



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Facultad
de Farmacia

Conocimiento al servicio de la salud

Universidad Autónoma del Estado de Morelos

FACULTAD DE FARMACIA

**DISEÑO Y SÍNTESIS DE ÁCIDOS 3-(2-ARILOXIFENIL)
PROPENOICOS CON ACCIÓN ANTIHIPERGLUCÉMICA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN FARMACIA

P R E S E N T A

L.F. Norma Angélica Hernández Martínez

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

Cuernavaca Morelos, 2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos a 19 de enero 2023
Folio: FF/M/SI/ CIP /MF/01/2023

L. F. NORMA ANGÉLICA HERNÁNDEZ MARTÍNEZ
ALUMNA DE MAESTRÍA EN FARMACIA

PRESENTE

Por este medio le informo que el Consejo Interno de Posgrado (CIP), en su Sesión Ordinaria del 18 de enero de 2023, designó a los siguientes sinodales como integrantes de la Comisión Revisora y Jurado para la tesis titulada **“DISEÑO Y SÍNTESIS DE ÁCIDOS 3-(2-ARILOXIFENIL) PROPENOICOS CON ACCIÓN ANTIHIPERGLUCÉMICA”**.

Sinodal

Presidente Dr. Samuel Enoch Estrada Soto
Secretario Dra. Maria Crystal Columba Palomares
Vocal 1 Dr. Miguel Ángel Herrera Rueda

Suplente 1 Dra. Yoshajandith Aguirre Vidal
Suplente 2 Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

Adscripción

Facultad de Farmacia-UAEM
Facultad de Farmacia-UAEM
Cross Cancer Institute, University of Alberta,
Canadá
INECOL
Facultad de Farmacia-UAEM

Se le solicita entregar el manuscrito de tesis para revisión a esta comisión y dar fluidez a los trámites como se indica en el manual de procedimientos.

Nota (Art. 74 RGEP-UAEM): Los sinodales tendrán un plazo máximo de 20 días hábiles contados a partir de la recepción del documento de tesis para entregar los comentarios de la revisión y para emitir un voto aprobatorio o negatorio. En caso de condicionar el voto a la entrega de un documento en el que el tesista deberá solventar lo revisado, este contará con un plazo no mayor a 20 días hábiles, contados a partir de la notificación del primer dictamen emitido, para integrar las correcciones señaladas, una vez fenecido dicho plazo el sinodal emitirá el voto aprobatorio o negatorio que corresponda.

Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. SERGIO ALCALÁ ALCALÁ
Jefatura de Posgrado

ccp: archivo.

Dr. Samuel Enoch Estrada Soto; Dra. Maria Crystal Columba Palomares; Dr. Miguel Ángel Herrera Rueda; Dra. Yoshajandith Aguirre Vidal; Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez



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

SERGIO ALCALA ALCALA | Fecha:2023-01-21 13:43:55 | Firmante

YltcY2lL0eHfE3CsG7Lh5Y9OYrbs149lCS0haUBttM3NE8vWM6C05dOQ5lX0v8K1gmt302PKWmqCR0ohpapF2JHK3s4HAfuZJPIOn1SzyAC0ewTYmLoFhilXg7e+YlXrflfRJK0/zC
GkrVGkP4xOyFzupxORSdm27MEv/adWgJ7/TwZTRLQtCIW6ehcJU57UTPF7sMMjIEQH6mgd6gd08WO+UaVctinLWCybv5TZYQ4kKDU8HijQuoMRcrho01fzLaAA6dqCa0yi+Je
FlmORFWpqCy9mw9z+vwLXqB1zqrk8A8qsdVymY8XSciBTGRjyvcx1U/vTD5bUJBjeMr2A==

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



[gVULRIEM1](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/czzN32ihpxc2x6allqvl4OcDChgbf3kK>



AGRADECIMIENTOS

- A **CONACyT** por el apoyo otorgado para el proyecto de investigación en ciencia básica, 2015, número **253814** y por la beca de maestría otorgada con el número de apoyo: **792566**.
 - A la **Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM)** para la realización de este proyecto.
 - Al **Dr. Emanuel Hernández Núñez** y la **Dra. Gloria Ivonne Hernández Bolio** del Departamento de Recursos del Mar CINVESTAV unidad Mérida por la colaboración en la obtención de espectros de los análisis espectroscópicos y espectrométricos.
 - Al **Dr. Julio César Almanza Pérez** de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) unidad Iztapalapa por la realización de los ensayos *in vitro* para este proyecto.
 - Al **Dr. Samuel Enoch Estrada Soto** y al **LF. José Martín Mundo Campuzano** de la Facultad de Farmacia por la colaboración en la realización de la curva de tolerancia a la glucosa.
 - A los integrantes del comité tutorial: **Dr. Samuel Enoch Estrada Soto**, **Dr. Julio César Almanza Pérez** y el **Dr. Gabriel Navarrete Vázquez**, por las observaciones y el apoyo en el transcurso de la elaboración de este proyecto.
 - Al comité revisor: **Dr. Samuel Enoch Estrada Soto**, **Dra. María Crystal Columba Palomares**, **Dr. Miguel Ángel Herrera Rueda**, **Dra. Yoshajandith Aguirre Vidal** y **Dr. Gabriel Navarrete Vázquez** por las observaciones realizadas y tiempo invertido en la revisión de este proyecto.
 - Al **Dr. Gabriel Navarrete** por recibirme nuevamente en su equipo de investigación, guiarme y acompañarme no solo en mi crecimiento académico sino también personal, al igual que mis compañeros de laboratorio que hicieron de mi estancia en el posgrado un momento muy agradable.
-

DEDICATORIAS

Quiero dedicar este trabajo principalmente a Dios, por todas las bendiciones que recibí, agradezco por permitirme llegar al momento de obtener mi grado de Maestra en Farmacia y sobre todo adquirir todos los conocimientos, aprendizajes y experiencia en este periodo.

A mis padres **Humberto Hernández García** y **Norma Elia Martínez Dávila** por su apoyo incondicional para cumplir mis metas y sueños, espero, con todo mi corazón que Dios nos permita compartir muchos años más para tener la oportunidad de retribuirles tanto amor.

A mi hermana **Mitzi Nadxiell Hernández Martínez**, tenerte en mi vida es un regalo, lo mejor que pudo pasarme, agradezco tu apoyo y enseñanzas, te deseo siempre mucho crecimiento y amor en tu vida. Te amo

A mi abuelita **María Esther García Díaz**, por impulsarme siempre a mejorar, a aprender cosas nuevas y mejorar, siempre te admiraré, te quiero infinitamente.

A mi amiga **Abril**, que, aunque no pudimos compartir de nuevo la experiencia en el laboratorio, tu compañía, apoyo y hermosa amistad siguió presente, te admiro y sé que llegarás muy lejos.

A mis grandes amigos y compañeros de posgrado, **Sam** y **Georgi**, sinceramente no sé qué habría sido de mí sin su apoyo, consejos y amistad, fueron pieza clave para sostenerme en momentos muy difíciles, hicieron de la maestría un proceso feliz, alegre y divertido, me ayudaron a crecer en muchos aspectos, valoraré su amistad y recordaré todo esto por siempre.

A mis queridísimos amigos del L-5 siempre un gusto compartir con todos ustedes, **Conde**, **Abraham**, **Georgi**, **Sam**, **Wendy**, **Ahilyn**, **Fer** y **Diego**, gracias por todos esos momentos, por siempre estar dispuestos a brindar ayuda cuando lo necesité, por hacerme reír y por las enseñanzas, también gracias especiales porque, aunque entiendo que a algunos les cuesta más trabajo, siempre se han mostrado dispuestos a apoyar en lo que pueden en los TikToks, en fin, gracias por ser parte de mi familia L-5.

A mi primo **Sergio Daniel Martínez Alvarado** [†] sacudiste mi mundo, me enseñaste a seguir a pesar de que las cosas pueden tornarse muy difíciles y tristes, pero sé que te encuentras en un lugar lleno de paz y que no es un más que un breve adiós, te recordaré siempre con amor.

Al amor de mi vida, **Arturo**, sabes que sin ti todo este proceso no hubiese sido como lo fue, te amo, gracias por hacer de mi vida algo tan bonito y especial, sigamos compartiendo y apoyándonos en todo a lo largo de nuestra vida.

ÍNDICE GENERAL

ABREVIATURAS.....	IV
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	VI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VI
ÍNDICE DE TABLAS.....	VIII
ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS.....	X
RESUMEN.....	XI
ABSTRACT.....	XII
1.- INTRODUCCIÓN.....	1
2.- ANTECEDENTES.....	3
2.1.- Diabetes y clasificación.....	3
2.2.- Epidemiología.....	6
2.3.- Diagnóstico de la DT2.....	7
2.3.1. Factores de riesgo.....	7
2.3.2. Signos y síntomas.....	8
2.3.3. Diagnóstico de DT2.....	8
2.4.- Fisiología de la DT2.....	9
2.4.1. Síntesis y liberación de la insulina.....	9
2.4.2. Señalización de la insulina.....	10
2.4.3. Resistencia a la insulina.....	11
2.4.2. Complicaciones de la DT2.....	13
2.5.- Tratamiento de la DT2.....	14
2.5.1. Biguanidas.....	15
2.5.2. Sulfonilureas.....	16
2.5.3. Glinidas.....	17
2.5.4. Inhibidores de la α glucosidasa.....	17
2.5.5. Inhibidores de la DPP-4.....	18
2.5.6. Agonistas de GLP-1.....	19
2.5.7. Glitazonas o tiazolidindionas.....	20
2.6.- Blancos terapéuticos para el tratamiento de la DT2.....	20
2.6.1. Receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPARs).....	20
2.6.2. Receptor de ácidos grasos libres (FFA1) GPR40.....	23
2.7.- Derivados de ácidos cinámicos.....	25
3.- JUSTIFICACIÓN.....	28
4.- HIPÓTESIS.....	28
5.- OBJETIVOS.....	28
5.1.- Objetivo general.....	28
5.1.- Objetivos particulares.....	29
6.- CONSIDERACIONES DEL DISEÑO MOLECULAR.....	30
7.- METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	33
7.1.- Evaluación <i>in silico</i>.....	33
7.1.1. PASSonline.....	33
7.1.2. SwissADME.....	33
7.1.3. ADMETlab.....	34
7.1.4. Bio Transformer 3.0.....	34
7.1.5. ACD/ToxSuite.....	35

7.1.6. Osiris Property Explorer.....	35
7.1.7. Acoplamiento molecular.....	36
7.2.- Síntesis química	37
7.2.1. Retrosíntesis.....	37
7.2.2. Síntesis general de los compuestos NAH 1-5	38
7.3.- Evaluación farmacológica	39
7.3.1.Evaluación farmacológica <i>in vitro</i>	39
7.3.1.1. Ensayos <i>in vitro</i> sobre receptores PPAR- γ y transportador de glucosa tipo 4 (GLUT-4).....	39
7.3.1.2. Ensayos sobre adipocitos diferenciados con los compuestos NAH-2 , NAH-3 y NAH-4 y cuantificación de la expresión de RNA's mensajeros.....	39
7.3.2.Evaluación farmacológica <i>in vivo</i>	41
8.- RESULTADOS	42
8.1.- Resultados de Evaluación <i>in silico</i>	42
8.1.1.PASSonline.....	42
8.1.2.SwissADME.....	43
8.1.3.ADMETlab.....	44
8.1.4.ACD/ToxSuite.....	45
8.1.5. Bio Transformer 3.0	46
8.1.6.Osiris Property Explorer.....	48
8.2.- Resultados del acoplamiento molecular	48
8.2.1.Acoplamiento molecular sobre GPR40.....	49
8.2.1.1. Validación sobre GPR40.....	49
8.2.1.2. Acoplamiento molecular del compuesto NAH-1 sobre GPR40.....	51
8.2.1.3. Acoplamiento molecular del compuesto NAH-2 sobre GPR40.....	52
8.2.1.4. Acoplamiento molecular del compuesto NAH-3 sobre GPR40.....	53
8.2.1.5. Acoplamiento molecular del compuesto NAH-4 sobre GPR40.....	54
8.2.1.6. Acoplamiento molecular del compuesto NAH-5 sobre GPR40.....	55
8.2.2. Acoplamiento molecular sobre PPAR- γ	56
8.2.2.1. Validación sobre PPAR- γ	56
8.2.2.2. Acoplamiento molecular del compuesto NAH-1 sobre PPAR- γ	57
8.2.2.3. Acoplamiento molecular del compuesto NAH-2 sobre PPAR- γ	58
8.2.2.4. Acoplamiento molecular del compuesto NAH-3 sobre PPAR- γ	59
8.2.2.5. Acoplamiento molecular del compuesto NAH-4 sobre PPAR- γ	60
8.2.2.6. Acoplamiento molecular del compuesto NAH-5 sobre PPAR- γ	61
8.3.- Análisis de consenso farmacológico	62
8.4.- Síntesis química	63
8.4.1.Síntesis general de los precursores 2-(aril-metoxi)benzaldehídos (NAH 7-11).....	63
8.4.1.1. Síntesis del 2-(naftalen-1-ilmetoxi)benzaldehído (NAH-7).....	64
8.4.1.2. Síntesis del 2-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)benzaldehído (NAH-8).....	69
8.4.1.3. Síntesis del 4'-((fenoxiformil)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo (NAH-9)....	70
8.4.1.4. Síntesis de la 2-(2-morfolinoetoxi)benzaldehído (NAH-10).....	75
8.4.1.5. Síntesis del 2-(2-(piperidin-1-il)etoxi)benzaldehído (NAH-11).....	75
8.4.2. Síntesis general de los compuestos finales NAH 1-5	79

8.4.2.1. Síntesis del ácido-3-(2-((2'-ciano-[1,1'-bifenil]-4-il)metoxi)fenil)propenoico (NAH-3).....	79
8.4.3. Tablas de espectroscopía de RMN ¹ H y ¹³ C de los compuestos finales (NAH 1-5).....	85
8.5.- Evaluación farmacológica	90
8.5.1.Evaluación farmacológica <i>in vitro</i>	90
8.5.1.1. Ensayo <i>in vitro</i> sobre la expresión relativa de PPAR- γ y GLUT4.....	90
8.5.2.Evaluación farmacológica <i>in vivo</i>	92
8.5.2.1. Curva de tolerancia a la glucosa realizada con los compuestos NAH-2 y NAH-3	92
9.- CONCLUSIONES	93
10.- PERSPECTIVAS	94
11.- PARTE EXPERIMENTAL	94
11.1.- Instrumentación	94
11.2.- Cromatografía	95
11.3.- Síntesis de los compuestos finales NAH 1-5	96
11.3.1. Síntesis del ácido-3-(2-(naftalen-1-ilmetoxi)fenil)propenoico (NAH-1).....	96
11.3.2. Síntesis del ácido-3-(2-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)fenil)propenoico (NAH-2)..	97
11.3.3. Síntesis del ácido-3-(2-((2'-ciano-[1,1'-bifenil]-4-il)metoxi)fenil)propenoico (NAH-3).....	98
11.3.4. Síntesis del ácido-3-(2-(2-morfolinoetoxi)fenil)propenoico (NAH-4).....	99
11.3.5. Síntesis del ácido-3-(2-(2-(piperidin-1-il)etoxi)fenil)propenoico (NAH-5)...	100
11.4.- Síntesis de los compuestos precursores NAH 7-11	101
11.4.1. Síntesis del 2-(naftalen-1-ilmetoxi)benzaldehído (NAH-7).....	101
11.4.2. Síntesis del 2-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)benzaldehído (NAH-8).....	102
11.4.3. Síntesis del 4'-((fenoxiformil)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo (NAH-9).....	103
11.4.4. Síntesis de la 2-(2-morfolinoetoxi)benzaldehído (NAH-10).....	104
11.4.5. Síntesis del 2-(2-(piperidin-1-il)etoxi)benzaldehído (NAH-11).....	105
12.- ANEXOS	106
13.- REFERENCIAS	117

ABREVIATURAS

ADA	Asociación Americana de Diabetes
AKT	Proteína quinasa
ATP	Trifosfato de Adenosina
CAT	Carnitina-acilcarnitina translocasa
CCF	Cromatografía en Capa Fina
CI ₅₀	Concentración inhibitoria media
CTG	Curva de tolerancia a la glucosa
DAG	Diacilglicerol
DHA	Ácido docosahexaenoico
DL ₅₀	Dosis letal media
DPP-4	Dipeptidilpeptidasa 4
DT2	Diabetes tipo 2
FFA1	Receptor de ácidos grasos libres 1
GAA	Glucosa Anormal en Ayunas
GAD	Anticuerpos anti-glutamato descarboxilasa
GDP/GTP	Guanosín difosfato/Guanosín trifosfato
GIP	Polipéptido Insulinotrópico Dependiente de Glucosa
GLP-1	Péptido Análogo del Glucagón
GLUT-4	Transportador de Glucosa-4
GPR40	Receptor acoplado a proteína G
GPx	Glutación peroxidasa
hERG	human Ether-a-go-go related gene
HLA	Antígenos leucocitarios humanos
HMBC	Conectividad heteronuclear a enlaces múltiples
IDF	Federación Internacional de Diabetes
IKK	Quinasa inhibidora de kB
IL-6	Interleucina 6
IR	Receptores de Insulina
ISR	Sustratos del Receptor de Insulina
ITG	Intolerancia a la Glucosa
JNK	Quinasa Jun N-terminal

Ki	Constante de inhibición
LogP	Logaritmo del coeficiente de partición n-octanol/agua
MAPK	Proteína Quinasa Activada por Mitógenos
MCP	Proteína quimiotáctica de monocitos
mg/dL	Miligramo por decilitro
mmol/L	Milimol por litro
MODY	Diabetes de la edad madura que se presenta en el joven
OECD	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico
PDB	Protein Data Bank
PI3K	Fosfatidil Inositol 3-quinasa
PIP ₃	Fosfatidilinositol Trifosfato
pKa	Logaritmo negativo de la constante de disociación ácida
PKD1	Proteína quinasa dependiente de fosfoinosítido 1
PLC	Fosfolipasa C
PM	Peso Molecular
PPARs	Receptores del proliferador de peroxisomas
PPAR β/δ	Receptor Activado de Proliferador de Peroxisoma beta/delta
PPAR- γ	Receptor Activado de Proliferador de Peroxisoma gamma
ppm	Partes por millón
PYY	Péptido Tirosina Tirosina
RE	Retículo Endoplásmico
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMSD	Desviación cuadrática media
SAR	Relación estructura-actividad
SGLT-2	Cotransportador de sodio-glucosa tipo 2
SOCS3	Supresor de la señalización de citoquinas 3
SOD	Superóxido dismutasa
SUR1	Receptor de sulfonilurea 1
TLR4	Receptor de tipo Toll 4
TNF	Factor de Necrosis Tumoral
TPSA	Área total polar superficial

ÍNDICE DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1. Compuestos propuestos tomando la estructura de agonistas endógenos y distintas moléculas sintetizadas en el laboratorio 5.....	32
ESQUEMA 2. Retrosíntesis propuesta para la obtención de las materias primas y la posterior síntesis de los compuestos finales NAH 1-5	37
ESQUEMA 3. Ruta de síntesis para la obtención de los compuestos finales NAH 1-5	38
ESQUEMA 4. Ruta general de síntesis para la obtención de compuestos precursores NAH 7-11	64
ESQUEMA 5. Ruta de síntesis para la obtención del precursor NAH-7	64
ESQUEMA 6. Ruta de síntesis para la obtención del precursor NAH-8	69
ESQUEMA 7. Ruta de síntesis para la obtención del precursor NAH-9	70
ESQUEMA 8. Ruta de síntesis para la obtención del precursor NAH-10	75
ESQUEMA 9. Ruta de síntesis para la obtención del precursor NAH-11	76
ESQUEMA 10. Ruta de síntesis general para los compuestos finales NAH 1-5	79
ESQUEMA 11. Ruta de síntesis para la obtención del precursor NAH-3	80

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Número de adultos entre 20 y 79 años que padecen diabetes a nivel mundial.....	6
FIGURA 2. Biosíntesis de la insulina.....	10
FIGURA 3. Señalización de la insulina.....	11
FIGURA 4. Mecanismo de resistencia a la insulina.....	12
FIGURA 5. <i>Galena officinalis</i> planta de donde se puede extraer la galegina.....	15
FIGURA 6. Ejemplos de sulfonilureas.....	16
FIGURA 7. Ejemplos de glinidas.....	17
FIGURA 8. Ejemplos de inhibidores de la α -glucosidasa.....	18
FIGURA 9. Ejemplos de inhibidores de la DPP-4.....	19
FIGURA 10. Estructura de liraglutida agonista del receptor de GLP-1 de larga duración.....	19
FIGURA 11. Tiazolidindionas.....	20
FIGURA 12. Mecanismo de acción de los receptores PPAR- γ	21
FIGURA 13. Estructura lineal y en 3D de PPAR- γ	22
FIGURA 14. Mecanismo de amplificación y liberación de insulina por medio de GPR40.....	23
FIGURA 15. Agonistas sintéticos de GPR40.....	24

FIGURA 16. Diversos derivados del ácido cinámico.....	26
FIGURA 17. Farmacóforo unificado para compuestos antidiabéticos.....	30
FIGURA 18. Moléculas sintetizadas en el L-5 con efecto antidiabético.....	31
FIGURA 19. Reacciones de fase I que se presentan en los compuestos NAH 1-5	46
FIGURA 20. Metabolitos de los compuestos NAH-1 , NAH-3 (glucuronidación) y NAH-4 (conjugación con glicina).....	47
FIGURA 21. Visualización en 3D del ligando cocrystalizado (TAK-875).....	50
FIGURA 22. Visualización en 2D de ligandos cocrystalizado y reacomplado.....	50
FIGURA 23. Visualización en 2D y 3D del compuesto NAH-1 sobre GPR40.....	51
FIGURA 24. Visualización en 2D y 3D del compuesto NAH-2 sobre GPR40.....	52
FIGURA 25. Visualización en 2D y 3D del compuesto NAH-3 sobre GPR40.....	53
FIGURA 26. Visualización en 2D y 3D del compuesto NAH-4 sobre GPR40.....	54
FIGURA 27. Visualización en 2D y 3D del compuesto NAH-5 sobre GPR40.....	55
FIGURA 28. Visualización en 3D del ligando cocrystalizado (Tesaglitazar).....	56
FIGURA 29. Visualización en 2D del ligando cocrystalizado y el reacomplado.....	57
FIGURA 30. Visualización en 2D y 3D del compuesto NAH-1 sobre PPAR- γ	57
FIGURA 31. Visualización en 2D y 3D del compuesto NAH-2 sobre PPAR- γ	58
FIGURA 32. Visualización en 2D y 3D del compuesto NAH-3 sobre PPAR- γ	59
FIGURA 33. Visualización en 2D y 3D del compuesto NAH-4 sobre PPAR- γ	60
FIGURA 34. Visualización en 2D y 3D del compuesto NAH-5 sobre PPAR- γ	61
FIGURA 35. Espectro de RMN ^1H del compuesto precursor NAH-7 en DMSO a 600 MHz.....	65
FIGURA 36. Ampliación de la zona aromática del precursor NAH-7	66
FIGURA 37. Espectro de RMN ^{13}C del precursor NAH-7 en CDCl_3	67
FIGURA 38. Ampliación de región aromática del espectro de RMN ^{13}C del precursor NAH-7	68
FIGURA 39. Espectrometría de masas del precursor NAH-7	69
FIGURA 40. Espectro de RMN de ^1H del precursor NAH-9 en CDCl_3 a 600 MHz.....	71
FIGURA 41. Ampliación del espectro de RMN de ^1H del precursor NAH-9	72
FIGURA 42. Espectro de RMN de ^{13}C del precursor NAH-9	73
FIGURA 43. Ampliación de las señales de los anillos A, B y C del precursor NAH-9 ..	73
FIGURA 44. Espectro de masas del precursor NAH-9	74
FIGURA 45. Espectro de RMN ^1H del compuesto final NAH-3 en CDCl_3 a 600 MHz.....	81
FIGURA 46. Ampliación de las señales correspondientes a los anillos A,B y C de NAH-3	81
FIGURA 47. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto final NAH-3	82
FIGURA 48. Ampliación de parte aromática del compuesto final NAH-3	83
FIGURA 49. Espectro en 2D HMBC del compuesto final NAH-3	83
FIGURA 50. Espectro de masas del compuesto final NAH-3	84
FIGURA 51. Niveles de expresión sobre PPAR- γ y GLUT-4 de los compuestos NAH-1 , NAH-2 y NAH-3	90
FIGURA 52. Niveles de expresión sobre GPR40 e insulina de los compuestos NAH-1 , NAH-2 y NAH-3	91
FIGURA 53. Gráfica de la prueba de tolerancia a la glucosa utilizando los compuestos NAH-2 y NAH-3	

FIGURA 54. Espectro de RMN ¹ H del compuesto precursor NAH-7	106
FIGURA 55. Espectro de RMN ¹³ C del precursor NAH-7	106
FIGURA 56. Espectro de masas del compuesto NAH-7	107
FIGURA 57. Espectro de RMN ¹ H del precursor NAH-9	107
FIGURA 58. Espectro de RMN ¹³ C del precursor NAH-9	108
FIGURA 59. Espectro de masas del precursor NAH-9	108
FIGURA 60. Espectro de RMN ¹ H del compuesto final NAH-1	109
FIGURA 61. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto final NAH-1	109
FIGURA 62. Espectro de masas del compuesto final NAH-1	110
FIGURA 63. Espectro de RMN ¹ H del compuesto final NAH-2	110
FIGURA 64. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto final NAH-2	111
FIGURA 65. Espectro de masas del compuesto final NAH-2	111
FIGURA 66. Espectro de RMN ¹ H del compuesto final NAH-3	112
FIGURA 67. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto final NAH-3	112
FIGURA 68. Espectro 2D COSY del compuesto final NAH-3	113
FIGURA 69. Espectro 2D HMBC del compuesto final NAH-3	113
FIGURA 70. Espectro de masas del compuesto final NAH-3	114
FIGURA 71. Espectro de RMN ¹ H del compuesto final NAH-4	114
FIGURA 72. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto final NAH-4	115
FIGURA 73. Espectro de RMN ¹ H del compuesto final NAH-5	115
FIGURA 74. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto final NAH-5	116
FIGURA 75. Espectro de masas del compuesto final NAH-5	116

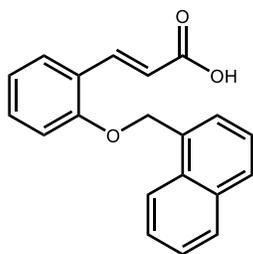
ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Otros tipos específicos de diabetes y sus causas.....	5
TABLA 2. Resultados arrojados por el portal PASSonline para los compuestos a sintetizar NAH 1-5	42
TABLA 3. Resultados del programa SwissADME.....	43
TABLA 4. Resultados obtenidos del programa ADMETlab.....	44
TABLA 5. Resultados del programa ACD/ToxSuite de los compuestos NAH 1-5 en comparación con clorfenamina y clotrimazol.....	45
TABLA 6. Resultados obtenidos con el programa Osiris Property Explorer.....	48
TABLA 7. Resultados del acoplamiento molecular realizado sobre los receptores de GPR40 y PPAR-γ.....	61
TABLA 8. Análisis de consenso farmacológico de los compuestos NAH 1-5	63
TABLA 9. Resumen de las características fisicoquímicas de los compuestos precursores NAH 7-11	76
TABLA 10. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto precursor NAH-7	77
TABLA 11. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto precursor NAH-9	78

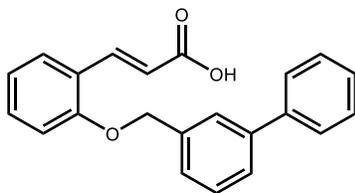
TABLA 12. Características fisicoquímicas de los compuestos finales NAH 1-5	84
TABLA 13. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto final NAH-1	85
TABLA 14. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto final NAH-2	86
TABLA 15. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto final NAH-3	87
TABLA 16. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto final NAH-4	88
TABLA 17. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto final NAH-5	89
TABLA 18. Precio de reactivos utilizados en el proyecto para la síntesis de la serie de compuestos NAH	94
TABLA 19. Fases móviles utilizadas para realizar la cromatografía de capa fina en el monitoreo de las reacciones químicas.....	95

ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS

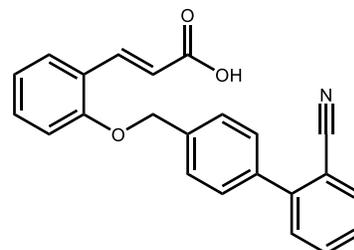
• Compuestos finales NAH 1-5.



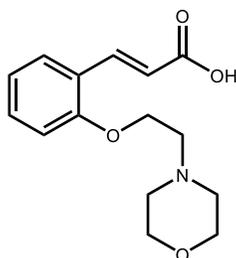
Ácido-(*E*)-3-(2-(naftalen-1-ilmetoxi)fenil)acrilico
(NAH-1)



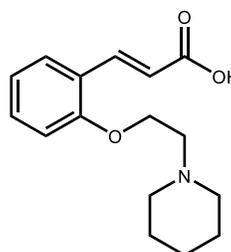
Ácido-(*E*)-3-(2-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)fenil)acrilico
(NAH-2)



Ácido-(*E*)-3-(2-((2'-ciano-[1,1'-bifenil]-4-il)metoxi)fenil)acrilico
(NAH-3)

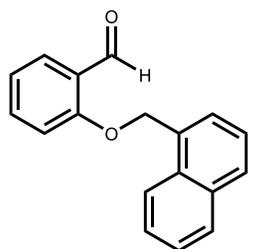


Ácido-(*E*)-3-(2-(2-morfolinoetoxi)fenil)acrilico
(NAH-4)

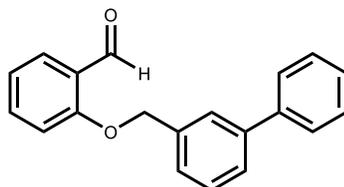


Ácido-(*E*)-3-(2-(2-(piperidin-1-il)etoxi)fenil)acrilico
(NAH-5)

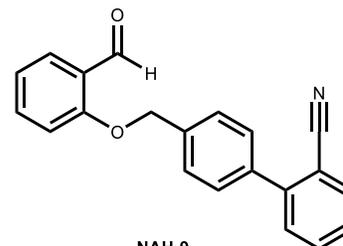
• Compuestos precursores NAH 7-11.



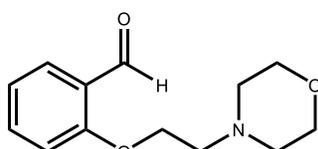
NAH-7
2-(naftalen-1-ilmetoxi)benzaldehído



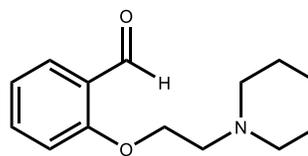
NAH-8
2-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)benzaldehído



NAH-9
4'-((fenoxiformil)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo



NAH-10
2-(2-morfolinoetoxi)benzaldehído



NAH-11
2-(2-(piperidin-1-il)etoxi)benzaldehído

RESUMEN

Los ácidos cinámicos o fenilpropenoicos son compuestos naturales que abundan en diversas plantas y alimentos que consumimos frecuentemente, varios estudios han comprobado que estos compuestos poseen distintas propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y anti proliferativas que pueden reducir la incidencia de ciertas enfermedades crónicas como la diabetes, el cáncer y enfermedades cardiovasculares. Para la Diabetes Tipo 2 (DT2) existe una amplia gama de tratamientos dirigidos a diversas dianas terapéuticas, entre ellas los receptores del proliferador de peroxisomas (PPARs) y el más novedoso, el receptor de ácidos grasos libres 1 (FFA1) o GRP40. Los ligandos endógenos que son agonistas naturales de estos receptores son ácidos grasos, los cuales se componen de cadenas alifáticas medias (10 carbonos) o largas (<18 carbonos) y además contienen al ácido carboxílico lo que les confiere propiedades ácidas (pKa 4~5), los derivados del ácido cinámico poseen estas mismas características compartidas, por esta razón las moléculas propuestas podrían actuar de manera simultánea en estos dos blancos terapéuticos evitando que el paciente consuma distintos medicamentos. El objetivo de este proyecto se enfoca en la generación de nuevas moléculas análogas del ácido cinámico o de tipo ácido graso que puedan actuar por medio de los receptores de PPAR- γ y GPR40 favoreciendo la secreción de insulina sin correr el riesgo de presentar hipoglucemia. Al mismo tiempo ser capaces de mejorar la captación de glucosa por medio del transportador GLUT-4 y de esta manera abordar la enfermedad y sus complicaciones sin la necesidad de someter al paciente a la polifarmacia.

En este proyecto cinco moléculas (**NAH 1-5**) fueron diseñadas y seleccionadas a través de un análisis de consenso *in silico* utilizando diversos servidores para analizar las propiedades fisicoquímicas, biofarmacéuticas, farmacocinéticas y toxicológicas de estas, además, un acoplamiento molecular sobre los receptores GPR40 y PPAR- γ para analizar las interacciones que presentan, con esta información se realizó un análisis de consenso farmacológico y se determinaron los compuestos a priorizar para su síntesis. Para esto, se realizó una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular (SN^2) para obtener los precursores de tipo benzaldehído-2-sustituido (**NAH 7-11**), a partir de estos precursores se realizó una condensación de Knoevenagel para obtener los compuestos finales **NAH 1-5**, una vez puros se analizaron por espectroscopía de RMN 1H y ^{13}C y espectrometría de masas. Finalmente, los compuestos elegidos se evaluaron en ensayos *in vitro* e *in vivo* para evaluar su actividad antihiper glucémica.

ABSTRACT

Cinnamic acids also known as propenoic acids, are abundant compounds in various plants and foods that we frequently consume, several resources had shown that this natural compounds have different anti-inflammatory, antioxidant and antiproliferative properties and are capable to reduce the incidence of certain chronic diseases such as diabetes, cancer, and cardiovascular illness.

For Type 2 Diabetes (T2D) there are a wide range of different treatments directed at various therapeutic targets, including peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and the most novel, the free fatty acid receptor (FFA1) or GPR40. The endogenous ligands that are natural agonists of these receptors are free fatty acids, which are composed of long (< 18 carbons) or medium aliphatic chains (10 carbons) and also contain a carboxylic acid that confers them acidic properties with a pka 4~5. These are the same characteristics that are contained in the cinnamic acids derivatives, that's why these propose molecules could act simultaneously in these therapeutic targets preventing the patient from consuming different drugs. The goal of this research project is to focus on the generation of new molecules that can act through GPR40 and PPAR- γ receptors favoring insulin secretion without running the risk of hypoglycemia. At the same time, these molecules may also be able to improve glucose uptake through the GLUT-4 transporter and thus improve the disease and its complications without the need to subject the patient to polypharmacy.

In this project 5 molecules (**NAH 1-5**) were designed and selected through *in silico* consensus analysis using different servers to analyze the physicochemical, biopharmaceutical, pharmacokinetics and toxicology properties of these compounds and also a molecular docking was performed on the GPR40 and PPAR- γ receptors to analyze the molecular interactions that they present, with this information a pharmacological consensus analysis was performed and the compounds to be prioritized for their synthesis were determined. To the chemical synthesis a bimolecular nucleophilic substitution reaction (SN²) were performed to obtain the benzaldehyde-type precursors (**NAH 7-11**), then, from this precursors a Knoevenagel condensation was performed, to obtain the final compounds **NAH 1-5**, once they were pure, they were analyzed by ¹H, ¹³C RMN spectroscopy and mass spectrometry to being sure we had the correct molecule. Finally, those compounds chosen by pharmacological consensus analysis were tested with *in vitro* and *in vivo* assays to assess the potential antihyperglycemic activity.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades no transmisibles son causadas por diversos factores que en conjunto pueden tener como resultado el desarrollo de la enfermedad, llevando a los pacientes que la padecen a vivir con un tratamiento farmacológico y cuidados de por vida, por lo que también son conocidas como enfermedades crónico-degenerativas, siendo los factores para adquirirlas ambientales, genéticos, fisiológicos y conductuales. Las principales enfermedades crónico-degenerativas que provocan la mayor cantidad de decesos por año a nivel mundial son las enfermedades cardiovasculares (17.9 millones de muertes cada año), el cáncer (9 millones), las enfermedades respiratorias crónicas (3.9 millones) y la diabetes (1.6 millones).¹ La diabetes es una enfermedad crónica que se genera cuando el páncreas no es capaz de producir insulina o existe una insuficiente secreción de esta, lo que provoca resistencia a la misma por parte de las células β del páncreas.² Esto aumenta la concentración de glucosa en el torrente sanguíneo generando una gran variedad de afecciones como ceguera, pérdida de extremidades, entre otras y aunque existen distintas clasificaciones para esta enfermedad, a nivel mundial la más común es la diabetes tipo 2, representando alrededor del 90% de todos los casos de diabetes.³ El interés por encontrar tratamientos eficientes se debe a la creciente contribución de esta enfermedad a la mortalidad general, la aparición en edades cada vez más tempranas, el hecho de que es la causa más frecuente de incapacidad prematura y el elevado costo que implica el tratamiento.⁴

En la actualidad, México ocupa el 7° lugar en el mundo con 14.1 millones de personas diabéticas,³ también es la tercera causa de muerte en nuestro país con 142,546 muertes registradas para el mes de julio de 2022.⁶ A pesar de que es de total conocimiento que este tipo de afecciones pueden ser prevenidas al seguir las recomendaciones de distintas organizaciones de salud, existen medicamentos que pueden ayudar al paciente diabético a llevar una vida normal, sin embargo, se ha observado que las personas diabéticas con el paso del tiempo generan resistencia a los medicamentos existentes por lo que es necesario generar nuevos agentes polifarmacológicos que sean útiles en el tratamiento y control de esta enfermedad.

En la naturaleza siempre se han encontrado remedios para distintas enfermedades y esto se debe a los compuestos que contienen. Por ejemplo, la florizina se extrae de la raíz del manzano y es un compuesto natural perteneciente al grupo de las gliflozinas que actúan

inhibiendo al cotransportador de sodio-glucosa tipo 2 (SGLT-2) provocando la disminución de glucosa en sangre ya que aumentan su concentración en la orina, la cual es desechada. Este proyecto tiene un enfoque en la síntesis de derivados de ácidos cinámicos, los cuales son compuestos naturales al igual que la florizina, solo que este se puede extraer principalmente de la canela y otros alimentos, y así como en algún momento la florizina se utilizó para tratar la DT2 y se sintetizaron nuevos compuestos análogos de esta selectivos para SGLT-2 (dapaglifozina y canaglifozina), se pretende sintetizar estas moléculas que derivan de un compuesto natural para beneficio de pacientes con DT2.

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, las investigaciones se han enfocado al desarrollo de nuevos fármacos que apunten a distintas dianas terapéuticas, una de ellas, descubierta recientemente es el receptor GPR40, el cual se expresa en las células β del páncreas. Su activación se debe a los ácidos grasos endógenos, los cuales estimulan la secreción de insulina sólo en presencia de una alta concentración de glucosa, pero no perturban la exocitosis de la insulina a niveles bajos de esta (valores normales 70-100 mg/dL)⁷ por lo que este receptor es un posible blanco terapéutico para mejorar la secreción de insulina en diabéticos de tipo 2.⁸ Otro grupo de fármacos que existe son las glitazonas, que actúan como agentes sensibilizadores de insulina, estos son ligandos del receptor activador de la proliferación del peroxisoma- γ (PPAR- γ), el cual abarca un grupo de receptores hormonales nucleares que participan en la regulación de genes relacionados con el metabolismo de la glucosa y de los lípidos.⁹ Asimismo aumentan la utilización de glucosa y favorecen la acción metabólica de la insulina.¹⁰ Por otra parte, los derivados del ácido cinámico mantienen un parecido estructural con los ligandos endógenos de estos receptores por lo que parece razonable investigar si tendrían acción antihiper glucémica.

2. ANTECEDENTES

2.1.- Diabetes y clasificación

La diabetes es un trastorno metabólico de múltiples etiologías que se caracteriza por una hiperglucemia crónica junto con alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono, los lípidos y las proteínas, como consecuencia de defectos en la secreción de insulina, en la acción de la insulina o en ambas.¹¹ La clasificación más amplia de la diabetes según la Asociación Americana de Diabetes (ADA) consiste en las siguientes categorías:

- **Diabetes tipo 1:** Caracterizada por la incapacidad de las células β de producir insulina, esto debido a una reacción autoinmune, provocada principalmente por los genes HLA.¹² Algunos signos importantes que pueden señalar autoinmunidad puede ser la aparición de anticuerpos contra proteínas específicas de las células β ¹³, anticuerpos anti-glutamato descarboxilasa (GAD), antígeno de los islotes 2, la tetraspanina 7 y el transportador de zinc 8. Lo que ocurre en el paciente es que estos anticuerpos atacan a las células desencadenando una producción muy baja de insulina llevando a una deficiencia de esta en el cuerpo por lo que los niveles de glucosa aumentan y los pacientes necesitan de insulina externa para controlar los niveles de glucosa. Es importante mencionar que las personas con este tipo de diabetes, si bien, presentan una disminución en las células β , no hay una pérdida total de estas, sin embargo, la cantidad existente no es suficiente. La enfermedad puede afectar a personas de cualquier edad, aunque se ha reportado que el 50% de los casos se pueden producir en la edad adulta.¹³
- **Diabetes tipo 2:** En este tipo de diabetes si existe la producción de insulina por parte del páncreas, sin embargo, la falta de respuesta puede deberse a dos principales razones, la primera, la pérdida de la masa de células β y la segunda, que estas células pierden la capacidad de secretar insulina, en estas cuestiones se han encontrado más de 400 variantes genéticas asociadas a este tipo de fallas que generan la enfermedad.¹⁴ Uno de los factores más importantes es la obesidad porque en el organismo hay un exceso de ácidos grasos libres en el torrente sanguíneo los cuales se asocian con el estrés oxidativo, inflamación y muerte celular. Los ácidos grasos libres también se acumulan en tejidos no adiposos, y se ha demostrado que la acumulación ectópica de grasa es un factor crucial en el

desarrollo de la resistencia a la insulina.¹⁵ También existen estudios que demuestran que la ingesta alta en carbohidratos o alimentos refinados y el alterar el horario de descanso de la persona afecta ya que el desequilibrio entre la ingesta, el gasto energético y el ciclo circadiano son factores que generan resistencia a la insulina porque afectan la regulación de la glucosa.¹⁶ Debido a esto, los niveles de glucosa aumentan generando hiperglicemia, el deterioro del páncreas y una supresión postprandial anormal del glucagón, ocasionando que el organismo produzca cada vez menos insulina, (aunque en un principio, se secretan altas concentraciones de insulina en tejidos periféricos) al seguir estas condiciones sin cambio, las células β fallan llevando a una hiperglicemia lo que provoca mayor daño a tejidos.

- **Diabetes gestacional:** Esta se presenta entre las semanas 24-28 durante el embarazo y se le conoce de este modo ya que las pacientes no presentaban la enfermedad previa al embarazo. Esto puede llevar a diferentes complicaciones durante el embarazo e incluso desarrollar diabetes tipo 2 después del parto, por lo que es necesario realizarse exámenes periódicos después de este.
- **Otros tipos de diabetes:** El Desarrollo de la enfermedad se debe a distintos tipos de procesos patogénicos como trastornos genéticos, ambientales o autoinmunes que incluyen diferentes causas, pero todas tienen como resultado la alteración del equilibrio entre la glucosa y la insulina, en la tabla siguiente (**Tabla 1**) se observan las distintas causas que pueden desencadenar la diabetes. Una de las causas de diabetes más estudiadas dentro de este rubro es la diabetes por defectos genéticos en las células β , la cual se desarrolla debido a la mutación en genes que regulan la función de estas células, en este subgrupo se incluye la diabetes de inicio de la madurez en los jóvenes o mejor conocida como MODY (*Maturity Onset Diabetes of the Young*) por sus siglas en inglés.¹⁷

Tabla 1: Otros tipos específicos de diabetes y sus causas.¹¹

A. Defectos genéticos en la función de la célula β	E. Inducida por fármacos o sustancias químicas	
Cromosoma 20, HNF4 α (MODY 1) Cromosoma 7, glucoquinasa (MODY 2) Cromosoma 12, HNF1 α (MODY 3) Cromosoma 13, IPF - 1 (MODY 4) Mutación del DNA mitocondrial 3243 Otros	Piriminil Pentamidina Ácido nicotínico Glucocorticoides Hormona tiroidea Diazóxido	Antagonistas β adrenérgicos Tiazidas Fenitoína Interferón- γ Otros
B. Defectos genéticos en la acción de la insulina	F. Infecciones	
Resistencia a la insulina tipo A Leprechaunismo Síndrome de Rabson-Mendenhall Diabetes lipoatrófica Otros	Rubéola congénita Citomegalovirus Otros	
C. Enfermedades del páncreas exocrino	G. Formas infrecuentes de diabetes mediada por inmunidad	
Pancreatitis Trauma/pancreatectomía Neoplasia Fibrosis quística Hemocromatosis Pancreatopatía fibrocalculosa Otros	Síndrome de Stiff-man Anticuerpos anti receptores de insulina Otros	
D. Endocrinopatías	H. Otros síndromes genéticos ocasionalmente asociados a diabetes	
Acromegalia Síndrome de Cushing Glucagonoma Feocromocitoma Hipertiroidismo Somatostatina Aldosteronoma Otros	Síndrome de Down Síndrome de Klinefelter Síndrome de Turner Síndrome de Wolfram Ataxia de Friedreich Corea de Huntington	Síndrome de Laurence-Moon-Biedl Distrofia miotónica Porfiria Síndrome de Prader-Willi Otros

2.2.- Epidemiología

Para el año 2021 la International Diabetes Federation (IDF) registró que 537 millones de adultos entre 20 y 79 años padecen de diabetes, esto representa al 10.5% de la población mundial en este grupo de edad y se prevé que la cifra para el año 2045 aumente a 783 millones de personas diabéticas en el mundo. Las regiones más afectadas son el Medio Oriente (16.2% de prevalencia - 73 millones de personas que viven con diabetes), seguida por Norteamérica y el caribe (NAC) con 14% de prevalencia (51 millones de personas que viven con diabetes) y en tercer lugar el Pacífico Occidental con 11.9% de prevalencia (206 millones de personas que viven con diabetes) **Figura 1**. En cuanto a la región NAC ocupa el segundo mayor número de niños y adolescentes con diabetes de tipo 1, con 193 mil, también ocupa el 2do lugar en mortalidad por causa de diabetes con 931 mil muertes para el año 2021.² La atención sanitaria deficiente también puede ser una causa, ya que es complicado recibirla de manera adecuada y oportuna. Tan solo este año fallecieron alrededor de 6.7 millones de personas en el mundo a consecuencia de la diabetes y sus complicaciones.²

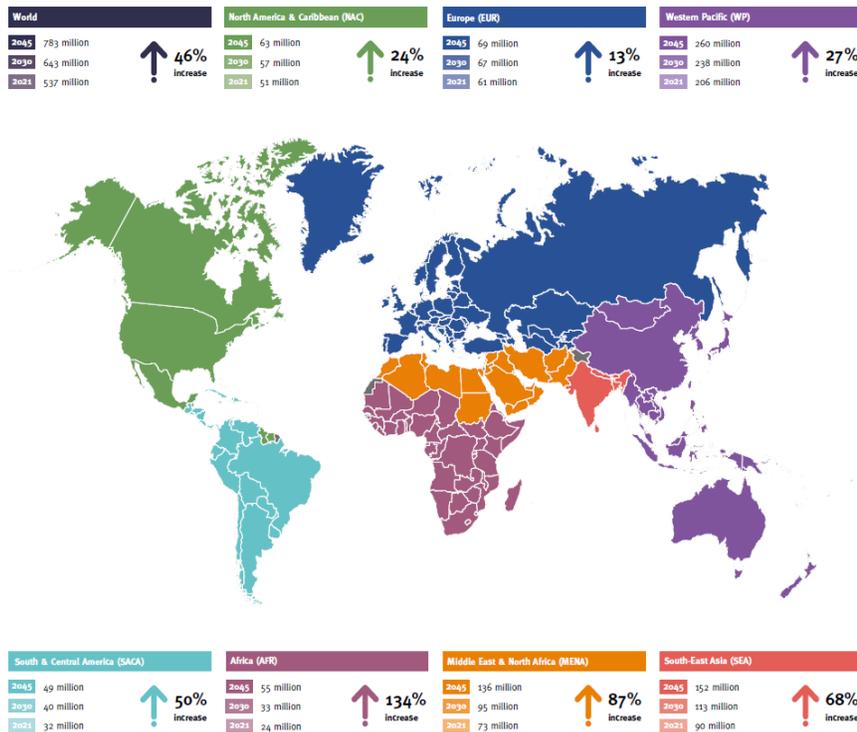


Figura 1: Número de adultos entre 20 y 79 años que padecen diabetes a nivel mundial, el mapa también se divide por región.²

Se estima que alrededor de 352 millones de personas en el mundo que se encuentran en edad laboral viven con diabetes, 1.1 millones de niños y adolescentes padecen de diabetes tipo 1, mientras que 111 millones de personas de la tercera edad también padecen de algún tipo de diabetes y se prevé que el número de personas incremente, lo que generará un impacto desfavorable y creciente sobre la productividad y el crecimiento económico ya que se calcula que el gasto sanitario mundial anual es de aproximadamente 760,000 millones de dólares aumentando la cifra a 845,000 millones en 2045, siendo el 50% del coste dirigido a las complicaciones que se generan, además de este impacto económico se calcula que se añade un 35% más a estos gastos sanitarios debido a la muerte prematura, la discapacidad o el absentismo en personas de edad laboral.²

2.3.- Diagnóstico de la DT2

2.3.1. Factores de riesgo

Existen diversos factores que pueden contribuir al padecimiento de la diabetes que incluyen aspectos genéticos, ambientales y conductuales, entre ellos podemos encontrar:

- **Inactividad física y mala alimentación:** Provoca un aumento de la glucosa en el organismo e ineficiente absorción, por lo que se acumula en forma de grasa.
- **Sobrepeso u obesidad:** La acumulación de grasa en los tejidos genera resistencia a la insulina en las células.
- **Edad:** Al aumentar la edad también lo hace el riesgo de padecer diabetes, esto debido a que se pierde masa muscular y es sustituida por grasa provocando el aumento de peso.
- **Antecedentes familiares:** El riesgo aumenta cuando un familiar directo sobre todo padece la enfermedad.
- **Grupo étnico:** Se ha observado que personas de distintos grupos étnicos tienden a desarrollar diabetes en mayor proporción que otros.
- **Síndrome de ovario poliquístico:** En las mujeres padecer de esta afección puede incrementar el riesgo ya que puede provocar obesidad y alteraciones hormonales que dificultan la pérdida de peso.
- **Diabetes gestacional:** El desarrollar este tipo de diabetes aumenta el riesgo de desarrollar DT2 después del parto, por lo que se debe mantener una buena alimentación y seguir las instrucciones del médico.
- **Otras enfermedades crónicas**

2.3.2. Signos y síntomas

Los síntomas pueden variar dependiendo del nivel de glucosa en sangre, cuando el paciente es prediabético o padece de DT2 pueden ser asintomáticos, por lo que es importante tener conocimiento sobre los factores de riesgo ya que la mayoría de los pacientes es diagnosticada cuando la enfermedad ya es avanzada. Estos síntomas pueden incluir: fatiga, polidipsia, poliuria, polifagia, pérdida de peso repentina, entumecimiento u hormigueo en manos y la aparición de *acantosis nigricans*.

