



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Químicas

Laboratorio de Síntesis y Modificación
de Productos Naturales



Tesis

“Síntesis de triazoles funcionalizados a un fragmento de bencenosulfonamida”

Para obtener el grado académico de

**Licenciatura en
Químico Farmacobiólogo**

Presenta:

Silvia Soledad

Hernández Humana

Directora de tesis: Dra. Penélope Merino Montiel

Co-Directora: Dra. Mónica Martínez Montiel

Índice

Agradecimientos	1
Abreviaturas	3
1. Resumen.....	5
2. Introducción	7
2.1 Cáncer.....	7
2.2 Anhidrasas carbónicas.....	9
2.3 Inhibidores de las anhidrasas carbónicas (CAI).....	14
Bencenosulfonamidas como CAI.....	16
Amidofenil sulfonamidas como CAI	17
Glicosiltriazoles como CAI	18
3. Antecedentes	23
4. Objetivos.....	28
4.1 General	28
4.2 Objetivos particulares	28
5. Discusión de los resultados	29
6. Ensayos biológicos.....	42
6.1 Predicción de propiedades farmacocinéticas	42
6.2 Acoplamiento molecular (<i>Docking</i>).....	54
6. Conclusiones.....	59
Primera	59
Segunda	59
Tercera.....	59
Cuarta	59
Quinta.....	59
8. Parte Experimental.....	60
Métodos generales.....	60
Materias primas	62
Método general para la preparación de los alquinos derivados de sulfonamidas	62
4-(2'-(prop-2''-in-1''-ilamino)etil)bencenosulfonamida (30)	62
4-(Prop-2'-in-1'-ilamino)bencenosulfonamida (33)	63
Método general para la preparación de los compuestos triazoles derivados de sulfonamidas (31a-b).....	63
4-[2'-(4''-Sulfonamidofenil)etil-1'-amino]metil-1-(2''',3''',4''',6''-tetra- <i>O</i> -acetil- β -D-glucopiranosil)triazol (31a).....	64

4-[2''-(4'''-Sulfonamidofenil)etil-1''-amino]metil-1-(2''',3''',4'''-tri-O-acetil-b-D-arabinopiranosil)triazol (31b).....	65
4-[2'-(6''-hidroxihexilamino)etil]bencenosulfonamida (37).....	66
4-[2'-(6''-(prop-2'''-in-1'''-iloxi)hexilamino)etil]bencenosulfonamida (40)	67

Parte de los resultados obtenidos en este trabajo de tesis se han presentado en los siguientes congresos y reuniones:

- **Silvia Soledad Hernández Humana**, Monica Martinez Montiel, Sara Montiel Smith, Penélope Merino Montiel. Obtención de triazoles glicosídicos funcionalizados con un fragmento de bencenosulfonamida. (Cartel) “La mujer y la niña en la ciencia” Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas el día 14 de febrero de 2024.

- **Silvia Soledad Hernández Humana**, Mónica Martínez Montiel, Sara Montiel Smith, Óscar López, Penélope Merino Montiel. Síntesis de triazoles con fragmentos glicosídicos y bencenosulfonamidas: Hacia nuevos inhibidores de anhidrasas carbónicas (cartel) XIX Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica. Del 29 al 30 de agosto de 2024 en Tepic, Nayarit



Agradecimientos

A la Dra. Penélope Merino Montiel por aceptarme como alumna en el servicio social, prácticas profesionales y tesis, por su permitirme trabajar con su grupo de investigación y apoyarme para siga creciendo como profesionista.

A la Dra. Mónica Martínez Montiel por todo su apoyo brindado durante mi estancia en el laboratorio de síntesis y modificación de productos naturales, gracias por las enseñanzas, consejos y por todo su apoyo tanto académico como emocional.

A mi comisión revisora por su tiempo y disposición:

Dra. Sara Montiel Smith.

Dra. Laura Leticia Romero Hernández.

Dr. Ulises Peña Rosas.

MSc. Elvia Estrella Cabrera Castro por sus enseñanzas y capacitación en el laboratorio de síntesis y modificación de productos naturales FCQ8.

Dedicatorias

A mi mamá (Q.E.P.D.) por todo tu apoyo, amor y comprensión, gracias a todo tu esfuerzo y dedicación he podido lograr tantas cosas, eres mi ejemplo a seguir, me has enseñado a nunca rendirme a buscar soluciones ante cualquier problema y sobre todo superarme cada día. Mis logros te los dedico porque sin ti no lo hubiera logrado.

A ti papá, por apoyarme en mis decisiones, a alentarme a seguir a delante, por alegrarte por mis logros que también son tuyos, porque tú me sostienes y me guías, porque buscas que aprenda más cada día. A ti y a mi mamá los amo con todo mi corazón.

A ustedes hermanos Alfredo, Ignacio y Francisco, por apoyarme siempre y darme ánimo para seguir y no rendirme, por darme consejos y estar en las buenas y en las malas conmigo, los amo mucho.

A ustedes tías Natividad, Guadalupe e Isabel, por ser mis mamás también, por darme tanto amor, apoyo, por estar para mí siempre que lo necesito, por sus consejos y enseñanzas, gracias a ustedes también he logrado muchas cosas, me han enseñado a no rendirme, me escuchan, me alientan a seguir mis sueños, aunque den miedo como por ejemplo: a entrar en el área de química orgánica, gracias por estar en mi vida, me siento muy afortunada por tenerlas conmigo, las amo tanto.

A ustedes tíos Jaime y Armando, por ser un gran apoyo en mi vida, por sus consejos, por cuidarme, por impulsarme a seguir con mis estudios y a ser una mejor persona, gracias infinitas por estar en mi vida, los amo.

A ti primo Conrado, por ser como mi hermano mayor, que me guía y apoya tanto, gracias por siempre ayudarme a revisar mis trabajos, por darme grandes consejos y por siempre animarme cada vez que siento que no voy a poder, te quiero mucho y yo también estaré para ti.

A ustedes compañeros del laboratorio de síntesis y modificación de productos naturales FCQ8, por su amistad, su apoyo, por compartir sus conocimientos conmigo y por hacer de este lugar mi segundo hogar.

Abreviaturas

ADME	Absorción, distribución, metabolismo y excreción
AcOEt	Acetato de etilo
Glu	Ácido glutámico
Docking	Acoplamiento molecular
CAs	Anhidrasas carbónicas
TPSA	Área de superficie polar (Topological Polar Surface Area)
BHE	Barrera hematoencefálica
BBB	Bermeación de la barrera hematoencefálica
QM	Cálculo de mecánica cuántica
log Po/w	Coeficiente de participación de un soluto entre n-octanol y agua
IC ₅₀	Concentración inhibitoria máxima media
J	Constante de acoplamiento
K _i	Constante de inhibición
DMF	Dimetilformamida
MD	Dinámica molecular
Nrotb	Enlaces rotables
Equiv.	Equivalentes
FGF	Factor de crecimiento de los fibroblastos
EGF o HER2 o EGFR	Factor de crecimiento epidérmico
VEGF	Factor de crecimiento vascular endotelial
TGF-β	Factor de transformación del crecimiento beta
GI	Gastrointestinal
Pg-p	Glicoproteína-P
°C	Grados Celsius
ZBG	Grupo de unión a zinc (Zinc Binding Group)
h	Horas
His	Histidina
CAI	Inhibidores de la anhidrasa carbónica
CDKIs	Inhibidores de las quinasas dependientes de ciclinas
IL-8	Interleucina 8
MHz	Megahercio
Me	Metilo
μM	Micromolar
PBPK	Modelo farmacocinético basado en la fisiología
MOE	Molecular Operating Environment
Nm	Nanomolar
Ppm	Partes por millón

P.M.	Peso molecular
Pa	probabilidad de que se realice la actividad
Pi	Probabilidad de que no se realice la actividad
RM	refractividad molar
mTor	Regulador transcripcional del metabolismo celular
QSAR	Relación cuantitativa entre estructura-actividad
s	Singulete
SNC	Sistema Nervioso Central
S _N 2	Sustitución nucleofílica de bimolecular
t.a.	Temperatura ambiente
THF	Tetrahidrofurano
PTP	Tirosina fosfatasa
TK	Tirosina quinasa
Thr	Treonina
Et ₃ N	Trietilamina

1. Resumen

El cáncer es un conjunto de enfermedades que afecta a un gran número de personas, ya que es una patología difícil de tratar. Las células afectadas se dividen de manera descontrolada y evaden las señales de apoptosis, lo que provoca daños en las funciones del órgano donde se originó y en los tejidos adyacentes.

Actualmente, se investigan nuevos tratamientos oncológicos que sean más específicos y con menores efectos secundarios, debido a que terapias como la quimioterapia y la radioterapia afectan tanto a células cancerígenas como a células sanas.

El presente trabajo de tesis de licenciatura se centró en las anhidrasas carbónicas IX y XII como dianas terapéuticas, ya que se encuentran sobreexpresadas en diferentes tipos de cáncer. Estas enzimas regulan el pH mediante la catálisis de CO_2 a HCO_3^- . En condiciones de hipoxia, acidifican el ambiente celular, lo que induce la expresión de factores proangiogénicos, favoreciendo así la inmunidad celular y la agresividad tumoral.

Se llevó a cabo la síntesis de triazoles funcionalizados con un fragmento de bencenosulfonamida como potenciales inhibidores de las anhidrasas carbónicas XI y XII. Con base en que se ha reportado que el grupo sulfonamida (SO_2NH_2) es un inhibidor potencial de este grupo de enzimas, debido a su interacción con el metal (Zn) en su sitio activo, logrando la obtención de los compuestos 31a-b.

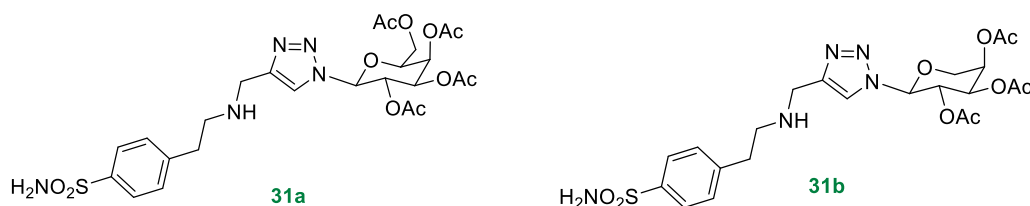


Figura 1.1 Estructura de los compuestos sintetizados.

Al añadir un carbohidrato a las estructuras, se buscó un mayor reconocimiento molecular y una mejora en su biodisponibilidad.

Por otra parte, se realizó el análisis quimiinformático, en el cual se observó que los compuestos obtenidos poseen una baja absorción gastrointestinal (GI). Por lo tanto, se sugiere que la vía de administración sea parenteral, lo que favorece que el fármaco llegue al torrente sanguíneo sin pasar por el proceso de absorción.

Otro dato relevante es el valor de TPSA (área de superficie polar), que se correlaciona con el transporte de fármacos a través de las membranas. Los compuestos con valores altos son menos solubles en lípidos y, por lo tanto, son menos permeables. Sin embargo, no es necesario que los compuestos ingresen a la célula, ya que la enzima de interés se encuentra en la membrana plasmática.

Asimismo, los compuestos presentaron un coeficiente de partición bajo entre n-octanol y agua ($\log P_{o/w}$), lo que indica que son hidrofílicos. Estos valores sugieren que podrían ser administrados por la vía parenteral, con una probable movilidad y transporte adecuado, gracias a su buen grado de solubilidad, lo que favorece su dilución en el torrente sanguíneo.

El acoplamiento molecular para el compuesto **31a** con la isoforma XI de la CA nos arrojó un valor bajo de ΔG , menor en comparación con la acetazolamida. Esto sugiere que el compuesto podría unirse al sitio activo de la CA IX, lo que indicaría su potencial como inhibidor.

2. Introducción

2.1 Cáncer

El cáncer comprende una serie de patologías que surgen de células anormales que con mutaciones genéticas y se dividen sin control, dañando tanto el tejido donde se originaron como los tejidos adyacentes, alterando su funcionamiento.^{1,2} Estas células evaden las señales de apoptosis, el ataque del sistema inmune, el factor de transformación del crecimiento beta (TGF- β) y los inhibidores de las quinasas dependientes de ciclinas (CDKs). Además, poseen un potencial replicativo ilimitado y promueven la angiogénesis a través de la liberación de VEGF (factor de crecimiento vascular endotelial), FGF (factor de crecimiento de los fibroblastos) e IL-8 (interleucina 8), lo que les brinda los nutrientes y oxígeno necesario para seguir proliferando, aumentando las posibilidades de migrar a tejidos lejanos (metástasis).³

En la actualidad, en México, el cáncer es una de las enfermedades crónico-degenerativas que más defunciones provoca, dado que 14 de cada 100 personas fallecen debido a esta enfermedad.⁴ En 2020 se contabilizaron 195,499 nuevos casos y 90,222 muertes, siendo el cáncer de mama el más frecuente, seguido por el cáncer de próstata, colorrectal, tiroides y cuello uterino (Figura 2.1.1).⁵

¹ Sánchez, N. C. (2013). Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: Fisiopatología del cáncer. *Revista Médica Clínica las Condes*, 24(4), 553-562. [https://doi.org/10.1016/s0716-8640\(13\)70659-x](https://doi.org/10.1016/s0716-8640(13)70659-x)

² Reyes, S. J., González, K. B., Rodríguez, C., Navarrete-Muñoz, C., Salazar, A. P., Villagra, A., Caglevic, C., Hepp, M. I. (2020). Actualización general de inmunoterapia en cáncer. *Revista Médica de Chile*, 148(7), 970-982. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872020000700970>

³ Bermúdez Garcell, A., Serrano Gámez, N., Teruel Ginés, R., Leyva Montero, M., & Naranjo Coronel, A. (2019). Biología del cáncer. *Correo Científico Médico*, 23(4). Recuperado de <https://revcocmed.sld.cu/index.php/cocmed/article/view/3350>

⁴ Secretaría de Salud. *Enfermedades cardiovasculares, diabetes o cáncer podrían prevenirse o detectarse a tiempo. gob.mx.*, 2023, <https://www.gob.mx/salud/articulos/enfermedades-cardiovasculares-diabetes-o-cancer-podrian-prevenirse-o-detectarse-a-tiempo-344043>

⁵ World Health Organization. Globocan 2020 Population fact sheets "Mexico". *International Agency for Research on Cancer*, 2021, 2-3. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/484-mexico-fact-sheets.pdf>

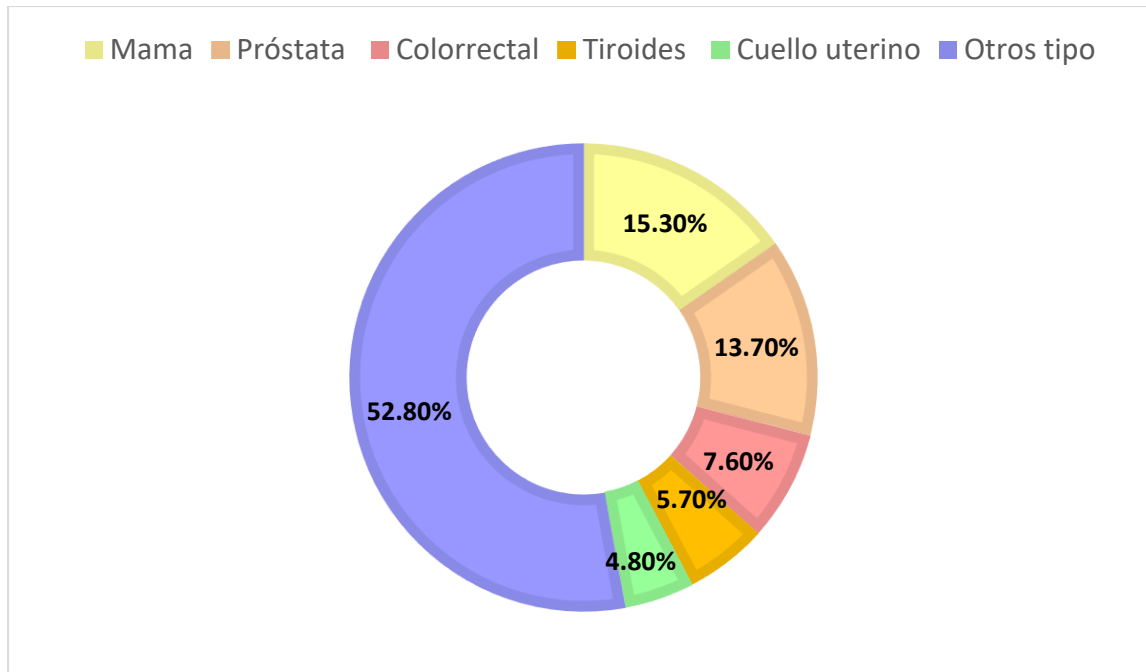


Figura 2.1.1. Grafica del porcentaje de casos de cáncer en el 2020 en México.⁵

En 2023, el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica reportó nuevos casos de diversos tipos de cáncer, entre los cuales se encuentran: el cáncer de mama con 17,918 casos, cáncer de próstata con 3,570, cáncer de ovario con 1,874 y leucemia con 1,244.⁶ Para el año 2040, se prevé que la tasa de incidencia a nivel global aumente en un 60%, alcanzando aproximadamente 30 millones de casos.⁷

Debido a su complejidad a nivel tisular, el cáncer complica tanto su diagnóstico como su tratamiento adecuado, lo que genera la necesidad de encontrar agentes antiproliferativos que contrarresten el crecimiento anormal de las células.⁸

Actualmente, se emplean tratamientos como la radioterapia, cirugía, inmunoterapia, terapia endocrina, terapia génica y quimioterapia; sin embargo, estos tratamientos son

⁶ Boletín Epidemiológico. (2023). *Salud Pública De México*, 39(8). Recuperado a partir de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/862047/sem39.pdf>

⁷ *Día Mundial contra el Cáncer 2023: Por unos cuidados más justos.* (2023). OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud. <https://www.paho.org/es/campanas/dia-mundial-contra-cancer-2023-por-unos-cuidados-mas-justos>

⁸ Hassanpour, S. H., Dehghani, M. (2017). Review of cancer from perspective of molecular. *Journal Of Cancer Research And Practice*, 4(4), 127-129. <https://doi.org/10.1016/j.jcrpr.2017.07.001>

muy agresivos para el paciente dado a sus efectos secundarios, lo que hace necesario el desarrollo de nuevos agentes anticancerígenos.⁹

Estos nuevos tratamientos están dirigidos a dianas específicas, atacando solo a las células anormales, pero no a las células sanas, lo que los hace potentes y con baja toxicidad para el organismo. Algunas de estas dianas incluyen: la tirosina quinasa (TK),¹⁰ factor de crecimiento epidérmico (EGF) también conocido como HER2 o EGFR, el regulador transcripcional del metabolismo celular (mTor),¹¹ la tirosina fosfatasa (PTP),¹² y las enzimas anhidrasas carbónicas (CAs),¹³ entre otras.

La presente tesis de licenciatura se centró en la búsqueda de nuevos inhibidores de las enzimas anhidrasas carbónicas (CA).

2.2 Anhidrasas carbónicas

Las anhidrasas carbónicas (CA), constituyen una superfamilia de metaloenzimas de gran importancia en el organismo, ya que catalizan la reacción reversible de hidratación del dióxido de carbono (CO_2) para formar ácido carbónico (H_2CO_3), que a su vez se disocia en bicarbonato (HCO_3^-) y un protón (H^+) (Esquema 2.2.1).¹⁴ Aunque este proceso puede producirse de forma espontánea, sería muy lento, lo que afectaría las necesidades metabólicas de las células, ya que la velocidad natural de la reacción es de

⁹ Astrain-Redin, N., Sanmartin, C., Sharma, A. K., Plano, D. (2023). From Natural Sources to Synthetic Derivatives: The Allyl Motif as a Powerful Tool for Fragment-Based Design in Cancer Treatment. *Journal Of Medicinal Chemistry*, 66(6), 3703-3731. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01406>

¹⁰ Zhong, L., Li, Y., Xiong, L., Wang, W., Wu, M., Yuan, T., Yang, W., Tian, C., Miao, Z., Wang, T., Yang, S. (2021). Small molecules in targeted cancer therapy: advances, challenges, and future perspectives. *Signal Transduction And Targeted Therapy*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00572-w>

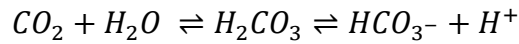
¹¹ Heras, J. M. J., Yugueros, L. L., Alonso, L. M., Manuel, D. M., Gómez, L. M., Delgado, A. P., Manzano, C. P., García, I. P., Fuentes, P. P., Arias, P. P., Mota, I. P., Nieto, G. R., Lema, D. R., Bezanilla, S. S., Gómez, N. S., Encinas, E. V., Fernández, R. V., Carbajal, C. V., Sánchez, P. V., . . . Marín, M. C. (2013). Nuevas terapias dirigidas para el tratamiento del cáncer. *Ambiociencias*, 15-29. <https://doi.org/10.18002/ambioc.v0i9.5564>

¹² Boni, C., Sorio, C. (2022). The Role of the Tumor Suppressor Gene Protein Tyrosine Phosphatase Gamma in Cancer. *Frontiers In Cell And Developmental Biology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.768969>

¹³ Pastorekova, S., Gillies, R. J. (2019). The role of carbonic anhydrase IX in cancer development: links to hypoxia, acidosis, and beyond. *Cancer And Metastasis Reviews*, 38(1-2), 65-77. <https://doi.org/10.1007/s10555-019-09799-0>

¹⁴ Alonso, C. P. (2022) Expresión de anhidrasa carbónica IX en carcinoma de células renales. Implicaciones diagnósticas y pronósticas. [Tesis Doctoral, Universidad de Zaragoza]. Repositorio institucional de documentos ZAGUAN. <https://zaguan.unizar.es/record/112136/files/TESIS-2022-077.pdf?version=1>

aproximadamente 100 segundos. Con ayuda de la enzima, este equilibrio se puede alcanzar en menos de 1 segundo.¹⁵



Esquema 2.2.1 Reacción de catálisis de las CAs.

