción de tipo puente de hidrógeno entre el oxígeno del carbonilo y el residuo de aminoácido His-110, aminoácido que participa en el ciclo catalítico, y una interacción de tipo π - π entre el anillo aromático 2 del compuesto y el anillo aromático del residuo Trp-111, aminoácido que se encuentra en la subcavidad flexible de la enzima. Dichas interacciones ya han sido observadas y reportadas como interacciones clave que están presentes entre los compuestos inhibidores y el sitio activo de aldosa reductasa.⁵³

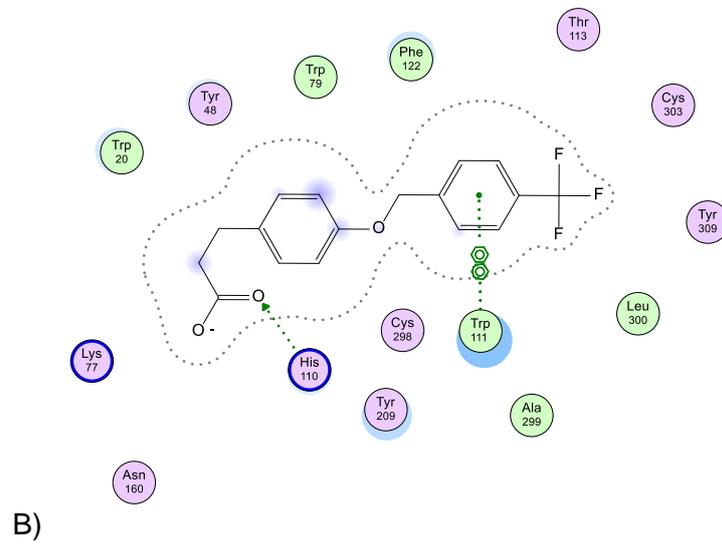
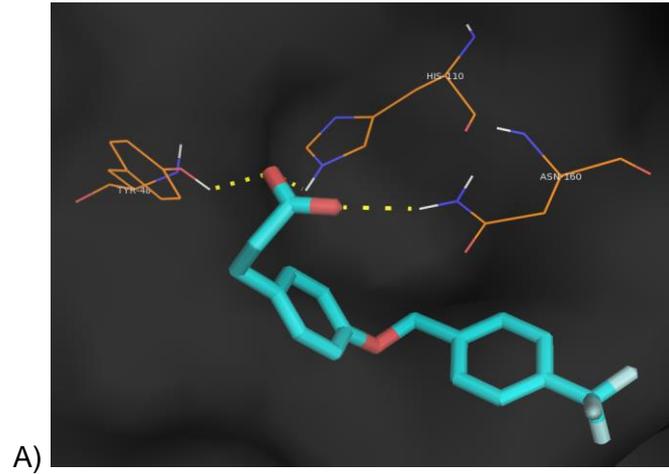


Figura 42. A) Diagrama en 3D y B) diagrama en 2D de las interacciones entre **WYA-5** y aldosa reductasa.



8.2. Parte química

8.2.1. Síntesis del 3-(4-hidroxifenil)propanoato de metilo (WYA-7)

La obtención del 3-(4-hidroxifenil)propanoato de metilo (**WYA-7**) se llevó a cabo mediante una esterificación de Fisher; se hizo reaccionar el ácido 3-(4-hidroxifenil)propanoico con metanol en un medio ácido por 2 h (**Figura 43**). Se usó agitación magnética y se alcanzó una temperatura de 80°C, la reacción fue monitoreada con placas de cromatografía en capa fina (CCF) donde se observó la formación de un solo producto. Se obtuvo un aceite amarillo oscuro con un rendimiento de 91.3 %.

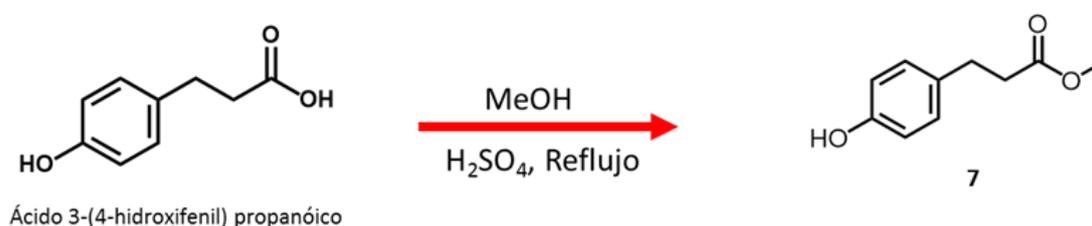


Figura 43. Ruta de síntesis para la obtención del compuesto **WYA-7**.

8.2.2. Síntesis del precursor WYA-11

Para la obtención del compuesto **WYA-11** (**Figura 44**) se hizo reaccionar el 3-(4-hidroxifenil)propanoato de metilo (**WYA-7**) con el cloruro de 4-metilbencilo mediante una S_N2 usando acetonitrilo como disolvente y agitación magnética y calentamiento, se alcanzó una temperatura de 80°C. La reacción fue monitoreada con CCF donde se observó la formación de un compuesto. El compuesto fue purificado mediante cromatografía en columna, se obtuvo como producto final un sólido con un punto de fusión de 78.3-80.1° C, el tiempo de reacción fue de 6 horas con un rendimiento de producto crudo de 91.5%

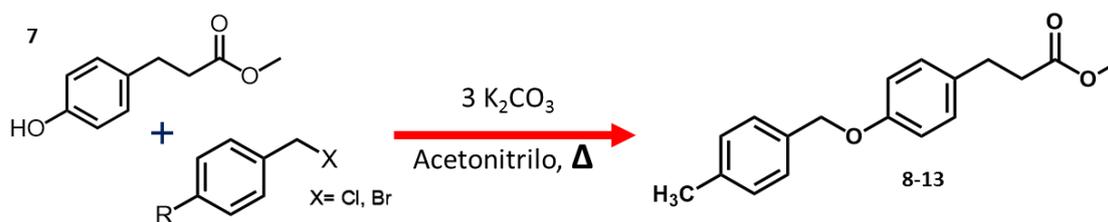


Figura 44. Ruta de síntesis para la obtención del compuesto precursor **WYA-11**.



Tabla 13. Propiedades físicas y fisicoquímicas de los compuestos precursores.

Compuesto	PM (g/mol)	Tiempo de reacción (h)	Temperatura de reacción	Rendimiento (%)	Estado físico	Punto de fusión (°C)
WYA-7	284.36	2	80°C	91.03	Aceite amarillo oscuro	--
WYA-11	180.2	6	80°C	97.53	Sólido blanco	78.3-80.1

Los tiempos de reacción para la obtención de los compuestos van desde las 2h hasta las 6 horas, se obtuvieron buenos rendimientos de reacción de los compuestos crudos (>80%). La técnica de purificación fue cromatografía en columna, el sólido obtenido presentó un punto de fusión característico de pureza (intervalo < 2°C) (

Tabla 13).

8.3. Identificación y caracterización estructural de los compuestos sintetizados

8.3.1. Espectroscopía de RMN ¹H y ¹³C

Para la identificación del compuesto precursor **WYA-11** sintetizado y purificado previamente, se llevó a cabo el análisis espectroscópico de resonancia magnética nuclear (RMN) de ¹H a 600 MHz y de ¹³C a 150 MHz.