2.3.3. Diagnóstico de DT2.

Prediabetes: Término utilizado cuando los niveles de glucosa no se encuentran en el rango para considerarse diabetes, pero son muy altos de los niveles normales, esta condición predispone al paciente a padecer DT2 con una alta probabilidad. En la NOM-015-SSA2-2010, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus se establece el diagnóstico de prediabetes cuando la glucosa de ayuno es igual o mayor a 100 mg/dL y menor o igual de 125 mg/dL (GAA) y/o cuando la glucosa dos horas post-carga oral de 75 g de glucosa anhidra es igual o mayor a 140 mg/dL y menor o igual de 199 mg/dL (ITG).¹⁸

En cuanto al diagnóstico de la DT2 existen diferentes pruebas a realizar y se determina el diagnóstico cuando se cumplen uno o más de los criterios siguientes:¹⁸⁻¹⁹

- 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.
- Hemoglobina glucosilada $\geq 6.5\%$ ó ≥ 48 mmol/L.

2.4. Fisiopatología de la DT2

2.4.1. Síntesis y liberación de la insulina

La insulina es una proteína que se conforma por 51 aminoácidos y dos cadenas denominadas A y B las cuales están unidas mediante puentes disulfuro. El páncreas adulto humano tiene aproximadamente 1 millón de islotes de Langerhans intercalados a lo largo de la glándula pancreática²⁰ y contiene 5 células que producen diversas hormonas necesarias para el organismo. Las células α producen glucagón cuya función es aumentar los niveles de glucosa en sangre, las células β producen la insulina, las cuales abarcan cerca del 75% de la masa pancreática, las células δ producen la somatostatina, la cual tiene un efecto inhibitorio en la secreción de insulina y glucagón, finalmente, las células ϵ que sintetizan grelina la cual promueve la ingesta de alimentos.²¹

El gen que codifica a la preproinsulina se ubica en el cromosoma 11, en la posición 15.5 del brazo corto, este gen se conoce como INS y codifica para tres exones, el primero codifica para un péptido guía, el cual dirige a la preproinsulina hacia el retículo endoplásmico (RE), el segundo codifica para la cadena B y parte del péptido C y finalmente el tercero codifica la cadena A y el resto del péptido C. La biosíntesis de la insulina comienza con la traducción del ARNm en preproinsulina, la cual será guiada al RE donde se remueve el péptido guía por medio de una peptidasa, convirtiéndose en proinsulina, posteriormente, esta se desplaza a través del complejo de Golgi hasta la red transgolgi (TGN) para ser clasificada en orgánulos con membrana denominados gránulos secretores. El corte del péptido C en este compartimento convierte a la proinsulina en insulina madura, que consta únicamente de las cadenas A y B.²¹ (**Figura 2**) Esta insulina se almacena en gránulos de las células β hasta que, en condiciones normales, después de ingerir alimentos los niveles de glucosa aumentan y activan la secreción de esta, fusionándose estos gránulos con la membrana plasmática y liberando alrededor de un 5% de la insulina total que almacenan, la cual se distribuye por el torrente sanguíneo principalmente a hepatocitos, músculo esquelético y adipocitos para estimular la captación de glucosa.

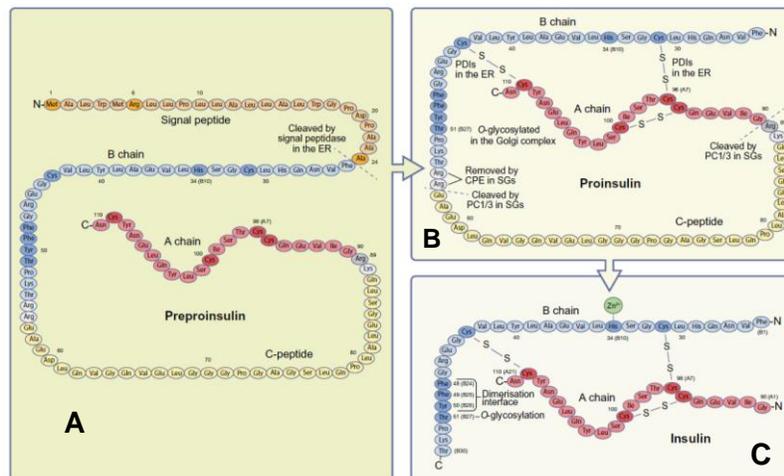


Figura 2. Biosíntesis de la insulina, en el panel A se observa la preproinsulina, en el B, la estructura sin el péptido por lo que es la proinsulina y en el C la insulina con las cadenas A y B .²¹

2.4.2. Señalización de la insulina

La secreción de la insulina es estimulada por la ingesta de alimentos, esta disminuye los niveles de glucosa en sangre por medio de receptores que se expresan en todas las células, siendo las células con mayor expresión de estos receptores los hepatocitos, adipocitos y el tejido de músculo estriado.

La acción de la insulina se genera a través de receptores de tirosina-quinasa, los cuales son glucoproteínas conocidas también como receptores de insulina (IR) y están dispuestos como tetrámeros que se componen de dos subunidades α y dos subunidades β , siendo las subunidades α las que se encuentran en la parte exterior de la membrana y en donde están los sitios de unión a la insulina, ya que es la parte glucídica la que tiene afinidad por la insulina, mientras que las subunidades β se encuentran en el citoplasma y son las que poseen la actividad tirosina-quinasa. Existen dos isoformas de estos receptores, la A y la B. La isoforma B es la más específica para la insulina ya que es la principal isoforma que se expresa en el hígado, el músculo y el tejido graso diferenciado, por lo que media la mayoría de los efectos metabólicos de la insulina.²² Existen 2 vías de señalización de la insulina principales, la señalización miogénica, la cual implica la activación de la vía de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) y la señalización metabólica en la cual se encuentran la vía de PI3K/Akt, esta tiene un papel crucial en la activación y regulación de diversos eventos metabólicos, que incluyen el transporte de glucosa y la síntesis de glucógeno, proteínas y lípidos.²³ La señalización vía PI3K/Akt de la insulina comienza

cuando esta hormona se une a sus receptores e inicia una autofosforilación de los sustratos del receptor de insulina (ISR), de los cuales existen diversas isoformas (ISR 1-6), sin embargo, las más abundantes e importantes para este tema son los ISR-1 que se expresa en músculo esquelético y tejido adiposo, así como el ISR-2 expresado en hepatocitos. Una vez que la insulina se unió al receptor, se activa la fosfatidil inositol 3-cinasa (PI3K), que a su vez genera el fosfatidil inositol trifosfato (PIP3) regulando la ubicación de la proteína quinasa B (PKB/Akt2) la cual induce la traslocación de GLUT-4 desde el interior de la célula hacia la membrana, facilitando así la entrada de la glucosa a la célula para así generar la energía que necesita el organismo para ejercer diversas funciones (**Figura 3**).

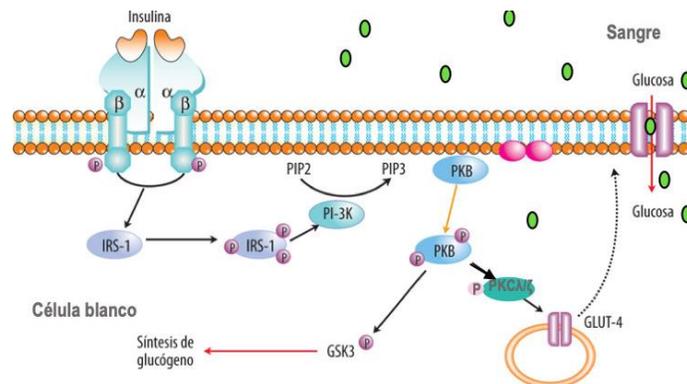


Figura 3: Señalización de la insulina para llevar a cabo la traslocación de GLUT-4 e introducir la glucosa a la célula.²⁴

2.4.3. Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina es la característica más relevante de los pacientes que padecen de DT2. Es la incapacidad de los receptores de las células de responder adecuadamente a la insulina, por lo general existen defectos que involucran mutaciones en receptores de insulina y proteínas implicadas en la señalización de la misma, que tienen como consecuencia una disminución en la cantidad de receptores de insulina o en su actividad catalítica, también un aumento en el estado de fosforilación en serina/treonina tanto del receptor como de los ISR y una disminución de la actividad de PI3K y Akt/PKB, provocando defectos en la traslocación, función o expresión de GLUT-4. También existen factores adquiridos que involucran distintos hábitos como la falta de actividad física que puede generar un exceso de tejido adiposo ectópico y ácidos grasos libres en torrente sanguíneo y cuando la persona presenta un aumento en el almacenamiento de lípidos se encuentra en un estado constante de inflamación crónica de bajo grado que se acompaña de una infiltración de macrófagos que producen citoquinas proinflamatorias como el TNF- α ,

interleucinas (6, 18 y 1 β), MCP-1 y angiotensina II, estas generan inflamación en otros tejidos y cuando la secreción anormal de estas citoquinas es prolongada perturba el equilibrio de vías metabólicas condicionando resistencia a la insulina. En particular TNF- α , IL6, 18 y 1 β y angiotensina II promueven la resistencia a la insulina mediante múltiples mecanismos, tales como: la activación de quinasas que fosforilan en restos de serina y treonina a IR e IRS, la disminución de la expresión de IRS1, GLUT-4 y del receptor de proliferación activado de peroxisomas γ y/o la expresión y activación del supresor de la señalización de citoquinas 3 (SOCS3).²⁵ El exceso de lípidos en el cuerpo también produce acumulación de acil-coenzima A, diacilglicerol (DAG) y ceramidas, estas últimas tienen funciones lipotóxicas porque interfieren en la resistencia a la insulina muscular inhibiendo la actividad de Akt/PKB. También pueden vincular las vías inflamatorias que inducen los lípidos con la resistencia a la insulina, por medio de un precursor en su biosíntesis, el TLR4, este es un receptor que se expresa en tejidos diana de la insulina y que puede desencadenar inflamación metabólica y resistencia a la insulina durante la obesidad al regular a la alza la transcripción de genes proinflamatorios y activar las quinasas proinflamatorias JNK, IKK y p38,²⁶⁻²⁷ las cuales fosforilan a los receptores de insulina en los residuos de serina, perjudicando la transducción de la señal de la insulina. Esta respuesta inmune está relacionada con otro factor importante para el desarrollo de la resistencia a la insulina, el estrés del retículo endoplasmático, el cual tiene como consecuencia la activación de estas mismas quinasas (JNK y IKK) teniendo como resultado las consecuencias descritas anteriormente.

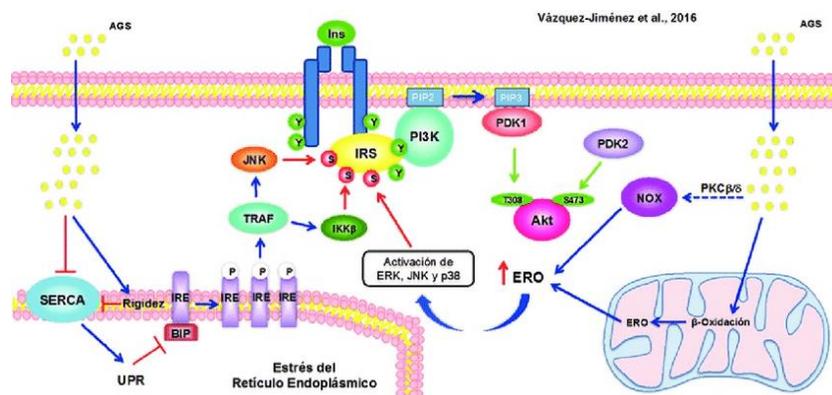


Figura 4. Mecanismo de resistencia a la insulina en consecuencia de niveles elevados de ácidos grasos saturados (AGS), donde se observa el mecanismo del estrés del retículo endoplasmático, el cual, desencadena la UPR, involucrada en la activación de IRE-1, que a través de su interacción con TRAF2 lleva a la activación de las quinasas IKK β y JNK, las cuales a su vez fosforilan a IRS y la disfunción mitocondrial implicada que causa disminución en la utilización de los ácidos grasos saturados con lo cual ocurre una acumulación de los mismos, como consecuencia se incrementa la síntesis de ceramidas y diacilglicerol (DAG).²⁶⁻²⁸

2.4.4. Complicaciones de la DT2

Los niveles de glucosa altos por largos periodos en el organismo causan diferentes efectos en los tejidos, dañándolos y llevándolos a un deterioro progresivo que tiene consecuencias fatales para los pacientes diabéticos que no tienen un buen control de la enfermedad. Estas afecciones pueden ser agudas o crónicas.

- **Complicaciones agudas:** Asociadas con un control inadecuado o que no es suficiente de la enfermedad.

Cetoacidosis diabética (CAD): Resultado de la falta de glucosa intracelular para la obtención de energía necesaria, por lo que el organismo comienza a utilizar ácidos grasos para obtenerla, sin embargo, a raíz de esto se generan cuerpos cetónicos, la acumulación de estos disminuye el pH sanguíneo a 7.3.²⁹

Estado hiperglucémico no cetósido: Principalmente observada en pacientes con DT2 que tienen un control deficiente de la enfermedad y presenta una mortalidad global del 10 al 15%. Estas personas presentan niveles bajos de insulina y altos de hormonas contrarreguladoras, sin embargo, en esta condición no se produce lipólisis ni cuerpos cetónicos ya que la concentración de insulina plasmática es un poco mayor a comparación de la CAD, aun así, es imposible regular la producción de glucosa hepática ni su correcta utilización.³⁰

Hipoglucemia: Es la más común derivada del tratamiento farmacológico, la persona presenta concentraciones de glucosa en sangre venosa inferiores a 60 mg/dL o capilar inferior a 50 mg/dL. Puede dividirse en tres fases, la primera, hipoglucemia leve en la cual el paciente puede presentar síntomas como ansiedad, taquicardia, sudoración, mareos o visión borrosa. La segunda fase, hipoglucemia moderada donde se presenta disminución motora y la hipoglucemia grave en donde pueden ocurrir crisis convulsivas en incluso llevar al paciente a un estado de coma.³⁰

Complicaciones crónicas: Las personas con diabetes desarrollan problemas a largo plazo debido a la exposición constante de los niveles altos de glucosa, esta comienza a generar un deterioro en distintos tejidos provocando un daño irreversible en estos. Las complicaciones se dividen en microvasculares y macrovasculares.³⁰

Complicaciones microvasculares

Retinopatía: Los altos niveles de glucosa en el torrente sanguíneo dañan a las células y los capilares, a la vez que se producen productos de glicación avanzada los cuales se forman de la unión de los azúcares con los grupos amino de las proteínas, dando como resultado la pérdida parcial de la vista al comienzo y ceguera con el tiempo.

Nefropatía: Es la alteración estructural y funcional de los riñones, se manifiesta por la excreción gradual de albúmina en la orina, el aumento de la presión arterial y una disminución de la filtración glomerular. Es la principal causa de enfermedad renal en occidente ya que cuando no es tratada a tiempo y los niveles de glucosa no se estabilizan llevando a una enfermedad renal crónica terminal.

Neuropatía: Esta complicación afecta los nervios por lo que puede desencadenar distintos síndromes neuropáticos como la neuropatía diabética periférica, este es el tipo más común y el que puede desencadenar en pie diabético debido a úlceras o infecciones porque el paciente pierde la capacidad sensorial por lo que difícilmente percibe dolor o cambios de temperatura.

2.5. Tratamiento de la DT 2

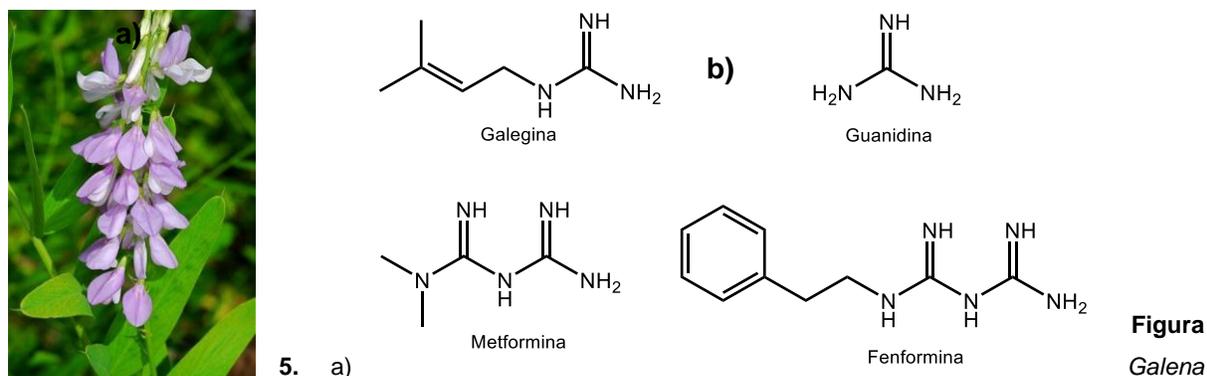
Existen diversos medicamentos destinados al tratamiento de esta enfermedad, todos ellos con distintos mecanismos de acción, lo que es favorable para el paciente ya que de esta manera se pueden prevenir muchas complicaciones. Aunado a esto, el paciente debe acoplarse a un estilo de vida saludable realizando ejercicio de manera continua e implementar una dieta saludable. La importancia de implementar hábitos saludables antes de comenzar un tratamiento farmacológico ayudará al paciente a llevar una vida normal.

No obstante, la DT2 por lo general se diagnostica cuando el paciente presenta síntomas característicos por lo que el uso de medicamentos en compañía de hábitos saludables conduce a un control efectivo. Los diversos agentes antidiabéticos deben ser proporcionados de acuerdo con las necesidades del paciente ya que existen diversos tipos que serán mencionados a continuación.

2.5.1. Biguanidas

Estos son derivados sintéticos de la galegina la cual deriva de la guanidina (**Figura 5**) y fueron sintetizados en la década de los 50's, la metformina es la única de su tipo que sigue disponible para utilizarla en el tratamiento ya que la fenformina fue retirada debido a efectos que generaban acidosis láctica. La metformina es el fármaco de primera elección en el momento en el que se diagnostica la DT2 debido al perfil que mantiene de eficacia, seguridad y sumado a esto que es económica, además de reducir el riesgo de eventos cardiovasculares y muerte.³¹

El mecanismo de acción de las biguanidas aún no es elucidado del todo, esto debido a que tiene múltiples sitios de acción y mecanismos moleculares³² reduciendo la glucosa en plasma postprandial y basal por medio de la reducción de glucosa hepática inhibiendo la gluconeogénesis por medio de la fosforilación del receptor de insulina y del sustrato 2 del receptor de insulina, la inhibición de enzimas clave en la vía gluconeogénesis (por ejemplo, la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, la fructosa-1,6-bifosfatasa y la glucosa-6-fosfatasa) y la activación de la piruvato quinasa.³³ También puede restaurar la actividad de los sistemas enzimáticos implicados en la cascada de señalización intracelular de la insulina (traslocación de GLUT4) aumentando la actividad de los receptores de tirosina-quinasa.



officinalis planta de donde se puede extraer la galegina. En b) se observa la estructura de la guanidina de donde se derivan la galegina y las biguanidas metformina y fenformina. Hecho en ChemBioDraw.

El mecanismo de acción más importante que puede estar relacionado con la metformina es el de la activación de la proteína cinasa activada por adenosín monofosfato (AMPK) conduciendo a la inhibición de la cadena respiratoria mitocondrial en el hígado mejorando de esta manera la sensibilidad a la insulina afectando el metabolismo de grasas y reduciendo la expresión de enzimas gluconeogénicas.³²

2.5.2. Sulfonilureas

Las sulfonilureas son fármacos insulinosectores que aumentan la secreción de insulina en el torrente sanguíneo al unirse a los canales de potasio dependientes de ATP (conocido como receptor de sulfonilureas) en la membrana de las células β pancreáticas, específicamente en el complejo Kir.6.2/SUR del receptor 1 de sulfonilureas (SUR1) que se encuentra en páncreas y cerebro, lo que impide la liberación celular de potasio, provocando la despolarización de la célula y dando como resultado un incremento en la entrada de calcio a la célula provocando un aumento de la exocitosis de la insulina disminuyendo los niveles de glucosa. Por consiguiente, las sulfonilureas son un medicamento más potente en las primeras fases de la diabetes de tipo 2, cuando el paciente tiene una función aumentada de las células β pancreáticas.³⁴

Debido al mecanismo de acción este tipo de fármacos tienen el riesgo de disminuir los niveles de glucosa al punto de representar un riesgo considerable para los pacientes.³⁵ Estos fármacos fueron los primeros antidiabéticos orales aprobados por la FDA por lo que existen las sulfonilureas de 1ra generación como la tolbutamida, las de segunda generación como la glibenclamida y las de 3ra generación como la glimepirida (**Figura 6**) buscando obtener mayor selectividad por los receptores SUR1 y evitar la unión a los SUR2A que puede provocar arritmias ya que este receptor se encuentra en músculo esquelético.³⁶

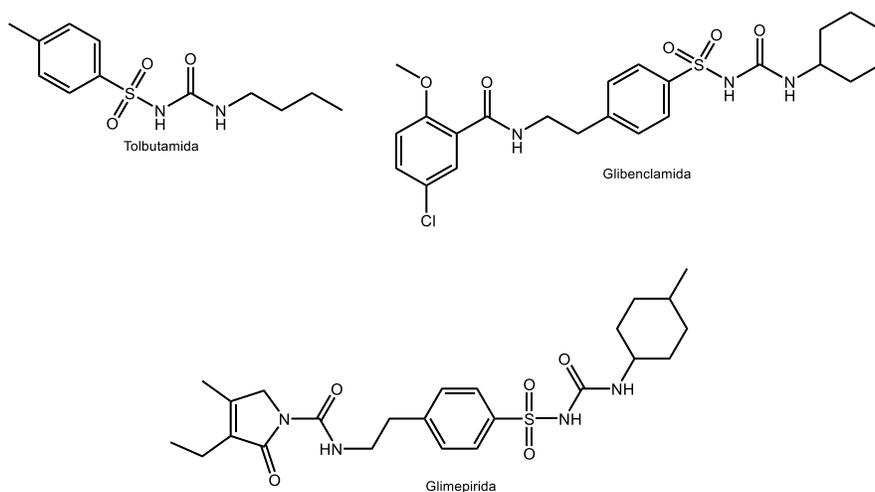


Figura 6. Ejemplos de sulfonilureas utilizadas en el tratamiento para la DT2. Hecho en ChemBioDraw.

2.5.3. Glinidas

Las glinidas representan una nueva familia de secretagogos de insulina (**Figura 7**), llamadas así por su homología estructural con la meglitinida.³⁷ Son insulinosecretoras que actúan de la misma manera en que las sulfonilureas, pero se unen en un sitio diferente del receptor a diferencia de estas. Fueron diseñadas para administrarse justo antes de ingerir alimentos ya que actúan de manera rápida para imitar los efectos normales de la insulina después de las comidas, es por ello que brindan una ventaja en pacientes que no mantienen un plan de comidas regular.³⁸

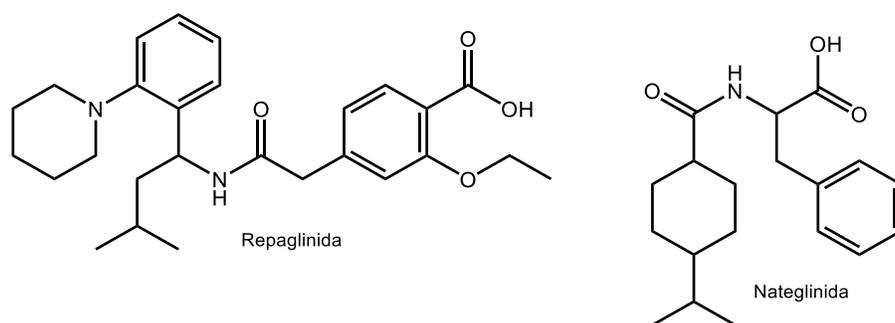


Figura 7. Ejemplo de glinidas utilizadas en el tratamiento de la DT2. Hecho en ChemBioDraw

2.5.4. Inhibidores de la α glucosidasa

Este tipo de fármacos actúan retardando la absorción intestinal de carbohidratos al inhibir la acción de la glucosidasa α en el borde intestinal. La inhibición de esta enzima hace más lenta la absorción de almidón, dextrinas y disacáridos en el tubo digestivo y evita el incremento súbito de las concentraciones plasmáticas posprandiales de glucosa.³⁹ Debido a este mecanismo de acción estos tampoco presentan riesgo de hipoglucemia en el paciente.

Ejemplos de estos son la acarbosa y el miglitol (**Figura 8**) que son pseudo-carbohidratos que inhiben esta enzima de manera competitiva y dado que impiden la digestión de los hidratos de carbono complejos, deben administrarse al principio de las comidas principales, con el primer bocado de la comida.⁴⁰

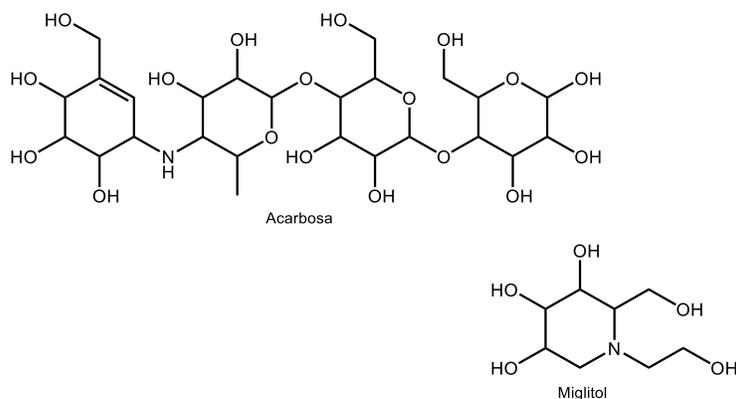


Figura 8. Ejemplos de inhibidores de la α -glucosidasa. Realizado en ChemBioDraw

2.5.5. Inhibidores de la DPP-4

La DPP-4 (dipeptidil peptidasa 4) es una enzima cuya acción principal es la de romper los oligopéptidos después del segundo aminoácido del extremo *N*-terminal, con una acción preferente si el segundo aminoácido es alanina (como en el GLP-1) o prolina.⁴¹ Las principales hormonas implicadas en la señalización endocrina desde el intestino son el péptido similar al glucagón-1 (GLP-1) y el polipéptido insulínico dependiente de la glucosa (GIP), estas dos hormonas (conocidas también como incretinas) estimulan la secreción de insulina en condiciones de hiperglucemia y contribuyen al ~70% de la secreción de insulina postprandial, sin embargo, los niveles circulantes de GLP-1 son bajos en estado de reposo y aumentan rápidamente después de las comidas; estos niveles circulantes también disminuyen rápidamente (vida media, menos de 2 minutos) debido a la inactivación por la enzima proteolítica, DPP-4.

En la DT2, el efecto de la incretina está disminuido y, paralelamente, la secreción de insulina posprandial se deteriora por lo que la inhibición de esta enzima resulta en el aumento de la secreción de insulina y la disminución de glucagón al elevar las concentraciones de GLP-1. Algunos de estos fármacos son: vildagliptina, sitagliptina y la saxagliptina (**Figura 9**).⁽⁴²⁻⁴³⁾

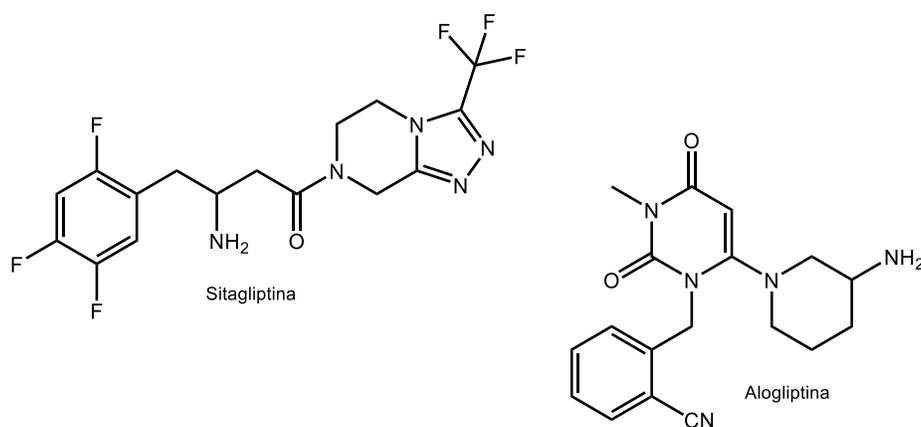


Figura 9. Ejemplos de inhibidores de la DPP-4 para tratar la DT2. Hecho en ChemBioDraw

2.5.6. Agonistas de GLP-1

Exenatida, dulaglutida y liraglutida (**Figura 10**) son fármacos agonistas de los péptidos similares al glucagón o GLP por sus siglas en inglés (Glucagon like peptide), la GLP-1, GLP-2 y el péptido gastrointestinal (GIP) son incretinas que se liberan tras la ingesta de alimentos de forma bifásica para superar la hiperglucemia postprandial aumentando la secreción de insulina de las células β y reduciendo la excursión de glucosa y la secreción de glucagón, también disminuyen la motilidad gástrica, inhiben la apoptosis de las células β e inducen su proliferación.⁴⁴ La activación de estas incretinas puede aumentar la secreción de insulina, reducir el consumo de energía y mejorar directa e indirectamente la sensibilidad a la insulina.⁴⁵

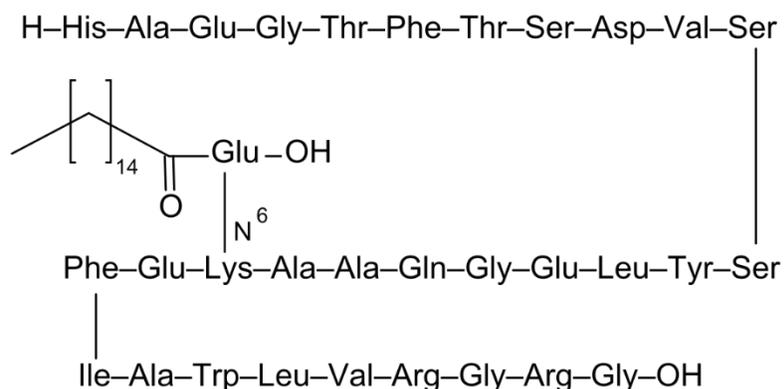


Figura 10: Estructura de liraglutida agonista del receptor de GLP-1 de larga duración.

2.5.7. Glitazonas o Tiazolidindionas

Las tiazolidindionas son otro tipo de fármacos antidiabéticos cuyo mecanismo de acción es por medio de la unión a los receptores activados por el proliferador de peroxisomas gamma (PPAR- γ), estos ejercen acciones duraderas no sólo restaurando la acción de los tejidos periféricos a la insulina, sino también preservando la función de las células β pancreáticas que producen y secretan insulina.⁴⁶ Ejemplos de estas son la rosiglitazona y la pioglitazona, esta última es la única de este tipo que sigue en el mercado debido a que la rosiglitazona se le asoció con problemas cardiacos y fue retirada.⁽⁴⁷⁻⁴⁸⁾

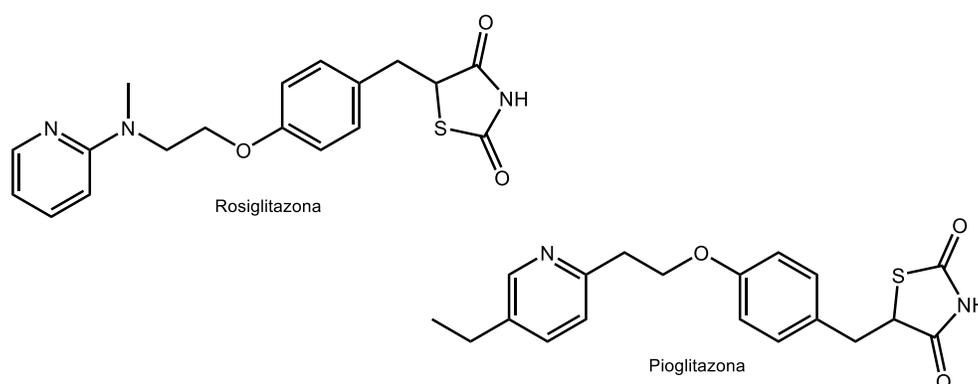


Figura 11. Tiazolidindionas que se han utilizado en el tratamiento de la DT2. Realizado en ChemBioDraw

2.6. Blancos terapéuticos para el tratamiento de DT2

2.6.1. Receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPARs)

Los receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPAR) son factores de transcripción activados por ácidos grasos endógenos de la superfamilia de receptores hormonales nucleares que regulan el metabolismo energético, están codificados por genes separados con secuencias distintas pero superpuestas entre especies lo que da lugar a los diferentes isotipos de estos receptores, el gen PPAR- α humano está localizado en el cromosoma 22, el PPAR- γ en el cromosoma 3, y el PPAR β/δ está localizado en el cromosoma 6.⁴⁹

El PPAR- γ se expresa en el tejido adiposo pardo y blanco en su mayoría, aunque también se puede encontrar en el intestino y bazo en menor proporción, además de tener tres isoformas PPAR- γ 1, PPAR- γ 2 y PPAR- γ 3. Es el receptor al que se unen las tiazolidindionas mencionadas anteriormente debido a que desempeña un papel importante en la regulación de la adipogénesis, el equilibrio energético, la biosíntesis de lípidos, el metabolismo de las lipoproteínas y en la sensibilidad a la insulina.⁵⁰ Esta última la realiza por medio de la estimulación de la transcripción del gen codificador de GLUT-4 que al translocarse hacia la membrana celular aumenta la captación de glucosa al interior celular.

Cuando el ligando se une al receptor que se encuentra en el citoplasma celular, estos ingresan juntos al núcleo, en donde forman un heterodímero, al interactuar con el receptor retinoide X, este heterodímero se une a una secuencia específica del ADN, lo que se conoce elemento de respuesta al proliferador de peroxisomas y de esta forma regulan la expresión de genes para obtener diferentes respuestas biológicas (**Figura 13**) mejorando la sensibilidad de la insulina en adipocitos e inhibiendo la lipólisis. Es por este mecanismo, como las tiazolidindionas reducen los ácidos grasos libres en plasma, mejoran la sensibilidad a la insulina en tejidos de músculo e hígado y mejoran la función de las células β en la DT2.⁵⁰

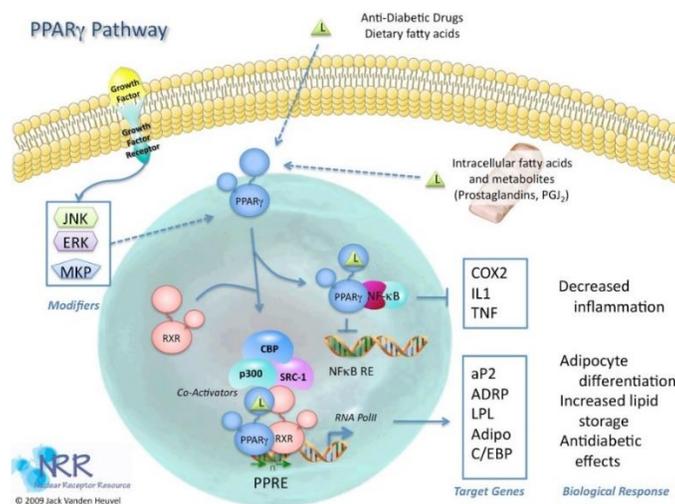


Figura 12. Mecanismo de acción de los receptores PPAR- γ , se observa el mecanismo de activación de diversos genes (Tomado de Nuclear Receptor Resource).

Sin embargo, en diversas moléculas que resultan ser agonistas totales del PPAR- γ se han observado efectos secundarios no deseados como hepatotoxicidad, aumento de peso corporal, retención de líquidos, riesgo de fracturas óseas y cáncer de vejiga.⁵⁰ Los agonistas

parciales de PPAR o moduladores selectivos de PPAR- γ (SPPAR γ Ms) han surgido como un nuevo enfoque para abordar problemas de los agonistas totales de PPAR- γ , esto lo hacen manteniendo los beneficios terapéuticos deseados y al mismo tiempo manteniendo los efectos adversos mínimos debido a su incapacidad para activar completamente el receptor como el de un agonista total.⁵¹ PPAR- γ se conforma principalmente de 4 partes, el factor de activación-1 (AF-1), el dominio de unión al ADN (DBD), la región de bisagra y el dominio de unión al ligando (LBD), el cual consiste en un factor de transactivación de dimerización de unión al ligando adicional (AF-2) (**Figura 13**).⁵² El LBD es el sitio a donde se unen los ligandos al PPAR- γ y en donde se observan interacciones de tipo puente de hidrógeno, por lo que es la región crucial para obtener actividad de tipo agonista sobre los receptores, sin embargo, la diferencia entre los agonistas totales es que estos tienen una unión estable entre el LBD con la hélice 12 (H12) de PPAR- γ y los parciales no se correlacionan con la estabilización de la H12, sino que estabilizan la región de la hoja β y la H3 del LBD.

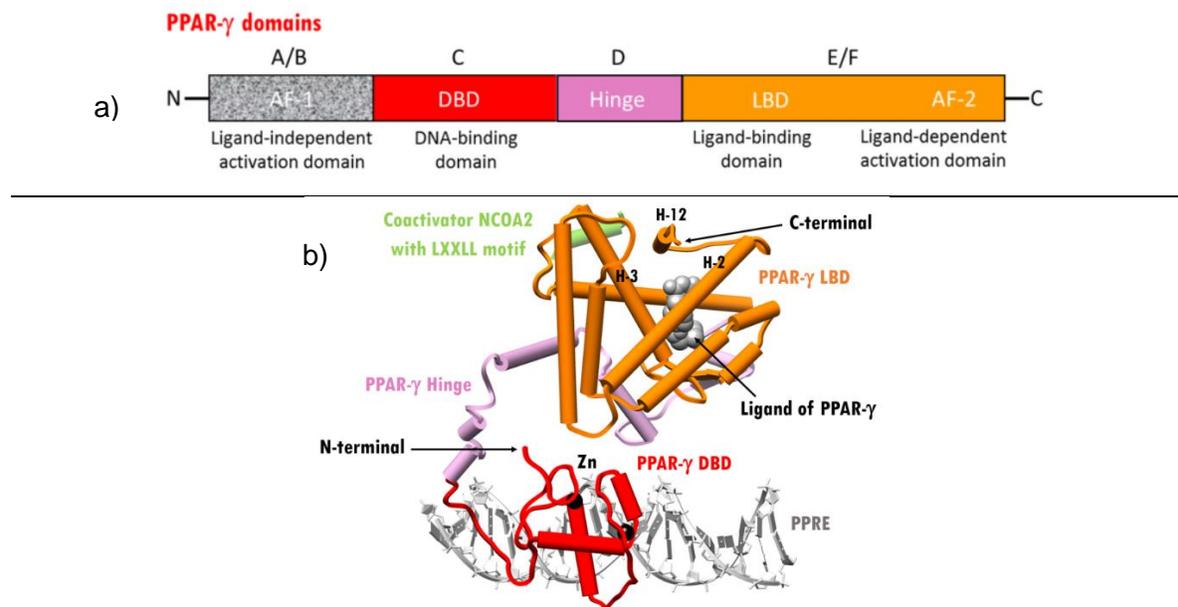


Figura 13. Estructura lineal de PPAR- γ (a) y estructura en 3D (b), en donde se observa el acomodo de los dominios y de las hélices 12 y 3 en donde se unen agonistas totales o parciales según corresponda.⁵³

2.6.2. Receptor de ácidos grasos libres (FFA1) GPR40.

Este receptor se encuentra acoplado a proteína G, es un receptor transmembranal de siete dominios que se expresa en las células β pancreáticas, SNC y células enteroendócrinas.⁵⁴ Este receptor ha sido muy estudiado debido a que está involucrado en la secreción de insulina, cuando se activa por medio de ligandos endógenos los cuales son ácidos grasos libres de cadena media (C12-C16) o larga como el ácido linoléico o el DHA.

Los ácidos grasos estimulan la activación de este receptor el cual desencadena una serie de señales que comienza a partir de la subunidad $\alpha q/11$ de la proteína G, esta activación promueve el intercambio de GDP a GTP, esta subunidad se transloca hacia la fosfolipasa C (PLC) en donde se hidroliza el PIP3, generando IP3 y DAG. El IP3 se une a su receptor en el retículo endoplásmico (RE), promoviendo la liberación de Ca^{+2} al citoplasma, mientras que el DAG activa a la proteína quinasa dependiente de fosfoinosítido 1 (PKD1) ampliando así la liberación de insulina al torrente sanguíneo⁵⁵ (**Figura 14**). Ejemplos de agonistas de estos receptores son el TAK-875 y GW9508 (**Figura 15**).

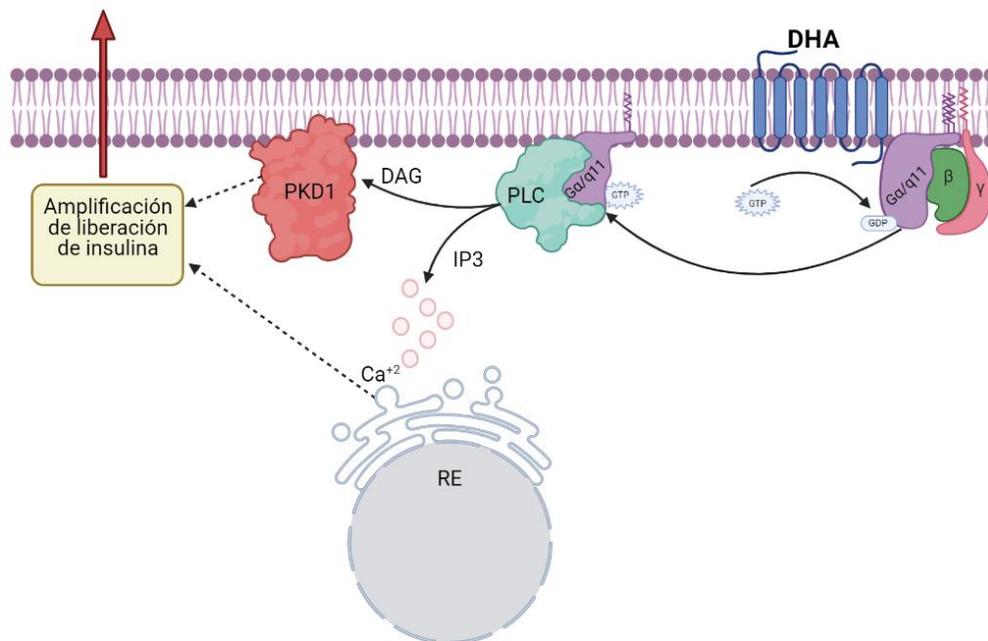


Figura 14: Mecanismo de amplificación y liberación de insulina por medio de GPR40. Realizado en BioRender.com

Es importante mencionar que en condiciones normales de glucosa (normoglucemia) la expresión de estos receptores es baja y cuando la concentración de glucosa aumenta, su expresión también lo hace, es por esta razón que GPR40 es un buen blanco terapéutico

para tratar la DT2 ya que no hay riesgo de que el tratamiento lleve a una hipoglucemia, como puede suceder con las sulfonilureas, porque los efectos insulínotropicos generados por la activación de este receptor son dependientes de las concentraciones de glucosa.

GPR40 se compone de 3 sitios de unión diferentes, el sitio ortostérico, en donde se unen los ligandos endógenos anteriormente mencionados y dos sitios alostéricos en donde se unen ligandos sintéticos que pueden ser agonistas totales como AM-8182 los cuales además de estimular las células β pancreáticas para que produzcan insulina y glucagón, también induce a las células endocrinas intestinales a aumentar la producción de incretinas (GIP y GLP-1)¹¹ y PYY, lo que lleva a reducir tanto los niveles de glucosa en sangre como el peso corporal y agonistas parciales como TAK-875.⁽⁵⁶⁻⁵⁸⁾

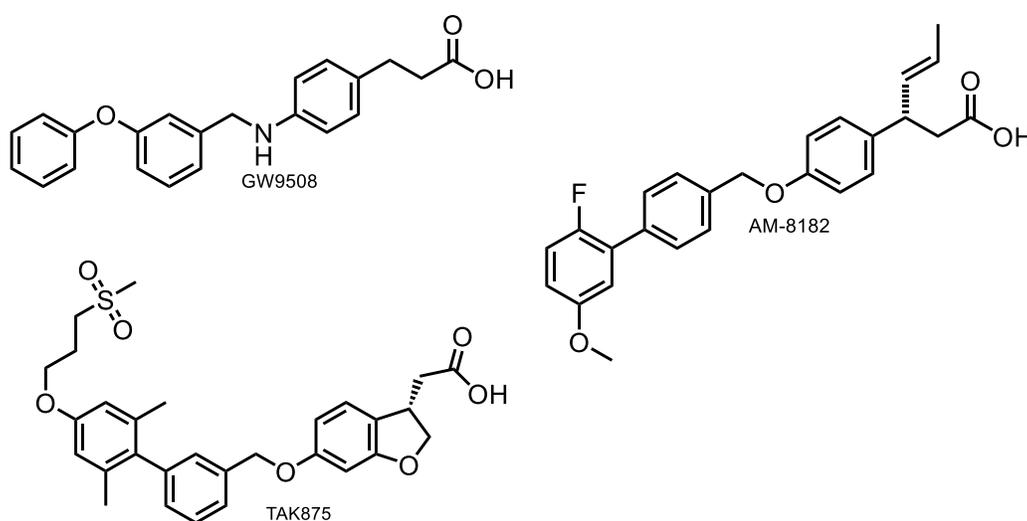


Figura 15. Agonistas sintéticos de GPR40 que se encuentran en diferentes fases de investigación. Hecho en ChemBioDraw

Diversos estudios de unión del ligando y las estructuras cristalinas revelan que hay múltiples sitios en la GPR40, y existe una cooperatividad de unión positiva entre los agonistas parciales y agonistas alostéricos completos.

Recientemente se tiene el conocimiento de un enfoque diferente para la utilización de la secreción de insulina mediada por GPR40 como objetivo terapéutico, en el que describen agonistas completos de GPR40 cuyo mecanismo de acción es a través de la modulación alostérica positiva (AgoPAMs) sobre ligandos ortostéricos.⁵⁹ Estos son conocidos también por ayudar a estimular la secreción de GLP-1, lo que podría explicar la eficacia observada. Un ejemplo de estos puede ser el compuesto AgoPAM AM-1638 (**Figura 15**).

2.7. Derivados de ácidos cinámicos

Analizando la estructura de los ligandos que se unen a los blancos terapéuticos de interés (GPR40 y PPAR- γ) es evidente que todos tienen algo en común y esto es que todos se conforman de ácidos carboxílicos, por lo que son de naturaleza ácida, con pKa's muy similares a los de los ácidos carboxílicos (pKa 4-5).

En la naturaleza existe un grupo de moléculas conocidas como “compuestos fenólicos”, estos, son metabolitos secundarios producidos por diversas plantas, el ácido cinámico, un ácido carboxílico aromático natural y sus derivados se clasifican en la rama de compuestos fenólicos simples, los cuales se componen de un anillo aromático de 6 átomos, una cadena lateral, lineal, de tres átomos de carbono, la cual contiene un doble enlace que será parte del grupo funcional de ácido acrílico, por lo que son conocidos como compuestos de tipo C₆-C₃ y al igual que los ligandos antes mencionados, contienen en su estructura ácidos carboxílicos (**Figura 16**), estos se pueden encontrar en diversos alimentos que son consumidos de manera normal en una dieta que incluya frutas, verduras, café, té, vino tinto, cacao, aceite de oliva, diversos cereales y la canela, debido a que su biosíntesis ocurre en plantas por la vía del ácido shikímico, donde sus precursores serán la fenilalanina y la tirosina.⁶¹ Presentan a su vez actividad antioxidante, así como otros beneficios para la salud ya que existen estudios que indican que una dieta rica en frutas y verduras antioxidantes reduce significativamente el riesgo de muchas enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, como el cáncer, la diabetes y las enfermedades cardiovasculares.⁶⁰ Hablando específicamente de la DT2, a este tipo de compuestos también se les atribuyen diversos efectos como la reducción del riesgo de síndrome metabólico y complicaciones de la DT2, la modulación del metabolismo de los carbohidratos y lípidos, también se ha observado que pueden atenuar la hiperglucemia y la resistencia a la insulina, mejoran la función de las células β y estimulan la secreción de insulina.⁽⁶²⁻⁶³⁾

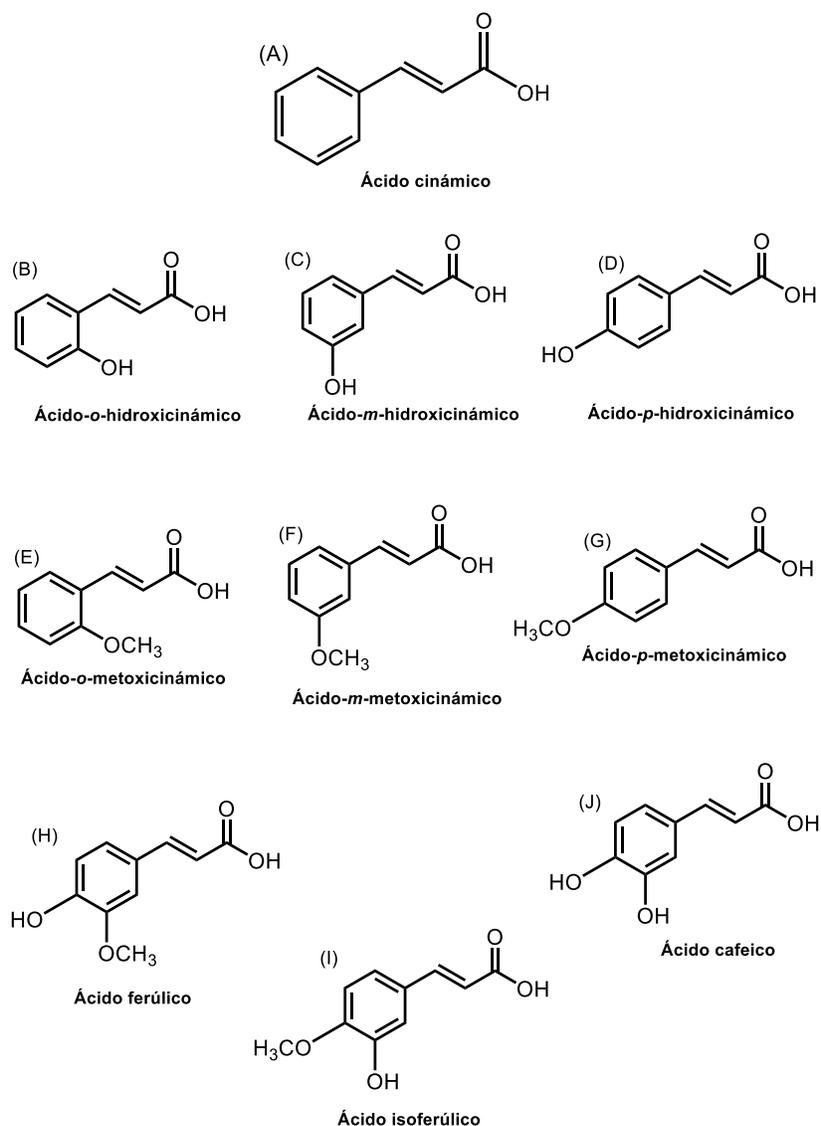


Figura 16. Diversos derivados del ácido cinámico que se encuentran en la naturaleza. Hecho en ChemBioDraw

Entre los derivados del ácido cinámico más comunes y conocidos están el ácido cinámico, el ácido cafeico, el ácido ferúlico, el ácido isoferúlico, el ácido cumárico y el ácido *p*-hidroxicinámico. Sin embargo, para fines de este proyecto se decidió enfocar la atención en la estructura del ácido-*o*-hidroxicinámico.