Esta reacción es necesaria para diversos procesos biológicos, como la respiración celular, la regulación del equilibrio ácido-base o el intercambio transmembrana de CO₂.¹⁴

Hasta el momento se han descubierto ocho familias de anhidrasas carbónicas: α -, β -, γ -, δ -, ζ - η -, θ- e ι-CA, localizadas en diferentes organismos. Las α-CA se encuentran en vertebrados, protozoos, algas, en el citoplasma de plantas verdes y en diversas bacterias Gram negativas. Las β-CA se encuentran en bacterias Gram negativas y positivas, algas, cloroplastos de monocotiledóneas y dicotiledóneas, así como en varios hongos y algunas arqueas. Las γ-CA se localizan en arqueas y cianobacterias, mientras que las δ-, ζ- y θ-CA parecen estar presentes en diatomeas marinas. Por su parte, las η-CA se encuentran en protozoos, y las ι-CA fueron identificadas en el fitoplancton marino, aunque también se encuentran en bacterias.¹⁶

En el ser humano se encuentra 16 isoformas, cuya localización varía según su función. Las isoformas CA I, II, III, VII y XIII se encuentran en el citosol; las CA IV, IX, XII, XIV, XV están asociadas a la membrana; las CA VA, VB se localizan en la mitocondria; la CA VI es secretada en la saliva y la leche. Las isoformas CA VIII, X, XI no tienen actividad catalítica, ya que carecen de uno o más residuos de histidina, los cuales son esenciales para su función (Tabla 2.2.1).¹⁷

Tabla 2.2.1 Localización a nivel órgano/tejido de las 16 isoformas de las CA en el humano.

Isoforma	Localización órgano/ tejido	Isoforma	Localización órgano/ tejido
----------	-----------------------------	----------	-----------------------------

¹⁵ Espinosa Monroy, L., Sierra Vargas, M. P. (2010). Anhidrasa carbónica, nuevas perspectivas. *NCT Neumología y Cirugía de Tórax*, 69(4), 200-209.

¹⁶ Angeli, A., Carta, F., Supuran, C. T. (2020). Carbonic Anhydrases: Versatile and Useful Biocatalysts in Chemistry and Biochemistry. *Catalysts*, 10(9), 1008. <https://doi.org/10.3390/catal10091008>

¹⁷ Supuran, C. T. (2008). Carbonic Anhydrases an overview. *Current Pharmaceutical Design*, 14(7), 603-614. <https://doi.org/10.2174/138161208783877884>

CA I	eritrocitos, tracto gastrointestinal	CA VIII	SNC
CA II	Eritrocitos, ojo, tracto gastrointestinal, Osteoclastos óseos, riñón, pulmón, testículos, cerebro	CA IX	Tumores; mucosa gastrointestinal
CA III	Músculo esquelético, adipocitos	CA X	SNC
CA IV	Riñón, pulmón, páncreas, cerebro, capilares, colon, músculo cardíaco	CA XI	SNC
CA VA	Hígado	CA XII	Epitelios renal, intestinal, reproductor, ojo, tumores
CA VB	corazón y músculo esquelético páncreas, riñón, médula espinal, tracto gastrointestinal	CA XIII	riñón, cerebro, pulmón, intestino, aparato reproductor
CA VI	glándulas salivales y mamarias	CA XIV	riñón, cerebro, hígado
CA VII	SNC	CA XV	Riñón

Estas enzimas contienen en su sitio activo un cofactor de zinc, que se coordina con los anillos imidazol de tres residuos de histidina: His94, His96 e His119. De igual forma, está coordinado a una molécula de agua o un ion hidroxilo. (Figura 2.2.1).¹⁵

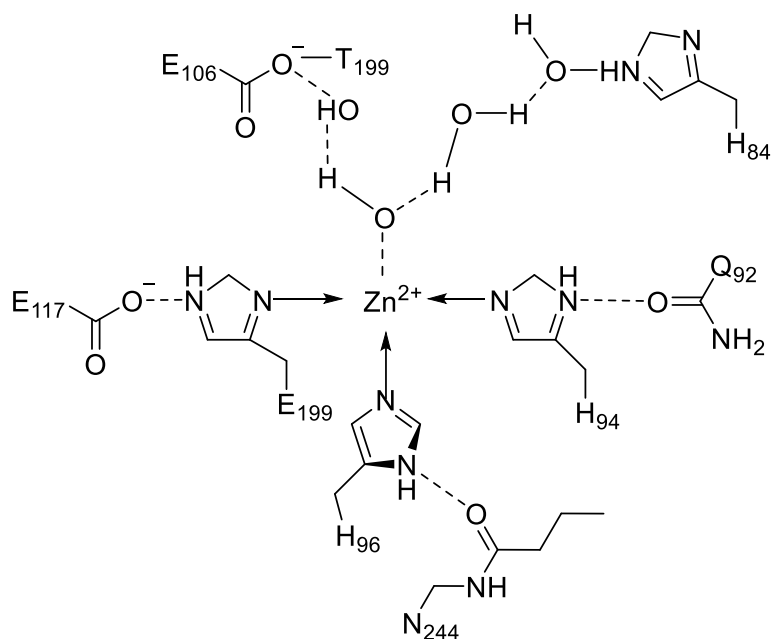
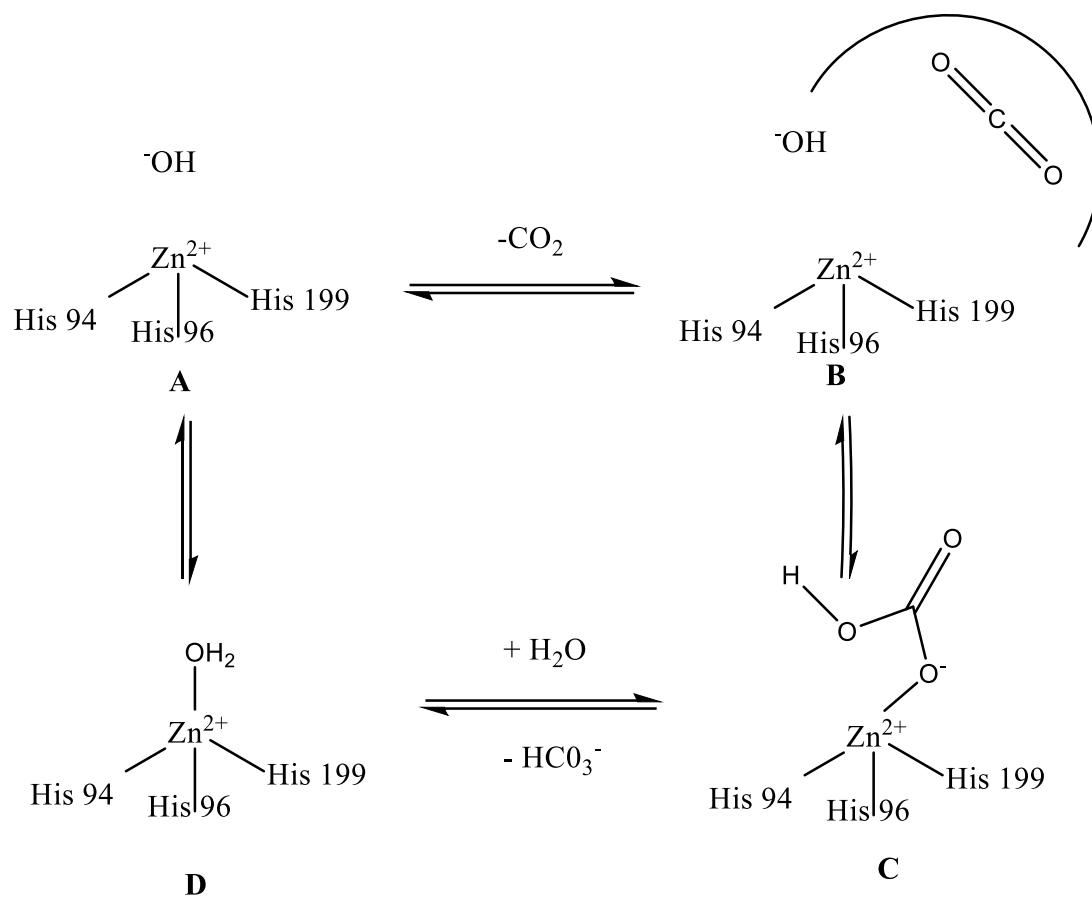


Figura 2.2.1 Estructura del centro activo de las CA¹⁵

La reacción catalítica se lleva a cabo de la siguiente manera: para mejorar el ataque nucleofílico, el agua ligada al zinc, mediante puentes de hidrógeno, interactúa con el hidroxilo de la Thr99, mientras que, al mismo tiempo, forma un enlace de hidrógeno con el Glu106. Esto incrementa las interacciones nucleofílicas y orienta el sustrato (CO₂) en una posición adecuada para el ataque nucleofílico.¹⁸

La forma activa de la enzima ocurre cuando un ion hidróxido está acoplado al Zn(II) (Esquema 2.2.2, **A**). Desde ese estado, se realiza un ataque nucleofílico a una molécula de CO₂ (**B**), para la formación de HCO₃⁻, el cual queda coordinado con la molécula de Zn(II) (**C**). El ion bicarbonato es entonces desplazado del sitio activo por una molécula de agua, lo que da lugar a la forma ácida de la enzima (catalíticamente inactiva) con agua coordinada al Zn(II) (**D**). Para recuperar la forma básica, que es catalíticamente activa, la enzima debe regenerarse; para ello, el protón H⁺ se transfiere desde el sitio activo hacia el medio, facilitando la unión del ion zinc con el ligando hidróxido (**A**).¹⁶⁻¹⁸

¹⁸ Martínez Montiel, M. (2022). Nuevos sistemas de reconocimiento molecular basados en organocalcógenos. Agentes antiparasitarios y antiproliferativos. [Tesis Doctoral, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla-Universidad de Sevilla]. Repositorio institucional de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. <https://hdl.handle.net/20.500.12371/17647>



Esquema 2.2.2. Mecanismo de catálisis de las CAs¹⁸

En esta reacción, el paso limitante es la segunda etapa, puesto que la transferencia del protón para regenerar el hidróxido unido al zinc de la CA debido a la flexibilidad de la His94, que permite cambiar de la conformación *in* a *out*. En su conformación *in*, la His94 acepta un protón del agua coordinada al zinc, y en la conformación *out* lo libera, contribuyendo al intercambio de protones. Esto también determina la velocidad del ciclo catalítico para muchas isoformas de CAs,¹⁹ como en la CA II, IV, V, VII, IX.¹⁷

¹⁹ Petreni, A., Osman, S. M., Alasmay, F. A., Almutairi, T. M., Nocentini, A., Supuran, C. T. (2021). Binding site comparison for coumarin inhibitors and amine/amino acid activators of human carbonic anhydrases. *European Journal Of Medicinal Chemistry*, 226, 113875. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113875>

Las CAs no solo participan en procesos fisiológicos, sino también en procesos patológicos, como el cáncer,¹⁴ glaucoma,²⁰ epilepsia,²¹ estrés oxidativo, Alzheimer, isquemia cerebral, artritis reumatoide²² o la osteopetrosis.²³

Las isoformas CA IX y XII se encuentran sobreexpresadas en carcinomas tumorales, esto debido a que regulan el pH. Cuando son inducidas por la hipoxia acidifican el ambiente celular, lo que provoca la expresión de factores proangiogénicos. Además, estas isoformas favorecen la inmunidad celular y la agresividad tumoral.^{24,25} Por lo tanto, estas dos isoformas de CAs se utilizarán como dianas terapéuticas en este trabajo.

2.3 Inhibidores de las anhidrasas carbónicas (CAI)

De acuerdo con su mecanismo de inhibición podemos clasificar cuatro tipos:

1. **Coordinación con el ión metálico catalítico Zn (II):** en este grupo se incluyen las sulfonamidas, sulfamatos y sulfamidas.
2. **Anclaje a la molécula de agua coordinada al ion metálico:** como el fenol, las poliaminas, las sulfocumarinas, las tioxocumarinas y algunos carboxilatos.
3. **Obstrucción de la entrada al sitio activo:** algunos ejemplos son las cumarinas, lactonas/tiolactonas de 5 y 6 anillos, 3,4-dihidro-1H-quinolina-2-onas, heterocumarinas, como las selenocumarinas, tioselenocumarinas, telurocumarinas, además de diversas quinolinas-2(1H)-onas sustituidas.

²⁰ Mondoñedo Farías, C. M., Lucas Neira, S. N., Marcial Cedeño, M. R., Bowen Macias, V. A. (2024). Revisión sistemática glaucoma y su relación con los inhibidores de la anhidrasa carbónica. *Dominio De Las Ciencias*, 10(1), 896–908. <https://doi.org/10.23857/dc.v10i1.3748>

²¹ Aggarwal, M., Kondeti, B., McKenna, R. (2013). Anticonvulsant/antiepileptic carbonic anhydrase inhibitors: a patent review. *Expert Opinion On Therapeutic Patents*, 23(6), 717-724. <https://doi.org/10.1517/13543776.2013.782394>

²² Supuran, C. T. (2021). Emerging role of carbonic anhydrase inhibitors. *Clinical Science*, 135(10), 1233-1249. <https://doi.org/10.1042/cs20210040>

²³ Subías, E. J., De Arriba Muñoz, A., Iñiguez, J. P. G., Lozano, M. F., Del Pozo, J. S., Aizpun, J. I. L. (2014). Osteopetrosis autosómica dominante: a propósito de 3 casos y una mutación. *Anales de Pediatría*, 82(1), e35-e38. <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2014.03.014>

²⁴ Rubio-Briones, J., Calatrava, A., Fernández-Serra, A., Ruiz, R. R., Iborra, I., García-Casado, Z., Rubio, L., Trassierra, M., Collado, A., Casanova, J., Gómez-Ferrer, A., Solsona, E., López-Guerrero, J. (2011). Expresión inmunohistoquímica de la densidad microvascular y de la anhidrasa carbónica IX en carcinoma renal. Relación con el tipo histológico y con la progresión tumoral. *Actas Urológicas Españolas*, 35(2), 80-86. <https://doi.org/10.1016/j.acuro.2010.10.003>

²⁵ Wykoff, C. C., Beasley, N. J. P., Watson, P. H., Turner, K. J., Pastorek, J., Sibtain, A., Wilson, G. D., Turley, H., Talks, K. L., Maxwell, P. H., Pugh, C. W., Ratcliffe, P. J., & Harris, A. L. (2000). Hypoxia-inducible expression of tumor-associated carbonic anhydrases. *Cancer Research*, 60(24), 7075–7083.

4. Unión fuera del sitio activo: como el ácido benzoico específicamente el ácido 2-(bencilsulfonil)benzoico)²⁶ (Figura 2.3.1).

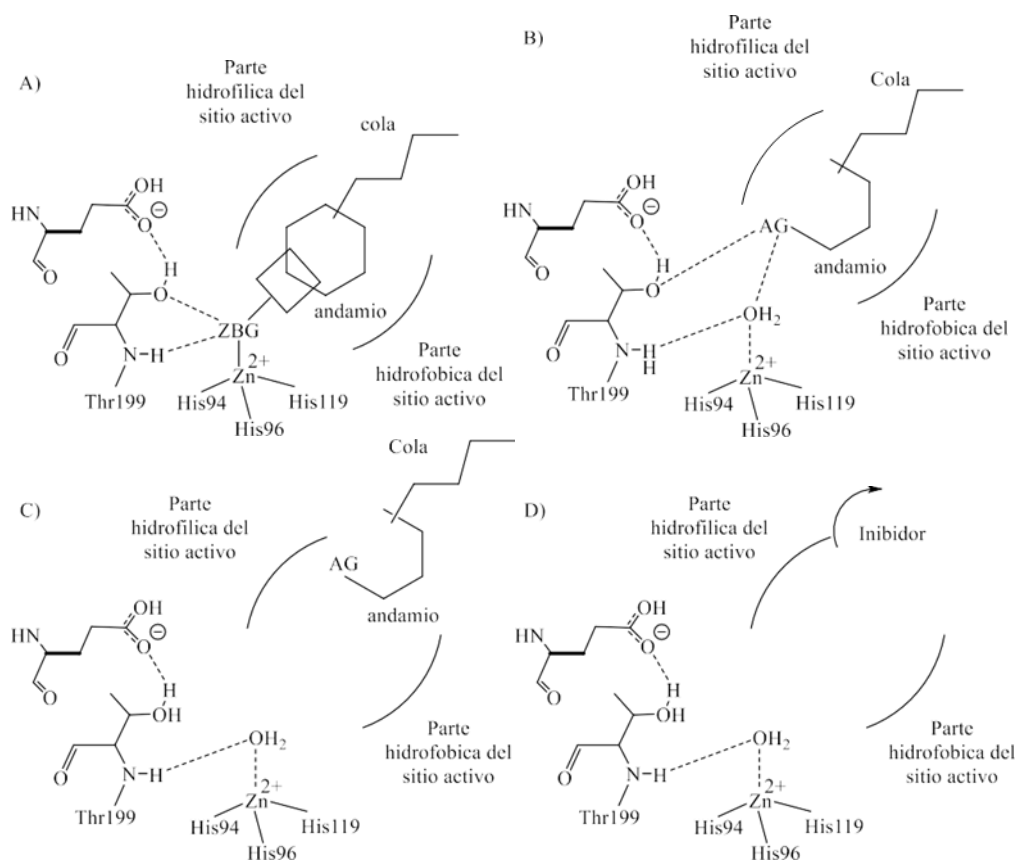


Figura 2.3.1. Mecanismos de inhibición de CA representados en las CA humanas: (A) Agentes quelatantes al zinc; (B) Grupo de anclaje; (C) obstrucción del sitio activo; (D) fuera del sitio activo.¹⁷

En 2020, Cuffaro y col., reportaron que, hasta el momento los inhibidores de anhidrasas carbónicas (CAI) más eficaces son las sulfonamidas, sulfamidas y sulfamatos.²⁷ Si bien estos compuestos tienen buena actividad inhibitoria, carecen de selectividad para una isoforma específica. Por lo tanto, es necesario el desarrollo de

²⁶ Supuran, C. T. (2020). Exploring the multiple binding modes of inhibitors to carbonic anhydrases for novel drug discovery. *Expert Opinion On Drug Discovery*, 15(6), 671-686. <https://doi.org/10.1080/17460441.2020.1743676>

²⁷ Cuffaro, D., Nuti, E., Rossello, A. (2020). An overview of carbohydrate-based carbonic anhydrase inhibitors. *Journal Of Enzyme Inhibition And Medicinal Chemistry*, 35(1), 1906-1922. <https://doi.org/10.1080/14756366.2020.1825409>

nuevos inhibidores más específicos, que deben contar con tres fragmentos esenciales (Figura 2.3.2):

- I. **Grupo de unión a zinc (ZBG, Zinc Binding Group):** interactúa con el ion Zn (II) y con los residuos de aminoácidos presentes en el sitio activo como Thr199 y Glu106.
- II. **Resto hidrofóbico:** esta unido a la cola, y puede ser un anillo aromático o heteroaromático.
- III. **Cola:** puede contener grupos polares o liófilos, que interactúan con las zonas hidrofobas o hidrófilas del sitio activo, espectralmente.

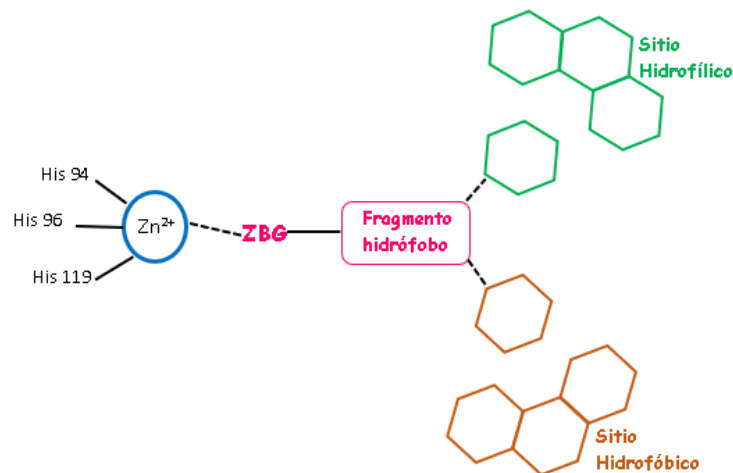


Figura 2.3.2 Representación esquemática de la estructura general de CAI de unión a zinc en el sitio activo²⁷

Bencenosulfonamidas como CAI

Las bencenosulfonamidas pueden crear diferentes tipos de interacciones entre el sitio activo de la CA y las regiones hidrofóbicas y/o hidrofílicas de esta, dependiendo de su naturaleza y la posición de los sustituyentes en el anillo fenílico.¹⁸ Se han diseñado diversos inhibidores de anhidrasas carbónicas (CAI) con bencenosulfonamidas y varios sustituyentes para diferentes enfermedades; sin embargo, la mayoría no son específicos para las isoformas CA IX y CA XII, por lo que, para diseñar CAI específicos para estas isoformas, se ha empleado el “enfoque de cola”, el cual consiste en modificar el fragmento de la cola, por sustituyentes que faciliten las interacciones con los residuos de

aminoácidos del sitio activo.²⁸ Por ejemplo, Pacchiano y col.²⁹ sintetizaron una serie de bencenosulfonamidas sustituidas con un grupo ureido, las cuales inhiben selectivamente la CA IX con un intervalo de K_i : 0.3-7.3 nM y CA XII con un intervalo de K_i : 2.3-67.3 nM (Figura 2.3.3).

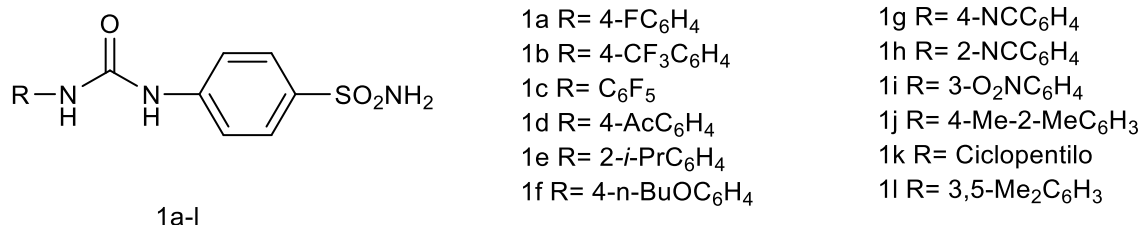


Figura 2.3.3 Preparación de las bencenosulfonamidas 4-ureidosustituidas 1a – 1l.

Amidofenil sulfonamidas como CAI

Estos inhibidores se diseñan con derivados de sulfonamidas conjugados con carbohidratos, empleando el método de "cola de carbohidrato". Se utilizan monómeros como glucosa, galactosa, arabinosa, entre otros, para que el resto glicósido interactúe con el sitio activo (Figura 2.3.4).

