

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

---

## FACULTAD DE FARMACIA

**“Síntesis de 3-ariloxibencilidentiazolidindionas, efecto inhibitorio *in vitro* contra PTP-1B y evaluación de su efecto antidiabético”**

# TESIS

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

**PRESENTA:**

**SERGIO PERALTA DIAZ**

**Director de tesis: Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez**

**Asesor técnico: M.F. Cristian Miranda González**

Cuernavaca, Morelos 2023

# ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	8
ÍNDICE DE TABLAS Y DIAGRAMAS.....	10
ÍNDICE DE COMPUESTOS.....	11
PRODUCTOS FINALES OBTENIDOS.....	11
<b>SPD-1:</b> .....	11
<b>SPD-2:</b> .....	11
<b>SPD-3:</b> .....	11
PRECURSORES SINTETIZADOS.....	11
<b>SPD-1a</b> 3-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)benzaldehído.....	11
<b>SPD-2a</b> : 4'-((3-formilfenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo.....	11
MATERIAS PRIMAS.....	11
<b>SPD-3a</b> :3-(naftalen-1-ilmetoxi)benzaldehído.....	12
ABREVIATURAS.....	12
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	13
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	15
2.1. DIABETES.....	15
2.2. LIBERACIÓN DE INSULINA.....	16
2.3. CLASIFICACIÓN.....	17
2.4. DIABETES TIPO 2.....	18
2.5. EPIDEMIOLOGÍA.....	18
2.6. Signos y síntomas.....	19
2.7. Diagnóstico.....	20
2.8. Fisiopatología de la diabetes tipo 2.....	20
2.9. Complicaciones de la diabetes tipo 2.....	22
2.10. Tratamiento de diabetes tipo 2.....	23
2.10.1. Secretagogos de insulina.....	24
2.10.1.1. Sulfonilureas.....	24
2.10.1.2. Glinidas.....	25
2.10.3 Análogos del péptido similar al glucagón (GLP-1).....	25
2.10.4. Inhibidores de la dipeptilpeptidasa tipo 4 (DPP-4).....	26
2.10.5. Otros mecanismos.....	26
2.10.5.1. Inhibidores de las $\alpha$ -glucosidasas.....	26
2.10.5.2. Inhibidores de cotransportadores de Na <sup>+</sup> y glucosa tipo 2.....	27
2.10.6. Insulinosensibilizadores.....	28

2.10.6.1. Biguanidas .....	28
2.10.6.2. Tiazolidindionas. ....	28
2.11. PPAR´s .....	29
2.11.1. Mecanismo PPAR.....	30
2.12. Proteína fosfatasa de tirosina 1B (PTP-1B). ....	31
2.12.1 Mecanismo PTP-1B.....	32
<b>3. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>33</b>
<b>4. HIPÓTESIS.....</b>	<b>33</b>
<b>5. OBJETIVOS.....</b>	<b>34</b>
5.1 Objetivo general.....	34
5.2 Objetivos particulares. ....	34
<b>6. CONSIDERACIONES DEL DISEÑO MOLECULAR.....</b>	<b>35</b>
<b>7. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....</b>	<b>37</b>
7.1 RETROSÍNTESIS.....	37
7.2 PARTE QUÍMICA.....	37
7.3 SÍNTESIS.....	38
7.3.1 REACCIÓN DE WILLIAMSON.....	38
7.3.2 CONDENSANCIÓN ALDÓLICA DE KNOEVENAGEL.....	39
7.4 PARTE COMPUTACIONAL.....	40
7.4.1 PASS Online.....	40
7.4.3 ACD/ToxSuite.....	41
7.4.4 Explorador de propiedades Osiris.....	42
7.4.5 AdmetSAR.....	42
7.4.5 Acoplamiento molecular asistido por computadora.....	42
7.5 PARTE <i>IN VITRO</i> .....	43
Ensayo de inhibición sobre PTP-1B.....	43
7.6 PARTE <i>IN VIVO</i> .....	44
Prueba de tolerancia a la glucosa (PTGO).....	44
<b>8. RESULTADOS.....</b>	<b>46</b>
8.1 Parte química.....	46
8.1.1 SÍNTESIS DE PRECURSORES DE TIPO 3-ARILOXIBENZALDEHIDO ( <b>SPD-1a – SPD-3a</b> ).....	46
8.1.2 Síntesis de precursores de tipo aril-3metiloxi-benzaldehido ( <b>SPD-1a – SPD-3a</b> ) mediante el empleo de reactor a presión y temperatura controlada <i>Monowave 50</i> de Anton Paar.....	46
8.1.3 Síntesis de los compuestos <b>SPD-1 a SPD-3</b> .....	48

8.2 Caracterización estructural de los compuestos <b>SPD-1</b> a <b>SPD-3</b> .	48
8.2.1 Resonancia magnética nuclear (RMN) <sup>1</sup> H y <sup>13</sup> C.	49
8.3 Parte computacional.	57
8.3.1 ACD/ToxSuite.	57
8.3.2 AdmetSAR.	58
8.3.3 PASSOnline.	58
8.3.4 Explorador de propiedades OSIRIS.	59
8.3.5 SwissADME.	59
8.3.6 Acoplamiento molecular asistido por computadora.	60
8.3.6.1 PTP-1B.	60
8.3.6.2 PPAR- $\gamma$ .	65
8.4 Análisis de consenso farmacológico.	69
8.5 PARTE <i>IN VITRO</i> .	70
8.6 Parte <i>in vivo</i> .	73
<b>9. CONCLUSIONES</b>	75
<b>10. PERSPECTIVAS</b>	76
<b>11. BIBLIOGRAFÍA</b>	77
SÍNTESIS DE PRECURSORES SPD1a – SPD3a	82
Síntesis de <b>SPD-3</b> (3-(naftalen-1-ilmetoxi)benzaldehído) por metodología convencional.	82
<b>SPD-1a</b> : 3-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi) benzaldehído	83
<b>SPD-2a</b> : 4'-((3-formilfenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo	85
<b>SPD-3a</b> : 3-(naft-1-ilmetoxi) benzaldehído	86
SÍNTESIS DE COMPUESTOS <b>SPD1-3</b>	88
Síntesis de (Z)-5-(3-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi) benciliden)tiazolidin-2,4-diona ( <b>SPD-1</b> )	88
Síntesis de (Z)-4'-((3-((2,4-dioxotiazolidin-5-iliden)metil)fenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo	89
Síntesis de (Z)-5-(3-(naftalen-1-ilmetoxi)benciliden)tiazolidin-2,4-diona	90
ESPECTROS	91
SPD1	91
SPD2	94
SPD3	96

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Ejemplificación del mecanismo de liberación de insulina al medio extracelular.....	17
<b>Figura 2</b> Mapa mundial con estimación de población con diabetes tipo II y proyección de crecimiento en los años 2030 y 2045 .....	19
<b>Figura 3</b> Principales signos de la diabetes .....	19
<b>Figura 4</b> Ejemplificación de cascada de señalización correcta de la insulina.....	21
<b>Figura 5</b> Complicaciones derivadas de diabetes tipo II.....	22
<b>Figura 6</b> Diferentes tipos de grupos de fármacos y mecanismos de acción para el tratamiento de diabetes tipo II.....	23
<b>Figura 7</b> Estructura química de la molécula de Glipizida .....	24
<b>Figura 8</b> Estructura química de la molécula de Repaglinida .....	25
<b>Figura 9</b> Estructura química de la molécula de Sitagliptina.....	26
<b>Figura 10</b> Representación de la estructura molecular de Acarbosa.....	27
<b>Figura 11</b> Estructura molecular de Dapaglifozina .....	27
<b>Figura 12</b> Estructura química de la molécula de Metformina .....	28
<b>Figura 13</b> Estructura molecular de Pioglitazona .....	28
<b>Figura 14</b> Ligandos endógenos de PPAR- $\gamma$ .....	30
<b>Figura 15</b> Mecanismo molecular de PPAR- $\gamma$ .....	31
<b>Figura 16</b> Ejemplificación de bloqueo de ruta normal de la cascada de señalización de la insulina ..	32
<b>Figura 17</b> Moléculas consideradas para el diseño de la serie de compuestos <b>SPD1-3</b> .....	36
<b>Figura 18</b> Propuesta de retrosíntesis para la obtención de compuestos <b>SPD1-3</b> .....	37
<b>Figura 19</b> Diagrama general de la reacción SN2 para la obtención de los precursores <b>SPD1a-3a</b> .....	38
<b>Figura 20</b> Diagrama de mecanismo de reacción de la sustitución nucleofílica bimolecular.....	39
<b>Figura 21</b> Página web principal del servidor PASSOnline.....	40
<b>Figura 22</b> Página web principal del portal SwissADME.....	40
<b>Figura 23</b> Reactor a presión y temperatura controlada Monowave 50, diagrama de temperatura a 150°C y presión constante .....	47
<b>Figura 24</b> Visualización general de RMN 1H del compuesto <b>SPD-1</b> .....	49
<b>Figura 25</b> Ampliación de la región aromática del espectro de RMN 1H del compuesto <b>SPD-1</b> .....	50
<b>Figura 26</b> Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de 13C del compuesto <b>SPD-1</b> .....	51
<b>Figura 27</b> Ampliación de la región aromática del espectro de RMN 13C del compuesto <b>SPD-1</b> .....	52
<b>Figura 28</b> A) Estructura molecular de 3-bromo-4-[difluoro(fosfono)metil]-N-metil-N-alfa-(metilsulfonil)-L-fenilalaninamida (COA). B) Diagrama de interacciones entre el compuesto COA y la enzima PTP-1B .....	53
<b>Figura 29</b> Visualización tridimensional de la disposición del compuesto <b>SPD-1</b> y sus interacciones con los residuos de la enzima PTP-1B (PDB: 4Y14) .....	61
<b>Figura 30</b> Visualización bidimensional del acoplamiento molecular e interacciones del compuesto <b>SPD-1</b> en el sitio de reconocimiento de PTP-1B. ....	62
<b>Figura 31</b> Visualización bidimensional del acoplamiento molecular e interacciones del compuesto <b>SPD-2</b> en el sitio de reconocimiento de PTP-1B.....	63
<b>Figura 32</b> Visualización bidimensional del acoplamiento molecular e interacciones del compuesto <b>SPD-3</b> en el sitio de reconocimiento de PTP-1B. ....	64
<b>Figura 33</b> Visualización bidimensional del acoplamiento molecular e interacciones de h-pioglitazona sobre el sitio de reconocimiento de PPAR- $\gamma$ en validación (PDB: 6DHA).....	65
<b>Figura 34</b> Visualización bidimensional del acoplamiento molecular e interacciones del compuesto <b>SPD-1</b> en el sitio de reconocimiento de PPAR- $\gamma$ . ....	66

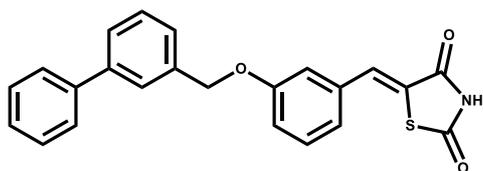
<b>Figura 35</b> Visualización bidimensional del acoplamiento molecular e interacciones del compuesto <b>SPD-2</b> en el sitio de reconocimiento de PPAR- $\gamma$ .....	67
<b>Figura 36</b> Visualización bidimensional del acoplamiento molecular e interacciones del compuesto <b>SPD-3</b> en el sitio de reconocimiento de PPAR- $\gamma$ .....	68
<b>Figura 37</b> Comparación de actividad residual en prueba sobre enzima PTP-1B entre el control y los compuestos <b>SPD1-3</b> .....	68
<b>Figura 38</b> Estimación del porcentaje de inhibición entre el control y los compuestos <b>SPD1-3</b> .....	69
<b>Figura 39</b> Concentración inhibitoria media del compuesto <b>SPD-1</b> sobre enzima PTP-1B en <i>ensayo in vitro</i> .....	69
<b>Figura 40</b> Concentración inhibitoria media del compuesto <b>SPD-2</b> sobre enzima PTP-1B en <i>ensayo in vitro</i> .....	70
<b>Figura 41</b> Concentración inhibitoria media del compuesto <b>SPD-3</b> sobre enzima PTP-1B en <i>ensayo in vitro</i> .....	70
<b>Figura 42</b> Resultados del experimento de variación de glucemia con glibenclamida .....	72
<b>Figura 43</b> Reacción general para la obtención del compuesto <b>SPD-3a</b> .....	79
<b>Figura 44</b> Reacción general para la obtención de compuesto <b>SPD-1a</b> empleando reactor de presión y temperatura controlada.....	80
<b>Figura 45</b> Reacción general para la obtención de compuesto <b>SPD-2a</b> empleando reactor de presión y temperatura controlada. ....	82
<b>Figura 46</b> Reacción general para la obtención de compuesto <b>SPD-3a</b> empleando reactor de presión y temperatura controlada. ....	83
<b>Figura 47</b> Reacción general para la obtención de compuesto <b>SPD-1</b> . ....	85
<b>Figura 48</b> Reacción general para la obtención de compuesto <b>SPD-2</b> . ....	86
<b>Figura 49</b> Reacción general para la obtención de compuesto <b>SPD-3</b> . ....	87
<b>Figura 50</b> Vista general de espectro de RMN de 1H de compuesto <b>SPD1</b> . ....	88
<b>Figura 51</b> Ampliación en zona aromática del espectro de RMN 1H obtenido del compuesto <b>SPD1</b> . ...	89
<b>Figura 52</b> Vista general de espectro de RMN 13C obtenida del compuesto <b>SPD1</b> . ....	89
<b>Figura 53</b> Ampliación de región aromática del espectro de RMN 13C obtenido del compuesto <b>SPD1</b> .....	90
<b>Figura 54</b> Espectro obtenido por IE del compuesto <b>SPD1</b> . ....	90
<b>Figura 55</b> Vista general de espectro de RMN de 1H de compuesto <b>SPD2</b> . ....	91
<b>Figura 56</b> Ampliación en zona aromática del espectro de RMN 1H obtenido del compuesto <b>SPD2</b> .....	91
<b>Figura 57</b> Vista general de espectro de RMN 13C obtenida del compuesto <b>SPD2</b> . ....	92
<b>Figura 58</b> Ampliación de región aromática del espectro de RMN 13C obtenido del compuesto <b>SPD1</b> .....	92
<b>Figura 59</b> Espectro obtenido por IE del compuesto <b>SPD2</b> . ....	93
<b>Figura 60</b> Vista general de espectro de RMN de 1H de compuesto <b>SPD3</b> .....	93
<b>Figura 61</b> Ampliación en zona aromática del espectro de RMN 1H obtenido del compuesto <b>SPD3</b> .....	94
<b>Figura 62</b> Vista general de espectro de RMN 13C obtenida del compuesto <b>SPD3</b> . ....	95
<b>Figura 63</b> Ampliación de región aromática del espectro de RMN 13C obtenido del compuesto <b>SPD3</b> .....	95
<b>Figura 64</b> Espectro obtenido por IE del compuesto <b>SPD3</b> . ....	96

## ÍNDICE DE TABLAS Y DIAGRAMAS.

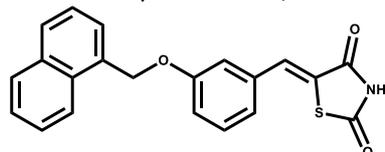
Tabla 1 Comparativa de primeros 10 lugares con mayor incidencia de diabetes tipo II al año 2021 y estimación para el año 2045.....	13
Tabla 2 Resultados de la síntesis de sustitución nucleofílica bimolecular de los precursores <b>SPD1a-3a</b> .....	44
Tabla 3 Resultados de la reacción SN2 llevada a cabo en el equipo Monowave 50 ¡Error! <b> Marcador no definido.</b>	47
Tabla 4 Resultados de la reacción de Knoevenagel a partir los precursores <b>SPD-1a-3a</b> para la obtención de los compuestos finales <b>SPD1-3</b> .....	48
Tabla 5 Asignación estructural de RMN <sup>1</sup> H Y <sup>13</sup> C del compuesto <b>SPD-1</b> . .....	54
Tabla 6 Asignación estructural de RMN <sup>1</sup> H y <sup>13</sup> C del compuesto <b>SPD-2</b> . .....	55
Tabla 7 Asignación estructural de RMN DE <sup>1</sup> H Y <sup>13</sup> C del compuesto <b>SPD3</b> . .....	56
Tabla 8 Resultados obtenidos del programa ACD/ToxSuite sobre los compuestos <b>SPD1-3</b> .....	57
Tabla 9 Resultados obtenidos del portal AdmetSAR para los compuestos <b>SPD1-3</b> .....	58
Tabla 10 Resultados obtenidos del portal PASSOnline de los compuestos <b>SPD1-3</b> .....	58
Tabla 11 Resultados obtenidos de prueba en el programa explorador de propiedades OSIRIS.....	59
Tabla 12 Resultados obtenidos del portal SwissADME de los compuestos <b>SPD1-3</b> . .....	57
Tabla 13 Análisis de consenso farmacológico de los compuestos SPD1-3 .....	67
Tabla 14 Resultados obtenidos de pruebas <i>in vitro</i> de los compuestos <b>SPD-1, SPD-2 y SPD-3</b> .....	69

## ÍNDICE DE COMPUESTOS

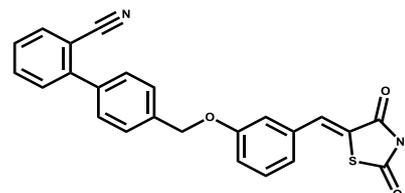
### PRODUCTOS FINALES OBTENIDOS



SPD-1: (Z)-5-(3-((1,1'-bifenil)-3-ylmetoxi)enciliden)tiazolidin-2,4-diona

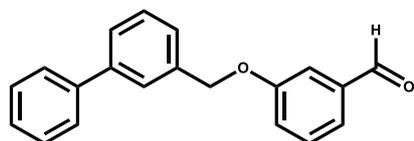


SPD-3: (Z)-5-(3-(naftalen-1-ylmetoxi)enciliden)tiazolidin-2,4-diona

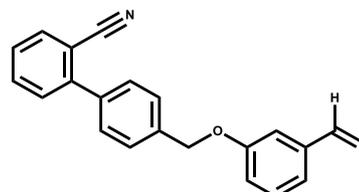


SPD-2: (Z)-4'-((3-(2,4-dioxotiazolidin-5-yliden)fenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo

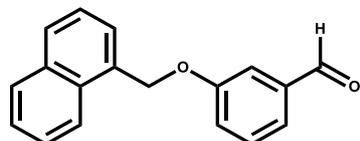
### PRECURSORES SINTETIZADOS



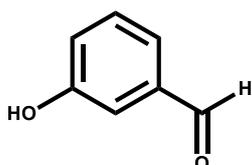
SPD-1a 3-((1,1'-bifenil)-3-ylmetoxi)benzaldehído.



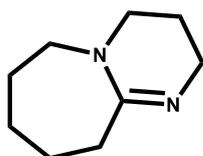
SPD-2a: 4'-((3-formilfenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo.



### MATERIAS PRIMAS



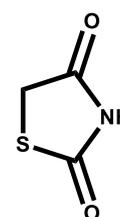
3-Hidroxibenzaldehído



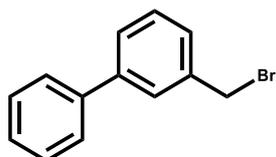
1,8-diazabicyclo  
[5.4.0]undec-7-eno



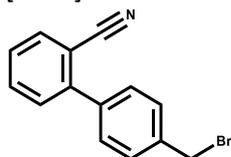
Acetonitrilo



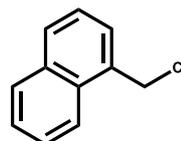
1,3-tiazolidin-2,4-  
diona



3-Bromometil-1,1-  
bifenilo



4-bromometil-1,1-  
bifenil-2-carbonitrilo



1-clorometilnaftaleno

SPD-3a :3-(naftalen-1-ilmetoxi)benzaldehído.

## ABREVIATURAS

ADA	<i>American Diabetes Association</i>
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADP	Adenosín difosfato
ATP	Adenosín trifosfato
CCF	Cromatografía de placa fina
CL <sub>50</sub>	Concentración inhibitoria media
CYP450	Citocromo P450
DBU	1,8-diazabicyclo [5.4.0]undec-7-eno
DMSO	Dimetilsulfoxido
DPP-IV	Dipeptidilpeptidasa tipo 4
DTI	Diabetes tipo 1
DTII	Diabetes tipo 2
EM	Espectrometría de masas
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GLP-1	Péptido similar al glucagón tipo 1
GLUT	Transportador de glucosa
hERG	<i>Human Ether-a-go-go related gene</i>
IDF	Federación internacional de diabetes
IE	Impacto electrónico
μM	Micromolar
M	Molar
NA	Nicotinamida
NAD	Nicotinamida adenina dinucleótido
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
PA	Probabilidad de actividad
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
PI	Probabilidad de inactividad
PM	Peso molecular
PPAR-γ	Receptor activado por proliferador de peroxisomas gamma
PTP-1B	Proteína tirosina fosfatasa 1B
QSAR	Relación cuantitativa estructura-actividad
RMN	Resonancia magnética nuclear
RXR	Receptor retinoide X
SN2	Sustitución nucleofílica bimolecular
TZD	Tiazolidindiona

# 1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la diabetes tipo II ha alcanzado cifras alarmantes de incidencia a nivel mundial convirtiéndose en una de las enfermedades de mayor índice de morbilidad y mortalidad esto debido a las complicaciones asociadas esta enfermedad, asimismo, esta enfermedad forma parte del síndrome metabólico, que es la manifestación de tres de los siguientes signos: obesidad central, hipertensión dislipidemia, hiperinsulinemia y algunos tipos de cáncer. <sup>1</sup>

En la actualidad la diabetes es una de las enfermedades con mayor incidencia a nivel mundial. En el año 2021 la Federación Internacional de diabetes (FID) reportó que habitan 537 millones de personas con este padecimiento. México ocupa el séptimo lugar con 14.1 millones de pacientes con esta enfermedad estimándose un incremento de 1.3 millones de nuevos casos entre el año 2019 y 2021, además se prevé que para el año 2045 México ocupe la octava posición con una población estimada de 21.2 millones de pacientes tal como se muestra en la **Tabla 1.**<sup>2</sup>

*Tabla 1. Comparativa de primeros 10 lugares con mayor incidencia de diabetes tipo II al año 2021 y estimación para el año 2045.*

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

La diabetes tipo 2 (DTII) tiene su origen en la incapacidad del cuerpo para utilizar eficazmente la insulina, lo que a menudo como consecuencia del exceso de peso o inactividad física, lo que genera hiperglucemia crónica y trastornos del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas como consecuencia de anomalías en el efecto de la insulina.<sup>3</sup> Con el tiempo la enfermedad puede causar daños, disfunción e insuficiencia de diversos órganos (riñones, ojos, nervios, corazón y vasos sanguíneos, por mencionar algunos). Debido a lo anterior, es importante desarrollar nuevos agentes farmacológicos que puedan emplearse en el tratamiento integral de la diabetes tipo 2, teniendo efecto *multi-target* sobre las condiciones que producen hiperglucemia y resistencia a la insulina.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. DIABETES

De acuerdo con la Organización Mundial de Salud (OMS), la diabetes se define como una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce.<sup>4</sup> El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia (aumento de glucosa en la sangre > 126 mg/dL en ayuno).

La diabetes tipo 1 (DTI) y la diabetes tipo 2 (DTII), son enfermedades heterogéneas en las que la presentación clínica y la progresión de la enfermedad pueden variar considerablemente.<sup>5</sup> La clasificación es importante para determinar la terapia, pero algunas personas no pueden clasificarse claramente como personas con DTI o DTII en el momento del diagnóstico.<sup>6</sup> Los paradigmas tradicionales que sugieren que la DTII que se presenta solo en adultos y la DTI solo en niños ya no son precisos, ya que ambas enfermedades ocurren en ambos grupos de edad. Los niños con DTI suelen presentar los síntomas característicos de poliuria / polidipsia, y aproximadamente un tercio presenta cetoacidosis diabética (CAD).<sup>7</sup> La aparición de la diabetes tipo 1 puede ser más variable en los adultos y es posible que no se presenten con los síntomas clásicos que se observan en los niños. Ocasionalmente, los pacientes con DTII pueden presentar CAD, particularmente en minorías étnicas.<sup>8</sup> Aunque al inicio pueden surgir dificultades para distinguir el tipo de diabetes en todos los grupos de edad, el verdadero diagnóstico se vuelve más obvio con el tiempo.<sup>8</sup>

Los factores de riesgo para que se presente la DTI aún se encuentran en estudio, los que se han identificado incluyen tener algún familiar con DTI, la exposición a algunos

factores medioambientales y a ciertas infecciones virales también han sido relacionados con el riesgo de desarrollar DTI .<sup>9</sup>

Por su parte la DTII, se han asociado varios factores de riesgo, como: antecedentes familiares de diabetes (predisposición genética), sobrepeso, inactividad física, presión arterial alta, origen étnico y antecedentes de diabetes gestacional, entre otros que pueden dar como resultado la pérdida progresiva de masa y/o función de células  $\beta$  que se manifiesta clínicamente como hiperglucemia.<sup>10</sup>

Una vez que se produce la hiperglucemia, los pacientes con todas las formas de diabetes corren el riesgo de desarrollar las mismas complicaciones crónicas, aunque las tasas de progresión pueden diferir. La identificación de terapias individualizadas para la diabetes en el futuro requerirá una mejor caracterización de los muchos caminos hacia la desaparición o disfunción de las células  $\beta$  pancreáticas.<sup>11</sup>

## 2.2. LIBERACIÓN DE INSULINA

La insulina juega un papel crucial en los mecanismos de regulación energética, esta es liberada cuando la glucosa es captada por el transportador de glucosa tipo 2 (GLUT-2), posteriormente la glucosa es metabolizada por glucólisis y ciclo respiratorio derivando moléculas de ATP y ADP, que en consecuencia genera el cierre de canales de  $K^+$  desencadenando la despolarización de la membrana celular permitiendo así la apertura de los canales de  $Ca^{2+}$  dependientes de voltaje

propiciando el ingreso de  $\text{Ca}^{2+}$ , dando lugar a la activación de la sinaptotagmina que promueve la liberación de la insulina almacenada en vesículas .<sup>12,13,14</sup>

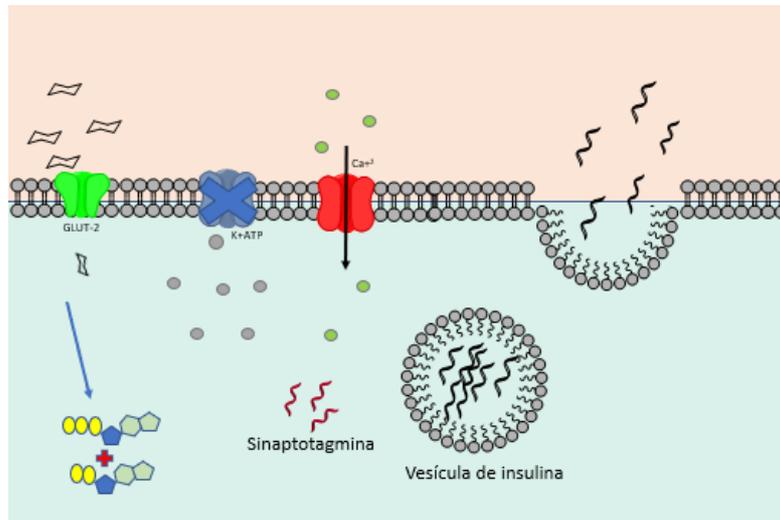


Figura 1. Ejemplificación del mecanismo de liberación de insulina al medio extracelular Modificado de Cho H.<sup>41</sup>.

### 2.3. CLASIFICACIÓN

De manera general se clasifican 3 tipos diferentes de diabetes los cuales son:

**DTI:** se produce por la destrucción autoinmune de las células beta de los islotes de Langerhans, que son los responsables de la producción de insulina. Este proceso ocurre en personas con predisposición genética, probablemente desencadenado por uno o más factores ambientales y generalmente se desarrolla durante un periodo en el cual el sujeto está asintomático y euglucémico.<sup>15</sup>

**DTII:** se caracteriza por la presencia de episodios de hiperglucemia, resistencia a la insulina y alteración en la secreción relativa de insulina.<sup>16</sup> Y se relaciona con otros padecimientos como la hipertensión, los niveles altos de colesterol (LDL), los niveles bajos de colesterol (HDL) y el aumento de riesgo cardiovascular, anomalías en las que el hiperinsulinismo tiene un papel importante.<sup>17</sup>

**Diabetes Gestacional:** corresponde a una hiperglicemia que se detecta por primera vez durante el embarazo.<sup>18</sup>

## 2.4. DIABETES TIPO 2

La DTII ha sido clasificada como la epidemia del siglo XXI tanto por su creciente magnitud como por su impacto en enfermedades cardiovasculares, y se ha convertido en una de las primeras causas de mortalidad en las sociedades desarrolladas además varios factores, como el cambio de criterios de diagnóstico, el envejecimiento progresivo de la población, la mayor mortalidad de los diabéticos o un verdadero aumento de la incidencia, han podido influir en este fenómeno.<sup>19</sup>

## 2.5. EPIDEMIOLOGÍA.

La diabetes es una de las mayores emergencias de salud a nivel mundial. Actualmente se calculan alrededor de 537 millones de personas con este padecimiento, con una prevalencia del 10.5% de la población mundial en el rango de edad de 20 a 79 años. La diabetes provoca un aproximado de 6.7 millones de muertes y un gasto en el sector salud de 966 mil millones de dólares de además se estima un incremento considerable para el año 2045 a 783 millones de habitantes con DTII en el rango de edad de 20 a 79 años, calculándose un gasto en el sector salud por encima de 1 millón de millones (un billón) de dólares.<sup>2,20</sup>

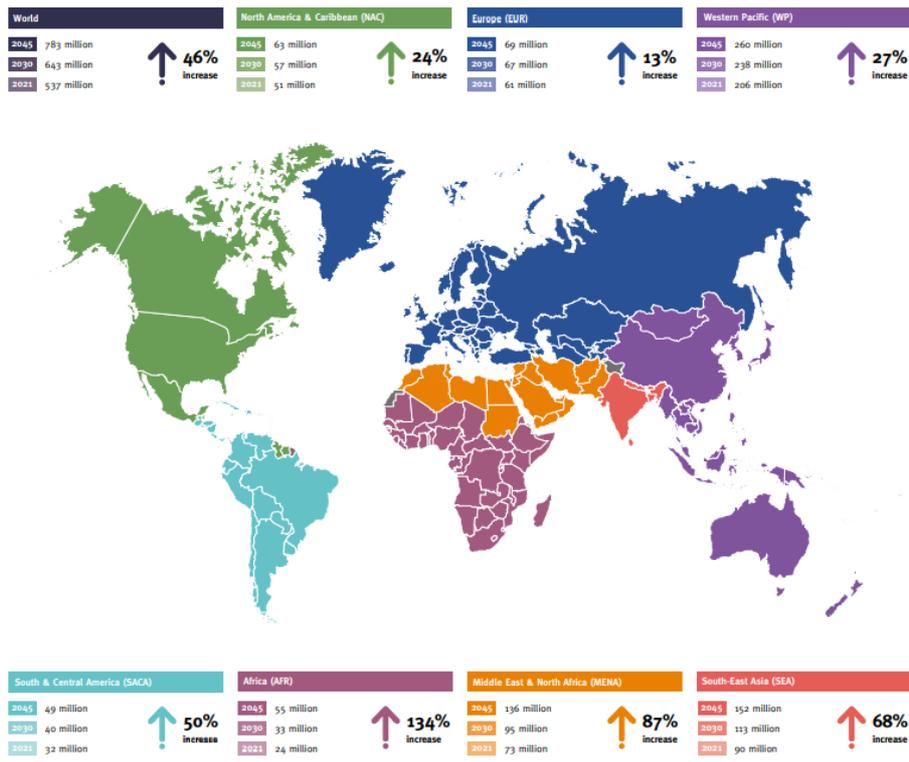


Figura 2. Mapa mundial con estimación de población con diabetes tipo II y proyección de crecimiento en los años 2030 y 2045.<sup>2</sup>

## 2.6. Signos y síntomas



Figura 3. Los principales signos de la diabetes consisten en: polidipsia que comprende de sed excesiva, polifagia que es el consumo excedente de alimentos y la poliuria que es la excreción más frecuente de lo usual de orina

Existen diversos signos y síntomas que derivan del estado de hiperglucemia crónica en la DTII, uno de los efectos más notables es una mayor filtración de glucosa al túbulo renal; en este proceso el exceso de glucosa puede ser eliminado a través de la orina dando origen a la glicosuria, esta a su vez provoca diuresis osmótica y como

consecuencia un aumento en el volumen y frecuencia de micciones conocido como poliuria; debido a esta pérdida constante del volumen de líquidos las personas con este padecimiento tienen la necesidad constante de ingerir grandes volúmenes de líquidos (polidipsia), cabe mencionar que al consumir bebidas azucaradas vuelve a aumentar su concentración de glucosa ocasionando de nueva cuenta este ciclo.<sup>21</sup> La polifagia surge en personas con diabetes debido a la deficiente utilización de la glucosa en algunas regiones cerebrales, ante la falta de glucosa se genera la sensación del apetito provocando la ingesta continua y en exceso de alimentos.<sup>21</sup>