Este tipo de compuestos podrían ser una buena alternativa en cuanto al tratamiento de la DT2, ya que los ácidos fenólicos simples pueden estimular la secreción de insulina en las células β del páncreas, también ayudan a reducir el estrés oxidativo provocado por los altos niveles de glucosa en torrente sanguíneo, la cual glicosila a las enzimas SOD, CAT y GPx encargadas de la actividad antioxidante, estos compuestos tienen la capacidad de captar y

eliminar los radicales libres generados por el estrés oxidativo a la vez que mantiene a niveles adecuados al ácido ascórbico (vitamina C) que también es antioxidante. Por estas propiedades estos compuestos pueden ser útiles para la prevención de niveles alterados de glucosa e insulina en sangre.⁶⁴ Al encontrarse disponibles en diversos alimentos pueden ser fáciles de producir o sintetizar, además de que no se han reportado efectos adversos a comparación de otros agentes hipoglucemiantes utilizados en el tratamiento actual.

3. JUSTIFICACIÓN

Al ser la diabetes tipo 2 una de las enfermedades que más afectan a las personas a nivel mundial y tomando en cuenta la morbi-mortalidad que esta enfermedad representa debido a las complicaciones que puede generar por un mal control en la enfermedad y la no adherencia al tratamiento surge la preocupante necesidad de generar nuevas moléculas que puedan unirse no solo a uno, sino a distintos blancos terapéuticos “compuestos *Multitarget*” para evitar la polifarmacia en el paciente y los riesgos de efectos secundarios no deseados que esta puede generar. Este proyecto centra su atención en la síntesis de compuestos de tipo C₆-C₃ derivados del ácido-*o*-hidroxicinámico (cumárico) innovadores que puedan actuar sobre dos distintos receptores (GPR40 y PPAR- γ) proponiendo así, dos mecanismos de acción diferentes para una sola molécula y generando una alternativa para aquellos pacientes que desarrollan resistencia a la terapia existente, aportando compuestos bioactivos que podrían tener un impacto considerable en el continuo esfuerzo por disminuir el número de personas afectadas.

4. HIPÓTESIS

Los compuestos éteres derivados del ácido 3-(2-hidroxifenil)propenoico serán ligandos virtuales de los receptores GPR40 y PPAR- γ , y mostrarán acción antihiper glucémica en ensayos *in vitro* e *in vivo*.

5. OBJETIVOS

5.1.- Objetivo General

Diseñar, sintetizar y evaluar *in silico*, *in vitro* e *in vivo* la actividad antihiper glucémica de los compuestos éteres derivados del ácido 3-(2-hidroxifenil)propenoico.

5.2.- Objetivos particulares

- 1.- Diseñar y sintetizar 5 compuestos de tipo éteres C₆-C₃ basados en el ácido 3-(2-hidroxifenil)propenoico.
- 2.- Caracterizar los compuestos sintetizados mediante técnicas espectroscópicas (RMN de ¹H y ¹³C) y espectrométricas (EM).
- 3.- Evaluar el perfil farmacocinético, farmacodinámico y toxicológico por medio de programas quimio-informáticos realizando un análisis de consenso farmacológico con la información obtenida.
- 4.- Realizar un estudio de acoplamiento molecular de los compuestos sintetizados sobre los receptores PPAR- γ y GPR40 por medio del programa MOE.
- 5.- Realizar la determinación de expresión de RNAm de PPAR- γ y GPR40 para los compuestos jerarquizados mediante el análisis de consenso farmacológico.
- 6.- Determinar la actividad antihiper glucémica de los compuestos mediante ensayos *in vivo* en ratones.

6. CONSIDERACIONES DEL DISEÑO MOLECULAR

Tomando en cuenta la estructura del farmacóforo unificado para compuestos antidiabéticos,⁶⁵ el cual consta de:

- **Región ácida:** Esta permite interacciones con aminoácidos básicos en los receptores
- **Región aromática:** La cual permite interacciones de tipo π - π .
- **Espaciador flexible:** Este provee a la molécula de libertad para adoptar diferentes conformaciones y unirse de la mejor forma al receptor.
- **Región hidrofóbica:** Puede permitir más interacciones con el receptor por lo que aumenta también la energía de unión con este.

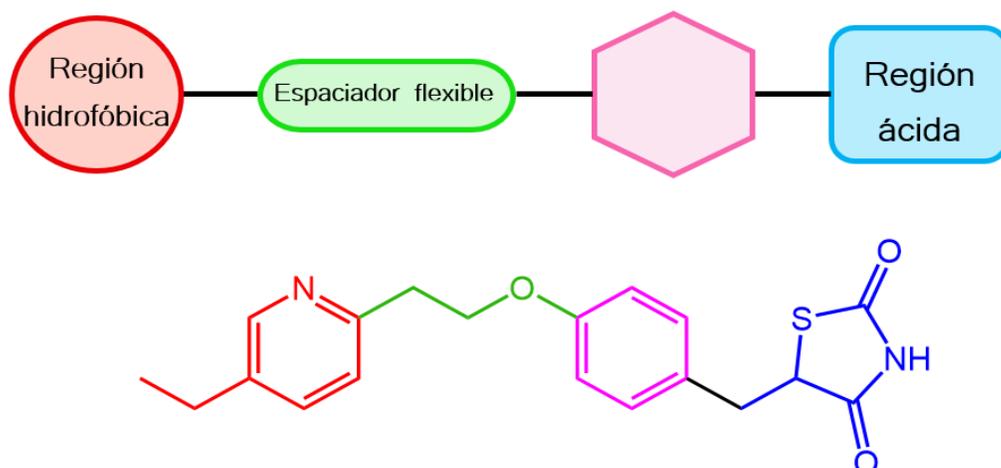


Figura 17: Farmacóforo unificado para compuestos antidiabéticos.

La estructura de las glitazonas que son ligandos sintéticos de PPAR- γ y de los ácidos endógenos, ligandos del receptor GPR40 también se tomaron en cuenta, además en el L-5 de la Facultad de Farmacia UAEM se han sintetizado una serie de compuestos basados en ácidos fenilpropiónicos y la conservación de la región ácida de la pioglitazona, como **ACB-7**,⁷ **THA-1**,⁶⁶ **ERO-2**,⁶⁷ **CGC-2**⁶⁸ y **CGC-4**⁶⁸ los cuales demostraron efecto antidiabético satisfactorio en ensayos *in vivo*, resaltando al compuesto ACB-7 que mostró efecto polifarmacológico en cálculos *in silico*, ensayos *in vitro* e *in vivo*. (Figura 18).

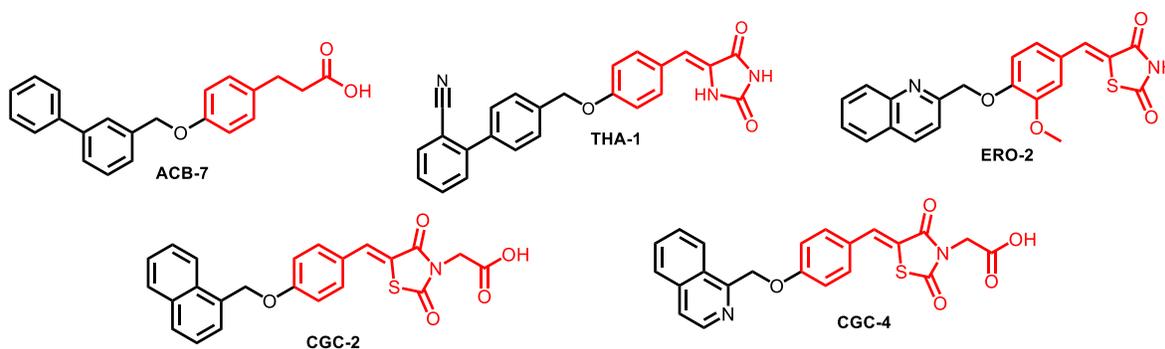
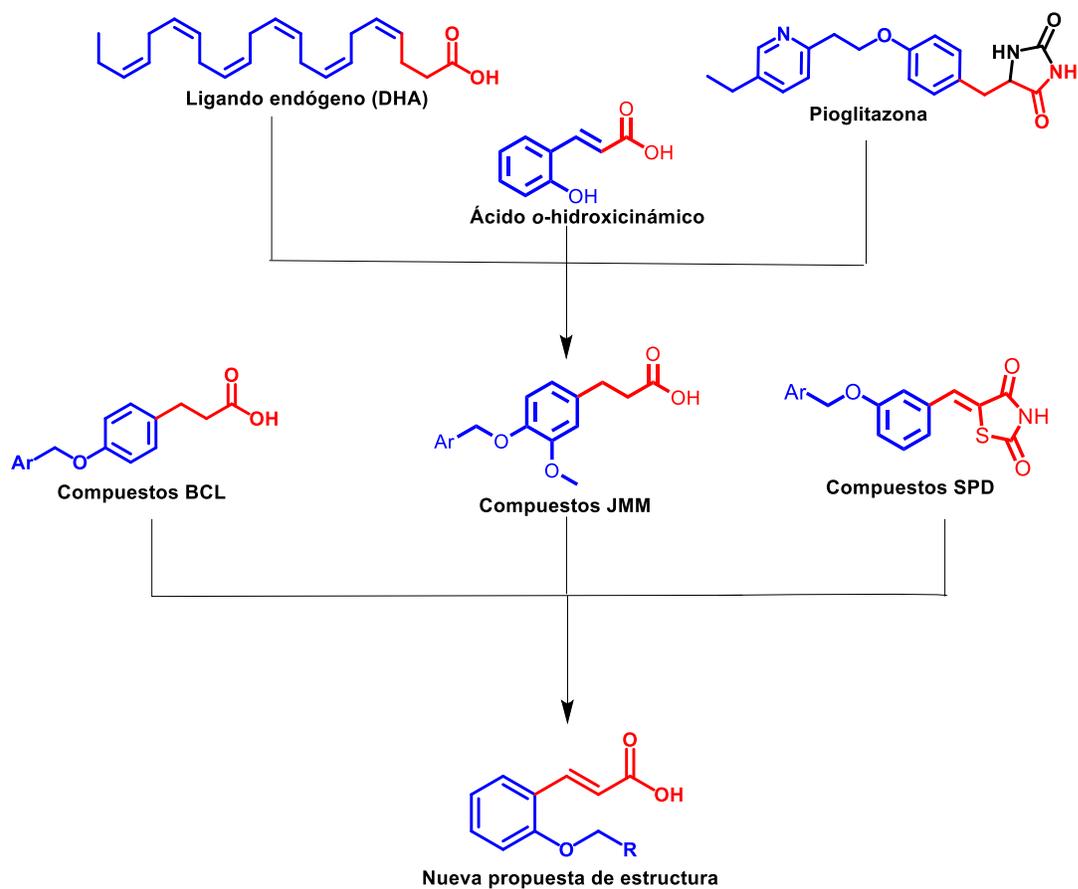


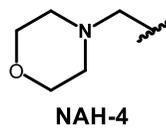
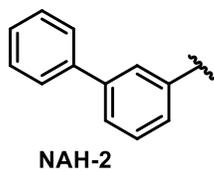
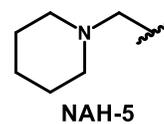
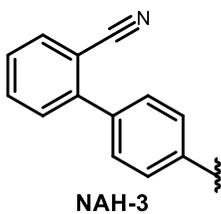
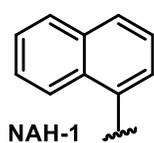
Figura 18. Moléculas sintetizadas en el L-5 con efecto antidiabético, donde la parte roja indica la parte ácida de la molécula y la parte negra la región hidrofóbica que cambia con distintos sustituyentes.

En este proyecto se consideraron los compuestos sintetizados por la Dra. Blanca Colín Lozano, el M en F. Josué Martínez Miranda y el ciudadano Sergio Peralta Díaz que mostraron una buena actividad en la activación tanto de PPAR- γ como de GPR40.^(7, 69) Para mantener las propiedades ácidas de las glitazonas y ácidos grasos endógenos, se propuso la síntesis de compuestos C₆-C₃ basados en el ácido -*o*-(hidroxifenil)propenoico colocando en posición *orto* al éter seguido de los respectivos sustituyentes, siendo estos: naftaleno (**NAH-1**), bifenilo (**NAH-2**), bifenilcarbonitrilo (**NAH-3**), morfolina (**NAH-4**) y piperdina (**NAH-5**), (**Esquema 1**).

Estas modificaciones en la región aromática (auxóforo) se realizaron para aumentar el volumen en la molécula y de este modo reforzar las interacciones en el sitio de unión, en el compuesto **NAH-1** se utilizó el naftaleno el cual es una estructura privilegiada debido a la amplia actividad farmacológica que posee,⁶⁹ el bifenilo, que se conservó del compuesto **ACB-7** y el bifenilcarbonitrilo son considerados para las moléculas **NAH-2** y **NAH-3**, los cuales son sustituyentes que demostraron buena actividad antidiabética *in vivo*, para los compuestos **NAH-4** y **NAH-5**, se utilizaron la morfolina y la piperidina respectivamente para aumentar la probabilidad de formar nuevas interacciones.



Donde R puede ser



Esquema 1: Compuestos propuestos tomando la estructura de agonistas endógenos y distintas moléculas sintetizadas en el laboratorio 5.

7.- METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

7.1.- Evaluación *in silico*

El análisis quimioinformático se realizó bajo la tutoría del Dr. Gabriel Navarrete Vázquez, utilizando diferentes programas o portales de acceso gratuito y otros con licencia. Se determinó el perfil farmacocinético, toxicológico y farmacodinámico de los compuestos propuestos de manera virtual. PASSonline evalúa y predice el posible espectro de actividad biológica de las moléculas propuestas, ADMETlab y SwissADME proporcionan parámetros fisicoquímicos y el proceso ADME a tomar en cuenta de éstas. ACD/ToxSuite y DataWarrior calculan los riesgos de toxicidad, como el bloqueo de canales hERG (ACD/ToxSuite), irritabilidad, mutagenicidad y carcinogenicidad. Por último, se llevó a cabo un acoplamiento molecular refinado utilizando el programa MOE (*Molecular Operating Environment*) para predecir el posible modo de unión de los compuestos sobre los blancos terapéuticos propuestos en el proyecto, GPR40 (PDB ID: 4PHU) y PPAR- γ (PDB ID: 1I7I). Posterior a esto, se realizó un análisis de consenso farmacológico para priorizar la síntesis de los compuestos que arrojaron mejores resultados.

7.1.1.- PASSonline

Es un programa gratuito online diseñado para evaluar el posible potencial biológico de una molécula, esto lo hace por medio de la predicción de la probabilidad de actividad dirigido para cierto tipo de enfermedades. La plataforma contiene una base de datos que cuenta con más de 300 mil diferentes moléculas bioactivas y se basa en un análisis de la relación estructura-actividad (SAR).⁷⁰

La probabilidad de actividad (P_a), predice que tanto la molécula en cuestión se asemeja a moléculas cuya actividad ya es conocida y reportada, aunque cabe mencionar que esta puede ser baja si no se encuentran muchas moléculas reportadas, mientras que la probabilidad de inactividad (P_i) estima la probabilidad de que la molécula no presente la actividad que se busca, por eso es importante saber discernir qué porcentaje es más alto.

7.1.2.- SwissADME

Este programa de acceso gratuito brinda información sobre la estructura y biodisponibilidad y biofarmacéuticas de la molécula, también mide las propiedades fisicoquímicas, farmacocinéticas con una manera muy simple de visualizar los resultados arrojados, como el radar de biodisponibilidad o la probabilidad de absorción intestinal o de barrera hematoencefálica haciéndolo por medio del diagrama del “huevo cocido”.⁷¹ Aporta datos interesantes, por ejemplo si la molécula presenta PAINS (*pan assay interference compounds*) es decir moléculas promiscuas con unión a múltiples proteínas o también datos como alertas que podrían causar cierto nivel de toxicidad en la estructura porque evalúa la química farmacéutica del compuesto en cuestión.

7.1.3.- ADMETlab

Este es un nuevo servidor el cual se encuentra en línea y es de uso libre para cualquier usuario, se enfoca en la evaluación de las propiedades ADMET de las moléculas a evaluar. Proporciona a los usuarios un acceso fácil a la predicción completa, precisa y eficiente de los perfiles ADMET de las sustancias químicas, incluyendo las propiedades de absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad, así como algunas propiedades fisicoquímicas y de química farmacéutica importantes.⁷² En este programa se emplea el marco MGA para poder arrojar resultados precisos de lo que se desea evaluar.

7.1.4.- Bio Transformer 3.0

El servidor se encuentra disponible en línea y realiza las predicciones *in silico* de cómo las moléculas a sintetizar pueden metabolizarse dentro del organismo, esto lo hace combinando enfoques de aprendizaje automático con un sistema basado en reglas para predecir el metabolismo de moléculas pequeñas en los tejidos humanos, el intestino humano y el entorno externo (microbiota del suelo y el agua).⁷³ Este servidor es capaz de predecir metabolitos de compuestos xenobióticos y metabolitos de moléculas endógenas, esto es útil en este proyecto para predecir si existe algún riesgo de toxicidad y la forma en la que se eliminarán estas moléculas.

7.1.5.- ACD/ToxSuite

Este es un programa de software especializado en modelos humanos que involucran el bloqueo de canales hERG (asociado a cardiotoxicidad), inhibición de CYP3A4, genotoxicidad, toxicidad aguda, toxicidad acuática, efectos sobre la salud, como irritación y alteración del sistema endocrino.⁷³ Este programa evalúa también la DL50 comparando la estructura de los compuestos a evaluar con otras parecidas reportadas realizando una predicción en especies como rata y ratón por diferentes vías de administración. Finalmente se evalúa la toxicidad tomando como referencia los parámetros de la (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico) OECD en los que puede encontrarse el compuesto dependiendo de los grupos funcionales que éste contenga en la estructura. Las predicciones se realizan a partir de la estructura química y se basan en grandes bases de datos validadas y modelos QSAR, en combinación con conocimientos expertos en química orgánica y toxicología.

7.1.6.- Osiris Property Explorer

El explorador de propiedades de OSIRIS permite calcular simultáneamente distintas propiedades relevantes para los compuestos bioactivos. Los resultados de la predicción se valoran y se codifican por colores. Las propiedades con alto riesgo de efectos no deseados como mutagenicidad o mala absorción intestinal se muestran en rojo, mientras que un color verde indica un comportamiento similar a los fármacos.⁷⁴ Este es un programa descargable, disponible en línea (<https://www.organicchemistry.org/prog/peo/>) que arroja predicciones de mutagenicidad, genotoxicidad e irritabilidad que el compuesto propuesto podría causar dentro del organismo humano. Igualmente puede proporcionar datos fisicoquímicos de la molécula y los resultados de qué tan segura puede ser con un patrón de colores, siendo el verde sin ningún peligro, amarillo que tiene ciertas alertas que podrían no ser tan severas para el daño a la salud y el rojo es una alerta alta de que existe un riesgo muy grande en cuanto a toxicidad. Es por ello que esta herramienta también es útil para discernir entre un grupo de varias moléculas y definir cuál es la más segura y eficaz.

7.1.7.- Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular o docking es una herramienta que sirve para determinar el posible modo de unión entre un compuesto bioactivo o ligando y su receptor biológico. Esto se realiza por medio de un estudio de acoplamiento en donde se aplican modelos computarizados para predecir la mejor orientación de un ligando que se une al receptor de interés.⁷⁶ Esta herramienta desempeña un papel importante en la predicción de la orientación del ligando cuando se une a un receptor de proteína o a una enzima utilizando la forma y las interacciones electrostáticas para cuantificarla.⁷⁷ Esta investigación integra los avances en biología molecular, biotecnología, bioinformática, matemáticas, química con modelado e informática con el fin de aumentar el poder predictivo de los programas de acoplamiento.

Para realizar el acoplamiento molecular de los compuestos finales **NAH 1-5** se utilizó el programa *Molecular Operating Environment* (MOE), del cual se cuenta con una licencia para su uso. Este programa arroja resultados en mapas 3D y 2D donde se pueden observar claramente las interacciones que se generan entre el receptor biológico y el ligando a analizar.

Se realizó el acoplamiento por triplicado utilizando las estructuras de los ligandos **NAH 1-5** simulando un pH fisiológico, sobre los receptores de GPR40 y de PPAR- γ , en donde los códigos PDB de estos receptores cristalizados son 4PHU y 117I, respectivamente.

7.2.- Síntesis química

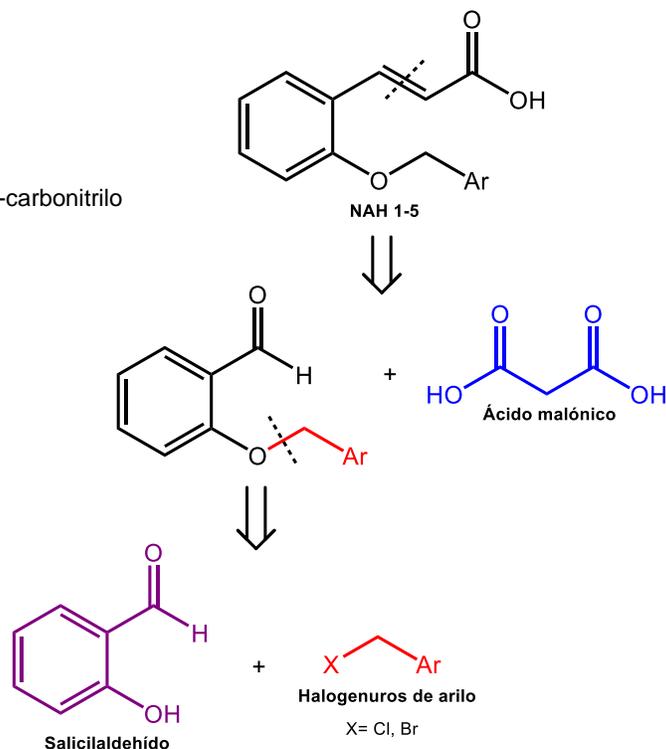
La síntesis química se realizó en el Laboratorio 5 de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la tutoría del Dr. Gabriel Navarrete Vázquez. Una vez sintetizados los compuestos, estos fueron purificados y enviados para realizar análisis espectroscópicos y espectrométricos por el Dr. Emanuel Hernández Núñez y la Dra. Gloria Ivonne Hernández Bolio del Departamento de Recursos del Mar CINVESTAV Unidad Mérida, posteriormente la asignación de las señales se llevó a cabo en el L-5.

7.2.1.- Retrosíntesis

Este análisis se realiza con el fin de obtener las moléculas que pueden ser utilizadas como materias primas que sean accesibles o de fácil obtención para sintetizar los compuestos propuestos, considerando grupos funcionales, estereoquímica y enlaces que pueden formar las materias primas para la construcción del compuesto de interés.

En el siguiente esquema se muestra el método a seguir para la obtención de la serie de compuestos **NAH 1-5**.

NAH-1: Ar= 2-metil-naftaleno
NAH-2: Ar= 3-metil-1,1'-bifenilo
NAH-3: Ar= 4'-metil-(1,1'-bifenil)-2-carbonitrilo
NAH-4: Ar= 3-etilmorfolina
NAH-5: Ar= 1-etilpiperidin

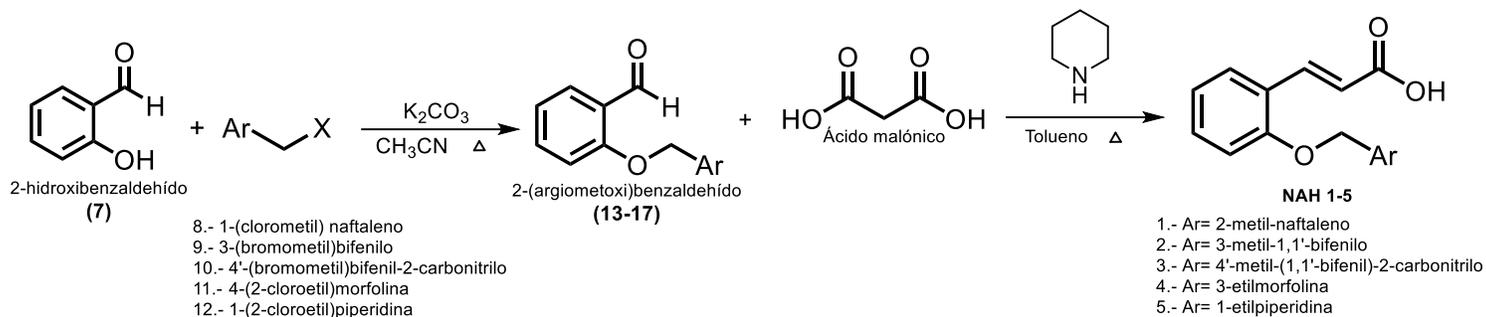


Esquema 2: Retrosíntesis propuesta para la obtención de las materias primas y la posterior síntesis de los compuestos finales **NAH 1-5**.

7.2.2.-Síntesis general de los compuestos **NAH 1-5**.

La ruta de síntesis química propuesta se efectuó en el Laboratorio 5 de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la tutoría del Dr. Gabriel Navarrete Vázquez.

Para llevar a cabo esta ruta de síntesis química propuesta se partió del 2-hidroxibenzaldehído o salicilaldehído (**7**) y se realizó una sustitución nucleofílica bimolecular utilizando diferentes halogenuros de arilo para crear diferentes sustituyentes, se utilizó K_2CO_3 como base y CH_3CN como disolvente en condiciones de reflujo para obtener los precursores de tipo 2-(arilmetometoxi)benzaldehídos debidamente sustituidos (**13-17**). Finalmente proceder con una condensación de Doebner Knoevenagel utilizando ácido malónico, piperidina como base y tolueno como disolvente, igualmente en condiciones de reflujo para así obtener los compuestos finales **NAH 1-5**. (**Esquema 3**)



Esquema 3: Ruta de síntesis para la obtención de los compuestos finales **NAH 1-5**.

7.3.-Evaluación farmacológica

7.3.1.- Evaluación farmacológica *in vitro*

7.3.1.1. Ensayos *in vitro* sobre receptores PPAR- γ y transportador de glucosa tipo 4 (GLUT-4).

Para hacer estos ensayos se utiliza la línea celular 3T3-L1 la cual está relacionada con la diferenciación de adipocitos maduros, en donde PPAR- γ está involucrado ya que se activa y promueve la traslocación de transportadores GLUT-4 y GLUT-1 lo que permite el ingreso de la glucosa a las células. Al utilizar esta línea celular se tiene la certeza de que los compuestos a analizar estarán actuando sobre los receptores de PPAR- γ al observar la activación del receptor por medio de la expresión del receptor GLUT-4.

7.3.1.2. Ensayos sobre adipocitos diferenciados con los compuestos NAH-2, NAH-3 y NAH-4 y cuantificación de la expresión de RNA's mensajeros.

Los fibroblastos 3T3-L1 (9×10^5 células por pozo) fueron sembrados en una placa de 6 pozos (Corning Incorporated, NY, USA) en medio DMEM adicionado con 25 mM de glucosa, 10% de suero fetal bovino (v/v), 1 mM de piruvato sódico, 2 mM de glutamina, 0.1 mM de aminoácidos no esenciales, y gentamicina, bajo una atmósfera humidificada al 5% de CO₂, a 37 °C. Después de dos días de confluencia, las células se diferenciaron fenotípicamente a adipocitos con 0.5 mM de 3-isobutil-1-metilxantina, 0.25 μ M de acetato de dexametasona, y 0.8 μ M de insulina por 48 h, seguido por insulina sola por 48 h más. El medio de cultivo

sin insulina fue reemplazado cada dos días durante 8 días de diferenciación.⁷⁷ Para determinar el efecto de los compuestos sobre la expresión de PPAR- γ y GLUT-4, las células fueron tratadas por 24 h.

El ARN se aisló de las células de cultivo usando el reactivo de aislamiento TriPure (Invitrogen). La absorbancia se midió a 260 y 280 nm para cada muestra de ARN y la relación de absorbancia (260-a-280 nm) es de 1.9 ± 0.2 . Para confirmar la integridad del ARN, 1 μ g fue corrido en de gel de agarosa al 1%. El ARN se reveló con bromuro de etidio y se visualizó utilizando el Image Gel-Logic 212 Pro (Kodak/Caarestream). Dos bandas ribosomales grandes (28S y 18S) pero no el ARN degradado son detectadas. 2 μ g del ARN total se transcribirán inversamente usando el ImProm II reverse transcription system (Promega, Madison, WI, USA), la reacción (20 μ L) se incubó en un termociclador (BioProducts, West Palm Beach, FL, USA), bajo el siguiente programa de ciclos: incubación a 25 °C por 5 min, hasta 42 °C por 55 min. La enzima fue inactivada a 70°C, por 15 min, y finalmente las muestras se enfriaron a 4 °C, por 5 min. Entonces un volumen 1/10 de cada reacción fue amplificado usando SYBR Green master mix (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany) conteniendo 0.5 mM de cebadores personalizados de PPAR- γ (F-CCAGAGTCTGCTGATCTGCG; R-GCCACCTCTTTGCTCTGCTC; Gene Bank NM_011146.1), GLUT-4 (FGATTCTGCTGCCCTTCTGTC; R ATTGGACGCTCTCTCTCAA; Gene Bank NM_009204.2), así como la enzima de iniciación rápida, buffer para PCR y 3.5 mM MgCl₂, en un volumen final de 10 μ L, las reacciones fueron medidas en un Rotor- Gene de tiempo-real (Corbett Life Science, Concorde NSW, Australia). La amplificación por PCR, se llevó a cabo usando las siguientes condiciones de ciclos: pre-incubación y desnaturalización a 95 °C durante 10 min. El umbral de ciclos (Ct) se midió usando tubos separados y por duplicado. La identidad y pureza de los productos de ampliación fue monitoreada por electroforesis en gel de agarosa al 2 %. La curva de fusión se analizó al inicio de la amplificación siguiendo las condiciones tal cual lo indica la compañía (Thermo scientific). Para asegurar la calidad de las mediciones, cada ensayo incluyó un control negativo para cada gen. La cantidad de ARNm de cada adipocito se normalizó de acuerdo con la cantidad de ARNm ribosomal que codifica para la proteína 36B4 F-AAGCGCGTCCTGGCATTGTCT; RCCGCAGGGGCAGCAGTGGT; Gene Bank NM_007475.2).

Los valores de ΔCt se calcularon en cada muestra de cada gen de interés como se menciona a continuación: Ct gen de interés – Ct gen de referencia (β - actina como el gen de referencia, el cual se mantuvo estable durante todo el experimento). Los cambios relativos en los niveles de expresión de un gen en específico ($\Delta\Delta Ct$) son calculados como ΔCt del grupo prueba menos ΔCt del grupo control y entonces presentado $2^{-\Delta\Delta Ct}$.⁷⁸

7.3.2.- Evaluación farmacológica *in vivo*

Se utilizaron ratones macho BALB/C de 20-35 g, los cuales fueron mantenidos bajo condiciones estándar de laboratorio (ciclos 12 h día/noche, 25° C, humedad 45-65%) y de acuerdo con la NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.⁷⁵

Se realizó una curva de tolerancia a la glucosa en 5 ratones, donde se administraron los compuestos **NAH-2** y **NAH-3** disueltos en Tween 80 al 10%, media hora después se administró una solución de glucosa a cada ratón, se recolectaron muestras de sangre a la hora 0, 0.5, 1, 2 y 3 para medir los niveles de glucosa y evaluar el efecto de los compuestos elegidos.

8.- RESULTADOS

8.1.- Resultados de evaluación *in silico*

8.1.1.- PASSonline

En la **tabla 2** se observa que todos los compuestos presentan buenas probabilidades de actividad antidiabética y como promotores de insulina; en general el programa arrojó probabilidades discretas como agonistas de GPR40 y PPAR- γ , lo que indica que esta propuesta de estructuras es novedosa para estos receptores, lo que explica porque el programa no asigna una probabilidad de actividad ya que no cuenta con la información suficiente de comparación para dar un porcentaje. Se observa también que los compuestos **NAH-1**, **NAH-2**, **NAH-3** y **NAH-5** presentan probabilidad de actividad como antidiabéticos, promotores de insulina, y agonistas tanto de PPAR- γ como de GPR40, mientras que el compuesto **NAH-5** no presentan una probabilidad de actividad como agonistas de GPR40, siendo los compuestos **NAH-1**, **NAH-2** y **NAH-3** los que muestran mayor PA en diferentes blancos terapéuticos para el tratamiento de la DT2.

Tabla 2: Resultados arrojados por el portal PASSonline para los compuestos a sintetizar **NAH 1-6**.

	NAH-1		NAH-2		NAH-3		NAH-4		NAH-5	
Actividad	Pa	Pi								
Antidiabético	42%	0.038%	47%	0.027%	45%	0.031%	35%	0.06%	37%	0.052%
Promotor de insulina	40%	0.059%	53%	0.024%	29%	0.15%	31%	0.12%	45%	0.042%
Agonista PPAR- γ	15%	0.012%	18%	0.009%	14%	0.014%	13%	0.016%	13%	0.016%
Agonista GPR40	5%	0.006%	6%	0.005%	3%	0.019%	-	-	3%	0.014%

Pi= Probabilidad de inactividad; Pa= Probabilidad de actividad

8.1.2.- SwissADME

Este programa arroja parámetros fisicoquímicos y propiedades biofarmacéuticas importantes a considerar para la síntesis de las moléculas que se realizarán en el proyecto.

En la **tabla 3** se observa que ninguna molécula rebasa el límite de dos violaciones en cuanto a las reglas de Lipinski y Veber. Se considera que un fármaco o compuesto bioactivo diseñado para ser administrado por vía oral debe cumplir las siguientes reglas para poseer una buena permeabilidad en la membrana celular: peso molecular menor a 500 g/mol, logaritmo del coeficiente de partición n-octanol/agua (LogP) menor a 5, el cual hace referencia a la lipofilidad, un número de donadores de puentes de H menor a 5 y un número de aceptores de puentes de H menor a 10. Los postulados de Veber amplían estos parámetros tomando en cuenta también el número de enlaces rotables, el cual debe ser menor a 10 y el área polar superficial la cual debe ser menor a 140 Å².⁷⁹ Por lo que se pudo prever que los compuestos a sintetizar presentarían una buena permeabilidad cuando se realizaran los ensayos farmacológicos correspondientes.

Este programa arroja parámetros fisicoquímicos y propiedades biofarmacéuticas importantes a considerar para la síntesis de las moléculas que se realizarán en el proyecto.

Tabla 3: Resultados del programa SwissADME.

Compuesto	NAH-1	NAH-2	NAH-3	NAH-4	NAH-5	TAK-875
PM (g/mol)	304.34	330.38	397.47	277.32	275.34	524.63
Enlaces rotables	5	6	6	7	6	11
H-aceptores	3	3	4	5	4	7
H-donador	1	1	1	1	1	1
TPSA (Å ²)	46.53	46.53	70.32	59.00	49.77	107.54
Log P _{o/w}	3.96	4.35	5.08	1.13	2.02	4.77
Solubilidad en agua	Baja	Baja	Baja	Buena	Buena	Baja
Absorción IG	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta	Baja
Lipinski						1
Veber						1
Puntaje de biodisponibilidad	0.85	0.85	0.85	0.55	0.85	0.56
PAINS	0	0	0	0	0	0

8.1.3.- ADMETlab

Para la evaluación de los parámetros farmacocinéticos se utilizó el portal en línea ADMETlab, el cual toma en cuenta tanto propiedades fisicoquímicas de las moléculas evaluar como predicciones farmacocinéticas y toxicológicas que realiza basándose en bibliotecas y bases de datos de las moléculas a evaluar.

En la **tabla 4** se muestran los resultados obtenidos para cada compuesto y se observó que todos presentan una buena probabilidad de absorción intestinal, no se prevé que sean inhibidores de glicoproteína P, la cual está relacionada con la resistencia a fármacos, la mayoría presentan buena probabilidad de biodisponibilidad oral, no tienen probabilidad de inhibición de la isoforma 3A4 del CYP450, la cual metaboliza la mayoría de los fármacos e inhibirla podría provocar efectos tóxicos. No presentan toxicidad AMES la cual está relacionada con mutagénesis. En cuanto a carcinogénesis, algunos de ellos presentan cierta probabilidad de carcinogénesis, sin embargo, esto puede deberse a que el programa detecta el fragmento del carbonilo α, β -insaturado, el cual está reportado como un aceptor de Michael que puede formar aductos con proteínas o ADN, sin embargo, las moléculas a desarrollar son derivados del ácido cinámico, un producto natural C₆-C₃ ampliamente distribuido en la naturaleza y sin efectos mutagénicos o carcinogénicos reportados. En general los compuestos tienen mayor probabilidad de ser seguros en ensayos *in vivo*.

Tabla 4: Resultados obtenidos del programa ADMETlab.

Compuesto	Absorción en intestino	Biodisponibilidad oral en humanos	Inhibidor de glicoproteína P	Inhibidor de CYP3A4	Toxicidad AMES	Carcinogénesis	Toxicidad oral aguda
NAH-1	HIA+	HOB +	No inhibidor	No inhibidor	No tóxico	Probable Carcinógeno	III
NAH-2	HIA+	HOB +	No inhibidor	No inhibidor	No tóxico	Probable Carcinógeno	III
NAH-3	HIA+	HOB +	No inhibidor	No inhibidor	Tóxico	Probable Carcinógeno	III
NAH-4	HIA+	HOB +	No inhibidor	No inhibidor	No tóxico	No carcinógeno	III
NAH-5	HIA+	HOB-	No inhibidor	No inhibidor	No tóxico	No carcinógeno	III
TAK-875	HIA +	HOB +	No inhibidor	No inhibidor	Tóxico	Probable Carcinógeno	III

8.1.4.- ACD/ToxSuite

Con el programa ACD/ToxSuite se evaluaron los procesos toxicológicos como el bloqueo de canales hERG, relacionados con cardiotoxicidad, también la inhibición de diferentes isoformas del CYP450 y predice la dosis letal media en rata y ratón por diferentes vías de administración para obtener una clasificación en cuanto a toxicidad de los compuestos a sintetizar tomando los parámetros de la OECD. A continuación, se presentan los resultados obtenidos en donde todos los compuestos reportan bajas probabilidades de bloqueo de canales hERG y de las diferentes isoformas del CYP450 a diferencia de los controles positivos clorfenamina y clotrimazol, fármacos usados como antihistamínicos y antifúngicos respectivamente. Los valores de DL₅₀ que presentaron los compuestos son dosis que se pueden considerar altas a comparación de la clorfenamina por lo que el programa ubicó a los compuestos entre los parámetros de 4 y 5, los que indican “toxicidad moderada” o “sin peligro” de acuerdo con la OECD. (Tabla 5)

Tabla 5: Resultados toxicológicos de los compuestos a sintetizar **NAH 1-5** en comparación con clorfenamina y clotrimazol.

Compuesto	Probabilidad de bloqueo de canales hERG (Ki<10µM)	Probabilidad de Cl ₅₀ <10µM isoformas de CYP450			Especie y vía de administración DL ₅₀ (mg/kg)				Categoría OECD
		3A4	2D6	2C9	Ratón		Rata		
					PO	IV	IP	PO	
NAH-1	10%	6%	5%	12%	1700	110	660	1500	4-5
NAH-2	22%	8%	4%	18%	1800	90	740	2200	4-5
NAH-3	30%	6%	2%	21%	790	79	910	2400	4-5
NAH-4	3%	1%	3%	2%	1900	170	400	1800	4-5
NAH-5	5%	1%	18%	3%	1600	130	350	1900	4-5
TAK-875	15%	29%	4%	17%	2500	130	230	1300	4-5
Clorfenamina	79%	6%	33%	6%	280	55	160	140	3-4
Clotrimazol	94%	85%	7%	41%	1000	26	450	1200	4-5

8.1.5.- Bio Transformer 3.0

De acuerdo con las predicciones realizadas en el servidor se visualizaron las posibles reacciones de fase I más probables a suceder por medio del CYP450 isoforma 1A2, las cuales incluyen la *o*-desalquilación del enlace tipo éter y la hidroxilación en los anillos aromáticos. En cuanto a los compuestos **NAH-4** y **NAH-5** también se puede presentar una *N*-desalquilación en el enlace que contiene a la morfolina y a la piperidina respectivamente. **(Figura 19)** En cuanto a las reacciones de fase II, para todos los compuestos se observa la *o*-glucuronidación del ácido carboxílico por medio de la enzima uridinadifosfato glucuroniltransferasa y también habrá una conjugación con glicina en el sitio del ácido carboxílico formando una amida. **(Figura 20)**

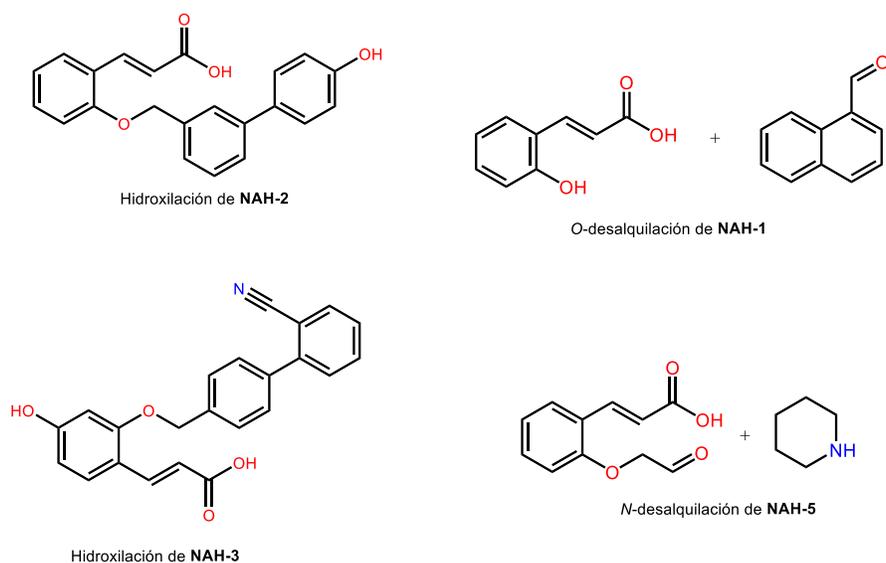


Figura 19: Reacciones de fase I que se presentan en los compuestos **NAH 1-5**.

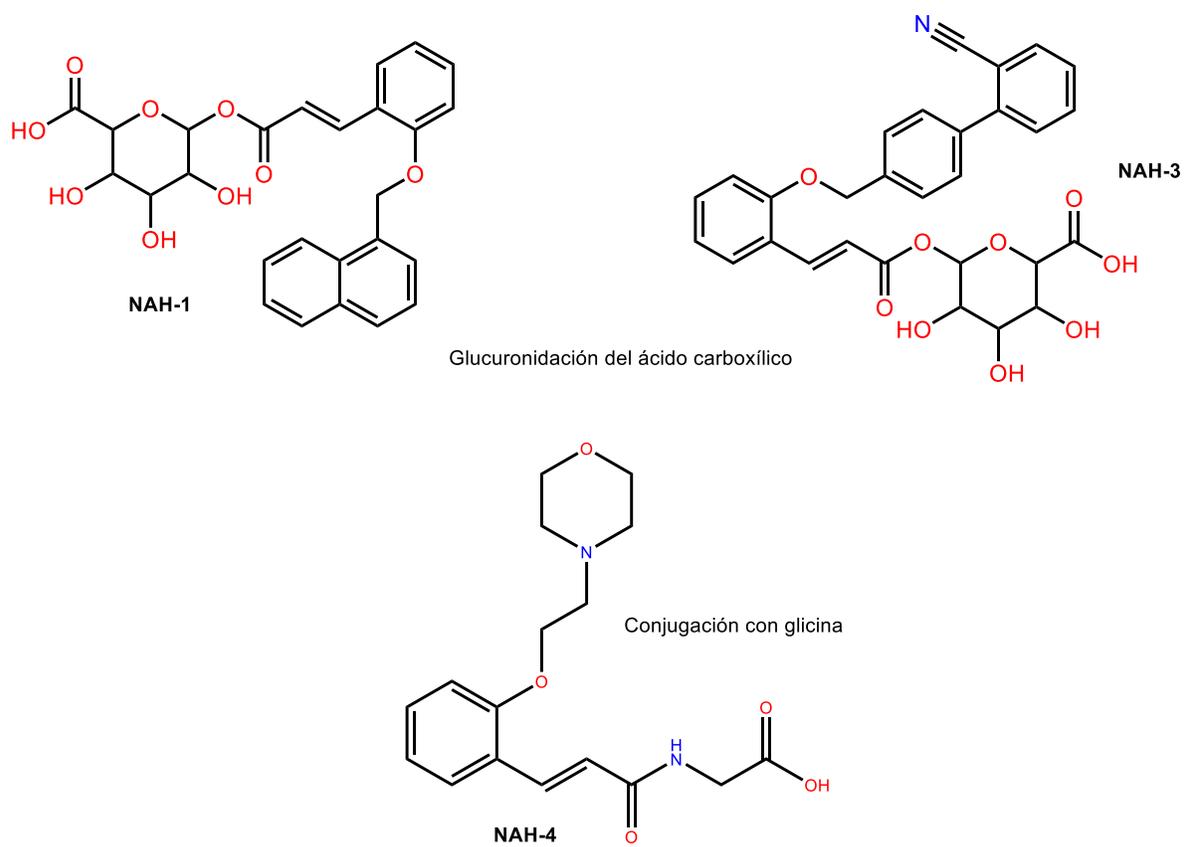


Figura 20: Metabolitos de los compuestos **NAH-1**, **NAH-3** (glucuronidación) y **NAH-4** (conjugación con glicina).

8.1.6.- Osiris Property Explorer

Utilizando este programa se puede evaluar la probabilidad de que los compuestos presenten características tóxicas como mutagenicidad, tumorigenicidad, irritación y efectos en el aparato reproductor, esto lo evalúa arrojando una alerta que sigue los colores de semáforo en donde el verde indica que no detecta ningún riesgo, el amarillo riesgo moderado y el rojo alto riesgo. Después de evaluar los compuestos se puede observar en la tabla la mayoría de ellos no presenta alertas, a excepción del compuesto **NAH-1**, esta alerta puede deberse al grupo naftaleno, sin embargo, se puede prever que los compuestos serán seguros en este aspecto.

Tabla 6: Resultados obtenidos con el programa Osiris Property Explorer.

Propiedad	NAH-1	NAH-2	NAH-3	NAH-4	NAH-5	TAK-875
Mutagenicidad	Yellow	Green	Green	Green	Green	Green
Tumorigenicidad	Red	Green	Green	Green	Green	Green
Irritante	Green	Green	Green	Green	Green	Green
Efectos en el aparato reproductor	Green	Green	Green	Green	Green	Green

8.2.- Resultados de Acoplamiento Molecular

Acoplamiento molecular con el programa *Molecular Operating Environment* (MOE).

Este procedimiento fue realizado sobre las proteínas de GPR40 y PPAR- γ utilizando los PDB: 4PHU y 1I7I respectivamente, en este programa se corrieron 100 poses, seleccionando las 10 mejores en cuanto a energía de unión para finalmente tomar la pose más adecuada dependiendo del acomodo de la molécula sobre la proteína y el mejor score. El acoplamiento se realizó por triplicado para observar que las moléculas no presentaran diferencias tan grandes en los resultados obtenidos y verificar la precisión de estos con la desviación estándar.

8.2.1.- Acoplamiento molecular sobre GPR40.

8.2.1.1. Validación sobre GPR40

Utilizando la proteína cristalizada del sitio *Protein Data Bank*⁸¹ (4PHU) la cual contiene como ligando cocrystalizado al TAK-875, se realizó la validación sobre este receptor para asegurar que la predicción del modo de unión sobre el blanco terapéutico sea correcta, por lo que se utiliza el mismo ligando (TAK-875) y se realiza un reemplazamiento sobre el receptor. El parámetro que se toma en cuenta para asegurar la correcta validación es el RMSD (*root-mean-square deviation*) o la desviación cuadrática media, el cual indica el movimiento que tiene el ligando reemplazado en comparación con el cocrystalizado. Esta desviación no debe ser mayor a 2 Å para que la validación sea aceptada,⁸² cabe mencionar que entre más cercano sea el valor a 0 es mejor.

A continuación, en la **Figura 21** y **Figura 22** se muestran los resultados obtenidos de la validación sobre GPR40, en donde se observan las interacciones con los aminoácidos importantes (Tyr 91, Arg 183, Tyr 2240 y Arg 2258) para la correcta activación del receptor GPR40,⁸³ en el sitio alostérico para agonistas parciales, el cual arrojó un score de -8.92 y un RMSD de 1.33 Å.