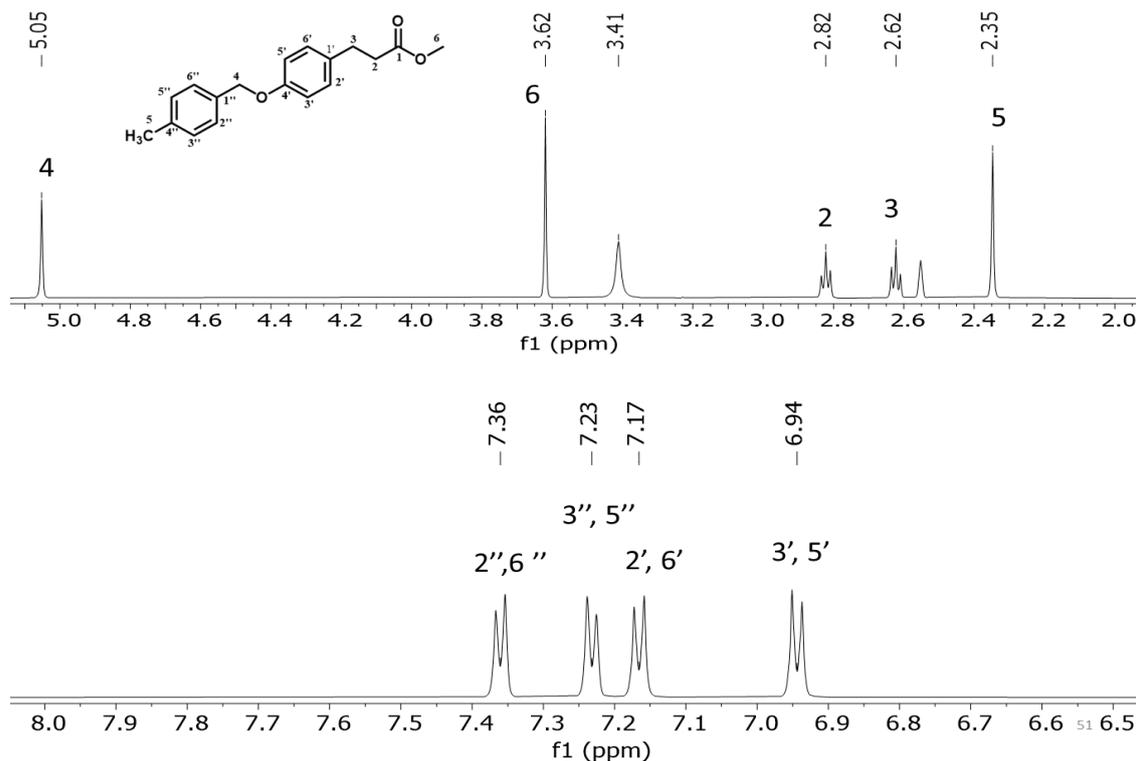


Figura 45. Espectro de RMN ^1H de WYA-11, ampliaciones de las regiones alifática y aromática

En el espectro de RMN de ^1H (Figura 45), podemos observar las señales con desplazamientos de 2.62 y 2.68 ppm correspondientes a los hidrógenos de los metilenos de la cadena alifática, a 2.35 ppm se observa un *singlete* que integra para 3 hidrógenos y que corresponde a los hidrógenos del metilo unido al anillo aromático. En un desplazamiento de 3.6 ppm se puede observar una señal de tipo *singlete* que integra para 3 hidrógenos que corresponde a los hidrógenos del metoxilo, en 5.05 ppm se observa un *singlete* que integra para 2 hidrógenos que corresponde a los hidrógenos del metileno unido al oxígeno. Finalmente, entre 6.95 y 7.37 ppm se observan dobletes que corresponden a la región aromática con constantes de acoplamiento *orto* entre 7.72 y 8.64 Hz que corresponden a los hidrógenos de las posiciones 2' y 6', 3' y 5', 2'' y 6'', 3'' y 5'' de los anillos aromáticos.

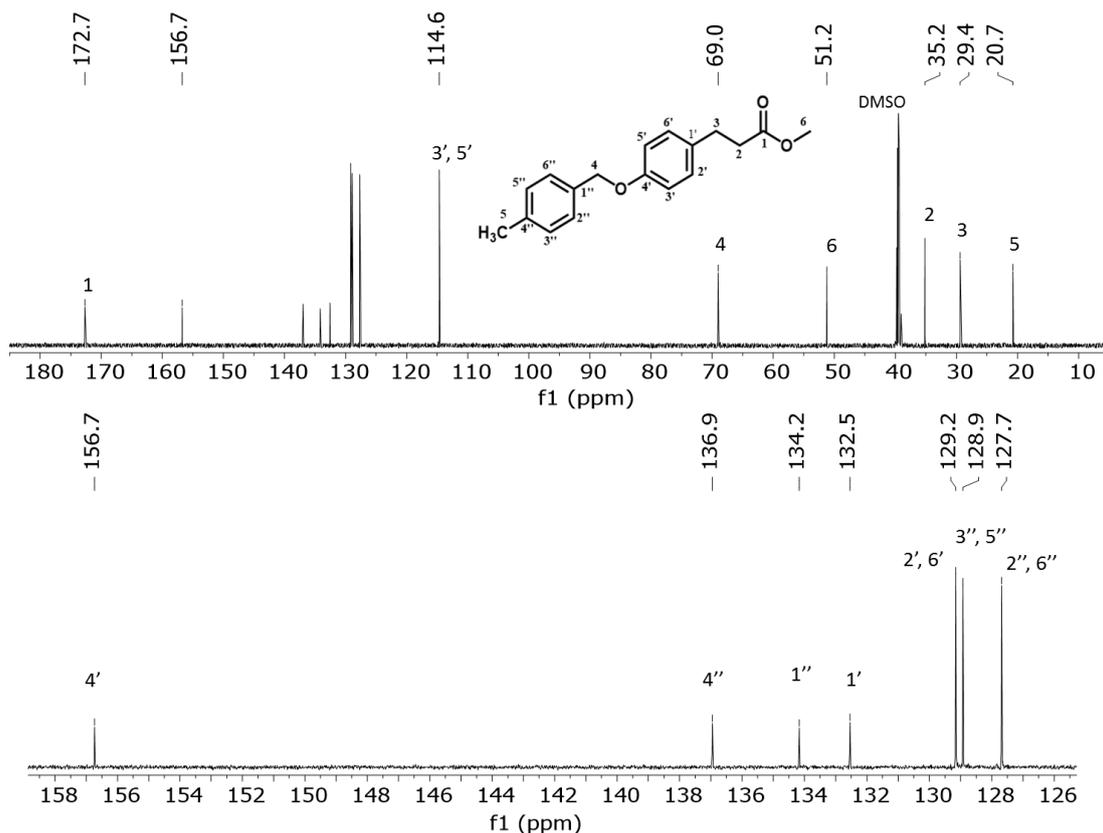


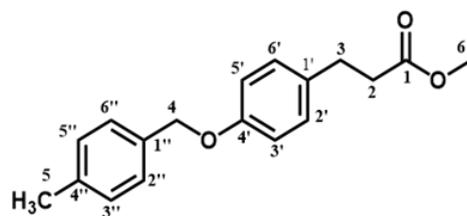
Figura 46. Espectro de RMN ^{13}C de WYA-11 completo y ampliación de la región aromática.

En el espectro de ^{13}C (Figura 46), podemos observar una señal característica que corresponde al carbonilo del éster con un desplazamiento de 172.7 ppm. A 29.4 y 35.2 ppm se pueden observar las señales que corresponden a los metilenos de las posiciones 2 y 9 de la parte alifática del compuesto. A 52.9 ppm, se observa la señal que corresponde al carbono del grupo metoxi, la señal con desplazamiento de 20.7 ppm corresponde al grupo metilo que está unido al anillo aromático. En un desplazamiento de 69.0 se observa una señal correspondiente al carbono unido al oxígeno del éter y finalmente, las señales que se observan entre 114.6 y 136.9 ppm corresponden a los carbonos de anillos aromáticos del compuesto. Por último, a 156.7 ppm se observa la señal del carbono del anillo aromático unido al oxígeno del éter.