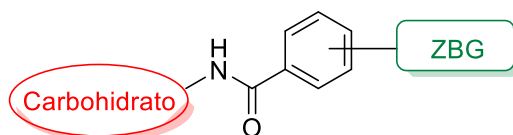


Figura 2.3.4. Estructura general de los inhibidores tipo amidofenil sulfonamida³⁰

²⁸ Mboge, M. Y., Mahon, B. P., Lamas, N., Socorro, L., Carta, F., Supuran, C. T., Frost, S. C., McKenna, R. (2017). Structure activity study of carbonic anhydrase IX: Selective inhibition with ureido-substituted benzenesulfonamides. *European Journal Of Medicinal Chemistry*, 132, 184-191. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.026>

²⁹ Pacchiano, F., Carta, F., McDonald, P. C., Lou, Y., Vullo, D., Scozzafava, A., Dedhar, S., Supuran, C. T. (2011). Ureido-Substituted Benzenesulfonamides Potently Inhibit Carbonic Anhydrase IX and Show Antimetastatic Activity in a Model of Breast Cancer Metastasis. *Journal Of Medicinal Chemistry*, 54(6), 1896-1902. <https://doi.org/10.1021/jm101541x>

Zhuang Hou y col.³⁰ sintetizaron bencenosulfonamidas con distintos monosacáridos, obteniendo buenos resultados como inhibidores de la CA IX (IC_{50} = 0.54–0.95 μ M) (Figura 2.3.5).

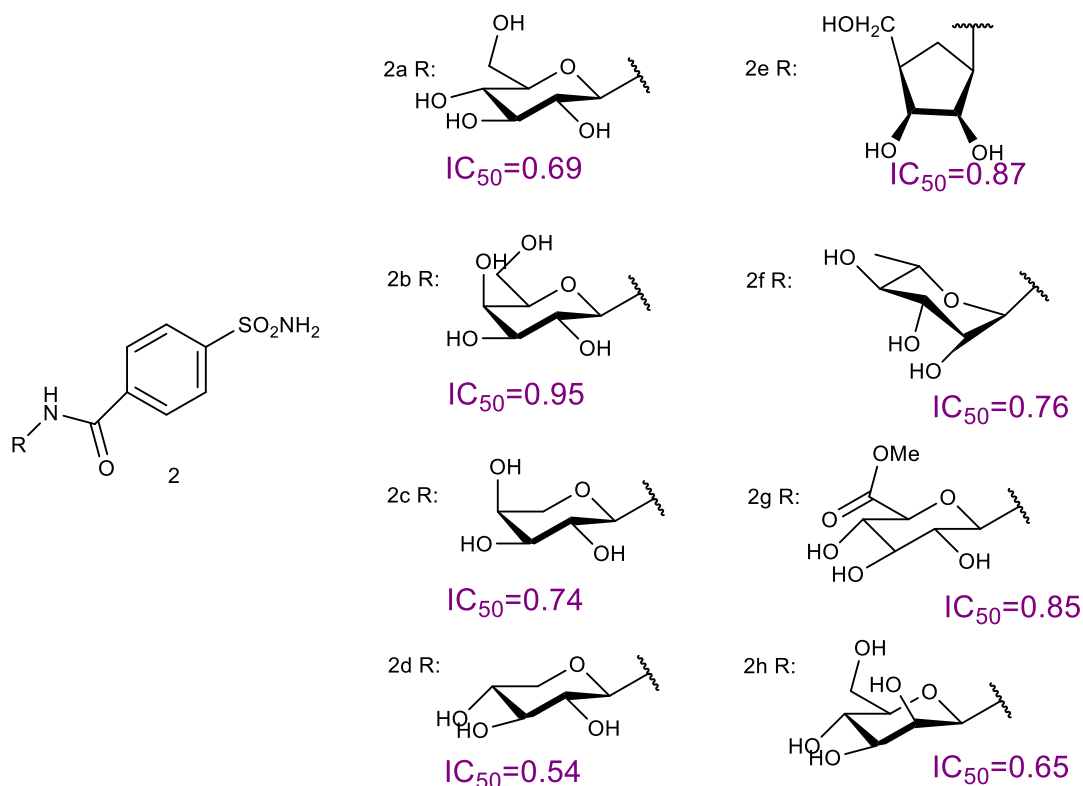


Figura 2.3.5. Estructuras de los compuestos de cola de azúcar 2a – 2h.

Glicosiltriazoles como CAI

Este tipo de compuestos se originan a partir de una glicosil azida (mono o disacáridos), a través de una reacción de cicloadición con alquinos derivados de sulfonamidas, en condiciones de *click chemistry* dando origen a los 1,2,3- triazoles. Diversos compuestos de esta familia han sido ensayados como inhibidores de las

³⁰ Hou, Z., Li, C., Liu, Y., Zhang, M., Wang, Y., Fan, Z., Guo, C., Lin, B., Liu, Y. (2019). Design, synthesis and biological evaluation of carbohydrate-based sulphonamide derivatives as topical antiglaucoma agents through selective inhibition of carbonic anhydrase II. *Journal Of Enzyme Inhibition And Medicinal Chemistry*, 35(1), 383-390. <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1705293>

Figura 2.3.6 Estructuras de los compuestos glicosiltriazales 3a -3e´.

Huisgen³² en 1961 reportó la cicloadición alquino-azida, para la obtención de 1,2,3-triazoles con productos regioespecíficos 1,4 y 1,5 bajo condiciones térmicas, sin catalizadores y con disolventes como tolueno o tetracloruro de carbono y tiempos de reacción entre 12 h y 60 h.

Posteriormente se realizó una modificación agregándole un catalizador como el cobre (I) siendo suave y eficiente para producir 1,2,3-triazoles disustituídos en posiciones 1,4.³³ Sharpless en 2001 acuñó el término *click chemistry* para la síntesis de estructuras complejas a partir de moléculas pequeñas mediante enlaces carbono-heteroátomo, teniendo como características:

- Reacción compatible con agua y oxígeno.
- Síntesis sencilla.
- Altamente selectiva
- Procesos de purificación simples.

Este concepto llevó a Sharpless a recibir el Premio Nobel de Química en 2001, lo que motivó a la comunidad científica a utilizar esta reacción para obtener nuevos compuestos de manera fácil y rápida.³⁴

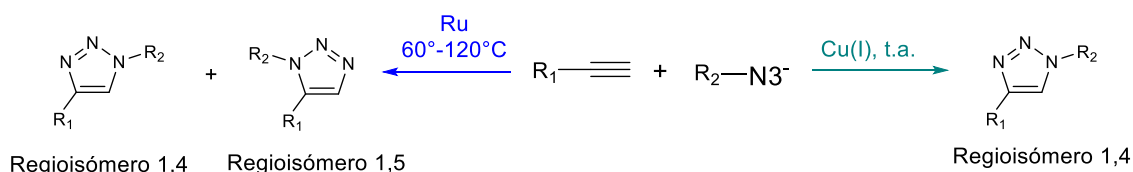
El término *click chemistry* se aplica a un tipo de reacción química altamente eficiente, rápida y selectiva, diseñada para formar enlaces carbono-heteroátomo (C—X—C) mediante procesos que son generalmente irreversibles y exotérmicos. Una de las reacciones más representativas de esta metodología es la cicloadición 1,3-dipolar entre azidas y alquinos terminales, que da lugar a la formación de 1,2,3-triazoles. Este proceso, catalizado generalmente por cobre (CuAAC), se lleva a cabo en condiciones suaves,

³² Huisgen, R. (1963). 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. *Angewandte Chemie International Edition*, 2(10), 565-598. <https://doi.org/10.1002/anie.196305651>

³³ Tornøe, C. W., Christensen, C., Meldal, M. (2002). Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. *The Journal Of Organic Chemistry*, 67(9), 3057-3064. <https://doi.org/10.1021/jo011148j>

³⁴ Jewett, J. C., Bertozzi, C. R. (2010). Cu-free click cycloaddition reactions in chemical biology. *Chemical Society Reviews*, 39(4), 1272. <https://doi.org/10.1039/b901970g>

proporcionando productos de manera confiable y con alta especificidad. El uso de cobre como catalizador no solo aumenta la velocidad de la reacción hasta 10^7 veces, sino que además garantiza la regioselectividad, favoreciendo la formación de un solo regioisómero. En cambio, cuando se utiliza rutenio como catalizador, se obtiene una mezcla de regioisómeros, lo que reduce la selectividad del proceso (Esquema 2.3.1).³⁵⁻³⁷



Esquema 2.3.1. Reacción de cicloadición alquino azida con diferentes catalizadores.

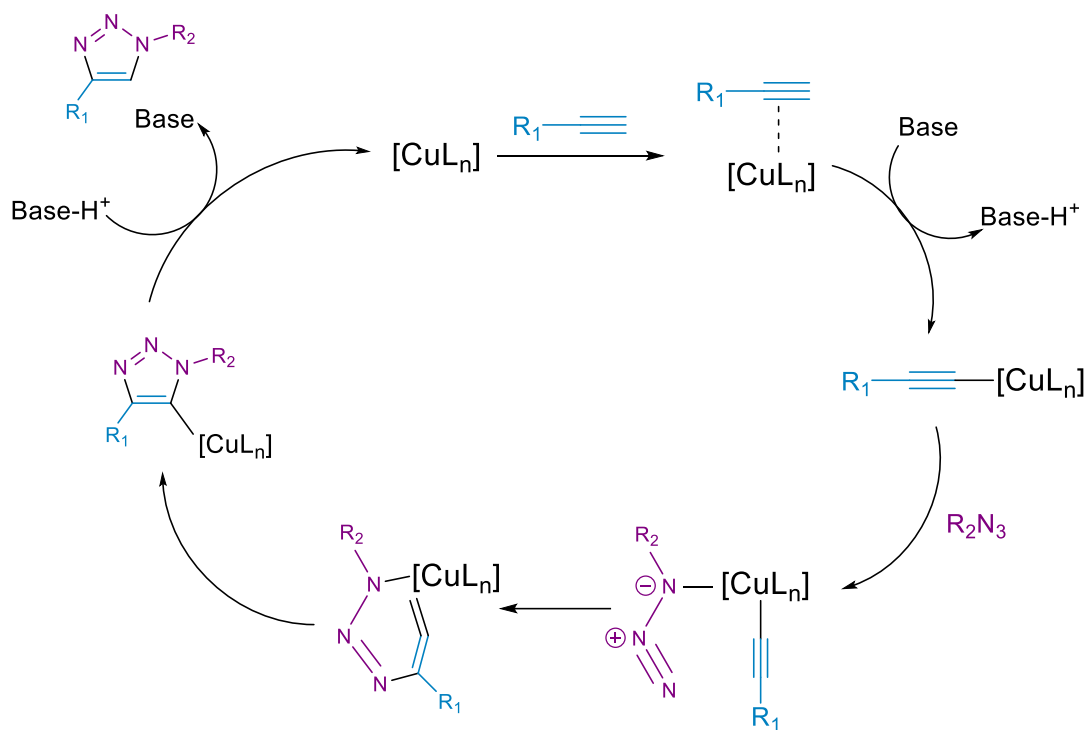
El mecanismo de la reacción de cicloadición comienza con la desprotonación del alquilo por medio de una base, o bien en ausencia de esta por la coordinación del enlace π del $\text{C}\equiv\text{C}$ al átomo de cobre. A continuación, la azida actúa como ligando débil σ -donador al Cu(I) , la adición nucleofílica del átomo de nitrógeno terminal de la azida al carbono sustituido del acetileno conduce a un metalociclo, que tras un proceso de contracción del anillo da lugar a un 3-triazolil complejo de cobre. Este intermedio ha podido ser aislado del medio de reacción mediante su estabilización estérica con ligandos auxiliares voluminosos. Finalmente, en una etapa de protonación se libera el triazol y se regenera el catalizador³⁸ (Esquema 2.3.2).

³⁵ Hou, J., Liu, X., Shen, J., Zhao, G., Wang, P. G. (2012). The impact of click chemistry in medicinal chemistry. *Expert Opinion On Drug Discovery*, 7(6), 489-501. <https://doi.org/10.1517/17460441.2012.682725>

³⁶ Kolb, H. C., Sharpless, K. (2003). The growing impact of click chemistry on drug discovery. *Drug Discovery Today*, 8(24), 1128-1137. [https://doi.org/10.1016/s1359-6446\(03\)02933-7](https://doi.org/10.1016/s1359-6446(03)02933-7)

³⁷ Johansson, J. R., Beke-Somfai, T., Stålsmeden, A. S., Kann, N. (2016). Ruthenium-Catalyzed Azide Alkyne Cycloaddition Reaction: Scope, Mechanism, and Applications. *Chemical Reviews*, 116(23), 14726-14768. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00466>

³⁸ Suarez A. (2012). Reacciones de cicloadición 1, 3-dipolares a alquinos catalizadas por cobre. *Anales de Química de la RSEQ*, 108(4), 306-313. <https://analesdequimica.es/index.php/AnalesQuimica/article/view/93/92>



Esquema 2.3.2. Mecanismo de cicloadición azida-alquino catalizada por Cu(I)

Los complejos de cobre que se utilicen para esta reacción deben formar el estado de oxidación Cu (I) por ejemplo para el CuSO_4 se usa ascorbato de sodio como agente reductor para la reformación de especies reactivas de Cu(I) ³⁹ debido a que de esta forma sustituye el hidrógeno de la posición terminal del alquino.⁴⁰

³⁹ Jankovič, D., Virant, M., Gazvoda, M. (2022). Copper-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition of Hydrazoic Acid Formed In Situ from Sodium Azide Affords 4-Monosubstituted-1,2,3-Triazoles. *The Journal Of Organic Chemistry*, 87(6), 4018-4028. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c02775>

⁴⁰ Beutick, S. E., Vermeeren, P., Hamlin, T. A. (2022). The 1,3-Dipolar Cycloaddition: From Conception to Quantum Chemical Design. *Chemistry - An Asian Journal*, 17(17). <https://doi.org/10.1002/asia.202200553>

3. Antecedentes

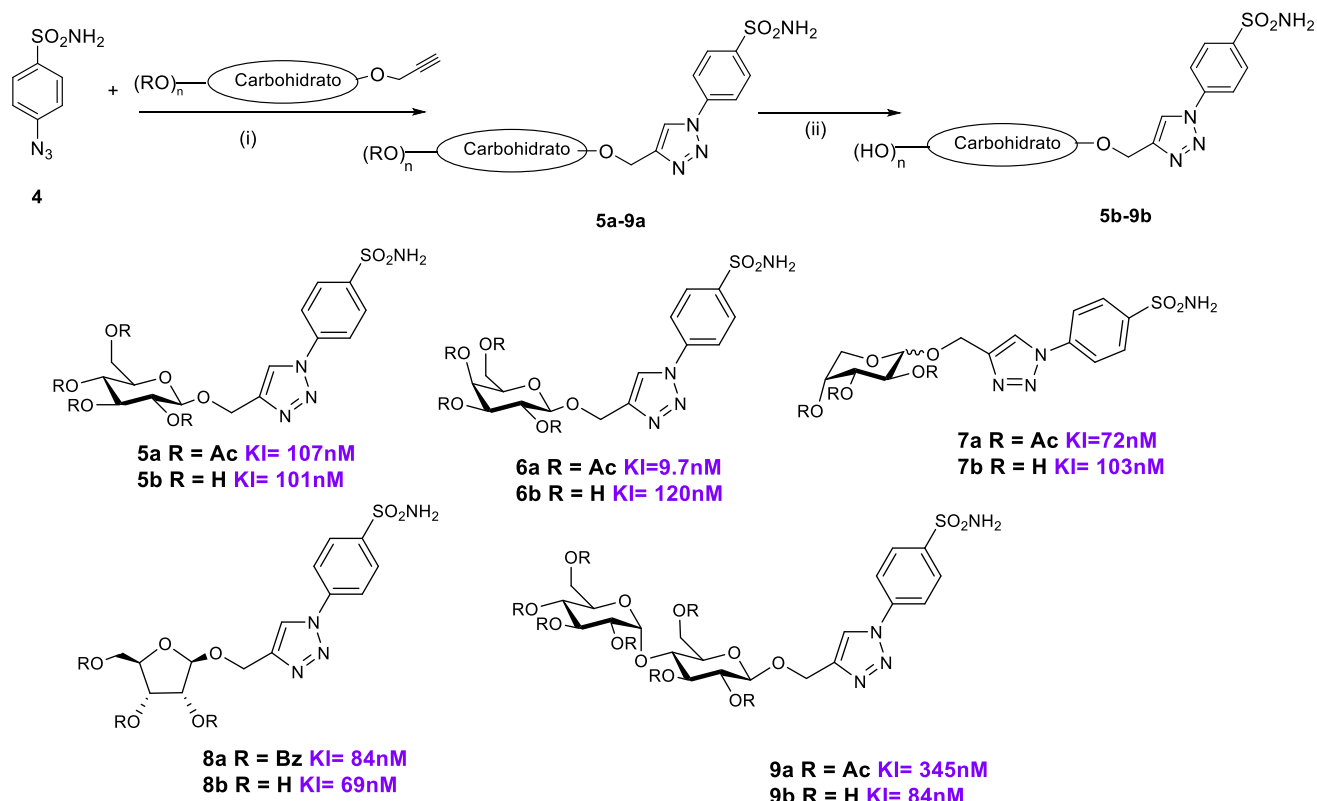
A largo del tiempo se han diseñado diferentes triazoles como inhibidores de CAs que tienen buena actividad inhibitoria y selectividad para las isoformas CA IX y XII.

Dado que los carbohidratos desempeñan un papel importante al tener la capacidad para difundirse a través de las membranas celulares, se han desarrollado fármacos basados en estos, los cuales mostraron afinidad y estabilidad, pero con una biodisponibilidad deficiente.⁴¹ Como se mencionó previamente Wilkinson y col.³¹ sintetizaron una familia de triazoles derivados de carbohidratos conjugados con sulfonamidas que resultaron ser inhibidores potentes y selectivos de la CA IX.

Posteriormente se llevó a cabo la síntesis de nuevos derivados de esta familia a partir de la 4-azidobencenosulfonamida **4** obtenida mediante una transferencia diazónica en condiciones neutras, y los O-propil glicósidos (D-glucosa, D-galactosa, D-arabinosa, D-ribosa y maltosa) sintetizados a través de la glicosilación catalizada por un ácido de Lewis (BF₃·Et₂O o SnCl₄).⁴² La reacción de cicloadición catalizada por Cu (I) entre la 4-azidobencenosulfonamida **4** y glicósidos de propargilo condujo a la formación de cinco sulfonamidas glicoconjugadas con una cola de triazol-O-glicosilado (**5a-9a**). Finalmente se removieron los grupos protectores del fragmento sacarídico para generar los compuestos hidroxilados **5b-9b** (Esquema 3.1).

⁴¹ Drinnan, N., Vari, F. (2003). Aspects of the Stability and Bioavailability of Carbohydrates and Carbohydrate Derivatives. *Mini-Reviews In Medicinal Chemistry*, 3(7), 633-649. <https://doi.org/10.2174/1389557033487737>

⁴² Wilkinson, B. L., Bornaghi, L. F., Houston, T. A., Innocenti, A., Vullo, D., Supuran, C. T., Poulsen, S. (2007). Carbonic Anhydrase Inhibitors: Inhibition of Isozymes I, II, and IX with Triazole-Linked O-Glycosides of Benzene Sulfonamides. *Journal Of Medicinal Chemistry*, 50(7), 1651-1657. <https://doi.org/10.1021/jm061320h>



Esquema 3.1. Síntesis de los compuestos **5b-9b**.

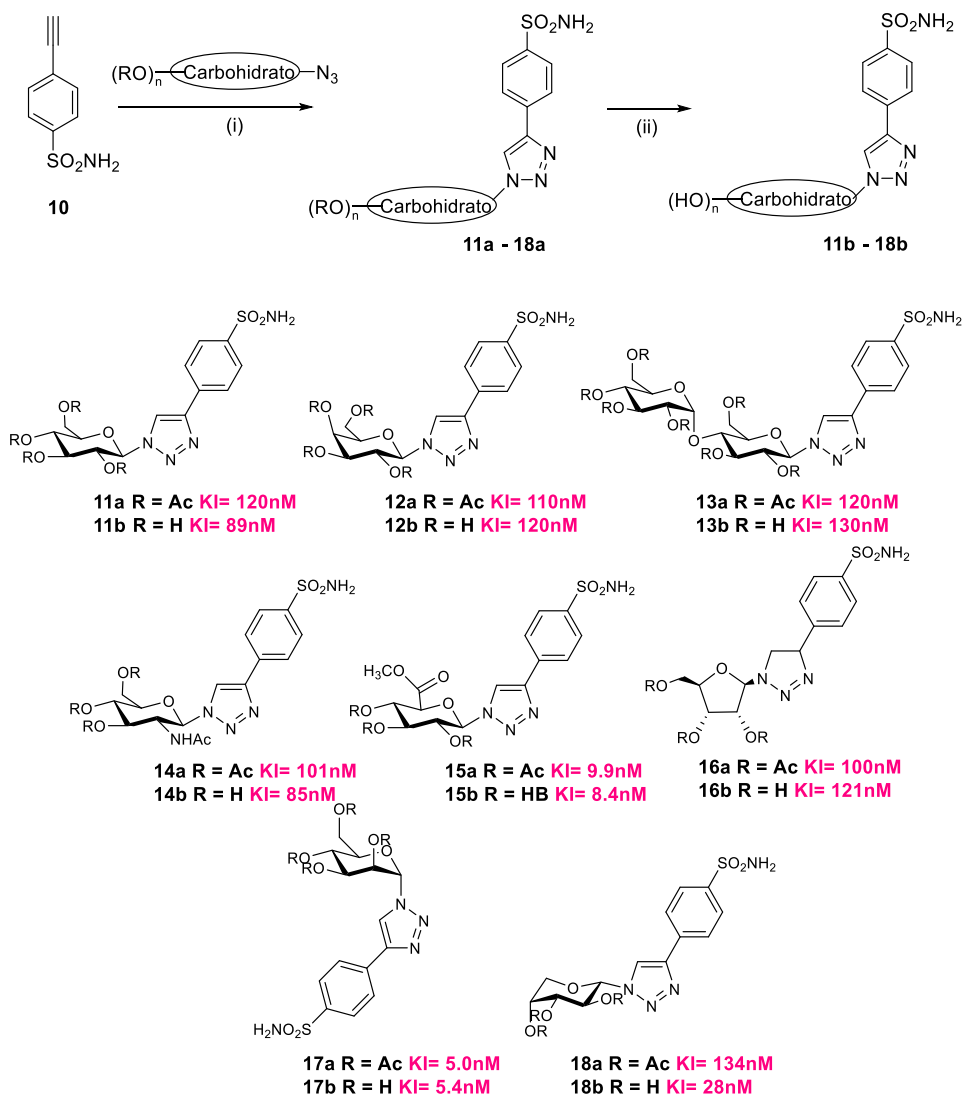
El compuesto **6a**, derivado de D-galactosa) mostró una potente inhibición sobre la CA XI con una K_i de 9.7 nM, lo que indica que este tipo de compuestos pueden inhibir el crecimiento de células cancerígenas.