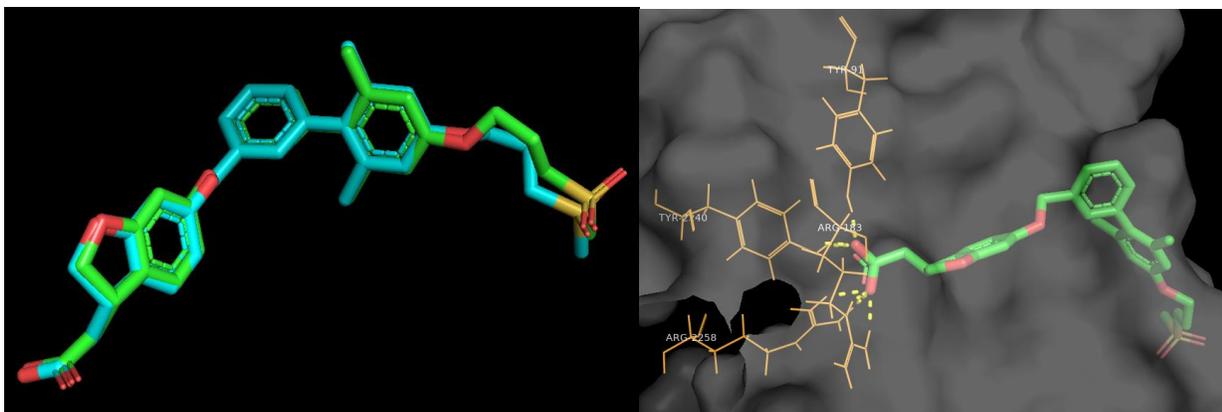


Figura 21: Visualización en 3D del ligando cocrystalizado (TAK-875) en cian, en comparación con el ligando reacoplado (verde). En la imagen de la izquierda se pueden observar las interacciones que presenta con los aminoácidos importantes (RMSD: 1.33 Å).

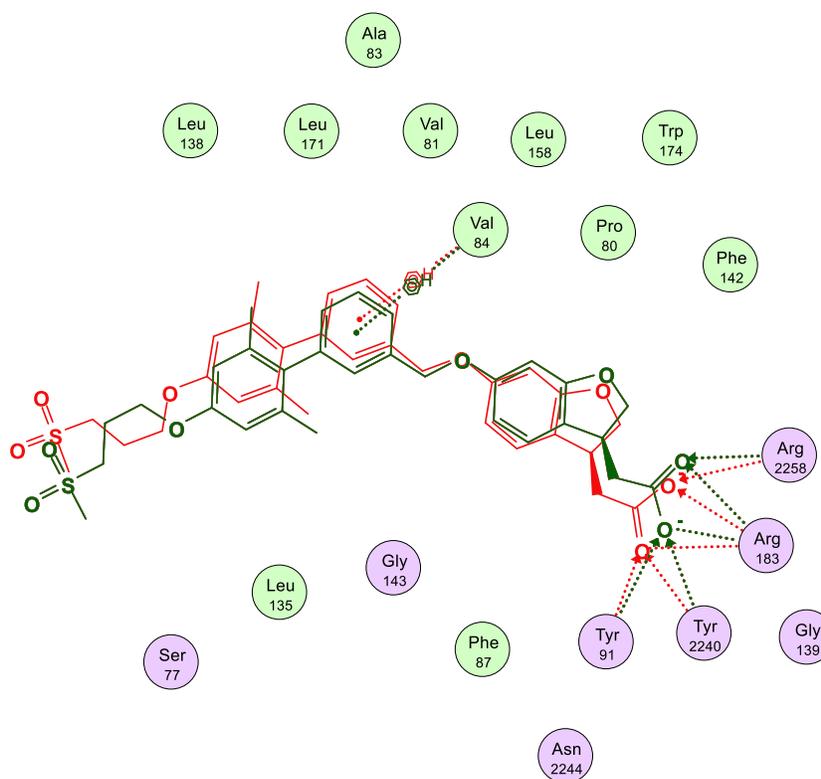


Figura 22: Visualización en 2D del ligando cocrystalizado (rojo) y el reacoplado (verde) en donde se observa la conformación que adoptan y las interacciones (RMSD: 1.33 Å).

8.2.1.2. Acoplamiento molecular del compuesto **NAH-1** sobre GPR40

En la siguiente figura se observa el acoplamiento molecular del compuesto **NAH-1** sobre el receptor de GPR40, este compuesto presentó un score total de -6.81 ± 0.14 y presentó dos de las interacciones importantes con Arg 183 y Arg 2258, las cuales son de tipo electrostático y puente de hidrógeno con los oxígenos del ácido carboxílico que se encuentra ionizado.

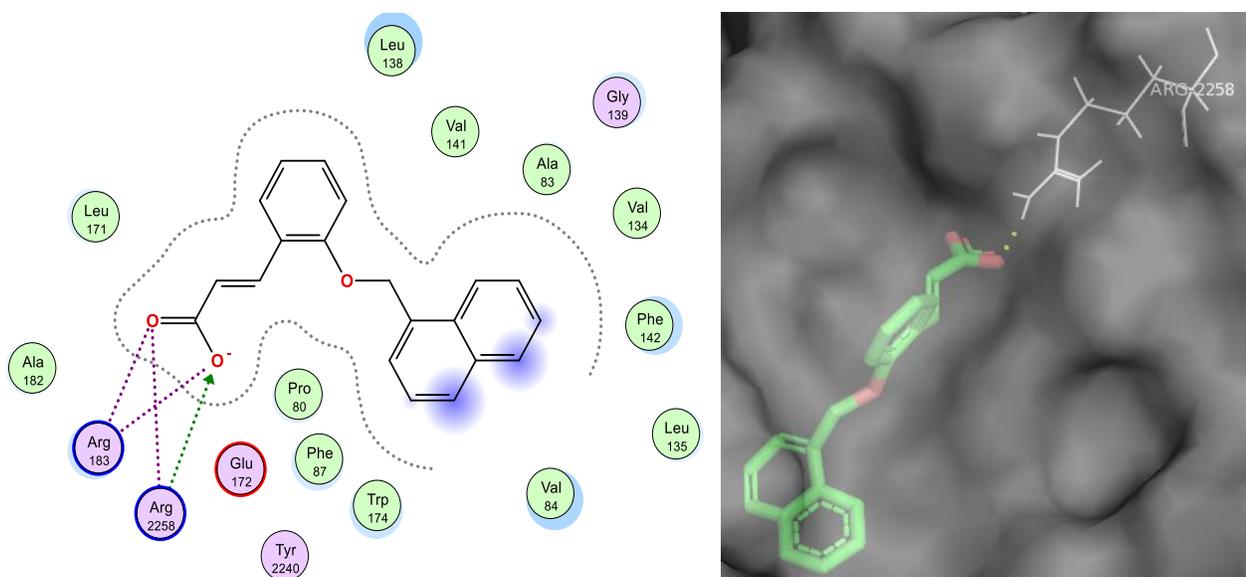


Figura 23: Visualización en 2D (izquierda) y 3D (derecha) del compuesto **NAH-1** sobre GPR40 y las interacciones que presenta.

8..2.1.3. Acoplamiento molecular del compuesto **NAH-2** sobre GPR40

En la **Figura 24** se observa el acoplamiento molecular del compuesto **NAH-2** sobre el receptor de GPR40, este compuesto presentó un score total de -7.42 ± 0.0005 . Presenta todas las interacciones importantes para activar el receptor, Tyr 91, Tyr 2240, Arg 183 y Arg 2258, destacando interacciones electrostáticas y puentes de hidrógeno reforzados.

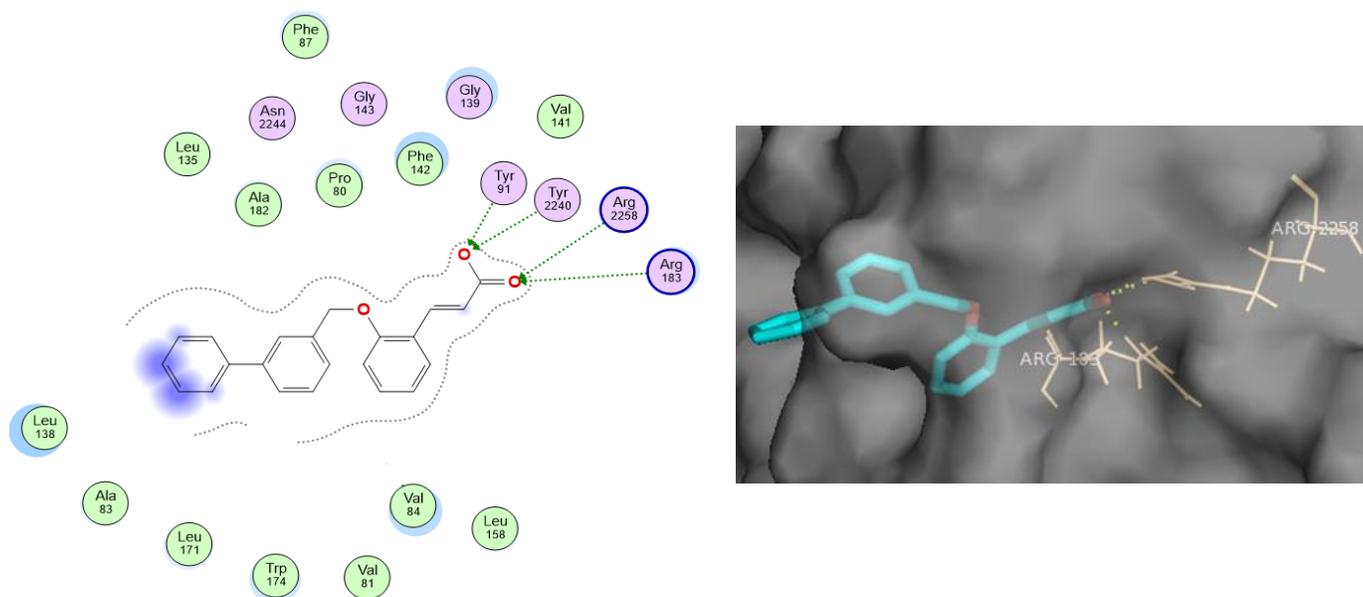


Figura 24: Visualización en 2D (izquierda) y 3D (derecha) del compuesto **NAH-2** sobre GPR40 y las interacciones que presenta.

8.2.1.4 Acoplamiento molecular del compuesto **NAH-3** sobre GPR40

En la **Figura 25** se observa el acoplamiento molecular del compuesto **NAH-3** sobre el receptor de GPR40, este compuesto presentó un score total de -7.36 ± 0.17 , este compuesto presenta 3 de las 4 interacciones importantes para activar el receptor, Tyr 91, Tyr 2240 y Arg 183, también presenta un puente de hidrógeno adicional con Leu 135 que interacciona con el nitrógeno del bifenilcarbonitrilo.

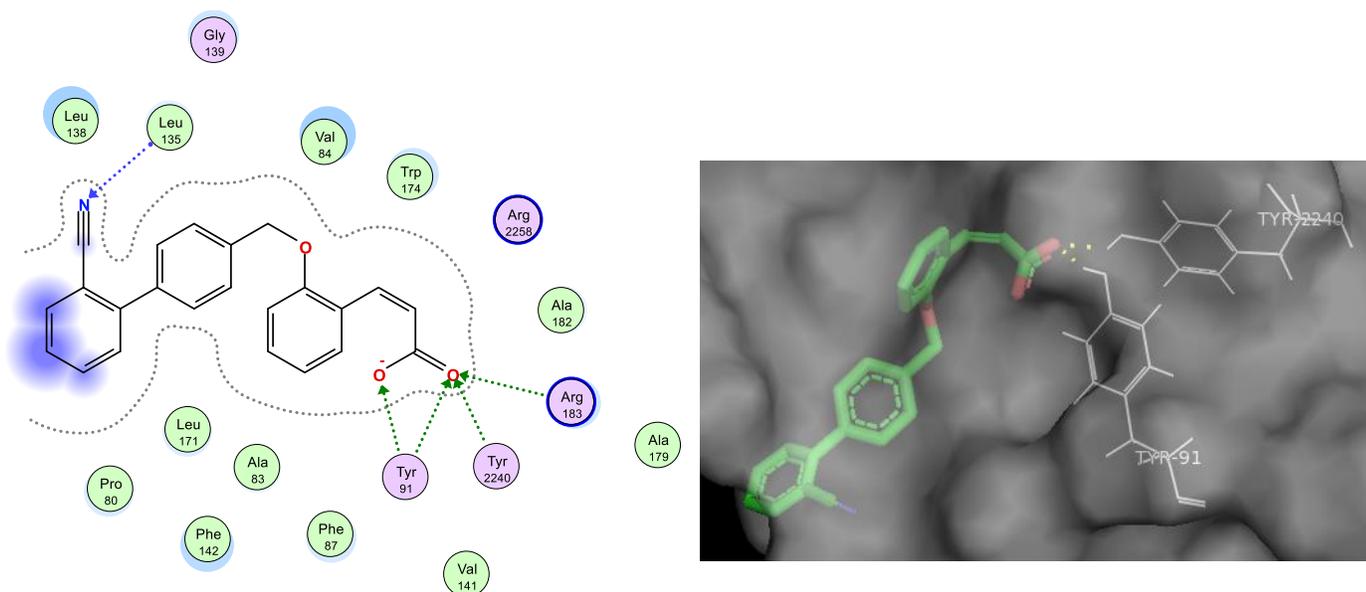


Figura 25: Visualización en 2D (izquierda) y 3D (derecha) del compuesto **NAH-3** sobre GPR40 y las interacciones que presenta.

8.2.1.5 Acoplamiento molecular del compuesto **NAH-4** sobre GPR40

A continuación, se observa el acoplamiento molecular del compuesto **NAH-4**, este compuesto presentó un score total de -6.73 ± 0.05 , este compuesto presenta 2 de las 4 interacciones importantes para activar el receptor: Arg 183 y Arg 2258, también presenta otras interacciones polares con Ala 83 y Phe 142 de tipo π -catión con el anillo de morfolina (**Figura 26**).

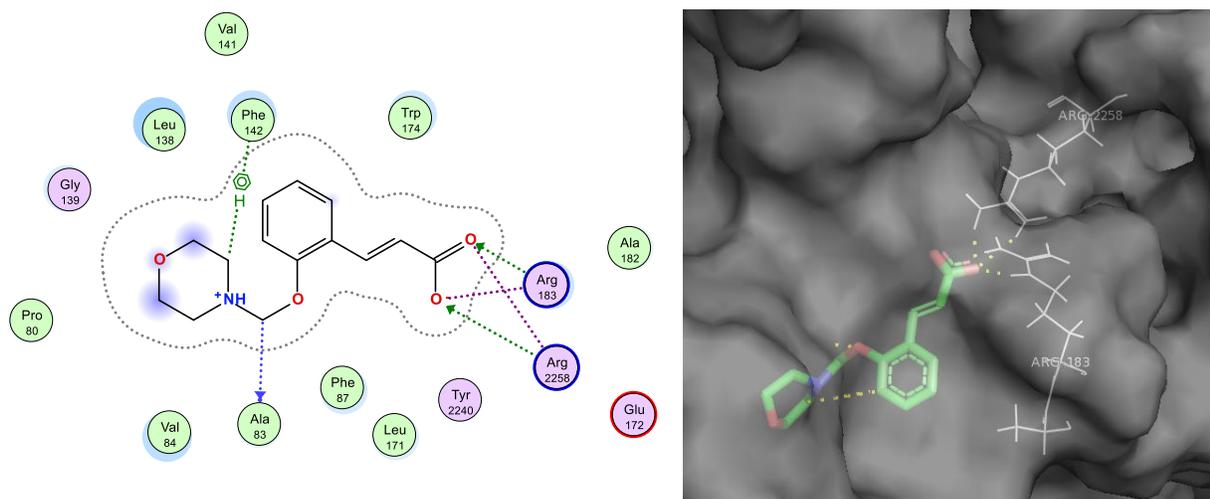


Figura 26: Visualización en 2D (izquierda) y 3D (derecha) del compuesto **NAH-4** sobre GPR40 y las interacciones que presenta.

8.2.1.6. Acoplamiento molecular del compuesto **NAH-5** sobre GPR40

En la **Figura 27**, se observa el acoplamiento molecular del compuesto **NAH-5**, este compuesto presentó un score total de -6.61 ± 0.0005 , este compuesto presenta 2 de las 4 interacciones electrostáticas importantes para activar el receptor, Arg 183 y Arg 2258 también presenta otra interacción polar adicional con Pro80 en el anillo de piperidina.

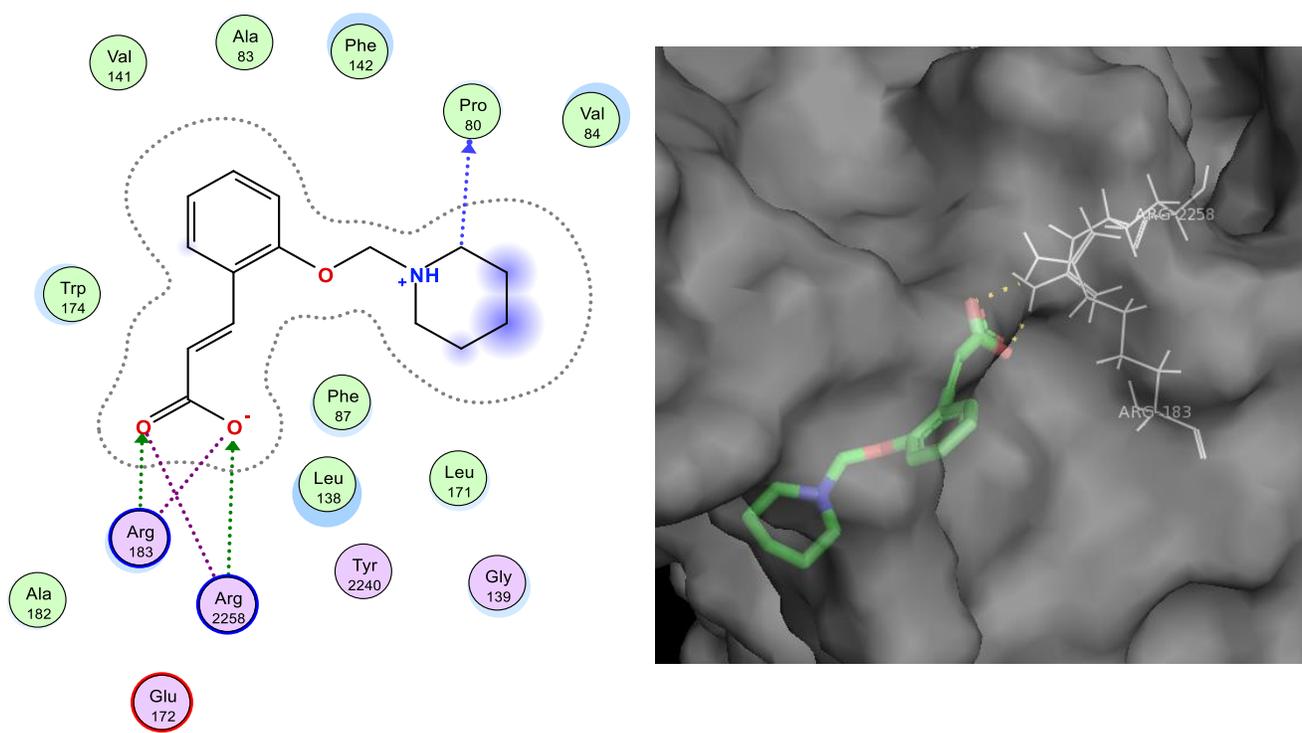


Figura 27: Visualización en 2D (izquierda) y 3D (derecha) del compuesto **NAH-5** sobre GPR40 y las interacciones que presenta.

8.2.2.- Acoplamiento molecular sobre PPAR- γ .

8.2.2.1. Validación sobre PPAR- γ

Para realizar el acoplamiento molecular sobre PPAR- γ se utilizó la proteína cristalizada con el código (1I7I), el cual tiene como ligando cocrystalizado a la molécula de Tesaglitazar, este es un agonista dual PPAR α/γ que mejoró el metabolismo de la glucosa y los lípidos con mayor eficacia en relación con el agonismo PPAR- γ selectivo,⁸⁵ sin embargo, puede presentar efectos secundarios indeseables y en 2006 se puso fin a su desarrollo debido a que el perfil beneficio/riesgo no era prometedor. Los resultados obtenidos de la validación sobre este receptor se observan en las figuras siguientes donde se observan las interacciones importantes para la activación del receptor (Tyr 473, Ser 289, His 323 e His 449), arrojó un score de -9.45 y un RMSD de 0.75 Å.

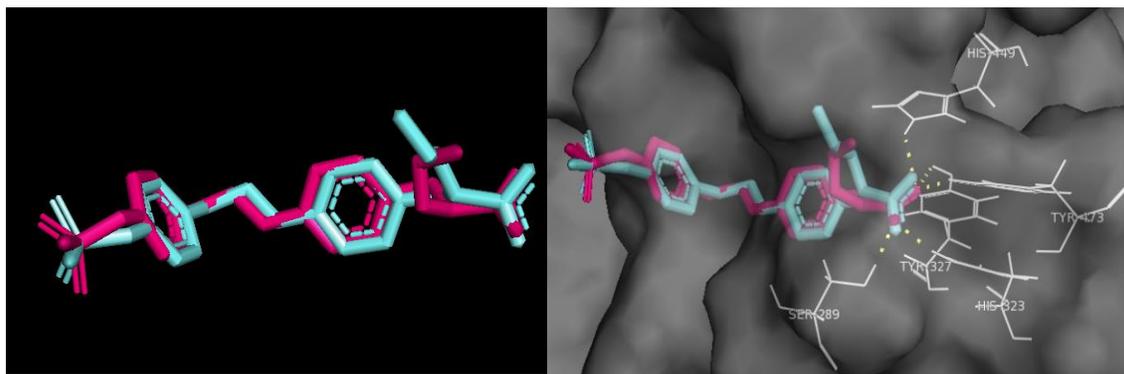


Figura 28: Visualización en 3D del ligando cocrystalizado (Tesaglitazar) en rosa, en comparación con el ligando reacoplado (cian) RMSD:0.75 Å.

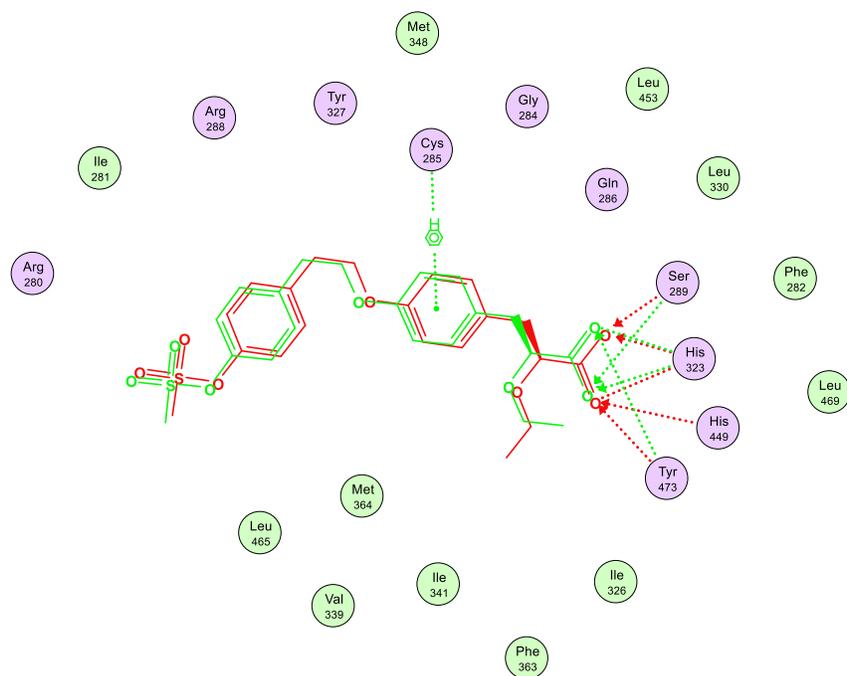


Figura 29: Visualización en 2D del ligando cocrystalizado (rojo) y el reacoplado (verde) en donde se observa la conformación que adoptan y las interacciones.

8.2.2.2. Acoplamiento molecular del compuesto **NAH-1** sobre PPAR- γ

En la **Figura 30** se observan las interacciones polares que arrojó el compuesto **NAH-1** sobre este receptor, siendo estas Arg288 y Tyr327, si bien también mantiene las interacciones importantes, esta última de Tyr327 es trascendental para una activación como agonista parcial. La energía de unión total que presentó este compuesto fue de -7.23 ± 0.02 .

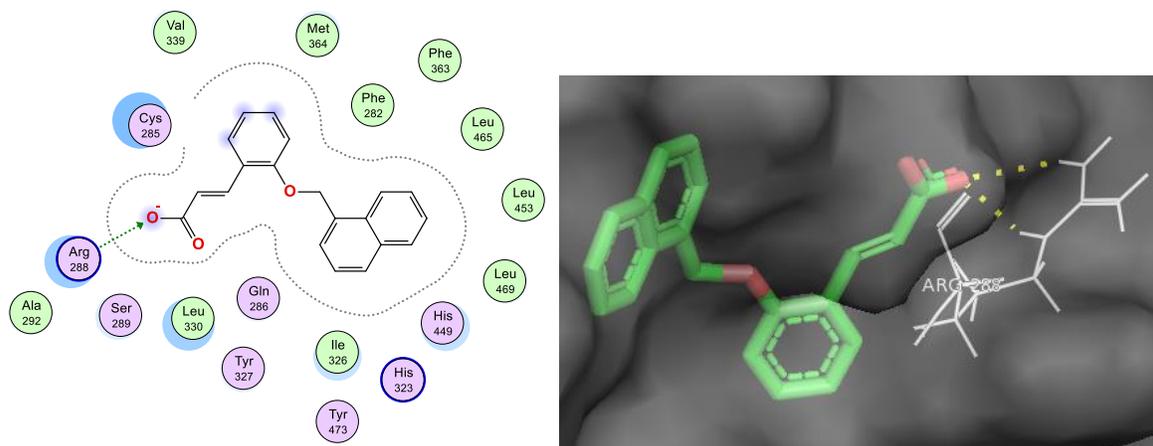


Figura 30: Visualización en 2D (izquierda) y 3D (derecha) del compuesto **NAH-1** sobre PPAR- γ y las interacciones que presenta.

8.2.2.3. Acoplamiento molecular del compuesto **NAH-2** sobre PPAR- γ

El compuesto **NAH-2** presentó un score total de -7.46 ± 0.14 y presenta interacciones polares con Arg 288, Ser289, una interacción de tipo π -sp² con Cys 285 y un puente de hidrógeno con Met 364, manteniendo las demás interacciones de importancia. (**Figura 31**)

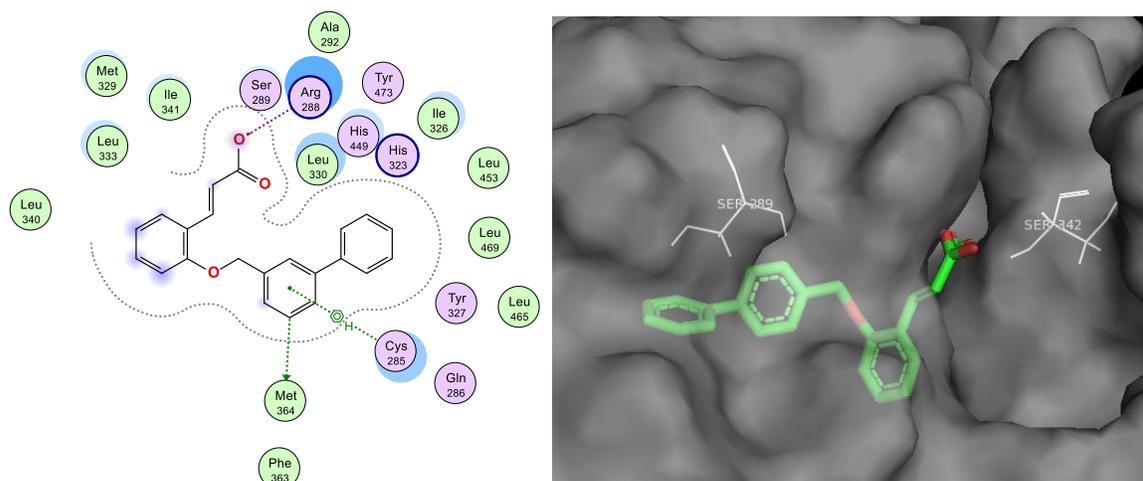


Figura 31: Visualización en 2D (izquierda) y 3D (derecha) del compuesto **NAH-2** sobre PPAR- γ y las interacciones que presenta.

8.2.2.4. Acoplamiento molecular del compuesto **NAH-3** sobre PPAR- γ

En la **Figura 32**, se observa el acoplamiento molecular del compuesto **NAH-3**, este presentó un score total de -7.56 ± 0.1 y las interacciones principales con Tyr473, His323 e His449, más adicionales de tipo π -catión con Lys367 y π -Sp3 con Cys285, además de Met348 y con el nitrógeno del bifenilcarbonitrilo otra interacción con Tyr327.

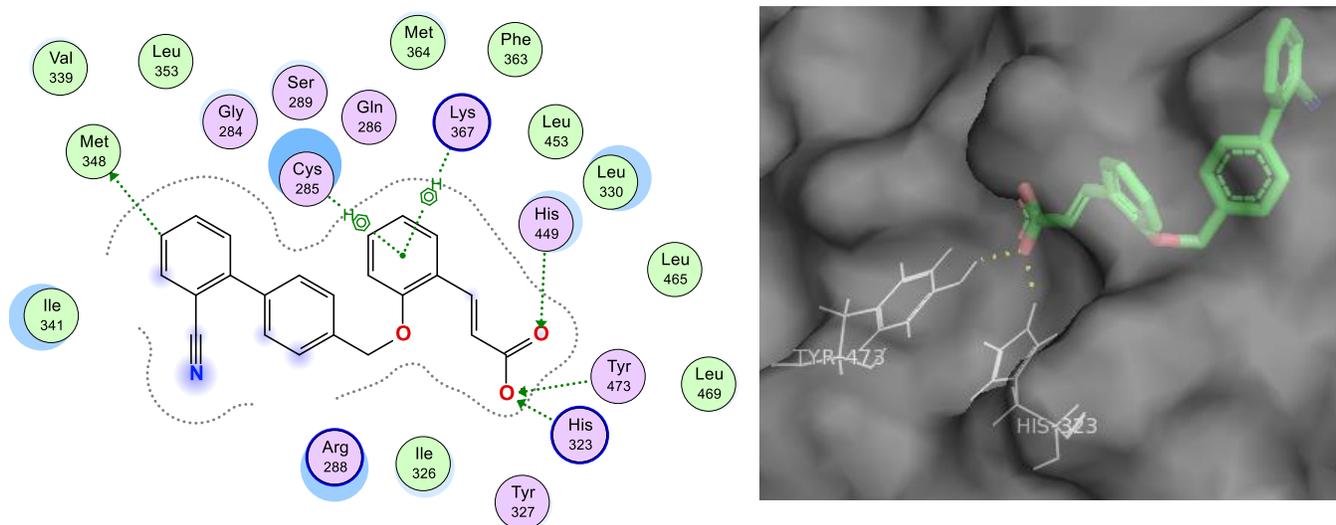


Figura 32: Visualización en 2D (izquierda) y 3D (derecha) del compuesto **NAH-3** sobre PPAR- γ y las interacciones que presenta.

8.2.2.5. Acoplamiento molecular del compuesto **NAH-4** sobre PPAR- γ

El acoplamiento realizado con el compuesto **NAH-4** arrojó un score total de -6.82 ± 0.007 y diversas interacciones con todos los aminoácidos importantes para la activación del receptor (Tyr473, Ser289, His323 e His449) y entre Arg288 y el anillo de morfolina.

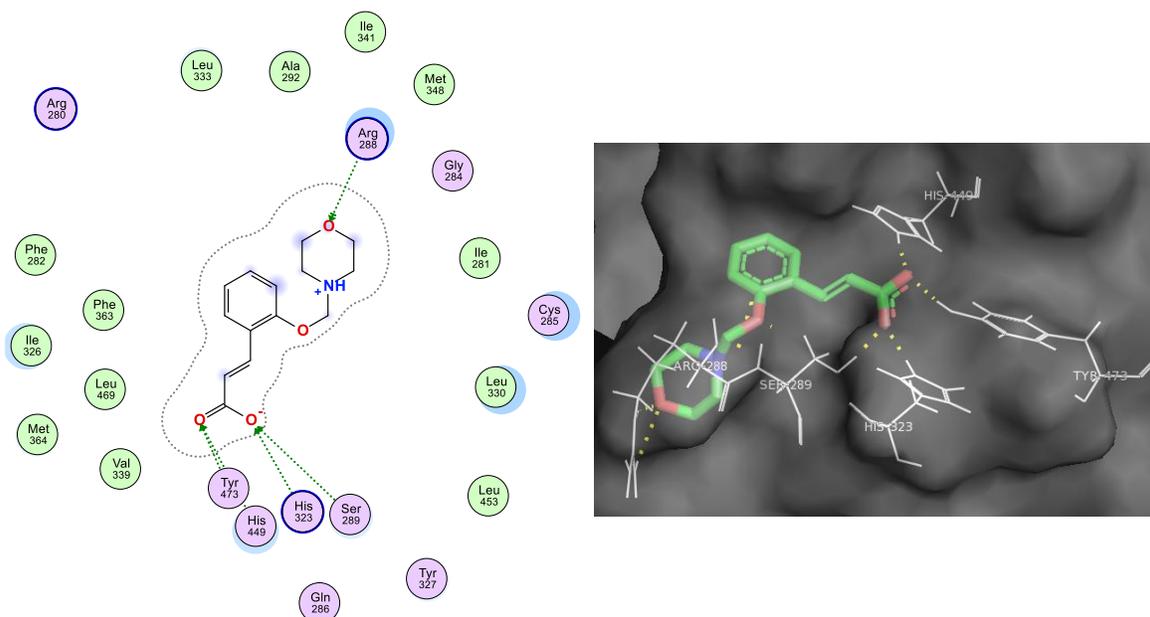


Figura 33: Visualización en 2D (izquierda) y 3D (derecha) del compuesto **NAH-4** sobre PPAR- γ y las interacciones que presenta.

8.2.2.6. Acoplamiento molecular del compuesto **NAH-5** sobre PPAR- γ

En la **Figura 34** se observa que el acoplamiento realizado con el compuesto **NAH-5** arrojó un score total de -6.60 ± 0.085 y diversas interacciones con His 449 e His 323.

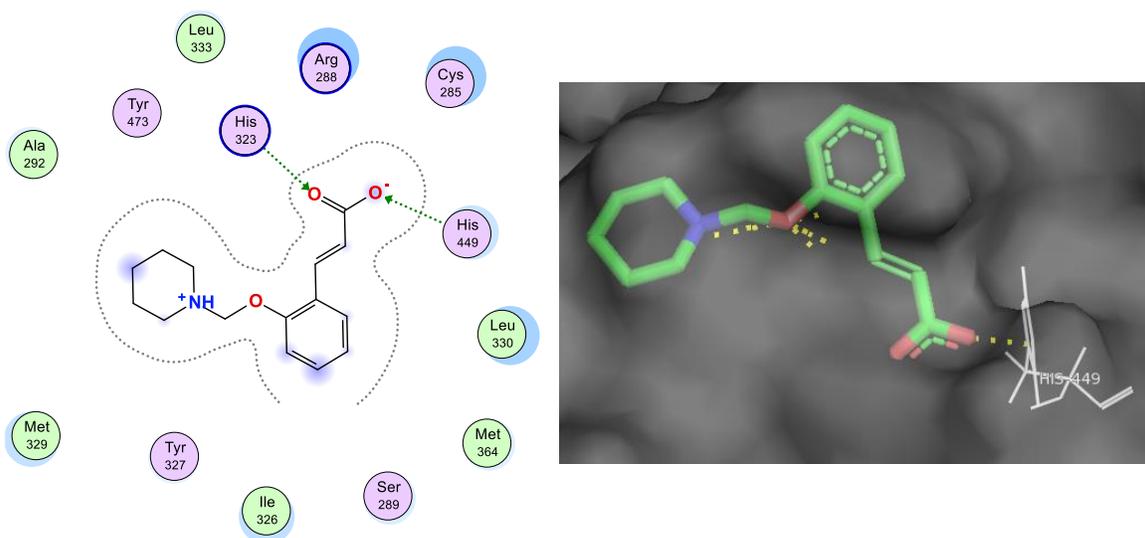


Figura 34: Visualización en 2D (izquierda) y 3D (derecha) del compuesto **NAH-5** sobre PPAR- γ y las interacciones que presenta.

Tabla 7: Resultados del acoplamiento molecular realizado sobre los receptores de GPR40 y PPAR- γ .

Proteína	GPR40		PPAR- γ	
Validación	-8.92		-9.45	
RMSD (\AA^2)	1.33		0.75	
Compuesto	Energía de unión (Kcal/mol)	Ranking en prioridad	Energía de unión (Kcal/mol)	Ranking en prioridad
NAH-1	-6.8119 ± 0.14	5	-7.2386 ± 0.02	3
NAH-2	-7.4263 ± 0.0005	1	-7.4688 ± 0.14	2
NAH-3	-7.3647 ± 0.17	2	-7.5691 ± 0.1	1
NAH-4	-6.7387 ± 0.05	4	-6.8218 ± 0.007	5
NAH-5	-6.6144 ± 0.0005	6	-6.006 ± 0.085	6

8.3.- Análisis de consenso Farmacológico

El fundamento del análisis de consenso farmacológico radica en que en cuantos más parámetros coincidan en que un compuesto será activo, presente baja toxicidad y un perfil farmacocinético y biofarmacéutico adecuado, la selección de un compuesto para su priorización en cuanto a la síntesis y evaluación farmacológica es más fiable, por lo que es más probable que un compuesto presente un comportamiento estable en un ensayo biológico cuando presenta una puntuación alta en una colección de predicciones que una puntuación alta en una sola predicción.⁶⁵

Se realizó un análisis de consenso farmacológico para agrupar todos los resultados de las diferentes evaluaciones *in silico*, así como del acoplamiento molecular sobre GPR40 y PPAR- γ , y de esta manera analizar que compuestos serán tomados en cuenta para priorizar su síntesis, se toman en cuenta entonces que los compuestos presenten buenas propiedades fisicoquímicas, biofarmacéuticas, farmacocinéticas, toxicológicas y farmacodinámicas para así obtener el perfil farmacológico.

Se presentan los resultados con los colores del semáforo para indicar las alertas, de los cuales será el color verde que indicará resultados aceptables, el color amarillo para resultados moderadamente aceptables y el color rojo que indica una alerta en cualquier aspecto, los de mayor relevancia a tomar en cuenta con una alerta roja son los resultados de toxicidad. En la **Tabla 8** se muestra este análisis, en donde se decidió jerarquizar como hits computacionales seguros y priorizar en primer lugar la síntesis del compuesto **NAH-2**, en segundo lugar, la síntesis del compuesto **NAH-3** y seguido de este el compuesto **NAH-1**. Esto debido a que estas tres moléculas presentan buenas propiedades biofarmacéuticas, farmacocinéticas y toxicológicas, a pesar de que presentan alertas moderadas en cuanto a la solubilidad y el programa ADMETlab arrojó alertas debido al carbonilo α,β -insaturado en su estructura ya se discutió anteriormente porqué seguir adelante ya que derivan de compuestos naturales que nunca han presentado afectaciones en este sentido. Estos tres compuestos presentan también los mejores valores en cuanto a energía de unión con los receptores que se desea activar, por lo que se puede interpretar que tendrán mayor probabilidad, sobre las moléculas restantes, de presentar buenos resultados en ensayos biológicos.

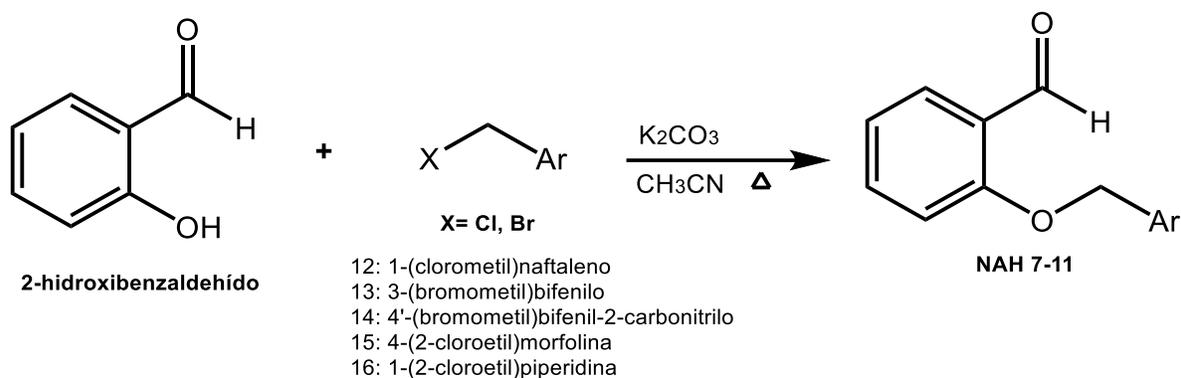
Tabla 8: Análisis de consenso farmacológico de los compuestos **NAH 1-5** en donde se muestra la priorización que se asignará para su síntesis y su selección como hits computacionales seguros.

	Compuestos	NAH-1	NAH-2	NAH-3	NAH-4	NAH-5
FC	PM (g/mol)	304.34	330.38	397.47	277.32	275.34
	TPSA (Å)	46.53	46.53	70.32	59.00	49.77
	SwissADME					
	ADMETlab					
BF	Solubilidad	Moderada	Moderada	Moderada	Buena	Buena
	Log P	3.96	4.35	5.08	1.14	2.02
Tox	ACD/ToxSuite	4-5	4-5	4-5	4-5	4-5
	OPE					
FD	PASSonline	PPAR-γ: 15% GPR40: 5%	PPAR-γ: 18% GPR40: 6%	PPAR-γ: 14% GPR40: 3%	PPAR-γ: 13% GPR40: -	PPAR-γ: 13% GPR40: 3%
	Docking (MOE)	PPAR-γ: -7.26 GPR40: -6.90	PPAR-γ: -7.81 GPR40: -7.41	PPAR-γ: -7.66 GPR40: -7.84	PPAR-γ: -6.82 GPR40: -6.79	PPAR-γ: -6.65 GPR40: -6.61
Prioridad de síntesis y posterior evaluación <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>		3°	1°	2°	4°	5°

8.4.- Síntesis Química

8.4.1.- Síntesis general de los precursores 2-(arilmetoxi)benzaldehídos **NAH 7-11**.

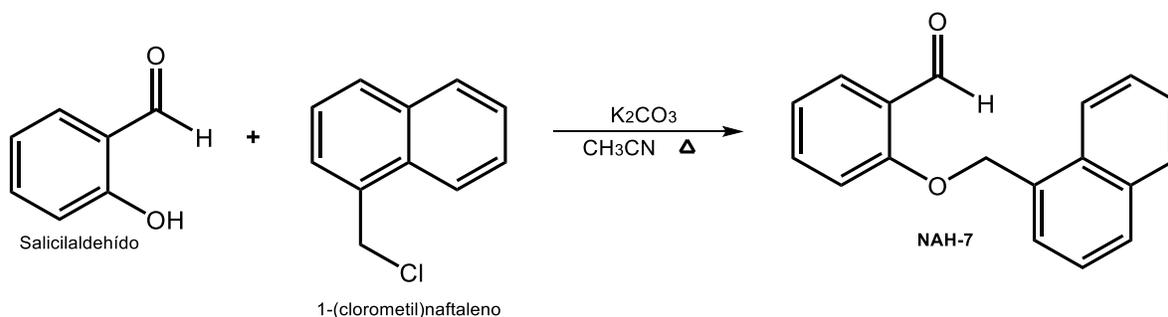
En el siguiente esquema se muestra la ruta de síntesis general para la obtención de los compuestos precursores de tipo (arilmetoxi)benzaldehídos, en donde se parte del 2-hidroxibenzaldehído y se añaden diferentes halogenuros de arilo, se utiliza K₂CO₃ como base y CH₃CN como disolvente, se llevó a temperatura de reflujo, los tiempos de reacción variaron entre 8 y 17 horas, mientras que los rendimientos varían del 70 al 96% los cuales son considerados buenos rendimientos.



Esquema 4: Ruta general de síntesis para la obtención de los compuestos precursores **NAH 7-11**.

8.4.1.1- Síntesis del 2-(naftalen-1-ilmetoxi)benzaldehído (**NAH-7**)

En un matraz bola de 10 mL se hizo reaccionar el 2-hidroxibenzaldehído (salicilaldehído) con el 1-(clorometil)naftaleno en CH₃CN como disolvente y K₂CO₃ como base, en un baño de aceite que se llevó a 82°C (condiciones de reflujo) durante 17 horas con agitación magnética (**Esquema 5**). Una vez terminada la reacción esta se rotavaporó a sequedad y posteriormente se agregaron 2 mL de H₂O fría y se colocó en agitación durante media hora, pasado este tiempo se filtró el sólido obtenido y se realizaron dos lavados utilizando agua fría nuevamente, obteniendo un sólido café que se dejó secar durante 24 horas en la campana de extracción. El rendimiento de esta reacción fue del 96.75% y un punto de fusión de 83.3-84.7°C.



Esquema 5: Ruta de síntesis para la obtención del precursor **NAH-7**.

En la **Figura 35** se observa el espectro de RMN de ^1H del compuesto precursor **NAH-7**, en donde a 5.60 ppm se observa un singulete que integra para 2 hidrógenos, por lo que corresponde a los hidrógenos del metileno de la posición 8 de la molécula, seguido a esta señal de 7.05 a 8.04 ppm se encuentran las señales correspondientes a la parte aromática (**Figura 36**) de la molécula, la cual incluye al anillos del benzaldehído y naftaleno, finalmente a 10.45 ppm se encuentra un singulete, el cual es la señal del protón del aldehído, en la posición 1 de la molécula.

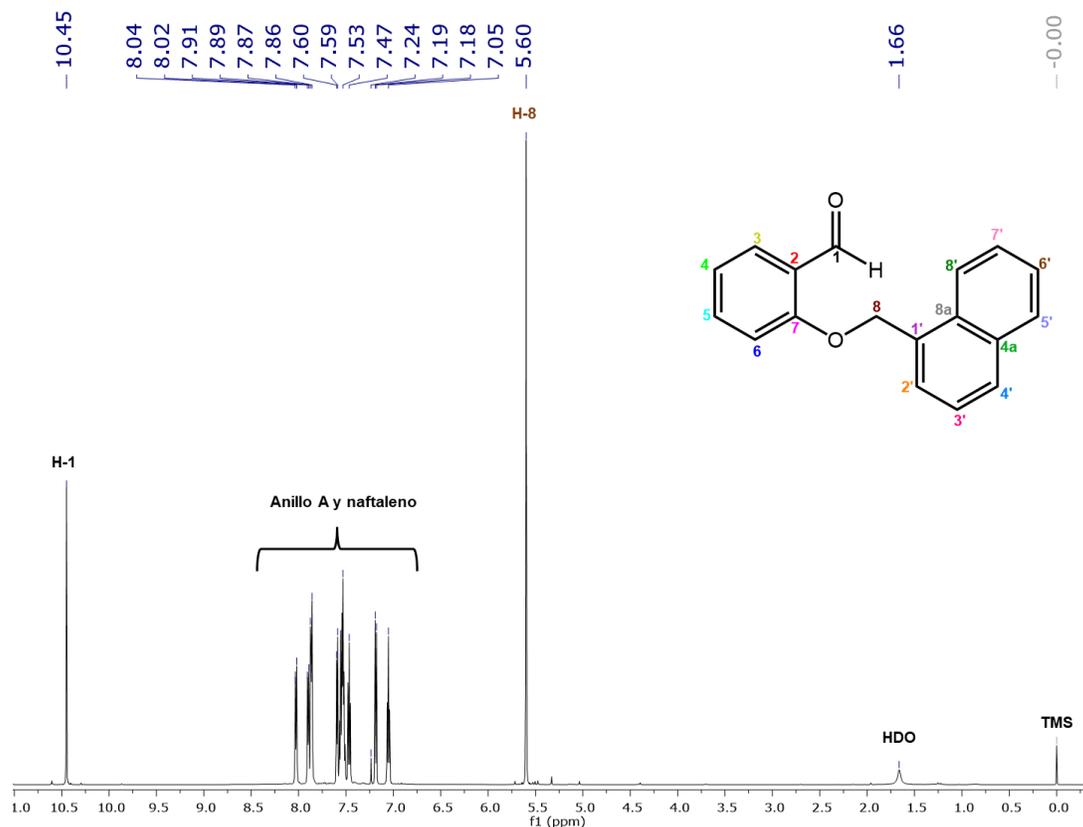


Figura 35: Espectro de RMN ^1H del precursor **NAH-7** en CDCl_3 a 600 MHz.

En la siguiente figura se observa la parte aromática del espectro de RMN de ^1H de **NAH-7**, donde a 7.05 ppm se encuentra un triplete que corresponde al protón de la posición H-4, en 7.18 ppm se observa un doblete perteneciente al protón en la posición H-6 con una $J_{o}=8.4$ Hz. A 7.47 ppm se encuentra un triplete correspondiente al protón de la posición H-3' del anillo de naftaleno, seguido de un multiplete cuya señal se central se observa a 7.53 ppm y que pertenece a las posiciones H-5, H-2' y H-7', posteriormente se encuentra un

doblete en 7.59 ppm con una $J_o=6.96$ Hz perteneciente al protón en la posición H-6', posterior a esto se observa una señal múltiple de 7.86 ppm que corresponde al protón en la posición H-3 del anillo del benzaldehído con una $J_o= 7.56$ Hz y la posición H-4' del naftaleno. Luego se encuentra un doble de dobles de 7.90 ppm con una $J_m=1.56$ Hz y $J_o=7.98$ Hz para el protón en H-5'. Finalmente, a 8.02 ppm se encuentra un doblete que corresponde al protón en la posición H-8' con una $J_o= 7.44$ Hz.