## 2.7. Diagnóstico.

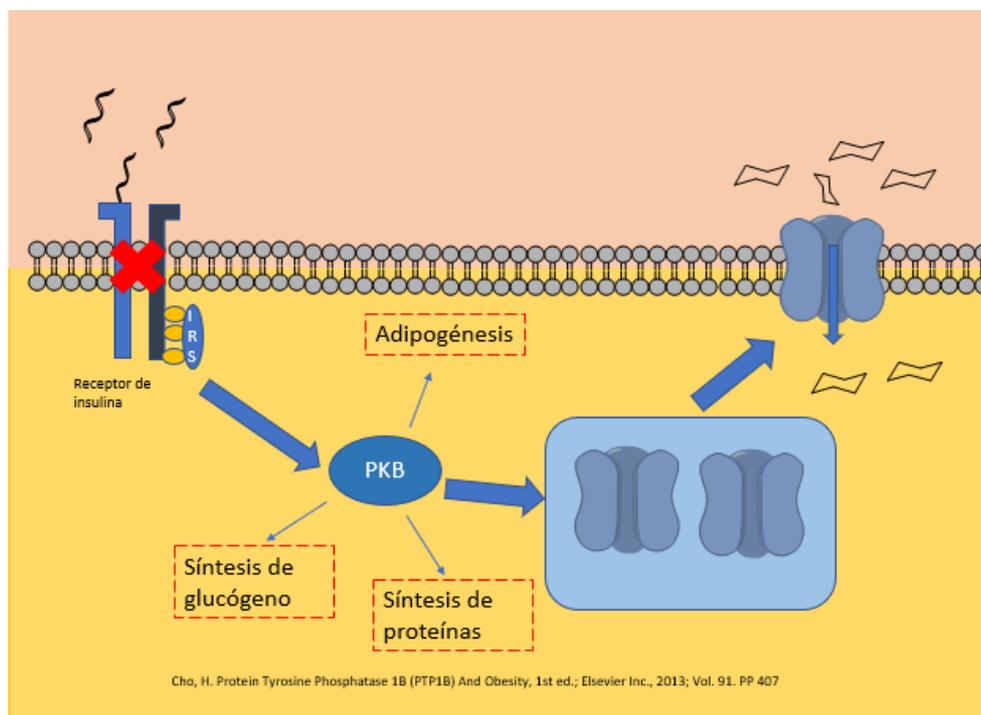
De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes los criterios de diagnóstico son los siguientes:

- Presencia de síntomas clásicos (poliuria, polidipsia y polifagia) y una glucemia plasmática casual > 200 mg/dL.
- Glucemia plasmática en ayuno > 126 mg/dL.
- Glucemia > 200 mg/dL dos horas después de una carga oral de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua, estos criterios se deben confirmar repitiendo la prueba en un día diferente.<sup>22</sup>

## 2.8. Fisiopatología de la diabetes tipo 2

En la cascada de señalización típica de la insulina esta activa a su receptor mediante la fosforilación en el sustrato del receptor de insulina 1 (IRS1) en el músculo esquelético y el tejido adiposo, así como en el sustrato del receptor de insulina 2 (IRS2) en el hígado, activando a la fosfoinositol 3-cinasa (PI3K) donde la Serina/treonina proteína quinasa (PKB/Akt2) parece desempeñar un papel importante

en las acciones metabólicas de la insulina como la activación de la enzima glucógeno sintasa favoreciendo la síntesis de glucógeno, estimula la lipogénesis e incentiva la incorporación de glucosa en el tejido muscular y el tejido adiposo a través de la translocación del transportador de glucosa tipo 4 (GLUT-4) de compartimentos intracelulares a la membrana celular y este transporta la glucosa plasmática circulante hacia el interior de la célula normalizando la glucemia plasmática y fomentando el metabolismo intracelular de la glucosa. **(Figura 4)**.<sup>23, 24,25</sup>

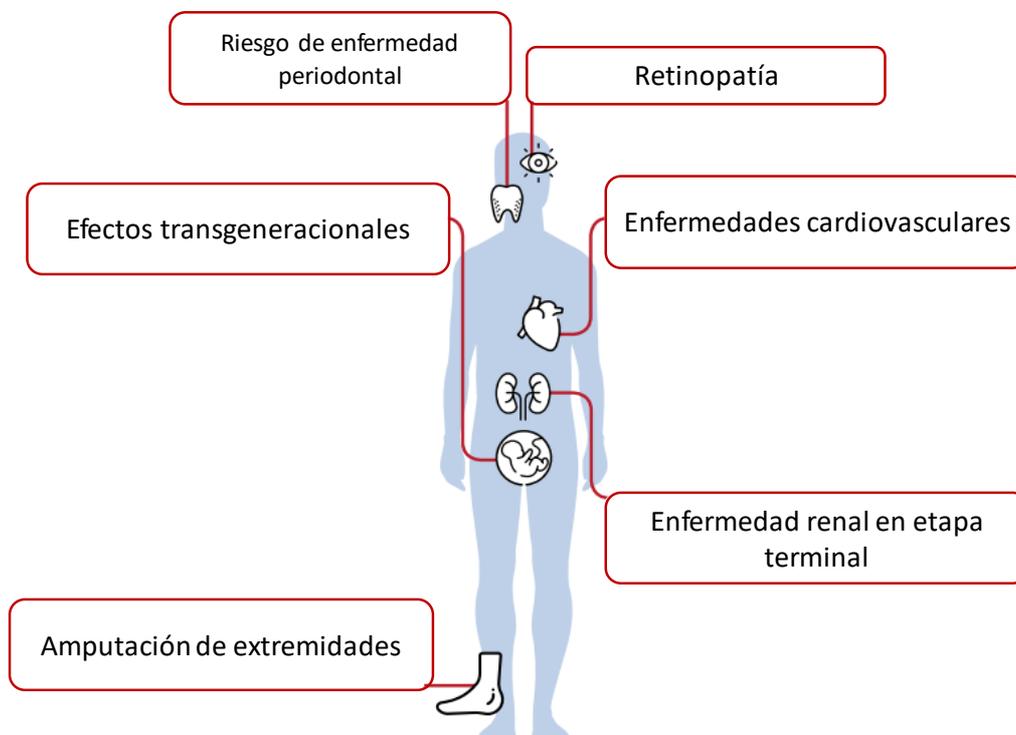


**Figura 4.** Ejemplificación de cascada de señalización correcta de la insulina. Modificado de Cho H.<sup>41</sup>

En un paciente con DTII la señalización de insulina es ineficaz y por lo tanto se inhiben diversos procesos metabólicos, entre ellos la internalización de glucosa al medio intracelular a consecuencia de la incapacidad de translocación de receptores GLUT-4 desde los compartimientos subcelulares hacia la membrana celular.<sup>25</sup>

## 2.9. Complicaciones de la diabetes tipo 2.

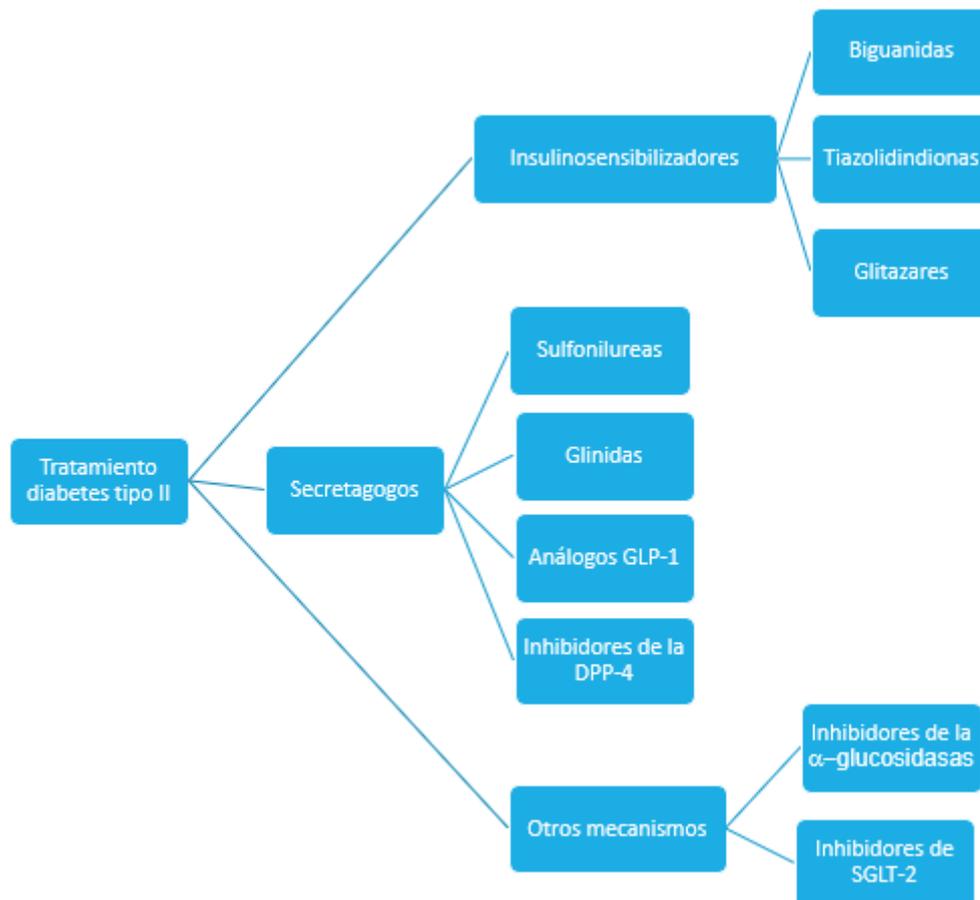
La DTII es considerada una de las enfermedades con mayor impacto en la calidad de vida de los pacientes ya que frecuentemente es acompañada de una variedad de complicaciones en consecuencia a la exposición prolongada a niveles altos de glucosa lo que lleva a la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) e inflamación tisular que derivan en daño a tejidos como: las células capilares endoteliales, células mesangiales del glomérulo renal, retina ocular, neuronas y células de Schwann en nervios periféricos por mencionar algunas.<sup>26</sup> Esto deriva en complicaciones microvasculares como retinopatías, nefropatías, neuropatías diabéticas, dolor crónico en extremidades (**Figura 5**)<sup>27</sup> y en complicaciones macrovasculares como enfermedad vascular periférica, isquemia cardiaca, ataques cerebrovasculares y enfermedad coronaria arterial mencionando algunas.<sup>28</sup>



*Figura 5. Complicaciones derivadas de diabetes tipo 2.<sup>2</sup>*

## 2.10. Tratamiento de diabetes tipo 2.

Actualmente a los pacientes se les propone una estrategia para poder abordar y lograr un control glucémico: esta se compone de una triada terapéutica, en la cual se deben de hacer diferentes ajustes en el estilo de vida del paciente, involucrando una dieta balanceada así como el control de ingesta de azúcares, ejercicio efectivo y constante para lograr un control en el peso del paciente y finalmente se introduce un tratamiento farmacológico (**Figura 6**) al que el paciente se deberá de apegar para tener un mejor control en los niveles de glucosa en sangre, evitar episodios hiperglucémicos y mejorar su calidad de vida.



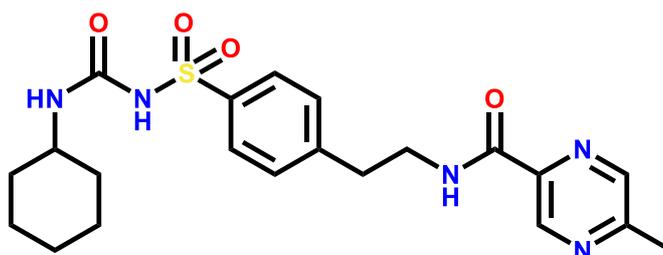
*Figura 6. Diferentes tipos de grupos de fármacos y mecanismos de acción para tratamiento de diabetes tipo 2.*

En ocasiones a los pacientes con diabetes se les prescribe un tratamiento farmacológico con más de un medicamento o grupo de fármacos diferentes con diferentes mecanismos de acción para aumentar la eficacia del tratamiento. Entre los grupos de medicamentos se encuentran:

## 2.10.1. Secretagogos de insulina.

### 2.10.1.1. Sulfonilureas.

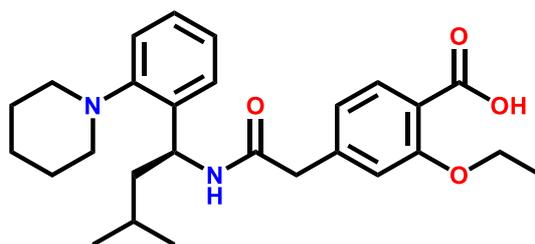
Este tipo de fármacos promueven la liberación de la insulina al tener interacción con su receptor específico en las células  $\beta$  pancreáticas. Estas moléculas se asocian constantemente a un efecto hipoglucemiante y se clasifican en sulfonilureas de primera generación (clorpropamida, tolbutamida, tolazolamida, acetahexamida) y de segunda generación como glibenclamida, glicazida, glimepirida y glipizida (**Figura 7**). El mecanismo de acción de este tipo de compuestos como glibenclamida es mediante del bloqueo de canales de potasio dependientes de ATP al unirse al receptor específico de sulfonilureas (SUR1), provoca una despolarización en la membrana celular de las células  $\beta$  del páncreas que posteriormente da la apertura de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  dependientes de voltaje, aumentando la concentración calcio intracelular lo que promueve la translocación de gránulos de insulina y posterior liberación de la insulina. <sup>29,30</sup>



*Figura 7. Estructura química de la molécula de Glipizida.*

### 2.10.1.2. Glinidas

Las glinidas tienen un mecanismo de acción similar al de las sulfonilureas, que consta de estimular la secreción de insulina mediante el bloqueo de los canales de potasio dependientes de ATP generando despolarización y permitiendo la entrada de iones de calcio al medio intracelular promoviendo la translocación de los gránulos de insulina hacia la membrana y su posterior liberación; es preciso señalar que la secreción de insulina inducida por glinidas es sensible a la glucosa de forma que al disminuir la concentración de glucosa disminuye la secreción de insulina simultáneamente. Por lo tanto, la posibilidad de un estado de hipoglucemia es menor además estas son caracterizadas por una acción terapéutica rápida y de duración corta.<sup>31,32</sup>



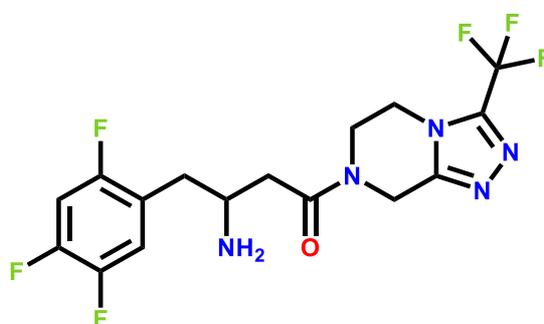
*Figura 8. Estructura química de la molécula de Repaglinida.*

### 2.10.3 Análogos del péptido similar al glucagón (GLP-1).

Los análogos similares al glucagón también llamados incretínmiméticos ejercen su acción terapéutica al unirse a los receptores GLP-1 de las células beta del páncreas estimulando la secreción de insulina. Además, se caracteriza por estimular la neogenesis de islotes en el páncreas aumentando la masa de este.<sup>31</sup> Los medicamentos que representan a este grupo son la exenatida y la liraglutida.

#### 2.10.4. Inhibidores de la dipeptilpeptidasa tipo 4 (DPP-4).

Los inhibidores de la dipeptilpeptidasa tipo 4 o gliptinas, como la sitagliptina (**Figura 9**) normalmente son usados en terapias combinadas con metformina o tiazolidindionas para el tratamiento de la DTII estas tienen su mecanismo de acción al inhibir la DPP-4 aumentando los niveles posprandiales de GLP-1 disminuyendo la resistencia a la insulina, así como los triglicéridos. Además, estimulan la secreción de insulina, suprimen la secreción de glucagón inhibiendo la producción de glucosa hepática y retrasan el vaciamiento gástrico reduciendo así el apetito.<sup>33</sup>

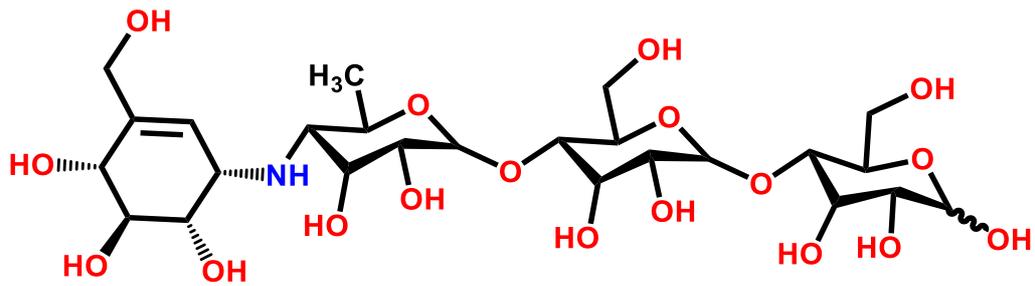


*Figura 9. Estructura química de la molécula de Sitagliptina.*

#### 2.10.5. Otros mecanismos.

##### 2.10.5.1. Inhibidores de las $\alpha$ -glucosidasas.

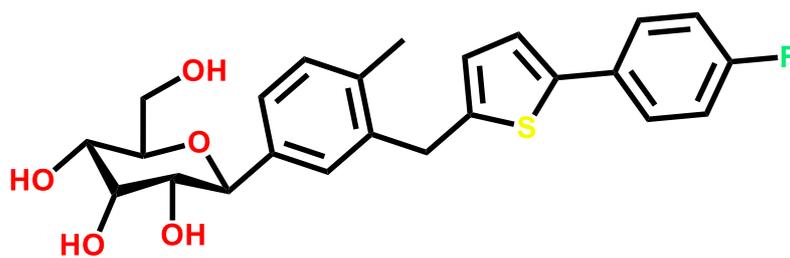
Los inhibidores de las  $\alpha$ -glucosidasas como la acarbosa (**Figura 10**) tienen efecto antihiper glucemiantes al inhibir de forma competitiva y reversible a las  $\alpha$ -glucosidasas que se encuentran presentes en las microvellosidades intestinales. Las  $\alpha$ -glucosidasas intervienen en la degradación de oligosacáridos (lactosa, sacarosa, maltosa, etc) en monosacáridos (glucosa, fructosa, etc.) por lo que la inhibición de las enzimas  $\alpha$ -glucosidasas da como resultado el retraso de absorción de los carbohidratos logrando el abatimiento del pico hiper glucémico postprandial.<sup>31, 34</sup>



*Figura 10. Representación de estructura molecular de Acarbosa.*

#### 2.10.5.2. Inhibidores de cotransportadores de Na<sup>+</sup> y glucosa tipo 2.

Los inhibidores de cotransportadores de sodio y glucosa como la dapaglifozina (**Figura 11**) poseen acción farmacológica a nivel de túbulo contorneado proximal lo que los convierte en una opción muy atractiva para el tratamiento de la diabetes ya que estos inhiben el transporte de glucosa de modo que se reabsorbe menos glucosa además de disminuir el umbral renal de glucosa provocando la expresión de glucosa en orina aun con menores concentraciones de glucosa en plasma resultando en glucosuria y un decremento de glucemia.<sup>35</sup>

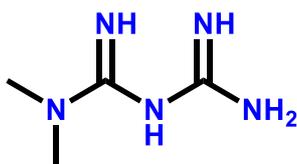


*Figura 11. Estructura molecular de Dapaglifozina.*

## 2.10.6. Insulinosensibilizadores

### 2.10.6.1. Biguanidas

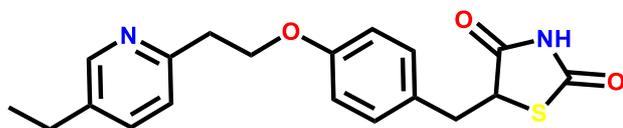
Las biguanidas (**Figura 12**) poseen efecto a nivel extrapancreático aumentando la sensibilidad a la insulina en tejido periférico, así como hepático donde se reduce la producción basal de glucosa inhibiendo la gluconeogénesis y glucogenólisis además de elevar la sensibilidad a la insulina en el músculo, mejorando la captación de glucosa periférica. El medicamento que representa a este grupo de fármacos, es la metformina siendo este el medicamento más eficaz y accesible en el mercado por lo que es utilizado no solo en pacientes sintomáticos sino también en la población en riesgo.<sup>31, 36</sup>



*Figura 12. Estructura química de la molécula de Metformina.*

### 2.10.6.2. Tiazolidindionas.

Las tiazolidindionas o glitazonas ejercen su actividad mediante la activación de receptores nucleares PPAR- $\gamma$  (receptor activado por proliferadores de peroxisomas gamma) que activan y regulan la expresión de diversos genes implicados en el metabolismo y absorción de glucosa y lípidos además de inducir sensibilidad a la insulina a nivel periférico aumentando así la captación y utilización de glucosa en tejido muscular.<sup>37</sup>

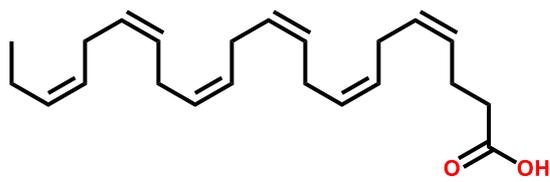


*Figura 13. Estructura molecular de Pioglitazona.*

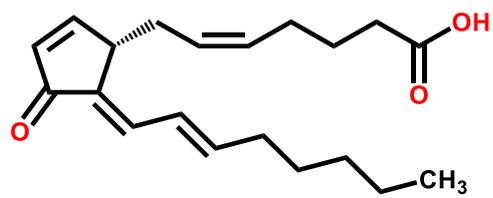
## 2.11. PPAR's.

Los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR) son una familia de factores de transcripción que pertenecen a la superfamilia de los receptores esteroideos y que incluye tres isotipos: PPAR- $\alpha$ , PPAR- $\beta$  y PPAR- $\gamma$ . Estos receptores se unen a repeticiones directas hexaméricas en forma de heterodímeros con el receptor del retinoide X. Los PPAR regulan la expresión de una amplia variedad de genes que codifican proteínas implicadas en el metabolismo lipídico, la homeostasis energética, la diferenciación celular y la formación de tumores.<sup>38</sup>

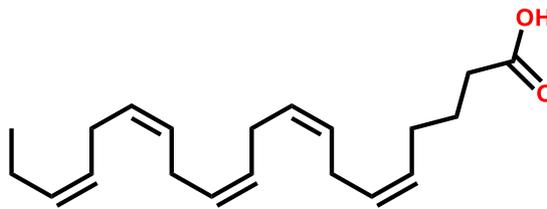
PPAR- $\gamma$  tiene una gran variedad de ligandos endógenos, los cuales suelen ser agonistas totales incluyendo ácidos grasos insaturados de cadena larga (12-18 carbonos) como el ácido docosahexaenoico (DHA). También se han reportado como sus ligandos algunos eicosanoides, endocannabinoides, fosfolípidos, derivados de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (oxLDL) como el ácido hidroxieicosatetraenoico (15-HETE), ácido 13-ceto-9Z,11E-octadecadienoico (13-oxo-ODE), así como 15-deoxi- $\Delta$  12,14-prostaglandina J2 y productos del ciclo ácido fosfatídico (**Figura 14**). Por otro lado, existe una gran variedad de ligandos sintéticos que pueden actuar como agonistas parciales.<sup>38</sup>



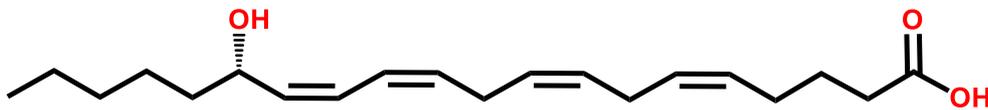
Ácido docosa-(4-7-10-13-16-19)-hexenoico  
(DHA).



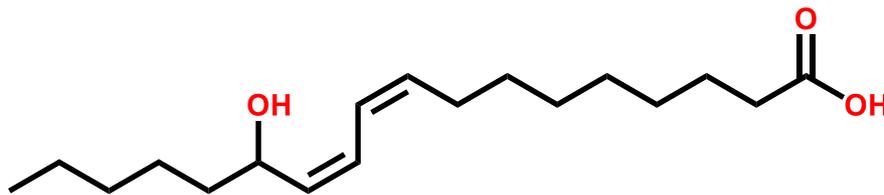
15-deoxi- $\Delta$  12,14-Postaglandina J-2.



Ácido eicosa-(5-8-11-14-17)-pentaenoico (EPA).



Acido 15-hidroxi-eicosa-5,8,11,13 tetraenoico (15-HETE).



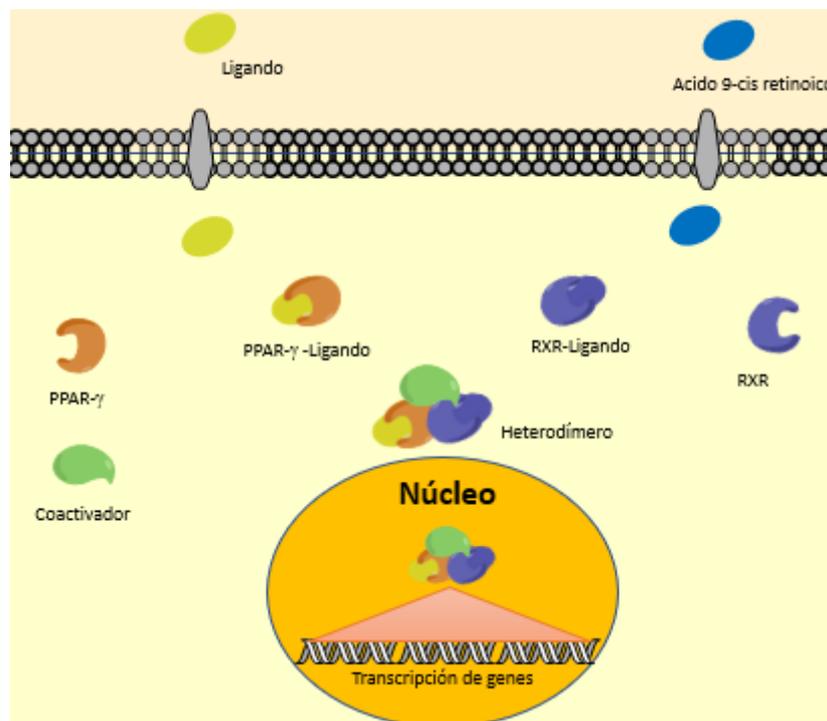
Ácido hidroxi-octadeca-9,11,-dienoico (13-HODE).

**Figura 14.** Ligandos endógenos de PPAR- $\gamma$ , algunos son productos de oxidación de ácidos grasos insaturados, lipoproteínas y productos de ácido fosfatídico.

### 2.11.1. Mecanismo PPAR- $\gamma$ .

PPAR- $\gamma$  se encuentra distribuida en el tejido adiposo, al interior de la célula diana en el retículo endoplásmico; la interacción con sus ligandos (endógenos o sintéticos) resulta en la translocación al núcleo y la modificación en la regulación de la transcripción de genes. La unión de un ligando a PPAR- $\gamma$  puede resultar en la transactivación o trans-represión de algunos genes de interés. En el proceso de transactivación dependiente de ADN, la unión de un ligando produce la

heterodimerización de PPAR- $\gamma$  con el receptor retinoide X (RXR) y el reconocimiento de los elementos de respuesta (PPREs) en la región promotora de los genes blanco. Esto conduce a un cambio conformacional que resulta en el reclutamiento de coactivadores o co-represores que interaccionan con el receptor nuclear de forma dependiente de ligando provocando la transcripción o represión de algunos genes blanco (**Figura 15**).<sup>39</sup>



*Figura 15. Mecanismo molecular de PPAR- $\gamma$  Modificado de Cho H. <sup>41</sup>.*

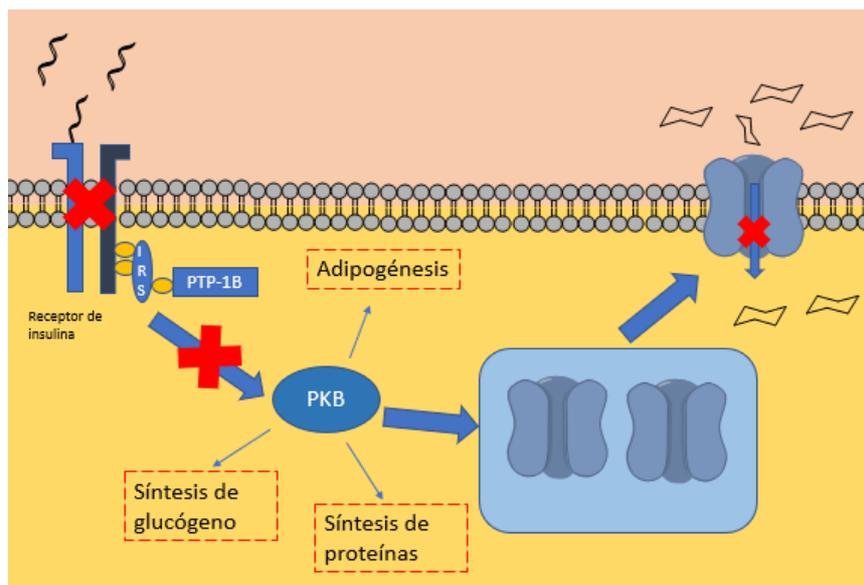
## 2.12. Proteína fosfatasa de tirosina 1B (PTP-1B).

Las proteínas fosfatasas de tirosina son una familia de enzimas que catalizan la desfosforilación de tirosina. Entre estas proteínas destaca PTP1B, que se expresa en varios tejidos incluyendo músculo esquelético, hígado, tejido adiposo y cerebro, cabe mencionar que se ha observado una sobreexpresión de esta enzima en estados de hiperglucemia. Su principal función es regular de manera negativa la señalización de

la insulina y leptina. Por lo tanto, su inhibición conduce tanto a un incremento en la sensibilidad a la insulina como leptina, lo cual la convierte en un excelente blanco contra obesidad y la diabetes.<sup>40</sup>

### 2.12.1 Mecanismo PTP-1B.

El receptor de insulina es una glicoproteína que consiste en dos subunidades extracelulares  $\alpha$  y dos subunidades intracelulares  $\beta$ , las cuales se encuentran unidas por enlaces disulfuro. Cuando la insulina se une al receptor de insulina (IR), las subunidades  $\alpha$  activan las cinasas de tirosina de las subunidades  $\beta$ , autofosforilándose en residuos de Tyr, así mismo estas fosforilan a los sustratos del receptor de insulina IRS1 e IRS2, lo que a su vez promueve la vía Akt y la translocación de GLUT-4. Por su parte PTP1B atenúa la señalización de insulina desfosforilando el IR y el IRS1(**Figura 16**), de este modo impide que las vesículas que contienen GLUT4 se transloquen evitando la internalización de glucosa a la célula.<sup>41</sup>



**Figura 16.** Ejemplificación de bloqueo de ruta normal de la cascada de señalización de la insulina. Modificado de Cho H.<sup>41</sup>

### 3. JUSTIFICACIÓN.

Para lograr el control de los niveles de glucosa circulante en pacientes con DTII, frecuentemente se debe recurrir a la administración de un número importante de fármacos, elevando así el costo del tratamiento por paciente y aumentando el riesgo de presentar interacciones fármaco-fármaco como resultado de la polifarmacia administrada.

Debido a esto, el diseño de nuevos fármacos multi *targets* para el tratamiento de la DTII representa una importante línea de investigación en el área de la salud. Cabe destacar que la aplicación de herramientas computacionales representa un gran aporte para la selección y desarrollo de moléculas con potencial actividad farmacológica, ya que permiten elegir las moléculas que tienen más probabilidades de ser más efectivas y más seguras, reduciendo el costo de la investigación y fortaleciendo el sustento del diseño racional de moléculas con potencial efecto terapéutico.

Por lo que el presente proyecto, se enfocó en el diseño, síntesis y evaluación de tres compuestos derivados del 3-hidroxibenzaldehído unidos a tiazolidindionas (**SPD 1-3**) que actúen en diferentes *targets* implicados en el desarrollo de la diabetes.

### 4. HIPÓTESIS.

Los compuestos diseñados de tipo 3-ariloxibenciliden-1,3-tiazolidin-2,4-dionas presentarán actividad antihiper glucémica al ser ligandos virtuales polifarmacológicos de PPAR- $\gamma$  e inhibidores de la enzima PTP-1B.