Siguiendo esta misma estrategia se sintetizaron 16 nuevos triazoles.⁴³ A partir de la 4-yodobencenosulfonamida a través de un acoplamiento de Sonagashira con trimetilsililacetileno, seguido de una desprotección del sililo mediada por fluor, se obtuvo la 4-etilbencenosulfonamida **10**. Posteriormente el compuesto **10** se hizo reaccionar con ocho azidoglicósidos (D-glucosa, D-galactosa, N-acetil D-glucosamina, maltosa, ácido glucurónico, D-ribosa, D-manosa y D-arabinosa) produciendo las glicosiltriaazolbencenosulfonamidas **11a – 18a** que tras desprotección dieron origen a los triazoles **11b – 18b** con rendimientos buenos (Esquema 3.2).

⁴³ Wilkinson, B. L., Innocenti, A., Vullo, D., Supuran, C. T., Poulsen, S. (2008). Inhibition of Carbonic Anhydrases with Glycosyltriaazole Benzene Sulfonamides. *Journal Of Medicinal Chemistry*, 51(6), 1945-1953. <https://doi.org/10.1021/jm701426t>

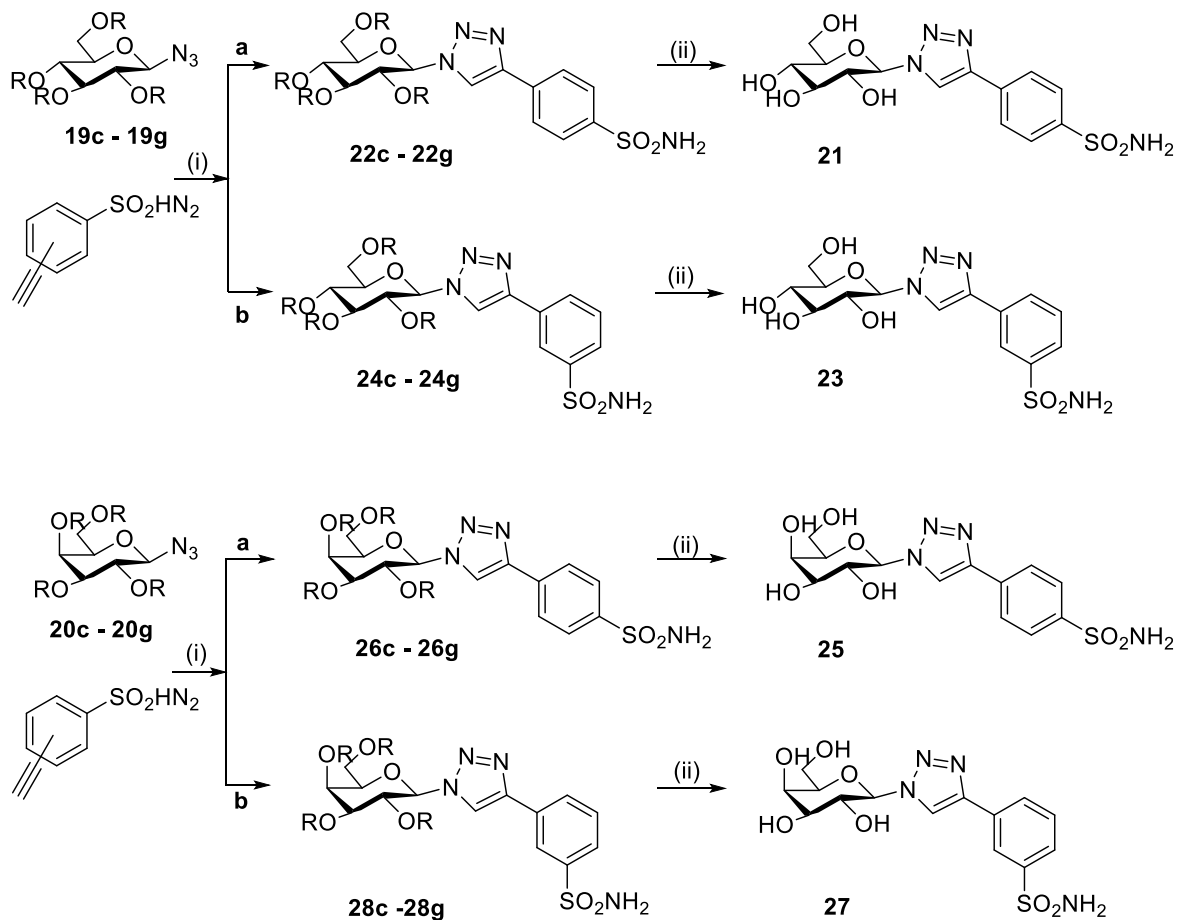
La configuración entre la aril sulfonamida y el carbohidrato, genera un medio conveniente y poderos para generar ICA debido a que la región del carbohidrato tiene una variabilidad estereoquímica y estructural que permite el reconocimiento de la estructura del sitio activo y el diseño potencial de inhibidores neutros y solubles en agua, permitiendo atacar específicamente las isoformas de CA extracelular.

Se demostró que los compuestos **15a** y **15b** son potentes inhibidores de CA IX con valores de K_i de 9.9 y 8.4 nM, respectivamente.



Esquema 3.2. Glicosiltriazol bencenosulfonamidas **11b–18b**.

Si bien, los anteriores compuestos tienen buen rendimiento (87%) e inhiben a la isoforma CA IX, en busca de un mejor rendimiento Carroux y col.⁴⁴ en 2013, sintetizaron una serie de sulfonamidas glicoconjugadas como inhibidores de CA IX y XII. Estos productos se sintetizaron a partir de las β -D-glucopiranosilazidas O-protegidas (**19c – 19g**) y las β -D-galactopiranosilazidas O-protegidas (**20c–20g**), que se hicieron reaccionar con la 3-etenilbencenosulfonamida y la 4-etenilbencenosulfonamida.



Esquema 3.3. Glicosiltriazoles inhibidores de CA XI y XII

Estos compuestos glicoconjugados en su estructura tienen tres elementos importantes:

⁴⁴Carroux, C. J., Rankin, G. M., Moeker, J., Bornaghi, L. F., Katneni, K., Morizzi, J., Charman, S. A., Vullo, D., Supuran, C. T., Poulsen, S. (2013). A prodrug approach toward Cancer-Related Carbonic anhydrase inhibition. *Journal Of Medicinal Chemistry*, 56(23), 9623-9634. <https://doi.org/10.1021/jm401163e>

- I. Grupo de unión a zinc (ZBG): bencenosulfonamida, que bloquea el sitio activo de la CA, el anión R-SO₂NH es capaz de interactuar con Zn (II), bloqueando así la reacción endógena.
- II. Resto hidrofóbico: 1,2,3-triazol, este actúa como espaciador covalente no lábil y biocompatible entre la bencenosulfonamida y el carbohidrato.
- III. Cola: resto de carbohidrato (D-glucosa o D-galactosa), que actuará como profármaco.

Los compuestos derivados de glucosa mostraron una actividad potente en la inhibición de las CA XI y XIII.

4. Objetivos

4.1 General

1. Desarrollar la síntesis de triazoles glicosídicos funcionalizados con un fragmento de bencensulfonamida como potenciales inhibidores de las anhidrasas carbónicas IX y XII las cuales están relacionadas en procesos cancerígenos.

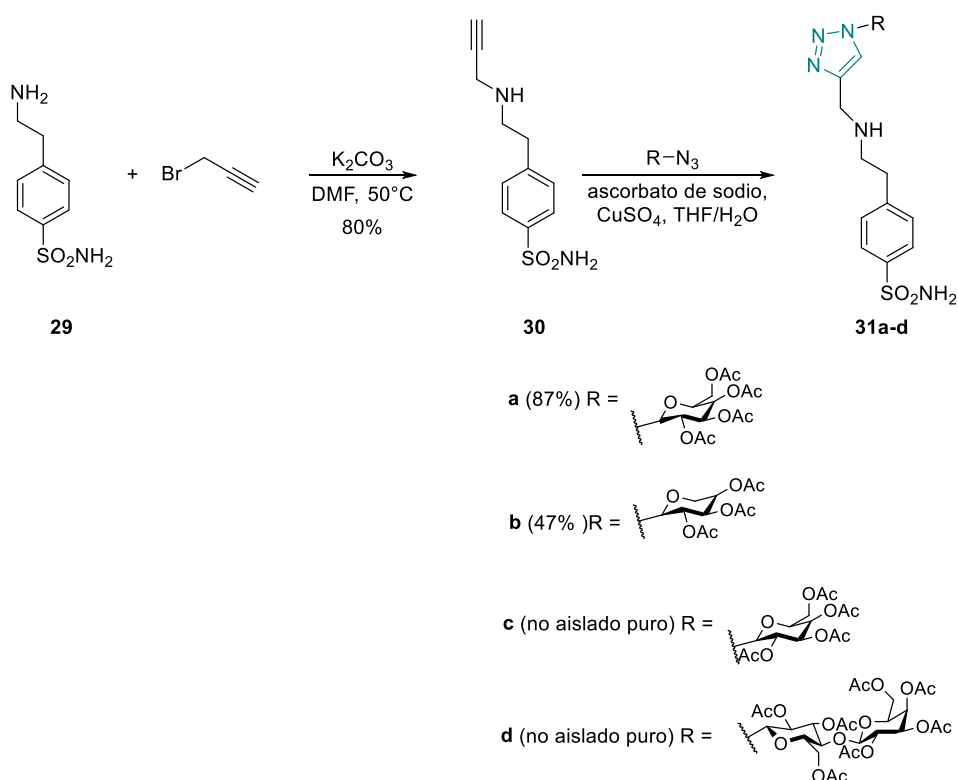
4.2 Objetivos particulares

1. Realizar la síntesis de alquilación de bencenosulfonamidas comerciales.
2. Sintetizar los compuestos 1,2,3-triazoles en posición 1,4 a partir de una reacción de tipo click chemistry.
3. Caracterizar los compuestos obtenidos mediante métodos físicos y espectroscópicos.
4. Evaluar *in silico* las propiedades fisicoquímicas y ADME de los compuestos sintetizados
5. Realizar el *Docking molecular* de los compuestos obtenidos frente a la enzima anhidrasa carbónica CA IX, utilizando el software MOE.

5. Discusión de los resultados

En el presente, trabajo se utilizó una bencenosulfonamida comercial, que fue propargilada y posteriormente sometida a una reacción de cicloadición 1,3-dipolar con diferentes azidoglicósidos para obtener los correspondientes triazoles con posible actividad inhibitoria para las enzimas CA IX y XII.

A partir de la 4-(2-aminoetil)bencenosulfonamida **29** se llevó a cabo la alquilación con bromuro de propargilo⁴⁵ en presencia de K_2CO_3 como catalizador. La reacción transcurre a través de un mecanismo S_N2 donde el par de electrones libre del átomo de nitrógeno se une al carbono electrofílico expulsando bromo como grupo saliente. Se llevó a cabo la purificación del compuesto por medio de cromatografía en columna, debido a la naturaleza polar del fragmento sulfonamida, fue necesario realizar la purificación en presencia de trietilamina, teniendo así un rendimiento del 58% (Esquema 5.1).



⁴⁵ Sakai, N., Suzuki, H., Hori, H., Ogiwara, Y. (2016). One-pot preparation of pyrrole derivatives via the copper-catalyzed [4+1] annulation of propargylic amines with ethyl glyoxylate and phenylglyoxal in the presence of piperidine. *Tetrahedron Letters*, 58(1), 63-66. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2016.11.097>

Esquema 5.1. Síntesis de los derivados **31a-d**.

La estructura del compuesto **30** fue elucidada con ayuda de espectroscopia de resonancia magnética nuclear; en el espectro de ^1H -RMN del compuesto **30** (Figura 5.1), se observan dos señales que integran cada una para dos protones entre 7.75 y 7.34 ppm característicos de los sistemas aromáticos, por otra parte a frecuencias bajas se observa una señal simple en 3.23 ppm que integra para un protón correspondiente al CH terminal del alquino, y de 2.6 a 2.8 ppm se encuentran las señales correspondientes a los metilenos de la cadena alifática.

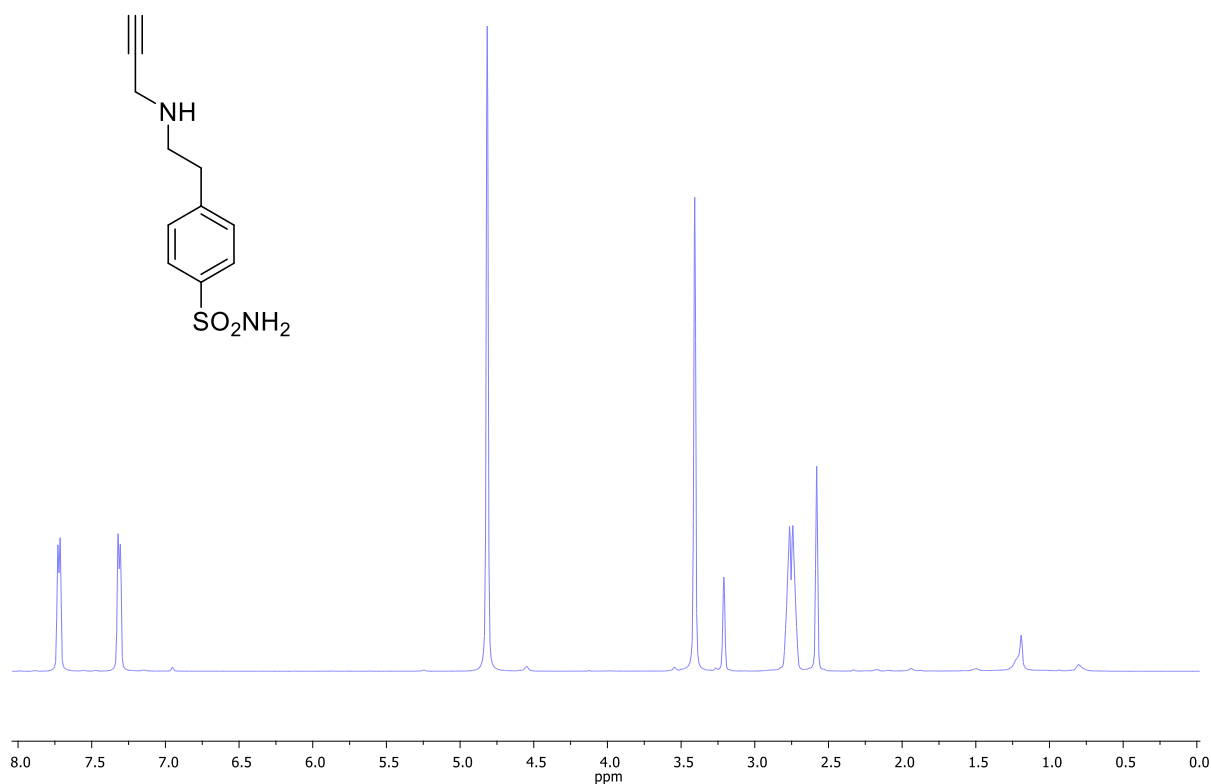


Figura 5.1. Espectro de ^1H -RMN (500 MHz, CD_3OD) del producto **30**.

En el espectro de ^{13}C -RMN (Figura 5.2) se observan las señales correspondientes a los carbonos del alquino en 79.0 y 75.0 ppm respectivamente, en 130.3 y 127.3 ppm se encuentran las señales correspondientes a los carbonos del anillo aromático, y entre 75.0 y 34.5 ppm están las señales de la cadena carbonada.

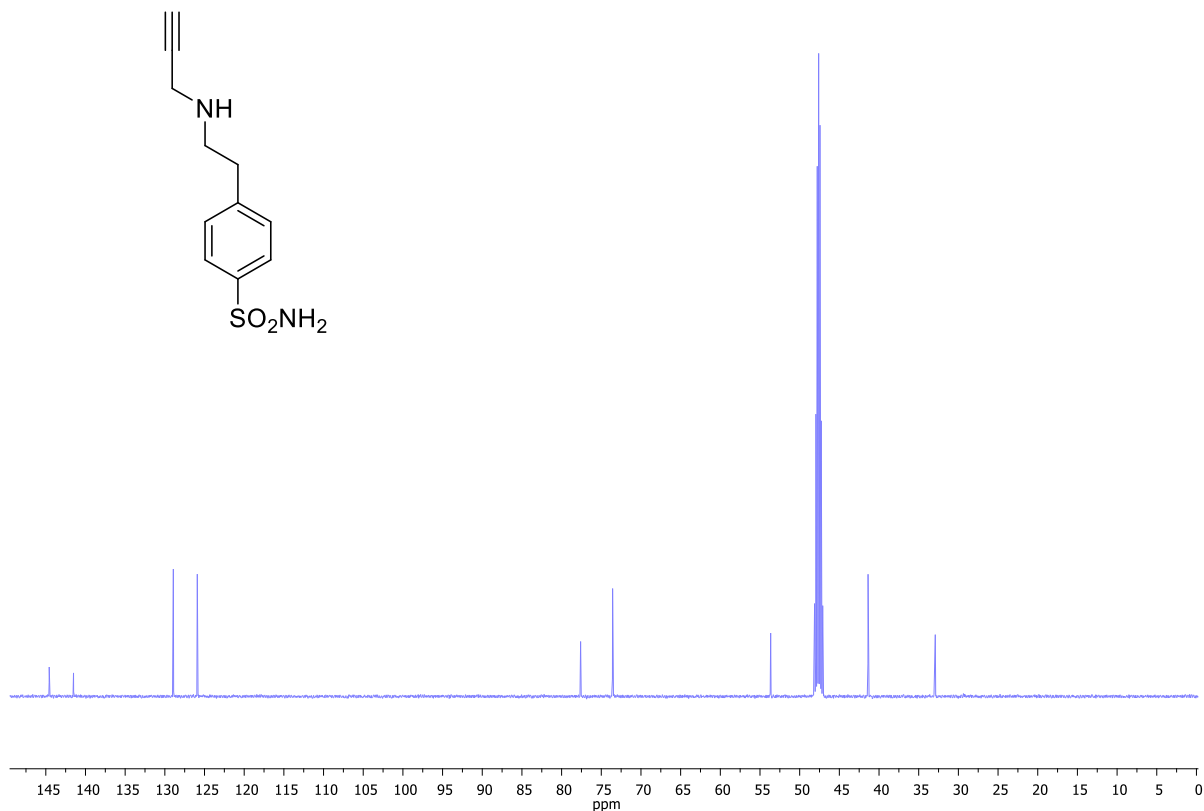


Figura 5.2. Espectro de ^{13}C -RMN (125.7 MHz, CD_3OD) del producto **30**.

Posteriormente la sulfonamida propargilada se hizo reaccionar con diferentes azidas glicosiladas en condiciones de *click chemistry*, obteniendo los triazoles **31a-d** (Esquema 5.1). Se realizó la purificación de los compuestos mediante cromatografía en columna, utilizando un sistema de eluyentes $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (60:1→20:1→4:1) y trietilamina, sin embargo, solo fue posible aislar de manera pura los compuestos **31a** (87%) y **31b** (47%).

En el espectro de ^1H -RMN del compuesto **31a** (Figura 5.3), se observa la señal característica del protón del triazol en 8.08 ppm, en 7.81 y 7.39 ppm se encuentran las señales correspondientes a los protones aromáticos de la bencenosulfonamida, el cuerpo del carbohidrato se observa entre 6.06 - 4.50 ppm, finalmente se distinguen 4 señales simples que integran cada uno para 3H correspondientes a los protones de los CH_3 de los grupos protectores acilo a 2.20, 2.01, 1.97, y 1.78 ppm respectivamente.

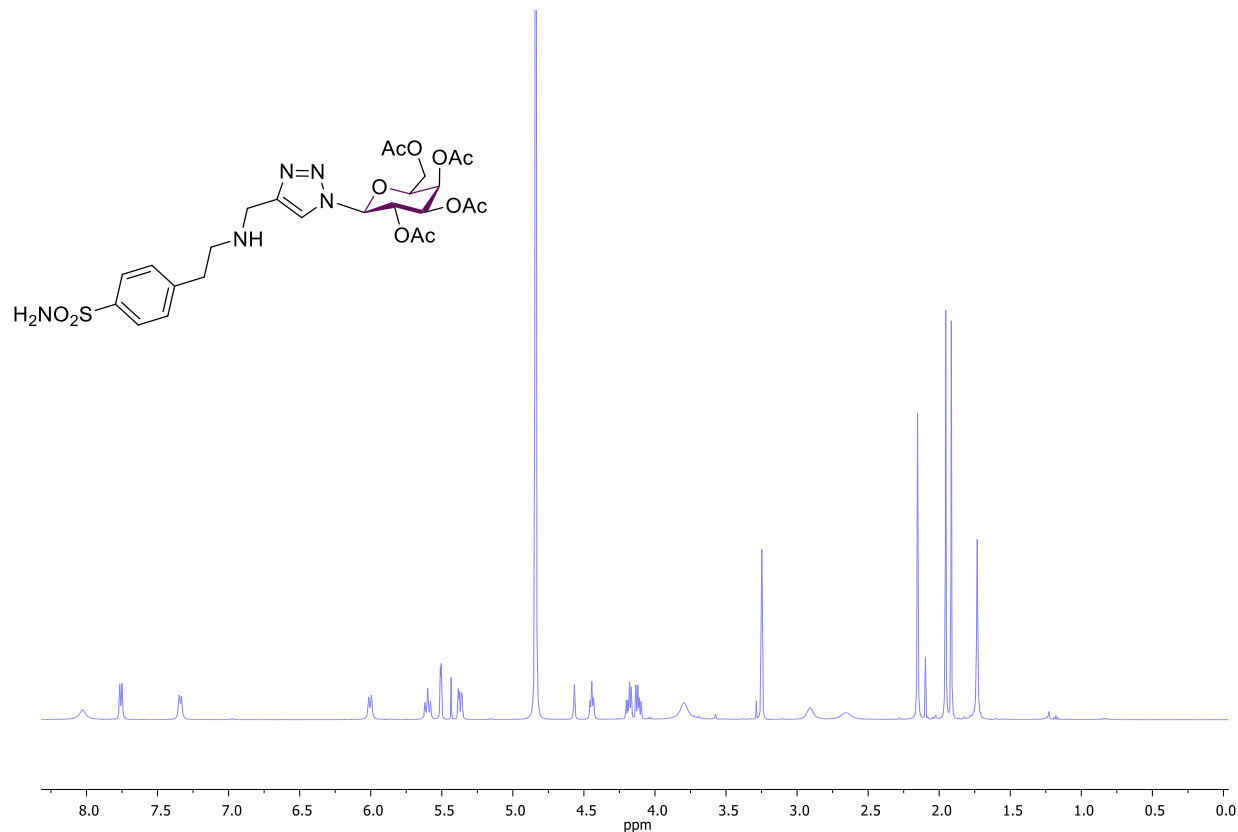


Figura 5.3. Espectro de ^1H -RMN (500 MHz, CD_3OD) del producto **31a**.