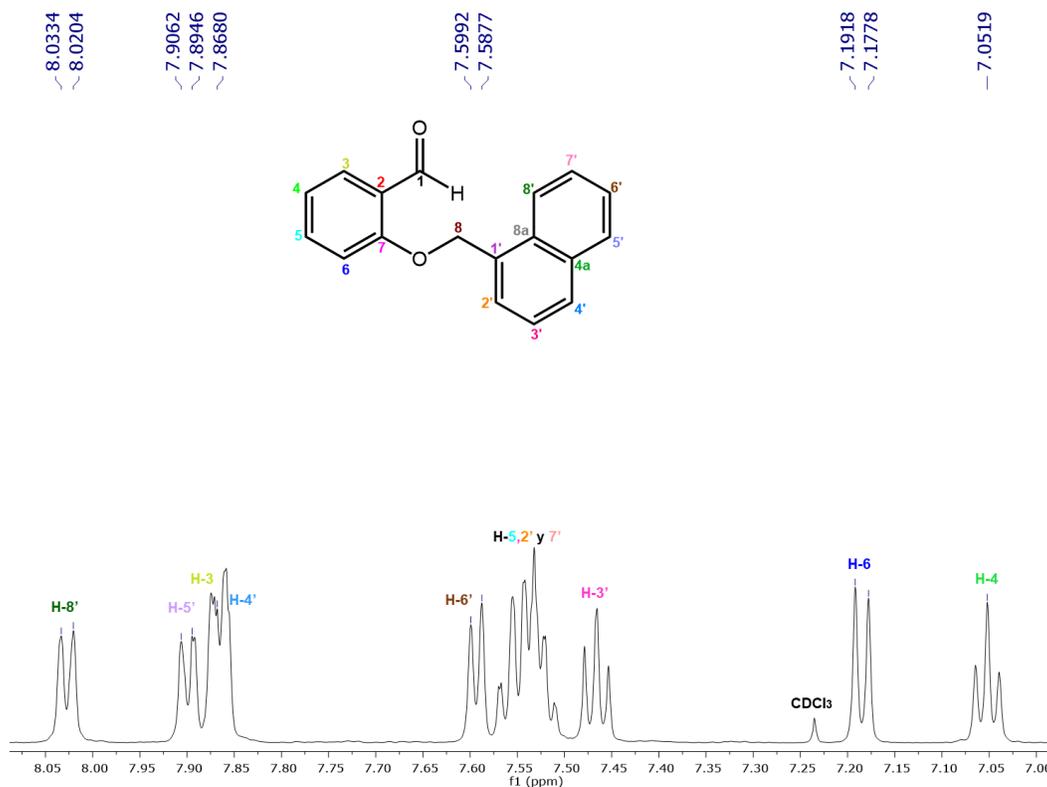


Figura 36: Visualización de región aromática del RMN ¹H del precursor **NAH-7**.

En las **Figuras 37 y 38** se observa el espectro de RMN ¹³C del precursor **NAH-7**, donde de las 17 señales esperadas se observan las 17, la primera señal que se observa a 69.5 ppm corresponde al metileno C-8, después a 113.3 ppm la señal del C-6, en 121.4 ppm el pico corresponde al C-4, mientras que a 123.6 ppm se encuentra la señal del carbono de la posición C-8'. En 125.5 ppm se encuentra la señal correspondiente a los carbonos C-6' y C-7' , seguido de este la señal del C-4a en 125.6 ppm, luego se observa el pico en 126.3 ppm del C-3' y para el C-2' el pico se encuentra a 126.8 ppm, seguido de la señal en 126.9 para el C-4'. Posteriormente, a 128.7 ppm se encuentra la señal correspondiente al carbono

de la posición C-2, después se observa otra señal a 129.1 ppm para el C-5' que corresponde al naftaleno, luego de este le sigue una señal en 129.6 ppm del C-3. En 131.6 ppm se encuentra el pico correspondiente del carbono en la posición C-8a, en seguida a 134 ppm esta la señal del carbono de la posición C-5, después, al C-1' le pertenece la señal en 136.1 ppm, ya más alejada en el espectro, la señal a 161.3 ppm es perteneciente al carbono en la posición C-7 y finalmente se tiene la señal del aldehído C=O a 190 ppm.

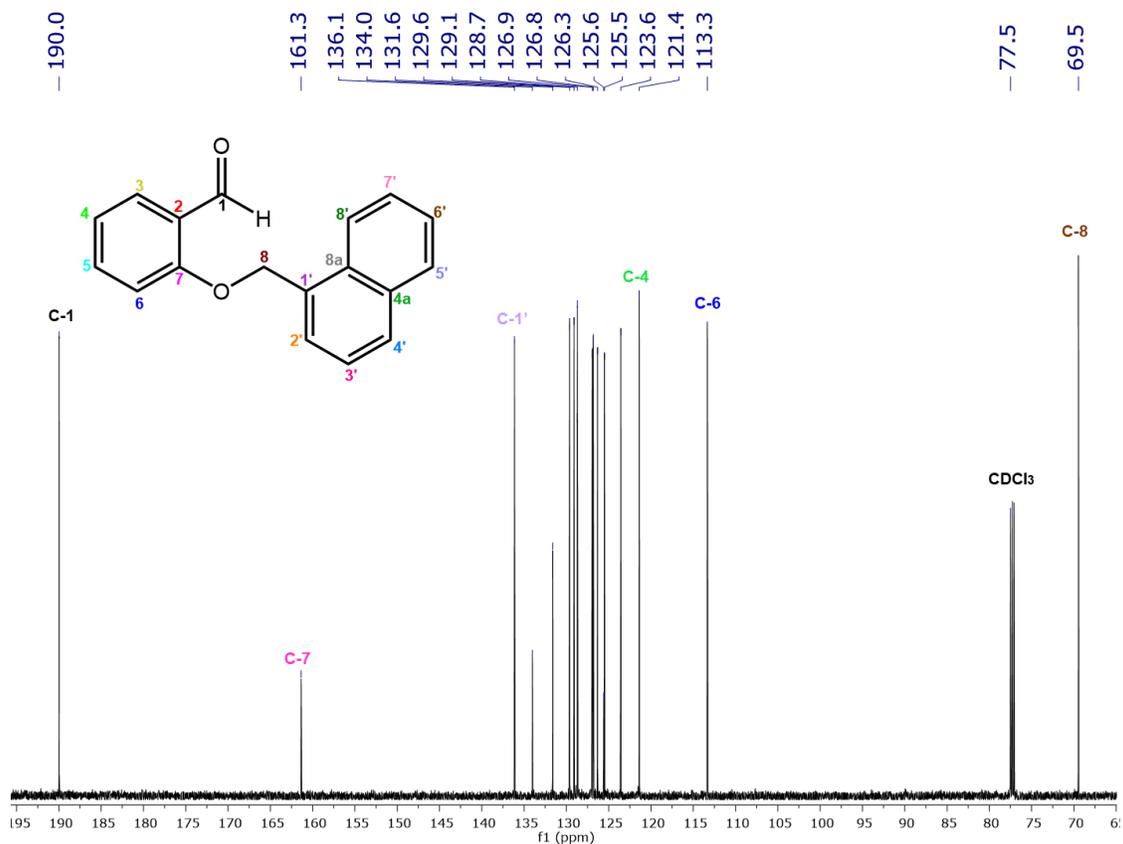


Figura 37: Espectro de RMN ^{13}C del precursor NAH-7 en CDCl_3 .

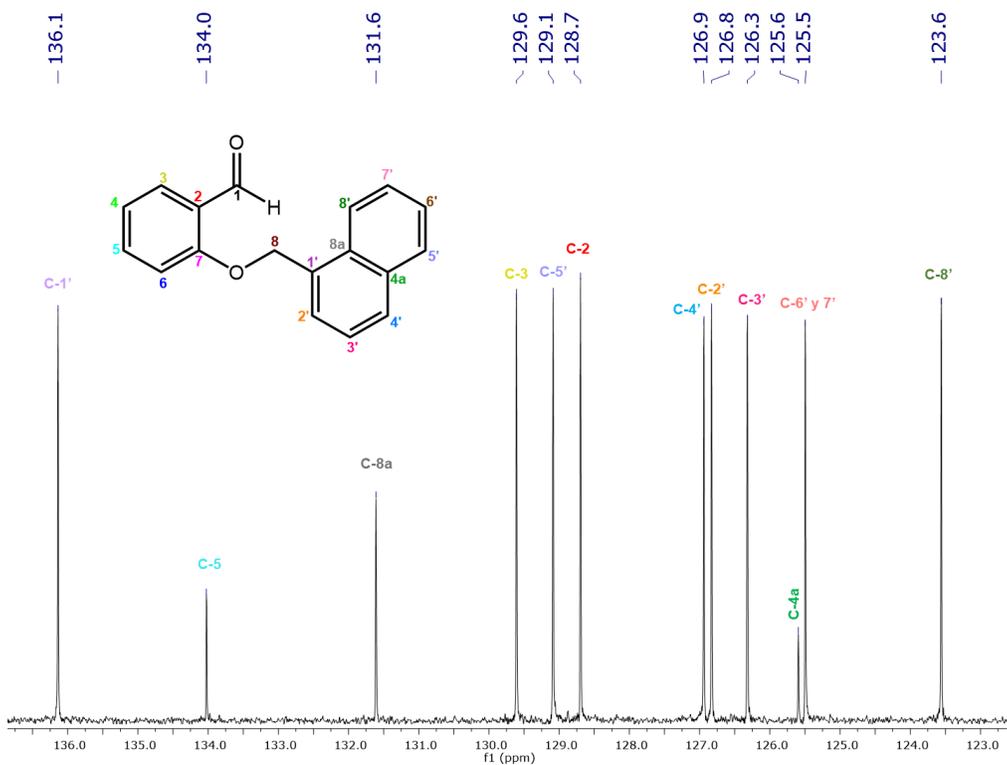


Figura 38: Ampliación de región aromática del espectro de RMN ¹³C del precursor **NAH-7**.

A continuación, se observa el espectro de masas del compuesto **NAH-7**, donde el pico base se encuentra a 141 m/z, este corresponde al fragmento del naftaleno. Otro pico de relevancia que se puede observar en el espectro es a 115 m/z en donde la molécula que se propone para esta señal es que la estructura del metilnaftaleno sufre el rompimiento de dos enlaces que componen al anillo, obteniendo una especie de propenil benceno. Finalmente, a 262.1 m/z se encuentra el ión molecular ya que este es el peso molecular del compuesto precursor **NAH-7**.

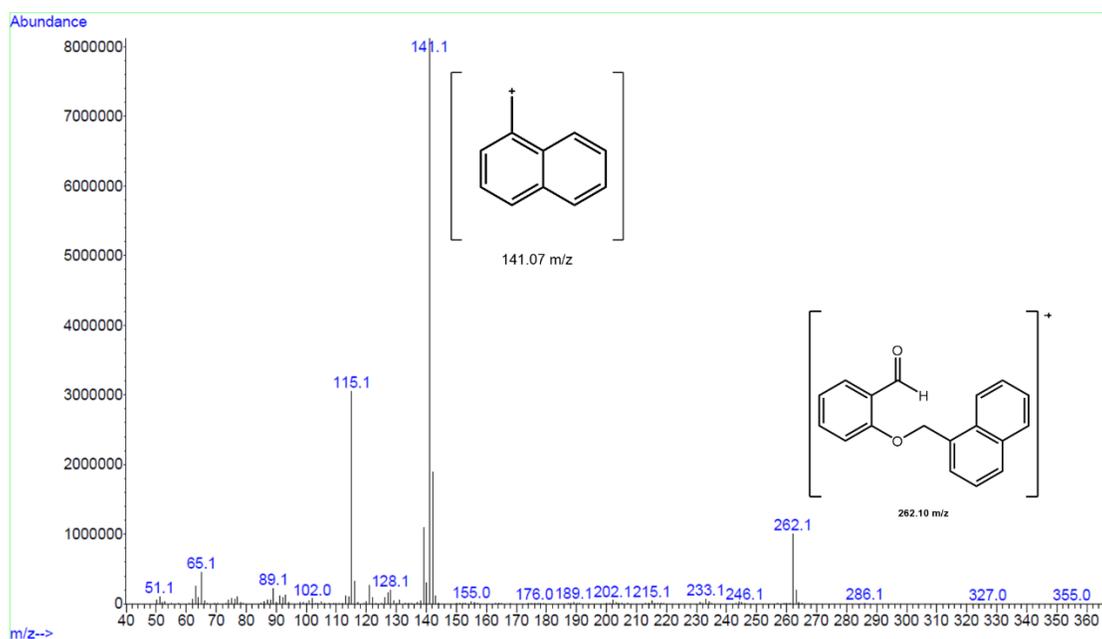
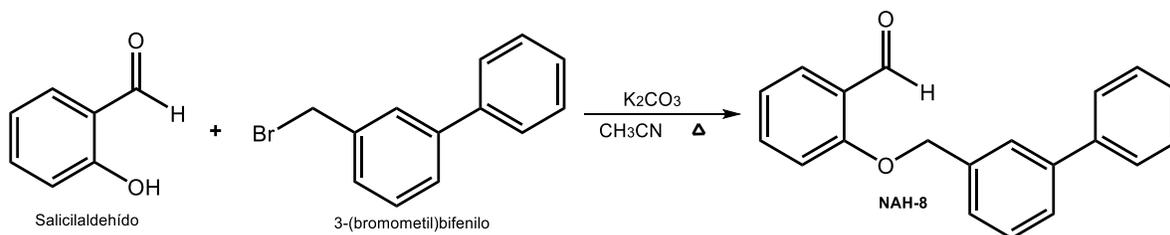


Figura 39: Espectrometría de masas del precursor **NAH-7**.

8.4.1.2.- Síntesis del 2-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)benzaldehído (**NAH-8**).

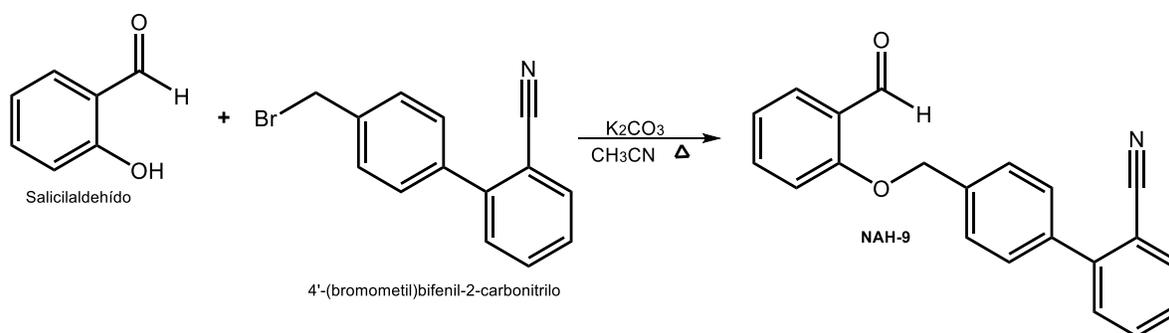
En un matraz bola de 10 mL se hizo reaccionar el 2-hidroxibenzaldehído con el 3-(bromometil)bifenilo en CH₃CN como disolvente y K₂CO₃ como base, en un baño de aceite que se llevó a 82°C (condiciones de reflujo) durante 13 horas con agitación magnética (**Esquema 6**). Una vez terminada la reacción esta se rotavaporó a sequedad y posteriormente se agregaron 2 mL de H₂O fría y se colocó en agitación durante media hora, pasado este tiempo se observó la formación de una resina café, por lo que se realizó una extracción con 5 mL de AcOEt por triplicado y después se rotavaporó nuevamente a sequedad, obteniendo otra vez una resina. El rendimiento de esta reacción fue del 70.33%.



Esquema 6: Ruta de síntesis para la obtención del precursor **NAH-8**.

8.4.1.3.- Síntesis del 4'-((fenoxiformil)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo (**NAH-9**).

En el **Esquema 7** se observa la síntesis a seguir para obtener el precursor **NAH-9**, en donde se hizo reaccionar al 2-hidroxibenzaldehído con el 4'-(bromometil)bifenil-2-carbonitrilo en CH_3CN como disolvente y K_2CO_3 como base en un baño de aceite que se llevó a 82°C (condiciones de reflujo) durante 8 horas con agitación magnética. Una vez terminada la reacción esta se rotavaporó a sequedad y posteriormente se agregaron 2 mL de H_2O fría y se colocó en agitación durante media hora, pasado este tiempo se filtró el sólido obtenido y se realizaron dos lavados utilizando agua fría nuevamente, obteniendo un sólido blanco que se dejó secar durante 24 horas en la campana de extracción. El rendimiento de esta reacción fue del 80.54%, con un punto de fusión de $176.6\text{-}178.6^\circ\text{C}$.



Esquema 7: Ruta de síntesis para la obtención del precursor **NAH-9**.

Las **Figuras 40 y 41** muestran el espectro de RMN de ^1H del precursor **NAH-9**, donde la primera señal a 5.27 ppm es un singulete que integra para dos protones, por lo que se asigna a la posición H-8 en la molécula, posteriormente de 7.08 a 7.89 ppm se encuentran las señales de los anillos A, B y C y la última señal en 10.6 ppm pertenece al protón del aldehído. Enfocando las señales de los anillos (**Figura 41**) se observa que a 7.08 ppm está una señal triple que corresponde a la posición H-4, posteriormente en 7.46 ppm se encuentra un triple de dobles que pertenece al protón H-3, seguida de esta señal, aparece a 7.53 ppm un doble de dobles correspondiente a las posiciones H-2' y H-6' del anillo B con una $J_o=7.8$ Hz. Después se encuentra un triplete a 7.57 ppm del protón H-5, luego de este, un doblete que pertenece a las posiciones H-3' y H-5' en 7.58 ppm, en seguida se observa

otro doblete a 7.61 ppm del protón H-4'' del anillo C y a 7.62 ppm también se observa la posición H-3''. Después, a 7.66 ppm está un triple de dobles en donde está la señal que pertenece a la posición H-6 con una $J_o=7.62$ Hz y una $J_m=1.44$ Hz, para el protón ubicado en H-5'' se observa un doble de dobles en 7.78 ppm y que tiene una $J_o=7.8$ Hz y una $J_m=1.38$ Hz, finalmente de 7.88 ppm se encuentra también un doble de dobles perteneciente al protón H-2'' con una $J_o=7.68$ Hz y $J_m=1.86$ Hz.

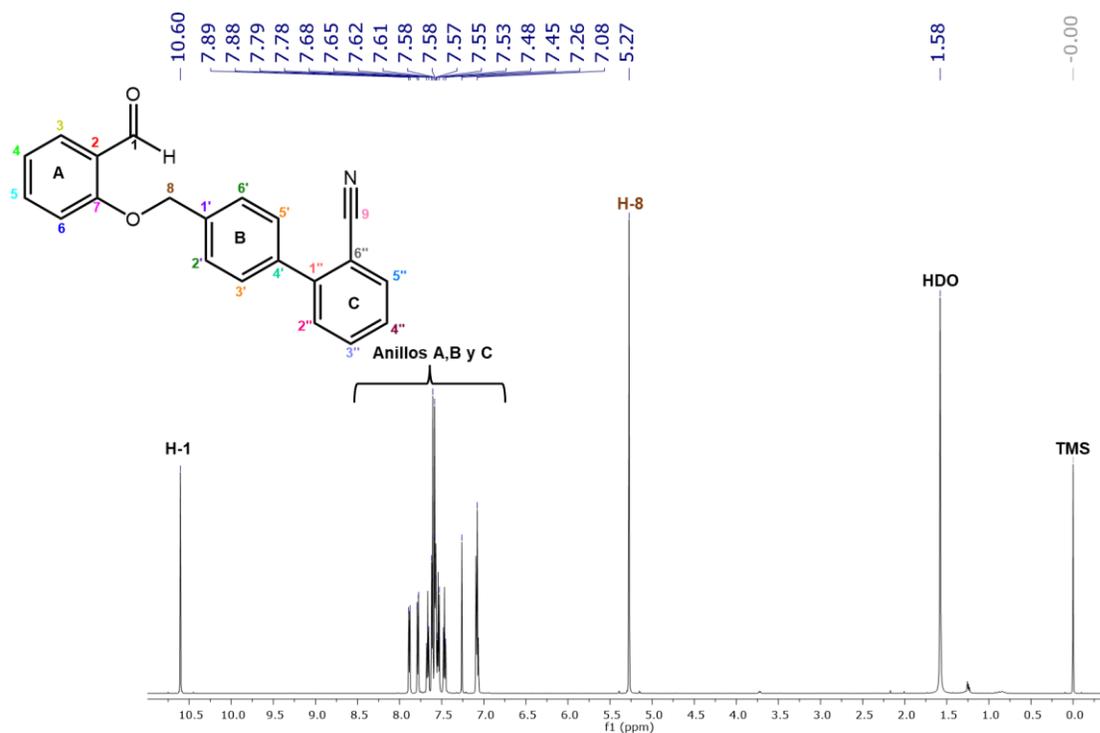


Figura 40: Espectro de RMN de ^1H del precursor **NAH-9** en CDCl_3 a 600 MHz.

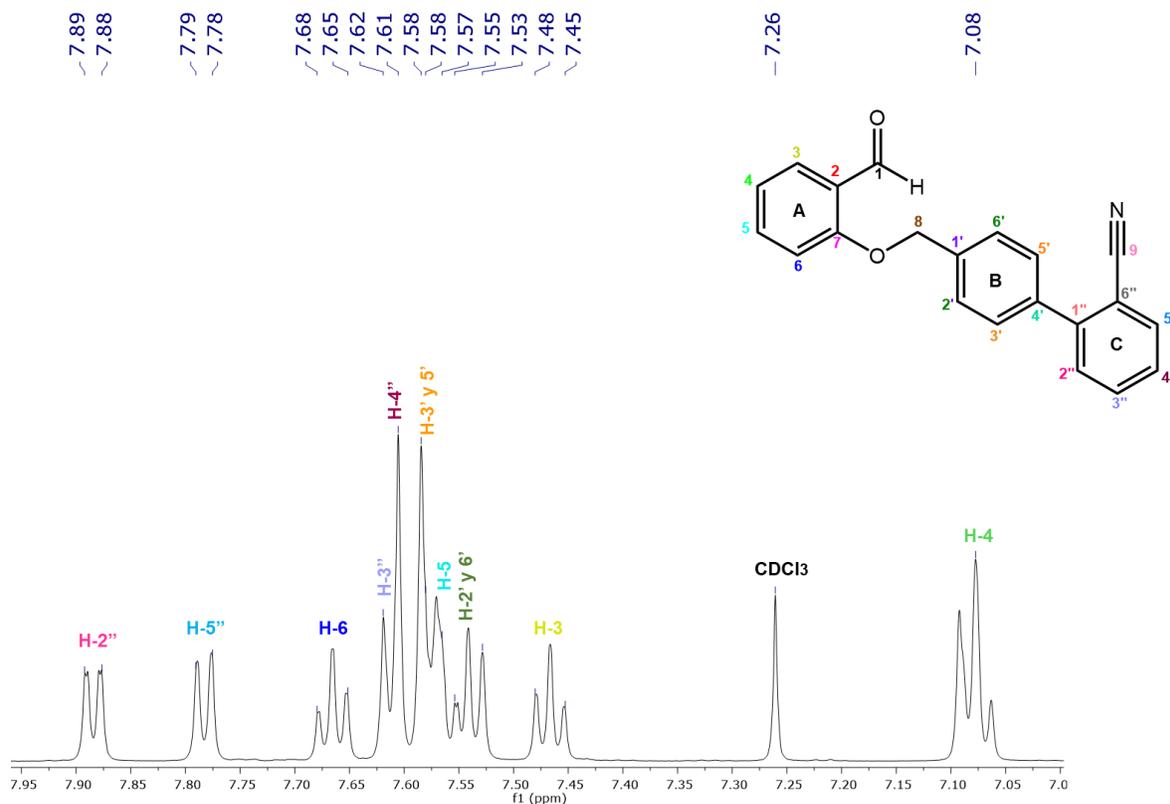


Figura 41: Ampliación del espectro de RMN de ^1H del precursor **NAH-9**, donde se observan las señales de los anillos A, B y C.

En la **Figura 42** se presenta el espectro de RMN ^{13}C del precursor **NAH-9** donde se observan las 19 señales esperadas, en 70.2 ppm se encuentra el C-8, posteriormente a 111.5 ppm la señal del C-6'', en 113.5 ppm se encuentra el C-6, a 118.9 ppm la señal para el carbono del carbonitrilo (C-9), posteriormente se encuentra el C-4 a 121.4 ppm. A 125.4 ppm se encuentra el pico que pertenece a la posición C-2'', mientras que en 127.7 ppm se observa la señal de la posición C-2, en 128 ppm se ubica el C-4'', seguido de este, a 128.9 ppm está el pico para las posiciones C-3' y C-5', posteriormente se encuentra los carbonos C-2' y C-6' a 129.4 ppm. En 130.3 ppm se encuentra el C-3, luego se observa al carbono en posición C-3'' a 133.1 ppm, en seguida a 134 ppm el carbono en posición C-5'', a 136.2 ppm el C-5 y en 138.3 ppm la posición C-4', seguida de la posición C-1'' en 145.1 ppm. Finalmente, a 161.1 ppm se encuentra la señal para el carbono en posición C-7 y en 189.9 ppm la señal del carbono del carbonilo (C=O).

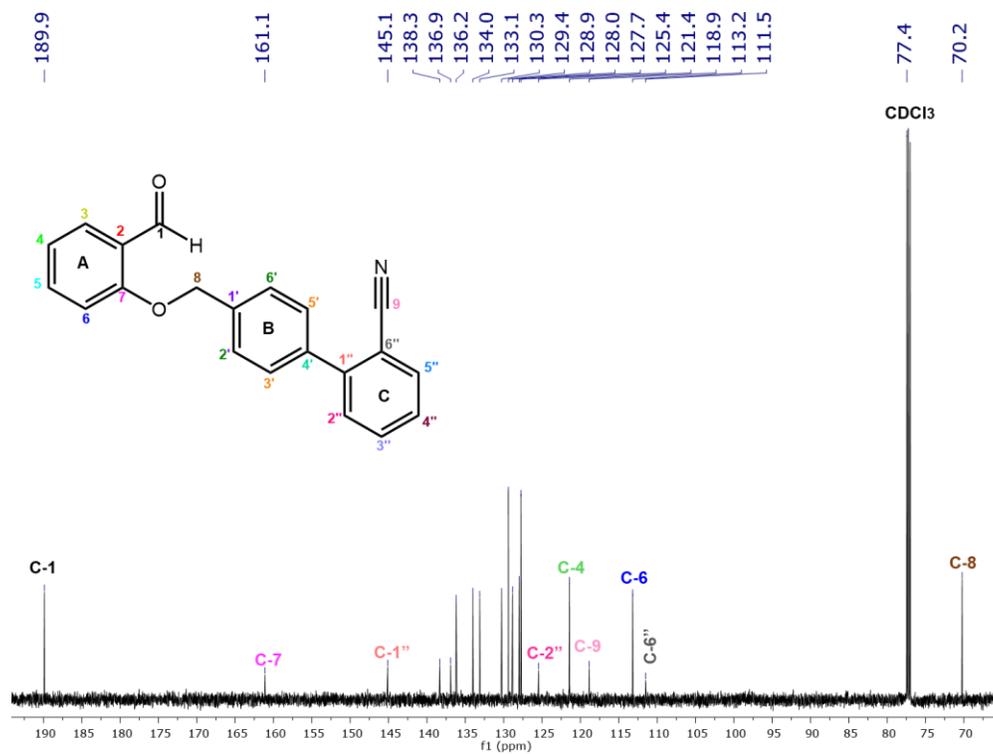


Figura 42: Espectro de RMN de ^{13}C del precursor NAH-9.

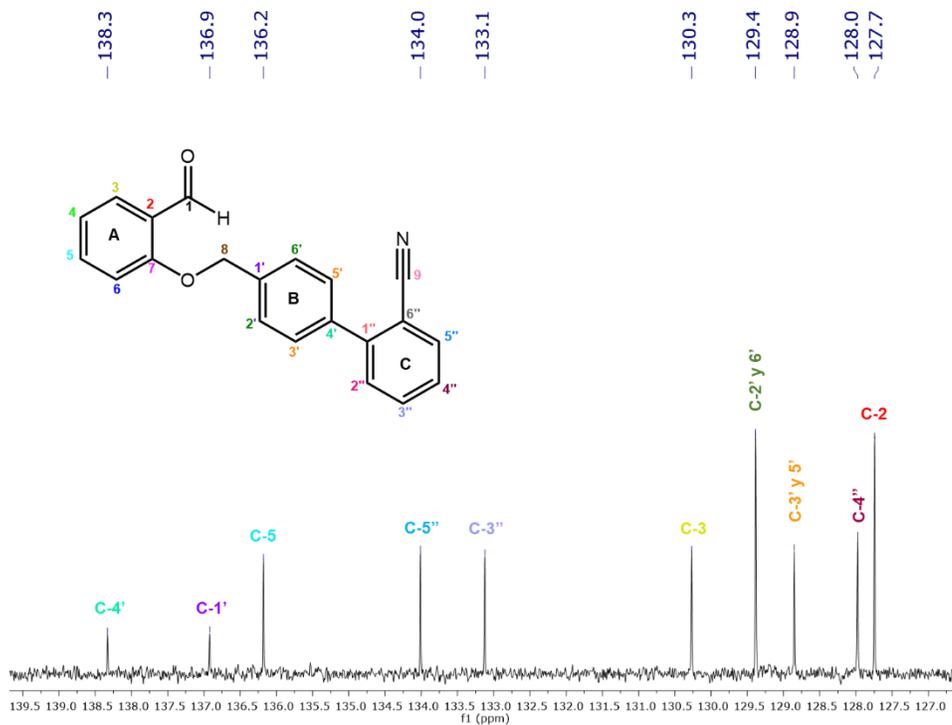


Figura 43: Ampliación de las señales de los anillos A, B y C del precursor NAH-9.

En la siguiente figura se muestra el espectro de masas del precursor **NAH-9** en donde el pico base se encuentra 192.2 m/z el cual corresponde a la estructura del metilbifenilcarbonitrilo, posteriormente el pico que está a 165 m/z corresponde a la estructura del metilbifenilo y finalmente se observa la señal del ión molecular a 313.1 m/z que corresponde con el peso molecular del compuesto.

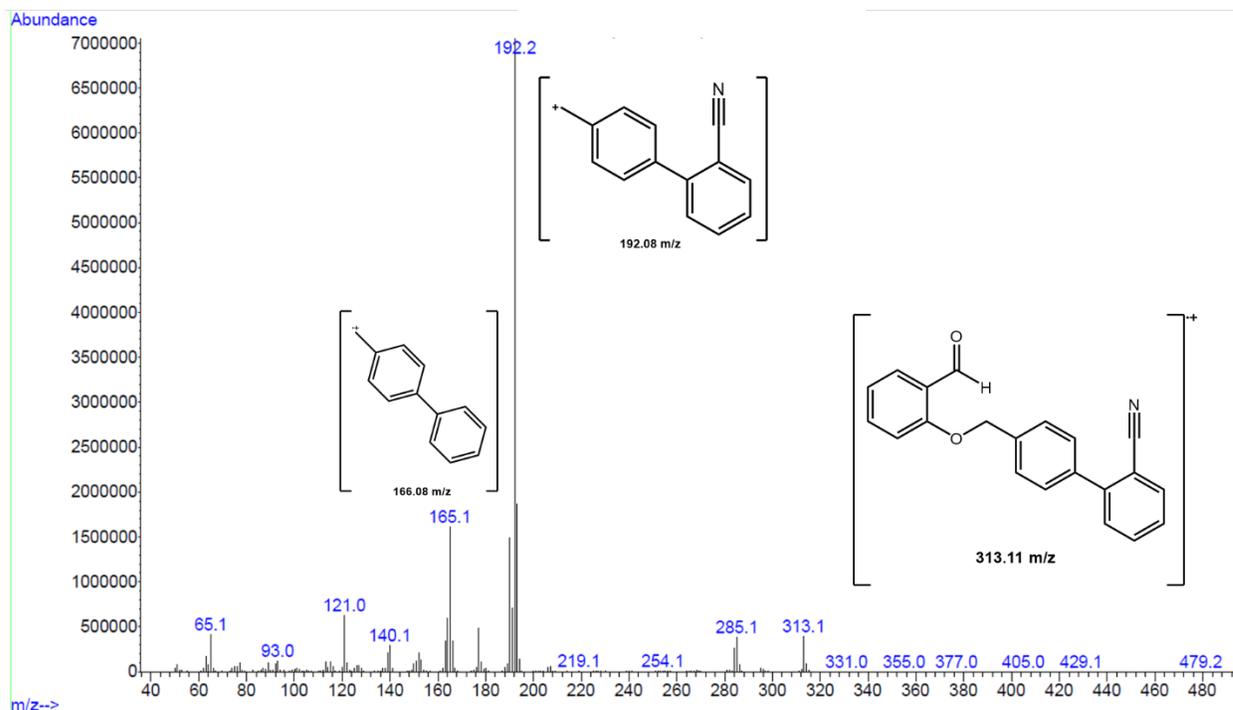
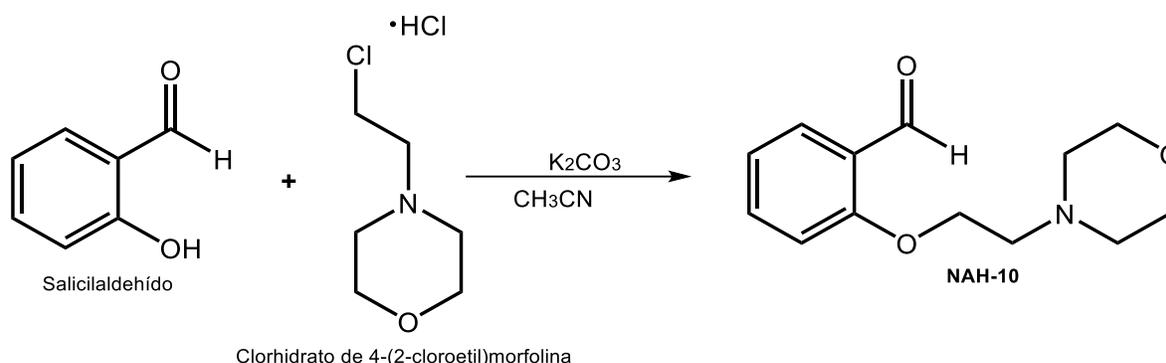


Figura 44: Espectro de masas del precursor **NAH-9**.

8.4.1.4.- Síntesis de la 2-(2-morfolinoetoxi)benzaldehído (**NAH-10**).

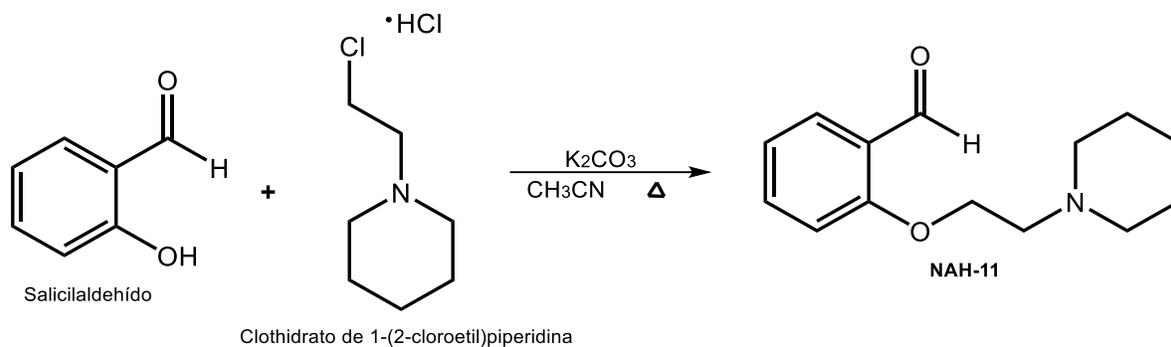
En el **Esquema 8** se observa la síntesis a seguir para obtener el precursor **NAH-10**, en donde se hizo reaccionar al 2-hidroxibenzaldehído con el clorhidrato de 4-(2-cloroetil)morfolina en CH₃CN como disolvente y K₂CO₃ como base en un baño de aceite que se llevó a 82°C (condiciones de reflujo) durante 11 horas con agitación magnética. Una vez terminada la reacción esta se rotavaporó a sequedad y posteriormente se agregaron 2 mL de H₂O fría y se colocó en agitación durante media hora, pasado este tiempo se observó la formación de una resina amarillenta, por lo que se realizó una extracción con 5 mL de AcOEt por triplicado y después se rotavaporó nuevamente a sequedad, obteniendo otra vez una resina amarilla. El rendimiento de esta reacción fue del 84.75%.



Esquema 8: Ruta de síntesis para la obtención del precursor **NAH-10**.

8.4.1.5.- Síntesis del 2-(2-(piperidin-1-il)etoxi)benzaldehído (**NAH-11**).

En el **Esquema 9** se observa la síntesis a seguir para obtener el precursor **NAH-11**, en donde se hizo reaccionar al 2-hidroxibenzaldehído con el clorhidrato de 1-(2-cloroetil)piperidina en CH₃CN como disolvente y K₂CO₃ como base en un baño de aceite que se llevó a 82°C (condiciones de reflujo) durante 17 horas. Una vez terminada la reacción esta se rotavaporó a sequedad y posteriormente se agregaron 2 mL de H₂O fría y se colocó en agitación durante media hora, pasado este tiempo se observó la formación de una resina café clara, por lo que se realizó una extracción con 5 mL de AcOEt por triplicado y después se rotavaporó nuevamente a sequedad, obteniendo otra vez una resina. El rendimiento de esta reacción fue del 70.68%.



Esquema 9: Ruta de síntesis para la obtención del precursor **NAH-11**.

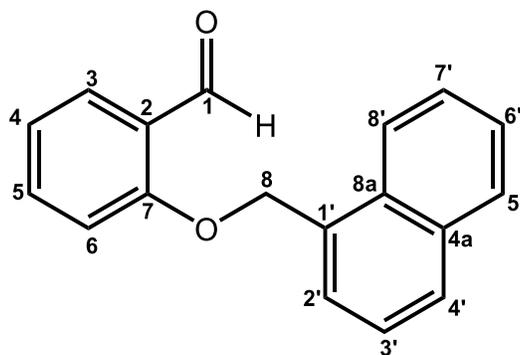
A continuación, se presentan las características fisicoquímicas que los precursores (**NAH 7-11**) presentan.

Tabla 9: Resumen de las características fisicoquímicas de los compuestos precursores **NAH 7-11**.

Compuesto	Tiempo de reacción (h)	Rendimiento (%)	Punto de fusión (°C)	Apariencia física
NAH-7	17	96.75	83.3-84.7	Polvo café
NAH-8	13	70.33	N/A	Resina café
NAH-9	8	80.54	176.6-178.6	Polvo blanco
NAH-10	11	84.75	N/A	Resina amarilla
NAH-11	17	70.68	N/A	Resina café

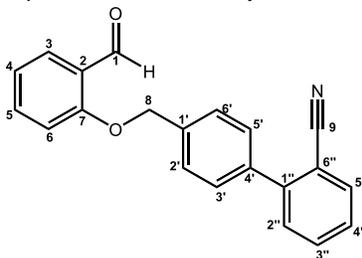
En las siguientes tablas se resumen las señales de los diferentes desplazamientos químicos que obtuvieron los precursores sólidos **NAH-7** y **NAH-9**.

Tabla 10: Desplazamientos químicos de RMN ¹H y ¹³C del compuesto precursor **NAH-7**.



Posición	δ ¹ H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (Hz)	δ ¹³ C ppm (150 MHz)
1	10.45	s	-	190
2	-	-	-	128.7
3	7.86-7.87	d	$J_o=7.56$	129.6
4	7.05	t	-	121.4
5	7.53	m	-	134
6	7.18-7.19	d	$J_o=8.4$	113.3
7	-	-	-	161.3
8	5.6	s	-	69.5
Naftaleno				
1'	-	-	-	136.1
2'	7.53	m	-	126.8
3'	7.47	t	-	126.3
4'	7.86-7.87	d	$J_o=9.72$	126.9
4 a	-	-	-	125.6
5'	7.89-7.91	dd	$J_m=1.56$ $J_o=7.98$	129.1
6'	7.59-7.60	d	$J_o=6.96$	125.5
7'	7.53	m	-	125.5
8'	8.02-8.04	d	$J_o=9.36$	123.6
8 a	-	-	-	131.6

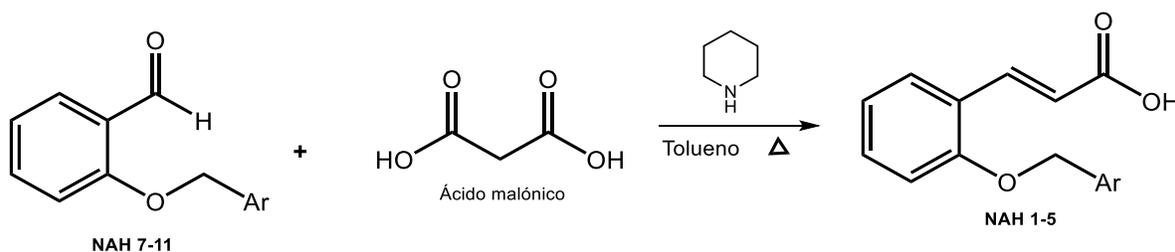
Tabla 11: Desplazamientos químicos de RMN ¹H y ¹³C del compuesto precursor **NAH-9**.



Posición	δ ¹ H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (Hz)	δ ¹³ C ppm (150 MHz)
1	10.60	s	-	189.9
2	-	-	-	127.7
3	7.45-7.48	td	$J_o=7.38$	130.3
4	7.08	t	-	121.4
5	7.57	t	-	136.2
6	7.65-7.68	td	$J_m=1.44$ $J_o=7.62$	113.2
7	-	-	-	161.1
8	5.27	s	-	70.2
9	-	-	-	118.9
Bifenilcarbonitrilo				
1'	-	-	-	136.9
2'	7.53-7.55	dd	$J_m=1.62$ $J_o=7.8$	129.4
3'	7.58	d	$J_o=8.94$	128.9
4'	-	-	-	138.3
5'	7.58	d	$J_o=8.94$	128.9
6'	7.53-7.55	dd	$J_m=1.62$ $J_o=7.8$	129.4
1''	-	-	-	145.1
2''	7.88-7.89	dd	$J_m=1.86$ $J_o=7.68$	125.4
3''	7.62	d	$J_o=8.28$	133.1
4''	7.61	s	-	128
5''	7.78-7.79	dd	$J_m=1.38$ $J_o=7.8$	134
6''	-	-	-	111.5

8.4.2.- Síntesis general de los compuestos finales **NAH 1-5**.

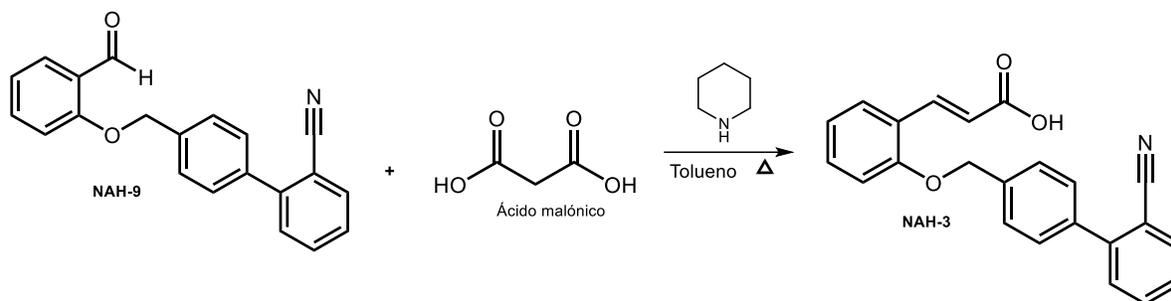
Usando la ruta de síntesis general de tipo Doebner-Knoevenagel se muestra a continuación y se llevó a cabo para la obtención de los compuestos finales de tipo ácidos fenilpropenoicos (cinámicos), en donde se partió de su respectivo precursor **NAH 7-11** y se añadió ácido malónico, se utilizó piperidina como base, tolueno como disolvente y se llevó a temperatura de reflujo, los tiempos de reacción variaron entre 4 y 10 horas, mientras que los rendimientos van del 53 al 82% por lo que se consideran rendimientos de moderados a buenos.



Esquema 10: Reacción de Doebner-Knoevenagel usada como ruta de síntesis general para los compuestos finales **NAH 1-5**.

8.4.2.1.- Síntesis del ácido-3-(2-((2'-ciano-[1,1'-bifenil]-4-il)metoxi)fenil)propenoico (**NAH-3**).

En un matraz de 10 mL se agregó el precursor **NAH-9** con tolueno como disolvente, posteriormente se agregó el ácido malónico, piperidina y se mantuvo en agitación magnética en un baño de aceite llevando a 110°C durante 10 horas (**Esquema 11**). Una vez finalizada la reacción corroborada mediante CCF, se rotavaporó a sequedad y se dejó evaporar el tolueno durante 24 horas, pasado este tiempo se agregaron 2 mL de H₂O fría y se colocó en agitación magnética durante media hora, posteriormente se llevó a pH de 4 utilizando HCl al 10% y se observó la formación de un sólido blanco, el cual se filtró y se lavó 2 veces con agua fría. El sólido resultante se dejó secar durante 24 horas, después de este tiempo se realizó un repulpe con agua fría y se filtró nuevamente el sólido que tomó un color crema. El rendimiento de esta reacción fue de 80.53% y el punto de fusión fue de 180.5-181.7°C.



Esquema 11: Ruta de síntesis para la obtención del compuesto final **NAH-3**.

En las **Figuras 45 y 46** se observa el espectro de RMN de ^1H del compuesto final **NAH-3**, en donde a 5.21 ppm se encuentra un singulete que integra para dos protones por lo que este corresponde al metileno de la posición H-10, posteriormente se observa un doblete en 6.57 ppm con una J_{trans} = 16.14 Hz, la cual corresponde al protón 3 que se encuentra unido a un doble enlace en posición *trans*, a 6.97 ppm se observa un triplete el cual pertenece al H-6, en 7.32 ppm esta una señal triple correspondiente al H-7, en 7.42 ppm también es un triplete que corresponde al protón H-5. Después a 7.50 ppm se encuentra un doblete perteneciente a las posiciones H-2' y H-6' del anillo B con una J_o = 7.68 Hz, en seguida, se observa otro doblete en 7.53 ppm correspondiente a los protones de las posiciones H-3' y H-5' del anillo B con una J_o = 8.76 Hz, a 7.57 ppm se observa un doblete con una J_o = 8.64 Hz que pertenece al protón H-8. En 7.58 ppm se encuentra otra señal correspondiente al protón H-2'' del anillo C, posteriormente en 7.61 ppm se encuentra un triplete, correspondiente al H-5'' del anillo C y en seguida se observa otra señal que pertenece a la posición H-4'' a 7.63 ppm, después se observa un doblete en 7.74 ppm perteneciente al H-3'' del anillo C con una J_o = 8.64 Hz, como la penúltima señal se encuentra otro doblete en 8.16 ppm que corresponde al protón de la posición H-2 que también está unido al doble enlace, con una J_{trans} = 16.14 Hz y finalmente a 8.75 ppm se observa una señal muy pequeña característica del protón de un grupo OH, el cual pertenece al ácido carboxílico. La correcta asignación de estas señales se realizó con la ayuda del espectro en 2D HMBC.

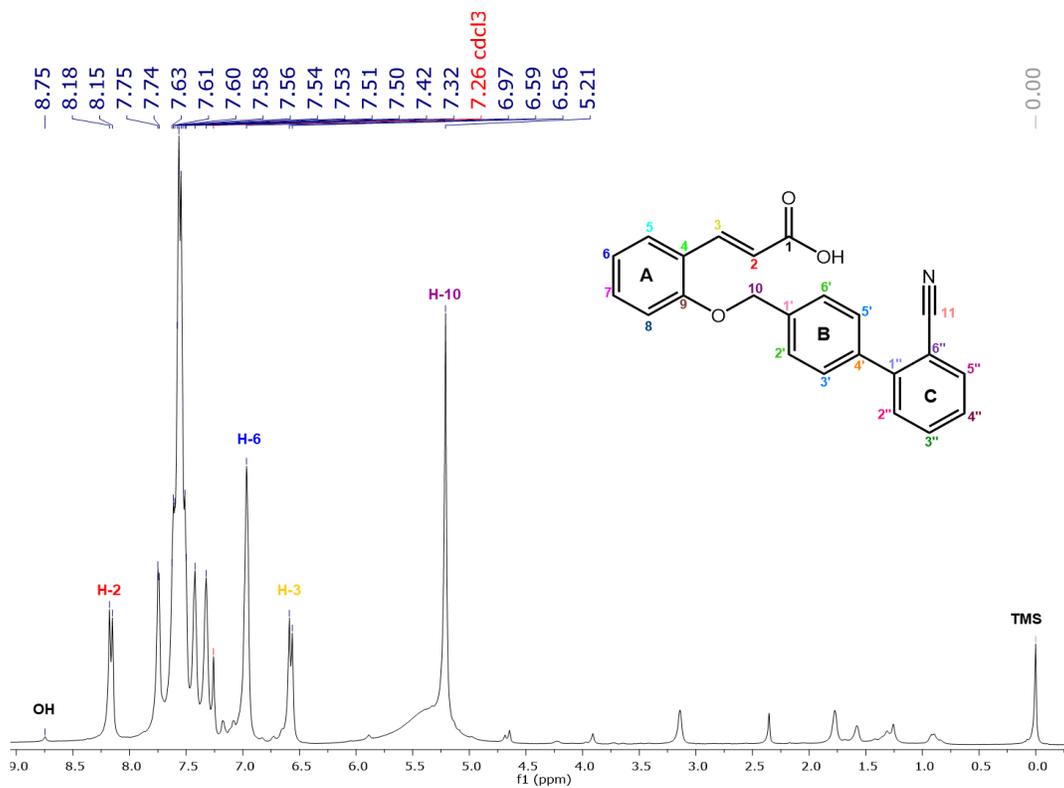


Figura 45: Espectro de RMN ^1H del compuesto final NAH-3 en CDCl_3 a 600 MHz.