## 5. OBJETIVOS.

### 5.1 Objetivo general.

Sintetizar, caracterizar y realizar la biosimulación de una serie de tres compuestos de tipo tiazolidindiona derivados del 3-hidroxibenzaldehído con posible efecto polifarmacológico para el tratamiento experimental de la diabetes tipo II.

### 5.2 Objetivos particulares.

1. Diseñar y sintetizar 3 derivados del 3-ariloxibenciliden-1,3-tiazolidin-2,4-diona (**SPD 1-3**).
2. Caracterizar los compuestos sintetizados mediante técnicas espectroscópicas como RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  y espectrométricas como IE-M.
3. Determinar *in silico* los perfiles biofarmacéuticos, farmacocinéticos, farmacodinámicos y toxicológicas de la serie de compuestos **SPD 1-3**.
4. Obtener los modelos de acoplamiento molecular de la serie de compuestos en el sitio de reconocimiento de PPAR- $\gamma$  y PTP-1B para conocer su afinidad y posibles modos de unión a los blancos terapéuticos de interés.
5. Evaluar *in vitro* las propiedades inhibitoras de los compuestos **SPD 1-3** sobre la enzima PTP-1B.
6. Realizar un análisis de consenso farmacológico de la serie **SPD 1-3** para la selección de un compuesto computacionalmente seguro para posteriormente ser evaluado en experimentos *in vivo*.

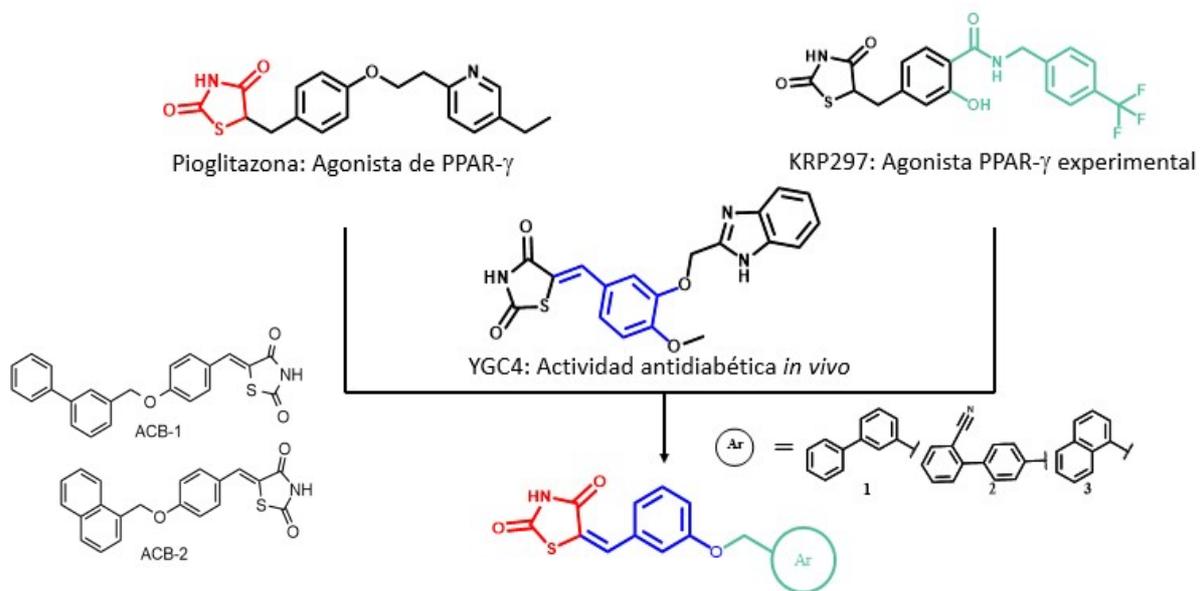
## 6. CONSIDERACIONES DEL DISEÑO MOLECULAR.

Se tomó como modelo un grupo de moléculas con efectos antihiperlipémicos y posteriormente se identificó el grupo funcional en común al que llamaremos farmacóforo unificado, el cual es la estructura mínima necesaria para mantener la acción farmacológica antidiabética sobre múltiples proteínas implicadas en el tratamiento de la diabetes.

Para el diseño de los compuestos **SPD 1-3** se tomó como base la región ácida del anillo de la tiazolidindiona, siendo un bioisómero de ácido carboxílico el cual tiene un sustituyente en el carbono que brindara una configuración estereoquímica en *Z* según el sistema *E-Z*.

Asimismo, se consideró al compuesto **YGC-4**, en la cual se incluyó el fragmento aromático sustituido en posición 1-3 (*meta*), debido a que mostró actividad antidiabética *in vivo* en un modelo murino no insulino dependiente.<sup>42</sup>

Finalmente, para la región hidrofóbica del compuesto, se tomó en cuenta al compuesto experimental **KRP-297** con actividad agonista sobre PPAR- $\gamma$  y se sustituyeron por las regiones hidrofóbicas del compuesto **SNHF-1** y los compuestos **ACB-1,2 y 7** desarrollados y probados en nuestro grupo de investigación con resultados de interés para este proyecto (**Figura 17**).<sup>43, 51</sup>



**Figura 17.** Moléculas consideradas para el diseño de la serie de compuestos **SPD1-3**.

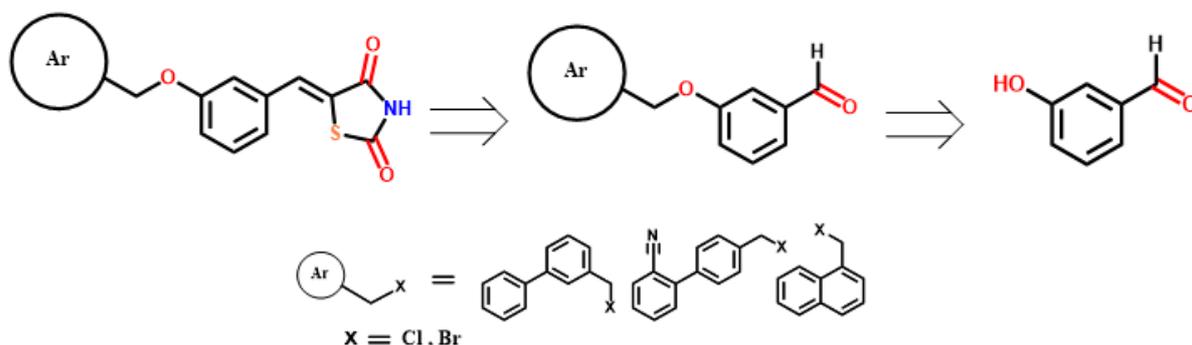
## 7. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

### 7.1 RETROSÍNTESIS.

La retrosíntesis es una técnica que nos permite retroceder paso a paso desde una molécula objetivo hasta un conjunto de sustancias simples que se tengan a disposición.

Se tomaron como punto de partida las estructuras químicas de los compuestos propuestos en este trabajo, a partir de las cuales: se realizó una desconexión en el doble enlace carbono-carbono (metino) y el heterociclo de tiazolidindiona, obteniendo así a las moléculas arilmetiloxibenzaldehidos (**Figura 18**).

Posteriormente se planteó la desconexión del enlace carbono-oxígeno del éter de la región hidrofóbica para dejar como remanente la molécula base de 3-hidroxibenzaldehido y los correspondientes halogenuros de metil-arilos (**Figura 18**).



*Figura 18. Propuesta de retrosíntesis para la obtención de compuestos SPD1-3.*

### 7.2 PARTE QUÍMICA.

La síntesis química se llevó a cabo en el Laboratorio 5 de Química Farmacéutica de la Facultad de Farmacia, de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Los espectros para la asignación estructural se obtuvieron en colaboración con el Departamento de Recursos del Mar del Centro de Investigación de Estudios

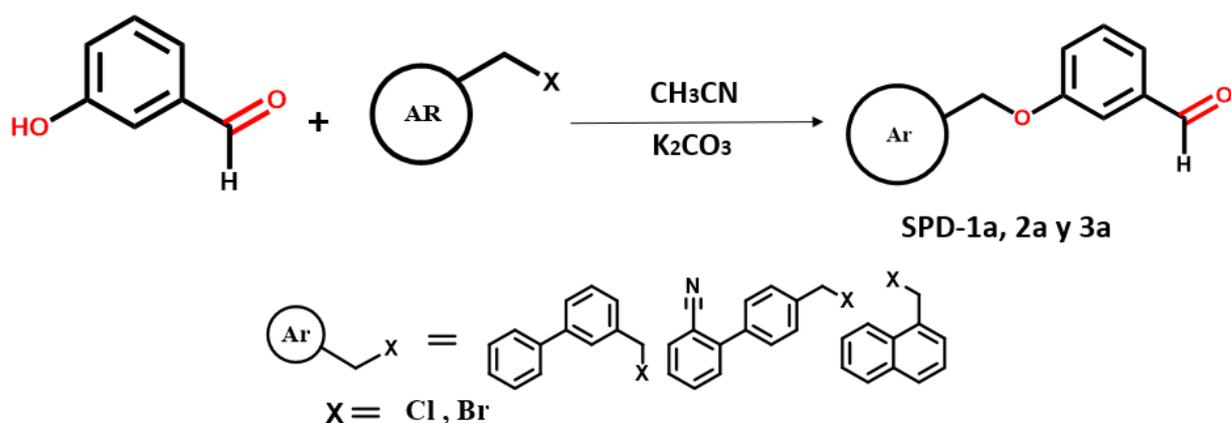
Avanzados (CINVESTAV), dependiente del Instituto Politécnico Nacional Unidad Mérida a cargo del Dr. Emanuel Hernández Núñez.

## 7.3 SÍNTESIS.

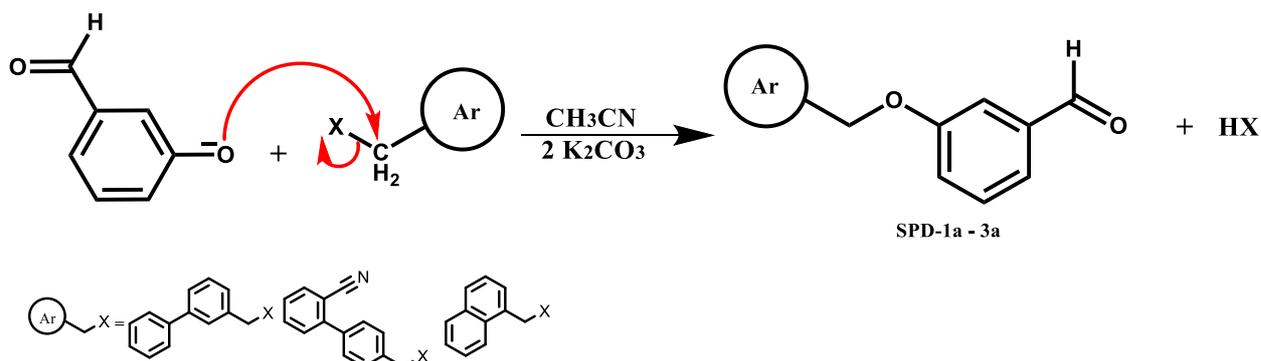
### 7.3.1 REACCIÓN DE WILLIAMSON.

Para la síntesis de los compuestos de tipo ariloxibenciliden-1,3-tiazolidin-2,4-dionas (**Figura 19**) inicialmente se hizo reaccionar al 3-Hidroxibenzaldehído en medio básico y disolventes polares no próticos para favorecer la formación de la especie oxi-anión (fenóxido) del grupo hidroxilo y posteriormente la adición de los correspondientes halogenuros de metilarilo para propiciar el ataque nucleofílico y obtener los precursores **SPD-1a – 3a** (**Figura 20**).

La purificación de los precursores fue mediante una columna cromatográfica en fase estacionaria de silica gel y fase móvil diclorometano. Se evaporaron las fracciones de interés a sequedad mediante un rotaevaporador BUCHI R-300 acoplado a la interfase I-300pro y bomba de alto vacío V-300.



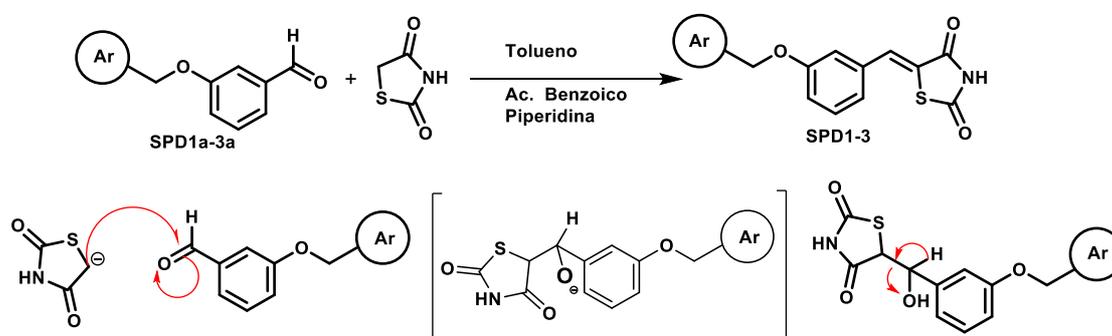
*Figura 19. Diagrama general de la reacción SN2 para la obtención de los precursores SPD1a-3a.*



**Figura 20.** Diagrama de mecanismo de reacción de la sustitución nucleofílica bimolecular, donde en el 3-hidroxibenzaldehído forma el oxianión en el grupo hidroxilo favoreciendo el ataque al CH<sub>2</sub> del halogenuro de metil arilo y a su vez la salida del halogenuro.

### 7.3.2 CONDENSANCIÓN ALDÓLICA DE KNOEVENAGEL.

La segunda reacción llevada a cabo a partir de los precursores previamente obtenidos, la tiazolidindiona como reactivo y ácido benzoico y piperidina como aditivos de la reacción empleando tolueno como disolvente y trampa dean-strak para abstraer el agua generada durante la reacción. Una vez concluida la reacción se procedió a extraer el tolueno mediante el rotavaeporador de alto vacío BUCHI R-300 acoplado a la interfaz I-300pro y bomba de alto vacío V-300 a 75°C, 30mbar y 100rpm. Posteriormente se llevó a cabo un lavado con agua destilada, se filtró el polvo en suspensión y se dejó secar por 24 h a temperatura ambiente (**Diagrama 1**).

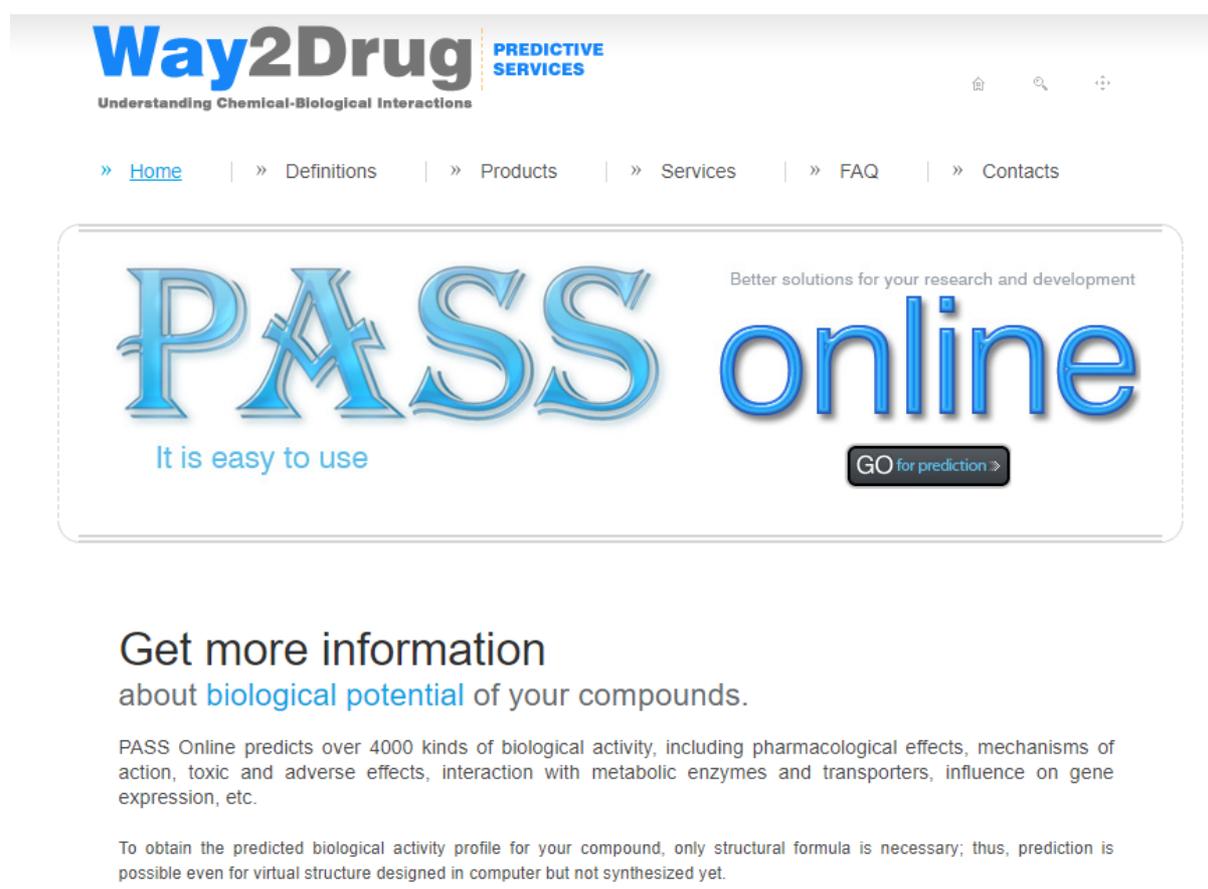


**Diagrama 1.** Vista general de reacción de Knoevenagel dando como producto de la reacción los compuestos SPD-1-3.

## 7.4 PARTE COMPUTACIONAL.

### 7.4.1 PASS Online.

PASS Online (**Figura 21**) es un servidor quimioinformático que predice más de 4000 tipos de actividad biológica, incluyendo efectos farmacológicos, mecanismos de acción, efectos tóxicos o adversos, interacción con enzimas y transportadores metabólicos.



**Way2Drug** PREDICTIVE SERVICES  
Understanding Chemical-Biological Interactions

» [Home](#) | » [Definitions](#) | » [Products](#) | » [Services](#) | » [FAQ](#) | » [Contacts](#)

**PASS online**  
It is easy to use  
Better solutions for your research and development  
[GO for prediction](#)

### Get more information

about **biological potential** of your compounds.

PASS Online predicts over 4000 kinds of biological activity, including pharmacological effects, mechanisms of action, toxic and adverse effects, interaction with metabolic enzymes and transporters, influence on gene expression, etc.

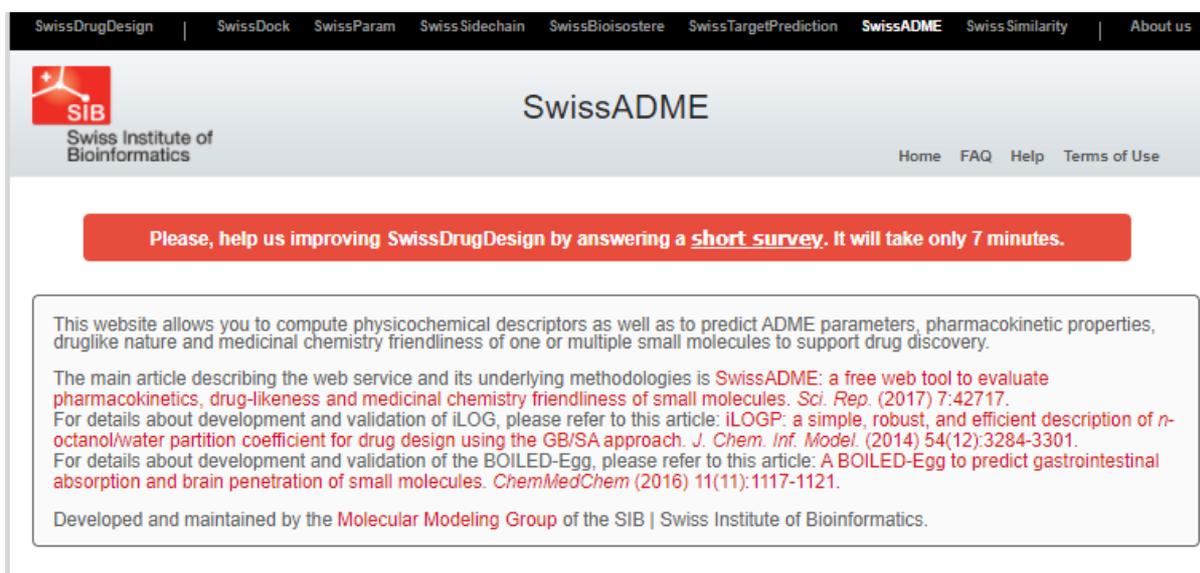
To obtain the predicted biological activity profile for your compound, only structural formula is necessary; thus, prediction is possible even for virtual structure designed in computer but not synthesized yet.

*Figura 21. Página web principal del servidor PASSOnline.*

Para obtener el perfil de actividad biológica previsto para el compuesto a analizar, es necesario obtener la fórmula estructural, a partir de un editor de estructuras químicas como ChemBioDraw, haciendo posible la predicción de probabilidad de actividad incluso para compuestos aun no han sido sintetizados para poder discernir que compuestos son mas convenientes de sintetizar y evaluar.<sup>46</sup>

### 7.4.2 SWISS ADME.

Este sitio web le permite calcular descriptores fisicoquímicos, así como predecir los parámetros ADME, las propiedades farmacocinéticas, la naturaleza parecida a un fármaco y la compatibilidad con la química medicinal de una o varias moléculas pequeñas para respaldar el descubrimiento de fármacos.<sup>47</sup>



The screenshot shows the SwissADME website homepage. At the top, there is a navigation bar with links to various tools: SwissDrugDesign, SwissDock, SwissParam, SwissSidechain, SwissBioisostere, SwissTargetPrediction, SwissADME (highlighted), SwissSimilarity, and About us. Below the navigation bar is the SIB logo (Swiss Institute of Bioinformatics) and the title 'SwissADME'. To the right of the title are links for Home, FAQ, Help, and Terms of Use. A prominent red banner in the center reads: 'Please, help us improving SwissDrugDesign by answering a short survey. It will take only 7 minutes.' Below this banner is a text box containing information about the website's capabilities and references to scientific articles. The text states: 'This website allows you to compute physicochemical descriptors as well as to predict ADME parameters, pharmacokinetic properties, druglike nature and medicinal chemistry friendliness of one or multiple small molecules to support drug discovery.' It also mentions the main article: 'SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* (2017) 7:42717.' Other references include 'iLOGP: a simple, robust, and efficient description of *n*-octanol/water partition coefficient for drug design using the GB/SA approach. *J. Chem. Inf. Model.* (2014) 54(12):3284-3301.' and 'A BOILED-Egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules. *ChemMedChem* (2016) 11(11):1117-1121.' The footer of the text box says 'Developed and maintained by the Molecular Modeling Group of the SIB | Swiss Institute of Bioinformatics.'

Figura 22. página web principal del portal SwissADME.

### 7.4.3 ACD/ToxSuite.

Este software utiliza una metodología basada en el análisis de similitud a través de la estimación del índice de fiabilidad teniendo en cuenta los siguientes dos aspectos: la similitud del compuesto ensayado dentro de un conjunto de moléculas, así como la consistencia de los valores experimentales de toxicidad de compuestos similares resultado de estudios QSAR.<sup>44</sup> Se calcularon los siguientes efectos tóxicos:

- Inhibición de las principales isoformas de CYP450
- Bloqueo de canales hERG (cardiotoxicidad)

- Predicción de la toxicidad aguda mediante el cálculo de la dosis letal media (DL50).

#### 7.4.4 Explorador de propiedades Osiris.

El Explorador de propiedades de OSIRIS le permite dibujar estructuras químicas y calcula sobre la marcha varias propiedades relevantes para el estudio de moléculas con posible uso farmacológico siempre que una estructura sea válida. Los resultados de la predicción se valoran y se codifican con colores. Las propiedades con alto riesgo de efectos no deseados como mutagenicidad o mala absorción intestinal se muestran en rojo. Mientras que un color verde indica que el fármaco cuenta con propiedades adecuadas.

#### 7.4.5 AdmetSAR.

AdmetSAR crea una interfaz fácil de usar para buscar propiedades ADME / T (Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad) perfilando por nombre, CASRN y búsqueda de similitudes. AdmetSAR puede predecir alrededor de 50 puntos finales ADMET con modelos QSAR.<sup>45</sup>

#### 7.4.5 Acoplamiento molecular asistido por computadora.

El desarrollo e investigación de nuevas moléculas potencialmente bioactivas es un proceso complejo. Históricamente, los productos naturales han sido la fuente clásica para su búsqueda. Cada año se invierten fuertes cantidades de dinero con la meta de evaluar e identificar fármacos potenciales. Actualmente, gracias al desarrollo tecnológico es posible realizar en menor tiempo simulaciones de procesos biológicos, cálculo de propiedades y comparar estructuras químicas a partir del diseño racional de manera sistemática con el empleo de una variedad de herramientas como editor molecular, banco de datos de proteínas y visualizadores tridimensionales. En un

principio estas herramientas formaron parte de la denominada Química Computacional.<sup>48</sup>

#### 7.4.6 MOE.

Molecular operating environment es un software dedicado al desarrollo de moléculas potencialmente bioactivas, se utilizaron las aplicaciones de visualización, modelado y simulaciones, así como desarrollo de metodología. Las aplicaciones científicas de MOE son utilizadas en diversas áreas como biología, química medicinal y química computacional, así como en la investigación farmacéutica, biotecnológica y académica.<sup>49</sup>

#### 7.5 PARTE *IN VITRO*.

##### Ensayo de inhibición sobre PTP-1B.

Los ensayos fueron llevados a cabo en colaboración con el Dr. Paolo Paoli del departamento de ciencias biomédicas experimentales y clínicas de la Università degli Studi di Firenze, en Florencia, Italia.

Todos los experimentos se realizaron usando la enzima PTP1B recombinante humana purificada y a 37°C. El sustrato (p-nitrofenilfosfato) se disolvió en 0.075M de buffer  $\beta$ ,  $\beta$ -dimetilglutarato a pH 7.0, con 1mM EDTA y 5mM de ditiotreitól. El volumen final fue de 1ml.

Las reacciones se iniciaron al agregar alícuotas de la enzima (0.16  $\mu$ g por cada ensayo), y fueron terminadas a tiempos adecuados utilizando 4 ml de KOH 1M. La liberación de p-nitrofenol se determinó leyendo la absorbancia a 400 nm. Para probar la capacidad de los compuestos de inhibir a esta enzima se disolvieron en DMSO preparando una solución inicial de 20 mM. Alícuotas de cada solución inicial de los compuestos **SPD-1-3** fueron diluidos en una solución de 40  $\mu$ M de buffer que contenía

2mM de (fosfato de p-nitrofenilo); la mezcla se incubó y la reacción al añadir la alícuota apropiada de la enzima. La cinética enzimática se determinó midiendo las velocidades iniciales usando ocho diferentes concentraciones del sustrato (0.5-40 mM). La  $CI_{50}$  se determinó midiendo la velocidad de hidrólisis de pNPP utilizando una concentración fija de este igual al valor de  $K_m$  de la enzima. Los datos se ajustaron a la siguiente ecuación utilizando el programa FigSys:

$$Y = \frac{Max-min}{1+\left(\frac{x}{IC50}\right)^{slope}} + Min$$

Donde  $y = v_i/v_0$ , es decir, la relación entre la actividad medida en presencia del inhibidor ( $v_i$ ) y la actividad del control sin el inhibidor ( $v_0$ ),  $x$  es la concentración del inhibidor. Cada ensayo fue llevado a cabo por triplicado. Los datos reportados representan la medida de media +/- S.E.M.

## 7.6 PARTE *IN VIVO*.

### Prueba de tolerancia a la glucosa (PTGO).

Para estos experimentos *in vivo* se adquirieron ratones macho ICR de 5-6 semanas de edad con pesos entre 25 y 30 gr en el animalario del Centro de Ciencias Genómicas dependiente de la Universidad Nacional Autónoma de México, los cuales se mantuvieron con ciclos luz/oscuridad de 12 horas con humedad de 45-65%, temperatura de 25°C y acceso libre a agua y alimento especializado conforme a los lineamientos de la NOM-062-ZOO-1999 la cual establece las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio.

Se separaron en grupos de 6 ratones ( $n=6$ ), al grupo control se les administró a un grupo el vehículo Tween 80 al 10% via oral, al grupo que representa el control positivo se le administró glibenclamida 5mg/kg disuelto en Tween 80 al 10% por via oral y al

grupo de prueba se le administró el compuesto seleccionado mediante el análisis de consenso farmacológico un total de 100mg/kg disuelto en Tween 80 al 10% via oral.

Los grupos fueron puestos en ayuno de 12 horas, posteriormente fueron pesados e identificados, después se procedió a administrar las dosis exactas de cada una de las sustancias de prueba y controles antes señaladas por vía oral, posterior a un tiempo de reposo de 30 minutos se procedió a administrar una carga oral de 2g/kg de dextrosa, se cuantifico los niveles de glucosa obteniendo sangre mediante punción en la cola de cada ratón y su respectivo análisis en glucómetro marca Accucheck desde tiempo 0 hasta 120 minutos en intervalos de 30 minutos.

Finalizado el experimento se analizaron los resultados obtenidos en el programa de análisis estadístico GraphPad Prism 8.0.1 y así obtener un extracto grafico del experimento.

## 8. RESULTADOS.

### 8.1 Parte química.

#### 8.1.1 SÍNTESIS DE PRECURSORES DE TIPO 3-ARILOXIBENZALDEHIDO (SPD-1a – SPD-3a).

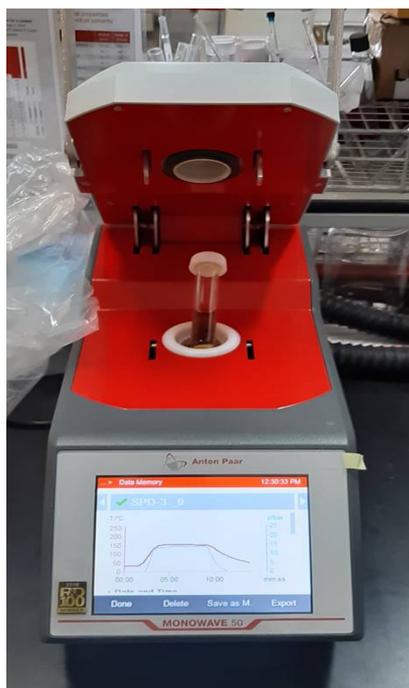
En la **tabla 2**, se muestran algunas características fisicoquímicas, así como los tiempos de reacción y rendimiento con las que se obtuvieron los precursores de tipo 3-ariloxibenzaldehido, los cuales están entre el 79.9% a 86.1% en tiempos de reacción de 13 a 22 h. Estos compuestos poseen una apariencia de líquido de color amarillo claro o marrón.

	<b>SPD-1<sup>a</sup></b>	<b>SPD-2a</b>	<b>SPD-3a</b>
<b>Tiempo</b>	13 h	21 h	22 h
<b>Aspecto</b>	Líquido amarillo	Líquido marrón	Líquido amarillo
<b>Rendimiento</b>	82.4%	86.1%	79.9%

*Tabla 2. Resultados de la síntesis de sustitución nucleofílica bimolecular de los precursores SPD1a-3a.*

#### 8.1.2 Síntesis de precursores de tipo aril-3metiloxi-benzaldehido (SPD-1a – SPD-3a) mediante el empleo de reactor a presión y temperatura controlada *Monowave 50* de Anton Paar.

Al observar tiempos prolongados de reacción se optó por realizar la reacción en el reactor de presión y temperatura controlada (**Figura 23**) ya que al aumentar la presión del sistema aumenta la energía cinética de las moléculas acelerando la reacción y disminuyendo el tiempo de la misma.



*Figura 23. Reactor a presión y temperatura controlada Monowave 50, diagrama de temperatura a 150°C y presión constante.*

En la **tabla 3** se aprecian algunas características fisicoquímicas de los precursores (**SPD-1a - SPD-3a**) obtenidos mediante el reactor de presión y temperatura controlada ajustada a 150°C, obteniendo compuestos con buenos rendimientos (76.7% a 83.31 %). Se disminuyó considerablemente el tiempo de reacción en comparación con la síntesis convencional de 5 a 20 minutos. Los productos obtenidos presentaron aspectos de líquido de colores marrones por lo cual se purificaron mediante columna cromatografía.