A continuación, en la Tabla 14 se presentan las asignaciones de las señales de los espectros de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto WYA-11.



Tabla 14. Asignación de señales del espectro de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto WYA-11.



Posición	δ ^1H (m, H) ppm	J (Hz)	δ ^{13}C ppm
1	--	--	172.6
2	2.82 (t, 2H)	--	35.2
3	2.62 (t, 2H)	--	29.4
4	5.05 (s, 2H)	--	69.0
5	2.35 (s, 3H)	--	20.74
6	3.62 (s, 3H)	--	51.21
1'	--	--	134.9
2'	7.16 (d, 2H)	8.56	129.2
3'	6.95 (d, 2H)	8.64	114.6
4'	--	--	156.7
5'	6.95 (d, 2H)	8.64	114.6
6'	7.16 (d, 2H)	8.56	129.2
1''	--	--	132.5
2''	7.36 (d, 2H)	7.88	127.7
3''	7.23 (d, 2H)	7.72	128.9
4''	--	--	136.9
5''	7.23 (d, 2H)	7.72	128.9
6''	7.36 (d, 2H)	7.88	127.7

8.3.2. Análisis de consenso farmacológico (ACOFA) para la selección de un líder computacional seguro (Safe Lead)

En la **Tabla 15** se resumen los resultados obtenidos en el análisis *in silico* de los compuestos **WYA 1-6**, los resultados se dividen en 4 categorías: Propiedades fisicoquímicas, propiedades farmacodinámicas, propiedades farmacocinéticas y propiedades toxicológicas. Los parámetros que se presentan en la tabla se tomarán en consideración para la selección de un líder computacional seguro sobre el cual se podría priorizar ensayos *in vivo* a futuro.



Tabla 15. Análisis de consenso farmacológico para los compuestos WYA 1-6.

Consenso farmacológico						
Compuesto WYA	1	2	3	4	5	6
Propiedades fisicoquímicas						
PM (g/mol)	256.3	274.29	290.75	270.33	324.29	281.31
TPSA	46.53	46.53	46.53	70.32	93.53	58.56
LogP	3.30	3.51	3.93	3.67	4.29	3.10
LogD (pH 7.4)	0.5	0.6	1.2	1.1	1.5	0.5
Solubilidad acuosa						
Propiedades farmacodinámicas						
PASS y Swiss Target						
Acoplamiento GPR40 (kcal/mol)	-11.48	-11.30	-11.73	-11.43	-11.92	-12.25
Acoplamiento PPAR- γ (kcal/mol)	-7.20	-7.72	-7.82	-7.68	-7.99	-7.83
Acoplamiento aldosa reductasa (kcal/mol)	-10.55	-10.99	-10.35	-10.69	-11.02	-10.77
Propiedades Farmacocinéticas						
Absorción. Intestinal						
Inhibidor de CYP (3A4, 2C9, 2D6)						
Sustrato glucoproteína P						
Propiedades toxicológicas						
Bloqueo de canales hERG						
Mutagenicidad						
Carcinogénesis						
Verde= Muy satisfactorio; Amarillo= Satisfactorio; Rojo= Poco satisfactorio.						



Con base en los resultados obtenidos, ninguno de los compuestos presentó alertas en el ámbito toxicológico, por lo que los seis candidatos califican como compuestos seguros evaluados por métodos computacionales. Ningún compuesto presentó probabilidades de ser bloqueador de los canales hERG, no presentaron alerta alguna relacionada con efectos mutagénicos, ni efectos tumorigénicos. Por lo tanto, ninguno de los compuestos es descartado en esta parte.

Por otro lado, los resultados obtenidos en la parte farmacocinética muestran que ninguno de los compuestos presentarán problemas de absorción intestinal, por lo que podrán administrarse de forma oral, no presentan alerta como inhibidores de alguna de las isoformas del CYP450, así que podemos predecir que no habrá problemas de interacción farmacológica o efectos adversos con el uso de estos compuestos, además ninguno de los compuestos es sustrato de la glicoproteína P, enzima asociada con fármaco-resistencia.

En los resultados obtenidos en el acoplamiento molecular dirigido, los compuestos **WYA-4**, **WYA-5** y **WYA-6** destacaron por presentar las mejores energías de unión sobre las 3 dianas terapéuticas propuestas en este proyecto, por lo que se destacan para proceder a ensayos *in vivo* a futuro.

Finalmente, se realizó la comparación de los compuestos considerando los valores de logP y logD, así como solubilidad acuosa. Los compuestos presentaron probabilidades intermedias de ser solubles y valores de log P menores a 5. En los resultados obtenidos de log D, los compuestos **WYA 3-5** se encontraron dentro de los valores ideales de log D a pH fisiológico de 7.4.

Por lo tanto, podemos concluir que el compuesto seleccionado como líder computacional seguro de la serie diseñada es el compuesto **WYA-5**, seguido del compuesto **WYA-4**, debido a la colección de resultados satisfactorios en el análisis farmacológico de consenso.



9. CONCLUSIONES

- Se llevó a cabo el diseño racional de los compuestos denominados **WYA 1-6** con base en una investigación de compuestos ya reportados y estudiados que poseen actividad antidiabética y que son de interés en este proyecto.
- Los compuestos diseñados (**WYA 1-6**) presentaron propiedades ADMET apropiadas, además mostraron buenas probabilidades de poseer actividad antidiabética y mediana probabilidad de unión a otras dianas de importancia en el tratamiento de DT2 (multitarget).
- Se propuso una ruta de síntesis de 3 pasos para la obtención de los compuestos **WYA 1-6**.
- Se preparó el compuesto **WYA-11**, éster precursor del compuesto final **WYA-4**, validando la ruta sintética propuesta.
- Se seleccionó a los compuestos **WYA-4** y **WYA-5** como *hits* computacionales seguros para realizar ensayos biológicos a futuro, debido a la colección de resultados satisfactorios en el análisis farmacológico de consenso.



10. PERSPECTIVAS

Sintetizar los compuestos **WYA-4** y **WYA-5**, *hits* computacionales seguros.

Realizar estudios *in vitro* para evaluar su actividad biológica como agonistas de los receptores GPR-40 y PPAR- γ y como inhibidores de aldosa reductasa.

Realizar estudios *in vivo* para conocer la toxicidad de los compuestos y su capacidad como agentes antihiper glucemiantes, así como establecer su índice terapéutico.



11. PARTE EXPERIMENTAL

A continuación se presentan los reactivos necesarios para llevar a cabo la síntesis del compuesto WYA-11 mediante la ruta de síntesis propuesta en este proyecto.

Ácido 3-(4-hidroxifenil)propiónico (\$1916.00, 25 g)

Cloruro de bencilo (\$500.00, 250 g)

Cloruro de 4-fluorobencilo (\$838.00, 25 g)

Cloruro de 4-clorobencilo (820.00, 100 g)

Cloruro de 4-metilbencilo (\$1096, 100 g)

Cloruro de (4-trifluorometil)bencilo (\$1902, 5g)

4-Clorometilbenzocitrilo (\$2496, 10 g)

4-Bromometilbenzocitrilo (\$2937, 10 g)

11.1. Equipamiento requerido para la síntesis del compuesto precursor WYA-11.

Para realizar las reacciones necesarias para la síntesis de WYA-11 se usó una parrilla de calentamiento equipada con agitación magnética de la marca Science med y matraces bola de 5 y 10 mL equipados con agitadores magnéticos y acoplados a un refrigerante.

Para evaporar los disolventes se ocupó un rotaevaporador de la marca Büchi acoplado con una bomba de vacío de la marca Felisa. Para la medición del punto de fusión se empleó el aparato Stanford Research System, modelo EZ-Melt.