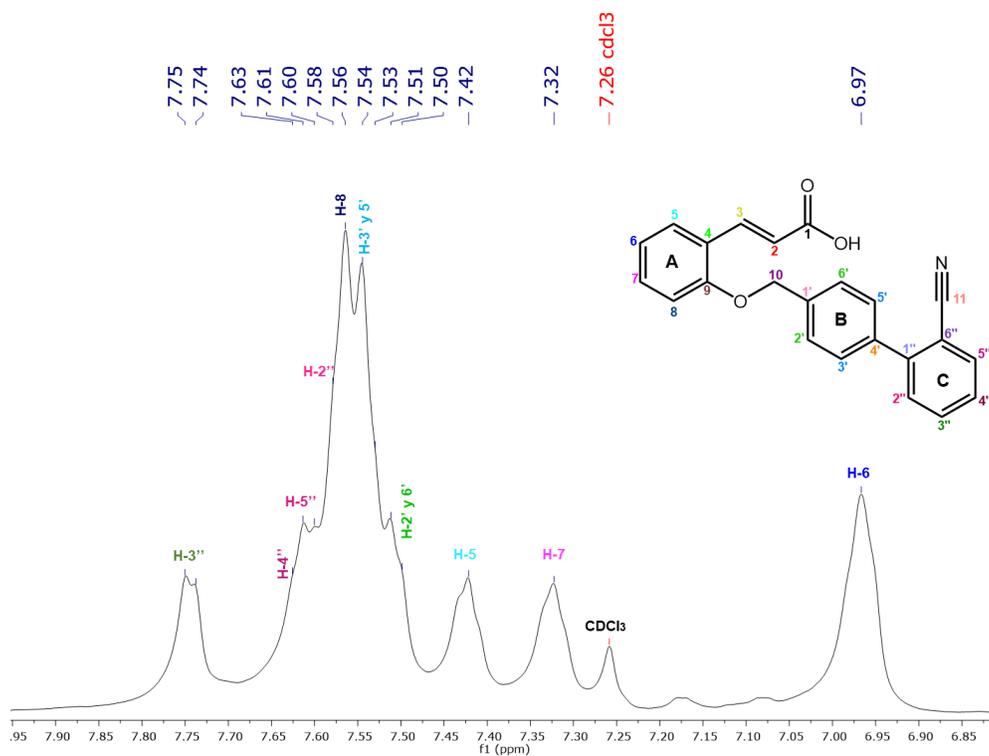


Figura 46: Ampliación de las señales correspondientes a los anillos A,B y C de NAH-3.

En las **Figuras 47 y 48** se observa el espectro de RMN de ^{13}C del compuesto final **NAH-3**, en donde el primer pico a 70.1 ppm corresponde al carbono en la posición C-10 de la molécula, posteriormente en 111.4 ppm se encuentra la señal que pertenece al C-6'' del anillo C, en seguida la señal a 113 ppm es correspondiente al C-5 del anillo A, en 118.9 ppm está la señal para el carbono en la posición C-3, luego de este, en 119.2 ppm está el pico de la posición que contiene al carbonitrilo, C-11. Después la señal perteneciente al C-6 se encuentra en 121.4 ppm. A 124 ppm se encuentra el pico que corresponde al carbono C-4, luego de este en 127.6 ppm esta la señal de los carbonos C-2' y C-6' del anillo B, seguidas en 127.8 ppm por el pico perteneciente a los carbonos C-3' y C-5' del mismo anillo, después se encuentra el C-7 a 129.2 ppm del anillo A y a 129.3 ppm la señal del C-2'', en 130.3 ppm está el pico perteneciente al carbono C-4', luego el C-8 del anillo A se encuentra a 131.8 ppm. En seguida a 133.1 ppm está el carbono de la posición C-5'', después se encuentra en 133.9 ppm la señal perteneciente al C-1'' ambos del anillo C, en 137.4 ppm la señal correspondiente al C-3'', luego de este, en 138 ppm se encuentra el pico del C-1' del anillo B, en seguida se encuentra el carbono de la posición C-2 en 141.3 ppm y a 145.2 ppm se observa la señal del C-4''. Finalmente, en 157.5 ppm se encuentra el penúltimo pico que pertenece al C-9 y en 172.5 ppm el carbono del carbonilo (C-1).

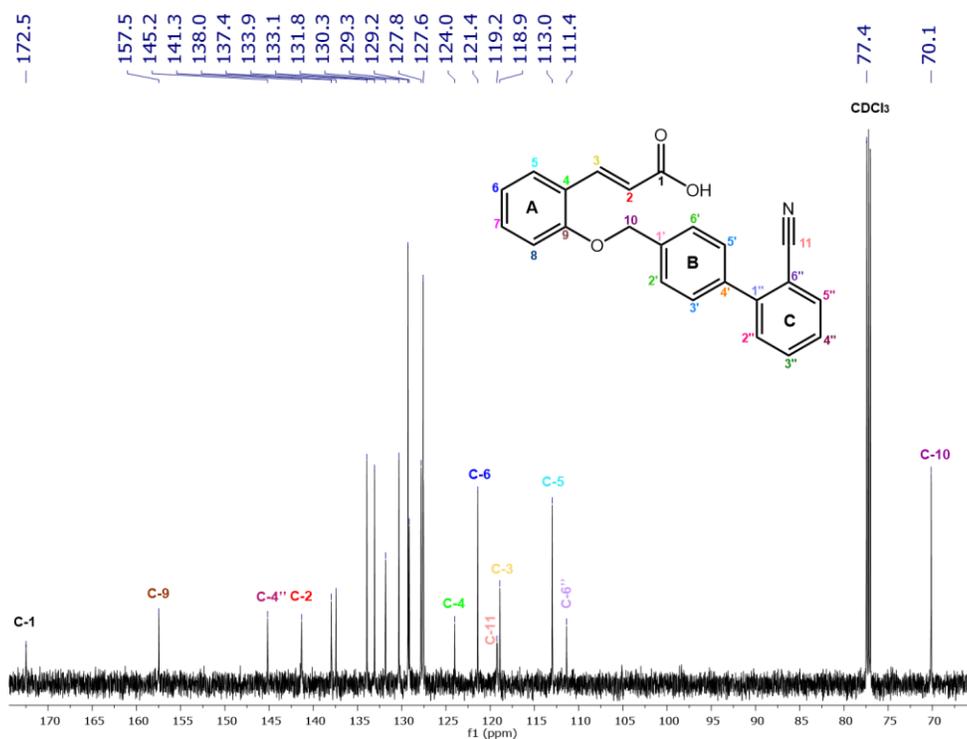


Figura 47: Espectro de RMN ^{13}C del compuesto final **NAH-3**.

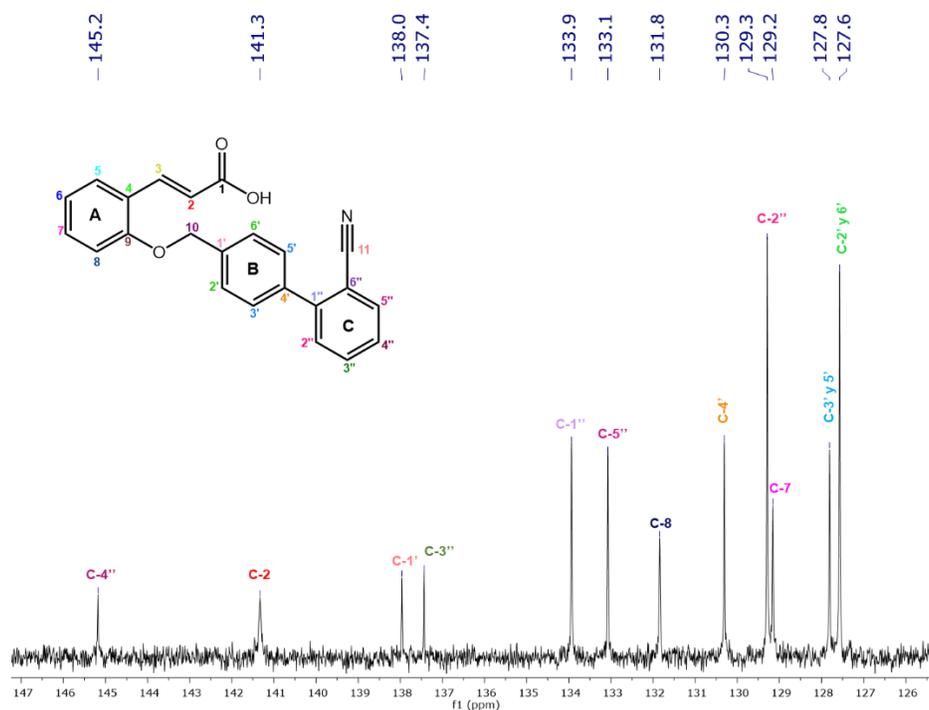


Figura 48: Ampliación de parte aromática del compuesto final **NAH-3**.

A continuación, se presenta el espectro en 2D (HMBC) (**Figura 49**) de **NAH-3** en donde se correlacionan las señales del espectro de RMN ¹H y ¹³C. Esto facilitó la asignación de señales y corrobora la obtención del compuesto final **NAH-3**.

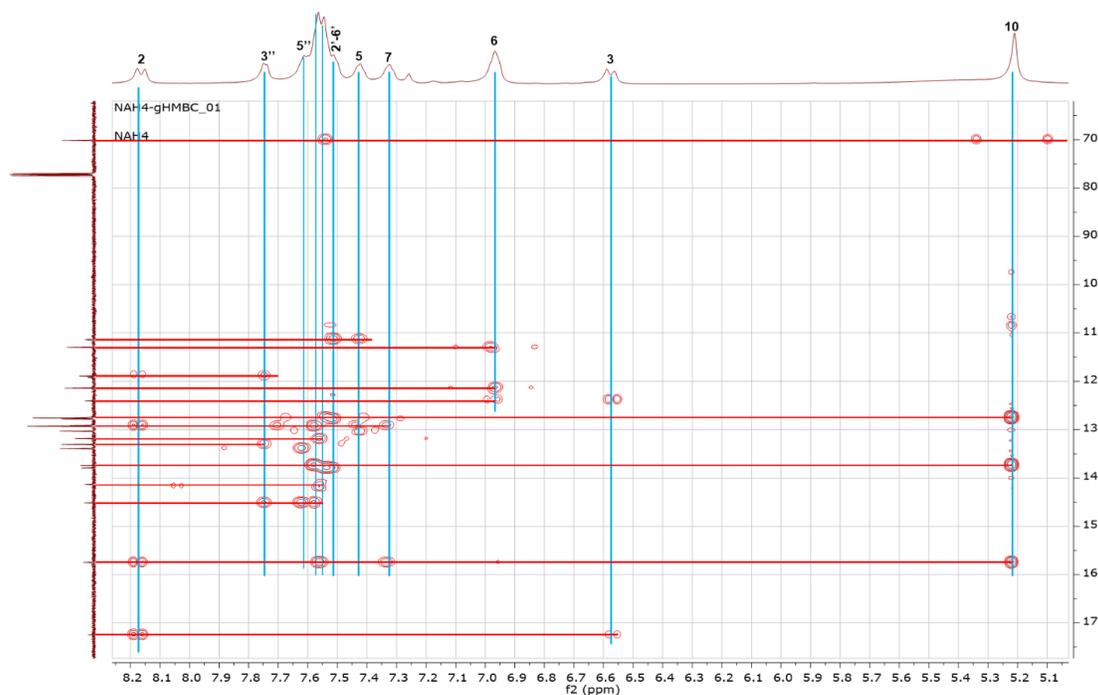


Figura 49: Espectro 2D HMBC del compuesto final **NAH-3** en azul RMN ¹H y rojo ¹³C.

En la **Figura 50** se observa el espectro de masas del compuesto **NAH-3** en donde el pico base corresponde al fragmento del éter unido al bifenilcarbonitrilo a 207 m/z y también se observa el ion molecular a 355 m/z, correspondiente al peso molecular del compuesto.

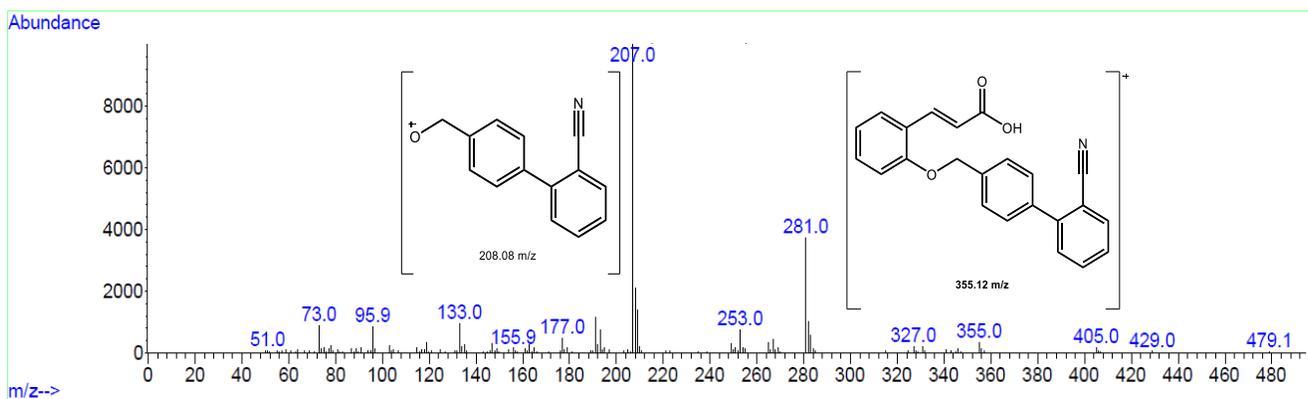


Figura 50: Espectro de masas del compuesto final **NAH-3**.

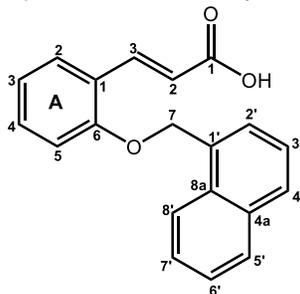
En la siguiente tabla se presentan las características fisicoquímicas de los compuestos finales **NAH 1-5**.

Tabla 12: Características fisicoquímicas de los compuestos finales **NAH 1-5**.

Compuesto	Tiempo de reacción (h)	Rendimiento (%)	Punto de fusión (° C)	Apariencia física
NAH-1	6	82.06	182.7-183.9	Polvo beige
NAH-2	5	81.81	129.1-132.8	Polvo color arena
NAH-3	10	80.53	180.5-181.7	Polvo color crema
NAH-4	5	71.27	N/A	Resina amarilla
NAH-5	4	53.53	175.2-179.8	Polvo amarillo

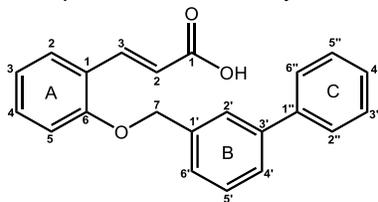
8.4.3.- Tablas de espectroscopía de RMN ^1H y ^{13}C de los compuestos finales (NAH 1-5).

Tabla 13: Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto final NAH-1.



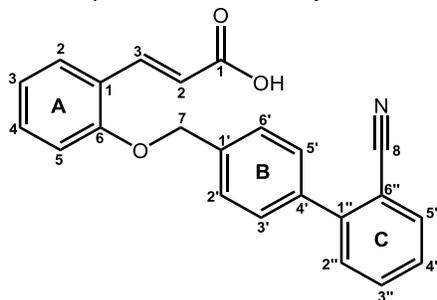
Posición	δ ^1H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (Hz)	δ ^{13}C ppm (150 MHz)
1	-	-	-	172.4
2	8.1-8.13	d	$J_{trans}=16.02$	142
3	6.46-6.49	d	$J_{trans}=16.08$	118.5
Anillo A				
1	-	-	-	123.5
2	6.99	t	-	129
3	7.07-7.08	d	$J_o=8.28$	121.4
4	7.54	m	-	129.2
5	7.34	t	-	113.3
6	-	-	-	157.7
7	5.61	s	-	69.3
Naftaleno				
1'	-	-	-	131.4
2'	7.54	m	-	126.8
3'	7.46	t	-	125.5
4'	7.89-7.9	d	$J_o=7.98$	128.4
4 a	-	-	-	133.9
5'	7.84-7.85	d	$J_o=8.22$	127.2
6'	7.54	m	-	126.3
7'	7.54	m	-	126.2
8'	8.04-8.05	d	$J_o=8.28$	124.1
8 a	-	-	-	132

Tabla 14: Desplazamientos químicos de RMN ¹H y ¹³C del compuesto final **NAH-2**.



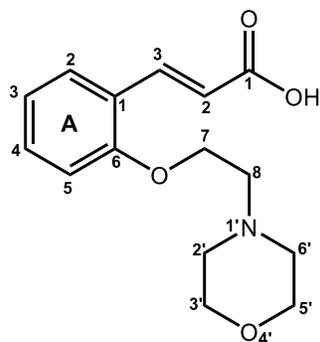
Posición	δ ¹ H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (Hz)	δ ¹³ C ppm (150 MHz)
1	8.51	s	-	168.4
2	7.92-7.94	d	$J_{trans}=16.08$	139
3	6.56-6.58	d	$J_{trans}= 16.14$	120.2
Anillo A				
1	-	-	-	123.4
2	7.63-7.64	d	$J_o=7.8$	129.6
3	6.99	t	-	121.5
4	-----	-----	-----	132.1
5	7.21-7.22	d	$J_o=8.28$	113.6
6	-	-	-	157.2
7	5.28	s	-	70.1
Bifenilo				
1'	-	-	-	138
2'	7.78	s	-	126.8
3'	-	-	-	140.9
4'	7.49-7.51	dd	$J_o=7.44$ $J_m= 2.64$	126.3
5'	7.54-7.55	d	$J_o=8.28$	129
6'	7.39-7.41	d	$J_o=8.1$	127
1''	-	-	-	140.3
2''	7.67-7.71	dd	$J_o=7.92$ $J_m=3.64$	129.4
3''	7.45	td	$J_o=8.28$ $J_m=3.24$	128
4''	7.37	t	-	127.2
5''	7.45	td	$J_o=8.28$ $J_m=3.24$	128
6''	7.67-7.71	dd	$J_o=7.92$ $J_m=3.64$	129.4

Tabla 15: Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto final **NAH-3**.



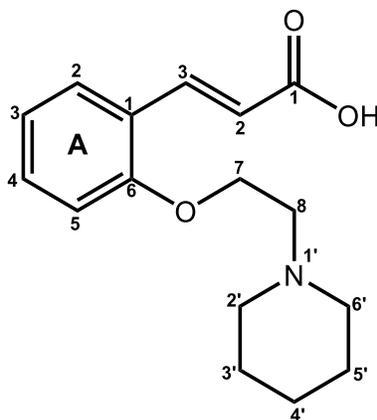
Posición	δ ^1H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (Hz)	δ ^{13}C ppm (150 MHz)
1	8.75	s	-	172.5
2	8.15-8.17	d	$J_{trans}=16.14$	141.3
3	6.56-6.58	d	$J_{trans}=16.14$	118.9
Anillo A				
1	-	-	-	124
2	7.42	t	-	113
3	6.97	t	-	121.4
4	7.32	t	-	129.2
5	7.56-7.57	d	$J_o=8.64$	131.8
6	-	-	-	157.5
7	5.21	s	-	70.1
Anillo B				
1'	-	-	-	138
2'	7.50-7.51	d	$J_o=7.68$	127.6
3'	7.53-7.54	d	$J_o=8.76$	127.8
4'	-	-	-	130.3
5'	7.53-7.54	d	$J_o=8.76$	127.8
6'	7.50-7.51	d	$J_o=7.68$	127.6
Anillos C				
1''	-	-	-	133.9
2''	7.58	s	-	129.3
3''	7.74-7.75	d	$J_o=8.64$	137.4
4''	7.63	s	-	145.2
5''	7.60-7.61	t	-	133.1
6''	-	-	-	111.4
8	-	-	-	119.2

Tabla 16: Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto final **NAH-4**.



Posición	δ ^1H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (Hz)	δ ^{13}C ppm (150 MHz)
1	-	-	-	171.2
2	8-8.03	d	$J_{trans}=16.14$	140.7
3	6.48-6.5	d	$J_{trans}= 16.14$	119.3
Anillo A				
1	-	-	-	123.8
2	6.89-6.9	d	$J_o=8.34$	131.7
3	6.96	t	-	121.3
4	7.32	m	-	129.1
5	7.5-7.51	dd	$J_m=1.68$ $J_o=7.74$	112.3
6	-	-	-	157.5
7	4.21	t	-	65.5
8	2.96	t	-	57.5
Morfolina				
1'	-	-	-	-
2'	2.72	t	-	53.8
3'	3.78	t	-	66.5
4'	-	-	-	-
5'	3.78	t	-	66.5
6'	2.72	t	-	53.8

Tabla 17: Desplazamientos químicos de RMN ¹H y ¹³C del compuesto final **NAH-5**.



Posición	δ 1H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (Hz)	δ 13C ppm (150 MHz)
1	11.05	s	-	168.1
2	7.83-7.85	d	$J_{trans}= 16.08$	138.7
3	6.51-6.54	d	$J_{trans}= 16.14$	120.2
Anillo A				
1	-	-	-	123.2
2	7.70-7.71	d	$J_o=7.86$	132.2
3	7.03	t	-	122.0
4	7.42	t	-	128.7
5	7.13-7.14	d	$J_o=8.34$	113.2
6	-	-	-	156.3
7	4.53	t	-	63.5
8	3.05	t	-	54.9
Piperidina				
1'	-	-	-	-
2'	1.82	m	-	53.0
3'	1.68	m	-	22.7
4'	1.39	m	-	21.6
5'	1.68	m	-	22.7
6'	1.82	m	-	53.0

8.5.- Evaluación farmacológica

8.5.1.- Evaluación farmacológica *in vitro*.

8.5.1.1. Ensayo *in vitro* sobre la expresión relativa de PPAR- γ y GLUT4.

Se determinó *in vitro* el efecto de los compuestos seleccionados como hits computacionales seguros en orden de jerarquía: **NAH-2**, **NAH-3** y **NAH-1** sobre PPAR γ así como sobre su producto de activación GLUT-4. Para este ensayo se utilizaron adipocitos los cuales fueron sometidos a tratamiento con los compuestos durante 24 h. La expresión relativa se obtuvo a partir de los datos de la cuantificación de los RNAm en PCR-RT con respecto al gen 36B4. En las siguientes figuras se observan los niveles de expresión que cada uno de los compuestos elegidos obtuvo sobre PPAR- γ y GLUT-4.

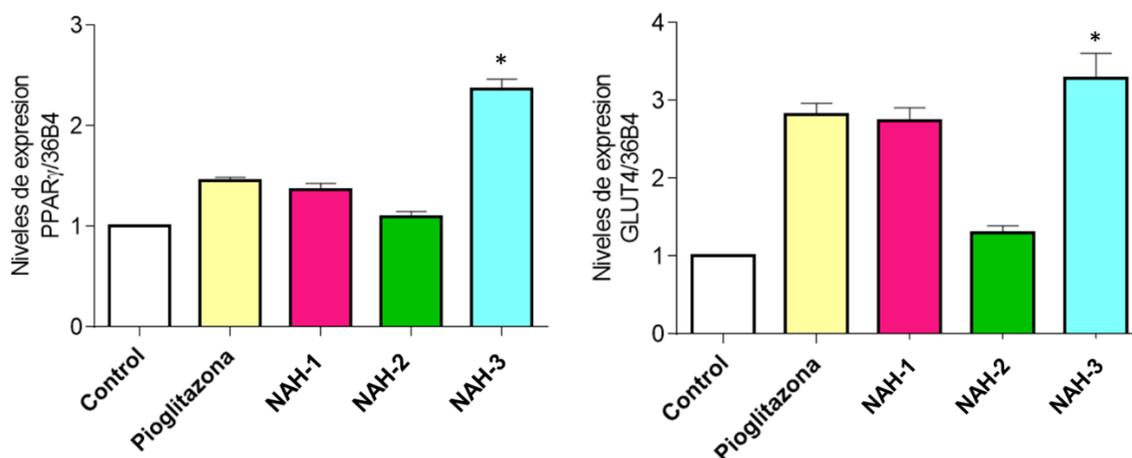


Figura 51: Niveles de expresión sobre PPAR- γ y GLUT-4 de los compuestos **NAH-1**, **NAH-2** y **NAH-3**.

En la **Figura 51** se observa como los compuestos elegidos como hits computacionales seguros mediante el análisis *in silico* de consenso farmacológico obtuvieron resultados favorables (correlación *in silico/ in vitro*) en cuanto a la activación de PPAR γ , siendo el compuesto **NAH-3** el que presentó mayor actividad en ambos casos, reflejando un nivel de expresión mayor que pioglitazona, agonista de este receptor. De igual forma, el compuesto **NAH-3** presentó mayor nivel de expresión en GLUT-4 lo que correlaciona con los resultados arrojados en el acoplamiento molecular, ya que el programa MOE estimó que este sería el compuesto que presentaría mayor activación sobre este receptor y por ende el cotransportador que activa.

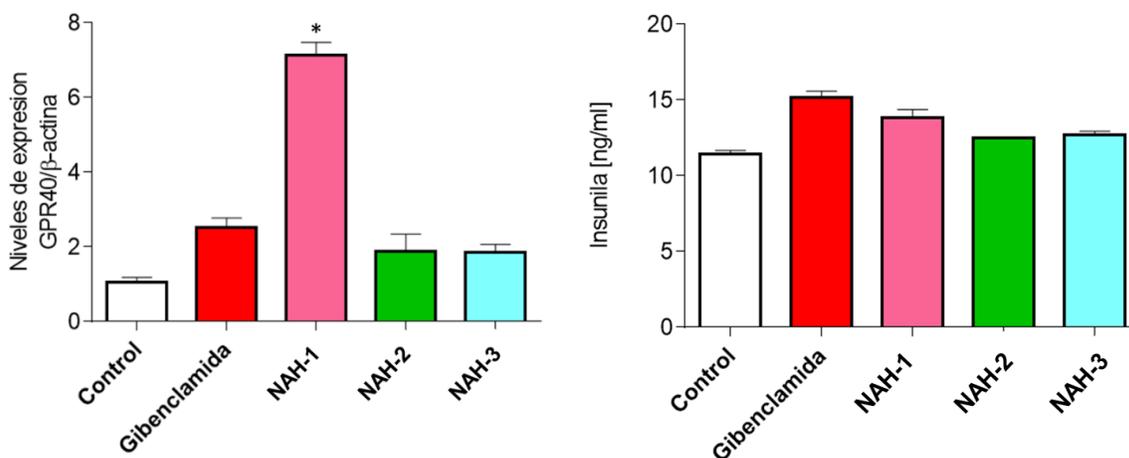


Figura 52: Niveles de expresión sobre GPR40 e insulina de los compuestos **NAH-1**, **NAH-2** y **NAH-3**.

En estas gráficas se observa la activación del receptor GPR40, donde los compuestos **NAH-2** y **NAH-3** presentaron niveles similares a los de glibenclámda, sin embargo, el compuesto **NAH-1** presentó altos niveles de expresión de activación de este receptor y en cuanto a la liberación de insulina este mismo compuesto presentó niveles muy similares a los de glibenclámda, aunque **NAH-2** y **NAH-3** también presentan buenos niveles de liberación de esta hormona, lo que indica que los compuestos podrían presentar buena actividad antihiper glucémica.

8.5.2.- Evaluación farmacológica *in vivo*.

8.5.2.1.- Curva de tolerancia a la glucosa realizada con los compuestos **NAH-2** y **NAH-3**.

Después de realizar el análisis *in silico* de consenso farmacológico, seleccionar los hits computacionales seguros, concluir la síntesis química de los compuestos y evaluar *in vitro* su efecto, se eligieron a los 2 hits computacionales seguros de la serie, los cuales fueron **NAH-2** y **NAH-3** y se llevó a cabo la evaluación de estos compuestos mediante una prueba de tolerancia a la glucosa oral en ratones BALB/C.

Se tomó la glibenclamida como un control hipoglucémico y para determinar la actividad de los compuestos a evaluar se determinó una dosis única de 100 mg/kg, estos compuestos fueron administrados en suspensión de agua fisiológica con Tween 80 al 10%.

En la **Figura 51** se muestra la actividad que presentaron estos compuestos en el ensayo el cual tuvo una duración de 3 horas. En la gráfica se observa que el compuesto **NAH-3** llevó a niveles normo glucémicos a las 2 horas del ensayo y evitó de manera eficiente y muy similar a la glibenclamida el pico hiperglucémico al administrarse por vía oral una carga de glucosa disuelta en agua. Si bien, se muestran a la par los resultados del compuesto **NAH-2**, este no evitó el pico hiperglucémico, pero fue capaz de llevar a niveles normo glucémicos a la 3ra hora del ensayo, por lo que ambos compuestos mostraron el efecto deseado. Hay que considerar también que quizás los compuestos estén actuando, en mayor parte por un mecanismo diferente, ya sea por activación de PPAR γ , activación de GPR40, o ambos y podría ser esta la razón por la que en este tipo de ensayo se observan mejores resultados sobre el compuesto **NAH-3** que en el compuesto **NAH-2**.

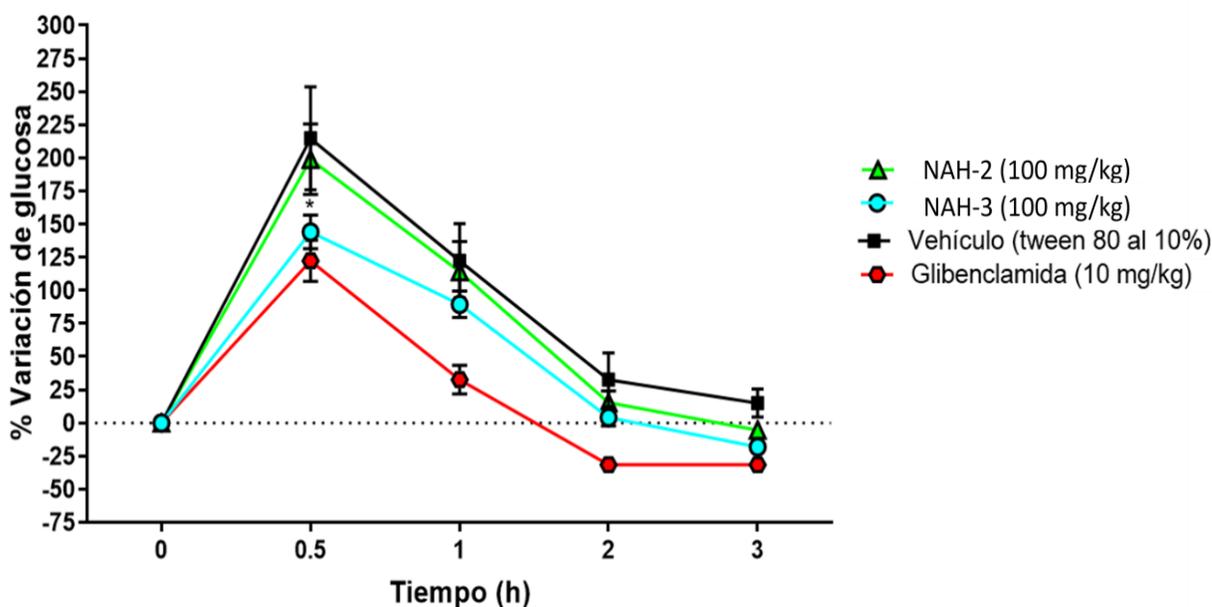


Figura 53: Gráfica de la prueba de tolerancia a la glucosa utilizando los compuestos **NAH-2** y **NAH-3**.

ANOVA de dos vías (n=5, p < 0.05).

9.- CONCLUSIONES

- El análisis *in silico* de consenso farmacológico jerarquizó como hits computacionales seguros y priorizó la síntesis y evaluación de los compuestos **NAH-2**, **NAH-3** y **NAH-1**.
- Tanto el compuesto **NAH-3** como el **NAH-1** presentaron excelente actividad *in vitro* sobre PPAR- γ y GPR40, respectivamente.
- El compuesto **NAH-3** presentó un efecto antihiper glucémico en ratones ya que evitó el pico hiper glucémico y disminuyó los niveles de glucosa de manera eficaz de acuerdo con la curva de tolerancia a la glucosa (CTG), lo que demuestra correlación con los ensayos *in vitro* e *in silico* realizados.
- De acuerdo con los resultados observados *in vitro* e *in vivo* en la curva de tolerancia a la glucosa, el análisis *in silico* de consenso farmacológico fue aceptable, ya que los tres compuestos de los que se decidió priorizar su síntesis debido a sus características farmacocinéticas, farmacodinámicas, biofarmacéuticas y toxicológicas favorables, presentaron actividad antihiper glucémica en ensayos de CTG, siendo considerados como hits experimentales.

10.- PERSPECTIVAS

- Realizar ensayos *in vivo* para observar la actividad antidiabética de los compuestos **NAH-1**, **NAH-2** y **NAH-3** en un modelo murino.
- Sintetizar más compuestos derivados del ácido-*o*-hidroxicinámico con diferentes sustituyentes a los ya probados anteriormente y realizar los ensayos pertinentes para intentar aumentar la actividad obtenida por los compuestos obtenidos.
- Reducir el tiempo de la síntesis de estos compuestos intentando realizarla con equipos innovadores como la síntesis por microondas o con el reactor Anton-Paar.

11.- PARTE EXPERIMENTAL

11.1.- Instrumentación

La síntesis de todos los compuestos, finales (**NAH 1-5**) y precursores (**NAH 7-11**) se llevó a cabo utilizando los reactivos disponibles en Sigma Aldrich® (**Tabla 18**).

Tabla 18: Precio de reactivos utilizados en el proyecto para la síntesis de la serie de compuestos **NAH⁸⁶**.

Reactivo	Costo (MXN.)	Cantidad (g)	CASS No.
Salicilaldehído	\$785.00	100	90-02-8
Ácido malónico	\$1210.00	100	141-82-2
1-(clorometil)naftaleno	\$1314.00	100	86-52-2
3-(bromometil)bifenilo	\$1791.00	5	14701-31-5
4'-(bromometil)bifenil- 2-carbonitrilo	\$2389.00	5	114772-54-2
Clorhidrato de 4-(2- cloroetil)-morfolina	\$682.00	5	3647-69-6
Clorhidrato de 1-(2- cloroetil)piperidina	\$1502.00	100	2008-75-5

La síntesis de los compuestos se llevó a cabo en una parrilla de agitación magnética marca IKR® CMAG HS 4, se utilizaron matraces bola de 5, 10, y 25 mL, acondicionados con barras de agitación magnética y a reflujo. Al terminar las reacciones se extrajeron los diferentes disolventes utilizados con un rotavapor marca **BÜCHI** R-300 acoplado a una bomba de alto vacío marca **BÜCHI**.

Para obtener el punto de fusión de los diferentes compuestos sintetizados se utilizó un fusiómetro Stanford Research, modelo EZ-Melt®.

11.2.- Cromatografía

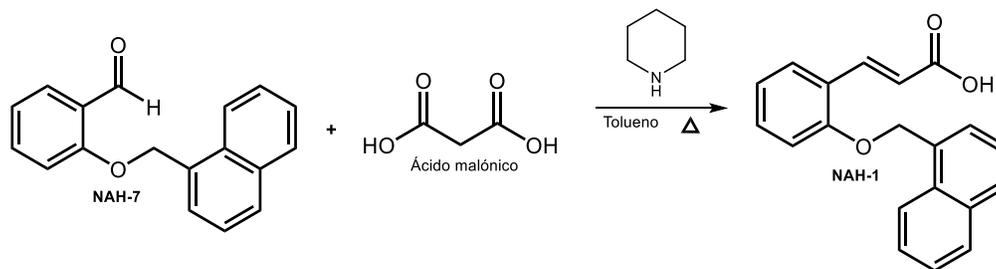
Para medir el avance de las reacciones químicas realizadas se monitorearon por cromatografía en capa fina (ccf) en placas de 2.5 cm x 4 cm recubiertas con sílice gel 60 (Merck- F254). La visualización se llevó a cabo con lámpara de luz ultravioleta a longitudes de onda de 254/ 366 nm (entela UVGL-25) y con vapores de yodo. Para la elución de las placas cromatográficas se utilizaron los siguientes sistemas. (**Tabla 19**)

Tabla 19: Fases móviles utilizadas para realizar la cromatografía de capa fina en el monitoreo de las reacciones químicas.

Sistema	Proporción	Composición
I	90:10	Hex:AcOEt
II	80:20	Hex:AcOEt
III	95:5	CH ₂ Cl ₂ :MeOH
IV	90:10	CH ₂ Cl ₂ :MeOH

11.3.- Síntesis de los compuestos finales NAH 1-5.

11.3.1.- Síntesis del ácido-3-(2-(naftalen-1-ilmetoxi)fenil)propenoico (**NAH-1**).



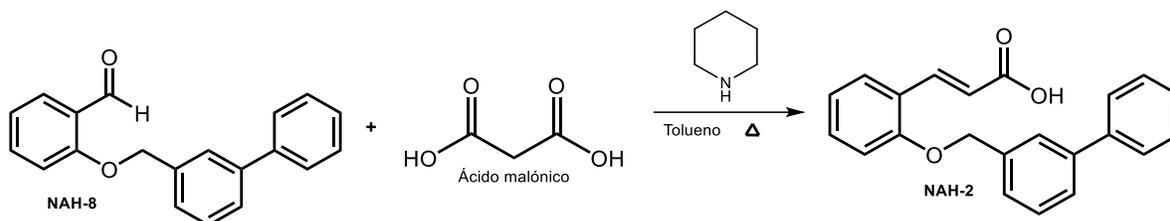
En un matraz de 25 mL se agregaron 0.3 g de **NAH-7** en 3.5 mL de tolueno y se colocó en agitación magnética durante 5 minutos para la completa incorporación del precursor, posteriormente se agregaron 0.143 g (0.0014 mol, 1.2 eq.) de ácido malónico y 0.032 mL de piperidina (0.3 mmol, 0.3 eq., 0.028 g, $\delta=0.862$ g/mL) a temperatura ambiente. Después de agregar todos los reactivos se colocó el matraz en un baño de aceite y se equipó con una trampa de Dean-Stark, a la cual se le agregó tolueno y se llevó a temperatura de reflujo. La reacción fue monitoreada mediante el sistema II y luego de 6 horas finalizó al consumirse completamente el reactivo limitante. El producto resultante se rotavaporó a sequedad y se dejó 24 horas para dejar que el tolueno se evaporara en totalidad, se obtuvo una resina café la cual, una vez que estuvo totalmente seca se le agregaron 2 mL de H₂O fría, se colocó en agitación en un baño de hielo para acidificar, el pH inicial fue de 9, por lo que lentamente se agregó HCl al 10% para llegar a un pH final entre 3 y 4, conforme el pH fue disminuyendo se observó la formación de un sólido beige, este se filtró y se dejó secar en totalidad. Posterior a esto se realizó un repulpe con 10 mL de H₂O fría durante 30-40 minutos, se filtró nuevamente obteniendo un sólido color beige, el cual tuvo un rendimiento experimental de 82.06% y un PF=182.7-183.9°C.

RMN 1H (600 MHz, CDCl₃-*d*) δ : 5.61 (s, H-7), 6.46 (d, H-3, *J*_{trans}=16.08), 6.99 (t, HA-2), 7.07 (d, HA-3, *J*_o=8.28), 7.34 (t, HA-5), 7.46 (t, H-3'), 7.54 (m, 4H, HA-4, H-2', H-6', H-7'), 7.84 (d, H-5', *J*_o=8.22), 7.89 (d, H-4', *J*_o=7.98), 8.04 (d, H-8', *J*_o=8.28), 8.1 (d, H-2, *J*_{trans}=16.02) ppm.

RMN 13C (150 MHz, CDCl₃-*d*) δ : 69.3 (C-7), 113.3 (C-5), 118.5 (C-3), 121.4 (CA-3), 123.5 (CA-1), 124.1 (C-8'), 125.5 (C-3'), 126.2 (C-7'), 126.3 (C-6'), 126.8 (C-2'), 127.2 (C-5'), 128.4 (C-4'), 129 (CA-2), 129.2 (C-4), 131.4 (C-1'), 132 (C-8a), 133.9 (C-4a), 142 (C-2), 157.7 (C-6), 172.4 (C=O) ppm.

EM-IM m/z (% int. rel.) 141.1 (M-163, 100), 207 (M-97.1, 100), 281.1 (M-23, 100).

11.3.2.- Síntesis del ácido-3-(2-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)fenil)propenoico (**NAH-2**).

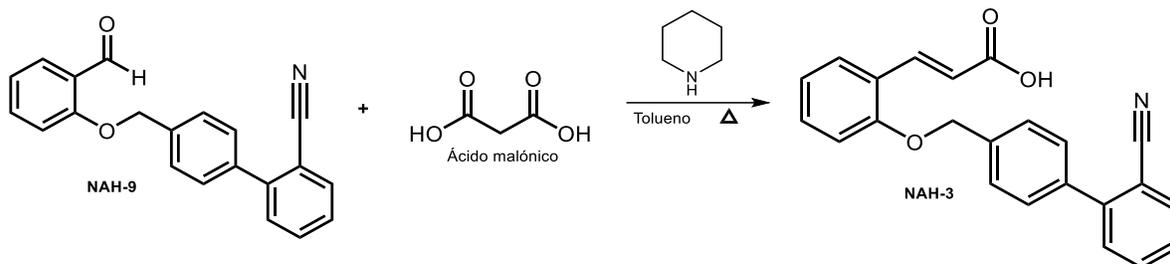


En un matraz de 10 mL se agregaron 0.166 g de **NAH-8** con 1.5 mL de tolueno y se colocó en agitación magnética a temperatura ambiente durante 5 minutos para la completa incorporación del precursor, posteriormente se agregaron 0.073 g (0.7 mmol, 1.2 eq.) de ácido malónico y 0.017 mL de piperidina (0.18 mmol, 0.3 eq., 0.0153 g, $\delta=0.862$ g/mL) a temperatura ambiente. Después de agregar todos los reactivos se colocó el matraz en un baño de aceite y se equipó con una trampa de Dean-Stark, a la cual se le agregó tolueno y se llevó a temperatura de reflujo. La reacción fue monitoreada mediante el sistema I y luego de 5 horas finalizó al consumirse completamente el reactivo limitante. El producto resultante se rotavaporó a sequedad y se dejó 24 horas para dejar que el tolueno se evapore en totalidad, se obtuvo una resina café a la cual se le agregaron 2 mL de H₂O fría y se colocó en agitación en un baño de hielo para acidificar, el pH inicial fue de 7, por lo que lentamente se agregó HCl al 10% para llegar a un pH final entre 3 y 4, conforme el pH disminuyó se observó la formación de un sólido, el cual se filtró y se dejó secar en totalidad. Posterior a esto se realizó un repulpe con 5 mL de H₂O fría durante 30 minutos, se filtró nuevamente obteniendo un sólido color café claro, el cual tuvo un rendimiento experimental de 81.81% y un PF=129.1-132.8°C.

RMN 1H (600 MHz, DMSO) δ : 5.28 (s, H-7), 6.57 (d, H-3, $J_{trans}=16.14$), 7.00 (t, H-3), 7.21 (d, H-5, $J_o=8.28$), 7.38 (t, H-4''), 7.4 (d, H-6', $J_o=8.1$), 7.45 (td, 2H, H-3'', H-5'' $J_o=8.28$, $J_m=3.24$), 7.5 (dd, H-4', $J_o=7.44$, $J_m=2.64$), 7.55 (d, H-5', $J_o=8.28$), 7.64 (d, H-2, $J_o=7.8$), 7.69 (dd, 2H, H-2'', H-6'', $J_o=7.92$, $J_m=3.64$), 7.78 (s, H-2'), 7.93 (d, H-2, $J_{trans}=16.08$), 8.51 (-OH) ppm.

RMN 13C (150 MHz, DMSO) δ : 70.1 (C-7), 113.6 (C-5), 120.2 (C-3), 121.5 (CA-3), 123.4 (CA-1), 126.3 (C-4'), 126.8 (C-2'), 127 (C-6'), 127.2 (C-4''), 128 (2C, C-3'', C-5''), 129 (C-5'), 129.4 (2C, C-2'', C-6''), 129.6 (CA-2), 132.1 (CA-4), 138 (C-1'), 139 (C-2), 140.3 (C-1''), 140.9 (C-3'), 157.2 (C-6), 168.4 (C=O) ppm. **EM-IM m/z** (% int. rel.) 167.1 (M-163, 100), 286.1 (M-44, 100).

11.3.3.- Síntesis del ácido-3-(2-((2'-ciano-[1,1'-bifenil]-4-il)metoxi)fenil)propenoico (NAH-3).

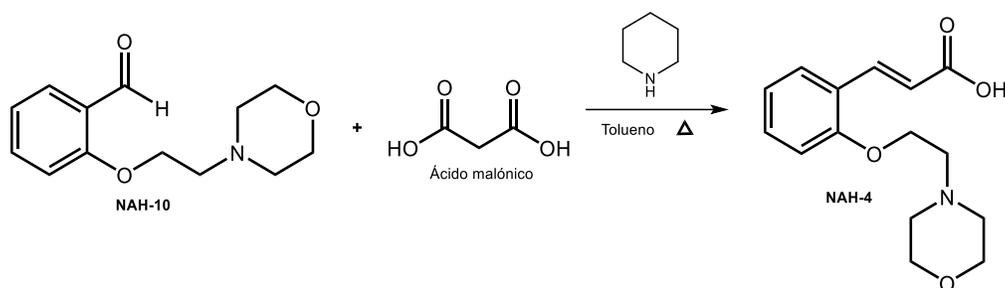


En un matraz de 10 mL se agregaron 0.1 g de **NAH-10** con 1.5 mL de tolueno y se colocó en agitación magnética durante 5 minutos para la completa incorporación del precursor, posteriormente se agregaron 0.04 g (0.4 mmol, 1.2 eq.) de ácido malónico y 0.09 mL de piperidina (0.09 mmol, 0.3 eq., 0.0082 g, $\delta=0.862$ g/mL) a temperatura ambiente. Después de agregar todos los reactivos el matraz se colocó en un baño de aceite y se equipó con una trampa de Dean-Stark, a la cual se le agregó tolueno y se llevó a temperatura de reflujo. La reacción fue monitoreada mediante el sistema I y luego de 10 horas finalizó al consumirse completamente el reactivo limitante. El producto resultante se rotavaporó a sequedad y se dejó 24 horas a temperatura ambiente para dejar que el tolueno se evaporara en totalidad, se obtuvo un sólido blanco al cual, una vez que estuvo totalmente seco se le agregaron 2 mL de H₂O fría, se colocó en agitación en un baño de hielo para acidificar, el pH inicial fue de 7, por lo que lentamente se agregó HCl al 10% para llegar a un pH final entre 3 y 4, el sólido se filtró y se dejó secar en totalidad. Posterior a esto se realizó un repulpe con 5 mL de H₂O fría por media hora y se filtró nuevamente obteniendo un sólido color crema, el cual tuvo un rendimiento experimental de 80.53% y un PF=180.5-181.7°C.

RMN 1H (600 MHz, CDCl₃-*d*) δ : 5.21 (s, H-10), 6.56 (d, H-3, *J*_{trans}=16.14), 6.97 (t, 2H, H-6), 7.32 (t, H-7), 7.42 (t, H-5), 7.5 (d, 2H, H-2', H-6' *J*_o=7.68), 7.53 (d, 2H, H-3', H-5' *J*_o=8.76), 7.56 (d, H-8, *J*_o=8.64), 7.58 (s, H-2''), 7.61 (t, H-5''), 7.63 (s, H-4''), 7.74 (d, H-3'' *J*_o=8.64), 8.15 (d, H-2, *J*_{trans}=16.14), 8.75 (-OH) ppm. **RMN 13C** (150 MHz, CDCl₃-*d*) δ : 70.1 (C-10), 111.4 (C-6''), 113 (C-5), 118.9 (C-3), 119.2 (C-11), 121.4 (C-6), 124 (C-4), 127.6 (2C, C-2', C-6'), 127.8 (2C, C-3', C-5'), 129.2 (C-7), 129.3 (C-2''), 130.3 (C-4'), 131.8 (C-8), 133.1 (C-5''), 133.9 (C-1''), 137.4 (C-3''), 138 (C-1'), 141.3 (C-2), 145.2 (C-4''), 157.5 (C-9), 172.5 (C=O) ppm.

EM-IM m/z (% int. rel.) 355 (M+), 207 (M-148).

11.3.4.- Síntesis del ácido-3-(2-(2-morfolinoetoxi)fenil)propenoico (**NAH-4**).

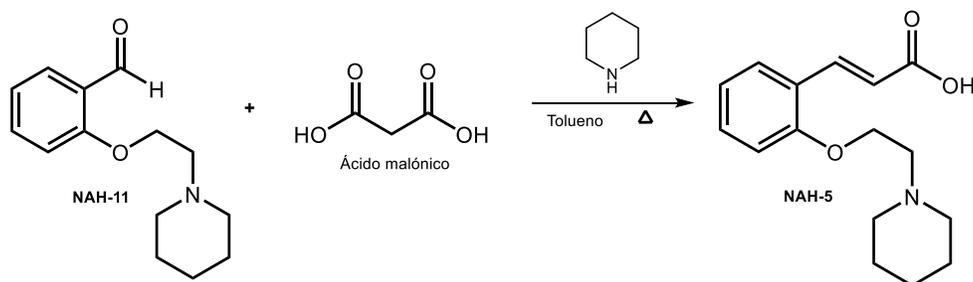


En un matraz de 10 mL se agregaron 0.153 g de **NAH-10** con 1.5 mL de tolueno y se colocó en agitación magnética a temperatura ambiente durante 5 minutos para la completa incorporación del precursor, posteriormente se agregaron 0.087 g (0.8 mmol, 1.2 eq.) de ácido malónico y 0.02 mL de piperidina (0.2 mmol, 0.3 eq., 0.0177 g, $\delta=0.862$ g/mL) a temperatura ambiente. Después de agregar todos los reactivos el matraz se colocó en un baño de aceite y se equipó con una trampa de Dean-Stark, a la cual se le agregó tolueno y se llevó a temperatura de reflujo. La reacción fue monitoreada mediante el sistema III y luego de 5 horas finalizó al consumirse completamente el reactivo limitante. El producto resultante se rotavaporó a sequedad y a temperatura ambiente se dejó 24 horas para que el tolueno se evaporara en totalidad, se obtuvo una resina amarillenta a la cual se le agregaron 2 mL de H₂O fría y se colocó en agitación en un baño de hielo para acidificar, el pH inicial fue de 7, por lo que lentamente se agregó HCl al 10% para llegar a un pH final entre 3 y 4, sin embargo esta vez no precipitó nada al llegar al pH deseado, por lo que se realizó una extracción con 5 mL de AcOEt por triplicado, posteriormente se rotavaporó el AcOEt y de nuevo resultó una resina amarilla, se disolvió con hexano y posteriormente con acetona pero no precipitó nada, por lo que se rotavaporó la acetona y se obtuvo nuevamente la resina amarilla la cual tuvo un rendimiento experimental de 71.27%.