*Tabla 3. Resultados de la reacción SN2 llevada a cabo en el equipo Monowave 50 se observa una disminución significativa de los tiempos de reacción con poca pérdida de rendimiento.*

Clave	<b>SPD-1<sup>a</sup></b>	<b>SPD-2a</b>	<b>SPD-3a</b>
<b>Tiempo</b>	10 min	5 min	20 min
<b>Aspecto</b>	Líquido amarillo	Líquido marrón	Líquido amarillo
<b>Rendimiento</b>	83.31%	80.91%	76.70%

### 8.1.3 Síntesis de los compuestos **SPD-1 a SPD-3**

En la **tabla 4** se registran los resultados de los compuestos **SPD-1 a 3** obtenidos a partir de la reacción de condensación aldólica de Knoevenagel. Se tuvieron muy buenos rendimientos (82.5% a 95%). Los productos obtenidos fueron sólidos amarillos con puntos de fusión característicos de pureza y tiempos de reacción de 2 a 4 horas.

*Tabla 4 Resultados de la reacción de Knoevenagel llevada a cabo con los precursores **SPD-1a-3a** dando como producto de la reacción los compuestos **SPD1-3**.*

Compuesto	SPD-1	SPD-2	SPD-3
Tiempo	2 h	4 h	2 h
Rendimiento	82.5%	86.61%	95.01%
Punto de fusión	154.2-155.4	232.7-233.9	185.7-187.5
Apariencia	Sólido Amarillo claro	Sólido Amarillo oscuro	Sólido Amarillo oscuro

### 8.2 Caracterización estructural de los compuestos **SPD-1 a SPD-3**.

Posterior a la obtención, los compuestos se purificaron para posteriormente ser analizados mediante métodos espectroscópicos (RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ ) y espectrométricos (IEM) en el Departamento de Recursos del Mar dependiente del CINVESTAV Unidad Mérida a cargo del Dr. Emanuel Hernández Núñez, con la finalidad de corroborar que los compuestos coincidan con las estructuras afines a este proyecto.

## 8.2.1 Resonancia magnética nuclear (RMN) $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$ .

### 8.2.1.1 RMN $^1\text{H}$ SPD-1.

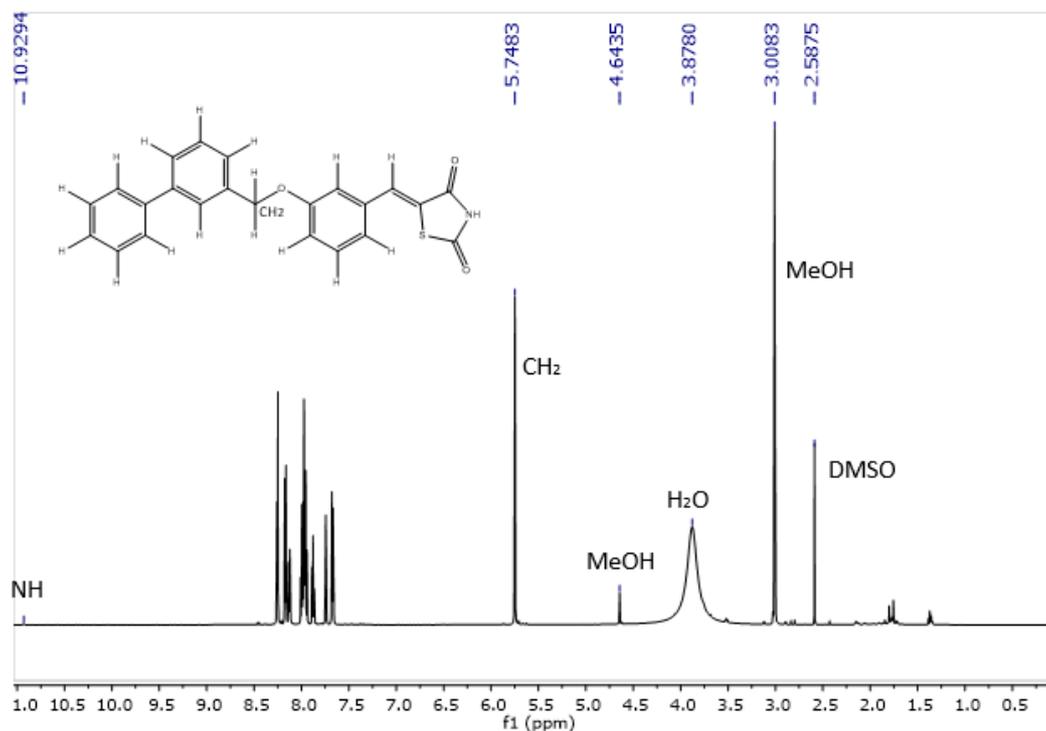


Figura 24. Visualización general de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto SPD-1.

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto **SPD-1**, se observan señales desde 2.5 hasta 4.64 ppm correspondientes a diferentes solventes utilizados para la obtención del espectro, a 5.7 ppm se observa una marcada señal característica de los protones del metileno ( $\text{CH}_2$ ) del bencilo y una pequeña señal a 10.92 ppm característica del protón de la imida de la tiazolidindiona.

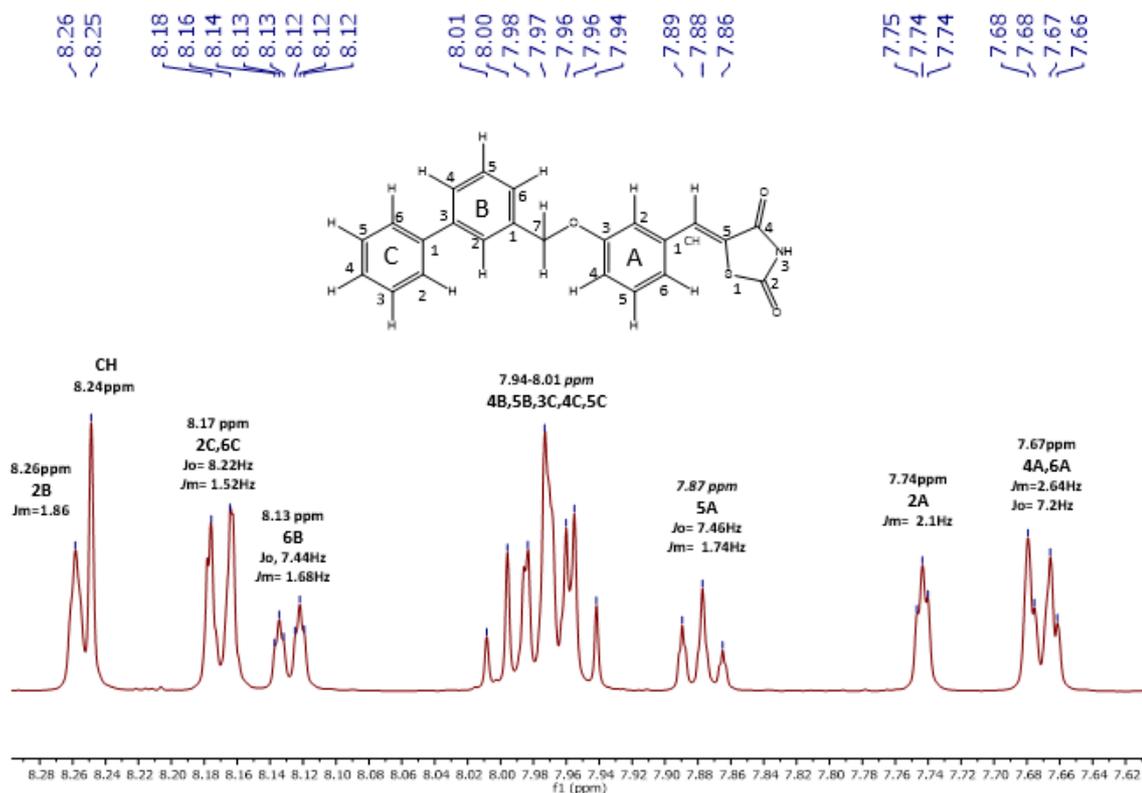
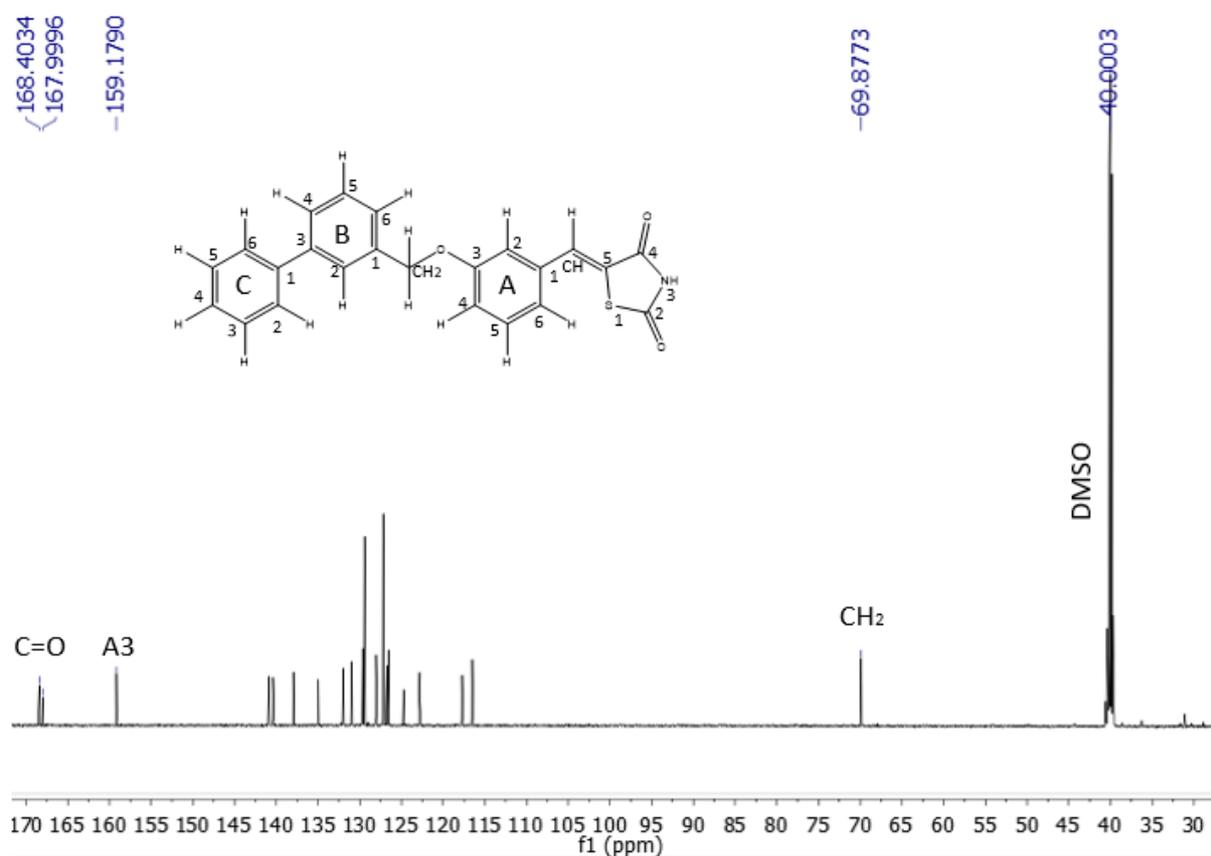


Figura 25. Ampliación de la región aromática del espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto SPD-1.

En la **figura 25** se observa una ampliación del espectro correspondiente a la región aromática que en este caso comprende desde 7.6 ppm hasta 8.3 ppm en el cual se pueden identificar una señal doble de dobles a 7.67 ppm correspondiente a los protones de los carbonos 4 y 6 del anillo A. En 7.7 ppm se observa una señal esperada para el protón en la posición 2 del anillo A; a 7.8 ppm se observa una señal correspondiente a un protón acoplado con 2 protones en posición *orto* y 2 protones en posición *meta* correspondiente al de la posición 4 del anillo C. De 7.94 a 8.0 ppm se encuentra un grupo de señales no diferenciadas denominadas como multiplete el cual integra para 5 protones siendo estos correspondientes a las posiciones A5, B4, B5, C3 y C5. A 8.12 ppm se encuentra señal doble correspondiente a protón de la posición 6 del anillo B. A 8.12 ppm se observan un par de señales denominadas equivalentes entre sí ya que los protones se encuentran en posiciones simétricas

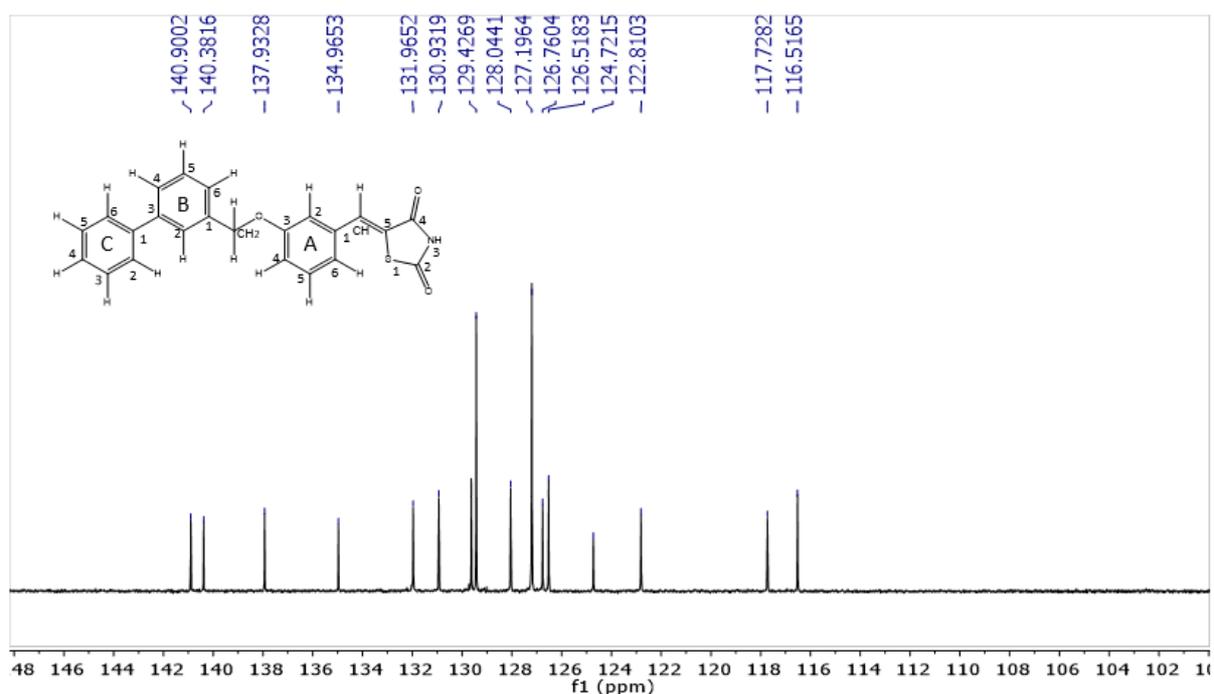
respecto a un eje siendo estas las de las posiciones 2 y 6 del anillo C. A 8.24 ppm se encuentra una señal simple característica del protón del CH de la molécula, finalmente a 8.26 ppm se observa una señal con constante de acoplamiento *meta* correspondiente al protón de la posición 2 del anillo B. Cabe mencionar que se obtuvieron todas las señales de los protones de la molécula, además se establecieron relaciones de semejanza con compuestos con grupos funcionales similares desarrollados en el grupo de trabajo por la Dra. Blanca Iris Colin Lozano denotados con el código **ACB1-6**.<sup>20</sup>

### 8.2.1.2 RMN <sup>13</sup>C SPD-1



**Figura 26.** Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de <sup>13</sup>C del compuesto SPD-1.

A manera de ejemplo, se presenta una vista general del espectro de resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  del compuesto **SPD-1** (**Figura 26**) donde se obtuvieron 21 señales de 21 señales esperadas, además se observó una marcada serie de señales a 40 ppm correspondientes al DMSO-d requerido en la metodología. Así mismo, a 69.87 ppm se observa una señal correspondiente al  $\text{CH}_2$  de la estructura. A 159.17 ppm se observa la señal correspondiente al carbono 3 del anillo A el cual se encuentra desplazado por la electronegatividad aportada por el oxígeno. A 167.99 y 168.40 ppm se observan un par de señales con intensidad característica de carbonos cuaternarios además de estar desplazados campo bajo, debido a la presencia de oxígeno nos señala que estos son correspondientes a los carbonilos de la tiazolidindiona.

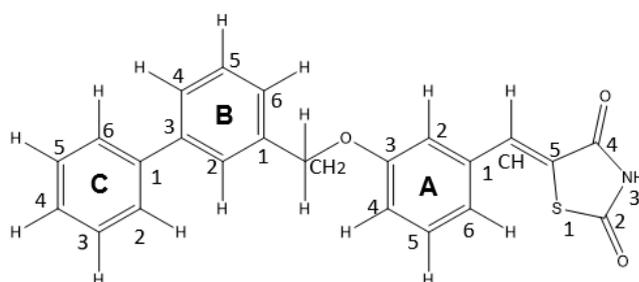


**Figura 27.** Ampliación de la región aromática del espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  del compuesto **SPD-1**.

En la **figura 27**, se observa una ampliación del espectro de  $^{13}\text{C}$  del compuesto **SPD-1** (**Tabla 5**) en la región aromática del espectro, donde se puede observar a 116.51 ppm una señal correspondiente al carbono de la posición 2 del anillo A, a 117.72 ppm se ubica la señal correspondiente al carbono de la posición 4 del anillo A, a

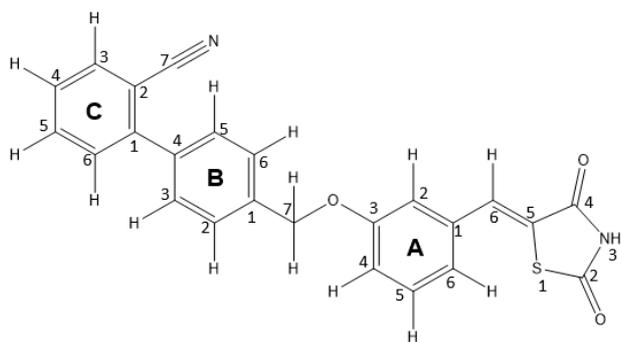
122.81 ppm se encuentra la señal del carbono 5 del anillo de tiazolidindiona, a 124.72 ppm se observa la señal del carbono de la posición 6 del anillo A, la señal que se detecta a 126.51 ppm corresponde al carbono de la posición 6 del anillo B, a 126.76 ppm se observa al carbono de la posición 4 del anillo B, a 127.19 ppm se observa una señal intensa que se ajusta a las características de un par de carbonos equivalentes electrónicamente la cual corresponde a los carbonos de las posiciones 2 y 6 del anillo C; a 127.21 ppm se observa una pequeña señal correspondiente al carbono 4 del anillo C, a 128.04 ppm se visualiza una señal correspondiente al carbono 2 del anillo B, nuevamente a 129.42 ppm se observa una señal intensa propia de un par de carbonos equivalentes electrónicamente a los carbonos 3 y 5 del anillo aromático C, a 129.62 se observa una señal correspondiente al carbono 5 del anillo B, a 130.93 ppm se ubica la señal correspondiente al carbono de la posición 1 del anillo A, la señal correspondiente al carbono 5 del anillo A se encuentra a 131.97 ppm a 134.96 ppm se aprecia la señal correspondiente a la posición 1 del anillo C, a 137.93 ppm se percibe una señal propia del carbono del metileno (CH). A 140.38 ppm se aprecia la señal correspondiente al carbono de la posición 1 del anillo B. Y finalmente a 140.90 ppm se aprecia la señal correspondiente al carbono de la posición 3 del anillo B.

Tabla 5. Asignación estructural de RMN  $^1\text{H}$  Y  $^{13}\text{C}$  del compuesto SPD-1.



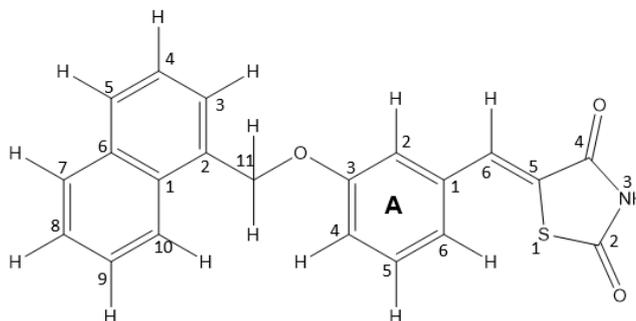
POSICIÓN	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
	$\delta$ , mult., H,J	$\delta$
1	-----	-----
2	-----	168.4
3	10.93, s,1H	-----
4	-----	168
5	-----	122.81
CH	8.25, s,1H	137.93
<b>A</b>		
1	-----	130.93
2	7.74 s, 1H $J_m=2.1\text{Hz}$	116.51
3	-----	159.17
4	7.67, dd,2H $J_o=8.2\text{Hz}$ $J_m=2.3\text{Hz}$	117.73
5	7.87 t, 1H $J_m=1.2\text{Hz}$ $J_o=7.4\text{Hz}$	131.97
6	7.67, dd,2H $J_o=8.2\text{Hz}$ $J_m=2.3\text{Hz}$	124.72
CH <sub>2</sub>	5.75,S,2H	70
<b>B</b>		
1	-----	140.38
2	8.26,s,1H $J_m=1.8\text{Hz}$	128.04
3	-----	140.9
4	7.94-8.00 m, 5H	126.76
5	7.94-8.00 m, 5H	129.62
6	8.13 d, 1H $J_o=7.5\text{Hz}$ $J_m=1.4\text{Hz}$	126.51
<b>C</b>		
1	-----	134.96
2	8.17 dd 2H $J_o=7.8\text{Hz}$ $J_m=1.4\text{Hz}$	127.19
3	7.94-8.00 m, 5H	129.42
4	7.94-8.00 m, 5H	127.21
5	7.94-8.00 m, 5H	129.42
6	8.17 dd 2H $J_o=7.8\text{Hz}$ $J_m=1.4\text{Hz}$	127.19

Tabla 6. Asignación estructural de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del compuesto SPD-2.



POSICIÓN	$^1\text{H}$ $\delta$ , mult., H,J	$^{13}\text{C}$ $\delta$
<b>1</b>	----	----
<b>2</b>	---	168.31
<b>3</b>	10.93 s, 1H	----
<b>4</b>	---	167.79
<b>5</b>	---	118.99
<b>CH</b>	8.26 s, 1H	144.65
<b>A</b>		
<b>1</b>	---	134.97
<b>2</b>	7.76 s, 1H $J_m=2.1\text{Hz}$	116.6
<b>3</b>	---	159.17
<b>4</b>	7.68 d 2H $J_o=8.4\text{Hz}$ $J_m=2.7\text{Hz}$	117.64
<b>5</b>	7.97 t, 1H, $J_o=7.9\text{Hz}$	130.97
<b>6</b>	7.68 d 2H $J_o=8.4\text{Hz}$ $J_m=2.7\text{Hz}$	124.6
<b>CH<sub>2</sub></b>	5.76 s, 2H	69.48
<b>B</b>		
<b>1</b>	---	134.31
<b>2</b>	8.07-8.14, m, 6H	128.48
<b>3</b>	8.07-8.14, m, 6H	129.33
<b>4</b>	---	137.82
<b>5</b>	8.07-8.14, m, 6H	129.33
<b>6</b>	8.07-8.14, m, 6H	128.48
<b>C</b>		
<b>1</b>	---	137.91
<b>2</b>	----	110.66
<b>3</b>	8.07-8.14, m, 6H	132.08
<b>4</b>	8.07-8.14, m, 6H	128.73
<b>5</b>	8.29 t, 1H, $J_o=7.9\text{Hz}$ , $J_m=1.4\text{Hz}$	133.99
<b>6</b>	8.44 d 1H $J_o=7.7$ $J_m=1.3\text{Hz}$	130.58
<b>7</b>	---	122.76

Tabla 7. Asignación estructural de RMN DE  $^1\text{H}$  Y  $^{13}\text{C}$  del compuesto SPD3.



POSICIÓN	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
1	---	----
2	---	168.36
3	10.91 s, 1H	-----
4	--	167.92
5	---	122.65
CH	8.27, s 1H	135.01
<b>A</b>		
1	---	132.64
2	7.82, s, 1H $J_m=2.0$ Hz	116.82
3	---	159.28
4	7.69 d, 1H, $J_o=7.8$ Hz $J_m=1.2$ Hz	117.73
5	7.97 t, 1H $J_o=8.0$ Hz	130.93
6	8.01-8.11, m, 3H	124.29
CH2	6.11 s, 2H	68.53
<b>B (Naftaleno)</b>		
1	---	132.03
2	---	133.8
3	7.72 dd, 1H $J_o=8.3$ Hz $J_m=1.0$ Hz	125.84
4	8.01-8.11, m, 3H	126.47
5	8.61 d 1H $J_o= 8.4$ $J_m=1.5$ Hz	129.24
6	----	131.57
7	8.44 ,d, 1H $J_o= 8.2$ Hz	128.98
8	8.19 d 1H $J_o=7.1$ Hz $J_m= 1.2$ Hz	126.95
9	7.96-8.11, m, 4H	127.16
10	8.48 d, 1H $J_o=7.7$	124.66

## 8.3 Parte computacional.

### 8.3.1 ACD/ToxSuite.

Los compuestos **SPD1-3** fueron evaluados en el programa ACD/ToxSuite obteniendo como resultado una probabilidad media de ser bloqueadores de canales hERG, tomando como referencia a medicamentos que actualmente se encuentran disponibles como Clorfenamina con **93 %** de probabilidad de bloqueo de canales hERG por lo cual se consideraron seguros para proseguir con la determinación de los perfiles computacionales. Se calculó la probabilidad de inhibición de una serie de isoformas del CYP-450 como la 3A4, 2D6 Y 2C9, donde mostraron una probabilidad baja de ser inhibidores de estas isoformas en comparación a los medicamentos clotrimazol y ketoconazol que poseen el 85 y 94% de inhibición sobre la isoforma 3A4 respectivamente. Con estos resultados se espera que nuestros compuestos no sean cardio tóxicos ni tengan interacciones fármaco-fármaco.

**Tabla 8.** Resultados obtenidos del programa ACD/ToxSuite sobre los compuestos **SPD1-3**.

COMPUESTO	SPD-1	SPD-2	SPD-3	Clorfenamina	
BLOQUEADORES DE CANALES HERG	85%	82%	66%	93%	
Inhibidores de CYP450	CYP3A4	30%	52%	40%	25%
	CYP2D6	12%	11%	15%	68%
	CYP2C9	26%	25%	29%	22%
DL50	Ratón intraperitoneal	270 mg/Kg	630 mg/Kg	220 mg/Kg	89 mg/Kg
	Ratón/Oral	860 mg/Kg	720 mg/Kg	720 mg/Kg	210 mg/Kg
	Ratón intravenoso	44 mg/Kg	49 mg/Kg	41 mg/Kg	34 mg/Kg
	Ratón subcutáneo	240 mg/Kg	250 mg/Kg	210 mg/Kg	150 mg/Kg
	Rata/ intraperitoneal	180 mg/Kg	260 mg/Kg	150 mg/Kg	120 mg/Kg
	Rata/Oral	340 mg/Kg	190 mg/Kg	310 mg/Kg	350 mg/Kg
	categoría OECD	3 y 4	3 y 4	3 y 4	3 y 4

### 8.3.2 AdmetSAR.

Los resultados del portal AdmetSAR mostraron una alta probabilidad de absorción en intestino humano para los compuestos **SPD1-3**. Además de confirmar la probabilidad moderada de ser bloqueadores de los canales hERG, finalmente, los compuestos se posicionaron en el grupo III de la OECD donde se encuentran la mayoría de los medicamentos disponibles en el mercado.

**Tabla 9.** Resultados obtenidos del portal AdmetSAR.

	SPD-1		SPD-2		SPD-3	
Absorción int. humano	+	1.0	+	0.99	+	1.0
HERG	+	0.79	+	0.89	-	0.41
Toxicidad oral	III	0.60	III	0.59C		1.47

### 8.3.3 PASSOnline.

Las probabilidades calculadas mediante el portal PASSOnline mostraron distintas propiedades farmacodinámicas favorables de los compuestos ya que se obtuvieron altas predicciones de ser activos como antidiabéticos, así como de ser insulinosensibilizadores, además de tener altas probabilidades de actividad sobre los sitios diana de interés para este proyecto como PPAR- $\gamma$  y moderadas probabilidades de inhibición sobre la enzima PTP-1B.

**Tabla 10.** Resultados obtenidos del portal PASSOnline de los compuestos **SPD1-3**.

Compuesto	SPD-1		SPD-2		SPD-3	
	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>
Actividad/inactividad						
Antidiabético	0,762	0,005	0,724	0,005	0,741	0,005
Agonista PPAR- $\gamma$	0,413	0,004	0,346	0,005	0,389	0,003
Inhibidor proteína-tirosin fosfatasa	0,416	0,005	0,362	0,007	0,378	0,006
insulinosensibilizador	0,348	0,003	0,238	0,007	0,327	0,004

### 8.3.4 Explorador de propiedades OSIRIS.

El programa de exploración de propiedades toxicológicas OSIRIS permitió visualizar la probabilidad de los compuestos de ser mutagénicos, tumorigénicos, irritantes, y perjudiciales en la salud reproductiva dando como resultado una alertas en el compuesto **SPD-3**, lo cual puede ser derivado de la presencia del biciclo del naftaleno, sin embargo, hay diversos fármacos de venta libre como el naproxeno y propanolol que también poseen este biciclo, permitiéndonos la exploración y ampliar los estudios de compuestos que contengan este biciclo y que posean potencial efecto terapéutico de interés.

*Tabla 11. Resultados obtenidos de prueba en el programa explorador de propiedades OSIRIS.*

	SPD-1	SPD-2	SPD-3
MUTAGÉNICO	Green	Green	Yellow
TUMOROGÉNICO	Green	Green	Red
IRRITANTE	Green	Green	Green
REPRODUCCIÓN	Green	Green	Green

### 8.3.5 SwissADME.

Del portal SwissADME se obtuvieron resultados adecuados de las propiedades ADME (absorción, distribución, metabolismo y excreción) de los compuestos **SPD1-3**, y no se observaron alertas de violaciones de la regla de los cinco de Lipinski para ninguno de los compuestos (**Tabla12**).

*Tabla 12. Resultados obtenidos del portal SwissADME en el que se evaluaron los compuestos SPD1-3.*

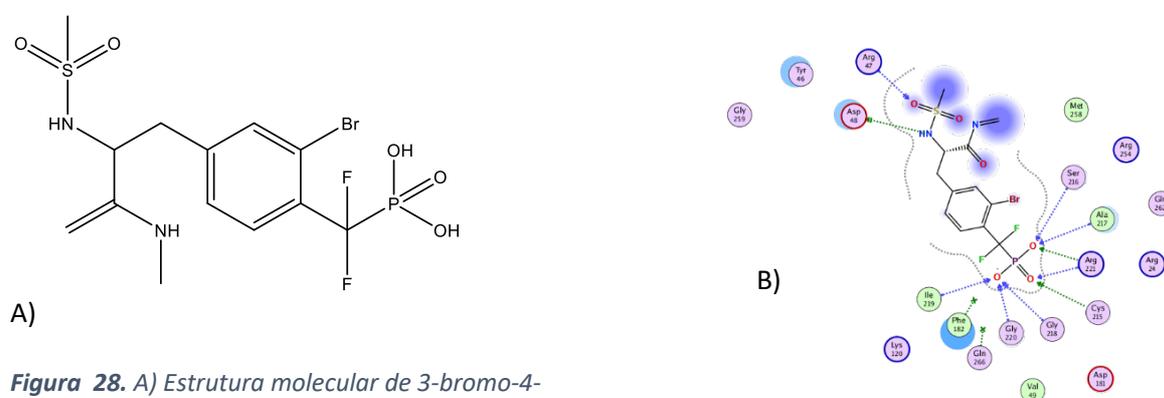
	SPD-1	SPD-2	SPD-3
PESO MOLECULAR	387.45 g/mol	412.46 g/mol	361.41 g/mol
LIPINSKI	Sin violaciones	Sin violaciones	Sin violaciones
SOLUBILIDAD	Moderada	Moderada	Moderada
ABSORCIÓN	Alta	Alta	Alta
BARRERA HEMATOENCEFÁLICA	No	No	No

### 8.3.6 Acoplamiento molecular asistido por computadora.

#### 8.3.6.1 PTP-1B.

##### 8.3.6.1.1 Validación.

La validación del acoplamiento molecular se llevó a cabo con el compuesto 3-bromo-4-[difluoro(fosfono)metil]-N-metil-N-alfa-(metilsulfonil)-L-fenilalaninamida (**C0A**) (**Figura 28**) como ligando co-cristalizado, el cual se ha puesto a prueba en otros ensayos de acoplamiento molecular como inhibidor de la enzima PTP-1B. En este ensayo se observó que el ligando conserva la mayoría de interacciones que se muestran en el ligando co-cristalizado con un  $\Delta G = -7.14$  Kcal/mol y RMSD= 1.55 Å.