En el espectro de ^{13}C -RMN (Figura 5.4) se observan dos señales en 123.06 y 120.4 ppm correspondientes a C-4 y C-5 del triazol respectivamente, por otra parte, en 129.2 y 125.7 ppm se observan las señales correspondientes al anillo aromático de la bencenosulfonamida, a frecuencias más altas se encuentran 4 señales en 170.6, 170.5, 169.8 y, 169.1 ppm de los carbonos cuaternarios de los acetatos y entre 85.5 - 32.7 ppm se encuentran las señales de los carbonos correspondientes al carbohidrato.

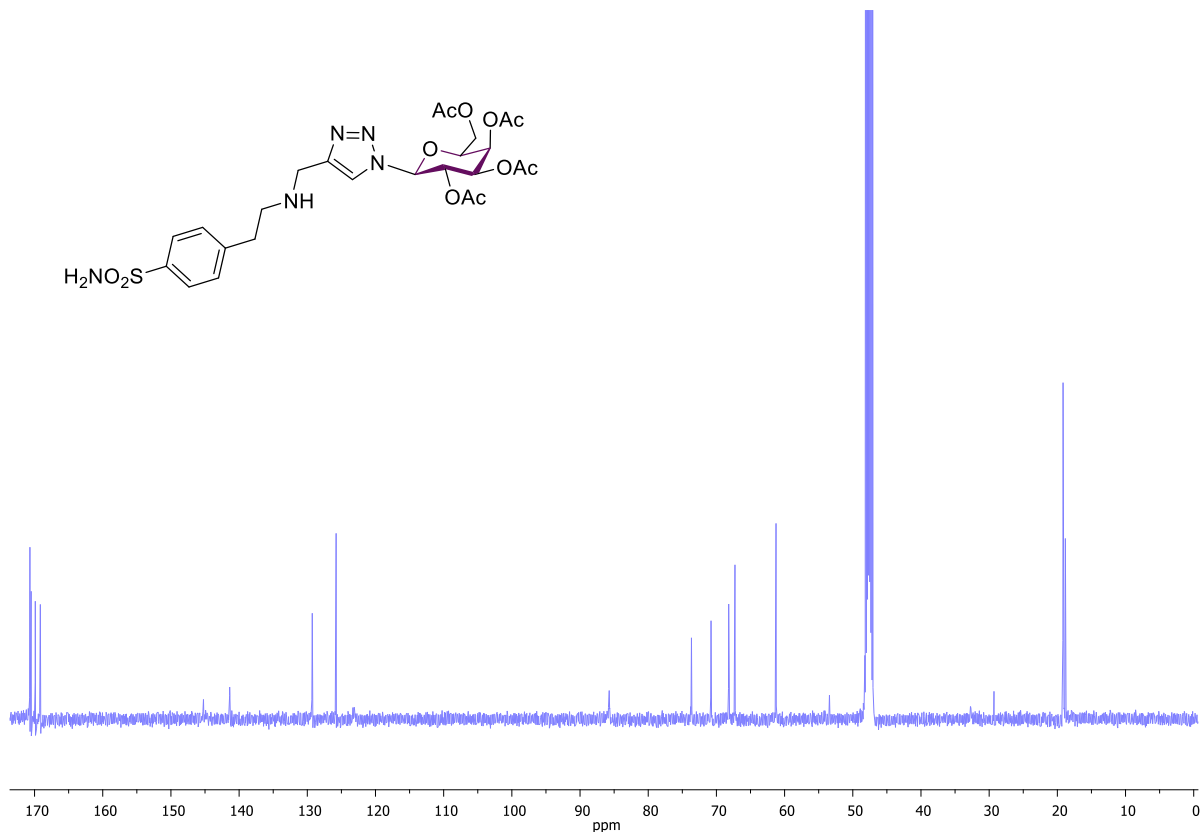
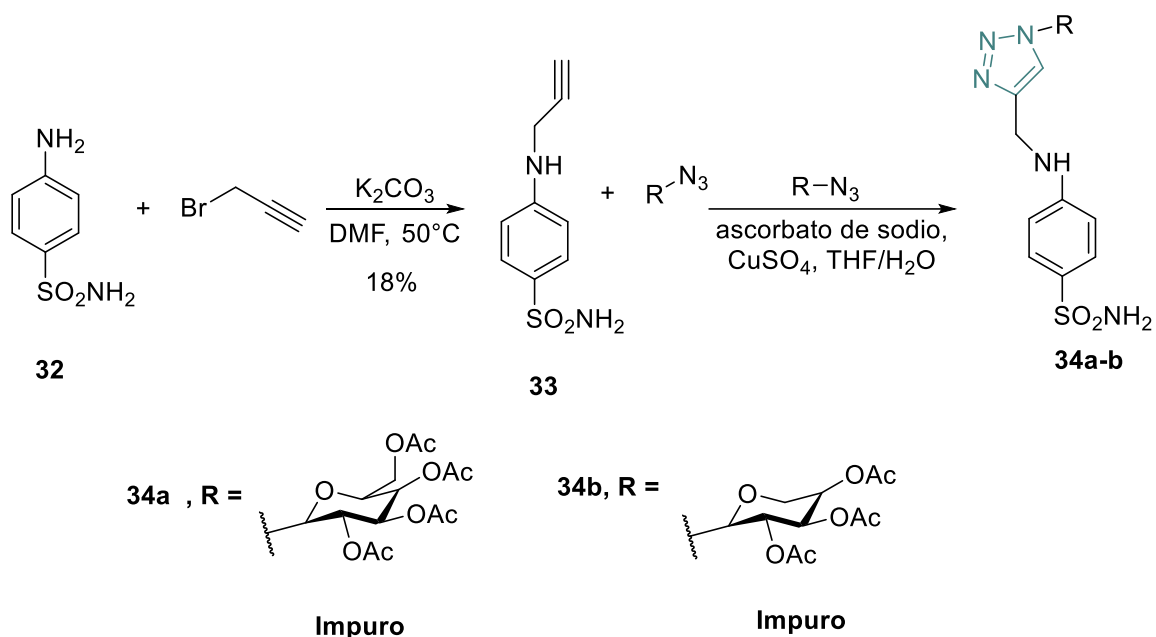


Figura 5.4. Espectro de ^{13}C -RMN (500 MHz, CD₃OD) del producto **31a**.

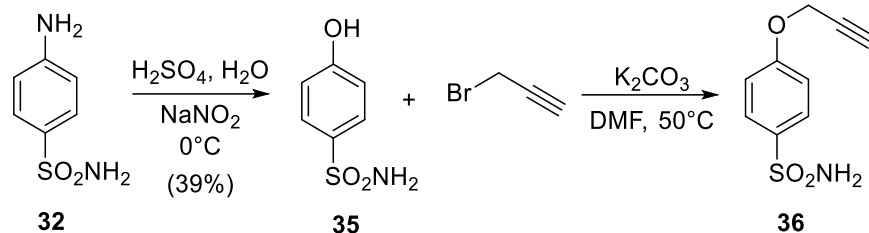
Una segunda aproximación sintética se realizó a partir de la 4-aminobenzenosulfonamida **32** siguiendo la metodología antes descrita, obteniendo el compuesto alquilado **33** con un rendimiento del 18%, posteriormente se llevó a cabo la reacción de cicloadición azida alquino catalizada por cobre para obtener los compuestos **34a** y **34b** (Esquema 5.2). No obstante mediante cromatografía en capa fina, fue posible observar la aparición de un nuevo compuesto, no fue posible aislarlos por cromatografía en columna.



Esquema 5.2 Síntesis de los derivados **34a-b**.

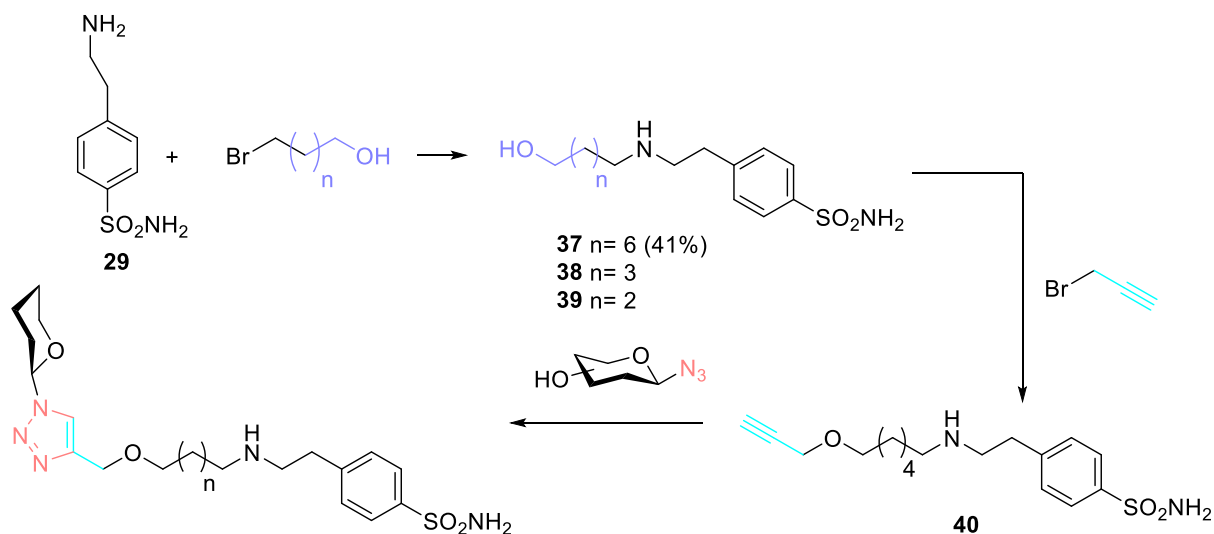
Se diseñó una nueva aproximación sintética sustituyendo el fragmento amina de la sulfonamida por un hidroxilo. Para ello se llevó a cabo una hidroxilación de la 4-aminobenzenosulfonamida **32** mediante una reacción de sustitución de sal de diazonio para obtener la 4-hidroxibenzenosulfonamida **35** con un rendimiento del 39%, la cual ya se encuentra reportada y sus datos espectroscópicos coinciden con los descritos en la bibliografía.⁴⁶ Posteriormente se ensayaron las condiciones para la alquilación del grupo alcohol siguiendo la metodología descrita anteriormente en presencia de K₂CO₃ para obtener el compuesto **36** (Esquema 5.3). Aunque por cromatografía en capa fina se pudo detectar la formación de un nuevo compuesto, no fue posible aislarlo y caracterizarlo.

⁴⁶ Schirmmacher, R., Weber, M., Schmitz, A., Shiue, C., Alavi, A. A., Feilen, P., Schneider, S., Kann, P., Rösch, F. (2002). Radiosynthesis of 1-(4-(2-[18F]fluoroethoxy)benzenesulfonyl)-3-butyl urea: a potential β-cell imaging agent. *Journal Of Labelled Compounds And Radiopharmaceuticals*, 45(9), 763-774. <https://doi.org/10.1002/jlcr.599>



Esquema 5.3. Síntesis del compuesto **36**.

Se propuso una nueva ruta sintética para la síntesis de un alquino precursor con el objetivo de utilizarlo en futuras reacciones de cicloadición con diversas azidas, lo que permitiría la obtención de una nueva familia de derivados triazólicos. Se ha planteado la incorporación de una cadena alquilada como espaciador entre el fragmento de 4-aminobencenosulfonamida y el anillo de triazol, con el objetivo de aumentar la distancia entre estos grupos funcionales (Esquema 5.4). Este diseño busca evaluar los cambios conformacionales inducidos por el espaciador y sus efectos en las interacciones con el sitio activo de las anhidrasas carbónicas. La presencia de una cadena alquilada podría alterar tanto la orientación como la accesibilidad de los grupos funcionales, influyendo en la afinidad y selectividad del inhibidor hacia las isoformas de interés, abriendo posibilidades para explorar la selectividad y afinidad de los compuestos resultantes. Aunque esta última etapa de la síntesis aún no se ha llevado a cabo, se consideró su implementación en etapas posteriores del estudio.



Esquema 5.4. Ruta sintética para la obtención de derivados de 4-aminobencenosulfonamida con un espaciador alquilado unido al anillo de triazol

Se llevaron a cabo intentos de alquilación empleando bromoalcoholes con diferentes longitudes de cadena, específicamente con cadenas de 6, 3 y 2 átomos de carbono, para la síntesis de los productos **37-39**. Para la alquilación se empleó la metodología antes descrita pero se empleó acetonitrilo como disolvente. Aunque la cromatografía en capa fina mostró la aparición de un nuevo producto en los ensayos con cadenas de 2 y 3 carbonos, no fue posible aislar ningún compuesto final. Solo en el caso de la cadena de 6 átomos de carbono se obtuvo la alquilación exitosa para dar el compuesto **40** (Esquema 5.4). Posteriormente, se intentó modificar la reacción usando NaH como base y KI como catalizador, pero tampoco se logró la obtención de los productos deseados bajo estas condiciones.

En la Figura 5.5. se muestra el espectro de ^1H -RMN del compuesto **37**, donde se puede observar en 7.77 ppm y 7.75 ppm dos señales que integran para dos protones correspondientes al anillo aromático, por otra parte, en 2.99 ppm se encuentra una señal que integra para dos protones correspondiente al $-\text{CH}_2\text{-OH}$, mientras que entre 2.94 -1.74 ppm resuenan los protones de la cadena alifática.

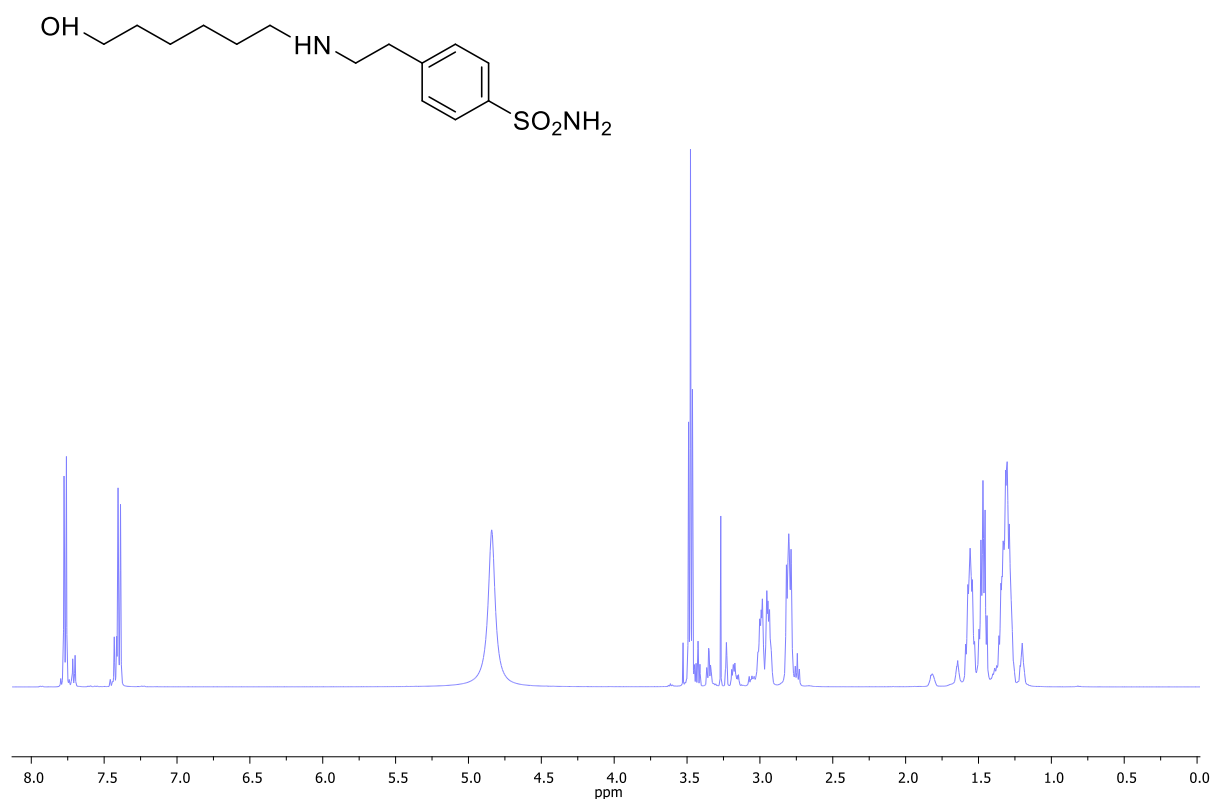


Figura 5.5. Espectro de ¹H-RMN (500 MHz, CD₃OD) del producto 37.

En el espectro de ¹³C-RMN (Figura 5.6) se observan señales en 129.2 y 126.1 ppm correspondientes a los carbonos aromáticos de la bencenosulfonamida, mientras que en 61.4 ppm se encuentra la señal del C-6'' y entre 54.2- 25.2 ppm se observan las señales de la cadena alifática.

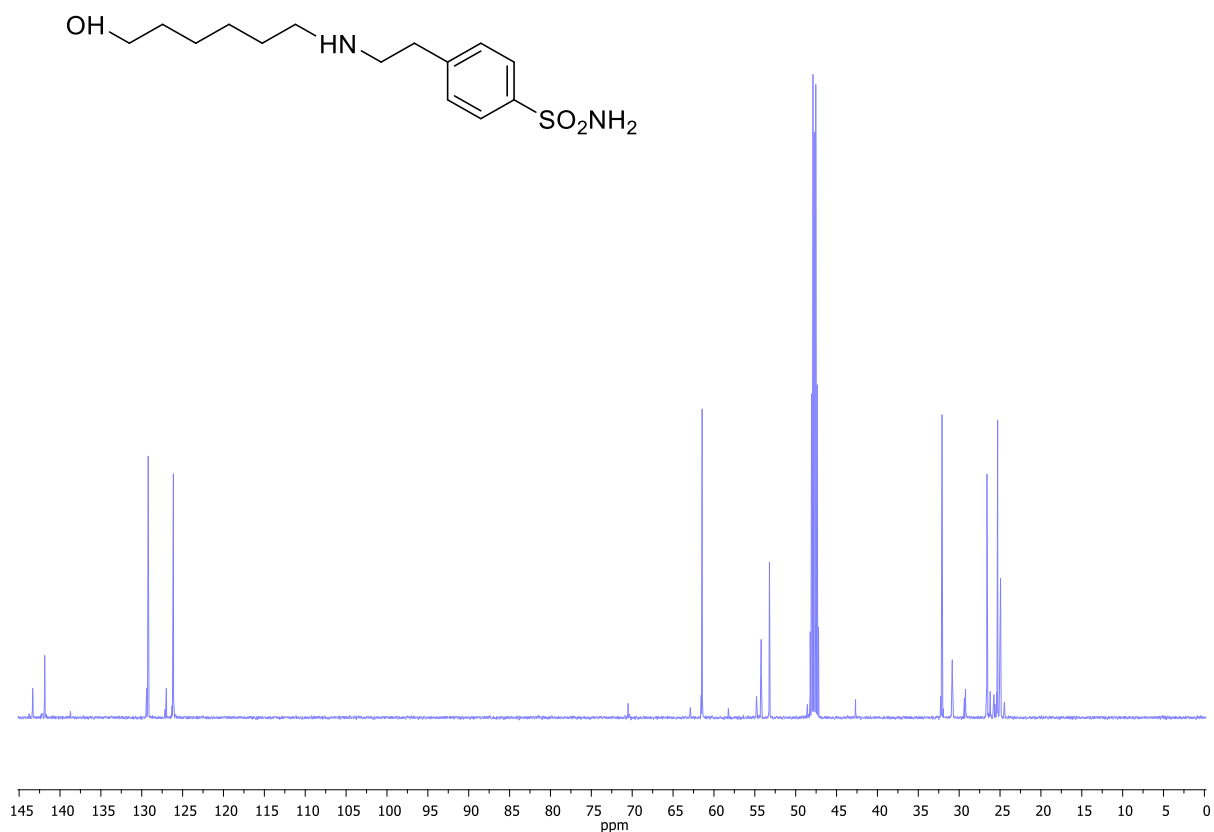
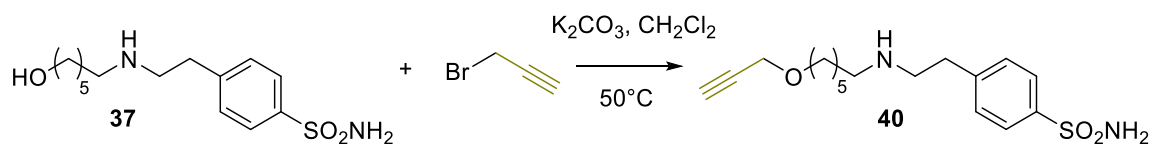


Figura 5.6. Espectro de ^{13}C -RMN (500 MHz, CD_3OD) del producto **37**.

El compuesto **37** se hizo reaccionar con el bromuro de propargilo para la obtención del compuesto **40** después de purificarlo por cromatografía en columna podemos observar el compuesto impuro. (**Esquema 5.5**)



Esquema 5.5. Síntesis del compuesto **40**

En la Figura 5.7 se muestra el espectro de ^1H -RMN del compuesto **40**, donde se observan a 7.78 y 7.50 ppm dos señales cada una integrando para dos protones característicos del anillo aromático de la bencenosulfonamida, en 3.47 ppm se encuentra un singulete que integra un protón correspondiente al C-H terminal del alquino y entre 3.58 - 1.49 ppm resuenan los protones de la cadena alifática.