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

11.2. Cromatografía

Para el monitoreo de las reacciones se usó la técnica de cromatografía en capa fina (CCF) utilizando placas de aluminio de 3.0x4.5 cm cubierto con una capa de sílice Alugam las cuales fueron reveladas en una lámpara de luz UV. Para la elución de las

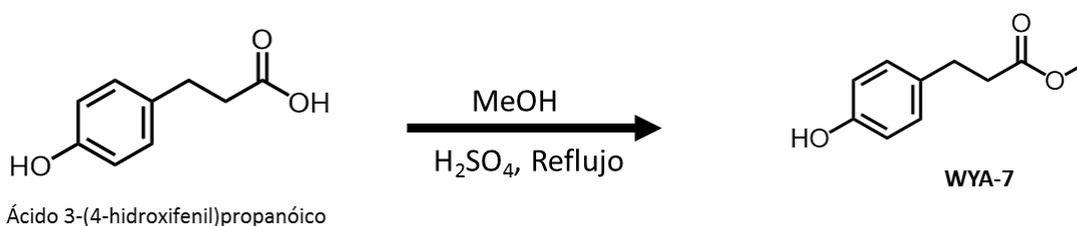


CCF y para cromatografía en columna se usaron los sistemas de elución que se describen en la **Tabla 16**.

Tabla 16. Sistemas de elución empleados.

Sistema	Proporción	Composición
I	80:20	Hexano:Acetato de etilo
II	70:30	Hexano:Acetato de etilo
III	60:40	Hexano:Acetato de etilo

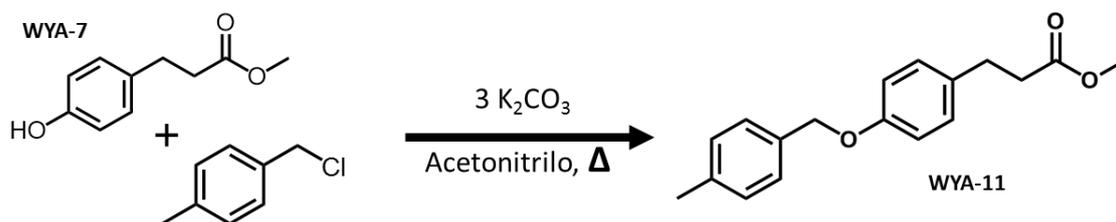
11.3. Síntesis del 3-(hidroxifenil)propanoato de metilo (WYA-7)



En un matraz equipado con agitador magnético y refrigerante, se añadió 0.4015 g (0.0024 mol) de ácido 3-(4-hidroxifenil)propanoico como reactivo limitante que fue disuelto en 4 mL de metanol, a esto se le añadió una gota de ácido sulfúrico. Se dejó en agitación a 76°C. La reacción fue monitoreada con CCF cada 30 minutos utilizando el **sistema I**, la duración de la reacción fue de sólo 2 horas. Posteriormente se procedió a rotaevaporación para eliminar el disolvente. Se colocó el matraz en un baño de hielo equipado con agitación magnética, se le añadieron 5 mL de agua fría. Después de 15 minutos de agitación se colocó en el contenido en un embudo de separación y se realizó una extracción triple Agua: Acetato de etilo (AcoEt) añadiendo 8 mL de AcoEt en cada extracción. La fase orgánica se rotaevaporó y se dejó secar. Se obtuvo un aceite amarillo oscuro con un peso de 0.3655 y un rendimiento del compuesto crudo de 91.03%.



11.4. Síntesis del 3-(4-metilbenciloxifenil)propanoato de metilo (WYA-11).



En un matraz equipado con agitador magnético y refrigerante, se añadió 0.1378 g (0.0006 mol) 3-(hidroxifenil)propanoato de metilo (**WYA-7**), disuelto en 1.5 mL de Acetonitrilo (CH_3CN) y se dejó en agitación por 15 minutos. Se adicionaron 0.2004 g de carbonato de potasio (K_2CO_3) y se dejó en agitación por 45 minutos. Con ayuda de un embudo de presiones igualadas, se adicionaron 136 μL de cloruro de 4-metilbencilodisuelto en 0.5 mL de CH_3CN , lo cual fue añadido gota a gota con intervalos de 1 minuto y la reacción se llevó a temperatura de reflujo. La reacción fue monitoreada cada hora mediante CCF utilizando el **sistema II**. La duración de la reacción fue de 6 horas observándose la formación de un único producto, al término de ésta se evaporó el disolvente con el rotaevaporador. Una vez eliminado el disolvente, se colocó el matraz en un baño de hielo y se le añadió 1 mL de agua fría y se dejó en agitación por 15 minutos y se disminuyó el pH a 3 usando una solución de ácido clorhídrico al 10%. El producto obtenido fue un sólido blanco el cual fue purificado mediante cromatografía en columna empleando un sistema Hexano:AcoEt. Se obtuvo un punto de fusión de 78.3° a 80.1°C.

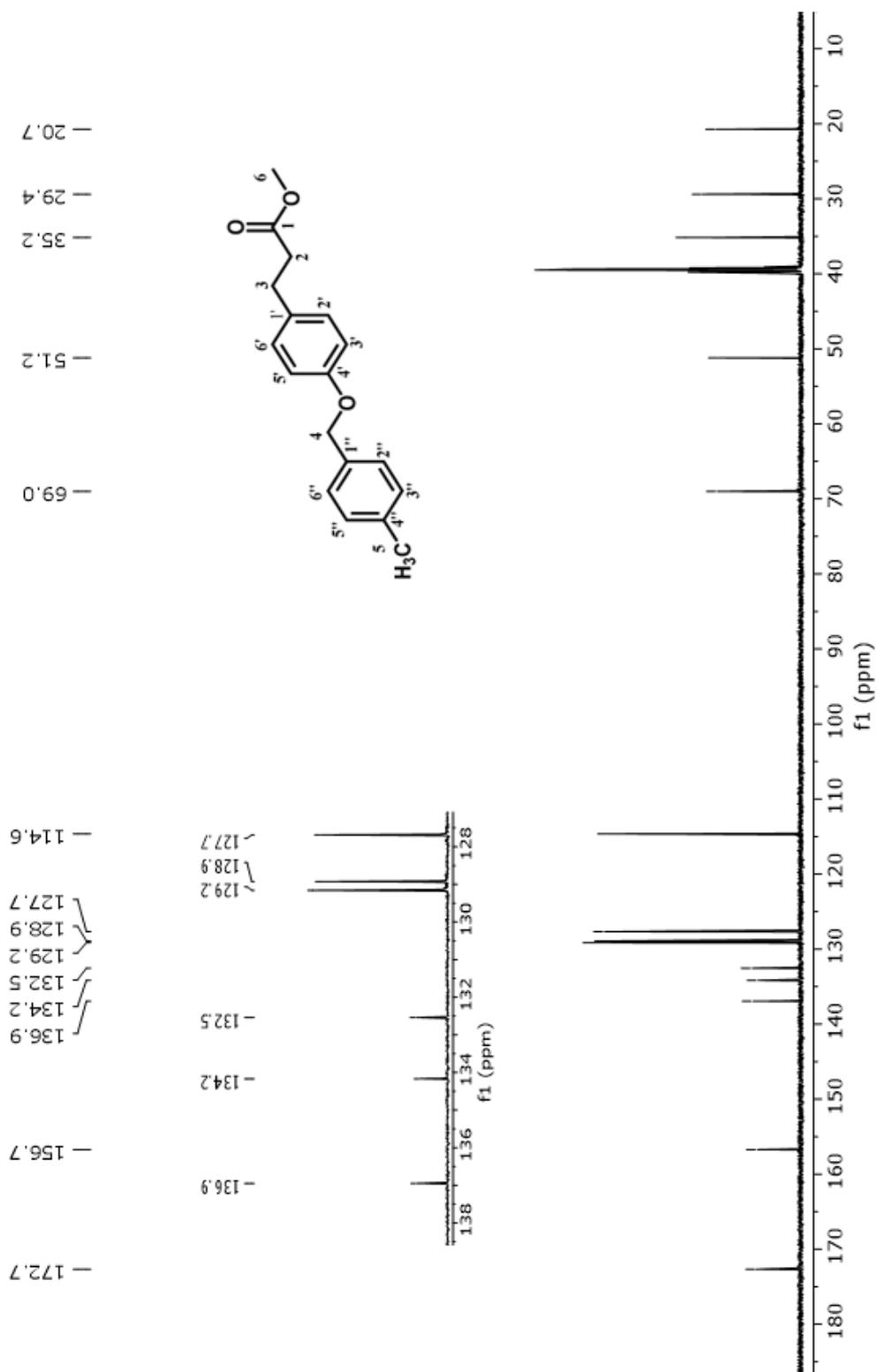
3-(4-metilmenciloxifenil) propanoato de metilo

RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO-d_6) δ : 20.7 (C-5), 29.4 (C-3), 35.1 (C-2), 51.21 (Ph- CH_3), 69.0 (C-10), 114.6 (C-5', C-3'), 127.7 (C-6'', C-2''), 128.9 (C-4''), 129.16 (C-5''-C-3''), 132.5 (C-6', C-2'), 134.1 (C-1''), 136.9 (C-1''), 156.7 (C-4), 172.7 (COOH) ppm.

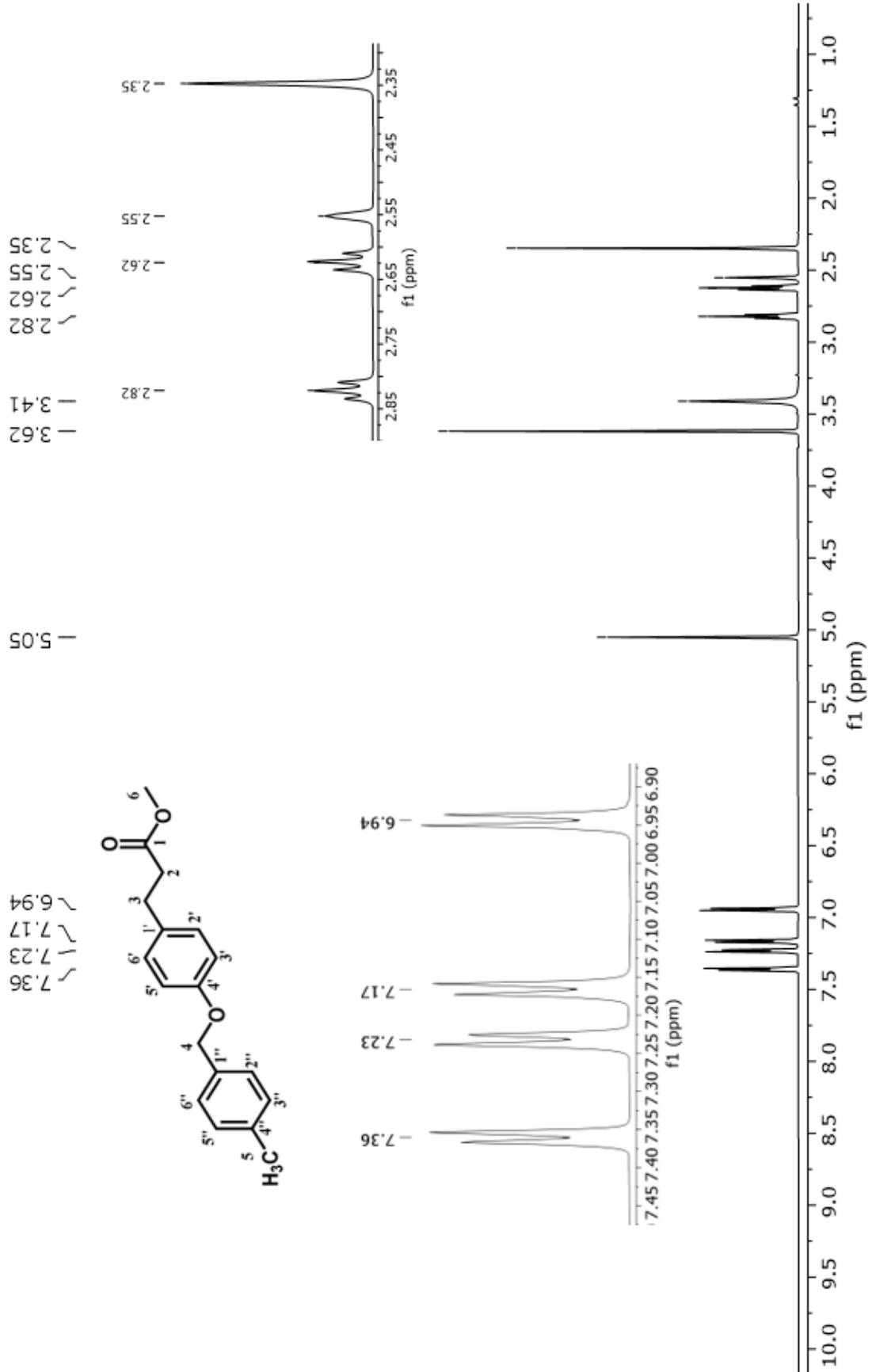
RMN ^1H (600 MHz, DMSO-d_6) δ : 2.35 (s,3H,5- CH_3), 2.62 (t,2H, 3- CH_2 , $J_o = 7.62$ Hz), 2.82 (t,2H, 2- CH_2 , $J_o = 7.54$ Hz), 3.62 (s,3H, 6- CH_3), 5.05 (s, 2H, 4- CH_2 , 6.95 (d, 2H, 5'-H, 3'-H, $J_o = 8.64$ Hz), 7.17 (d,2H, 6'-H, 2'-H, $J_o=8.86$ Hz), 7.23 (d, 2H, 5''-H, 3'' $J_o = 7.72$, Hz), 7.36 (d, 2H, 6''-H, 2'', $J_o = 7.88$ Hz) ppm.



12. ESPECTROS



Espectro 1. RMN ¹³C (600 MHz, DMSO-d₆) del compuesto WYA-11



Espectro 2. RMN ¹H (150 MHz, DMSO-d₆ del compuesto WYA-11



13. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Organización Mundial de la Salud. Diabetes. Link de consulta: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>, **2022**.
- (2) Federación Internacional de Diabetes. *IDF Atlas de diabetes, décima edición* ; Bruselas, Bélgica, **2021**.
- (3) DeFronzo, R. A.; Ferrannini, E.; Groop, L.; Henry, R. R.; Herman, W. H.; Holst, J. J.; Hu, F. B.; Kahn, C. R.; Raz, I.; Shulman, G. I.; Simonson, D. C.; Testa, M. A.; Weiss, R. Type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*. **2015**, *1*, 1–16.
- (4) Chaudhury, A.; Duvoor, C.; Reddy Dendi, V. S.; Kraleti, S.; Chada, A.; Ravilla, R.; Marco, A.; Shekhawat, N. S.; Montales, M. T.; Kuriakose, K.; Sasapu, A.; Beebe, A.; Patil, N.; Musham, C. K.; Lohani, G. P.; Mirza, W. Clinical Review of Antidiabetic Drugs: Implications for Type 2 Diabetes Mellitus Management. *Frontiers in Endocrinology* **2017**, *8*, 1–10.
- (5) Organización Panamericana de la Salud. Diabetes. Link de consulta: <https://www.paho.org/es/temas/diabetes>
- (6) Bansal, A.; Simmons, R. A. Epigenetics and developmental origins of diabetes: Correlation or causation? *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*. American Physiological Society **2018**, *1*, E15–E28.
- (7) Sheehy, D. F.; Quinnell, S. P.; Vegas, A. J. Targeting Type 1 Diabetes: Selective Approaches for New Therapies. *Biochemistry* **2019**, *58* (4), 214–233.
- (8) Xu, H.; Li, X.; Adams, H.; Kubena, K.; Guo, S. Etiology of metabolic syndrome and dietary intervention. *International Journal of Molecular Sciences* **2019**, *20*, 128–147.
- (9) Asociación Americana de Diabetes. ADA. Standards of medical care in diabetes 2019. *Diabetes Care* **2019**, *42*, S4–S6.
- (10) Chatterjee, S.; Khunti, K.; Davies, M. J. Type 2 diabetes. *Lancet* **2017**, *389* (10085), 2239–2251.
- (11) Secretaría de Salud. NOM-015-SSA2-2010, Para la Prevención, Tratamiento y