RMN 1H (600 MHz, CDCl₃-*d*) δ : 2.72 (t, 2H, H-2', H-6'), 2.97 (t, H-8), 3.78 (t, 2H, H-3', H-5'), 4.21 (t, H-7), 6.48 (d, H-3, *J*_{trans}=16.14), 6.89 (d, HA-2, *J*_o=7.32), 6.96 (t, HA-3), 7.32 (td, HA-4), 7.5 (dd, HA-5), 8.01 (d, H-2, *J*_{trans}= 16.14) ppm.

RMN 13C (150 MHz, CDCl₃-*d*) δ : 53.8 (2C, C-2', C-6'), 65.5 (2C, C-3', C-5'), 112.3 (C-5), 119.3 (C-3), 121.3 (CA-3), 123.8 (CA-1), 129.1 (C-4), 131.7 (CA-2), 140.8 (C-2), 157.5 (C-6), 171.2 (C=O) ppm.

11.3.5.- Síntesis del ácido-3-(2-(2-(piperidin-1-il)etoxi)fenil)propenoico (**NAH-5**).

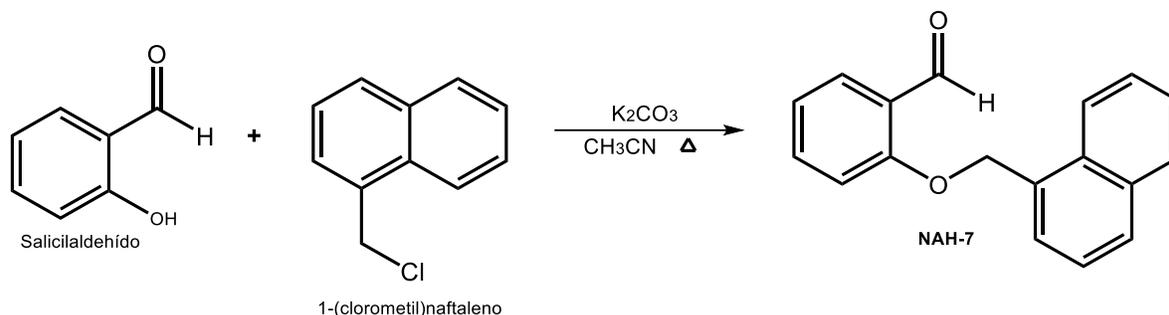


En un matraz de 10 mL, el cual contiene 0.133 g del precursor **NAH-11** se agregaron 1.5 mL de tolueno y se colocó en agitación magnética a temperatura ambiente durante 5 minutos para la completa incorporación del precursor, posteriormente se agregaron 0.071 g (0.7 mmol, 1.2 eq.) de ácido malónico y 0.017 mL de piperidina (0.17 mmol, 0.3 eq., 0.0146 g, $\delta=0.862$ g/mL) a temperatura ambiente. Se agregaron todos los reactivos dentro del matraz y este se colocó en un baño de aceite y se equipó con una trampa de Dean-Stark, a la cual se le agregó tolueno y se llevó a temperatura de reflujo. Se monitoreó mediante el sistema IV y luego de 4 horas la reacción finalizó al consumirse en totalidad el reactivo limitante. El producto resultante se rotavaporó a sequedad y se dejaron pasar 24 horas a temperatura ambiente para dejar que el tolueno se evaporara en totalidad, se obtuvo una resina amarillenta a la cual se le agregaron 2 mL de H₂O fría y se colocó en agitación en un baño de hielo para acidificar, el pH inicial fue de 7, por lo que lentamente se agregó HCl al 10% para llegar a un pH final entre 3 y 4, sin embargo esta vez no precipitó nada al llegar al pH deseado, por lo que se realizó una extracción con 5 mL de AcOEt por triplicado, posteriormente, se observó que el compuesto se quedaba en la fase acuosa por lo que se rotavaporó en totalidad el H₂O y se dejó secar durante 48 horas. Pasado este tiempo se observó un sólido amarillo en el matraz el cual se raspó y se le hizo un repulpe con 5 mL de acetona fría por 30 minutos. Se filtró el sólido resultante, el cual tuvo un rendimiento experimental de 53.53% y un PF=175.2-179.8°C.

RMN 1H (600 MHz, DMSO) δ : 1.39 (m, H-4'), 1.68 (m, 2H, H-3', H-5'), 1.82 (m, 2H, H-2', H-6'), 3.05 (t, H-8), 4.53 (t, H-7), 6.53 (d, H-3, $J_{trans}=16.14$), 7.03 (t, HA-3), 7.14 (d, HA-5, $J_o=8.43$), 7.42 (t, HA-4), 7.71 (d, HA-2, $J_o=7.86$), 7.84 (d, H-2, $J_{trans}=16.08$), 11.05 (s, OH) ppm. **RMN 13C** (150 MHz, DMSO) δ : 21.6 (C-4'), 22.7 (2C, C-3', C-5'), 53.0 (2C, C-2, C-6'), 54.9 (C-8), 63.5 (C-7), 113.2 (CA-5), 120.2 (C-3), 122.0 (CA-3), 123.2 (CA-1), 128.7 (CA-4), 132.2 (CA-2), 138.7 (C-2), 156.3 (CA-6), 168.1 (C=O) ppm. **EM-IM m/z** (% int. rel.) 275 (M+), 98.1 (M-177, 100).

11.4.- Síntesis de los compuestos precursores NAH 7-11.

11.4.1.- Síntesis del 2-(naftalen-1-ilmetoxi)benzaldehído (NAH-7).



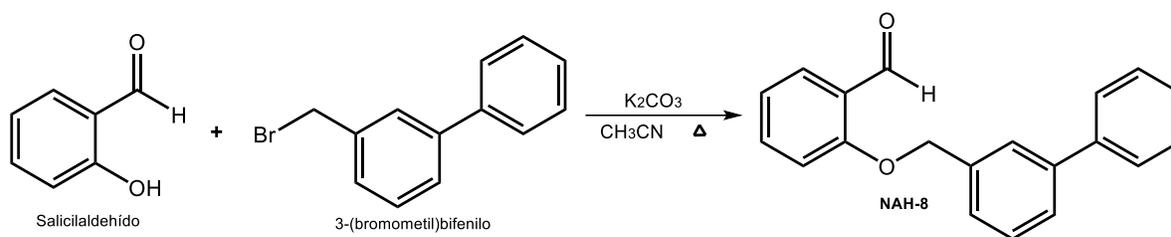
En un matraz de 25 mL previamente envuelto en papel aluminio para proteger de fotooxidación, se agregaron 2 mL de CH_3CN con 0.85 mL de salicilaldehído (0.0081 mol, 1g, $\delta=1.166$ g/mL), se dejó agitar durante 10 minutos a temperatura ambiente y se agregaron 2.8 g de K_2CO_3 (0.02 mol, 2.5 eq.) previamente disueltos en 0.5 mL de H_2O , la mezcla se dejó agitar durante 40 minutos a temperatura ambiente. Pasado este tiempo, se agregaron 1.28 g del 1-(clorometil)naftaleno (0.0073 mol, 0.9 eq; aunque posteriormente se agregaron 0.2 eq. más), el matr az se colocó en un baño de aceite y se le colocó un refrigerante para llevar la reacción a temperatura de reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 17 horas. Una vez finalizada la reacción, se rotavaporó el disolvente y se agregaron 10 mL de H_2O fría y se colocó en agitación magnética durante media hora, luego de esto se filtró el sólido resultante y se dejó a sequedad durante 48 horas. Pasado este tiempo, se realizó un repulpe con 10 mL de H_2O fría y se dejó secar el sólido por 48 horas nuevamente. El rendimiento obtenido fue del 96.75% con un PF= 83.3-84.7 C, el sistema de fase móvil utilizado para el monitoreo de esta reacción fue el II.

RMN 1H (600 MHz, CDCl_3 -*d*) δ : 5.6 (s, H-8), 7.05 (t, H-4), 7.18 (d, H-6, $J_o=8.4$), 7.47 (t, H-3'), 7.53 (m, 3H, H-5, H-2', H-7'), 7.59 (d, H-4', $J_o=6.96$), 7.86 (d, $J_o=7.56$, 2 H, H-3, H-4'), 7.89 (dd, $J_m=1.56$, $J_o=7.98$, H-5'), 8.02 (d, $J_o=9.36$, H-8'), 10.45 (CHO) ppm.

RMN 13C (150 MHz, CDCl_3 -*d*) δ : 69.5 (C-8), 113.3 (C-6), 121.4 (C-4), 123.6 (C-8'), 125.5 (2C, C-6', C-7'), 125.6 (C-4a), 126.3 (C-3'), 126.8 (C-2'), 126.9 (C-4'), 128.7 (C-2), 129.1 (C-5'), 129.6 (C-3), 131.6 (C-8a), 134 (C-5), 136.1 (C-1'), 190 (CHO) ppm.

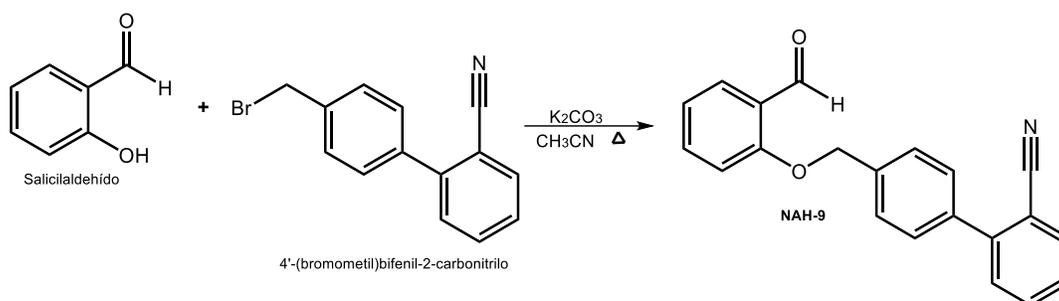
EM-IM m/z (% int. rel.) 262.1 (M+), 141.1 (M-121.03), 115.1 (M-147.05).

11.4.2.- Síntesis del 2-([1,1'-bifenil]-3-ilmetoxi)benzaldehído (**NAH-8**).



En un matraz de 10 mL previamente recubierto con papel aluminio para proteger de fotooxidación se agregó 1 mL de CH₃CN con 0.086 mL de salicilaldehído (0.82 mmol, 0.1g, $\delta=1.166\text{g/mL}$), dejando agitar durante 10 minutos, después de este tiempo se agregaron 0.28g de K₂CO₃ (0.002 mol, 2.5 eq.), previamente disuelto en 6-8 gotas de H₂O y se dejó agitar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se agregaron 0.182 g del 3-(bromometil)bifenilo (0.74 mmol, 0.9 eq.), el matraz se colocó en un baño de aceite con un refrigerante y se subió la temperatura para llevar la reacción a condiciones de reflujo en atmósfera de nitrógeno. La reacción finalizó en 13 horas y se rotavaporaron 3/4 del disolvente, posterior a esto se agregaron 2 mL de H₂O fría y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante media hora, pasado este tiempo, se observó la formación de una resina, por lo que se realizó una extracción con 5 mL AcOEt, por triplicado, la fase orgánica se rotavaporó y se dejó durante 12 horas a sequedad. Pasado este tiempo se tomó placa de la resina resultante y se observó una sola mancha. El sistema de elución utilizado fue el IV y el rendimiento fue de 70.33%.

11.4.3.- Síntesis del 4'-((fenoxiformil)metil)-[1,1'-bifenil]-2-carbonitrilo (NAH-9).

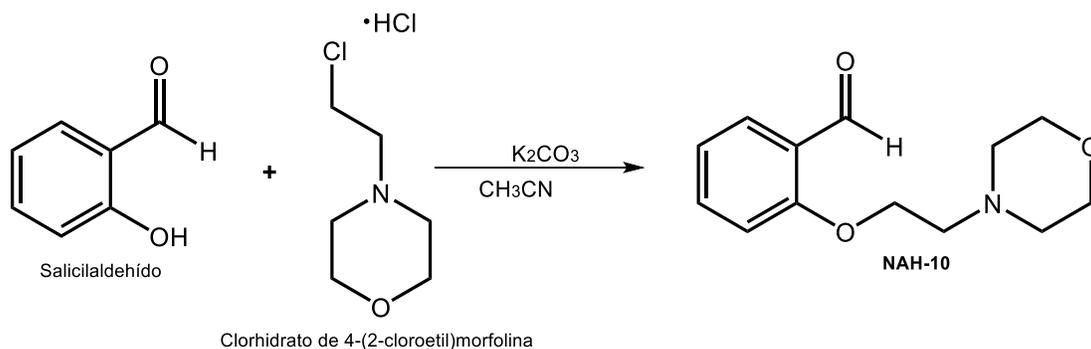


En un matraz bola de 10 mL previamente envuelto en papel aluminio para proteger de fotooxidación, se agregó 1 mL de CH_3CN con 0.086 mL de salicilaldehído (0.82 mmol, 0.1g, $\delta=1.166\text{g/mL}$), dejando agitar durante 10 minutos, pasado este tiempo se agregaron 0.28g de K_2CO_3 (0.002 mol, 2.5 eq.), previamente disuelto en 6-8 gotas de H_2O y se dejó agitar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se agregaron 0.2 g del 4'-(bromometil)bifenil-2-carbonitrilo (0.73 mmol, 0.9 eq.) y el matraz con un refrigerante se colocó en un baño de aceite, se aumentó la temperatura para llevar la reacción a condiciones de reflujo en atmósfera de nitrógeno. Luego de 8 horas, la reacción finalizó y se rotavaporó el disolvente a sequedad, posterior a esto se agregaron 2 mL de H_2O fría y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante media hora, pasado este tiempo, el sólido resultante se filtró y se dejó a sequedad durante 24 horas. Una vez el compuesto seco en totalidad, se realizó un repulpe para su purificación utilizando 2 mL de H_2O fría nuevamente, se filtró y se dejó a sequedad. El rendimiento fue de 80.54% y el PF= 176.6-178.6°C, se utilizó el sistema IV para el monitoreo de esta reacción.

RMN 1H (600 MHz, CDCl_3-d) δ : 5.27 (s, H-8), 7.08 (t, H-4), 7.45 (t, H-3), 7.53 (dd, 2H, H-2', H-6', $J_m=1.62$, $J_o=7.8$), 7.57 (t, H-5), 7.58 (d, 2H, H-3', H-5' $J_o=8.94$), 7.61 (d, H-4'), 7.62 (d, H-3'', $J_o=8.28$), 7.65 (m, H-6, $J_m=1.44$, $J_o=7.62$), 7.78 (dd, H-5', $J_m=1.38$, $J_o=7.8$), 10.60 (s, CHO) ppm.

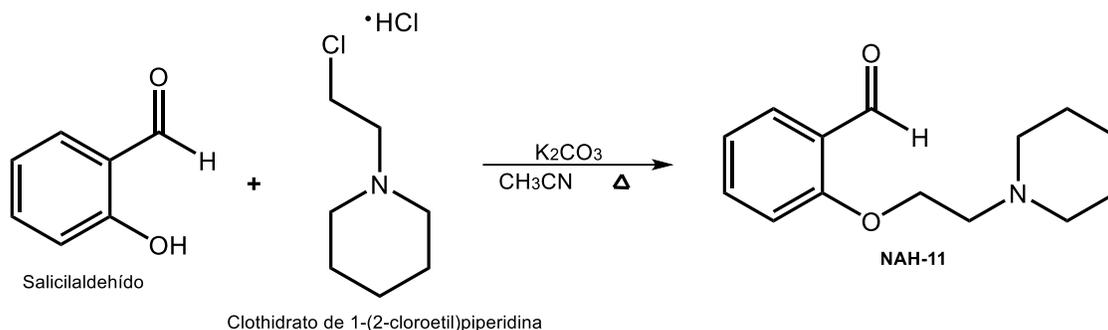
RMN 13C (150 MHz, CDCl_3-d) δ : 70.2 (C-8), 111.5 (C-6'), 113.2 (C-6), 118.9 (C-9), 121.4 (C-4), 125.4 (C-2''), 127.7 (C-2), 128 (C-4''), 128.9 (2C, C-3', C-5'), 129.4 (2C, C-2', C-6'), 130.3 (C-3), 133.1 (C-3''), 134 (C-5''), 136.2 (C-5), 136.9 (C-1'), 138.3 (C-4'), 145.1 (C-1''), 161.1 (C-7), 189.9 (CHO) ppm.

11.4.4.- Síntesis de la 2-(2-morfolinoetoxi)benzaldehído (**NAH-10**).



En un matraz de 10 mL, previamente recubierto con papel aluminio para proteger de fotooxidación se agregó 1 mL de CH_3CN con 0.086 mL de salicilaldehído (0.82 mmol, 0.1g, $\delta=1.166g/mL$), dejando agitar durante 10 minutos, después de este tiempo se agregaron 0.28g de K_2CO_3 (0.002 mol, 2.5 eq.), previamente disuelto en 6-8 gotas de H_2O y se dejó agitar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se agregaron 0.153 g de clorhidrato de 4-(2-cloroetil)-morfolina (0.82 mmol, 1 eq.), el matraz se colocó en un baño de aceite y se aumentó la temperatura para llevar la reacción a condiciones de reflujo en atmósfera de nitrógeno. La reacción finalizó en 11 horas y se rotavaporó a sequedad, posterior a esto se agregó 1 mL de acetona fría y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 20 minutos, pasado este tiempo, se observó la formación de un sólido café, por lo que se tomó placa del sólido y el líquido, se determinó que el compuesto de interés se encontraba en el líquido, por lo que la parte líquida fue filtrada de la sólida se separaron por filtración, posterior a esto se evaporó obteniendo una resina amarillenta, la cual se dejó a sequedad durante 24 horas. El sistema de elución utilizado fue el III y el rendimiento fue de 84.75%. Se tomó una muestra de la resina la cual se disolvió en tolueno, se tomó placa y se determinó que el compuesto seguía intacto por lo que se precedió a sintetizar el compuesto final **NAH-4**.

11.4.5.- Síntesis del 2-(2-(piperidin-1-il)etoxi)benzaldehído (NAH-11).



En un matraz de 10 mL cubierto en aluminio para proteger de fotooxidación, se agregó 1 mL de CH_3CN con 0.086 mL de salicilaldehído (0.82 mmol, 0.1g, $\delta=1.166\text{g/mL}$), dejando agitar durante 10 minutos, después de este tiempo se agregaron 0.28g de K_2CO_3 (0.002 mol, 2.5 eq.), previamente disuelto en 6-8 gotas de H_2O y se dejó agitar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se agregaron 0.166 g del clorhidrato de 1-(2-cloroetil)piperidina (0.9 mmol, 1.1 eq.), el matraz se colocó en un baño de aceite con un refrigerante y se aumentó la temperatura para llevar la reacción a condiciones de reflujo en atmósfera de nitrógeno. La reacción finalizó en 17 horas, el disolvente se rotavaporó a sequedad agregando 2 mL de H_2O fría después, posteriormente se dejó en agitación a temperatura ambiente durante media hora, pasado este tiempo, se observó la formación de una resina, por lo que se realizó una extracción con 5 mL AcOEt por triplicado, sin embargo, el compuesto no se detectaba en el acetato, si no en el agua, por lo que se rotavaporó el agua y se dejó secar durante 72 horas la resina resultante. El sistema de elución utilizado fue el III y el rendimiento fue de 70.68%.

12.- ANEXOS

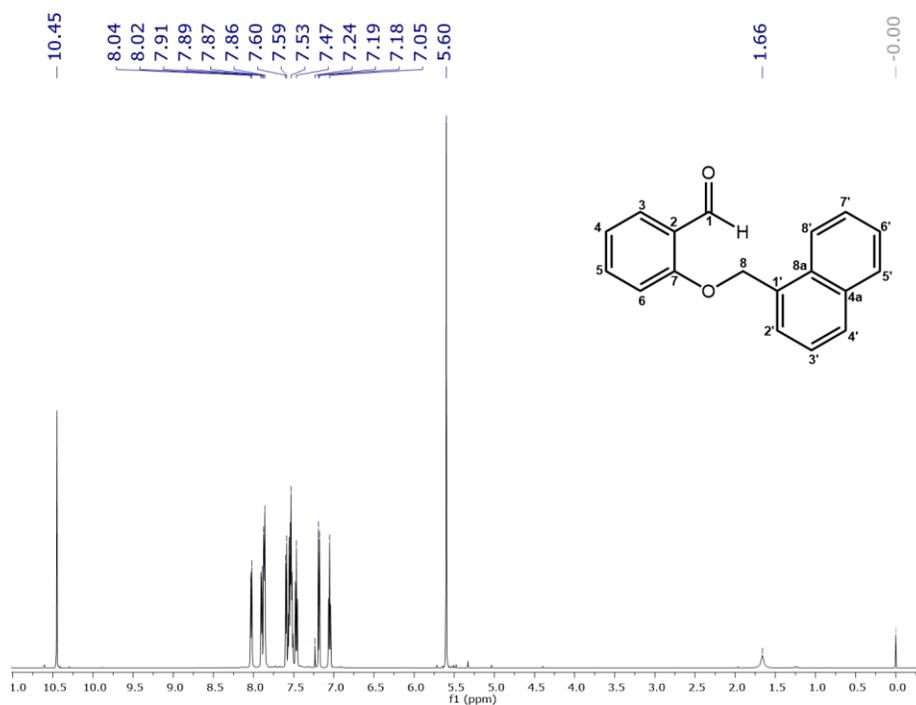


Figura 54: Espectro de RMN ^1H del compuesto precursor NAH-7.

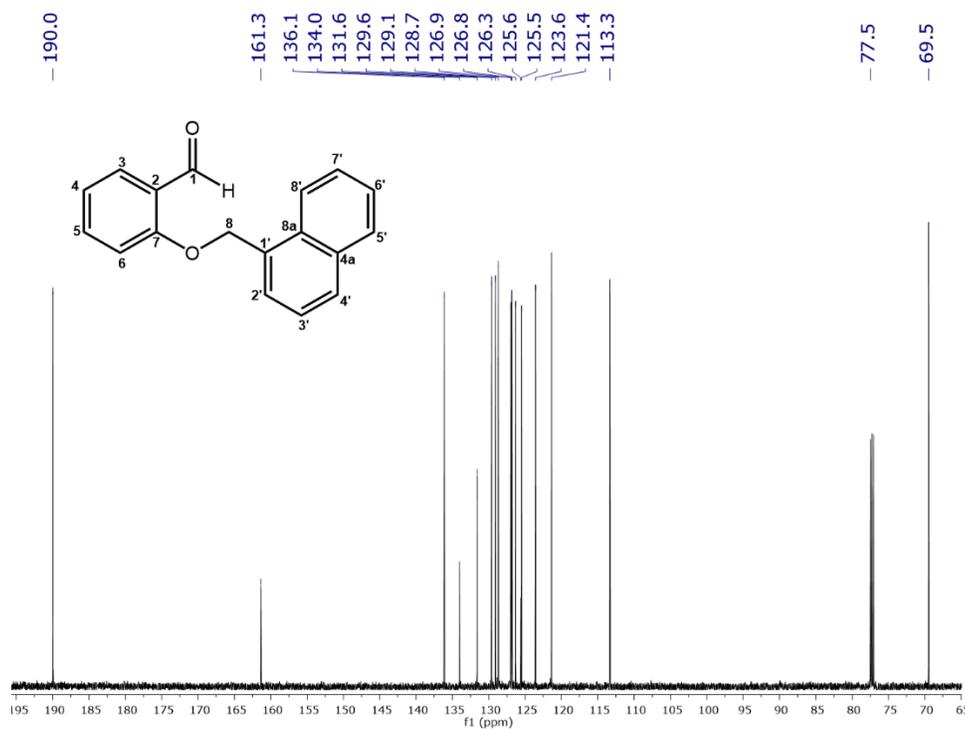


Figura 55: Espectro de RMN ^{13}C del precursor NAH-7.

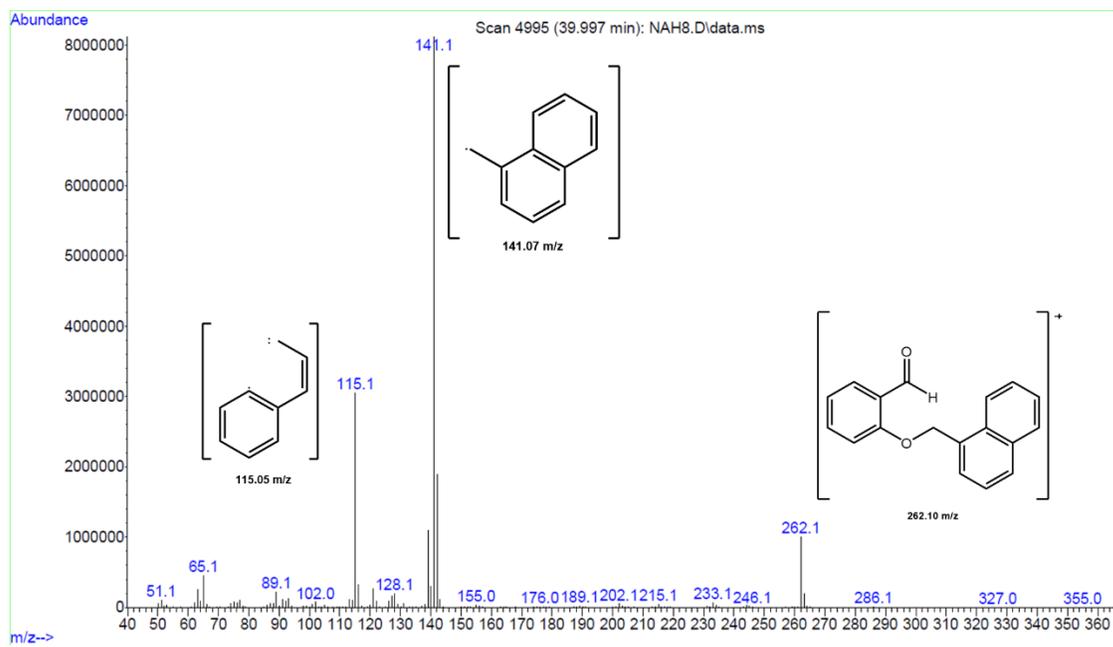


Figura 56: Espectro de masas del compuesto NAH-7.

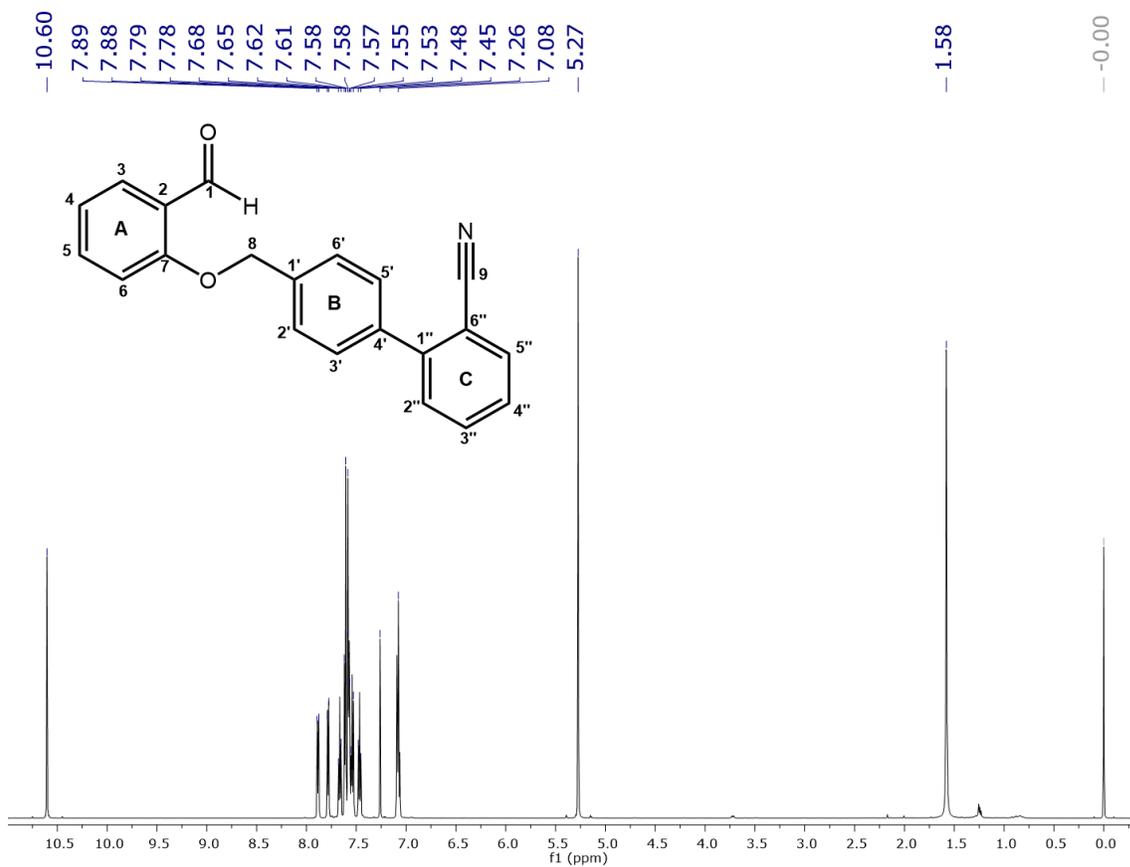


Figura 57: Espectro de RMN ^1H del precursor NAH-9.

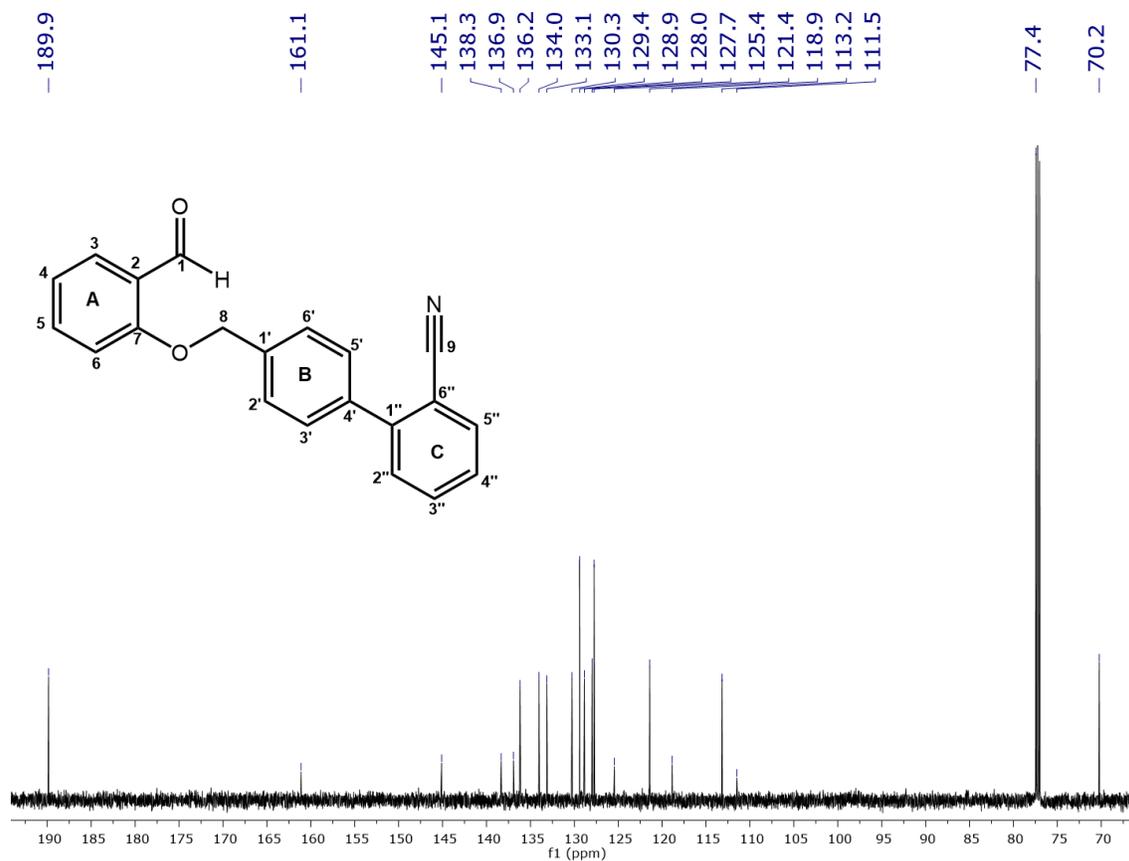


Figura 58: Espectro de RMN ^{13}C del precursor NAH-9.

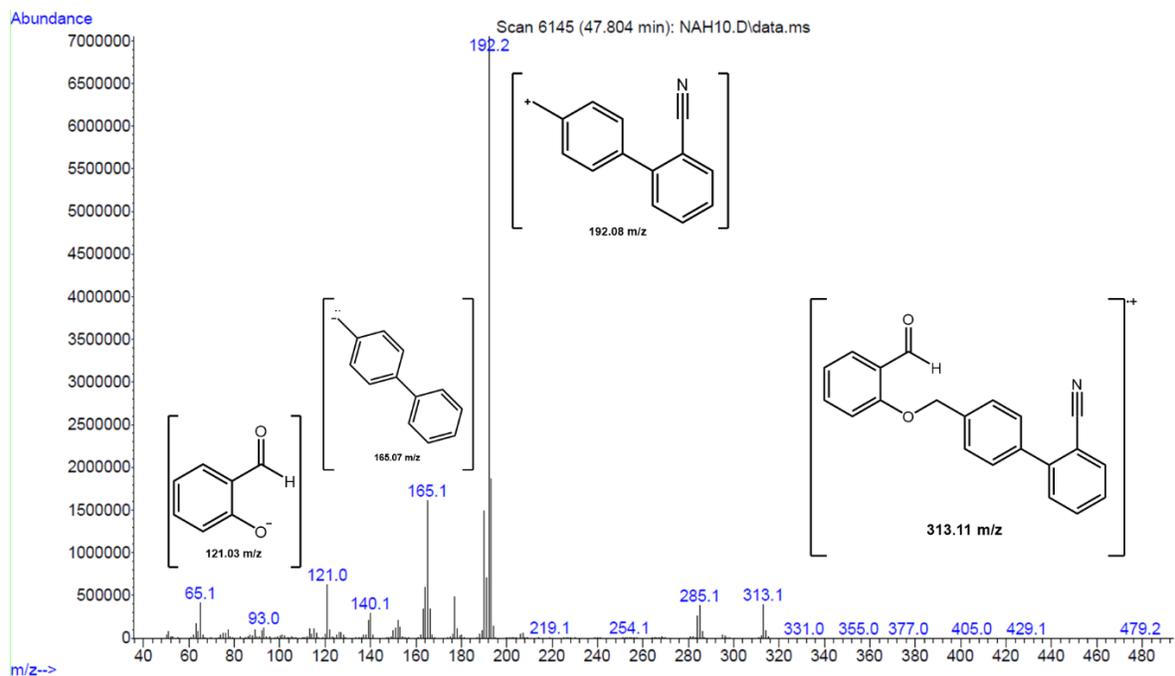


Figura 59: Espectro de masas del precursor NAH-9.

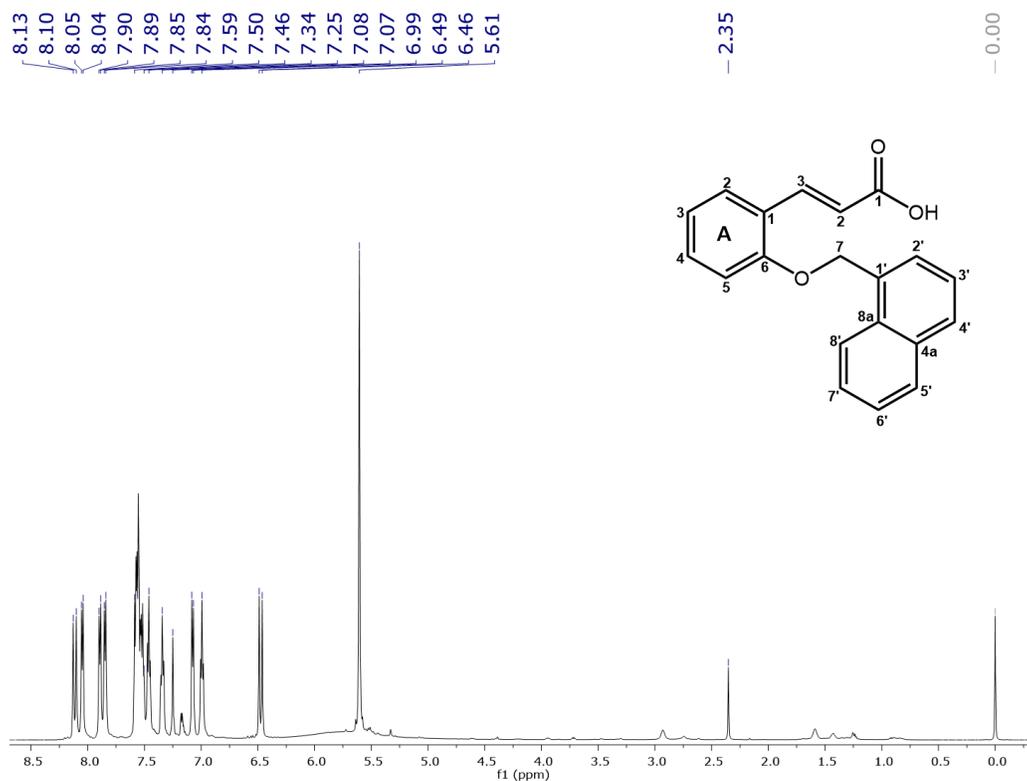


Figura 60: Espectro de RMN ^1H del compuesto final NAH-1.

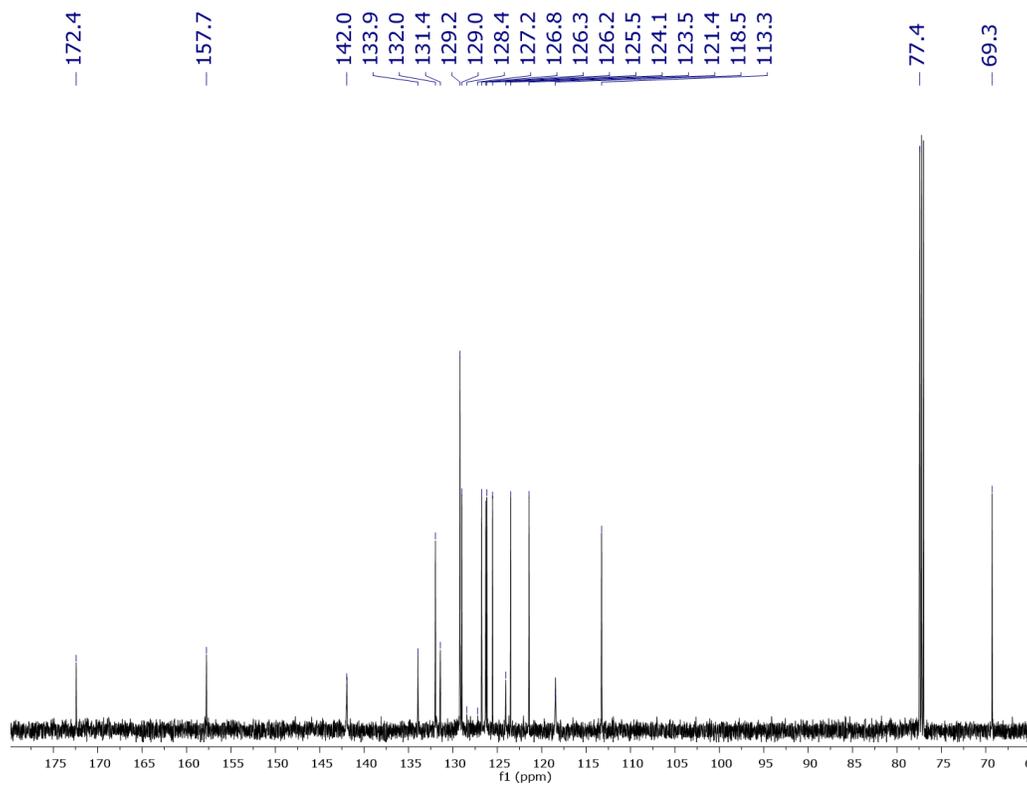


Figura 61: Espectro de RMN ^{13}C del compuesto final NAH-1.

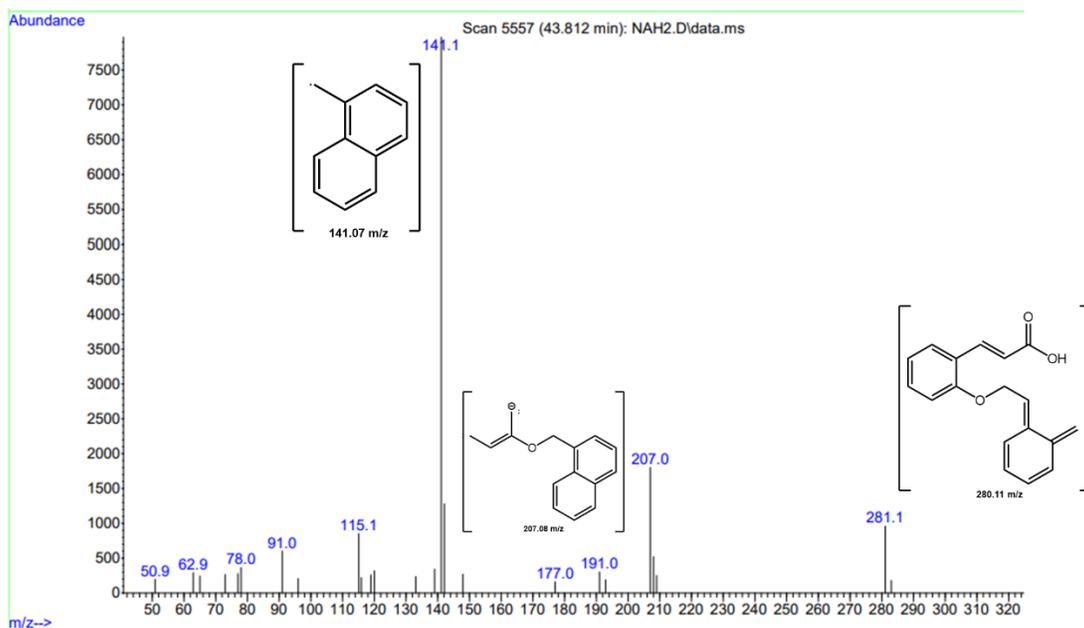


Figura 62: Espectro de masas del compuesto final NAH-1.

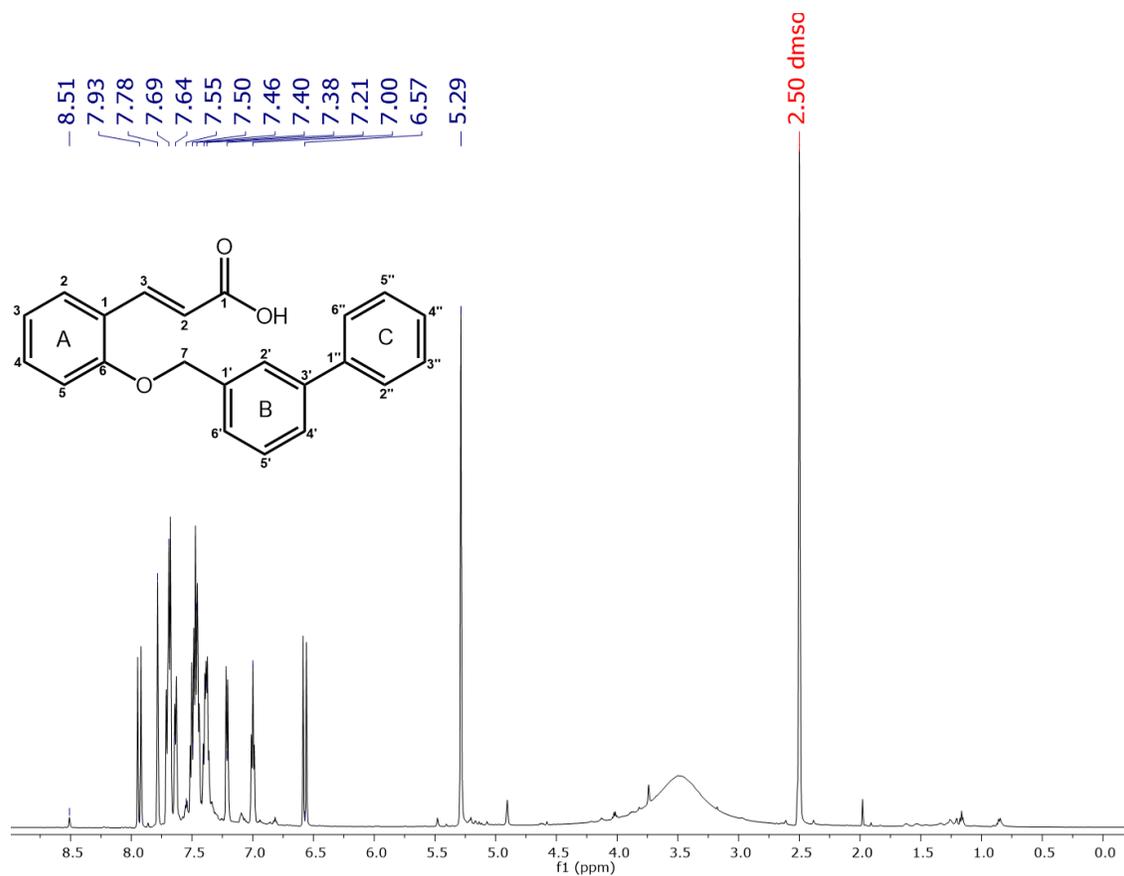


Figura 63: Espectro de RMN ^1H del compuesto final NAH-2.

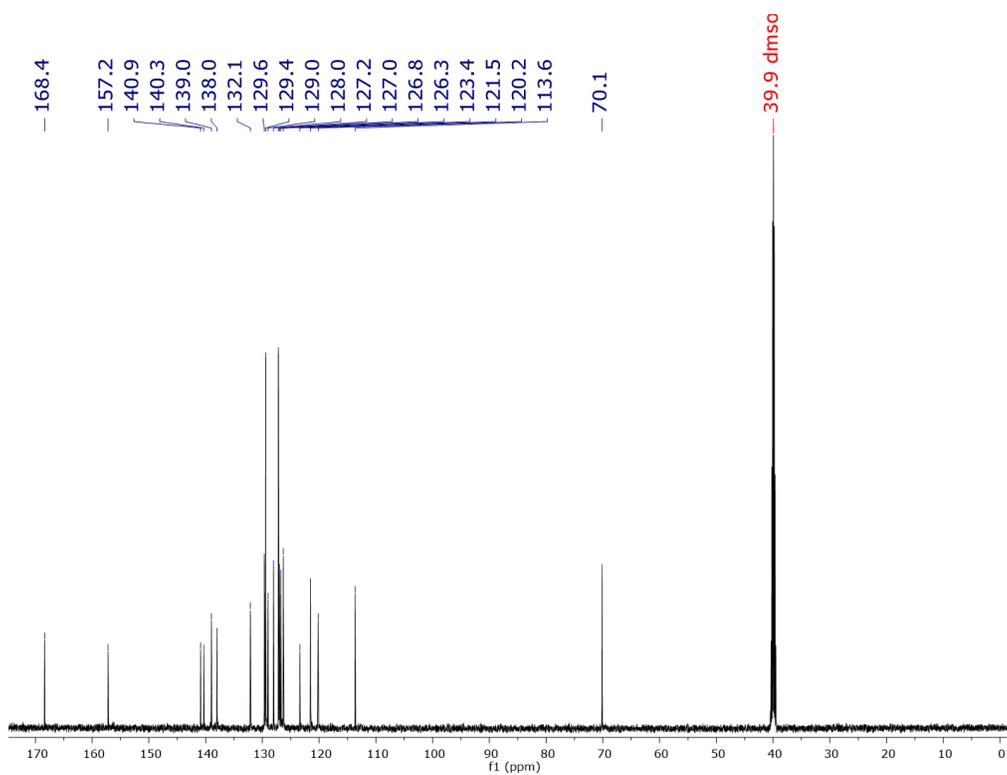


Figura 64: Espectro de RMN ^{13}C del compuesto final NAH-2.

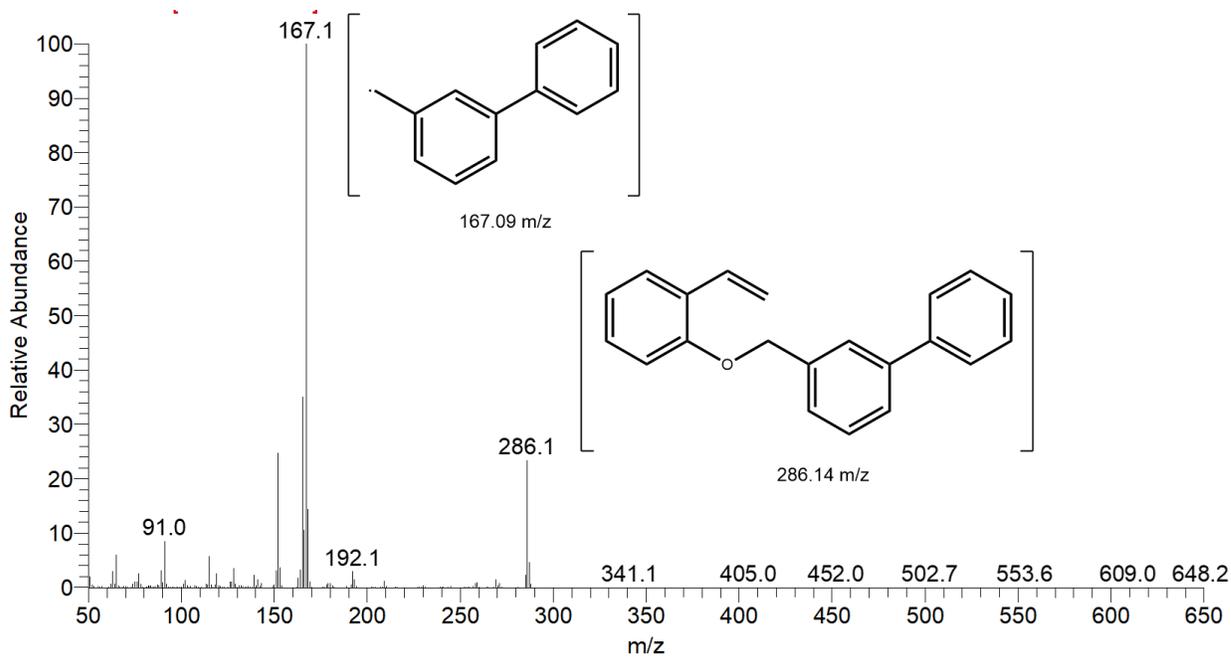


Figura 65: Espectro de masas del compuesto final NAH-2.