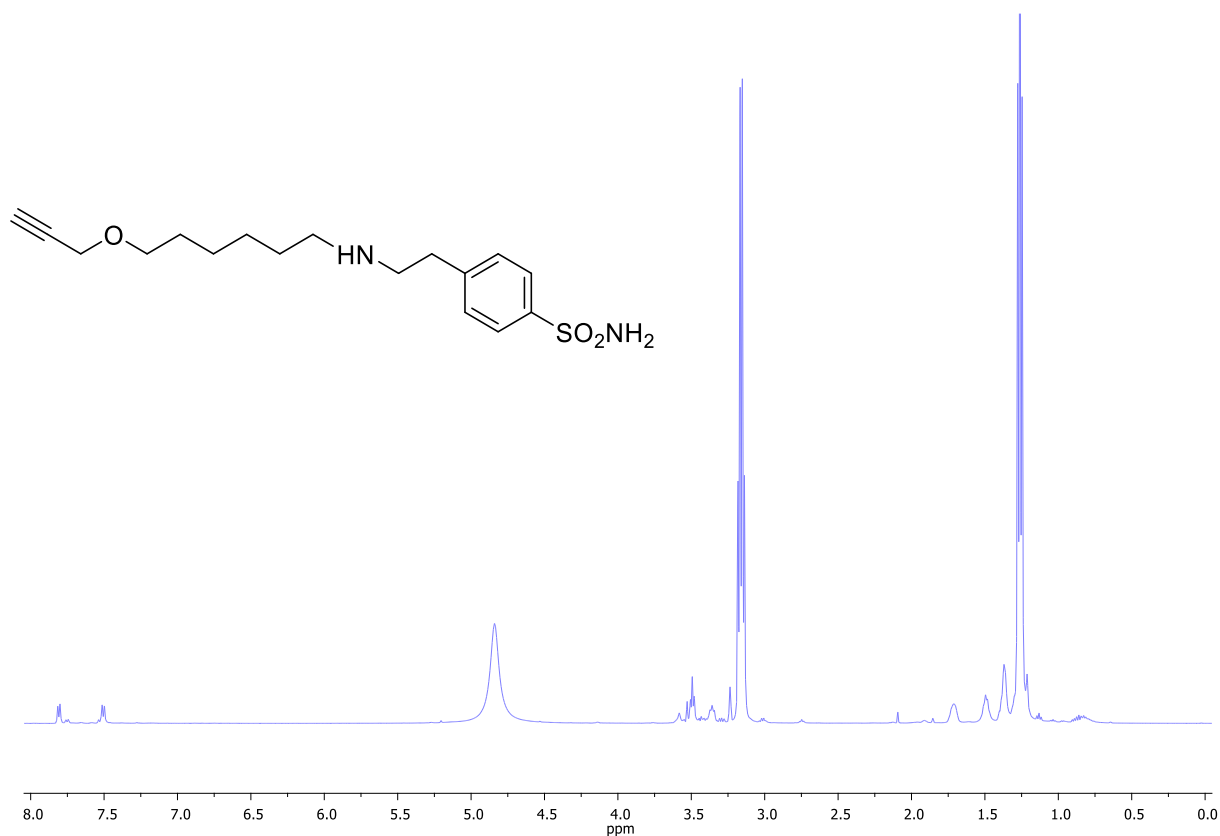


Figura 5.7. Espectro de ¹H-RMN (500 MHz, CD₃OD) del producto **40**.

En el espectro de ¹³C-RMN (Figura 5.8) se observan señales en 129.1 y 126.3 ppm correspondientes a los carbonos aromáticos, por otra parte, en 61.3 ppm se encuentra la señal de carbono del alquino terminal y entre 31.5 - 23.6 ppm aparecen las señales correspondientes a la cadena alifática.

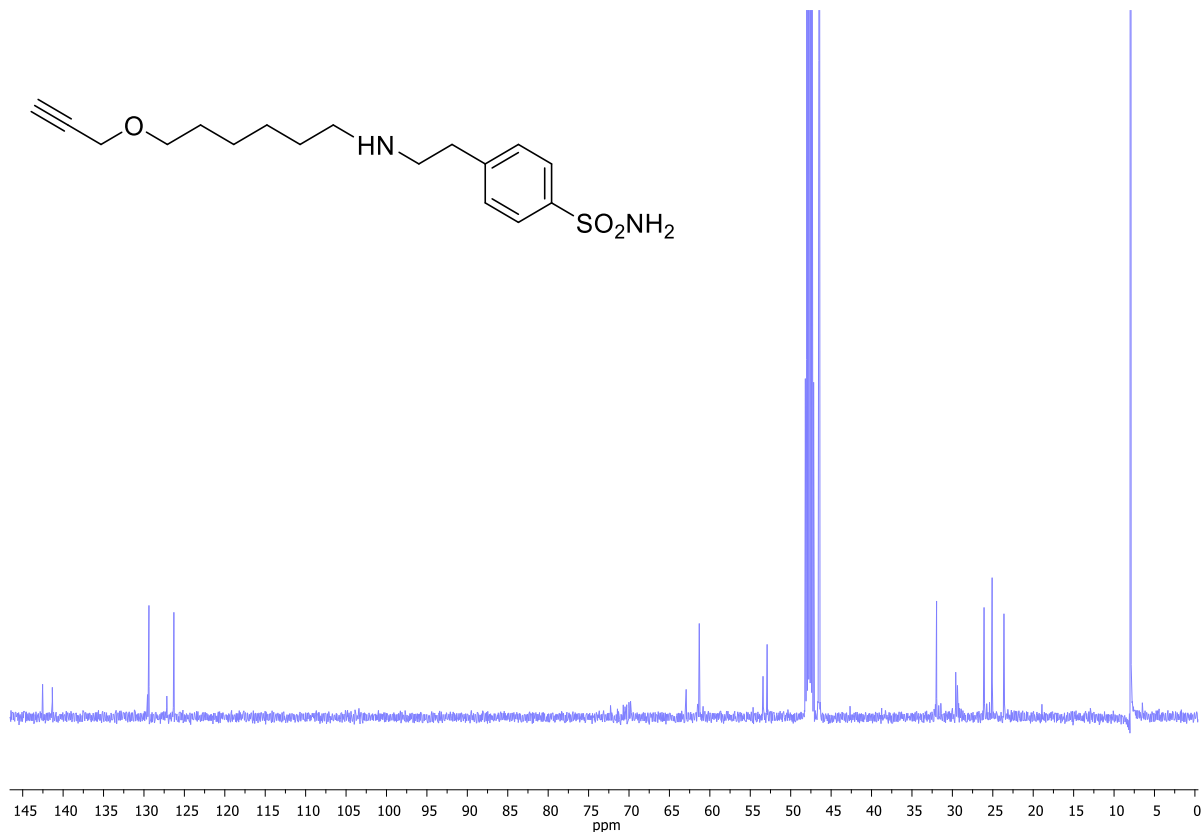
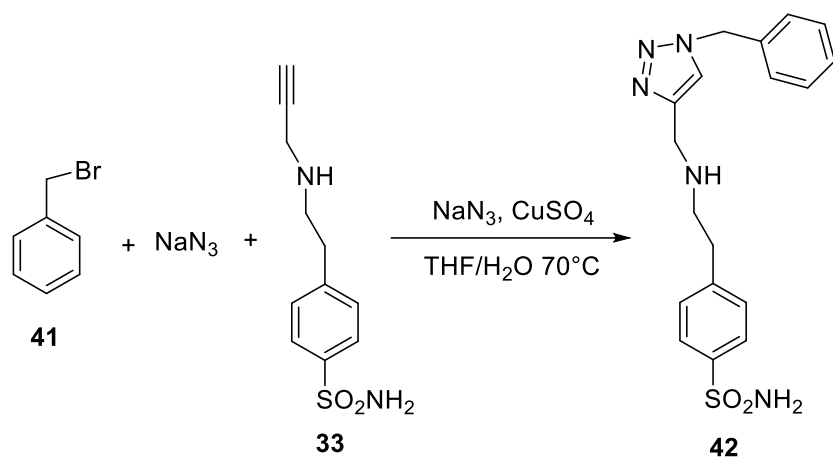


Figura 5.8. Espectro de ^{13}C -RMN (500 MHz, CD_3OD) del producto **40**.

Se llevó a cabo un ensayo para formar un triazol derivado del compuesto **33** mediante una reacción de cicloadición *one pot* catalizada por Cu(I) , utilizando azida de bencilo generada *in situ* a partir de bromuro de bencilo y NaN_3 . Aunque la cromatografía en capa fina indicó la formación de un nuevo compuesto, no se logró aislarlo debido a su alta polaridad (Esquema 5.6).



Esquema 5.6. Ruta sintética para la obtención del compuesto **42**.

6. Ensayos biológicos

6.1 Predicción de propiedades farmacocinéticas

Para desarrollar un nuevo fármaco es esencial comprender su mecanismo de acción, la respuesta del organismo (propiedades farmacodinámicas), su transformación a lo largo del tiempo y su toxicidad antes de pasar a los ensayos clínicos. En este sentido, el conocimiento de las propiedades farmacocinéticas —adsorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME)— es fundamental, pues de ellas depende en gran medida el éxito o el fracaso del compuesto.^{47,48} Por ello, el uso de programas de software que permiten realizar predicciones mediante ensayos *in silico* a partir de la estructura química de la molécula resulta de gran utilidad.

Estos programas se basan principalmente en la regla de cinco de Lipinski, que considera factores como el peso molecular, el Log P, el número de donadores de enlaces de hidrógeno y el número de aceptores de enlaces de hidrógeno. Estas reglas definen las propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas que sugieren si un compuesto activo tiene potencial para ser administrado por vía oral. Los parámetros establecidos en esta regla son:

- 1) Peso Molecular ≤ 500 g/mol.
- 2) Número de enlaces donadores de hidrogeno ≤ 5 .
- 3) Número de enlaces aceptores de hidrógeno ≤ 10 .
- 4) Lipofilicidad (Log p ≤ 5) — coeficiente de partición entre n-octanol y agua (log P o/w) < 4.15 .
- 5) Flexibilidad no más de 9 enlaces rotables (nrotb).

⁴⁷ Wu, F., Zhou, Y., Li, L., Shen, X., Chen, G., Wang, X., Liang, X., Tan, M., Huang, Z. (2020). Computational Approaches in Preclinical Studies on Drug Discovery and Development. *Frontiers In Chemistry*, 8. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00726>

⁴⁸ McGinnity, D., y Grime, K. (2016). ADME Optimization in Drug Discovery. En *Elsevier eBooks* (pp. 34-44). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-409547-2.12365-0>

La aplicación de principios farmacocinéticos (PK) en el descubrimiento y desarrollo de fármacos se ha vuelto generalizada debido al reconocimiento del papel de las concentraciones de fármaco como sustituto para medir los efectos farmacológicos. En farmacología, se establece que la magnitud de la respuesta farmacológica está en función de la concentración del fármaco en el sitio de acción. Así, el objetivo de la terapia es mantener una concentración adecuada del fármaco en el sitio de acción durante el tiempo necesario, sin llegar a niveles que produzcan efectos adversos. Generalmente, la concentración se mide en sangre o plasma, ya que la medición directa en el sitio de acción presenta desafíos. La farmacocinética se define como el estudio de la variación de la concentración de un fármaco a lo largo del tiempo, estableciendo un enfoque sistemático para relacionar la dosis con la cantidad de fármaco en el organismo. Este proceso se divide en las etapas fisiológicas de absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME).⁴⁸

Para predecir cómo interactuará el compuesto como fármaco, suelen combinarse bases de datos de fármacos existentes y compuestos en fase de cribado. Actualmente, existen numerosos programas en línea gratuitos y comerciales, como CASE ULTRA, DEREK, META-PC, METEOR, PASS, GUSAR, ADMETlab, admetSAR, pkCSM y SwissADME, entre otros.⁴⁹ Estas herramientas se dividen en dos tipos:

1. **Modelo molecular:** basado en estructuras tridimensionales de proteínas, incluye métodos como acoplamiento molecular (*docking*), dinámica molecular (MD) y cálculos de mecánica cuántica (QM).
2. **Modelo de datos:** abarca la relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR) y el modelo farmacocinético basado en la fisiología (PBPK).⁴⁷

En la presente tesis se utilizarán algunas de las plataformas antes descritas para describir las propiedades ADME de los triazoles **34a-b** (Figura 6.1).

⁴⁹ Kar, S., Leszczynski, J. (2020). Open access in silico tools to predict the ADMET profiling of drug candidates. *Expert Opinion On Drug Discovery*, 15(12), 1473-1487. <https://doi.org/10.1080/17460441.2020.1798926>

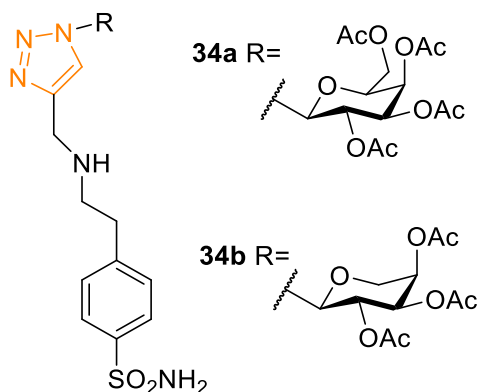


Figura 6.1. Compuestos sintetizados y ensayados para la predicción de propiedades ADME mediante herramientas *in silico*.

Primero, se utilizó la plataforma SwissADME (<http://www.swissadme.ch>), desarrollada por el grupo de modelado molecular del Instituto Suizo de Bioinformática (SIB), que ofrece herramientas avanzadas de diseño asistido por computadora (CADD) para la evaluación de estudios ADME y análisis de bioactividad y farmacocinética de compuestos. SwissADME permite realizar predicciones de propiedades fisicoquímicas, farmacocinéticas, similitud con fármacos y compatibilidad con la química medicinal.⁵⁰

La plataforma permite la incorporación de estructuras moleculares a través de un editor de moléculas 2D (ChemAxon's Marvin JS), ya sea dibujándolas en tiempo real, importándolas de un archivo o ingresando directamente el código SMILES. Al ejecutar el análisis, los resultados se presentan en un panel dividido en secciones. En la primera sección, se muestra la estructura química, el SMILES canónico y el "Bioavailability Radar", que evalúa la compatibilidad de la molécula como fármaco mediante las propiedades fisicoquímicas clave. El radar representa gráficamente si las características de la molécula caen dentro de un rango adecuado de semejanza con fármacos conocidos. También se proporcionan propiedades como el peso molecular, número de

⁵⁰ Bakchi, B., Krishna, A. D., Sreecharan, E., Ganesh, V. B. J., Niharika, M., Maharshi, S., Puttagunta, S. B., Sigalapalli, D. K., Bhandare, R. R., & Shaik, A. B. (2022). An overview on applications of SwissADME web tool in the design and development of anticancer, antitubercular and antimicrobial agents: A medicinal chemist's perspective. *Journal Of Molecular Structure*, 1259, 132712. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.132712>

enlaces rotables, aceptores y donadores de enlaces de hidrógeno, refractividad molar y TPSA (Topological Polar Surface Area).⁵⁰

SwissADME predice la lipofilia mediante modelos como iLOGP y XLOGP3, calcula la solubilidad acuosa y realiza predicciones farmacocinéticas que abarcan la absorción gastrointestinal (GI), permeación de la barrera hematoencefálica (BBB) y permeabilidad cutánea (Log Kp), empleando el modelo BOILED-Egg. Este modelo visualiza la absorción y permeación cerebral, indicando la capacidad del compuesto para pasar a través de la BBB o absorberse en los intestinos. Además, se evalúa la capacidad de la molécula para interactuar con el sistema de transporte P-glicoproteína (PGP) y su potencial de inhibición sobre las isoenzimas de citocromo P450, una función esencial para predecir interacciones farmacológicas. Finalmente, el software incluye reglas de farmacoforidad (Lipinski, Veber, Ghose, Egan y Muegge) y un puntaje de bioactividad para predecir la probabilidad de biodisponibilidad oral.⁵⁰

En la primera etapa de la evaluación de biodisponibilidad, se consideraron las propiedades fisicoquímicas y moleculares de los compuestos: peso molecular (P.M.), refractividad molar (RM), tipos de átomos, polaridad (expresada como área de superficie polar topológica, TPSA) y saturación (fracción Csp3). En la Tabla 6.1.1 se presenta el P.M. de los glicosiltriazoles **34a** y **34b**, que es de 611.62 g/mol y 539.56 g/mol, respectivamente. Ambos compuestos superan el límite establecido por la regla de Lipinski, lo cual se atribuye a la presencia de un carbohidrato protegido con grupos acetato en su estructura. Además, no cumplen con los criterios de número de enlaces rotables ni de aceptores de hidrógeno, dado que el compuesto **34a** presenta 16 enlaces rotables y 15 aceptores de hidrógeno, mientras que el **34b** tiene 13 enlaces rotables y 13 aceptores de hidrógeno.

A pesar de no cumplir tres de las reglas de Lipinski, Lovering y col.⁵¹ han añadido propiedades adicionales para moléculas complejas (ácidas y aromáticas), como la saturación (fracción Csp3) y la presencia de al menos un carbono quiral. En este sentido, el valor de saturación debe ser mayor a 0.25 para que la molécula pueda acceder a un

⁵¹ Lovering, F., Bikker, J., Humblet, C. (2009). Escape from Flatland: Increasing Saturation as an Approach to Improving Clinical Success. *Journal Of Medicinal Chemistry*, 52(21), 6752-6756. <https://doi.org/10.1021/jm901241e>

espacio químico más amplio, aumentando la selectividad hacia la proteína diana mediante el ajuste de la forma molecular, lo cual incrementa la complementariedad receptor-ligando. Los compuestos **34a** y **34b** cumplen con este criterio, con valores de 0.52 y 0.50, respectivamente. Además, la adecuada saturación favorece su solubilidad (Tabla 6.1.3). Ambos compuestos poseen varios carbonos en la unidad sacarídica, incluyendo el carbono anomérico donde se realiza la unión con el triazol.

Por otra parte, la TPSA, que es el área de superficie polar, se correlaciona con el transporte de fármacos a través de las membranas.⁵² Este parámetro se define como la suma de las superficies de los átomos polares de la molécula. Los valores obtenidos para los compuestos **32a** y **32b** fueron de 225.71 Å y 199.41 Å, respectivamente (Tabla 6.1.1). Estos valores sugieren que los compuestos no atravesarán la membrana plasmática por transporte pasivo; sin embargo, esto no es un inconveniente, ya que la enzima de interés se encuentra en la membrana plasmática.

En la actualidad, la industria farmacéutica reconoce que parámetros PK aceptables y la minimización del potencial de interacciones fármaco-fármaco incrementan la probabilidad de que un candidato prometedor se convierta en una terapia exitosa. Además, el papel de los científicos de DMPK (farmacocinética y metabolismo de fármacos) en el descubrimiento de fármacos no es solo proporcionar al equipo datos de los ensayos DMPK, sino también desarrollar una comprensión mecanicista de la disposición de los candidatos a fármaco con el fin de optimizar y predecir propiedades clave asociadas con la absorción, eliminación y distribución de los mismos en humanos. Esto es posible mediante el análisis de propiedades fisicoquímicas y datos provenientes de ensayos in vitro en material de origen humano y de estudios in vivo en animales.

Tabla 6.1.1. Propiedades Fisicoquímicas de los Glicosiltriazaolos 32 a-b.		
Compuesto	32^a	32^b
Formula	C ₂₅ H ₃₃ N ₅ O ₁₁ S	C ₂₂ H ₂₉ N ₅ O ₉ S
Peso molecular	611.62 g/mol	539.56 g/mol

⁵² Ertl, P., Rohde, B., Selzer, P. (2000). Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-Based Contributions and Its Application to the Prediction of Drug Transport Properties. *Journal Of Medicinal Chemistry*, 43(20), 3714-3717. <https://doi.org/10.1021/jm000942e>

Núm. de átomos pesados	42	37
Núm. de átomos aromaticos pesados	11	11
Fracción Csp3	0.52	0.50
Núm. de enlaces rotables	16	13
Núm. de enlaces aceptores de hidrógeno	15	13
Núm. de enlaces donadores de hidrógeno	2	2
Refracción molar	140.75	125.04
TPSA	225.71 Å ²	199.41 Å ²

La lipofilidad se describe a través del coeficiente de partición entre n-octanol y agua ($\log P_{o/w}$). Para calcular este parámetro, se emplean múltiples predictores que permiten estimar un valor de consenso. En la Tabla 6.1.2 se observa que los valores obtenidos para los compuestos son bajos, lo que indica su carácter hidrofílico, y por tanto, una afinidad hacia entornos hidrofílicos, como el suero sanguíneo. Este valor sugiere que los compuestos tienen alta movilidad y facilidad de transporte, gracias a su solubilidad, lo que facilita su metabolización y biodegradación sin riesgo de bioacumulación o absorción en tejidos grasos.⁵³

Tabla 6.1.2. Lipofilidad de los Glicosiltriazoles 34a-b.		
Compuesto	34a	34b
Log $P_{o/w}$ (iLOGP)	2.68	1.73
Log $P_{o/w}$ (XLOGP3)	-0.87	-0.83
Log $P_{o/w}$ (WLOGP)	0.12	0.19
Log $P_{o/w}$ (MLOGP)	-0.50	-0.41
Log $P_{o/w}$ (SILICOS-IT)	-0.74	-0.81
Consenso	0.14	-0.03

⁵³ Berger, T., Berger, B., Fogleman, K. (2012). 8.18 Chromatographic Separations and Analysis: Supercritical Fluid Chromatography for Chiral Analysis and Semi-Preparative Purification. En *Elsevier eBooks* (pp. 354-392). <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-095167-6.00836-3>

Otro parámetro relevante es la solubilidad, ya que de ella dependen la liberación y absorción del fármaco.⁵⁴ En la Tabla 6.1.3, donde se muestra la solubilidad calculada con diferentes modelos, se confirma que los compuestos sintetizados son solubles en agua, lo cual facilita su disolución en el torrente sanguíneo.