**Figura 28.** A) Estructura molecular de 3-bromo-4-[difluoro(fosfono)metil]-N-metil-N-alfa-(metilsulfonil)-L-fenilalaninamida (C0A). B) Diagrama de interacciones entre el compuesto C0A y la enzima PTP-1B

---

$$\Delta G = -7.14 \text{ Kcal/mol} \quad \text{RMSD} = 1.55 \text{ \AA}$$

---

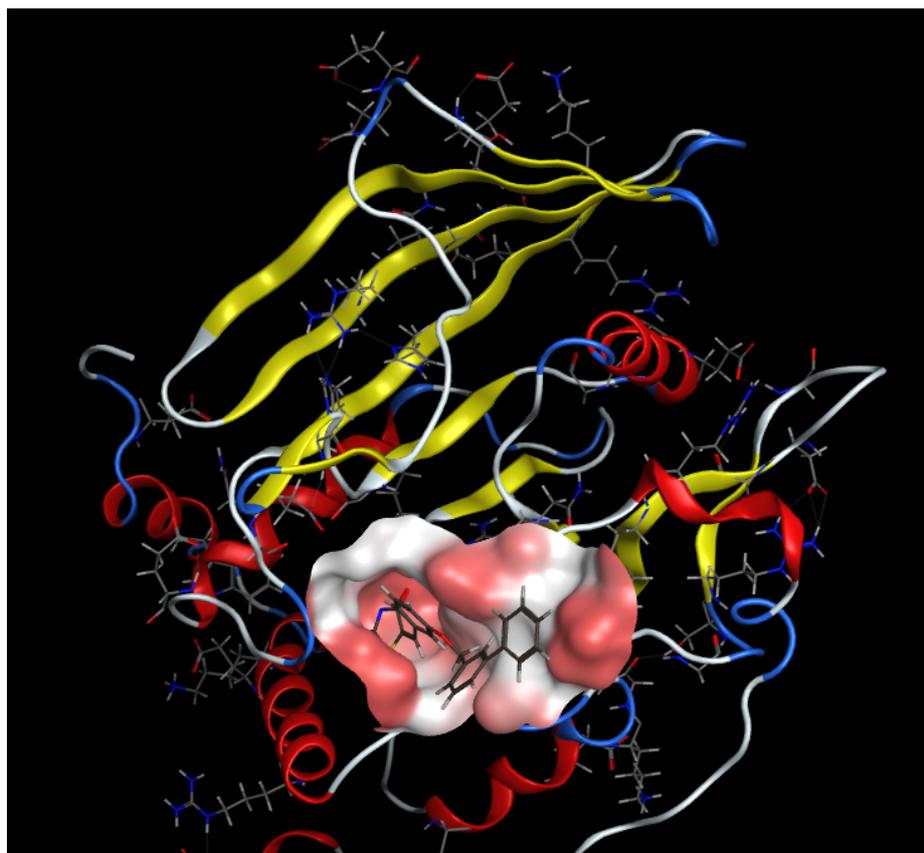
$$K_i = 5.5 \mu\text{M}$$

---

El compuesto C0A conserva las interacciones de puentes de hidrógeno con residuos descritos en la literatura como responsables de la inhibición de la enzima PTP-1B (**Figura 28B**).

### 8.3.6.2 Acoplamiento molecular con PTP-1B.

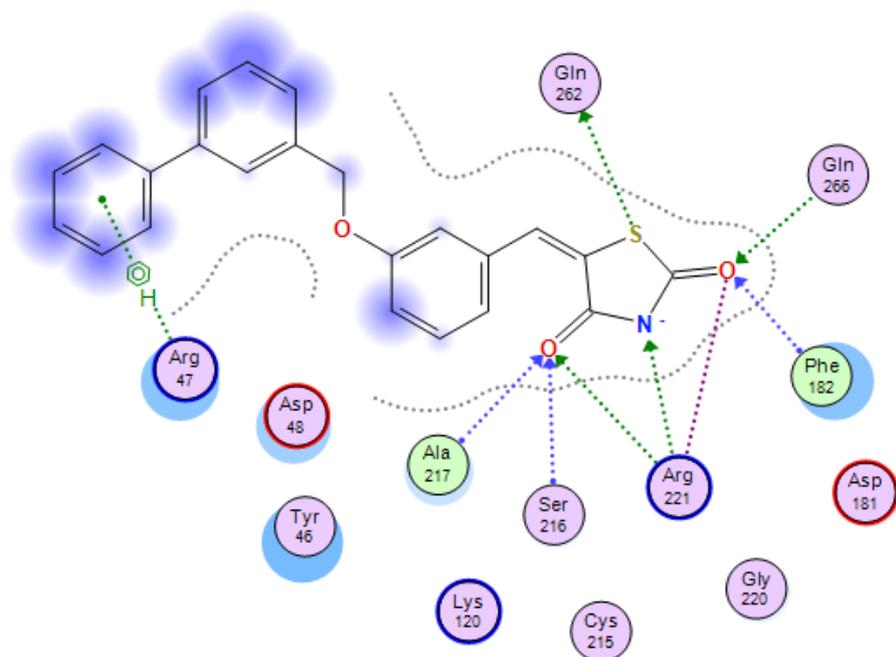
El programa MOE posee la aplicación de visualizador tridimensional en la cual se puede observar la disposición espacial del ligando y el sitio de acción o "pocket", así como non los diferentes residuos del sitio catalítico (**Figura 29**).



*Figura 29. Visualización tridimensional de la disposición del compuesto **SPD-1** y sus interacciones con los residuos de la enzima PTP-1B (PDB: 4Y14).*

#### 8.3.6.2.1 Acoplamiento molecular de los compuestos **SPD1-3** sobre PTP-1B.

Para el acoplamiento molecular de los compuestos **SPD1-3** mediante el programa MOE, se tomó a la enzima PTP-1B del portal PDB con código 4Y14, la cual cumple con las características estructurales óptimas para la realización del ensayo, principalmente una buena resolución.



---

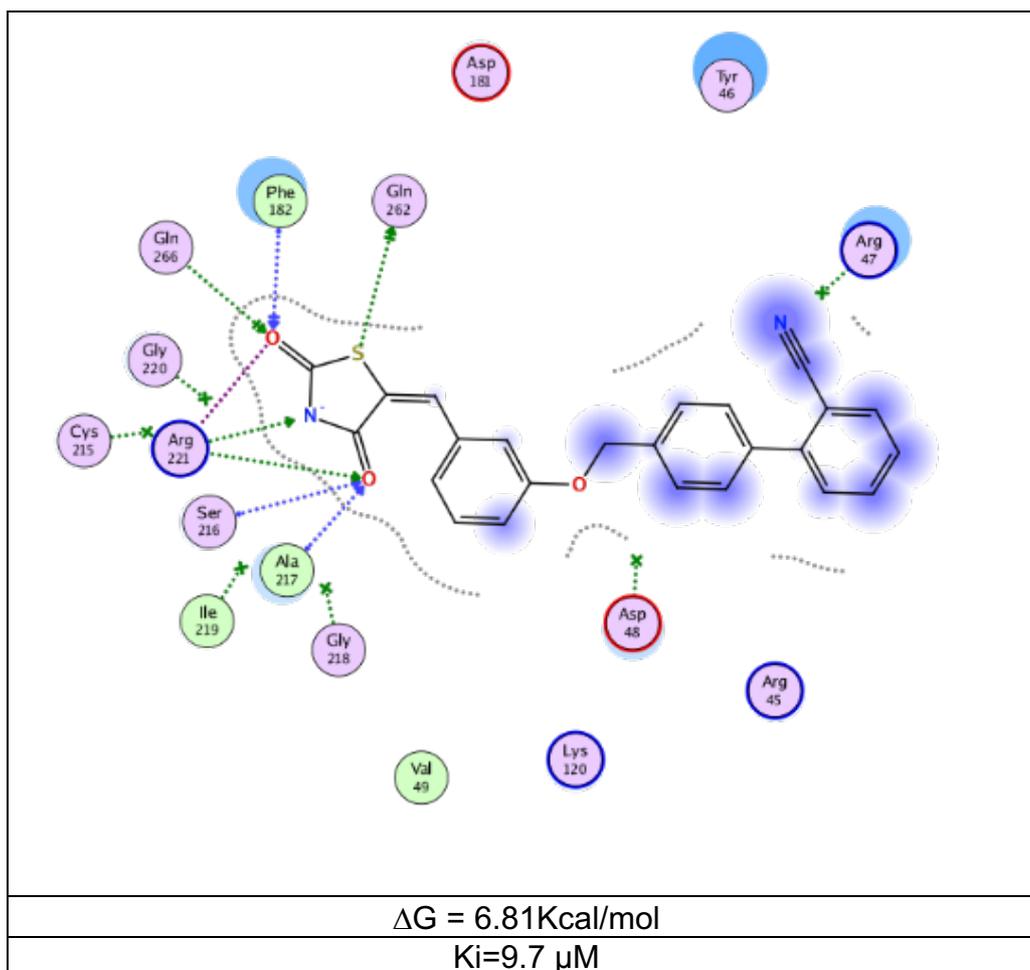

$$\Delta G = -6.95 \text{ Kcal/mol RMSD} = 1.55 \text{ \AA}$$

$$K_i = 7.7 \text{ \mu M}$$


---

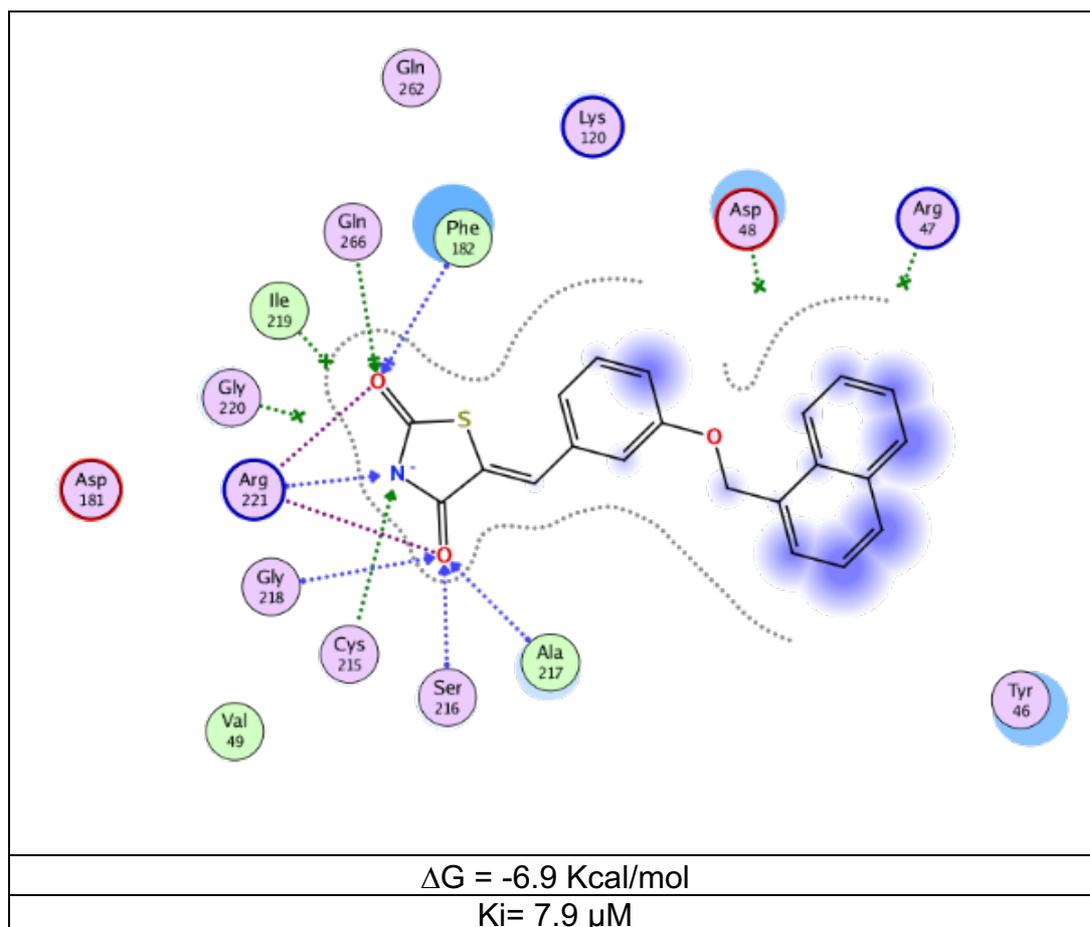
**Figura 30.** Visualización bidimensional del acoplamiento molecular e interacciones del compuesto **SPD-1** en el sitio de reconocimiento de PTP-1B.

En la **Figura 30** se muestra el diagrama bidimensional de las interacciones del compuesto **SPD-1** con PTP-1B en comparativa con las interacciones del compuesto COA que es un inhibidor de PTP-1B, se observa que el compuesto **SPD-1** mantiene interacciones con residuos de Arg221, Cys215 y Asp181, que componen la triada catalítica de la enzima.



**Figura 31.** Visualización bidimensional del acoplamiento molecular e interacciones del compuesto **SPD-2** en el sitio de reconocimiento de PTP-1B.

En la **Figura 31** se muestra el diagrama de interacciones del compuesto **SPD-2** con PTP-1B en comparativa con las interacciones del compuesto **C0A** que es un inhibidor conocido de PTP-1B, donde se observa que el compuesto **SPD-2** mantiene interacción como aceptor con el residuo de Arg221 e interacciones de tipo ácido con el residuo Asp181, pero a su vez forma nuevas interacciones con los residuos de Ala217, Ser216, Gln266, Phe182 y Gln262 los cuales pueden afianzar la interacción receptor-ligando.



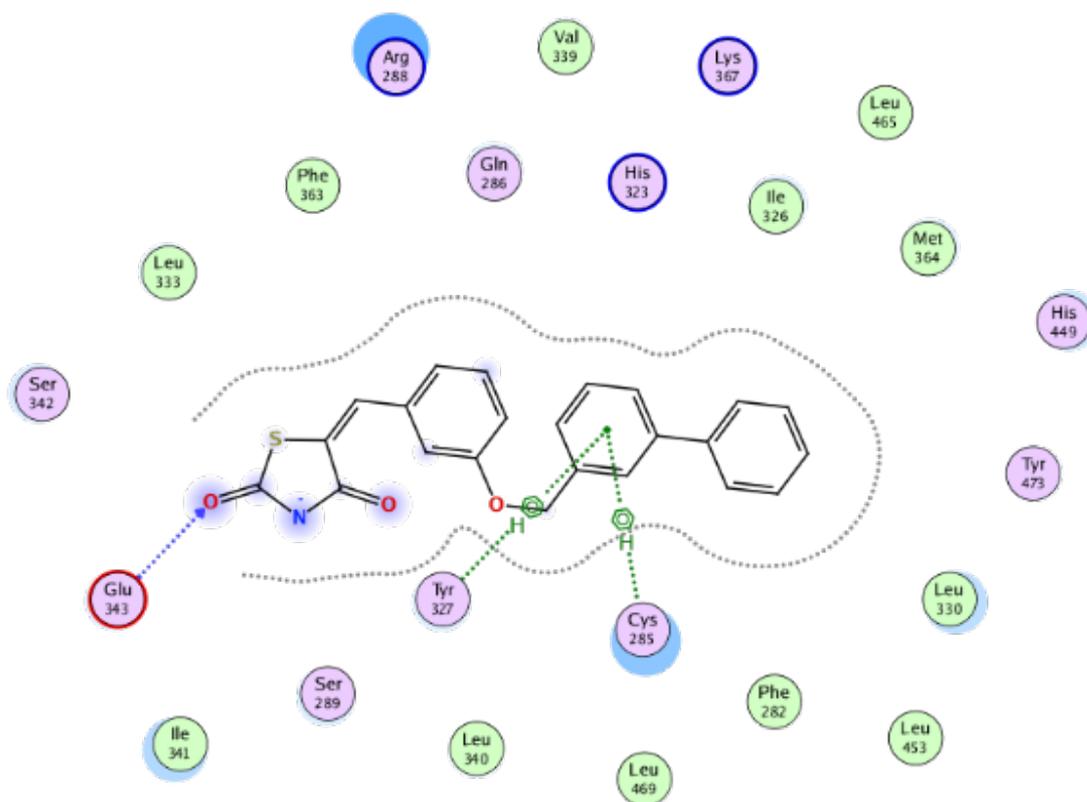
**Figura 32.** Visualización bidimensional del acoplamiento molecular e interacciones del compuesto **SPD-3** en el sitio de reconocimiento de PTP-1B.

En la **Figura 32**, se muestra el diagrama de interacciones del compuesto **SPD-3** con PTP-1B en comparación con las interacciones del compuesto C0A donde se observa que el compuesto **SPD-3** mantiene interacciones con los residuos de Arg221, Cys215 e interacciones de tipo ácida con el residuo Asp181 del sitio catalítico y a su vez forma nuevas interacciones con los residuos de Ala217, Ser216, Gly218, Phe182 y Gln266 los cuales pueden ayudar a preservar la unión ligando-receptor.



el cual es parte del sitio de reconocimiento para PPAR- $\gamma$ , además de interacciones con los residuos de Tyr473 y Ser280, reportados en el reconocimiento de los agonistas de este receptor.

### 8.3.6.2.2 Acoplamiento molecular de los compuestos **SPD1-3** con PPAR- $\gamma$ .



---

$$\Delta G = -8.59 \text{ Kcal/mol}$$

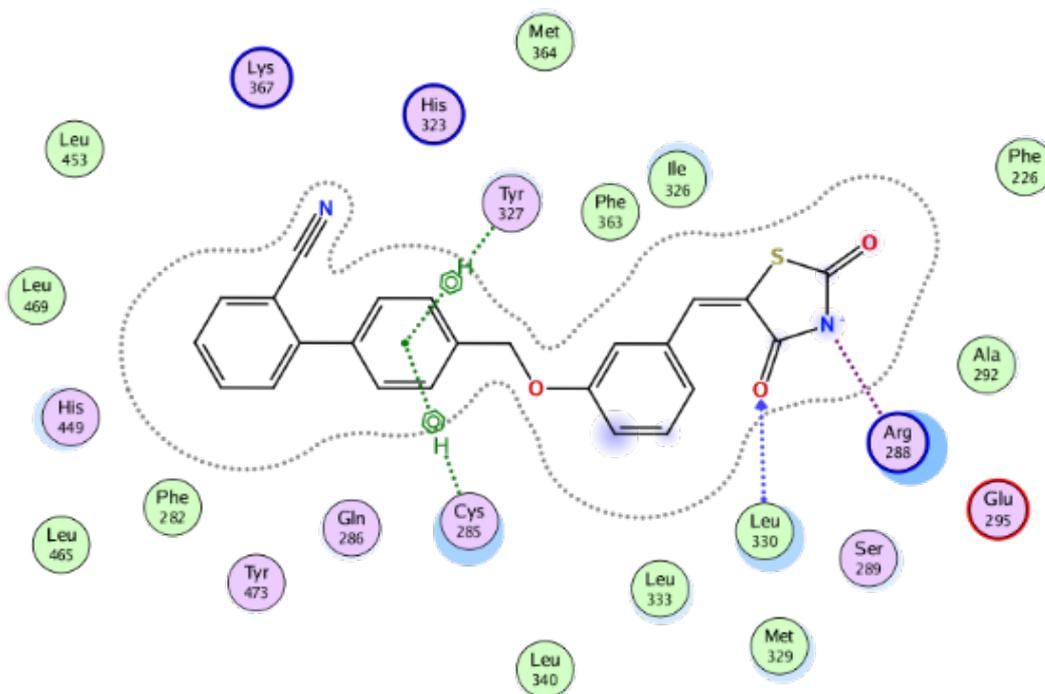
---

$$K_i = 0.47 \text{ } \mu\text{M}$$

---

**Figura 34.** Visualización bidimensional del acoplamiento molecular e interacciones del compuesto **SPD-1** en el sitio de reconocimiento de PPAR- $\gamma$ .

En la **figura 34** se muestra una representación 2D de interacciones del compuesto **SPD-1** con el receptor PPAR- $\gamma$ , en el cual destacan las interacciones de tipo polar con los residuos de His449, Ser289 y de tipo básica con el residuo de His323 los cuales son residuos claves para el agonismo de PPAR- $\gamma$ , además de interacciones de tipo  $\pi$ -areno con los residuos de Tyr327 y Cys285.



---


$$\Delta G = -8.57 \text{ Kcal/mol}$$

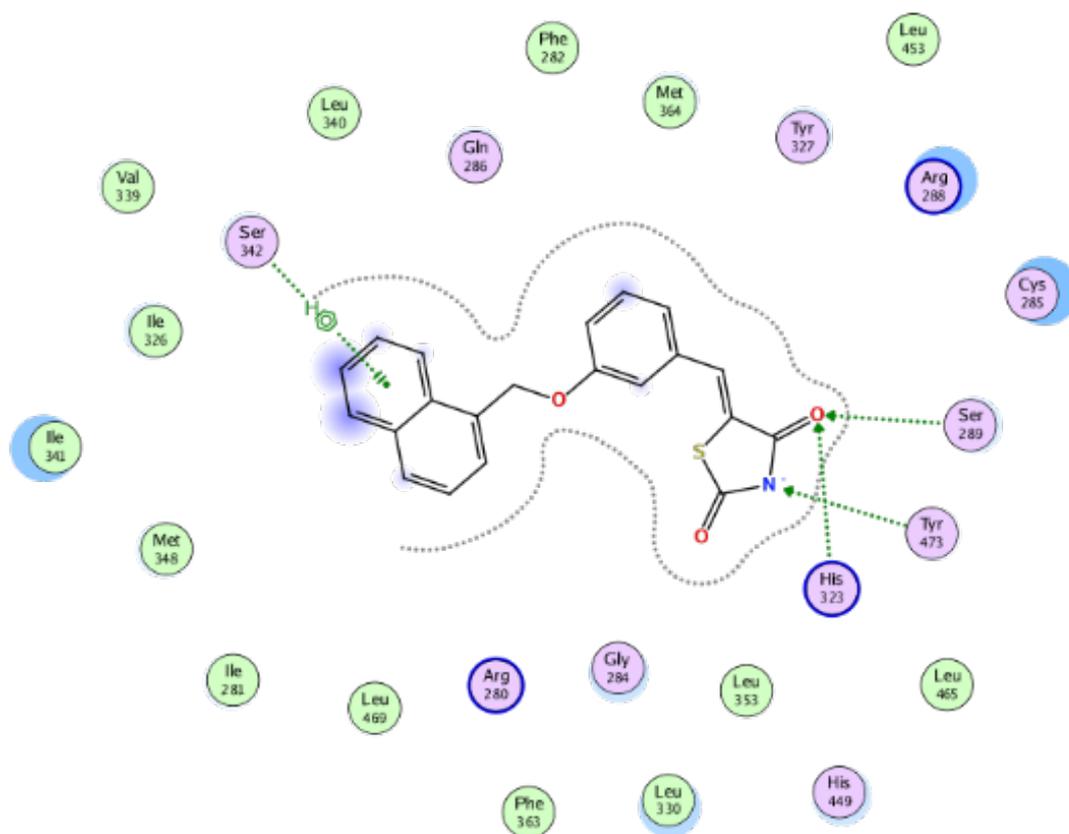

---

$$K_i = 0.49 \mu\text{M}$$


---

**Figura 35.** Visualización bidimensional del acoplamiento molecular e interacciones del compuesto **SPD-2** en el sitio de reconocimiento de PPAR- $\gamma$ .

En la **Figura 35** se observa la representación bidimensional de las interacciones del compuesto **SPD-2** con el receptor PPAR- $\gamma$ , en el cual destacan las interacciones de tipo polar con los residuos de His449, Ser289 y de tipo polar-básica con el residuo de His323 los cuales son residuos claves para el agonismo de PPAR-g además de interacciones de tipo  $\pi$ -areno con los residuos de Tyr327 y Cys285 con el primer anillo aromático del metil bifenil carbonitrilo además de interacciones con los anillos de Arg283 y Leu330 los cuales pueden fortalecer la unión ligando-receptor.



---


$$\Delta G = -7.46 \text{ Kcal/mol}$$


---

$$K_i = 3.25 \text{ } \mu\text{M}$$


---

**Figura 36.** Visualización bidimensional del acoplamiento molecular e interacciones del compuesto **SPD-3** en el sitio de reconocimiento de PPAR- $\gamma$ .

En la **figura 36** se muestra una representación en 2D de las interacciones del compuesto **SPD-3** con el receptor PPAR- $\gamma$ , en el cual destacan la interacción con el residuo de His323 y Ser289 e interacción de tipo polar con el residuo de His449, los cuales son residuos claves para el agonismo de PPAR- $\gamma$  además de interacciones de tipo  $\pi$ -areno del residuo de Ser342 con el anillo aromático de la región hidrofóbica del compuesto.

	<b>SPD-1</b>	<b>SPD-2</b>	<b>SPD-3</b>
PPAR- $\gamma$	0.55 $\mu\text{M}$	3.5 $\mu\text{M}$	1.5 $\mu\text{M}$
PTP-1B	7.7 $\mu\text{M}$	9.7 $\mu\text{M}$	7.9 $\mu\text{M}$

## 8.4 Análisis de consenso farmacológico.

Al analizar las diferentes propiedades de los compuestos **SPD1-3** se realizó un análisis *in silico* de consenso farmacológico el cual es de utilidad para discernir de manera gráfica al compuesto con las mejores propiedades farmacodinámicas, farmacocinéticas y toxicológicas, y elegir a un *hit* computacional con la finalidad de seleccionar a los mejores candidatos tanto para priorizar su síntesis como para sus evaluaciones farmacológicas.

**Tabla 13.** Análisis de consenso farmacológico de los compuestos **SPD1-3**.

PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS						
	SPD-1		SPD-2		SPD-3	
Log P	4.88		4.59		4.27	
Peso molecular	387.46		412.47		361.42	
Aceptores de enlaces de H	4		5		4	
Donadores de enlaces de H	1		1		1	
Bloqueo canales herg						
Inhibición CYP450						
PROPIEDADES FARMACODINÁMICAS						
Resultados	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>
Antidiabético	0.762	0.005	0.724	0.005	0.471	0.005
Agonista PPAR $\gamma$	0.413	.0014	0.346	0.005	0.289	0.005
Sensibilizador de insulina	0.438	0.003	0.238	0.007	0.327	0.004
MOE ppar- $\gamma$	0.55 $\mu$ M		3.5 $\mu$ M		1.5 $\mu$ M	
Moe ptp-1b	7.7 $\mu$ M		9.7 $\mu$ M		7.9 $\mu$ M	
PROPIEDADES TOXICOLÓGICAS						
ACD/tox suite						
Toxicidad oral						
Explorador osiris						

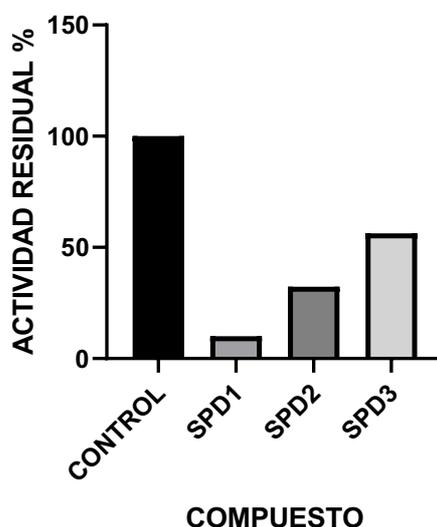
Al observar el análisis de consenso farmacológico (**Tabla 12**) se optó por priorizar al compuesto **SPD-1**, ya que este mostró un mejor perfil *in silico* al presentar los mejores resultados de características farmacodinámicas, farmacocinéticas y toxicológicas al

obtener algunas advertencias en los apartados de inhibición de CYP450 y bloqueo de canales hERG, por lo cual se propuso al compuesto **SPD-1** como un *hit* computacional seguro para proceder a realizar pruebas *in vivo*.

## 8.5 PARTE *IN VITRO*.

Para estudiar la actividad inhibitoria de los compuestos sobre la enzima PTP-1B, se llevó a cabo un análisis preliminar de cinética enzimática con una concentración fija de inhibidor 50  $\mu$ M de fosfato de *p*-nitrofenilo

En la **Figura 37** se muestra la actividad residual de la enzima PTP-1B frente a los compuestos **SPD-1-3**.



**Figura 37.** Comparación de actividad residual en prueba sobre enzima PTP-1B entre el control y los compuestos SPD1-3.

Para apreciar de una manera más clara la capacidad de inhibición de los compuestos **SPD-1-3** frente a la enzima PTP-1B, se realizó un gráfico del porcentaje de inhibición. De acuerdo con los resultados se obtuvo que el compuesto **SPD-1**, el cual tiene estructura de tipo bifenilo, muestra una inhibición de la enzima cercana al 90%. Por otro lado, el compuesto **SPD-2**, con el sustituyente de bifenilcarbonitrilo, mostró una capacidad de inhibición de la enzima menor, siendo esta del 68% mientras que el compuesto **SPD-3** fue un inhibidor débil con solo el 43% de inhibición de la PTP-1B.

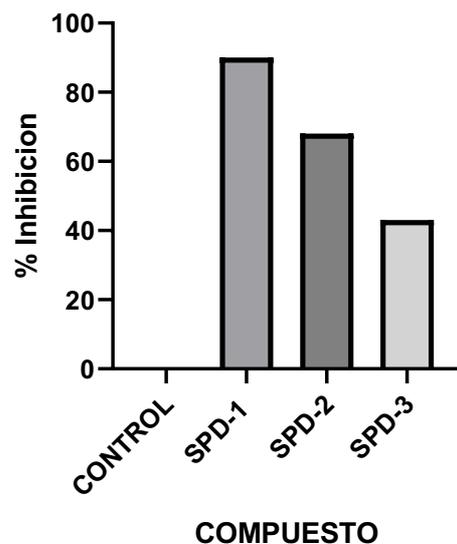


Figura 38. Estimación del porcentaje de inhibición entre el control y los compuestos SPD1-3.

Con base en lo anterior, se evaluó la potencia de inhibición de los compuestos **SPD-1-3** a través del cálculo de la  $IC_{50}$ . Para este ensayo se utilizó una concentración fija de sustrato (fosfato de *p*-nitrofenilo) correspondiente a la  $K_m$  de la enzima y variando las concentraciones del inhibidor.

Tabla 14. Resultados obtenidos de pruebas *in vitro* de los compuestos SPD-1, SPD-2 y SPD-3.

	SPD-1	SPD-2	SPD-3
Inhibición	90.0%	68.0%	43.0%
$IC_{50}$	16.6 +/- 0.8 $\mu M$	15.8 +/-1.1 $\mu M$	34.7 +/-1.6 $\mu M$

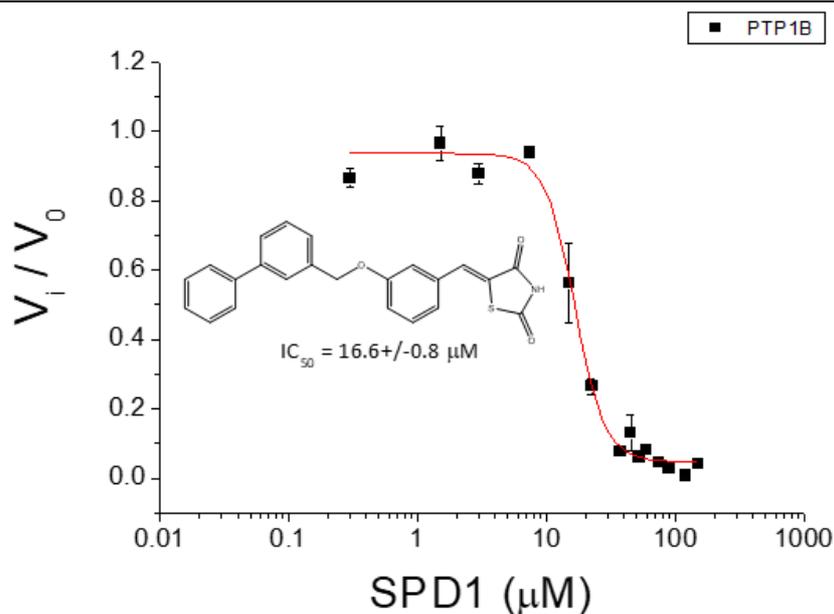


Figura 39. Concentración inhibitoria media del compuesto SPD-1 sobre enzima PTP-1B en ensayo *in vitro*.