Control de La Diabetes Mellitus. Link de consulta:
http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5168074&fecha=23%2F11%2F200

- (12) Keresztes, P.; Peacock-Johnson, A. CE: Type 2 diabetes: A pharmacologic update. *American Journal of Nursing* **2019**, 119 (3), 32–40.
- (13) Marchetti, P.; Bugliani, M.; De Tata, V.; Suleiman, M.; Marselli, L. Pancreatic Beta Cell Identity in Humans and the Role of Type 2 Diabetes. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* **2017**, 5, 55-61.
- (14) Cuenca Simón, M. Mecanismos moleculares implicados en el desarrollo, crecimiento y funcionalidad de las células beta pancreáticas: factores implicados, *Universidad Complutense*, **2017**.
- (15) Gutiérrez-Rodelo, C.; Roura-Guiberna Jesús Alberto Olivares-Reyes, A.; Alberto Olivares-Reyes, J. Mecanismos Moleculares de la Resistencia a la Insulina: Una Actualización. *Gaceta Médica de México* **2017**, 153, 214–242.
- (16) Gotés, J. Mini Examen Clínico: Características de las insulinas para el manejo de pacientes con diabetes. Link de consulta:
https://espanol.medscape.com/verarticulo/5902352_2
- (17) Czech, M. P. Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature Medicine* **2017**, 23 (7), 804–814.
- (18) Deshmukh, V. S.; Motghare, V. M.; Padwal, S. L.; Jaykare, S.; Patil, J.; Pise, H. Newer drugs in the management of diabetes mellitus. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology* **2017**, 2 (1), 4-9.
- (19) Rena, G.; Hardie, D. G.; Pearson, E. R. The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia* **2017**, 60 (9), 1577–1585.
- (20) Garcia-Ropero, A.; Badimon, J. J.; Santos-Gallego, C. G. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of SGLT2 inhibitors for type 2 diabetes mellitus: the latest developments. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology* **2018**, 14 (12), 1287–1302.
- (21) Foretz, M.; Guigas, B.; Viollet, B. Understanding the glucoregulatory mechanisms of metformin in type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology* **2019**, 15 (10), 569–589.



- (22) Seino, S.; Zhang, C.-L.; Shibasaki, T. Sulfonylurea action re-revisited. *Journal of Diabetes Investigation* **2010**, 1 (1), 37–39.
- (23) Klein-Schwartz, W.; Stassinis, G. L.; Isbister, G. K. Treatment of sulfonylurea and insulin overdose. **2015**, 81 (3), 496-504.
- (24) Moreno Pérez, O.; Picó Alfonso, A.; Revert Marrahí, P.; Martínez Fuster, S. Glinidas. Revisión de su uso terapéutico en la diabetes mellitus tipo 2. *Endocrinología y Nutrición* **2008**, 55 (SUPPL. 2), 26–33.
- (25) Lv, W.; Wang, X.; Xu, Q.; Lu, W. Mechanisms and Characteristics of Sulfonylureas and Glinides. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2019**, 20 (1), 37–56.
- (26) Malaisse, W. J. Pharmacology of the Meglitinide Analogs: New Treatment Options for Type 2 Diabetes Mellitus. *Treatments in Endocrinology* **2003**, 2 (6), 401–414.
- (27) Kalra, S. Alpha glucosidase inhibitors. *The Journal of the Pakistan Medical Association*. **2014**, 64 (4), 474–476.
- (28) Hedrington, M. S.; Davis, S. N. Considerations when using alpha-glucosidase inhibitors in the treatment of type 2 diabetes. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* **2019**, 20 (18), 2229–2235.
- (29) Escalada, F. J. Fisiología del GLP-1 y su papel en la fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2. *Medicina Clinica* **2014**, 143 (Supl 2), 2–7.
- (30) Manandhar, B.; Ahn, J. M. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analogs: Recent advances, new possibilities, and therapeutic implications. *Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, 58 (3), 1020–1037.
- (31) Alavi, S. E.; Cabot, P. J.; Moyle, P. M. Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists and Strategies to Improve Their Efficiency. *Molecular Pharmaceutics* **2019**, 16 (6), 2278–2295.
- (32) Goldenberg, R. M.; Steen, O. Semaglutide: Review and Place in Therapy for Adults With Type 2 Diabetes. *Canadian Journal of Diabetes* **2019**, 43 (2), 136–145.



- (33) Deacon, C. F. Physiology and Pharmacology of DPP-4 in Glucose Homeostasis and the Treatment of Type 2 Diabetes. *Frontiers in Endocrinology* **2019**, *10*, 80-88.
- (34) Gallwitz, B. Clinical use of DPP-4 inhibitors. *Frontiers in Endocrinology* **2019**, *10*, 389-395.
- (35) Andersen, E. S.; Deacon, C. F.; Holst, J. J. Do we know the true mechanism of action of the DPP-4 inhibitors? *Diabetes, Obesity and Metabolism* **2018**, *20* (1), 34-41.
- (36) Garcia-Ropero, A.; Badimon, J. J.; Santos-Gallego, C. G. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of SGLT2 inhibitors for type 2 diabetes mellitus: the latest developments. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology* **2018**, *14* (12), 1287–1302.
- (37) Misra, M. SGLT2 inhibitors: A promising new therapeutic option for treatment of type 2 diabetes mellitus. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2013**, *65* (3), 317–327.
- (38) Hauner, H. The mode of action of thiazolidinediones. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* **2002**, *18* (SUPPL. 2), 10–15.
- (39) Cheng, H. S.; Tan, W. R.; Low, Z. S.; Marvalim, C.; Lee, J. Y. H.; Tan, N. S. Exploration and development of PPAR modulators in health and disease: An update of clinical evidence. *International Journal of Molecular Sciences* **2019**, *20* (20), 2-6.
- (40) Colín-Lozano, B.; Estrada-Soto, S.; Chávez-Silva, F.; Gutiérrez-Hernández, A.; Cerón-Romero, L.; Giacomán-Martínez, A.; Almanza-Pérez, J. C.; Hernández-Núñez, E.; Wang, Z.; Xie, X.; Cappiello, M.; Balestri, F.; Mura, U.; Navarrete-Vázquez, G. Design, synthesis and in combo antidiabetic bioevaluation of multitarget phenylpropanoic acids. *Molecules* **2018**, *23* (2), 1–16.
- (41) Hidalgo-Figueroa, S.; Navarrete-Vázquez, G.; Estrada-Soto, S.; Giles-Rivas, D.; Alarcón-Aguilar, F. J.; León-Rivera, I.; Giacomán-Martínez, A.; Miranda Pérez, E.; Almanza-Pérez, J. C. Discovery of new dual PPAR γ -GPR40 agonists with robust antidiabetic activity: Design, synthesis and in combo drug evaluation. *Biomedicine and Pharmacotherapy* **2017**, *90*, 53–61.