Tabla 6.1.3. Solubilidad en agua de los Glicosiltriazoles 34a-b.		
Compuesto	34a	34b
Log S (ESOL)	-2.22	-2.02
Solubilidad	3.67e+00 mg/ml; 6.00e-03 mol/l	5.10e+00 mg/ml; 9.45e-03 mol/l
Clase	Soluble	Soluble
Log S (Ali)	-3.39	-2.88
Solubilidad	2.50e-01 mg/ml; 4.09e-04 mol/l	7.15e-01 mg/ml; 1.33e-03 mol/l
Clase	Soluble	Soluble
Log S (SILICOS-IT)	-3.76	-3.60
Solubilidad	1.07e-01 mg/ml; 1.75e-04 mol/l	1.36e-01 mg/ml; 2.52e-04 mol/l
Clase	Soluble	Soluble

En cuanto a las propiedades farmacocinéticas (Tabla 6.1.4), se evaluaron la absorción gastrointestinal (GI) y la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE). Los compuestos **34a** y **34b** presentan baja absorción GI en caso de administración oral; sin embargo, esta limitación no aplica en administración parenteral, ya que el fármaco ingresaría directamente a la circulación sistémica.⁵⁵ Estos compuestos tampoco son permeables a la BHE, lo que resulta ventajoso, ya que la BHE regula el paso de sustancias al sistema nervioso central (SNC), permitiendo mantener la homeostasis química.⁵⁶ Esto es favorable para la selectividad hacia la inhibición de las isoformas de anhidrasa carbónica IX y XII, presentes fuera del SNC, en contraste con la CA II, que sí se encuentra en el cerebro. Además, el hecho de que los compuestos sean sustratos de

⁵⁴ Colfarma Informa. (2022, enero 3). *Boletín Electrónico BPPF – Ficha 9-22 Biofarmacia y el sistema de clasificación biofarmacéutica*. Buenas prácticas de preparación en farmacia. <https://www.colfarma.info/colfarma/wp-content/uploads/2022/02/Boletin-Electronico-BPPF-Ficha-9-22-Biofarmacia-y-el-sistema-de-clasificacion-biofarmaceutica..htm>

⁵⁵ Morón Rodríguez, F. J., Levy Rodríguez, M. (2002). *Farmacología general*. La Habana: Editorial Ciencias Médicas.

⁵⁶ Escobar, A., Gómez, G. B. (2008). Barrera hematoencefálica. Neurobiología, implicaciones clínicas y efectos del estrés sobre su desarrollo. *Revista Mexicana de Neurociencia*, 9(5), 395-405.

la glicoproteína-P (P-gp), expresada en el endotelio de los capilares cerebrales, también limita su entrada al SNC, redirigiéndolos al torrente sanguíneo.⁵⁷ Dado que la enzima de interés a inhibir es transmembranal, la acción de la P-gp no representa una limitación.

En cuanto a las interacciones con el citocromo P450 (CYP), especialmente las isoenzimas CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 y CYP3A4, involucradas en la eliminación de fármacos mediante biotransformación metabólica, se determinó que los compuestos **34a** y **34b** no las inhiben, lo cual es beneficioso, ya que contribuye a su eficacia y reduce el riesgo de efectos adversos no deseados.

Tabla 6.1.4. Farmacocinética de los Gliosiltriazoles 34a-b.		
Compuesto	34a	34b
Absorción GI	Bajo	Bajo
Permeable BBB	No	No
Sustrato P-gp	Si	Si
Inhib. CYP1A2	No	No
Inhib. CYP2C19	No	No
Inhib. CYP2C9	No	No
Inhib. CYP2D6	No	No
Inhib. CYP3A4	Si	No
Log K _p (permeación en la piel)	-10.65 cm/s	-10.18 cm/s

PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) Online es una herramienta informática desarrollada por Way2Drug para la predicción de actividades biológicas de compuestos, la cual ha ganado reconocimiento en la investigación farmacéutica y química medicinal por su accesibilidad y utilidad en etapas tempranas de descubrimiento de fármacos. Creado a partir de un extenso conjunto de datos de compuestos bioactivos conocidos, PASS Online emplea algoritmos de aprendizaje automático y técnicas de modelado cuantitativo para analizar la estructura molecular de los compuestos ingresados. Este análisis predice la probabilidad de que una molécula exhiba una serie

⁵⁷ Wikinski, S. I. (2005). Mecanismos farmacocinéticos de resistencia en el tratamiento psicofarmacológico: el rol de la glicoproteína-P. *Vertex*, 16(64), 438-441.

de actividades biológicas específicas, facilitando así la selección y optimización de candidatos en investigación.

A continuación, se utilizó el programa PASS online (<https://www.way2drug.com/PASSOnline/index.php>) para predecir las actividades biológicas las cuales están basadas en compuestos farmacéuticos conocidos, arrojando dos tipos de probabilidades:

- P_a = probabilidad de que se realice la actividad.
- P_i = probabilidad de que no se realice la actividad.

Los valores de P_a y P_i son independientes uno del otro, si $P_a > P_i$ hay mayor probabilidad de que sean activos.

- ❖ Si $P_a > 0.7$ la probabilidad de encontrar actividad biológica es alta.
- ❖ Si $0.5 < P_a < 0.7$ la probabilidad de encontrar actividad biológica es menor.
- ❖ Si $P_a < 0.5$ la probabilidad de encontrar actividad biológica es aún menor.

Estos valores en ocasiones resultan ser relativos puesto que este software relaciona nuestro compuesto con compuestos similares que están ya registrados en la base de datos por lo que sí es una nueva entidad química su P_a arrojada será baja.⁵⁸

Los resultados obtenidos para el compuesto **34a**, presentados en la tabla 6.1.5, sugieren un perfil interesante de actividades biológicas, con potencial en varios campos terapéuticos. A continuación, se destacan los resultados más relevantes:

Actividad Antineoplásica y Anticancerígena

El compuesto **34a** muestra una probabilidad moderada ($P_a = 0.537$) como agente antineoplásico, lo que sugiere su posible utilidad en la inhibición de la proliferación celular anormal. Además, se observaron probabilidades menores para actividades anticancerígenas en tipos específicos de cáncer, como el renal, pancreático y pulmonar. Estos hallazgos respaldan el potencial del compuesto en el desarrollo de terapias

⁵⁸ Kulkarni, M., Basanagouda, M., Jadhav, V., Rao, R. (2011). Computer aided prediction of biological activity spectra: Study of correlation between predicted and observed activities for Coumarin-4-Acetic acids. *Indian Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 73(1), 88. <https://doi.org/10.4103/0250-474x.89764>

oncológicas, aunque es posible que su eficacia varíe entre diferentes tipos de células cancerígenas.

Inhibición de Anhidrasa Carbónica IX y XII

Una característica relevante es la predicción de actividad inhibidora sobre las isoformas de la anhidrasa carbónica IX y XII, con probabilidades de $P_a = 0.151$ y $P_a = 0.022$, respectivamente. Estas isoenzimas están sobreexpresadas en diversos tumores sólidos y su inhibición puede resultar en la disminución del pH tumoral, promoviendo la apoptosis de células cancerosas. Aunque las probabilidades son bajas, esta actividad resulta significativa debido a la especificidad en el entorno tumoral, sin afectar la isoenzima CA II en el sistema nervioso central, lo que podría reducir efectos secundarios no deseados.

Actividad Antimicrobiana y Antibacteriana

El compuesto también mostró una probabilidad de $P_a = 0.430$ como agente antibacterial y de $P_a = 0.374$ como antimicobacteriano. Estos valores, aunque moderados, sugieren un potencial del compuesto para inhibir el crecimiento bacteriano y posiblemente ser efectivo contra infecciones bacterianas o micobacterianas, lo cual sería beneficioso en el contexto de infecciones en pacientes inmunocomprometidos o en combinación con terapias antitumorales.

Actividades Secundarias y Complementarias

Se identificaron también probabilidades moderadas para actividades como inhibición de la síntesis de ADN ($P_a = 0.415$), lo cual puede complementar su potencial antitumoral, al interferir en la replicación celular. Además, se observó actividad como antagonista de proteínas de choque térmico ($P_a = 0.461$), que pueden desempeñar un rol en la protección de células cancerosas contra el estrés celular, por lo que su inhibición también contribuiría a su potencial como agente anticancerígeno.

El compuesto **34a** muestra un perfil de actividad con probabilidades significativas en áreas como la oncología, el tratamiento de infecciones y la regulación de procesos

celulares críticos. Aunque se requiere mayor investigación para validar estos efectos in vitro e in vivo, estos resultados posicionan al compuesto como un posible candidato en terapias antineoplásicas y antibacterianas, con una especificidad que podría mejorar la selectividad y reducir los efectos adversos en el paciente.

Tabla 6.1.5. Predicción de Actividades Biológicas para el Compuesto **34a** mediante PASS Online

Pa	Pi	Actividad biológica
0.737	0.045	Inhibidor de la CDP-glicerol glicerofosfotransferasa
0.537	0.061	Antineoplásicos
0.430	0.024	Antibacterial
0.415	0.026	Inhibidor de la síntesis de ADN
0.368	0.021	Inhibidor de la polirribonucleótido nucleotidiltransferasa
0.291	0.062	Anticancerígeno
0.247	0.069	Tratamiento de las enfermedades proliferativas
0.151	0.003	Inhibidor de la anhidrasa carbónica XII
0.260	0.191	Inhibidor de la amidasa conjugado con Mycothiol-S
0.218	0.158	Antivirales (Herpes)
0.111	0.071	Inhibidor de la nucleotidasa
0.051	0.013	Inhibidor de la anhidrasa carbónica VII
0.034	0.009	Inhibidor de la anhidrasa carbónica
0.026	0.009	Inhibidor de la anhidrasa carbónica II
0.022	0.006	Inhibidor de la anhidrasa carbónica IX

Los resultados obtenidos para el compuesto **34b**, presentados en la tabla 6.1.6, destacan varias actividades biológicas potenciales que sugieren aplicaciones terapéuticas interesantes. A continuación, se analizan los resultados más relevantes:

Actividad Inhibidora de Enzimas Clave

Uno de los resultados más significativos para el compuesto **34b** es su alta probabilidad como inhibidor de la enzima 2α -N-acetilglucosaminiltransferasa mannotetraosa, con un Pa de 0.891, lo cual sugiere un potente efecto inhibitorio. Esta enzima está involucrada en la biosíntesis de glicoproteínas, y su inhibición podría impactar en varios procesos celulares. Adicionalmente, el compuesto muestra actividad como inhibidor de la enzima alcohol O-acetiltransferasa (Pa = 0.606), lo cual podría afectar vías metabólicas clave en la modulación de lípidos y otros compuestos bioactivos.

Potencial Antineoplásico y Anticancerígeno

El compuesto **34b** también presenta probabilidades moderadas como agente antineoplásico ($Pa = 0.518$) y anticancerígeno específico para cáncer renal ($Pa = 0.175$), cáncer de pulmón ($Pa = 0.213$) y cáncer colorrectal ($Pa = 0.143$). Este perfil sugiere que podría tener un papel en el tratamiento de tumores sólidos y diversos tipos de cáncer, aunque las probabilidades indican que su eficacia puede ser más limitada comparada con otros agentes específicos. No obstante, la actividad antineoplásica en tipos de cáncer específicos sugiere un perfil de selectividad valioso para futuras investigaciones en oncología.

Inhibición de Anhidrasa Carbónica IX y XII

Un aspecto relevante es la actividad como inhibidor de la anhidrasa carbónica XII, con un Pa de 0.095, y la anhidrasa carbónica IX, con un Pa de 0.018. Aunque estas probabilidades son bajas, la especificidad para las isoformas IX y XII podría ofrecer beneficios terapéuticos en tumores donde estas isoenzimas están sobreexpresadas, sin afectar significativamente otras isoformas en el sistema nervioso central o en tejidos no afectados, lo que ayudaría a reducir efectos secundarios.

Actividad Antibacteriana, Antimicobacteriana y Antiviral

La actividad antibacteriana ($Pa = 0.400$) y antimicobacteriana ($Pa = 0.309$) son relevantes, ya que sugieren que el compuesto podría ser útil en el tratamiento de infecciones bacterianas y micobacterianas, especialmente en pacientes inmunocomprometidos. Además, su potencial actividad antiviral para Influenza A ($Pa = 0.245$) sugiere posibles aplicaciones en el ámbito de las enfermedades respiratorias virales, ampliando el perfil terapéutico del compuesto 32b.

Actividades Complementarias y Potencial Quimioprotector

El compuesto también muestra actividad como quimioprotector ($Pa = 0.166$), lo que podría proteger células sanas durante tratamientos oncológicos, además de inhibir enzimas como la endoglicosilceramidasa ($Pa = 0.417$) y la beta glucuronidasa ($Pa = 0.438$), involucradas en la regulación de metabolitos clave y en la inflamación, respectivamente. Estas actividades secundarias podrían contribuir a un efecto terapéutico complementario en combinación con su potencial antineoplásico.

El compuesto **34b** presenta un perfil de actividad promisorio en la inhibición de enzimas relevantes para el metabolismo celular y la proliferación tumoral, con aplicaciones potenciales en el tratamiento del cáncer y de infecciones bacterianas y virales. Sus actividades complementarias, como el efecto quimioprotector, podrían mejorar su utilidad en terapias combinadas, proporcionando selectividad y reduciendo efectos adversos en tejidos sanos. Aunque se requieren estudios adicionales, estos resultados posicionan al compuesto **34b** como un candidato potencial en la investigación y desarrollo de tratamientos oncológicos y antimicrobianos.

Tabla 6.1.6. Predicciones del Potencial Biológico del Compuesto **34b** Según PASS Online

Pa	Pi	Actividad
0,891	0,005	Inhibidor de 2 α -N-acetilglucosaminiltransferasa
0,606	0,013	Inhibidor de la enzima alcohol O-acetiltransferasa
0,518	0,066	Antineoplásicos
0,364	0,018	Antidiabético sintomático
0,259	0,071	Antiinfertilidad, en la mujer
0,205	0,139	Medicamento oftálmico
0,203	0,142	Regulador de la adenosina
0,166	0,131	Quimioprotector
0,018	0,007	Inhibidor de la anhidrasa carbónica IX
0,021	0,014	Inhibidor de la anhidrasa carbónica II

6.2 Acoplamiento molecular (*Docking*)

El *docking* molecular es una técnica computacional que permite estudiar la interacción entre dos moléculas, generalmente una proteína (diana) y un ligando (como un fármaco o metabolito), para predecir la afinidad y estabilidad de su unión. Esta herramienta resulta esencial en el diseño de fármacos y en la investigación biomolecular, ya que ayuda a identificar cómo una molécula puede unirse y afectar a su objetivo

biológico.⁵⁹ Para estos estudios, se utiliza software especializado como MOE (*Molecular Operating Environment*), una plataforma que facilita tanto el modelado de proteínas y ligandos como el análisis de sus interacciones. MOE es ampliamente usado en investigaciones de biología estructural, química computacional y diseño de fármacos, pues permite realizar estudios de interacción molécula-receptor, predicciones de actividad biológica y simulaciones de dinámica molecular.⁶⁰

En las rutas metabólicas, es fundamental que ocurran interacciones de unión entre moléculas (ligando-proteína) para que se lleven a cabo reacciones enzimáticas. En el ámbito farmacológico, conocer el tipo de interacciones involucradas es esencial para comprender el reconocimiento molecular y determinar si un fármaco ejercerá su acción terapéutica. Mediante estudios de *docking* molecular, se modelan las interacciones entre una molécula de interés (ligando cristalográfico) y su enzima diana, lo cual permite caracterizar el comportamiento del ligando en el sitio activo del receptor.

Los resultados de estos estudios incluyen la conformación más favorable calculada para el ligando en el sitio de unión, un valor de *scoring* que estima la afinidad de unión del ligando a su diana biológica, generalmente expresado en términos de energía libre de unión (ΔG), y el valor de RMSD (desviación cuadrática media) que mide la precisión en la reproducción de una pose de unión conocida.⁶¹ Estos datos son claves para evaluar la viabilidad de un ligando como candidato a fármaco.

Para este estudio, se empleó el software MOE utilizando la estructura cristalina del dominio catalítico de la anhidrasa carbónica IX (CA IX, PDB ID: 3IAI). En la figura 6.2.1 se presenta la validación de la simulación, en la cual se observan las interacciones que ocurren en el sitio activo entre la enzima y su ligando cristalográfico, la 5-acetamido-1,3,4-tiadiazol-2-sulfonamida. Este ligando muestra un valor de energía libre de unión (ΔG) de

⁵⁹ Stanzone, F., Giangreco, I., & Cole, J. C. (2021). Use of molecular docking computational tools in drug discovery. *Progress In Medicinal Chemistry*, 273-343. <https://doi.org/10.1016/bs.pmch.2021.01.004>

⁶⁰ Prieto-Martínez, F. D., Arciniega, M., & Medina-Franco, J. L. (2018). Acoplamiento molecular: avances recientes y retos. *Deleted Journal*, 21. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.143>

⁶¹ Gonzales, S. F. I.; Ponce de León, C. D. E Manual de quimioinformática, Universidad Nacional Autónoma de México, 2018, 2, 74-88

-7.4146 kcal/mol y una desviación cuadrática media (RMSD) de 1.2279 Å, indicadores de la afinidad y precisión de su unión en el sitio activo.

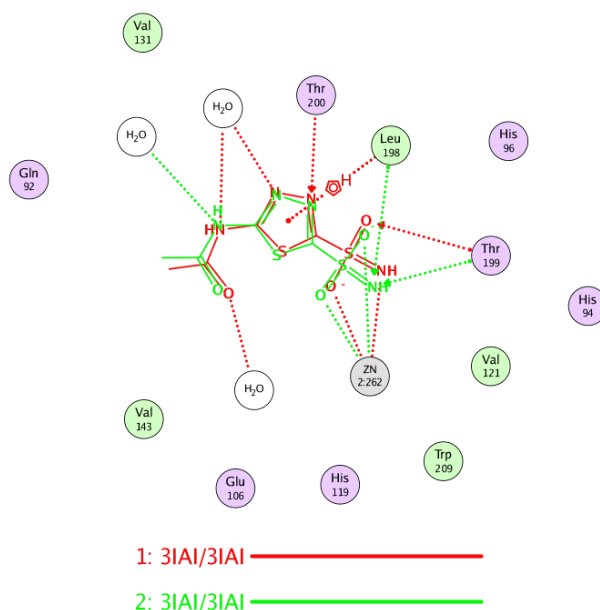


Figura 6.2.1. Validación del ligando cristalográfico.

Según la literatura, las interacciones clave entre las anhidrasas carbónicas y sus ligandos incluyen los residuos hidrofóbicos Leu-91, Val-121, Val-131, Leu-135, Leu-141, Val-143, Leu-198 y Pro-202, los cuales definen la región hidrofóbica del sitio activo. En contraste, los residuos Asn-62, His-64, Ser-65, Gln-67, Thr-69 y Gln-92 forman la región hidrofílica, facilitando interacciones polares que estabilizan al ligando. Considerando estos puntos, se realizó el *docking* molecular con el compuesto de estudio, **31a**.⁶²

Según la literatura,^{63,64} las interacciones clave entre las anhidrasas carbónicas y sus ligandos incluyen los residuos hidrofóbicos Leu-91, Val-121, Val-131, Leu-135, Leu-141, Val-143, Leu-198 y Pro-202, los cuales definen la región hidrofóbica del sitio activo. En

⁶² Alterio, V., Hilvo, M., Di Fiore, A., Supuran, C. T., Pan, P., Parkkila, S., ... De Simone, G. (2009). Crystal structure of the catalytic domain of the tumor-associated human carbonic anhydrase IX. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(38), 16233-16238.

⁶³ Bernadat, G., Supuran, C. T., Iorga, B. I. (2013). Carbonic anhydrase binding site parameterization in OPLS-AA force field. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21(6), 1427-1430. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.10.040>

⁶⁴ Domsic, J. F., McKenna, R. (2009). Sequestration of carbon dioxide by the hydrophobic pocket of the carbonic anhydrases. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Proteins And Proteomics*, 1804(2), 326-331. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2009.07.025>

contraste, los residuos Asn-62, His-64, Ser-65, Gln-67, Thr-69 y Gln-92 forman la región hidrofílica, facilitando interacciones polares que estabilizan al ligando. Considerando estos puntos, se realizó el *docking* molecular con el compuesto de estudio, **31a**.

En las figuras 6.2.2 y 6.2.3 se muestra el acoplamiento molecular del compuesto **31a**, donde se observan interacciones entre este compuesto y los mismos residuos clave que se reportan en la unión del ligando natural en la CA IX. Específicamente, el grupo sulfonamida del compuesto **31a** forma interacciones con Thr-199 a través de uno de sus átomos de oxígeno, mientras que el grupo amino se enlaza con His-94. Además, se observa una interacción fundamental para la función de la enzima: la coordinación con el ion Zn^{2+} , cofactor que contribuye a la actividad catalítica de la CA IX.

El acoplamiento de **31a** produjo una energía libre de unión (ΔG) de -6.4990 kcal/mol y un valor de RMSD de 1.8325 Å. Comparando estos resultados con los de la acetazolamida,⁶⁵ un inhibidor conocido de la CA IX, se observa que el ΔG del compuesto **31a** es menos negativo, lo que sugiere una afinidad ligeramente menor por el sitio activo en comparación con la acetazolamida. Sin embargo, la similitud en el perfil de interacciones clave con la CA IX sugiere que el compuesto **31a** podría actuar como un inhibidor efectivo de esta isoforma, abriendo así la posibilidad de utilizarlo como una molécula base en el diseño de nuevos inhibidores de la CA IX con aplicaciones potenciales en el tratamiento de enfermedades proliferativas, como ciertos tipos de cáncer donde esta isoforma se encuentra sobreexpresada.⁶⁶

⁶⁵ Di Fiore, A., Monti, S. M., Hilvo, M., Parkkila, S., Romano, V., Scaloni, A., Pedone, C., Scozzafava, A., Supuran, C. T., De Simone, G. (2008). Crystal structure of human carbonic anhydrase XIII and its complex with the inhibitor acetazolamide. *Proteins Structure Function And Bioinformatics*, 74(1), 164-175. <https://doi.org/10.1002/prot.22144>

⁶⁶ Mboge, M., Mahon, B., McKenna, R., Frost, S. (2018). Carbonic Anhydrases: Role in pH Control and Cancer. *Metabolites*, 8(1), 19. <https://doi.org/10.3390/metabo8010019>

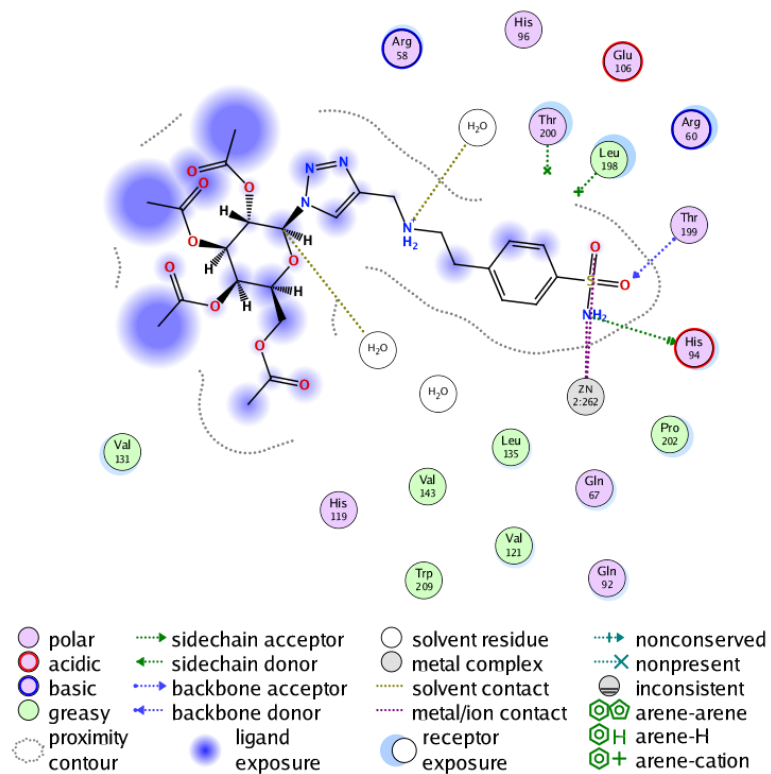


Figura 6.2.2 Interacciones moleculares 2D del compuesto **31a** en el sitio activo de la anhidrasa carbónica IX (CA IX).