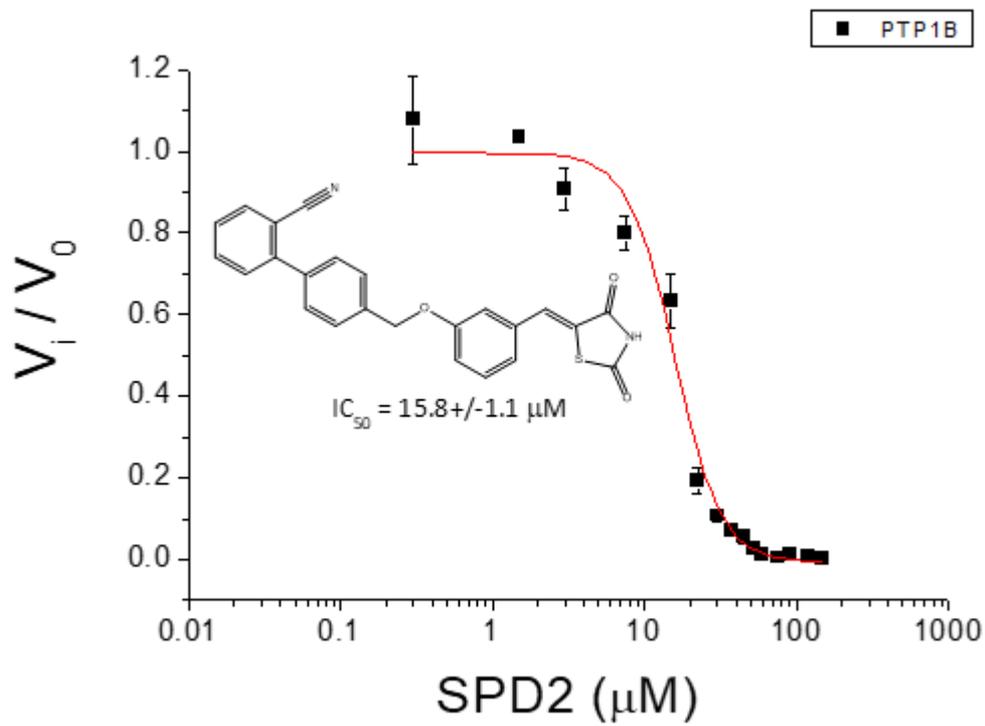


Figura 40. Concentración inhibitoria media del compuesto SPD-2 sobre enzima PTP-1B en ensayo in vitro.

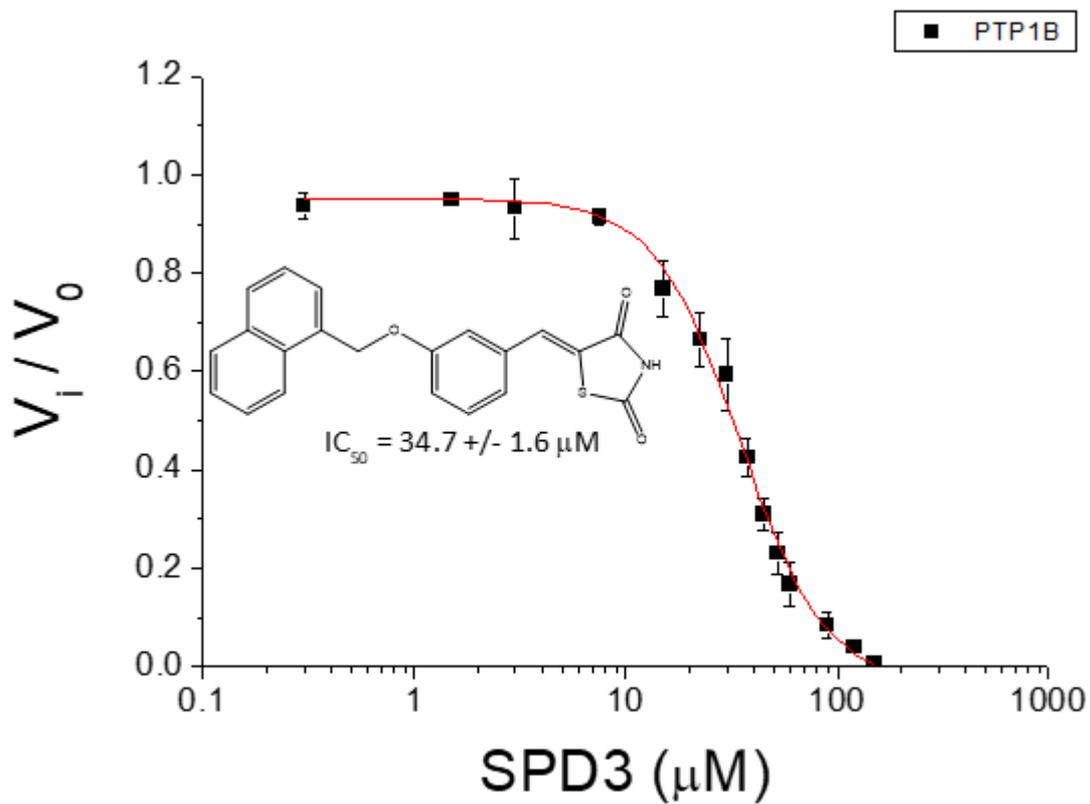


Figura 41. Concentración inhibitoria media del compuesto SPD-3 sobre enzima PTP-1B en ensayo in vitro.

Los compuestos **SPD-2 y 1** que tienen como sustituyentes bifencilcarbonitrilo y bifenilo respectivamente mostraron un  $CI_{50}$  equipotente de 15.8 y 16.6  $\mu\text{M}$  lo cual los posiciona como compuestos de prioridad para el estudio en ensayo *in vivo*. Por otro lado, el compuesto **SPD-3** que tiene el grupo naftilo como sustituyente y posee una  $CI_{50} = 34.7\mu\text{M}$ , lo cual lo coloca en último lugar de jerarquía a considerar para pruebas antidiabéticas *in vivo*.

La relación estructura-actividad reveló que los sustituyentes de tipo bifenilo presentan una mejor actividad inhibitoria sobre la enzima PTP-1B que el compuesto con sustituyente naftilo, además de que los compuestos con sustituyente de tipo bifenilo poseen mayor lipofilicidad, mejorando la afinidad en sitio catalítico, el cual posee una región hidrofóbica importante favoreciendo la interacción con los compuestos. Cabe mencionar que este sitio catalítico normalmente es ocupado por la tirosina fosforilada del IRS.

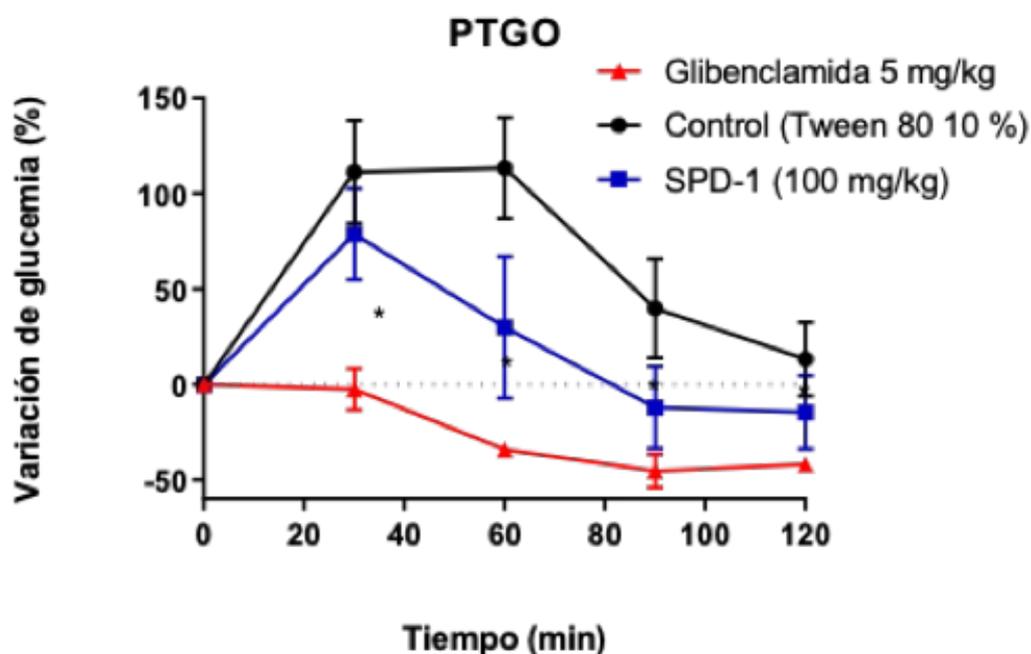
### 8.6 Parte *in vivo*.

Para la realización del ensayo biológico se empleó como control positivo al fármaco glibenclamida con efecto hipoglucémico.

La actividad antidiabética de los compuestos a evaluar fue determinada usando una dosis única de 100mg/kg.

Como se mencionó anteriormente, se eligió como candidato a evaluar al compuesto **SPD-1** el cual mostró mejores propiedades farmacológicas *in silico*, siendo un *hit* computacional seguro, así como la mejor actividad inhibitoria en la evaluación *in vitro* sobre la enzima PTP-1B, convirtiéndose en un *hit* experimental.

Se evaluó un solo compuesto teniendo en cuenta las recomendaciones de la comisión de ética de investigación, reduciendo la cantidad de ensayos y consecuentemente el número de animales a utilizar, así como por las restricciones de entrada a los laboratorios por el problema de la pandemia de COVID-19.



*Figura 42.* Resultados de experimento de variación de glucemia con glibenclámda, control (Tween 80 10%) y el compuesto **SPD 1** durante el transcurso del tiempo de 120 minutos.

El compuesto **SPD-1** mostró un abatimiento del pico hiperglucémico apreciable al minuto 30 del experimento, así como un descenso de los valores de glucosa a partir de la primera hora hasta el final del experimento teniendo valores estadísticamente significativos del minuto 60 al 90, esto siendo característico del comportamiento de fármacos con actividad antihyperglucemiante. Con esto, se demuestra que el análisis *in silico* de consenso farmacológico permitió seleccionar un *hit* computacional seguro, que en ensayos experimentales *in vitro* e *in vivo* demostraron la existencia de un *hit* experimental.

## 9. CONCLUSIONES

- Se sintetizaron y caracterizaron los compuestos **SPD 1-3** con rendimientos adecuados y tiempos de reacción cortos debido al uso de técnicas novedosas en química orgánica (reactor de presión y temperatura controladas).
- Se obtuvieron los perfiles farmacocinéticos, farmacodinámicos y toxicológicos *in silico* mediante el uso de programas computacionales para los compuestos **SPD-1-3**.
- Se realizó un análisis de consenso farmacológico de los tres compuestos para la selección de un hit computacionalmente seguro (**SPD-1**).
- Se comprobó y cuantificó experimentalmente la afinidad del compuesto **SPD-1** como inhibidor de la enzima PTP-1B, teniendo una  $CI_{50}$  de 16.6  $\mu$ M y un efecto máximo del 90% .
- Se comprobó experimentalmente en un ensayo *in vivo* el efecto antihiper glucemiante del compuesto **SPD-1** en ratones ICR, convirtiéndose así en un hit experimental seguro.

## 10. PERSPECTIVAS

- Probar la serie de compuestos en ensayos in vitro sobre PPAR- $\gamma$
- Probar serie completa de compuestos en modelo murino no insulino dependiente
- Probar posible efecto hipoglucemiante vía modulación de las incretinas

## 11. BIBLIOGRAFÍA

1. Hiriart-Urdanivia, M., Sánchez-Soto, C., Velasco, M., Sabido-Barrera, J., & Ortiz-Huidobro, R. I. (2019). El receptor soluble de insulina y el síndrome metabólico. *Gaceta medica de Mexico*, 155(5), 541-545.
2. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 9th ed. Brussels, Belgium: *International Diabetes Federation*; 2019.
3. Pinzón García, A. D. (2009). Desarrollo de un modelo celular de resistencia a insulina: estudio preliminar / Development of a cellular model of insulin resistance: a preliminary study. *Departamento de Farmacia*.
4. OMS. Diabetes. Consultado 12 de diciembre del 2020. En: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.
5. Pata Paredes, K. N. (2020). Paciente de sexo femenino de 60 años de edad que presenta diabetes mellitus tipo 2 y obesidad grado 2 (*Bachelor's thesis, Babahoyo: UTB-FCS, 2020*).
6. Gil-Velázquez, L. E., Sil-Acosta, M. J., Domínguez-Sánchez, E. R., del Pilar Torres-Arreola, L., & Medina-Chávez, J. H. (2013). Guía de práctica clínica. Diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista médica del instituto mexicano del seguro social*, 51(1), 1-16.
7. Vicuña Mera, S. M. (2019). Evaluación de conocimientos y manejo inicial de pacientes diabéticos con estado hiperosmolar hiperglicémico y cetoacidosis diabética al personal de salud en el Hospital General Guasmo Sur (Doctoral dissertation, Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Médicas. Carrera de Medicina).
8. Buse, J. B., Wexler, D. J., Tsapas, A., Rossing, P., Mingrone, G., Mathieu, C., ... & Davies, M. J. (2020). 2019 update to: management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2018. A consensus report by the *American Diabetes Association (ADA)* and the *European Association for the Study of Diabetes (EASD)*. *Diabetes care*, 43(2), 487-493.
9. Prieto-Gómez, B., Aguirre-Castañeda, A., Saldaña-Lorenzo, J. A., del Ángel, J. F. L., & Moya-Simarro, A. (2017). Síndrome metabólico y sus complicaciones: el pie diabético. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 60(4), 7-18.
10. Palacios, A., Durán, M., & Obregón, O. (2012). Factores de riesgo para el desarrollo de diabetes tipo 2 y síndrome metabólico. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 10, 34-40.

11. Pico Figueroa, M. A. (2019). Sintomatología depresiva y tono hedónico en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 que asisten a la fundación Santandereana de Diabetes y Obesidad.
12. Huang, S., & Czech, M. P. (2007). The GLUT4 glucose transporter. *Cell metabolism*, 5(4), 237-252.
13. Kumar, V., Cotran, R. S., & Robbins, S. L. (2008). Patología humana. Elsevier Health Sciences.1194-1195.
14. Berg, J. M., Stryer, L., & Tymoczko, J. L. (2007). *Bioquímica*. Reverté. 1059.
15. Naya, L. D., & Álvarez, E. D. (2016). Diabetes mellitus. Criterios diagnósticos y clasificación. Epidemiología. Etiopatogenia. Evaluación inicial del paciente con diabetes. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, (17), 935-946. 5-6.
16. Naya, L. D., & Álvarez, E. D. (2016). Diabetes mellitus. Criterios diagnósticos y clasificación. Epidemiología. Etiopatogenia. Evaluación inicial del paciente con diabetes. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, (17), 935-946. 7-8.
17. Beck-Nielsen H, Groop LC. Metabolic and genetic characterization of prediabetic states. Sequence of events leading to non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest*. 1994; 94:1714.
18. García, C. G. (2008). Diabetes mellitus gestacional. *Medicina interna de México*, 24(2), 148-156.
19. Valdés, S., Rojo-Martínez, G., & Soriguer, F. (2007). Evolución de la prevalencia de la diabetes tipo 2 en población adulta española. *Medicina clínica*, 129(9), 352-355.
20. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 10th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2021 22-43.
21. Gutierrez-Lara Erika. Diseño y síntesis de análogos de Metformina, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 2014.
22. D. O. de la Federación. (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. México: DOF.
23. Lozano, B. I. C. (2019). Diseño, síntesis y bioevaluación antidiabética in combo de benciliden-1, 3-tiazolidin-2, 4-dionas y derivados del ácido fenilpropanoico.
24. Hubbard, S. R. (2013). The insulin receptor: both a prototypical and atypical receptor tyrosine kinase. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 5(3), a008946.
25. González-Mujica, F. (2019). Glucagón y la hipótesis bihormonal de la diabetes. *Vitae*, (78).

26. Enderica, P. F. V., Mendoza, Y. O. G., Apolo, K. E. M., & Flores, J. J. O. (2019). Diabetes Mellitus Tipo 2: Incidencias, Complicaciones y Tratamientos Actuales. *RECIMUNDO: Revista Científica de la Investigación y el Conocimiento*, 3(1), 26-37.
27. Kumar, A.; Kumar, S.; Kumar, A. *Pharmacol. Reports* 2017, 69 (5), 959–970.
28. Huang, D.; Refaat, M.; Mohammedi, K.; Jayyousi, A.; Al Suwaidi, J.; Abi Khalil, C. *Biomed Res. Int.* 2017.
29. Ashcroft F-M, Gribble F-M. Tissue specific effects of sulfonylureas: lessons from studies of cloned K(ATP) channels. *J-Diabetes-complications*. 2000; 14(4): 192-6.
30. Contreras, F., Romero, B., Suárez, N., González, M., Fouilloux, C., Guevara, E., ... & Velasco, M. (2002). Receptores Sur y Sulfonilureas en el tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 21(2), 148-155.
31. Del Olmo González, E., Pérez, M. C., & Gumpert, S. A. (2008). Actualización del tratamiento farmacológico de la diabetes mellitus tipo 2. *Inf Ter Sist Nac Salud*, 32(1), 1-16.
32. Blicklé, J. F. (2006). Meglitinide analogues: a review of clinical data focused on recent trials. *Diabetes & metabolism*, 32(2), 113-120.
33. Zhong, J., Maiseyeu, A., Davis, S. N., & Rajagopalan, S. (2015). DPP4 in cardiometabolic disease: recent insights from the laboratory and clinical trials of DPP4 inhibition. *Circulation research*, 116(8), 1491-1504.
34. Flores Martínez, O., & Bustamente, M. E. (2005). Agentes orales en el manejo de la diabetes mellitus tipo 2: biguanidas, tiazolidinedionas, inhibidores de la alfa-glucosidasa. *Med. fam.(Caracas)*, 44-49.
35. López-Hernández, MA. (2017). Inhibidores del cotransportador de sodio y glucosa tipo 2 (SGLT2), el riñón como objetivo en el control glucémico de la diabetes mellitus tipo 2. *Medicina interna de México*, 33(3), 363-371. Recuperado en 08 de agosto de 2021.
36. Salazar Álvarez, Y. (2011). Uso de la metformina en la diabetes mellitus tipo II. *Revista cubana de farmacia*, 45(1), 157-166.
37. Gomis de Barbara R y col. Documento 2005 de consenso entre varias sociedades científicas sobre pautas de manejo del paciente diabético tipo 2 en España. *Av Diabetol* 2005; 21(Supl.1): 194-238.

38. Medina, G., Sewter, C., & Puig, A. J. V. (2000). PPAR $\gamma$  y tiazolidinedionas, algo más que un tratamiento contra la diabetes. *Medicina Clínica*, 115(10), 392-397
39. Spiegelman, B. M. (1998). PPAR-gamma: adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Diabetes*, 47(4), 507-514.
40. Paredes Anaya, M., García-Quispes, W. A., Lizaraso Soto, F., Padilla Rojas, C., Torres Gonzales, D., Calderón Ticona, J., ... & Solís Villanueva, J. (2014). Análisis de asociación genética entre el SNP RS914458 del gen proteína tirosina fosfatasa no receptor tipo 1 (ptpn1) y diabetes tipo 2 en población peruana. *Horizonte Médico (Lima)*, 14(4), 31-36.
41. Cho, H. 2013; Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) And Obesity, 1st ed.; Elsevier Inc., Vol. 91. PP 407
42. Domínguez-Mendoza, E. A., Galván-Ciprés, Y., Martínez-Miranda, J., Miranda-González, C., Colín-Lozano, B., Hernández-Núñez, E., ... & Navarrete-Vazquez, G. (2021). Design, Synthesis, and In Silico Multitarget Pharmacological Simulations of Acid Bioisosteres with a Validated In Vivo Antihyperglycemic Effect. *Molecules*, 26(4), 799.
43. Murakami, K., Tsunoda, M., Ide, T., Ohashi, M., & Mochizuki, T. (1999). Amelioration by KRP-297, a new thiazolidinedione, of impaired glucose uptake in skeletal muscle from obese insulin-resistant animals. *Metabolism*, 48(11), 1450-1454.
44. ACD/ToxSuite, version 2018.1.0, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, ON, Canada, [www.acdlabs.com](http://www.acdlabs.com), 2018.
45. Feixiong Cheng, Weihua Li, Yadi Zhou, Jie Shen, Zengrui Wu, Guixia Liu, Philip W. Lee, Yun Tang. admetSAR: a comprehensive source and free tool for evaluating chemical ADMET properties. *J. Chem. Inf. Model.*, 2012, 52(11): 3099-3105
46. Filimonov D.A., Lagunin A.A., Glorizova T.A., Rudik A.V., Druzhilovskii D.S., Pogodin P.V., Poroikov V.V. (2014). Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 50 (3), 444-457.
47. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* (2017) 7:42717.

48. Prieto-Martínez, F. D., & Medina-Franco, J. L. (2019). Diseño de fármacos asistido por computadora: cuando la informática, la química y el arte se encuentran. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 21(2), 124-134.
49. Molecular Operating Environment (MOE), 2019.01; Chemical Computing Group ULC, 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, 2021.
50. Makar, S., Saha, T., & Singh, S. K. (2019). Naphthalene, a versatile platform in medicinal chemistry: Sky-high perspective. *European journal of medicinal chemistry*, 161, 252-276.
51. Hidalgo-Figueroa, S., Ramírez-Espinosa, J. J., Estrada-Soto, S., Almanza-Pérez, J. C., Román-Ramos, R., Alarcón-Aguilar, F. J., ... & Navarrete-Vázquez, G. (2013). Discovery of Thiazolidine-2, 4-Dione/Biphenylcarbonitrile Hybrid as Dual PPAR  $\alpha/\gamma$  Modulator with Antidiabetic Effect: In vitro, In Silico and In Vivo Approaches. *Chemical biology & drug design*, 81(4), 474-483.

## SÍNTESIS DE PRECURSORES SPD1a – SPD3a

Síntesis de **SPD-3** (3-(naftalen-1-ilmetoxi)benzaldehído) por metodología convencional

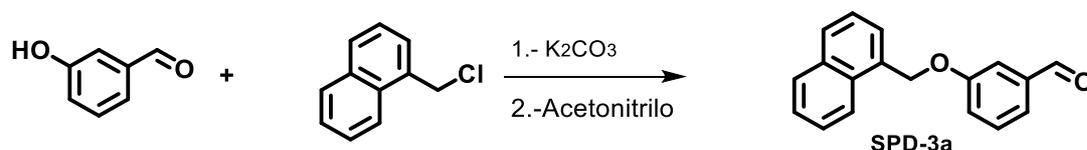


Figura 43 Reacción general para la obtención del compuesto **SPD-3a**.

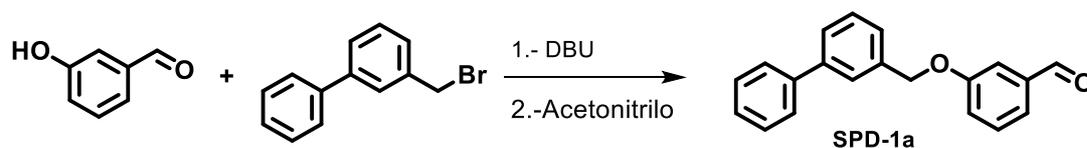
Inicialmente se llevó a cabo la reacción de sustitución nucleofílica bimolecular con los reactivos 3-hidroxibenzaldehído y 1-clorometilnaftaleno (obtención de compuesto **SPD-3a**) mediante una metodología convencional la cual consta de realizarse en un matraz bola inmerso en baño de aceite a temperatura monitoreada constantemente y con sistema de reflujo.

Se pesaron 100 mg de 3-hidroxibenzaldehído como reactivo limitante el cual se va a vaciar en un matraz bola de 10ml de boca esmerilada, se adicionó 1.5 ml de acetonitrilo, así como un agitador magnético de tamaño apropiado, se colocó en una parrilla de calentamiento con agitación en baño de aceite a temperatura de 50°C con agitación moderada por 15 minutos esto con el fin de propiciar la disolución. Posteriormente, se utilizó 1.3eq. de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, se agregó al matraz y se mantuvo a temperatura de 50°C con agitación moderada por 20 minutos para la formación del oxi-anión en el transcurso del tiempo se puede un cambio de coloración de la solución de transparente aun amarillo cristalino. Seguidamente se pesó 1.1eq. de 1-clorometilnaftaleno que por su bajo punto de fusión utilizo en un contenedor de cristal al cual se le agrego 1 ml de acetonitrilo y se transfirió al matraz bola mediante una pipeta gota a gota. Se procedió a subir la temperatura a 70°C y agitación media para propiciar el reflujo, pasadas 2 horas se procedió a monitorearse extrayendo una gota de la reacción y transfiriéndola a un tubo de ensaye, se adicionó 1ml de agua y 0.5ml de acetato de etilo, se agito y se dejó reposar hasta que fueran evidente la separación

de las dos fases se sustrajo con un tubo capilar una muestra de la fase orgánica. Se continuó monitoreando el avance de la reacción hasta que esta terminara.

Al terminar la reacción, se procedió a tratarla con agua y acetato de etilo en un embudo de separación recuperando la fase orgánica procediendo así a la rota evaporación del compuesto, consecutivamente se purificó el producto obtenido mediante una columna cromatográfica con diclorometano como fase móvil y silica como fase estacionaria, a las fracciones correspondientes al compuesto SPD-3a se concentraron en un matraz para ser posteriormente rota evaporadas y así obtener el compuesto puro en forma de líquido con consistencia de resina de color amarilla a marrón.

#### **SPD-1a:** 3-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi) benzaldehído



*Figura 44 Reacción general para la obtención de compuesto SPD-1a empleando reactor de presión y temperatura controlada.*

Al considerar el tiempo de reacción se propuso optimizar el proceso de la reacción siendo asistido por el equipo Monowave 50 de Anton Paar de presión y temperatura controlada, ajustando la temperatura a 160°C por un tiempo de 10 minutos y agitación a 300 rpm para llevar a cabo la reacción, en la cual se pesaron 100 mg de 3-hidroxibenzaldehído como reactivo limitante el cual se va a vaciar en un vial para el reactor después se adicionó 1 ml de acetonitrilo, así como un agitador magnético de tamaño apropiado para el vial, se colocó en una parrilla con agitación moderada por 10 minutos esto con el fin de propiciar la disolución. Posteriormente se midió y agregó 1.1M eq. de DBU como base orgánica no nucleofílica y se mantuvo con agitación moderada por 10 minutos para la formación del oxi-anión en el transcurso del tiempo

se puede observar un cambio de coloración de la solución de transparente a un amarillo cristalino, seguidamente se pesó 1.1 M eq. de 3-bromometil-1,1-bifenilo para el cual se vació en un contenedor de cristal, en este se agregó 1 ml de acetonitrilo y se transfirió al vial especializado para el reactor mediante una pipeta gota a gota y se mantuvo en agitación moderada por 5 minutos, posterior a esto se ajustó y selecciono el método con una duración de 15 minutos con agitación a 300 rpm y temperatura de 160° C. Después se insertó el vial con su respectiva tapa de teflón en el reactor, se procedió a cerrar y asegurar la compuerta, para posteriormente dar inicio al método de reacción. Transcurrido el tiempo se realizó un muestreo para realizar una cromatografía de placa fina y observar el avance de la reacción dando como resultado el término de la reacción, se procedió a tratarla con agua y acetato de etilo en un embudo de separación recuperando la fase orgánica procediendo así a la rota evaporación del compuesto, consecutivamente se purifico el producto obtenido mediante una columna cromatográfica flash con diclorometano como fase móvil y silica como fase estacionaria, a las fracciones correspondientes al compuesto **SPD-1a** se vaciaron en un matraz para ser posteriormente evaporar el solvente y así obtener el compuesto puro en forma de líquido con consistencia de resina de color amarillo oscuro.

### SPD-2a: 4'-((3-formilfenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo

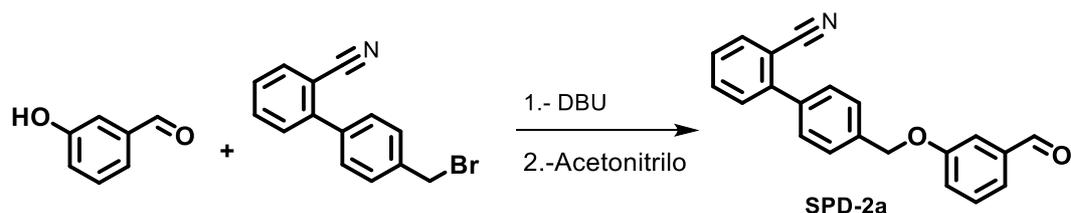


Figura 45 Reacción general para la obtención de compuesto **SPD-2a** empleando reactor de presión y temperatura controlada.

Para obtener el compuesto **SPD-2a** se llevó a cabo la reacción en la cual se pesaron 100 mg de 3-hidroxibenzaldehído como reactivo limitante el cual se vació en un vial para el reactor después se adicionó 1 ml de acetonitrilo, un agitador magnético de tamaño apropiado para el vial, se colocó en una parrilla con agitación moderada por 10 minutos esto con el fin de propiciar la disolución. Posteriormente se midió y agregó 1.1M eq. de DBU y se mantuvo con agitación moderada por 5 minutos para la formación del oxi-anión en el transcurso del tiempo se puede apreciar un cambio de coloración de la solución de transparente aun amarillo cristalino, seguidamente se pesó lo equivalente a 1.1 M eq. de 4-bromometil-1,1-bifenil-2-carbonitrilo el cual se vació en un contenedor de cristal, en este se agregó 1 ml de acetonitrilo y se transfirió al vial especializado para el reactor mediante una pipeta gota a gota y se mantuvo en agitación moderada por 10 minutos, posterior a esto se ajustó y selecciono el método a una duración de 15 minutos con agitación a 300 rpm y temperatura de 160° C. Después se insertó el vial con su respectiva tapa de teflón en el reactor, se procedió a cerrar y asegurar la compuerta para posteriormente dar inicio al método de reacción. Transcurrido el tiempo se realizó un muestreo para una cromatografía de placa fina y observar el avance de la reacción dando como resultado el término de la reacción, se procedió a tratarla con agua y acetato de etilo en un embudo de separación

recuperando la fase orgánica procediendo así a la rota evaporación del compuesto, consecutivamente se purificó el producto obtenido mediante una columna cromatográfica flash con diclorometano como fase móvil y silica como fase estacionaria, a las fracciones correspondientes al compuesto SPD-2a se depositaron en un matraz para ser rota evaporadas y así obtener el compuesto puro en forma de líquido con consistencia de resina de color amarillo.

### SPD-3a: 3-(naft-1-ilmetoxi) benzaldehído

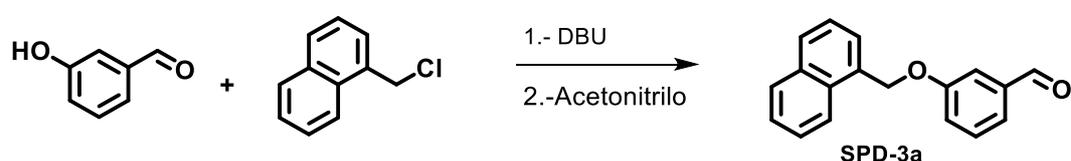


Figura 46 Reacción general para la obtención de compuesto **SPD-3a** empleando reactor de presión y temperatura controlada.

Para la síntesis del precursor **SPD-3a** se hizo reaccionar 100mg de 3-hidroxibenzaldehído el cual se vació en un vial para el reactor después se adicionó 1 ml de acetonitrilo, un agitador magnético de tamaño apropiado para el vial, se colocó en una parrilla con agitación moderada por 10 minutos esto con el fin de propiciar la disolución. Posteriormente se midió y agregó lo equivalente a 1.2eq. de DBU y se mantuvo con agitación moderada por 10 minutos para la formación del oxi-anión en el transcurso del tiempo se puede observar un cambio de coloración de la solución de transparente aun amarillo cristalino, seguidamente se pesó lo equivalente a 1.1 eq. de 1-clorometilnaftaleno siendo este vaciado en un contenedor de 5ml para posteriormente agregar 1 mL de acetonitrilo para facilitar la transferencia al vial para reactor y continuar con agitación moderada por 10 minutos posterior a esto se seleccionó el método a una duración de 15 minutos con agitación a 300 rpm y temperatura de 160° C. Después se insertó el vial con su respectiva tapa de teflón en

el reactor, se procedió a cerrar y asegurar la compuerta para posteriormente dar inicio al método de reacción. Transcurrido el tiempo se realizó un muestreo para realizar una cromatografía de placa fina para observar el avance de la reacción dando como resultado el término de la reacción, se procedió a tratarla con agua y acetato de etilo en un embudo de separación recuperando la fase orgánica procediendo así a la rota evaporación del compuesto, consecutivamente se purificó el producto obtenido mediante una columna cromatográfica flash con diclorometano como fase móvil y silica como fase estacionaria, a las fracciones correspondientes al compuesto **SPD-3a** se vaciaron en un matraz para ser finalmente rota evaporadas y así obtener el compuesto puro en forma de líquido con consistencia de resina de color amarillo.

## SÍNTESIS DE COMPUESTOS SPD1-3

### Síntesis de (Z)-5-(3-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi) benciliden)tiazolidin-2,4-diona (SPD-1)

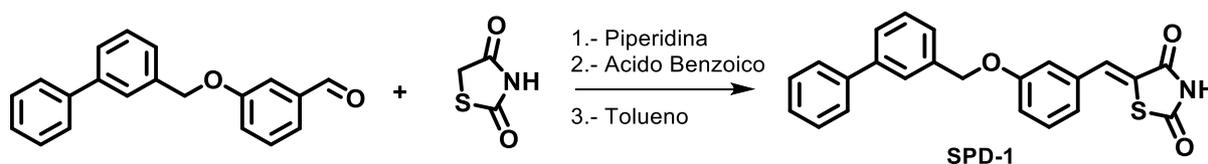


Figura 47 Reacción general para la obtención de compuesto SPD-1.