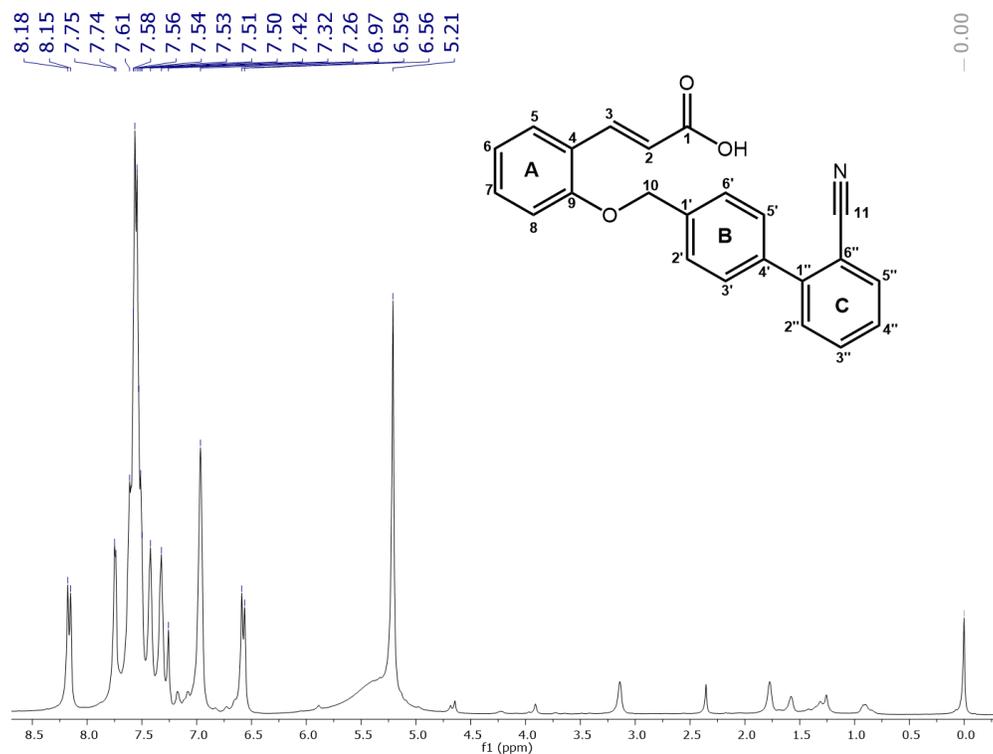


Figura 66: Espectro de RMN ^1H del compuesto final NAH-3.

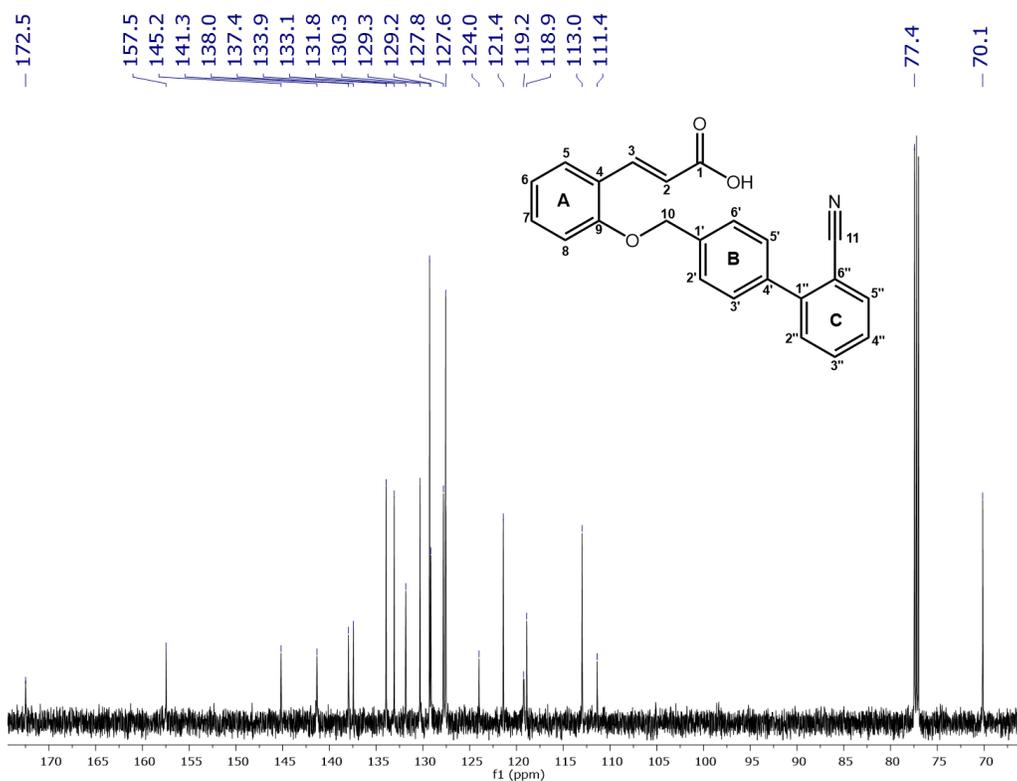


Figura 67: Espectro de RMN ^{13}C del compuesto final NAH-3.

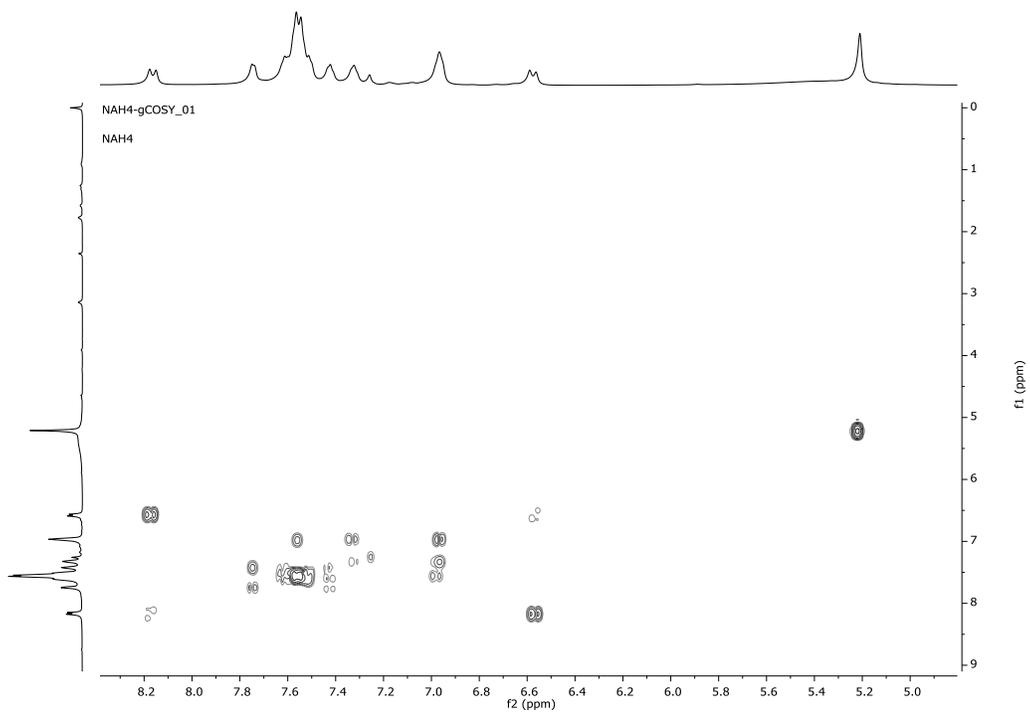


Figura 68: Espectro 2D COSY del compuesto final NAH-3.

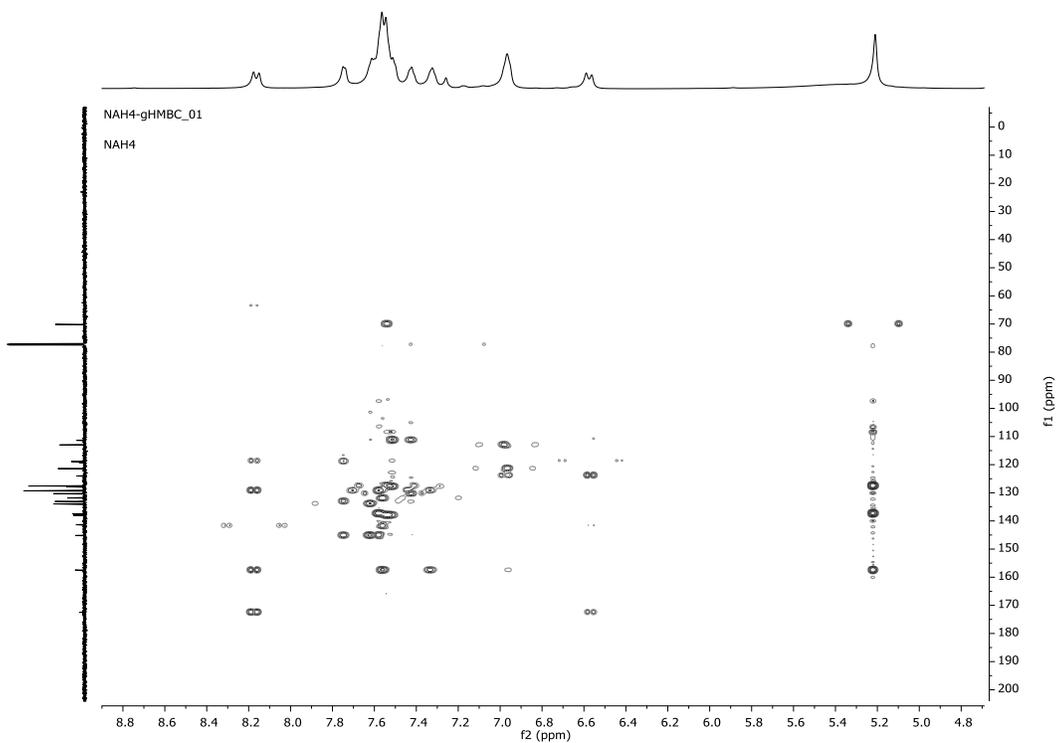


Figura 69: Espectro 2D HMBC del compuesto final NAH-3.

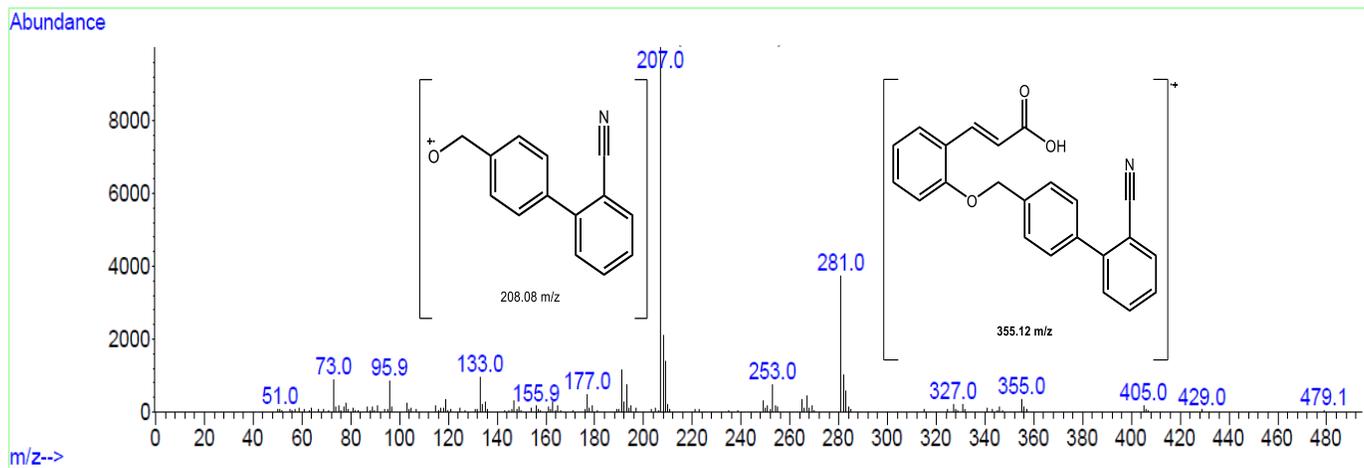


Figura 70: Espectro de masas del compuesto final NAH-3.

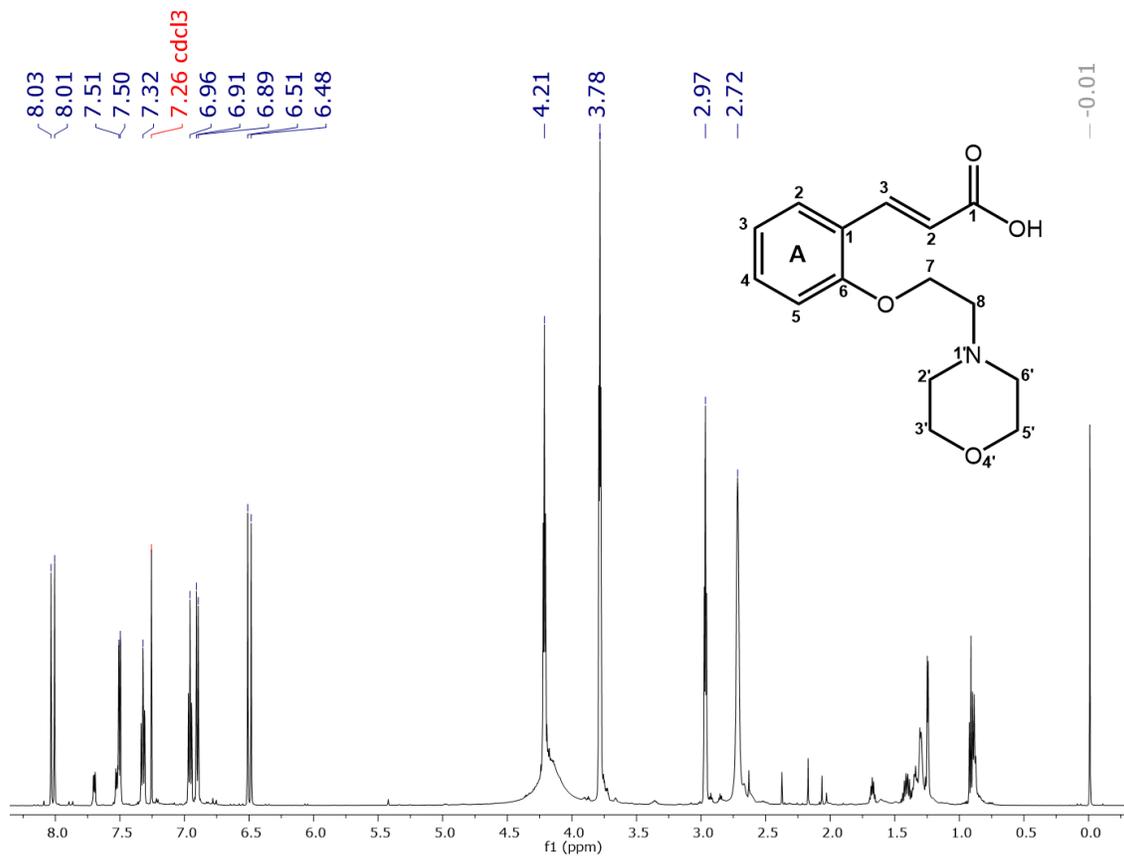


Figura 71: Espectro de RMN de ^1H del compuesto final NAH-4.

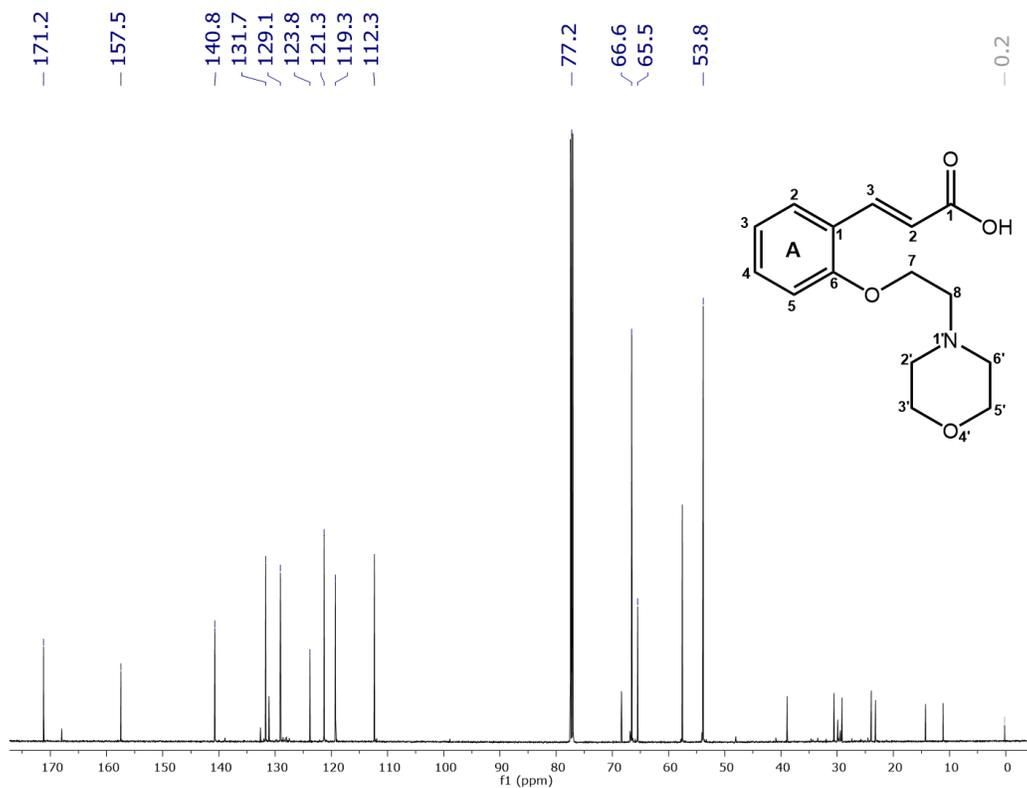


Figura 72: Espectro de RMN de ¹³C del compuesto final NAH-4.

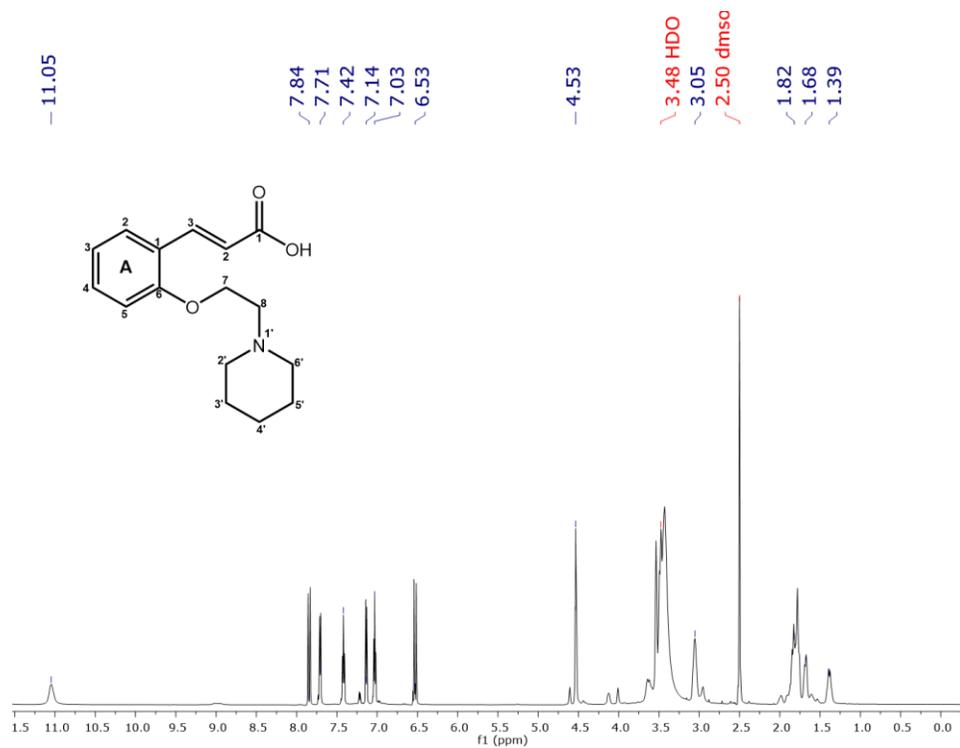


Figura 73: Espectro de RMN ¹H del compuesto final NAH-5.

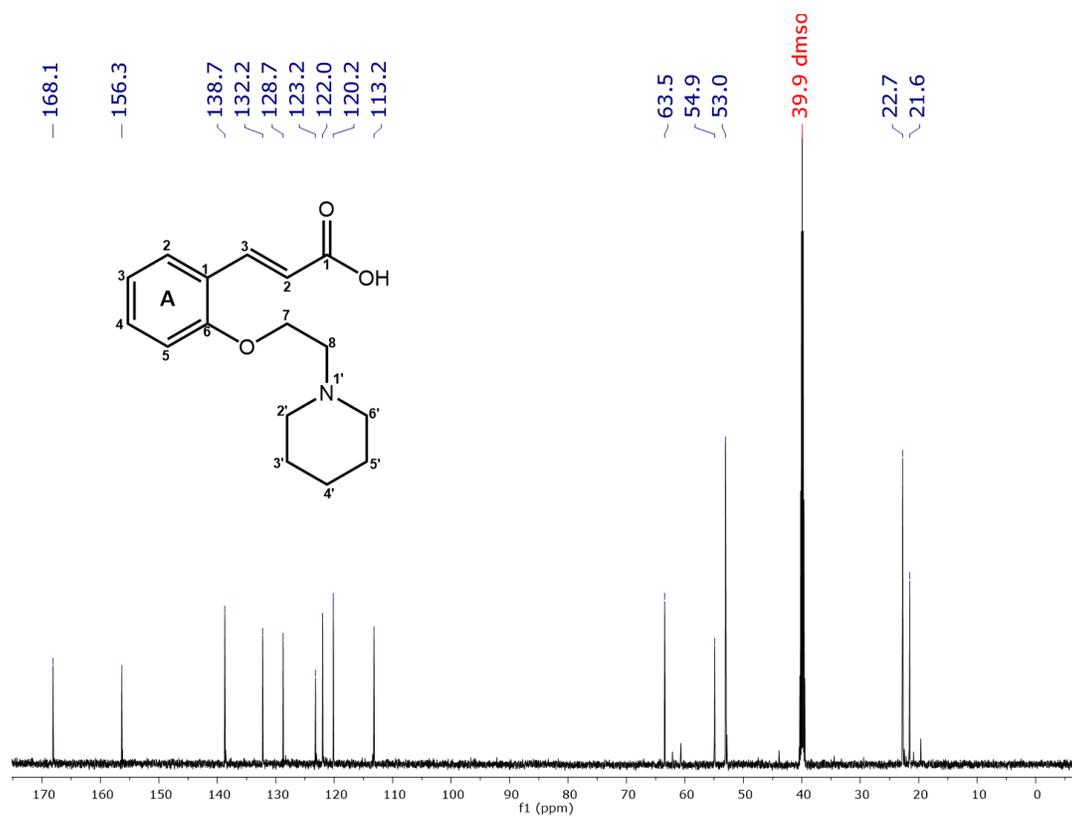


Figura 74: Espectro de RMN ^{13}C del compuesto final NAH-5.

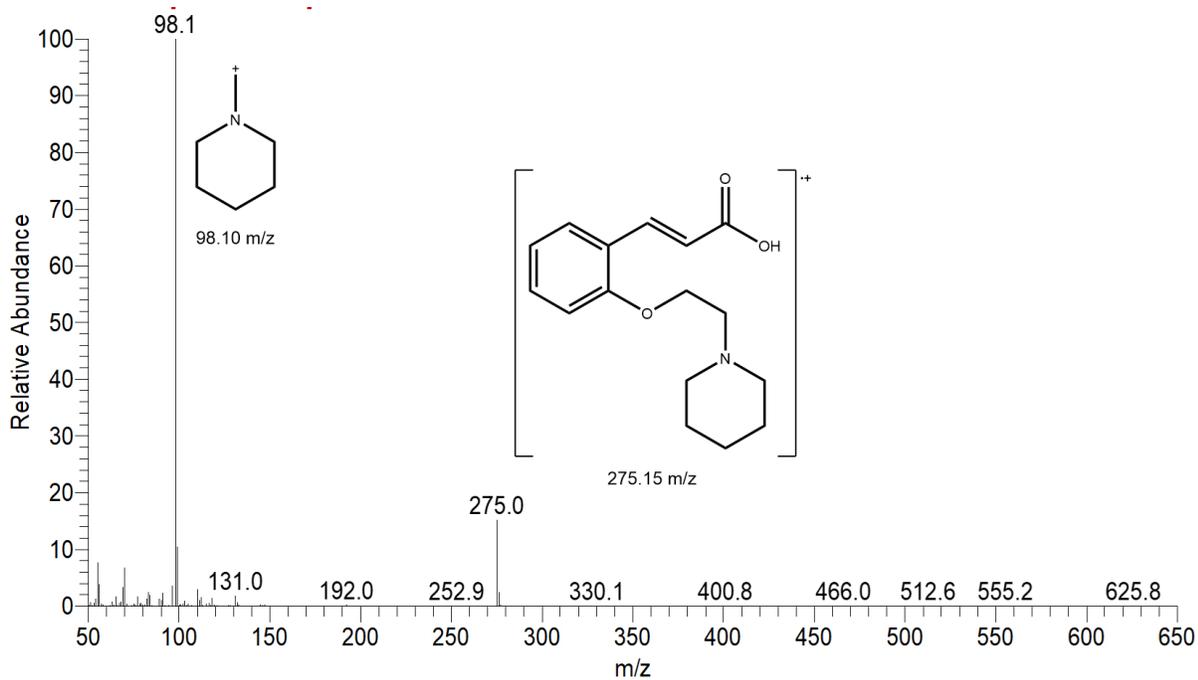


Figura 75: Espectro de masas del compuesto final NAH-5.

13.- REFERENCIAS

- 1- Organización Panamericana de la Salud. Disponible en internet: <https://www.paho.org/es/temas/enfermedades-no-transmisibles>. Fecha de consulta: 01-06-2022.
- 2.- Jiangman L., Guangping L., Jingshan S. Epigenetic Regulation of PDX-1 in Type 2 Diabetes Mellitus. *DIABET METAB SYND OB: Targets and Therapy*. **2021**, 14, 431–442.
- 3.- International Diabetes Federation. Disponible en internet: <https://idf.org/aboutdiabetes/type-2-diabetes.html>. Fecha de consulta 05-11-2020.
- 4.- Barba. J.R. México y el reto de las enfermedades crónicas no transmisibles. EL laboratorio también juega un papel importante. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab*. **2018**, 65 (1), 4-17.
- 5.- World Health Organization. Disponible en internet: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>. Fecha de consulta: 26-03-21
- 6.- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Disponible en internet: https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2022/dr/dr2021_07.pdf. Fecha de consulta: 22-ago-22.
- 7.- Colín-Lozano, B., Estrada-Soto, S., Chávez-Silva, F., Gutiérrez-Hernández, A., Navarrete-Vázquez, G. Design, Synthesis and in Combo Antidiabetic Bioevaluation of Multitarget Phenylpropanoic Acids. *Molecules*, **2018**, 23 (2), 340.
- 8.- Meegalla, K. S., Huang, H., Martin, T. Discovery of a novel potent GPR40 full agonist. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. **2018**, 28, 720-726.
- 9.- Goodman, S.L., Gilman, A. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. McGraw-Hill 12° edición, **2012**, 43, 1259.
- 10.- Rangwala, S. M., Lazar, M. A. Peroxisome proliferator-activated receptor γ in diabetes and metabolism. *TIPS*, **2004**, 25(6), 331–336.
- 11.- Holt, R.I., Cockram, C., Flyvbjerg, A., Goldstein, B. J. *Textbook of diabetes*. WILEY-BLACKWELL 4° edición, **2010**, 2, 26.
- 12.- Roep, B.O., Thomaidou, S., Tienhoven, R., Zaldumbide, A. Type 1 diabetes mellitus as a disease of the β - cell (do not blame the immune system?) *Nat. Rev. Endocrinol*. **2021**, 17, 150-161.
- 13.- DiMeglio, L. A., Evans-Molina C., Oram, R. A. Type 1 diabetes. *Lancet*. **2018**, 391, 2449–62.
- 14.- Roden, M., Shulman, G.I. The integrative biology of type 2 diabetes. *Nature*. **2019**, 576, 51–60.
- 15.- Veelen, A., Erazo-Tapia, E., Oscarsson, J., Schrauwen, P. Type 2 diabetes subgroups and potential medication strategies in relation to effects on insulin resistance and beta-cell function: A step toward personalised diabetes treatment? *Mol. Metab*. **2021**, 46.
- 16.- Welch, A., Vella, A. What is type 2 diabetes? *Medicine*. **2022**.

- 17.- Sanzana, M. G., Durruty, P. otros tipos específicos de diabetes mellitus. *Rev. Med. Clin. Condes.* **2016**, 27 (2), 160-170.
- 18.- Secretaría de Salud. *norma oficial mexicana nom-015-ssa2-2010, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus*; México, **2015**.
- 19.- Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes. *ADA.* **2020**, 43 (1), S14-S31.
- 20.- Katzung, B. G. *Farmacología básica y clínica*. McGraw-Hill 14ª edición, **2019**, 41, 747.
- 21.- Vasiljević, J., Torkko, J. M., Knoch, K. P., Solimena, M. The making of insulin in health and disease. *Diabetologia.* **2020**, 63,1981–1989.
- 22.- Petersen, M. C., Shulman, G. I. mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiol. Rev.* **2018**, 98, 2133–2223.
- 23.- Vázquez-Jiménez, J. G., Roura-Guiberna, A., Jiménez-Mena, L. R., Olivares-Reyes, J. A. El papel de los ácidos grasos libres en la resistencia a la insulina. *Gac. Med. Mex.* **2017**,153:852-863.
- 24.- Ramírez-Velasco, D. H., Elizalde-Barrera, C. A., López-Saucedo, C., Rubio-Guerra, A. F., Estrada-García, T. La importancia de llamarse insulina... En la diabetes tipo 2. *Avance y Perspectiva.* **2019**, (2), 5.
- 25.- González-Mujica, F. Resistencia a la insulina. *VITAE.* **2018**.
- 26.- Khalid, M.; Alkaabi, J.; Khan, M.A.B.; Adem, A. insulin signal transduction Perturbations in Insulin Resistance. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, 22, 8590.
- 27.- Gutiérrez-Hernández, A. A. Diseño, síntesis y evaluación in vitro e in silico de análogos de rivoglitazona como agonistas duales de PPAR- α/γ . Tesis de Licenciatura, Facultad de Farmacia, UAEM, **2015**.
- 28.- Vázquez-Jiménez, J.G., Roura-Guiberna, A., Jiménez-Mena, L. R., Olivares-Reyes, J. A. El papel de los ácidos grasos libres en la resistencia a la insulina. *Gac. Med. Mex.* **2017**,153:852-863.
- 29.- Méndez, Y.R., Barrera, M. C., Ruiz, M. A., Masmela, K. M., Parada, Y. A., Peña, C. A., Perdomo, C. M., Quintanilla, R. A., Ramirez, A. F., Villamil, E. S. Complicaciones agudas de la diabetes mellitus, visión práctica para el medico en urgencias: Revisión de tema. *Cuarzo.* **2018**, 24 (2) 27- 43.
- 30.- Umpierrez, G. E. Hyperglycemic Crises: diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar State. *J. Diabetes Complications.* **2018**, 1–21.
- 31.- Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes 2020. *Diabetes Care.* **2019**, 43(1), S98–S110.
- 32.- Graham, R., Grahame, H., Pearson, E. R. The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia.* **2017**, 60, 1577–1585.
- 33.- Goodarsi, M, O., Bryer-Ash, M. Metformin revisited: re-evaluation of its properties and role in the pharmacopoeia of modern antidiabetic agents. *Diabetes Obes Metab.* **2005**, 7 (6), 654-665.
- 34.- NCBI. Disponible en internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513225/>.

- 35.- Upadhyay, J., Stergios A. P., Perakakis, N., Thakkar, B., Paschoub, S. A., Katsiki, N., Underwooda P., Kyung-Hee P., Seufert, J., Kangg, E. S., Sternthal, E., Karagiannis, A., Mantzoros, C. S. Pharmacotherapy of type 2 diabetes: An update. *Metabolism*. **2018**, 78, 13-42.
- 36.- Contreras, F, Romero, B, Suárez, N, González, M, Fouillieux, C, Guevara, E, Betancourt, MC, Torres, D, & Velasco, M. Receptores Sur y Sulfonilureas en el tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2. *AVFT*. **2002**, 21(2), 148-155.
- 37.- Moreno-Pérez, O., Picó.-Alfonso, A., Revert-Marrahí, P., Martínez-Fuster, S. Glinidas. Revisión de su uso terapéutico en la diabetes mellitus tipo 2. *Endocrinología y Nutrición*. **2008**, 55, 26–33.
- 38.- Wei L., Xianqing W., Qian X., Wencong L. Mechanisms and Characteristics of Sulfonylureas and Glinides. *Curr. Top. Med. Chem*. **2020**, 20, 37-56.
- 39.- Goodman, S.L., Gilman, A. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. McGraw-Hill 12° edición, **2012**, 43, 1264.
- 40.- Derosa, G., Maffioli, P. α -Glucosidase inhibitors and their use in clinical practice. *AMS*. **2012**, 8 (5), 899 – 906.
- 41.- Ahrén, B. DPP-4 inhibitors. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab*. **2007**, 21(4), 517–533.
- 42.- Gallwitz B. Clinical Use of DPP-4 Inhibitors. *Front. Endocrinol*. **2019**, (10), 389.
- 43.- Pathak, R., Bridgeman, M. Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4) Inhibitors In the Management of Diabetes. *P & T: a peer-reviewed journal for formulary management*. **2010**, 35. 509-13.
- 44.- Dilip, S., Suril, V., Shivani, V., Kiran. K., Vinod., T. Recent updates on GLP-1 agonists: Current advancements & challenges. *Biomed. Pharmacother*. **2018**, 108. 952–962.
- 45.- Samms, R. J., Coghlan, M. P., Sloop, K. W. How May GIP Enhance the Therapeutic Efficacy of GLP-1. *Trends Endocrinol. Metab*. **2020**, 31 (6), 410-421.
- 46.- Tanis, S. P., Colca, J. R., Parker, T. T., D.Artman, G., Larsen, S. D., McDonald, W. G., Adams, W. J. PPAR γ -Sparing Thiazolidinediones as Insulin Sensitizers. Design, Synthesis and Selection of Compounds for Clinical Development. *Bioorg. Med. Chem*. **2018**, 26, 5870-5884.
- 47.- Moumita, N., Sayantan, N., Choudhury, Y. The impact of thiazolidinediones on the risk for prostate cancer in patients with type 2 diabetes mellitus: A review and meta-analysis. *Meta Gene*. **2021**, 27.
- 48.-Nanjan, M. J., Mohammed, M., Prashantha-Kumar, B. R., Chandrasekar, M. J. Thiazolidinediones as antidiabetic agents: A critical review. *Bioorg. Chem*. **2018**, 77, 548–567.
- 49.- Christofides, A., Konstantinidou, E., Chinmay J., Boussiotis, V. A. The role of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) in immune responses. *Metabolism*. **2021**, 144, 154338.
- 50.- Janani, C., Ranjitha-Kumari, B. D. PPAR gamma gene – A review. *Diabetes Metab. Syndr.: Clin. Res. Rev*. **2015**, 9(1), 46–50.
- 51.- Nagashree K.S., Praveen T.K., Rajini K. IDENTIFICATION OF NOVEL PPAR γ MODULATORS / PARTIAL AGONISTS THROUGH VIRTUAL SCREENING WORKFLOW. *Int. Res. J. Pharm*. **2019**, (11), 10.

- 52.- Sun, J., Liu, H. Y., Zhang, Y. H., Fang, Z. Y., Ly, P. C. Design, synthesis, and bioactivity evaluation of thiazolidinedione derivatives as partial agonists targeting PPAR γ . *Bioorg. Chem.* **2021**, 116, 105-342.
- 53.- Educational portal of Protein Data Bank. Disponible en internet: <https://pdb101.rcsb.org/global-health/diabetes-mellitus/drugs/thiazolidinedione/ppar-gamma>. Fecha de consulta: 09-10-22.
- 54.- Cheng, C., He, L., Ya-Qiu, L. GPR40 agonists for the treatment of type 2 diabetes mellitus: The biological characteristics and the chemical space. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, 26, 5603–5612.
- 55.- Burant, C. F. Activation of GPR40 as a Therapeutic Target for the Treatment of Type 2 Diabetes. *Diabetes care.* **2013**, 36 (2), 175-179.
- 56.- Governa, P., Caroleo, M. C., Carullo, G., Aiello, F., Cione, E., Manetti, F. FFAR1/GPR40: One target, different binding sites, many agonists, no drugs, but a continuous and unprofitable tug-of-war between ligand lipophilicity, activity and toxicity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2021**, 41, 127969.
- 57.- Srivastava, A., Yano, J., Hirozane, Y. et al. High-resolution structure of the human GPR40 receptor bound to allosteric agonist TAK-875. *Nature.* **2014**, 513, 124-127.
- 58.- Atanasio, S., Deganutti, G. & Reynolds, C. A. Addressing free fatty acid receptor 1 (FFAR1) activation using supervised molecular dynamics. *J. Comput. Aided Mol. Des.* **2020**, 34 (11), 1181–1193.
- 59.- Pachanski MJ, Kirkland ME, Kosinski DT, Mane J, Cheewatrakoolpong B, Xue J. GPR40 partial agonists and AgoPAMs: Differentiating effects on glucose and hormonal secretions in the rodent. *PLoS ONE.* **2017**, 12(10).
- 60.- Elsayed, R., Kamel, E., Mahmoud, A., El-Bassuony, A., Bin-Jumah, M., Lamsabhi, A., Ahmed, S. *Rumex dentatus* L. phenolics ameliorate hyperglycemia by modulating hepatic key enzymes of carbohydrate metabolism, oxidative stress and PPAR γ in diabetic rats. *FCT.* **2020**, 138.
- 61.- Adisakwattana, S. Cinnamic Acid and Its Derivatives: Mechanisms for Prevention and Management of Diabetes and Its Complications. *Nutrients.* **2017**, 9, 163.
- 62.- Bhavesh C., Variya Anita K., Bakrania Snehal S. P. Antidiabetic potential of gallic acid from *Embllica officinalis*: Improved glucose transporters and insulin sensitivity through PPAR- γ and Akt signaling. *Phytomedicine.* **2020**, 73.
- 63.- Derong L., Mengshi X., Jingjing Z., Zhuohao L., Baoshan X., Xindan L., Maozhu K., Liangyu L., Qing Z., Yaowen L., Hong C., Wen Q., Hejun W., Saiyan Chen. An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. *Molecules.* **2016**, 21, 1374.
- 64.- Venkatesan, A. Natesan, V., Arumugam, R. p-Coumaric acid regulates blood glucose and antioxidant levels in streptozotocin induced diabetic rats. *Jocpr.* **2015**, 7(7), 831-839.

- 65.- Domínguez-Mendoza, E.A.; Galván-Ciprés, Y.; Martínez-Miranda, J.; Miranda-González, C.; Colín-Lozano, B.; Hernández-Núñez, E.; Hernández-Bolio, G.I.; Palomino-Hernández, O.; Navarrete-Vazquez, G. Design, Synthesis, and In Silico Multitarget Pharmacological Simulations of Acid Bioisosteres with a Validated In Vivo Antihyperglycemic Effect. *Molecules*. **2021**, 26, 799.
- 66.- Delgado-Aguilar, T. SÍNTESIS Y EVALUACIÓN ANTIDIABÉTICA DE HIDANTOINAS Y BIOISÓSTEROS ÁCIDOS. Tesis de Maestría, Facultad de Farmacia, UAEM, **2019**.
- 67.- Rosales-Ortega, E. Síntesis, simulación computacional farmacodinámica y farmacocinética de bencilidiazolidindionas derivadas de vainillina. Tesis de Licenciatura, Facultad de Farmacia, UAEM, **2018**.
- 68.- Claverie-García, C. SÍNTESIS Y EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA DE ÁCIDOS 2-(2,4-DIOXOTIAZOLIDIN-3-IL) ACÉTICOS. Tesis de Maestría, Facultad de Farmacia, **2019**.
- 69.- Martínez-Miranda, J. Síntesis de derivados del ácido ferúlico afines *in silico* a múltiples dianas terapéuticas relacionadas en el abordaje experimental de la DM 2. Tesis de Licenciatura, Facultad de Farmacia, UAEM, **2018**.
- 70.- Filimonov, D. A., Lagunin, A. A., Glorizova, T. A., Rudik, A. V., Druzhilovskii, D. S., Pogodin, P. V., Poroikov, V. V. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the pass online web resource. *Chem. Heterocycl. Compounds*. **2014**, 50, 444-457.
- 71.- Antonie, D., Michielin, O., Zoete, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness friendliness of small molecules. *Sci Rep*. **2017**, 7.
- 72.- Xiong, G., Wu, Z., Yi, J., Fu, L., Yang, Z., et al. ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids Res*. **2021**, 49, w5-w14.
- 73.- Whitacre, D. M., Nigg, N. H., Doerge, D. R. Reviews of environmental contamination and toxicology. *Springer*. **2012**, 219, 67.
- 74.- Srivastava, R. Theoretical Studies on the Molecular Properties, Toxicity, and Biological Efficacy of 21 New Chemical Entities. *ACS Omega*. **2021**, 6, 24891-24901.
- 75.- Meenakshi, G., Ruchika, S., Anoop, K. Docking Techniques in Pharmacology: How Much Promising? *Comput Biol Chem*. **2018**, 76, 210-217.
- 76.- Pagadala, N. S., Syed, K., Tuszynski, J. Software for molecular docking: a review. *Biophys Rev*. **2017**, 9, 91-102.
- 77.- Giacomán-Martínez, A. "Extractos de Hibiscus sabdariffa L., Psacallum decompositum (A. Gray) H. Rob and Bretell y Tillandsia usneoides L. como posibles agonistas duales de PPAR's," Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, **2015**.
- 78.- Masiello, P. *Int. J. Biochem. Cell Biol*. **2006**, 38 (5-6), 873-893.

- 79.- Secretaría de Salud. *norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*; México, **2001**.
- 80.- Protti, Í. F., Rodrigues, D. R., Fonseca, S. K., Alves, R. J., Oliveira, R. B., & Maltarollo, V. G. *Do Drug-likeness Rules Apply to Oral Prodrugs?* *Chem Med Chem.* **2021**, 16(9), 1446–1456.
- 81.- Protein Data Bank. Disponible en internet: <https://www.rcsb.org/structure/4PHU>.
- 82.- Torres, P., Sodero, A., Jofily, P., Silva-Jr, F. Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, 20(18), 4574.
- 83.- Colín-Lozano, B. I. DISEÑO, SÍNTESIS Y BIOEVALUACIÓN ANTIDIABÉTICA *IN COMBO* DE BENCILIDEN-1,3-TIAZOLIDIN-2,4-DIONAS Y DERIVADOS DEL ÁCIDO FENILPROPANOICO, Tesis de Doctorado, Facultad de Farmacia, UAEM, **2018**.
- 84.- Protein Data Bank. Disponible en internet: <https://www.rcsb.org/structure/1I7I>.
- 85.- Quarta, C., Stemmer, K., Novikoff, A. et al. GLP-1-mediated delivery of tesaglitazar improves obesity and glucose metabolism in male mice. *Nat. Metab.* **2022**, 4,1071–1083.
- 86.- Merck. Disponible en internet: <https://www.sigmaaldrich.com/MX/es>.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado

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

Nombre del alumno: Norma Angélica Hernández Martínez

Título de la tesis: DISEÑO Y SÍNTESIS DE ÁCIDOS 3-(2-ARILOXIFENIL) PROPENOICOS CON ACCIÓN ANTIHIPERGLUCÉMICA

Grado a obtener:

X Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Samuel Enoch Estrada Soto

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

La tesis:

X Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

e-firma UAEM

Firma Jurado

25/04/23

Fecha



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

SAMUEL ENOCH ESTRADA SOTO | Fecha:2023-04-26 11:49:04 | Firmante

hhkERwrjTRRyIPJQydovSXB9ZUhrSyPuBqFmBUALRL3ilfDPyViPnYqkT6H1KNfKOYJ9veHgZ+YzyQEO6wO5KNeSprPpr267zoHGyUb0ShQI9J4WSnsuC21lyGxvXDUJnWuNdO9NPaYvnGf1t/FCiCOqVH+cvulRG2Mmp1FJXWwiY7wnzmsSQg4XqKjfbXb49Nj/wRBQmyvrJlzpRgKDF+1Da3SUD/pD/ZVHGirLa9htYU3IDAJaKE6zTfxhrTD0kGpc8YXkQgh5Y8pD9zg+HHTrYPlrxnh6YMSwoWoRYBlrylkeFeVeK5iYgoE21OFqvwexcqh54umhiU64w1Q==

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



[SAyZPUavw](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/39YvkEEbXr5FegfzhKqNFPcB9SWamiAi>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado



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

Nombre del alumno: Norma Angélica Hernández Martínez

Título de la tesis: DISEÑO Y SÍNTESIS DE ÁCIDOS 3-(2-ARILOXIFENIL) PROPENOICOS CON ACCIÓN ANTIHIPERGLUCÉMICA

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. María Crystal Columba Palomares

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

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

e-firma UAEM

Firma Jurado

25/04/23

Fecha



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

MARIA CRYSTAL COLUMBA PALOMARES | Fecha:2023-04-25 20:57:14 | Firmante

VhjDmh8mrdT1D0WpVfOGGfEz1/FC8tog8dexOYkXmnUEYVrpsykisdJNGDoAdzExlsVYXvedMgmzNudfvOaN+mdRqWiHVIQ+NrkYO0hGHQdfu3ZO+UdlPtqe+8hHOKarPU1GeMrM2FVs0jTcJL1xMP3zVHmL/VuKU4OFAOBSBl8mbxWbT7E1KkcBF5WZh6WV8xzCvL6rkVITdbnSoFI5hAwbiUSIoRbh/RMUty9kZJQNhLPIPID2PkPZsS7XKpwMNutOvOpFHZxHpYaGqLE1e/jaPQ03WUHC/u4q2nwXAy9TS7TIWTgQjhpNPV5D4SIZr+23yibKOaLSE42wnxzT2Q==

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



[kThdr17K2](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/LF47elCNZnt89TSGh9SwEHN6gBUT2La>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado



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

Nombre del alumno: Norma Angélica Hernández Martínez

Título de la tesis: DISEÑO Y SÍNTESIS DE ÁCIDOS 3-(2-ARILOXIFENIL) PROPENOICOS CON ACCIÓN ANTIHIPERGLUCÉMICA

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Miguel Ángel Herrera Rueda

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

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

e-firma UAEM

Firma Jurado

19/04/23

Fecha



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

MIGUEL ANGEL HERRERA RUEDA | Fecha:2023-04-20 17:21:20 | Firmante

f1fBROHoArzVFtyVsn4G3SUhy3hWdsUf3MxX7CbBklORSWI71DTYR51Pck360nGhyT6JDfUDZvaDo1oGzRMapdt9ksUvgiZv84L6mC845IUhXJW9IbLGOumi6Znr6aB7+ChbTS
LflvFAGT05byCSzdTZvGLE9cLbDXqGKXvzDVu1jOCPBwymSiLLK0qeehUIZBCytAwJPva85c8KisUzpX9EdFpwwy2Xj1yDwhCgq0fxxmcr0RIPRnnUQyUwKV7JsaQHWIn8eirEb
0ldUslAwKc8xBGIEYUGS+7Jg7KF6yXW9uwTMa6SFyp9UtgNXd3U1QfzcTaW4oUaqL9AYsmag==

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



[yLXRG85JQ](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/VFXY5tFubM8loB9MrMMp65Z78etpEPA>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado



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

Nombre del alumno: Norma Angélica Hernández Martínez

Título de la tesis: DISEÑO Y SÍNTESIS DE ÁCIDOS 3-(2-ARILOXIFENIL) PROPENOICOS CON ACCIÓN ANTIHIPERGLUCÉMICA

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. Yoshajandith Aguirre Vidal

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

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

e-firma UAEM

Firma Jurado

25/04/23

Fecha



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

YOSHAJANDITH AGUIRRE VIDAL | Fecha:2023-04-25 15:58:59 | Firmante

ERIO1t6520vn1vu67f2Vvtv25J1ko4C7FCIch25wCk1QzVGoB4F18KjIWHan2ySMPSwHe+gyU1P0g2ahSNdOimnO1fJrvki1gtyITfkgFo5ldVWH+z875o5u5HghvKpx51fl2OASGkml
Q3NCjo8+MTSARTzOtfRwhFwNC8NVPocnlb6H44yBOT7oBCLnLCYgGZe6elJRIAWewLtkGMHKFxLdSusBqP8+nsy5xmLgBbHrMG81InMTJ0OHVy0goewsOuZZ+O8zy2yIWxg
Hcg6GqeCovlJypWT5COdfErkmfme0XfsgAlaRnf4g7n7gkEtCzqwr/+cvPHLHdUcx8Fw==

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



[XGCg4DVMn](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/HgJnwwGbq0MgrRLjHDDphiLhXbtIRYOI>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado

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

Nombre del alumno: Norma Angélica Hernández Martínez

Título de la tesis: DISEÑO Y SÍNTESIS DE ÁCIDOS 3-(2-ARILOXIFENIL) PROPENOICOS CON ACCIÓN ANTIHIPERGLUCÉMICA

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

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

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

e-firma UAEM

Firma Jurado

19/04/23

Fecha



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

JUAN GABRIEL NAVARRETE VAZQUEZ | Fecha:2023-04-19 09:13:30 | Firmante

bFb1hD8RrsZemFyxGr4vH2pcOiRQDU2BDun9DV8TeuJACx3eol0fsLx50TQMdR4j8f7roJg0kPk7wHj/iUSaV0r82siViUmaaa2YtvGSFqvVFE951fMNEZOpf1knmPVN8WVDlhLcl
Q0u67RfG/P+JIWPCDFgjtSxwI9B+RslbUOH91br8X74qbFp0J3IASda+2UNzoOUrVRpgBeg4WVuhqOq5tnLcRMskrYDEValDeqvChCkQExdo3SlpA9R5/I3OEbktFMtVmCGuUL
wSSnIYsC3FForFBodfa0vOAWeRLGj1AigqNk3M0ZXjz4EfXT/EksP73VX7YwopsGEGsUmg==

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



[eyfHuV5hi](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/UofNtQ94zRSBZYCzE5ctlp9Jgt5YSFuz>