- (42) Gim, H. J.; Choi, Y.-S.; Li, H.; Kim, Y.-J.; Ryu, J.-H.; Jeon, R. Identification of a Novel PPAR- γ Agonist through a Scaffold Tuning Approach. *International Journal of Molecular Sciences* **2018**, 19 (10) 3035.
- (43) Kimura, I.; Ichimura, A.; Ohue-Kitano, R.; Igarashi, M. Free Fatty Acid Receptors in Health and Disease. *Physiology Reviews* **2020**, 100, 171–210.
- (44) Liu, J.; Wang, Y.; Ma, Z.; Schmitt, M.; Zhu, L.; Brown, S. P.; Dransfield, P. J.; Sun, Y.; Sharma, R.; Guo, Q.; Zhuang, R.; Zhang, J.; Luo, J.; Tonn, G. R.; Wong, S.; Swaminath, G.; Medina, J. C.; Lin, D. C. H.; Houze, J. B. Optimization of GPR40 agonists for type 2 diabetes. *ACS Medicinal Chemistry Letters* **2014**, 5 (5), 517–521.
- (45) Burant, C. F. Activation of GPR40 as a therapeutic target for the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Care* **2013**, 36 (SUPPL.2), 5175-5177.
- (46) Wang, S.; Awad, K. S.; Elinoff, J. M.; Dougherty, E. J.; Ferreyra, G. A.; Wang, J. Y.; Cai, R.; Sun, J.; Ptasinska, A.; Danner, R. L. G protein-coupled receptor 40 (GPR40) and peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ): An integrated two-receptor signaling pathway. *Journal of Biological Chemistry* **2015**, 290 (32), 19544–19557.
- (47) Feng, X. T.; Leng, J.; Xie, Z.; Li, S. L.; Zhao, W.; Tang, Q. L. GPR40: A therapeutic target for mediating insulin secretion (Review). *International Journal of Molecular Medicine* **2012**, 30 (6), 1261–1266.
- (48) Sasaki, S.; Kitamura, S.; Negoro, N.; Suzuki, M.; Tsujihata, Y.; Suzuki, N.; Santou, T.; Kanzaki, N.; Harada, M.; Tanaka, Y.; Kobayashi, M.; Tada, N.; Funami, M.; Tanaka, T.; Yamamoto, Y.; Fukatsu, K.; Yasuma, T.; Momose, Y. Design, synthesis, and biological activity of potent and orally available g protein-coupled receptor 40 agonists. *Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, 54 (5), 1365–1378.
- (49) Agarwal, S.; Sasane, S.; Deshmukh, P.; Rami, B.; Bandyopadhyay, D.; Giri, P.; Giri, S.; Jain, M.; Desai, R. C. Identification of an Orally Efficacious GPR40/FFAR1 Receptor Agonist. *ACS Medicinal Chemistry Letters* **2016**, 7 (12), 1134–1138.
- (50) Srivastava, A.; Yano, J.; Hirozane, Y.; Kefala, G.; Gruswitz, F.; Snell, G.; Lane,



- W.; Ivetac, A.; Aertgeerts, K.; Nguyen, J.; Jennings, A.; Okada, K. High-resolution structure of the human GPR40 receptor bound to allosteric agonist TAK-875. *Nature* **2014**, 513 (7516), 124–127.
- (51) Negoro, N.; Sasaki, S.; Mikami, S.; Ito, M.; Suzuki, M.; Tsujihata, Y.; Ito, R.; Harada, A.; Takeuchi, K.; Suzuki, N.; Miyazaki, J.; Santou, T.; Odani, T.; Kanzaki, N.; Funami, M.; Tanaka, T.; Kogame, A.; Matsunaga, S.; Yasuma, T.; Momose, Y. Discovery of TAK-875: A potent, selective, and orally bioavailable GPR40 agonist. *ACS Medicinal Chemistry Letters* **2010**, 1 (6), 290–294.
- (52) Van Zandt, M. C.; Doan, B.; Sawicki, D. R.; Sredy, J.; Podjarny, A. D. Discovery of [3-(4,5,7-trifluoro-benzothiazol-2-ylmethyl)-pyrrolo[2,3-b]pyridin-1-yl] acetic acids as highly potent and selective inhibitors of aldose reductase for treatment of chronic diabetic complications. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **2009**, 19 (7), 2006–2008.
- (53) Quattrini, L.; La Motta, C. Aldose reductase inhibitors: 2013-present. *Expert Opinion on Therapeutic Patents* **2019**, 29 (3), 199–213.
- (54) Maccari, R.; Ottanà, R. Targeting aldose reductase for the treatment of diabetes complications and inflammatory diseases: New insights and future directions. *Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, 58 (5), 2047–2067.
- (55) Jannapureddy, S. Aldose Reductase: An Emerging Target for Development of Interventions for Diabetic Cardiovascular Complications. *Frontiers in Endocrinology* **2021**, 12, 78–86.
- (56) Chen, C.; Li, H.; Long, Y. Q. GPR40 agonists for the treatment of type 2 diabetes mellitus: The biological characteristics and the chemical space. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **2016**, 26 (23), 5603–5612. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.10.074>.
- (57) Filimonov, D. A.; Lagunin, A. A.; Glorizova, T. A.; Rudik, A. V.; Druzhilovskii, D. S.; Pogodin, P. V.; Poroikov, V. V. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the pass online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2014**, 50 (3), 444–457.
- (58) Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic*



Acids Research **2019**, 47 (W1), W357–W3664.

- (59) Sander, T.; Freyss, J.; Von Korff, M.; Rufener, C. DataWarrior: An open-source program for chemistry aware data visualization and analysis. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2015**, 55 (2), 460–473.
- (60) 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.
- (61) Sánchez-Pérez, A.; Muñoz, A.; Peña-García, J.; den-Haan, H.; Bekas, N.; Katsikoudi, A.; Tzakos, A. G.; Pérez-Sánchez, H. DIA-DB: A web-accessible database for the prediction of diabetes drugs. *Lecture Notes in Computer Science* **2015**, 9044, 655–663.
- (62) Torres, P. H. M.; Sodero, A. C. R.; Jofily, P.; Silva-Jr, F. P. Key topics in molecular docking for drug design. *International Journal of Molecular Sciences* **2019**, p 4574-4580.
- (63) Pagadala, N. S.; Syed, K.; Tuszynski, J. Software for molecular docking: a review. *Biophysical Reviews* **2017**, 9 (2), 91–102.
- (64) Lin, X.; Li, X.; Lin, X. A review on applications of computational methods in drug screening and design. *Molecules* **2020**, 25 (6), 1375-1380. <https://doi.org/10.3390/molecules25061375>.
- (65) Pinzi, L.; Rastelli, G. Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery. *International Journal of Molecular Sciences* **2019**, 20 (18) 4331-4337.
- (66) Briscoe, C. P.; Peat, A. J.; McKeown, S. C.; Corbett, D. F.; Goetz, A. S.; Littleton, T. R.; McCoy, D. C.; Kenakin, T. P.; Andrews, J. L.; Ammala, C.; Fornwald, J. A.; Ignar, D. M.; Jenkinson, S. Pharmacological regulation of insulin secretion in MIN6 cells through the fatty acid receptor GPR40: Identification of agonist and antagonist small molecules. *British Journal of Pharmacology* **2006**, 148 (5), 619–628.
- (67) Baell, J.; Walters, M. A. Chemistry: Chemical con artists foil drug discovery. *Nature* **2014**, 513 (7519), 481–483.