En matraz bola de 25ml con agitador magnético y trampa y trampa Dean-Stark para remover el agua generada durante la reacción, se adicionaron 0.15 g (0.520 mmol) de 3-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi) benzaldehído (**SPD-1a**) 0.019 g ácido benzoico (0.156 mmol, 0.3 eq) y 0.061g de 1,3-tiazolidin-2,4-diona (0.520 mmol, 1 eq.) en 3 mL de tolueno. Dicha mezcla se mantuvo en agitación a 40 °C durante 20 minutos. Transcurrido este tiempo, se colocaron 0.054 mL de piperidina (0.156 mmol, 0.3 eq) manteniendo en agitación y aumento la temperatura de la reacción a reflujo durante 3 a 4 horas. Posteriormente se filtró la reacción resultando en un sólido amarillo. El producto se purificó por lavado con etanol, obteniendo así el compuesto de color amarillo con peso de 0.163g siendo su rendimiento de 82.5% con punto de fusión de 154.2-155.4 °C siendo característico de pureza.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>)** δ: 5.75(s,2H CH<sub>2</sub>) 7.67 (dd,2H J<sub>o</sub>=8.2Hz J<sub>m</sub>=2.3Hz H-4A, H-6A) 7.74 (s,1H J<sub>m</sub>=2.1Hz H-2A) 7.87 (t, 1H J<sub>m</sub>=1.2Hz J<sub>o</sub>=7.4Hz H-5A) 7.94-8.00 (m, 5H H-4B H-5B H-3C H-4C H-5C) 8.13 (d, 1H J<sub>o</sub>=7.5Hz J<sub>m</sub>=1.4Hz H-6B) 8.17 (dd 2H J<sub>o</sub>=7.8Hz J<sub>m</sub>=1.4Hz H-2C H-6C) 8.25 (s,1H CH) 8.26 (s,1H J<sub>m</sub>=1.8Hz H-2B) 10.93(s,1H NH) ppm **<sup>13</sup>C RMN (DMSO-d<sub>6</sub>)** δ: 69.8 (CH<sub>2</sub>), 116.5 (C-2A) 117.7 (C-4A) 122.8 (C-5) 124.7 (C-6A) 126.5 (C-6B) 126.7 (C-4B) 127.1 (C-2C) 127.2 (C-4C) 128.0 (C-2B) 129.4 (C-3C) 129.4 (C-5C) 129.6 (C-5B) 130.9 (C-1A) 131.9 (C-5A) 134.9 (C-1C) 137.9 (CH) 140.3 (C-1B) 140.9 (C-3B) 159.1 (C-3A) 167.9 (C-2) 168.4 (C-4) ppm.

MS/EI: m/z (% int. rel.) 167.13 (M-220) 35% 149.01 (M-238)100% 71.00 (M-316) 24.1%

## Síntesis de (Z)-4'-((3-((2,4-dioxotiazolidin-5-iliden)metil)fenoxi)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo

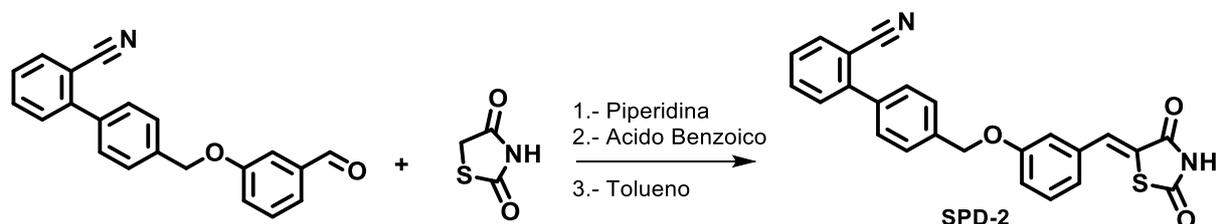


Figura 48 Reacción general para la obtención de compuesto **SPD-2**.

Se utilizó un matraz bola de 25ml con agitador magnético con trampa Dean-Stark para remover el agua generada durante la reacción, se adicionaron 0.15 g (0.520 mmol) de 3-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi) benzaldehído (**SPD-2a**), 0.019g de ácido benzoico (0.156 mmol, 0.3 eq) y 0.061g de 1,3-tiazolidin-2,4-diona (0.520 mmol, 1 eq.) en 1 mL de tolueno. Dicha mezcla se mantuvo en agitación a 40 °C durante 20 minutos. Transcurrido este tiempo, se colocaron 0.054 mL de piperidina (0.156 mmol, 0.3 eq) manteniendo en agitación durante 3 horas. Posteriormente se filtró la reacción resultando en un sólido amarillo oscuro. El producto se purificó por lavado con etanol, obteniendo así el compuesto de color amarillo con peso de 0.172 g siendo su rendimiento de 86.6% con punto de fusión de 232.7-233.9°C característico de pureza.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-6d)**  $\delta$ : 5.76 (s, 2H CH<sub>2</sub>) 7.68 (dd 2H  $J_o=8.4\text{Hz}$   $J_m=2.7\text{Hz}$  H-4A H-6A) 7.76 (s, 1H  $J_m=2.1\text{Hz}$  H-2A) 7.97 (t, 1H,  $J_o=7.9\text{Hz}$  H-5A) 8.07-8.14, (m, 6H H-2B, H-3B, H-5B, H-6B, H-3C, H-4C) 8.26 (s, 1H CH) 8.29 (t, 1H,  $J_o=7.9\text{Hz}$ ,  $J_m=1.4\text{Hz}$  H-5C) 8.44 (d 1H  $J_o=7.7$   $J_m=1.3\text{Hz}$  H-6C) 10.93 (s, 1H NH) ppm. **RMN <sup>13</sup>C (DMSO-6d)**  $\delta$  69.4 (CH<sub>2</sub>) 110.6 (C-2C) 116.6 (C-2A) 117.6 (C-4A) 118.9 (C-5) 122.7 (C-7C) 124.6 (C-6A) 128.4 (C-2B C-6B) 128.7 (C-4C) 129.3 (C-3B C-5B) 130.5 (C-6C) 130.9 (C-5A) 132.0 (C-3C) 133.9 (C-5C) 134.3 (C-1B) 134.9 (C-1A) 137.8 (C-4B) 137.9 (C-1C) 144.6 (CH) 159.17 (C-3A) 167.7 (C-4) 168.31 (C-2) ppm.

### Síntesis de (Z)-5-(3-(naftalen-1-ilmetoxi)enciliden)tiazolidin-2,4-diona

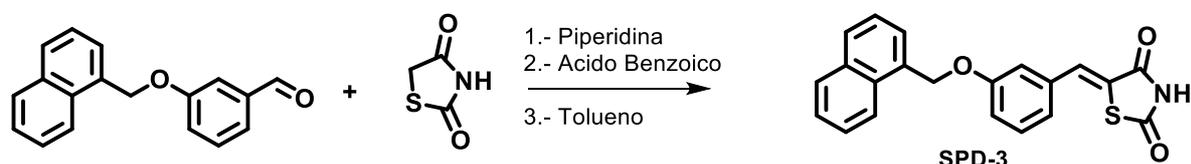


Figura 49 Reacción general para la obtención de compuesto SPD-3.

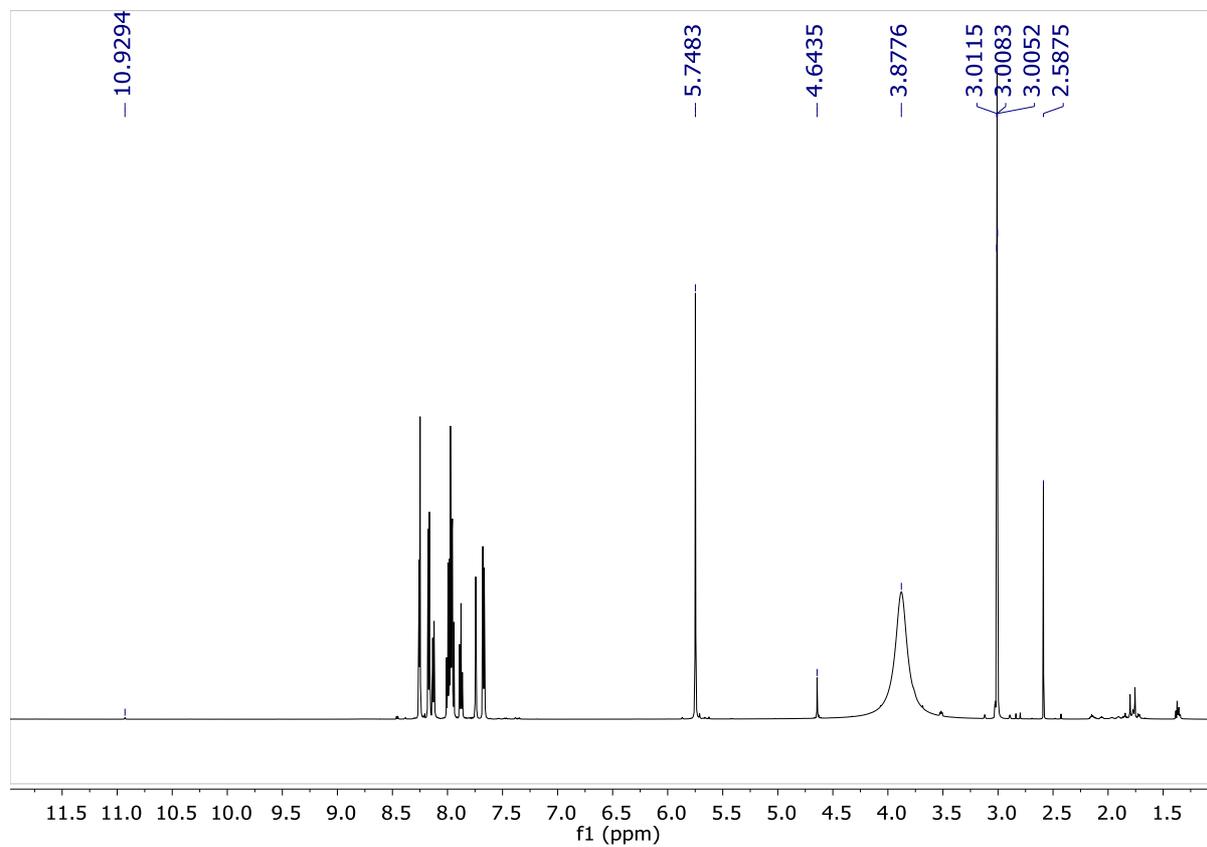
En un matraz bola de 25 mL equipado con agitación magnética y trampa Dean-Stark para remover el agua generada durante la reacción, se adicionaron 0.25 g (0.951 mmol) de 3-(1-naftilmetoxi) benzaldehído (**SPD-3a**), 0.035 g ácido benzoico (0.285 mmol, 0.3 eq) y 0.111 g de 1,3-tiazolidin-2,4-diona (0.951 mmol, 1 eq.) en 1.5 mL de tolueno. Dicha mezcla se mantuvo en agitación a 60 °C durante 15 minutos. Transcurrido este tiempo, se colocaron 0.029 mL de piperidina (0.285 mmol, 0.3 eq) manteniendo en agitación durante 4 h.

Consecutivamente se filtró la reacción resultando un sólido amarillo. El producto se purificó por lavados con etanol, obteniendo un sólido amarillo claro (0.295 g) con un rendimiento de 95 %, un punto de fusión de 185.7-187.5°C los cuales son indicativos de pureza del compuesto.

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>)** δ: 6.11 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) 7.69(d 1H *J*<sub>o</sub>=7.8Hz *J*<sub>m</sub>=1.2Hz H-4A) 7.72 (dd, 1H *J*<sub>o</sub>=8.3 Hz *J*<sub>m</sub>= 1.0 Hz H-3B) 7.82 (s,1H,*J*<sub>m</sub>=2.0Hz H-2A) 7.97 (t, 1H *J*<sub>o</sub>=8.0Hz H-5A) 8.01-8.11(m, 3H, H-6A, H-4B, H-9B) 8.19 (d, 1H,*J*<sub>m</sub>=1.2 Hz *J*<sub>o</sub>=7.1 Hz H-8B) 8.27(s, 1H, CH) 8.44(d, 1H *J*<sub>o</sub>=8.2 Hz H-7B) 8.48(d,1H *J*<sub>m</sub>=2.1Hz *J*<sub>o</sub>=7.7Hz H-10B) 8.61 (d, 1H *J*<sub>m</sub>=1.5 *J*<sub>o</sub>=8.4Hz H-5B) 10.91(s,1H, NH) ppm. **RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>)** δ: 68.5 (CH<sub>2</sub>) 116.8 (C-2A) 117.7 (C-4A) 122.6 (C-5) 124.2 (C-6A) 124.6 (C-10B) 125.8 (C-3B) 126.4 (C-4B) 126.9 (C-8B) 127.1 (C-9B) 128.9(C-7B) 129.2 (C-5B) 130.9 (C-5A) 131.5 (C-6B) 132.0 (C-1B) 132.6 (C-1A) 133.8 (C-2B) 135.0 (CH) 159.2 (C-3A) 167.9 (C-4) 168.3 (C-2) ppm.

# ESPECTROS

SPD1



**Figura 50** Vista general de espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de compuesto **SPD-1**.

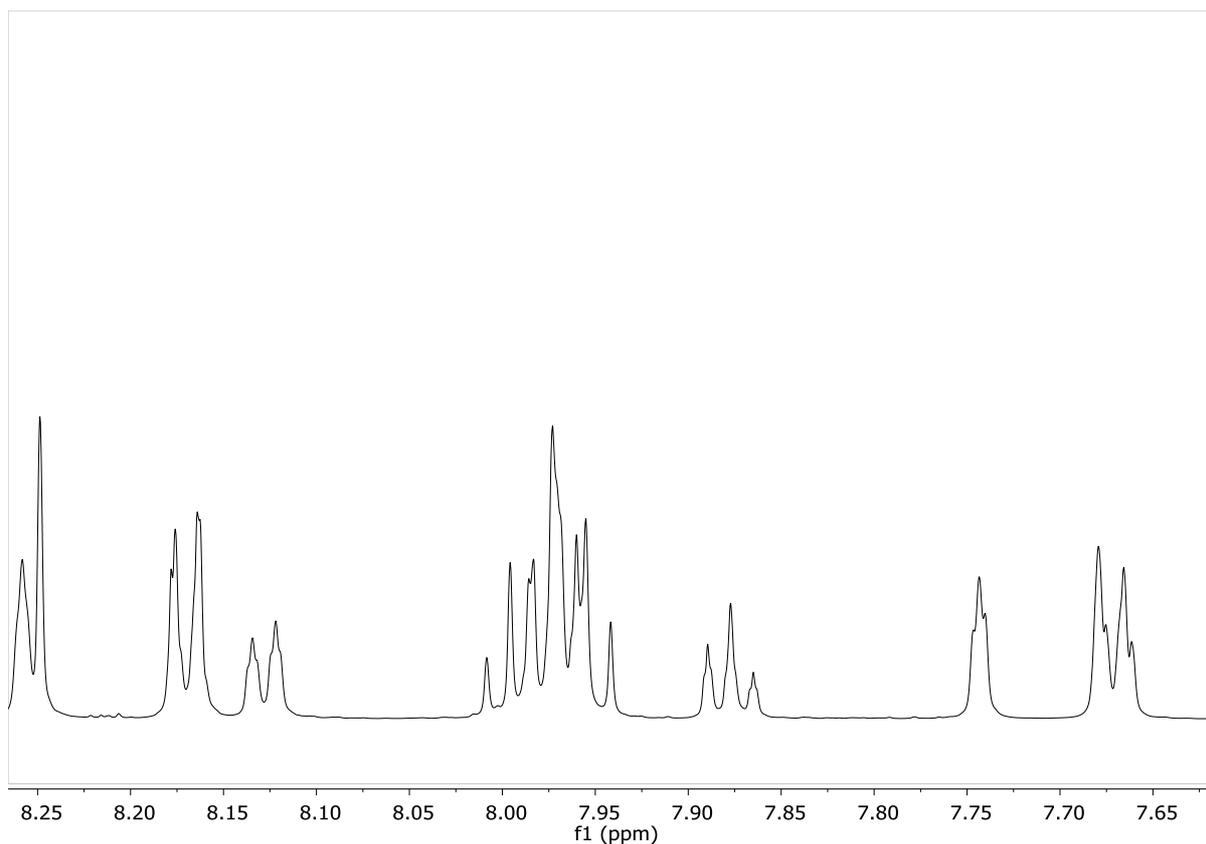


Figura 51 Ampliación en zona aromática del espectro de RMN  $^1\text{H}$  obtenido del compuesto SPD-1.

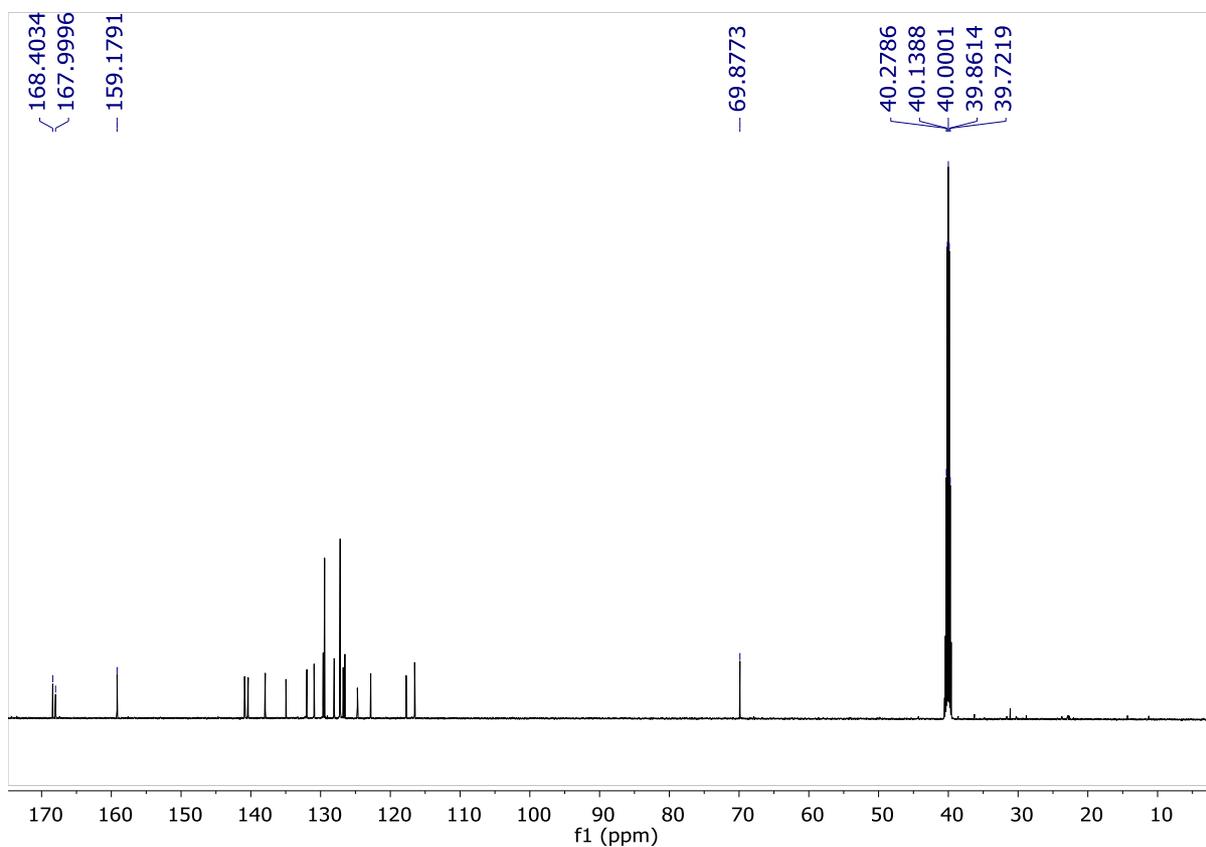


Figura 52 Vista general de espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  obtenida del compuesto SPD-1.

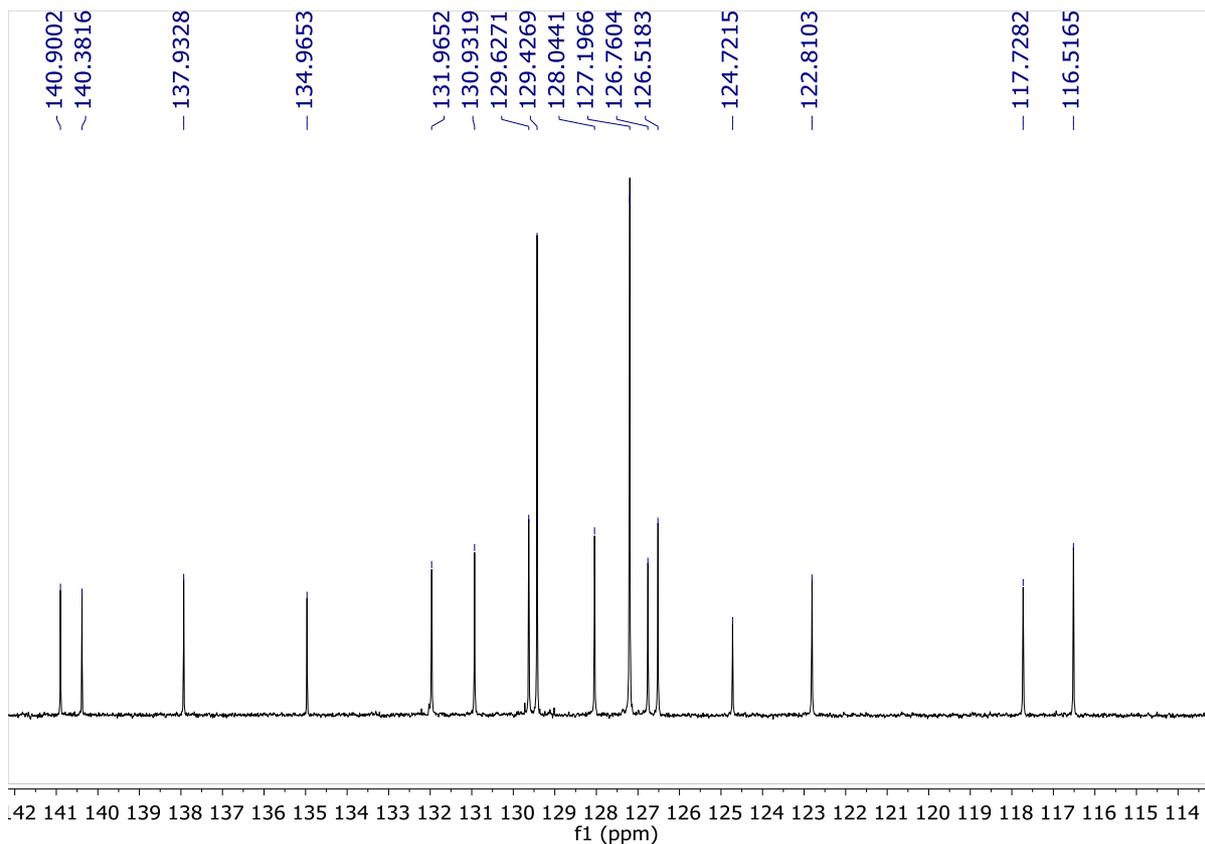


Figura 53 Ampliación de región aromática del espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  obtenido del compuesto SPD-1.

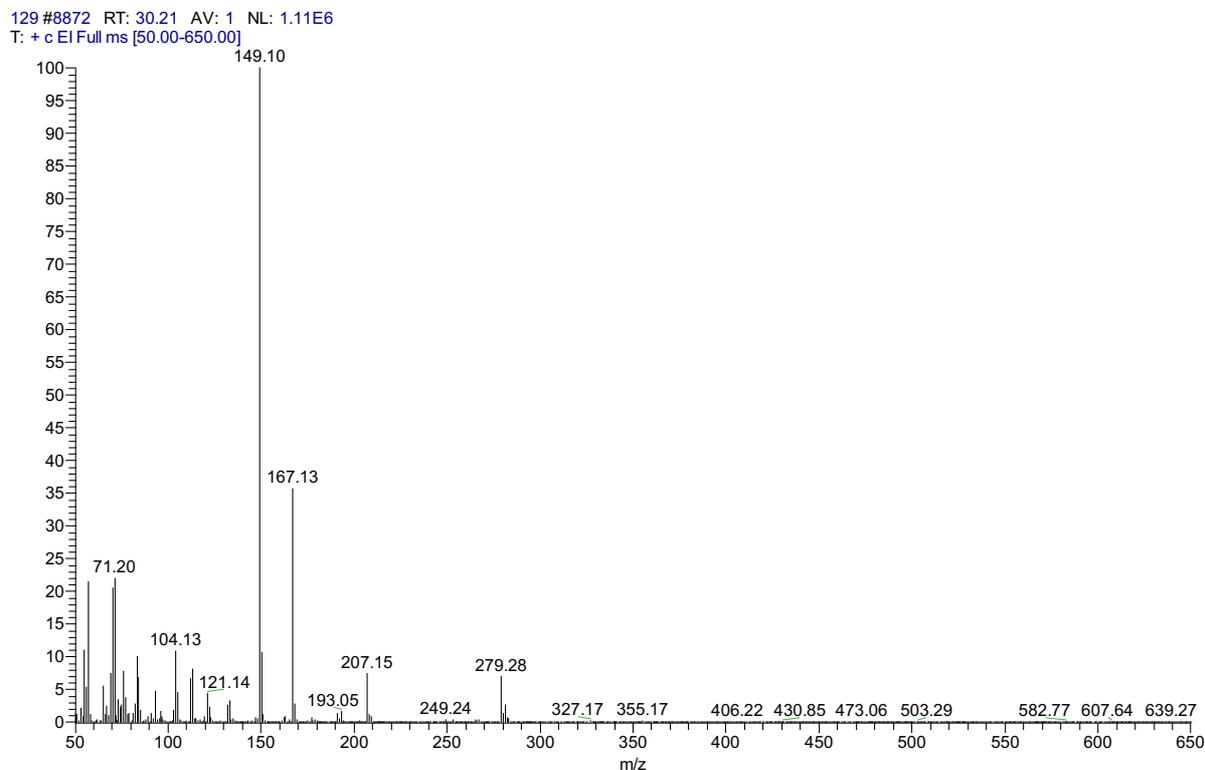


Figura 54 Espectro obtenido por IE del compuesto SPD-1.

SPD2

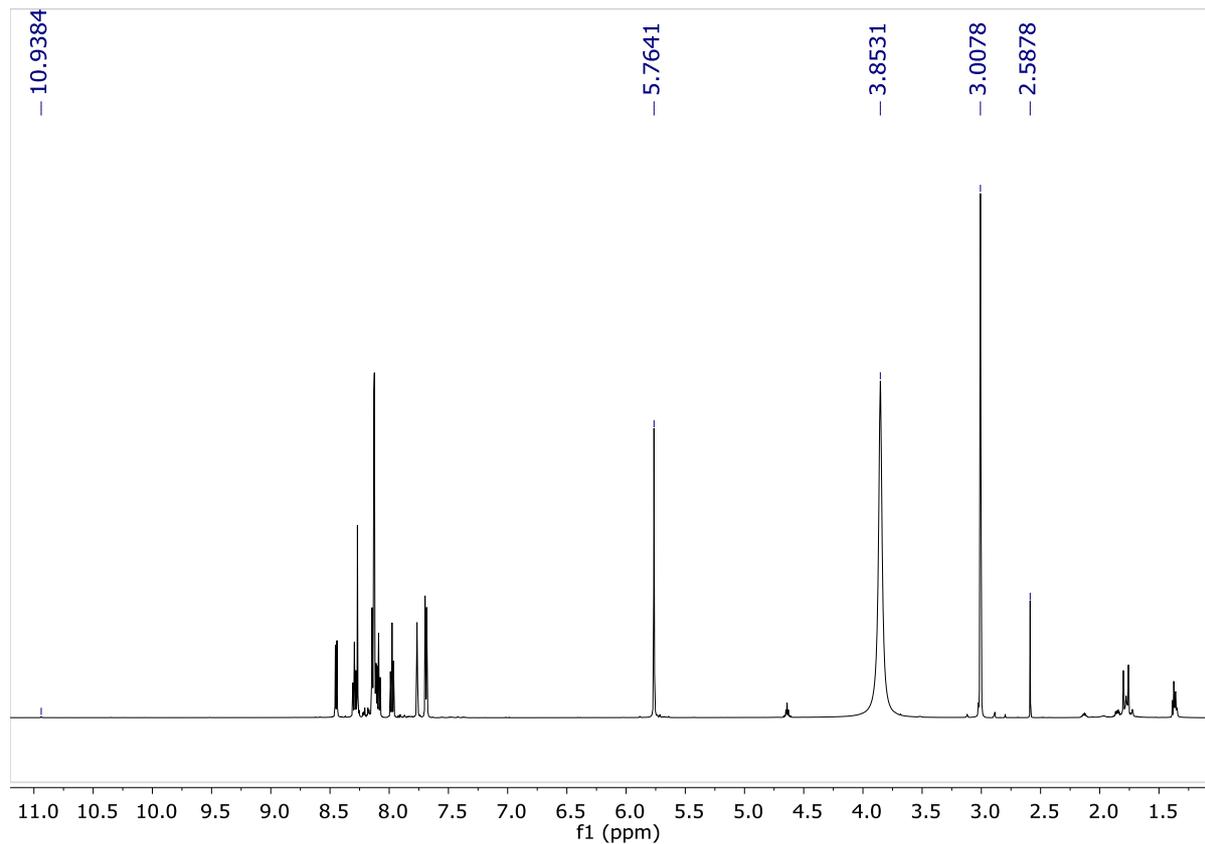


Figura 55 Vista general de espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de compuesto SPD-2

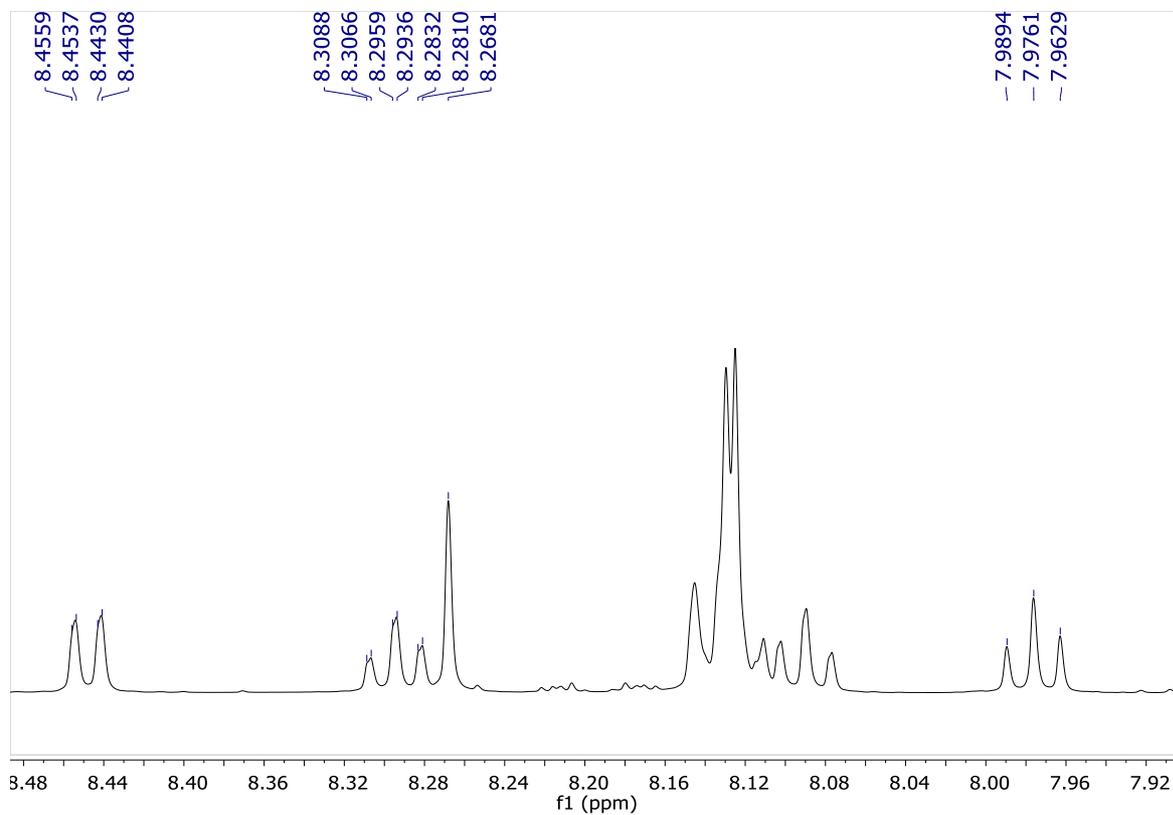


Figura 56 Ampliación en zona aromática del espectro de RMN  $^1\text{H}$  obtenido del compuesto SPD-2.