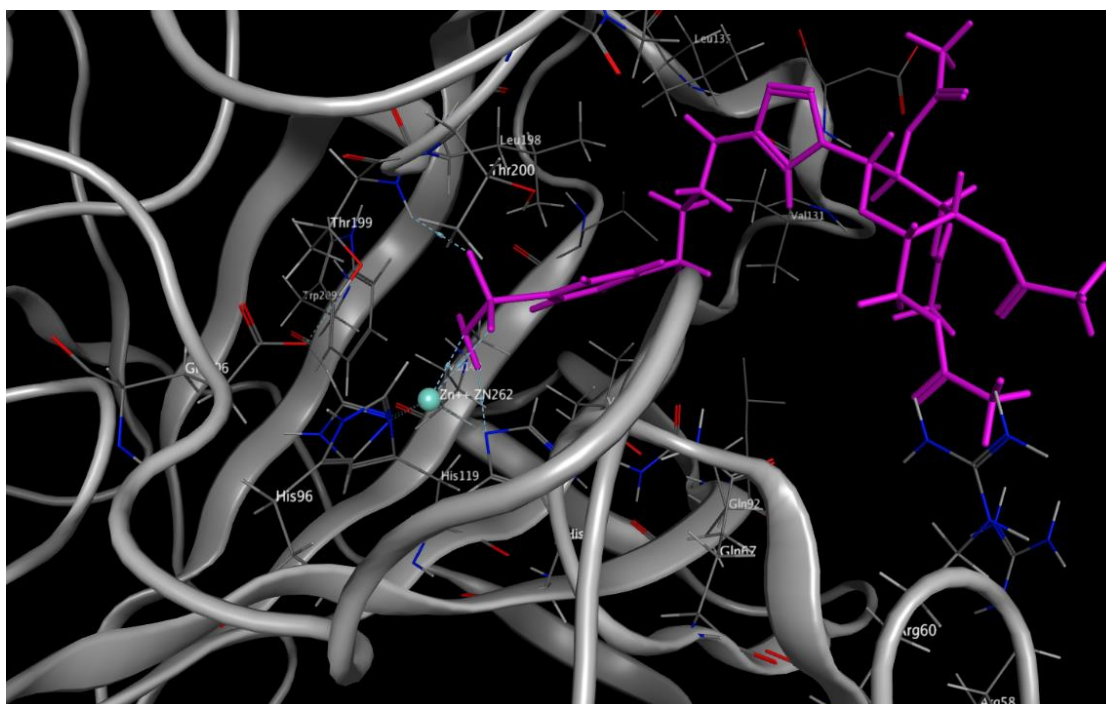


Figura 6.2.3 Conformación y acoplamiento del compuesto **31a** en el sitio activo de la anhidrasa carbónica IX (CA IX).

6. Conclusiones

Primera

Se sintetizaron dos nuevos compuestos triazólicos, **31a** y **31b**, con fragmentos de benceno sulfonamida y carbohidratos, evaluados como potenciales inhibidores de las isoformas IX y XII de la anhidrasa carbónica. Esta actividad se corroboró mediante estudios de acoplamiento molecular (*docking*) y análisis quimioinformáticos.

Segunda

La alquilación presentó un tiempo de reacción relativamente largo (17 h), lo cual podría optimizarse mediante el uso de técnicas de calentamiento asistido por microondas para reducir significativamente la duración del proceso.

Tercera

El método de purificación mediante cromatografía en columna resultó eficaz, pero no óptimo, ya que los compuestos mostraron alta retención en la fase estacionaria debido a su polaridad. Se recomienda evaluar otros métodos de purificación, como la cromatografía en fase inversa o cromatografía líquida de interacción hidrofílica, para mejorar el rendimiento.

Cuarta

Los compuestos **31a** y **31b** se caracterizan por su naturaleza hidrofílica, evidenciada por sus bajos valores de coeficiente de partición entre *n*-octanol y agua (Log Po/w), lo cual indica una probable movilidad y biodisponibilidad en el torrente sanguíneo. Este perfil de solubilidad sugiere que podrían ser adecuados para administración parenteral.

Quinta

El compuesto **31a** mostró un valor de ΔG inferior al de la acetazolamida, lo que indica una mayor afinidad por el sitio activo de la CA IX, sugiriendo su potencial como inhibidor eficaz de esta isoforma de la enzima.

8. Parte Experimental

Métodos generales

- ✚ **Cromatografía en columna:** para la fase estacionaria se utilizó gel de sílice (E. Merck Sílica gel 60; tamaño de partícula 40–63 μm), y como fase móvil sistemas de acuerdo con la polaridad de cada producto. La elución se llevó a cabo por gravedad y con una bomba de aire.
- ✚ **Cromatografía en capa fina:** La cromatografía en capa fina (c.c.f.) se realizó con placas cromatográficas de gel de sílice sobre aluminio (E. Merck Sílica gel 60 F₂₅₄) las cuales tienen un espesor de 0.25 mm. Para visualizar los compuestos se expusieron a luz UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$), además de revelar las placas en diferentes mezclas químicas como; ninhidrina etanólica (0.1%), vainillina (10% en EtOH con H₂SO₄ al 1%).
- ✚ **Puntos de fusión:** Los puntos de fusión se determinaron en un aparato de punto de fusión PRENDO FP-420 y no fueron corregidos
- ✚ **Espectros de Resonancia Magnética Nuclear:** Los espectros se obtuvieron en un instrumento Bruker Avance-500 y Bruker Ascend 500 (500.13 MHz para ¹H y 125.77 MHz para ¹³C). Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en ppm. Los valores de las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hertz (Hz). Las señales de RMN de ¹H y ¹³C fueron asignadas con ayuda de experimentos de RMN de 1D y 2D (COSY, HMBC y HSQC).
- ✚ **Rotación óptica:** Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro Autopol III serie #35598, empleando metanol grado analítico.
- ✚ **Propiedades Físicoquímicas y ADME:** Para obtener las propiedades físicoquímicas y ADME de los compuestos sintetizados se usaron programas

informáticos de libre acceso como SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>) en este programa obtenemos las propiedades fisicoquímicas, farmacocinéticas, similitud con fármacos y compatibilidad con la química farmacéutica mediante los parámetros ADME, los cuales se evalúan de manera separada mediante métodos específicos. Molinspiration (<https://www.molinspiration.com>) ofrece herramientas quimioinformáticas y permite el cálculo de diversas propiedades necesarias en estudios QSAR (Quantitative structure-activity relationship) lo que nos permite el acceso a predicciones teóricas de la actividad biológica de los compuestos sintetizados y PASS online (<https://www.way2drug.com/PASSOnline/index.php>) este es un software en donde nos proporciona predicciones simultáneas de varias actividades biológicas basadas en la estructura del compuesto.

✚ **Docking Molecular:** La estructura molecular cristalina de la enzima Anhidrasa Carbónica fue obtenida de la página de libre acceso Protein Data Bank (PDB) <https://www.rcsb.org/> mediante el código **3IAI** con su ligando cocrystalizado AZA con una resolución de 2.20 Å realizando el ensayo de acoplamiento molecular en el software Molecular Operating Environment (MOE) (https://chemcomp.com/MOE_v2020.0910)

Para la preparación de la proteína se eliminaron las moléculas que no son esenciales para las interacciones químicas como el H₂O, glicerol, iones fosfato y AZA. Los átomos de hidrógeno, las cargas y la minimización de energía se ajustaron con el campo de fuerza AMBER10:EHT y R-field de solvatación de MOE. Los ligandos 31a-b se realizaron en el software ChemDraw Professional 16.0. mientras que la ionización y minimización de energía se llevaron a cabo en un campo de fuerza Amber10:EHT

Para la elección de la mejor pose se utilizó el método Triangle Matcher, donde las puntuaciones se calcularon con la función London dG. Se generaron 100 repeticiones con 100 poses para la unión del ligando cristalográfico con la diana molecular.

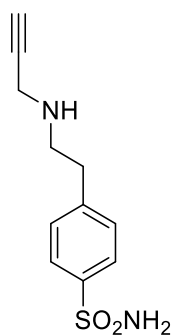
Para la selección de las mejores poses se tomó en consideración las interacciones más importantes como la interacción de los aminoácidos que se ven implicados en la actividad inhibitoria de la enzima, los puentes de hidrogeno, que se superponga con el ligando cristalográfico y que posea la menor energía de unión (ΔG).

Materias primas

Método general para la preparación de los alquinos derivados de sulfonamidas

En un matraz de bola se coloca la sulfonamida comercial (1 equiv), K_2CO_3 (1.2 equiv.) en 2mL de DMF anhidro. Posteriormente se añade gota a gota el bromuro de propargilo al 80% (2.5 equiv). La mezcla de reacción se pone en agitación a 50°C durante 17 h, con atmosfera de argón. La purificación de este compuesto se llevó a cabo mediante cromatografía en columna con un sistema $CH_2Cl_2/MeOH$ 80:1 \rightarrow 60:1 \rightarrow 40:1.

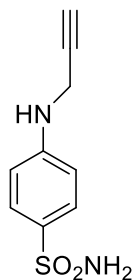
4-(2'-(prop-2''-in-1''-ilamino)etil)bencenosulfonamida (30)



4-(2'-Aminoetil)bencenosulfonamida (400mg, 2.0 mmol, 1 equiv), K_2CO_3 (332 mg, 2.4 mmol 1.2 equiv.), 2mL de DMF anhidro, bromuro de propargilo al 80% (0.6 mL, 5 mmol, 2.5 equiv). La purificación de este compuesto se llevó a cabo mediante cromatografía en columna con un sistema $CH_2Cl_2/MeOH$ 80:1 \rightarrow 60:1 \rightarrow 40:1. Se obtuvo el **compuesto 30a** como un sólido amarillo. Rendimiento: 223.7 mg (47%). P.f: 193 °C. 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7.75 (d, 2H $J_{2,3} = 7.5$ Hz, H-2, H-6), 7.34 (d, 2H, H-3, H-5), 3.23 (s, 1H, H-3''), 2.78 (d, 4H, H-1', H-2'), 2.60 (s, 2H, H-1''). ^{13}C NMR (127.5 MHz,

CD₃OD) 146.0 (C-4), 142.9 (C-1), 130.3 (C-2, C-6), 127.3 (C-3, C-5), 79.0 (C-2''), 75.0 (C-3''), 55.0 (C-2'), 42.8 (C-1''), 34.5 (C-1').

4-(Prop-2'-in-1'-ilamino)benzenosulfonamida (**33**)



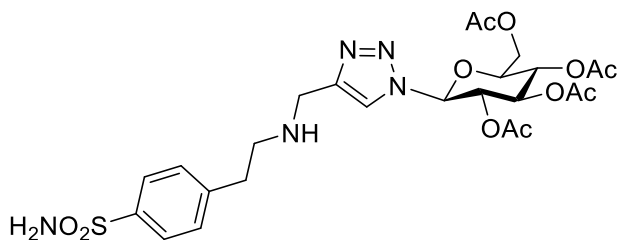
4-aminobenzenosulfonamida comercial (200mg, 1.16 mmol, 1 equiv), K₂CO₃ (193 mg, 1.4 mmol 1.2 equiv.) 2mL de DMF anhidro, bromuro de propargilo al 80% (0.344 mL, 2.9 mmol, 2.5 equiv). Se obtuvo el compuesto **33** como un sólido amarillo. Rendimiento: 45.2 mg (18.6%). Los datos espectroscópicos coinciden con lo reportado en la bibliografía.⁶⁷

Método general para la preparación de los compuestos triazoles derivados de sulfonamidas (**31a-b**)

En un matraz de bola se pone el aquilo (0.5 equiv.), azidoglicosido (1.0 equiv.), Ascorbato de sodio (0.5 equiv.), Sulfato de cobre (0.5 equiv.) en 5mL de THF/H₂O (3:2). La mezcla de reacción se pone en agitación durante 10 h, transcurrido el tiempo de reacción se concentra a sequedad mediante coevaporación con MeOH y el residuo se purifica mediante cromatografía en columna con un sistema CH₂Cl₂/MeOH. 60:1 → 20:1 → 40:1, 1% Et₃N.

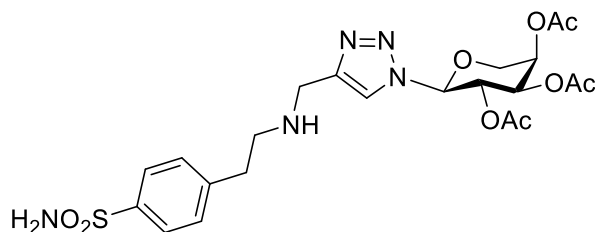
⁶⁷ Giovannuzzi, S., D'Ambrosio, M., Luceri, C., Osman, S. M., Pallecchi, M., Bartolucci, G., Nocentini, A., & Supuran, C. T. (2021). Aromatic Sulfonamides including a Sulfonic Acid Tail: New Membrane Impermeant Carbonic Anhydrase Inhibitors for Targeting Selectively the Cancer-Associated Isoforms. *International Journal Of Molecular Sciences*, 23(1), 461. <https://doi.org/10.3390/ijms23010461>

4-[2'-(4''-Sulfonamidofenil)etil-1'-amino]metil-1-(2''',3''',4''',6''-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)triazol (31a).



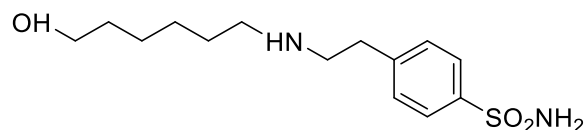
Se empleo el 4-(Prop-2'-in-1'-ilamino)bencenosulfonamida **30** (208.9 mg, 0.875 mmol, 0.5 equiv.), 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilazida (506 mg, 1.75 mmol, 1equiv.), ascorbato de sodio (173 mg, 0.875 mmol, 0.5equiv.), sulfato de cobre (218 mg, 0.875 mmol, 0.5 equiv.) en 5mL de THF/H₂O (3:2). Se obtuvo el compuesto **31a** como un sólido blanco. Rendimiento: 465.8mg (87.4%). P.f: 114 °C. $[\alpha]^{25} -7.31$ (c 0.66, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.08 (s, 1H, H-5) 7.81 (m, 2H, H-5'', H-3''), 7.39 (m, 2H, H-6'', H-2''), 6.06 (d, 1H, $J_{1''',2'''}=9.0$ Hz, H-1'''), 5.65 (m, 1H, H-3'''), 5.42 (d, 1H, $J_{2''',3'''}=10.3$ Hz, H-2'''), 4.62 (m, 1H, H-4'''), 4.50 (m, 1H H-5'''), 4.20 (m, 4H, H-2'', H-1''), 3.85 (s, 2H, H-1') 2.96-2.71 (m, 2H, H-6a''', H-6b''') 2.20, 2.01, 1.97, 1.78 (3s, 3H cada una, 3OAc). ¹³C NMR (127.5 MHz, CD₃OD) δ 170.6, 170.5, 169.8, 169.1 (4C=O), 145.2 (C-1'''), 141.3 (C-4'''), 129.2 (C-5''', C-3'''), 125.7 (C6'', C-2''), 123.0 (C-5), 120.4 (C-4), 85.5 (C-1'''), 73.6 (C-5'''), 70.6 (C-3'''), 68.4 (C-4'''), 67.2 (C-2'''), 61.2 (C-1'', C-2''), 53.2 (C-6'''), 46.4 (C-1'), 19.1 (x2), 18.2 (x2) (4COCH₃).

4-[2''-(4'''-Sulfonamidofenil)etil-1''-amino]metil-1-(2''',3''',4'''-tri-O-acetil-β-D-arabinopiranosil)triazol (31b).



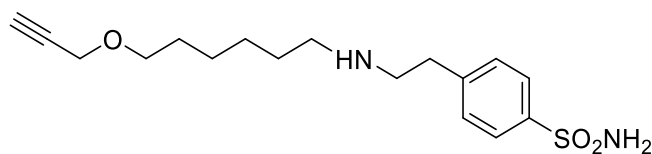
Se empleo el 4-(Prop-2'-in-1'-ilamino)bencenosulfonamida **30** (113mg, 0.474mmol, 0.5equiv.), 2,3,4-tri-O-acetil-β-D-arabinopiranosilazida (285 mg, 0.948 mmol, 1 equiv.), ascorbato de sodio (93 mg, 0.474 mmol, 0.5 equiv.), sulfato de cobre (118 mg, 0.474 mmol, 0.5 equiv.) en 5mL de THF/H₂O (3:2). Se obtuvo el compuesto **31b** como un sólido blanco. Rendimiento: 120.4 mg (47.3%). P.f: 112 °C. $[\alpha]^{25}_{D} -9.55$ (c 0.66, MeOH). ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.98 (s, 1H, H-5) 7.74 (m, 2H, H-5''', H3'''), 7.32 (m, 2H, H-6''', H-2'''), 5.86 (d, 1H, $J_{1''-2''}=9.2$ Hz, H-1'''), 5.58 (t, 1H, $J_{3''',4'''}=9.6$ Hz, H-3'''), 5.35 (d, $J_{2''-3''}=10.1, 3.3$ Hz 1H, H-2'''), 4.6-2.63 (m, 3H, H-4''', H-5'''), 4.10 (m, 4H, H-2'', H-1''), 3.77 (s, 2H, H-1') 2.14, 1.93, 1.74 (3s, 3H cada una, 3OAc). ¹³C NMR (127.5 MHz, CD₃OD) δ 174.4, 173.9, 173.1 (3C=O), 149.2 (C-1'''), 145.3 (C-4'''), 133.2 (C-5''', C-3'''), 129.7 (C-6''', C-2'''), 126.8 (C-5), 112.6 (C-4), 90.2 (C-1'''), 74.6 (C-5'''), 72.5 (C-3'''), 72.1 (C-4'''), 70.8 (C-2'''), 51.0 (C-1'', C-2''), 52.2 (C-1'), 23.4, 23.1, 22.7 (3COCH₃)

4-[2'-(6''-hidroxihexilamino)etil]bencenosulfonamida (37)



En un matraz de bola se colocó la 4-(2'-aminoetil)bencenosulfonamida **29** (200 mg, 0.998 mmol, 1 equiv.), 6-bromo-1-hexanol (0.5 mL, 3.99 mmol, 4 equiv.), K₂CO₃ (206 mg, 1.49 mmol, 1.5 equiv.) en 5 mL de acetonitrilo. La mezcla de reacción se pone en agitación a 70°C durante 11 h, transcurrido el tiempo de reacción se concentra a sequedad. La purificación de este compuesto se llevó a cabo por cromatografía en columna con CH₂Cl₂ y con sistemas: 80:1 → 60:1 → 40:1 → 10:1, → 5:1 → 1:1 CH₂Cl₂/MeOH. Se obtuvo compuesto **37** como aceite color amarillo. Rendimiento: 122.9 mg (41%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.77 (m, 2H, H-2, H-6), 7.40 (m, 2H, H-3, H-5), 2.99 (m, 2H, H-6''), 2.94 (m, 2H, H-2') 2.80 (m, 4H, H-1', H-1''), 1.56 (m, 4H, H-4'', H-5'') 1.47 (m, 4H, H-2'', H-3'') ¹³C NMR (127.5 MHz, CD₃OD) δ 143.3 (C-4), 141.87 (C-1), 129.2 (C-2, C-6), 126.1 (C-3, C-5), 61.4 (C-6''), 54.2 (C-1''), 53.2 (C-2'), 32.1 (C-1'), 30.8 (C-5''), 29.2 (C-2''), 26.6 (C-3''), 25.2 (C-4'').

4-[2'-(6''-(prop-2'''-in-1'''-iloxi)hexilamino)etil]bencenosulfonamida (40)



En un matraz de bola se colocó la 4-[2'-(6''-hidroxihexilamino)etil]bencenosulfonamida **37** (120 mg, 0.4 mmol, 4 equiv.), bromuro de propargilo (0.3 mL, 3.3 mmol, 8.25 equiv.), K₂CO₃ (28 mg, 0.2 mmol 2 equiv.) en 2mL de CH₂Cl₂. La mezcla de reacción se pone en agitación a 50°C durante 17 h, en atmosfera inerte transcurrido el tiempo de reacción se concentra a sequedad. La purificación de este compuesto se llevó a cabo acabo por cromatografía en columna con sistemas CH₂Cl₂/MeOH 60:1→40:1→ 20:1, 1% de trietilamina. Se obtuvo el compuesto **40** como aceite color amarillo. Rendimiento: 104.6 mg (77.3%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.78 (m, 2H, H-2, H-6), 7.50 (m, 2H, H-3, H-5), 3.55 (s, 2H, H-1'''), 3.47 (m, 5H, H-2', H-1'', 3''') 3.36 (m. 2H, 6'') 3.24 (m, 2H, H-1'), 1.71 (m, 4H, H-2'', H-5''), 1.49 (m, 4H, H-3'', H-4''). ¹³C NMR (127.5 MHz, CD₃OD) δ 142.5 (C-4), 141.1 (C-1), 129.1 (C-2, C-6), 126.3 (C-3, C-5), 62.9 (C-2'''), 61.3 (C-3'''), 53.2 (C-6''), 52.9 (C-1'''), 31.9 (C-1''), 31.5 (C-2'), 29.7 (C-1'), 29.4 (C-2''), 26.0 (C-5''), 25.0 (C-3''), 23.6(C-4'').