- (68) Barros, F.; Domínguez, P.; Machín, A.; De La Peña, P. hERG : un canal de potasio implicado en el ritmo cardíaco y mucho más. *Spanish Ion Channel Initiative* **2012**, 1–9.
- (69) Hevener, K. E.; Pesavento, R.; Ren, J. H.; Lee, H.; Ratia, K.; Johnson, M. E. Hit-to-Lead: Hit Validation and Assessment, *Methods in Enzymology* **2018**; Vol. 610, 265-273.
- (70) Schultes, S.; De Graaf, C.; Haaksma, E. E. J.; De Esch, I. J. P.; Leurs, R.; Krämer, O. Ligand efficiency as a guide in fragment hit selection and optimization. *Drug Discovery Today: Technologies* **2010**, 7 (3), e157–e162.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA
SECRETARIA DE DOCENCIA
JEFATURA DE LA LICENCIATURA

Fecha: 29 de agosto de 2022
Asunto: VOTOS APROBATORIOS
Medio de Notificación: Electrónica
Folio: FF/D/SD/JLF/53/2022

DRA. DULCE MARIA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA DE SERVICIOS ESCOLARES
U.A.E.M
PRESENTE

Los suscritos catedráticos de la Facultad de Farmacia, dependiente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, se dirigen a Usted con el fin de comunicarle que, después de haber revisado el trabajo de tesis **“Diseño, caracterización antidiabética y farmacodinámica *in silico* de ácidos 3-(4-benciloxifenil)propanoicos”** presentada por la pasante de la carrera de Licenciado en Farmacia. **C. Wendy Yasmin Arratia Damian, (20161000817)**, consideramos que reúne todos los requisitos que exige un trabajo de esta especie, por lo que hacemos saber nuestro **VOTO APROBATORIO**.

Jurado

Firma

Dr. Samuel Enoch Estrada Soto

Dra. Vanessa López Guerrero

M en C. Martha Hernández Labra

M en C. María Antonieta Castelló Leyva

Dra. Blanca Iris Colín Lozano



ATENTAMENTE
“POR UNA HUMANIDAD CULTA”

M.P.D. Reyna América Serrano López
Secretaria de Docencia

Cp Archivo
Cp. Bdm

Av. Universidad 1001 Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México.
C.P. 62210 Tel. 777 329 7000 Ext. 3365

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

REYNA AMERICA SERRANO LOPEZ | Fecha:2022-08-29 15:52:37 | Firmante

kF46d1BIOwjCfxYyZHB8rqf3lpln1CLxZ5nrKjXoAF9JxIA1XTjvZpPzQVvuNSaKUzH3jHkTPJ1umUJIXYf4FQXmJvqjtBp836YwMdpHsr+hrgh08GY0DAR5vkd3hP0rHAJoSaUvzFP3zDgQJfoj/qnYldszp9AXfx4HlalOz+wffCpL9Sk+bU+jQ9gR/B5XKcBsQzYeMe7GsfWu915UCx+7BYOTbgyggUE03Xh13Db+XI5AcT63GVw4SP9QwL5A/FesHCNyy+AmABNhu3O/TgT3T4Gg/Ir5vR9s9nFkd04OJV3OhFBuTexapfRIHPoR4vQ54waUfu+jV5tsDtCA==

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



[2x5AhzOLB](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/qjkF9jgHUCRpsLuDoI0IM7VGQs4JiMGV>



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

DELIA VANESSA LOPEZ GUERRERO | Fecha:2022-08-31 13:13:15 | Firmante

HHCn7FuHcKtpx5FOHu0qayJkxK7Jk7mnBUueOukngJEwYLYGHRtd9f7TQ3auSmk+6FHqW/bS5BBV4WI3YPSrcO8+Uj+rv0jO8E3miHOaF4Avo8ggEjr0xEXBprmiu5IXgCDyLN4ihq14ylu7cW1m0ecL+UzWkK5Dzf1bWNVdpMG3jM2H7ZPWkEsA4j0t2QRsdchxxpjmapTqmhYzy3JIPB5STQ6TnnR0VxhmZX2JISer1ZiXmpTcw6sYuV6/PJ8ybnlMjcw6WC9fXvxtB6xmFHLHpiG8faaLi3ibBnoPRNqqNeNgUah1QRGGaJgVJLXMMMAHOpfKlnAS+zXNsFExQw==

BLANCA IRIS COLÍN LOZANO | Fecha:2022-08-31 13:43:57 | Firmante

GxzI86LRO11F2m3XPmTIFRwt8eEhWtGr2lwgZowb3n5lwJ/XWeKeg5rtydObdcWCNwX15ks6aiiXPKwW9emGytclJ3Evc6/3quO3YK23R6f3upmmHr1tie26W8lppdFhHJtoz7SIuZ6675eUolaDyqguZwl4yc6516X6tnvmnjSXDjH+XLO/Gjr1WzrVTioAxZ0cGFAODJT/Sb8exGERcyqawMPexwcmIlgns+my/S00Gczox/Qpdr3rhVMMUzflniqdhWkKb2EqA54WAC9L1yBLyR6T4YH4B0P7TuuQ6bq0eyH8Fre0ui4FI+/wGdSqt7uF+DBq8aW48ykXYhfA==

MARTHA HERNANDEZ LABRA | Fecha:2022-08-31 14:43:33 | Firmante

wSvE9NWwXCjW54bd76d7bS7kUQ2RNpWsXjQG9qRyAsyfcz02toWnkyaBIGDaD7MjKG/UGkk1AXyoTaNkuK/yx4OoBygOs311CHNP/tdIPnhxC39lhWTuu/o8ymWotiMHTCLW97w+qTG73OoGea51syJgXVQaklBZ3eKAsV27y/B7oMvYRBYEmb4u8SsphOWQG+ORA8qNFwvKoFalJlOlR2lQaF+yjGWa11t7jRz7+ZerXAU8VZ67NEek8llscyodzuiTEbEEyQewMbqIbIF9JAgvB1K0rhnkMsB862rIdpUaT6XylwEVy3sx9EBFR4iKmxUHFgiBcl+1Gwo0sg==

SAMUEL ENOCH ESTRADA SOTO | Fecha:2022-08-31 16:40:34 | Firmante

RM95pVbANpxVqRxmMdJ5F1ceNIXmPBKOLVkcQYHY1qG6NAVBUIl1a17uzx+vtoME6+RFNjxFVfjoUUGXvsE+SnmehThBfhrMDL+wkBG7EiHVmKChyi8/DL6CU0eJtZy5UPR+BYYP2978Rv5EwPr6vvV0tccRuQEkbzj11Q1z2M72ljOAY9CRv2wepVK5ms2/RRVzF7SBCjVbj1rOXp0eorMv3xW0F9gC9OVZSB1A1xVlzHNe3ozYYfHjzGaRPRFh1DocGXX1B9vaT9zRcTPBMVnHCjTpsjGpUVf+4ZTCifqEwirO1ivqnJLp/MoFyEr3Se7cv5enFMllzvSqdikKXg==

MARIA ANTONIETA CASTELLO LEYVA | Fecha:2022-09-02 18:45:14 | Firmante

fTgbC8ufpHhe5nlclwzkeoE0aP2A8nq3cTAHT5VUKTW6UNhv13Md877ralUY73kjhPrmkqzjdwJUzQGOFR6aeb+ftokdEOcktZKM6UNqoNMucMNefG+5WAT+ItpcR3c60BTLFUo8AxH/xjYrqY/azr2AGp3+oCIIQ4nkV98RDPEyKemBEyqUnGkArVZ8YkIr0A7dfTsKawUE0b5PWHhwg2zG7hNaFzmdVS6gSvVUhwTLHVOP+FLTVUgja8m24FRpUdf1gvQPxEv7HyHXSsc4Sr5j4sIUUXelubih+n+vEwErns8Cwkq7hWhxmPdvAl4toe1nKaVy5UCZTRj479puKzQ==

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



GK1nz2ER3

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/w7q2He2qi0TldJLE3bUW6V74zYd1vjVJ>