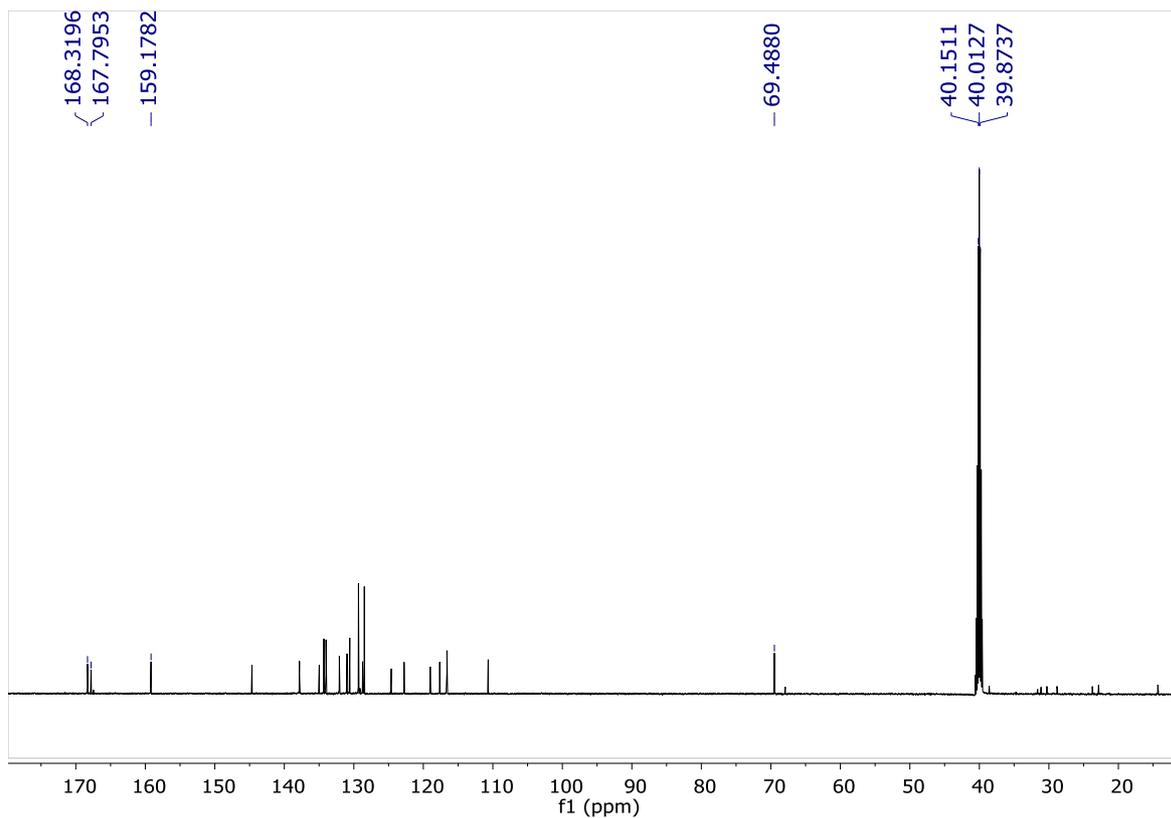


Figura 57 Vista general de espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  obtenida del compuesto SPD2.

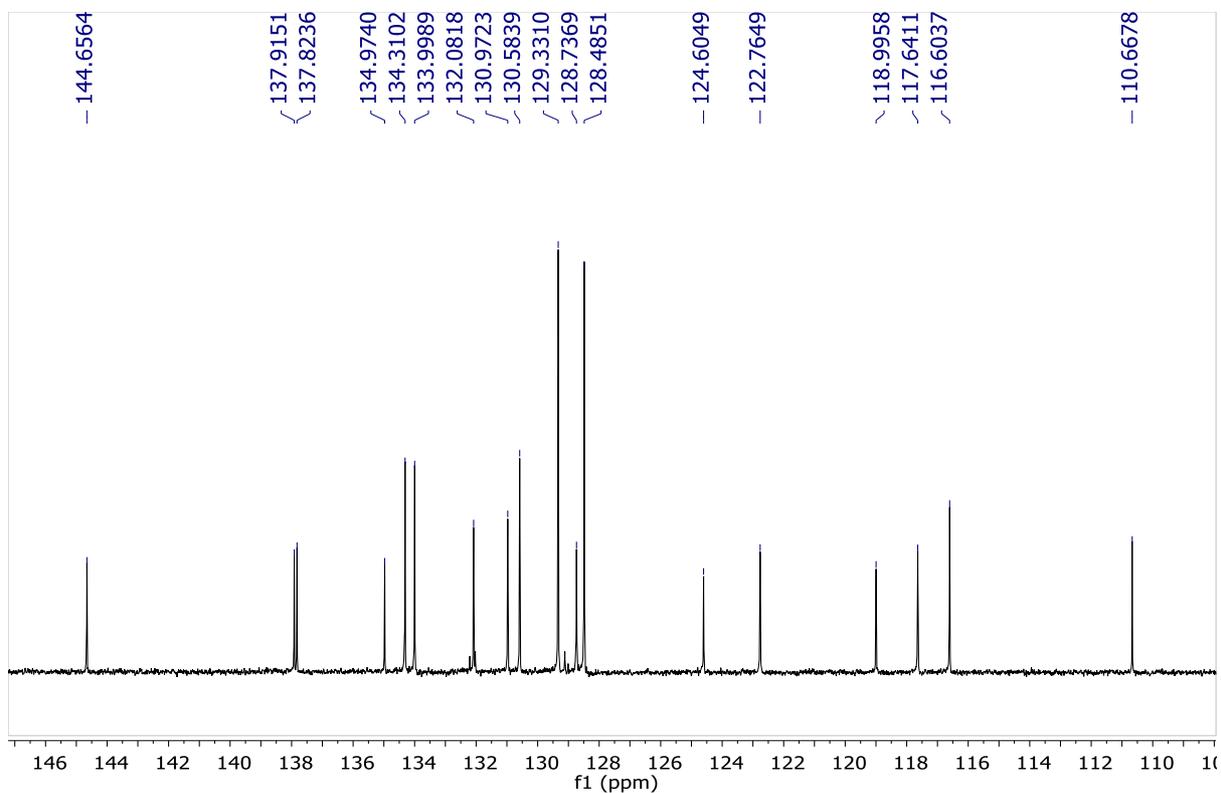


Figura 58 Ampliación de región aromática del espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  obtenida del compuesto SPD-2.

130 #8876 RT: 30.22 AV: 1 NL: 7.15E6  
T: + c EI Full ms [50.00-650.00]

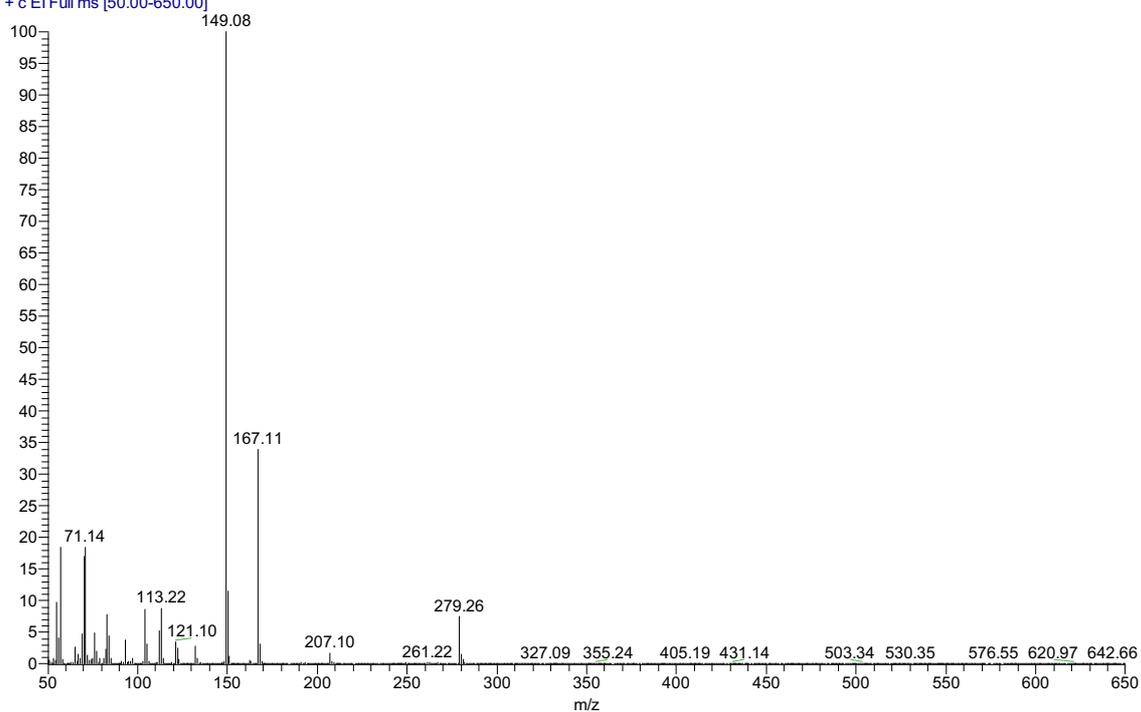


Figura 59 Espectro obtenido por IE del compuesto SPD2.

SPD3

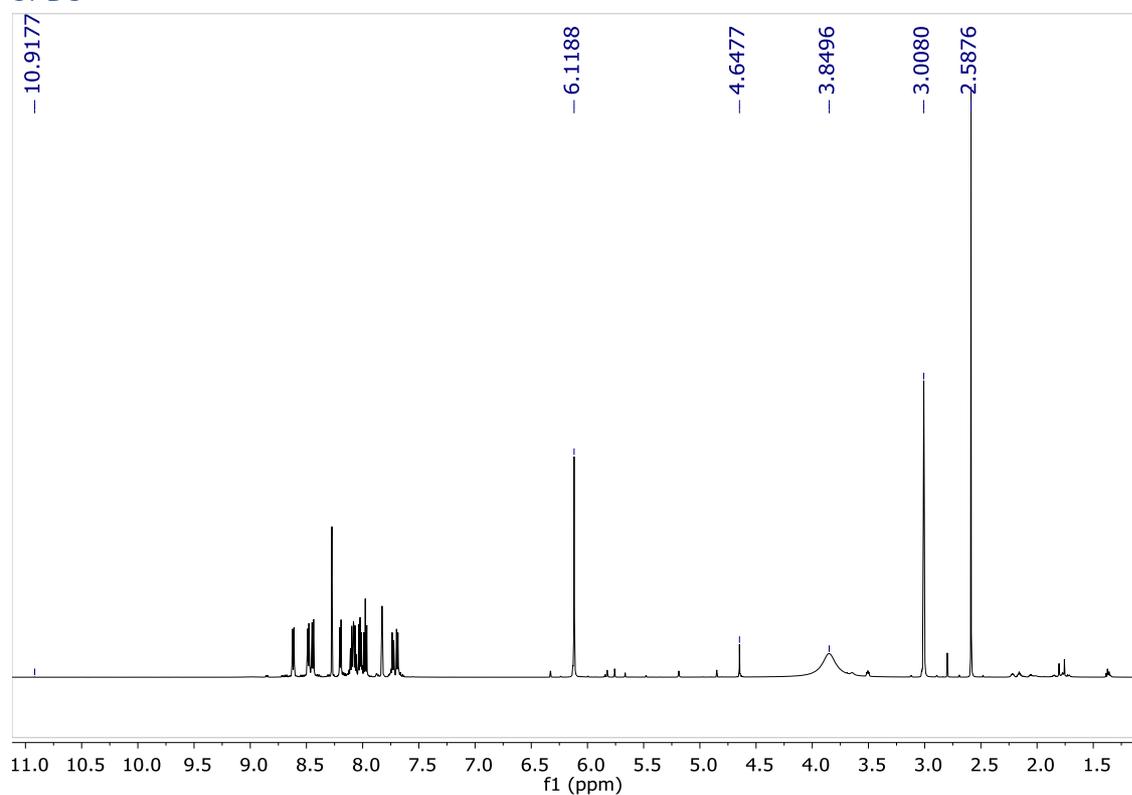


Figura 60 Vista general de espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de compuesto SPD-3.

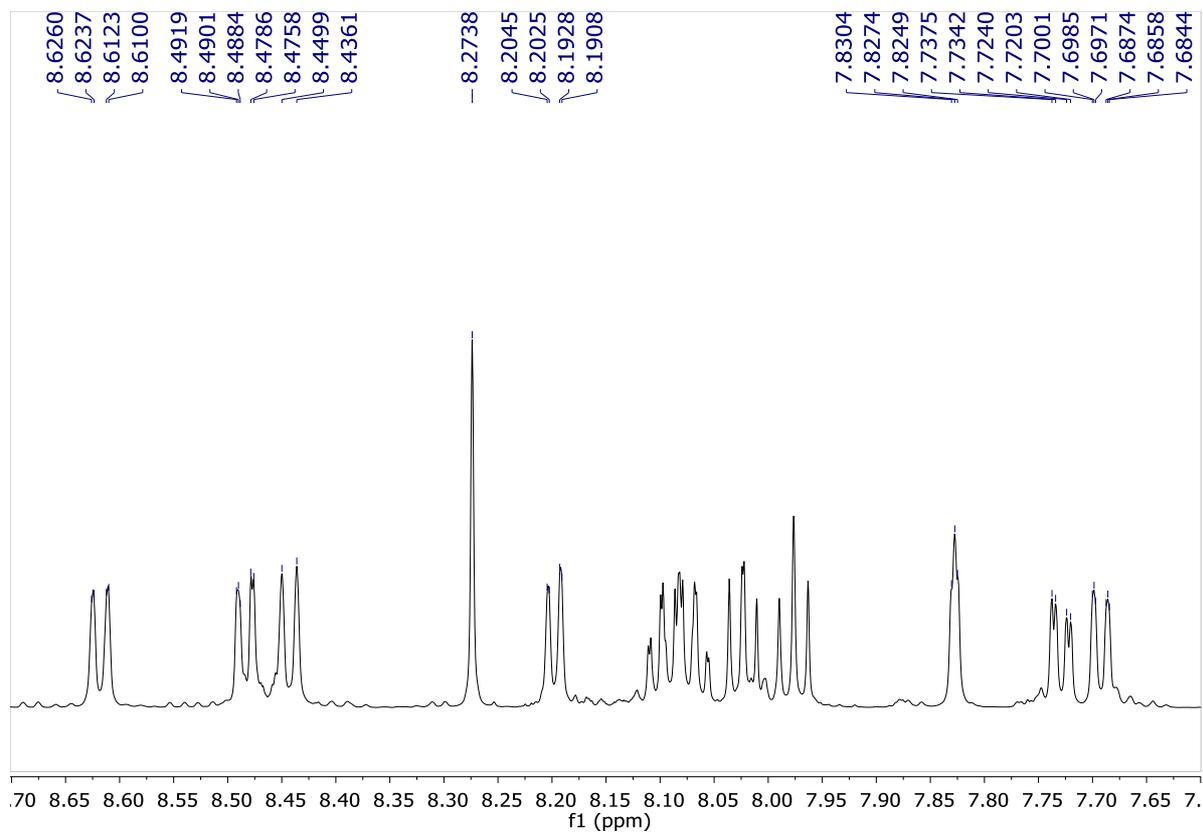


Figura 61 Ampliación en zona aromática del espectro de RMN  $^1\text{H}$  obtenido del compuesto SPD3.

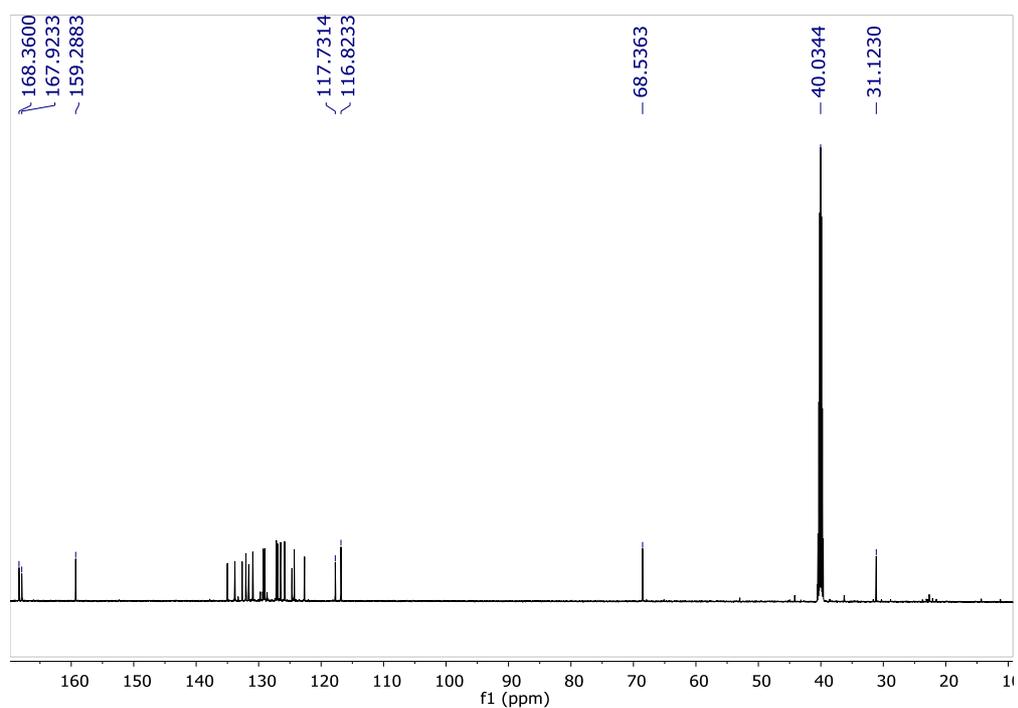


Figura 61 Vista general de espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  obtenida del compuesto SPD3.

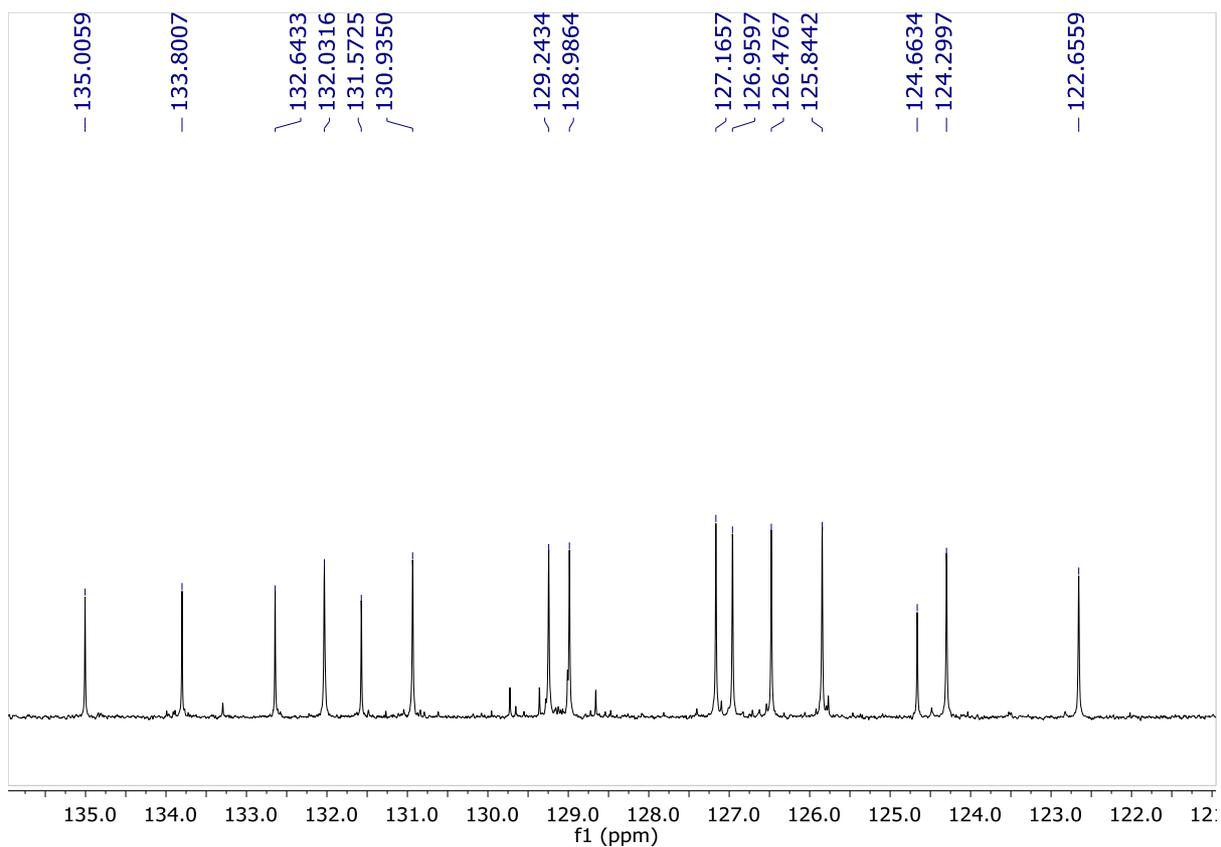


Figura 62 Ampliación de región aromática del espectro de RMN <sup>13</sup>C obtenido del compuesto SPD3.

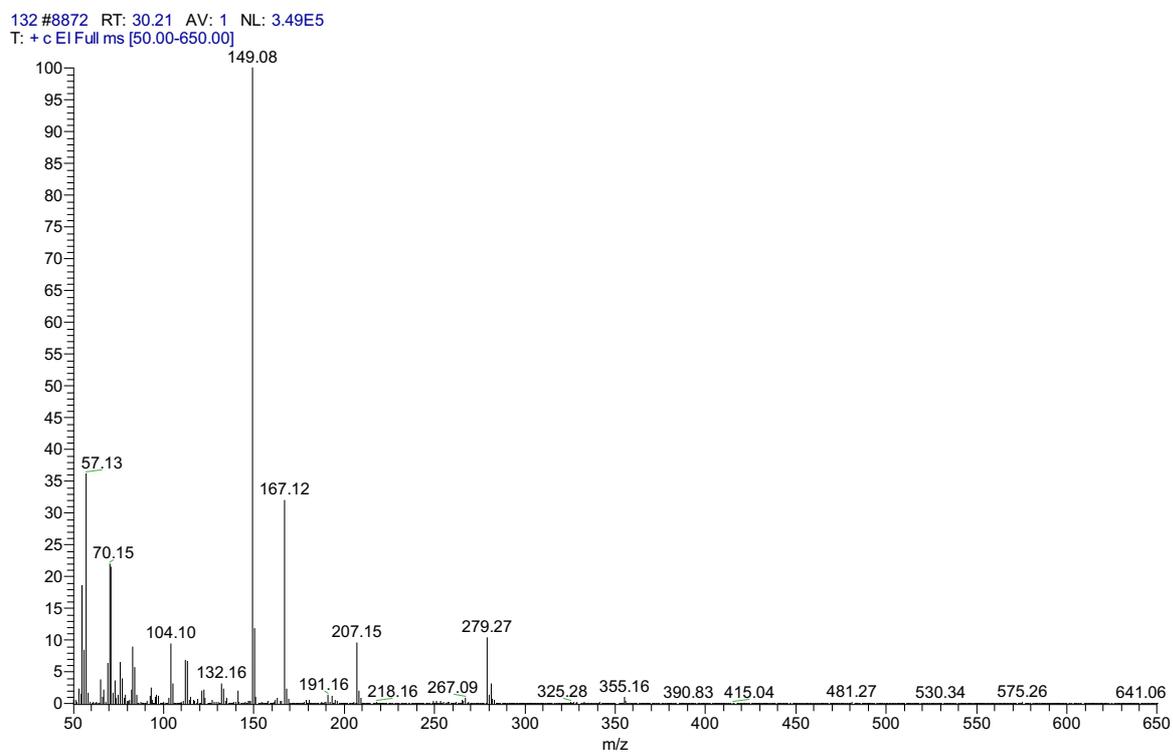


Figura 63 Espectro obtenido por IE del compuesto SPD3.

## AGRADECIMIENTOS

A **CONACyT** por el apoyo otorgado para el proyecto de investigación en ciencia básica 2015, número 253814.

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

Al **Dr. Paolo Paoli** del departamento de Ciencias Biomédicas, Experimentales y Clínicas de la Universidad de Florencia por la colaboración en las pruebas *in vitro* de los compuestos sobre enzima PTP-1B.

A los **M. en F. Yelzin Galván Ciprés, Carlos Christian Miranda Gonzales y Josué Martínez Miranda** por la asesoría y ayuda prestada durante las pruebas *in vivo*.

Al comité revisor formado por: **Dr. Samuel Enoch Estrada Soto, Dra. Yoshajandith Aguirre Vidal, Dra. Priscila Sinaí Rendon Vallejo, M. en F. Abraham Alberto Gutiérrez Hernández y Dr. Sergio Nemorio Hidalgo Figueroa** por el apoyo brindado y el tiempo dedicado a realizar las observaciones necesarias.

A los trabajadores y profesores de la Facultad de Farmacia por las facilidades y apoyo otorgado durante mi formación.

Al **Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez** quien me abrió las puertas y me aceptó para formar parte de su grupo de investigación en el laboratorio además de compartirnos su amplio conocimiento en el área de química farmacéutica y finalmente por convertirme en su proyecto.

## **DEDICATORIA**

Les dedico este trabajo a mis padres Melitón Peralta Díaz y Martha B. Diaz Guzmán a los que les debo todo por su constante apoyo, confianza y sobre todo amor.

A “Salerito”, gracias por todo, esta tesis también es tuya.

A mis queridos amigos Alma, Mauricio, Noemi, Valeria y Yelzin.

A los amigos y compañeros del Laboratorio 5 que siempre hemos sido como una familia.

Y al querido supremo líder López Obrador por las becas ofrecidas.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA

Secretaría de Docencia

Jefatura de Licenciatura en Farmacia

Fecha: 14 de marzo del 2023

Asunto: VOTOS APROBATORIOS

Medio de notificación: Electrónico

Folio: FF/D/SD/JLF/54/2023

**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 **“Síntesis de 3-ariloxibencilidentiazolidindionas, efecto inhibitorio *in vitro* contra PTP-1B y evaluación de su efecto antidiabético”** presentado por el/la pasante de la carrera de Licenciado en Farmacia. **C. Sergio Peralta Díaz (20151008832)**, 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. Yoshajandith Aguirre Vidal

\_\_\_\_\_

Dra. Priscila Sinaí Rendón Vallejo

\_\_\_\_\_

M. en F. Abraham Gutiérrez Hernández

\_\_\_\_\_

Dr. Sergio Nemorio Hidalgo Figueroa

\_\_\_\_\_



Atentamente

**“Por una humanidad culta  
una Universidad de excelencia”**

**M.P.D. REYNA AMÉRICA SERRANO LÓPEZ**  
**SECRETARIA DE DOCENCIA**

C.c.p.: archivo  
\*BEDM

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México. C.P. 62209, Edificio 61, ala C, 2° piso.  
Tel. (777) 329 7000.



Una universidad de excelencia

RECTORÍA  
2017-2023



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

REYNA AMERICA SERRANO LOPEZ | Fecha:2023-03-16 17:54:35 | Firmante

jTCM6NZnJHmi926Zv/T0cMqC/jms4SqBZoo3M9d4/N998pNclUPkWB/DRbl/od7+20iKOdlRhbm6NgTZ+FTP+C3GIg24KwIaxwy4Y+N5FahLn7dbMjlvGgDwl7ci4XPw+N5P5420leBakOQpDcom2LygAJh9IGQo41yXkWuJysyJvwkau2CZXhnlszB4KHDZVoyRd57Hdg26xzkEk3cZY+YfJn/JxyiiRIRihK/xsL14cRQED9BjFohlUQpyVdeXriFIRfi0qHXW5/ybEXM+iERO1nBUcC3flSpOFmKW9xqqYqol9/7SSxBXuW+NVHR6t3qkJpDKTEk4V1w9fC/Kg==

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



**A431FMU7E**

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/SR1IWtOTJiLbCyDnzKolUTE392jguY6v>





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

ABRAHAM ALBERTO GUTIERREZ HERNANDEZ | Fecha:2023-03-21 22:18:36 | Firmante

Nkms60DqrtgV515MgEH218yqEtVDGt0u1UEr5zMKr2gfb92ZIDUL9EVO2Wwvn7TJt4K+Pv1xliO2zA4O+AqAfrjvcOcif2Y4NJXUx3ZpRka3LKIKVqVueFH2tO2oylFWHulMxuvBS5i dfzhLkCiuVRcZnP1CmxYqn5etkBOdVLGjr82P2GxMDptWGX8aPSOHV2jfVgiBDwUp2b5YLPWw3hRoEglSphUODwobsGj3rO4H+HmSJE5sOm4PUDGXPLFY7Bxafny+rkVdDn HMU8TxYGnilkojQg1U7A7RVJG158vgip+F9DhqUwBkQ4WTjsBKlvsDb6eo8jv/z9QQ2Q==

SERGIO NEMORIO HIDALGO FIGUEROA | Fecha:2023-03-22 13:22:53 | Firmante

k07XnC3n8OKqjRwab2qaK4/mxFAQ3vehs/XZw++vaiUI/h3spKoMcDtipSXrhXv+5+drSXO21qW/jUJwvxhveyzCbvoWXWm5R42dgbuyvfhR0+dvEwXJBQik+m3yrl+I73/CM3KxJ 3tSdWILYLnf0xBSpqGdfNNxAbp3RrhAWQOWviS33H68y8J9Q8gD331IkVSlk+QDvy/vxuPYXM+j+d1phRv73/cJAjSjQsH5qa8xOFk/ojss3yqCWF8QewbRRfufJd7onNcAdXqlHxsa fqHJ60T2C1o2rAkiC6RDnXizHfz8iT6jgtRgilZUCHfs5CRA8OetoSYDbUYsMg==

PRISCILA SINAI RENDON VALLEJO | Fecha:2023-03-23 08:57:51 | Firmante

CyL/m4g2tG/uEsbxGBpf+m9HGhju+KLLQMo9RIFIHEB0Oiq2ozP914X44kbPgrvSyMpl4upPshbeOyAfG/ajG1C2T9xuEFKkacWCCedB7XnLT1toY9L4kpLlaNI3IMopa3QAychifw MD5subaLyi1Swv3pPVhT91clQOXQ5wS/MgfdXDawCJoQTD8Jr3/aeqrC1PmC5TDuzlbtI+pHmTL8H9nJqOYN3C5U42DGbKFHR1QUUqts5nYxpTbVFPmbxRiwTQH0KXxJj58L6 diQCd6BjXVzIM1ve2+CUyQ1c0N3ESZKoiTWA7xT/D1vu69OIYO/T+veuBL/9IE71qt3Msw==

YOSHAJANDITH AGUIRRE VIDAL | Fecha:2023-03-23 11:09:04 | Firmante

vuwThe2jKBCOHHnPo36ZuoqhUmxvWp6hfSWH21KXEG9d8V6OrTWPRGqzvaO6nQmN1nSzf+rkOEaQpOXw/Ax9gXD1G0JkcCh61YL00tgChy4dAybmOg6xJyMbG2uYzT1O HgMyVJu6CTi3cBWFVcNet1N0ySYpvR5ah398YE29ktdL1OT55hewhqs3PMiQ+qZP1zbDueFEz8McdadeGv0xEgksMPNqPTniRwqH6vWz6MXkGhKb7Jf4gmGNh30gkVvT2cfAY Sk8CJEPmnaO+tSa73vG8L77Bf8W4UBi5OUixOhlmNb2PBulrz21BZhA+yaAoXeDheCp8SwkaL7Os7bA==

SAMUEL ENOCH ESTRADA SOTO | Fecha:2023-03-23 11:36:49 | Firmante

oehOho87Cs6tbgWkiiMgCh9ghA6Hs4pUuXiGOeLHa5RTdpGQ7VHNNoWjeyKURn+wNCZwss03u9lBa6/ghVLxn6hzhDb+i78bZl3xEcpFOT6/sp4mSS8JK7nQ5jVbDnFcXsXCUFa s/34o0Eco7y8voQvJyAm526rQ4KG7CgP+UTZFfSv7WEh0ncxIH7eLcXU/aiAceBGh4EZBKkHvXRsbavJZDwSOYfbaAmjVjASH6CHKIv9FNfU9guyzPj1F+5viM3X8Ty9MpbLs3b YGagWqHzwen1Xw7uPMC2y/Av6Jlxt73Q76Cip/AM2OprmwgTE6IH5+1c1ixRi8aD5EFtBHg==

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



6iacrdXpb

https://efirma.uaem.mx/noRepudio/jZBDS4TrBdy5OvZrpfCqs6BZyz1gafQ4

