



Universidad Michoacana de San  
Nicolás de Hidalgo



Instituto de Investigaciones-Químico Biológicas

## **Cálculo de descriptores de reactividad y síntesis de análogos de sitagliptina explorando la reacción Ugi-azida**

Tesis

Para obtener el grado en Maestro en Ciencias Químicas

Presenta:

Q.F.B. Gerardo Morales Herrejón

Directores:

D.C. Pedro Navarro Santos

D.C. Luis Chacón García

Morelia Michoacán, Junio 2018

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de cómputo de alto desempeño en conjunto con el laboratorio de síntesis orgánica del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la dirección de los D.C. Pedro Navarro Santos y D.C Luis Chacón García.

Esta tesis contó con financiamiento del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Mediante el programa de becas nacionales con número de registro 598858.

Los resultados parciales de este trabajo fueron presentados en los siguientes congresos:

1. **11º Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación y el Quinto Encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Michoacán** llevado a cabo los días 13 y 14 de octubre del 2016 en Morelia, Michoacán.
2. **13ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales** celebrada los días 17-20 de mayo del 2017 en Morelia, Michoacán.
3. **Tercer Simposio de Tendencias Actuales en la Búsqueda y Desarrollo de Fármacos** realizado el día 15 de junio del 2017, llevado a cabo en la Universidad Nacional Autónoma de México dentro de las instalaciones de la Facultad de Química, ciudad de México.
4. **XVI Reunión de Fisicoquímica Teórica**, llevada a cabo los días 16-18 de noviembre del 2017 en las instalaciones de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

## DEDICATORIA

A mis padres: Margarita Herrejón Alvarado y Gerardo Morales Oliveros.

## AGRADECIMIENTOS

A mi asesor de tesis el D.C. Pedro Navarro Santos que más que asesorarme y guiarme en mi trabajo de investigación de tesis, fue también un gran maestro y sin duda para mí un ejemplo a seguir en mi formación. Gracias por aceptarme en su grupo de trabajo (su clan) y por los valiosos conocimientos y enseñanzas que me compartió estos dos años. Al D.C. Luis Chacón García de igual forma por permitirme tener un lugar en el laboratorio de diseño molecular y sobre todo por los conocimientos, consejos y unas cuantas carcajadas que compartió conmigo durante mi estancia.

Al D.C. Carlos Jesús Cortez García por sus consejos, enseñanzas y las materias primas proporcionadas para poder llevar a cabo este proyecto.

A mis sinodales: D.C. María del Rocío Gámez Montaña, D.C. Hugo Alejandro García Gutiérrez, D.C. Rafael Herrera Bucío por sus observaciones y correcciones a este trabajo.

A CONACyT por la beca otorgada.

A mis compañeros y amigos del laboratorio: QFB. Antulio Alejandro, M.C. Mario Valle, M.C. Itzel Mejía, QFB. Israel Niño Pantoja y QFB. Josué Valentín Escalera.

# ÍNDICE

Abreviaturas y símbolos	1
Resumen	2
Abstract	3
1. Introducción	4
1.1. Inhibidores de DPP-IV con grupos miméticos	8
1.2. Inhibidores de DPP-IV sin grupos miméticos	11
2. Antecedentes	13
2.1. La reacción de Ugi	13
2.2. La reacción de Ugi-azida	14
3. Justificación	19
4. Objetivo General	20
4.1. Objetivos específicos	20
5. Resultados	21
5.1. Sección experimental	21
5.2. Sección computacional	48
5.2.1. Modelado molecular de la sitagliptina	48
5.2.2. Modelado molecular de los derivados tetrazólicos de la sitagliptina	54
5.2.3. Estudio de anclaje molecular entre la DPP-IV y los derivados tetrazólicos	77
6. Conclusiones	85
7. Metodologías	86
7.1. Sección experimental	86
7.1.1. (R)-3-amino-1-(3-(trifluorometilo)-5,6-dihidro-[1, 2,4] triazolo [4,3-a] pirazin-7(8H)-il)-4-(2, 4,5-trifluorophenil) butan-1-ona [sitagliptina (1)]	86
7.1.2. Síntesis de los derivados tetrazólicos de la sitagliptina	86
7.1.2.1. (4-bromofenil) (1-ciclohexil-1H-tetrazol-5-il)-sitagliptina (5)	87
7.1.2.2. (4-bromofenil) (1-tert-butil-1H-tetrazol-5-il)-sitagliptina (7)	88
7.1.2.3. (4-metoxifenil) (1-ciclohexil-1H-tetrazol-5-il)-sitagliptina (9)	90
7.1.2.4. (4-metoxifenil) (1-tert-butil-1H-tetrazol-5-il)-sitagliptina (10)	91
7.1.2.5. (3-nitrofenil) (1-ciclohexil-1H-tetrazol-5-il)-sitagliptina (12)	92
7.1.2.6. (3-nitrofenil) (1-tert-butil-1H-tetrazol-5-il)-sitagliptina (13)	93
7.1.2.7. (2-clorofenil) (1-ciclohexil-1H-tetrazol-5-il)-sitagliptina (15)	94
7.1.2.8. (2-clorofenil) (1-tert-butil-1H-tetrazol-5-il)-sitagliptina (16)	95
7.2. Sección computacional	96
7.2.1. Fracciones molares	96
7.2.2. Propiedades moleculares	97
7.2.3. Estudio de anclaje molecular	97
8. Bibliografía	98

## ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

$\delta$	Desplazamiento químico
Å	Angstrom
Asp	Aspartato
AcOEt	Acetato de etilo
COSY	Correlation Spectroscopy
COX-2	Ciclooxigenasa 2
d	Señal doble
dd	Señal doble de dobles
DCM	Diclorometano
DPP-IV	Dipeptidil Péptidasa-4
DM	Diabetes Mellitus
DFT	Density Funtional Theory
eq	Equivalente químico
$f^-$	Función de Fukui para un ataque electrofílico
$f^+$	Función de Fukui para un ataque nucleofílico
g	gramo
His	Histidina
h	Hora
Hz	Hertz
I-MCR	Reacción de multicomponentes con isonitrilos
I-DPP-IV	Inhibidor de DPP-IV
$J$	Constante de acoplamiento
m	Múltiple
MCR	Reacción de multicomponentes
MeOH	Metanol
MEP	Potencial Electrostático Molecular
MHz	Mega Hertz
M	Molaridad
mL	mililitro
mmol	milimol
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
TFE	Trifluoro etanol
TMS	Trimetilsilano
Ser	Serina
s	Señal simple
T.A.	Temperatura ambiente
Tyr	Tirosina
UV	Ultravioleta
$\mu$ l	Microlitros
1,5-DS	1,5 disustituidos

## RESUMEN

En este proyecto se estudiaron la reactividad y propiedades electrónicas de la sitagliptina, un conocido antidiabético oral perteneciente al grupo de los inhibidores de la DPP-IV empleando la Teoría de los Funcionales de la Densidad. Se empleó el programa Gaussian16 para obtener las geometrías optimizadas y las diversas propiedades de interés para este proyecto usando principalmente a menos que se especifique lo contrario el nivel de teoría B3LYP/6-311+g (d, p).

Se propusieron derivados de sitagliptina basados en la agregación de un anillo de tetrazol 1,5-disustituido para modificar sus propiedades, en búsqueda de aumentar la afinidad química a la enzima responsable de la degradación de las hormonas incretinas (DPP-IV) con el propósito de inhibir su actividad y obtener una mejor respuesta por parte de estas hormonas en la regulación de la glucosa, sobre todo en pacientes diabéticos.

Se realizó un estudio de reconocimiento molecular entre el derivado **5b** y la enzima DPP-IV del cual se obtuvieron las poses de unión más favorables, con el objetivo de estudiar la forma de interacción de los derivados tetrazólicos de la sitagliptina. La pose final del derivado **5b** resultante de este estudio mostró una disposición en donde el anillo de tetrazol formó una interacción con la serina 630, el principal aminoácido catalítico de la enzima. El complejo total de interacción fue aislado y las interacciones de los complejos derivado sitagliptina–aminoácido fueron calculadas al nivel de teoría wB97xD/cc-pVDZ en las cuales se pudo mostrar la afinidad del ligando **5b** por cada uno de los aminoácidos. Por otra parte, se evaluó la reactividad de los derivados resultante de la agregación del anillo de tetrazol 1,5 disustituido en la estructura de la sitagliptina de forma que se identificaron los sitios más reactivos para predecir su comportamiento químico. Una vez teniendo los descriptores de reactividad, se realizó la síntesis de los derivados tetrazólicos mediante una reacción de multicomponentes de Ugi-azida. Los productos tetrazólicos fueron obtenidos en mezclas diastereoisoméricas por la formación de un nuevo centro quiral. Se consiguió separar los diastereoisómeros para su posterior identificación y caracterización mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  con lo que se constató la obtención de los nuevos derivados.

**Palabras clave:** DPP-IV, Sitagliptina, Serina, Ugi-azida, Tetrazol, DFT.

## ABSTRACT

In this work, the reactivity and the electronic properties of sitagliptin a very known oral antidiabetic drug were studied in the framework of the Density Functional Theory, which is part of the I-DPP-IV group. The Gaussian program was used to obtain the optimized structures and various properties of interest for this work using the theory level B3LYP/6-311++g (d, p).

We proposed derivatives of sitagliptin through the aggregation of a 1, 5-disubstituted tetrazole ring into the structure of sitagliptin to improve its properties. Mainly pursuing the chemical affinity to the enzyme responsible for the degradation of incretin hormones (DPP-IV) with the purpose of inhibiting its activity for better response from these hormones in the regulation of glucose levels, in specific to diabetic patients.

A docking study was performed between the derivative **5b** and the DPP-IV enzyme obtaining binding poses that favor to study the interaction of the tetrazole derivatives of sitagliptina. From such study, we found that the tetrazole ring forms a strong interaction with Serine 630, the main catalytic aminoacid of the enzyme, the interaction energy of the complexes were isolated and the interactions of the sitagliptina - aminoacid complexes were computed at the level of theory wB97xD/cc-pVDZ in which the affinity could be observed of the ligand by each of the aminoacids. The effect of 1,5-disubstituted tetrazolic ring on the structure of sitagliptin was evaluated by studying the most reactive sites to predict their chemical behavior. Once the reactivity descriptors were calculated, the synthesis and spectroscopic characterization of the tetrazole compounds were performed to the Ugi-azida reaction products. The diastereomeric mixtures of the tetrazole products were obtained forming a new chiral center. It was possible to separate the diastereoisomers for a subsequent identification and characterization employing the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy confirming the new derivatives.

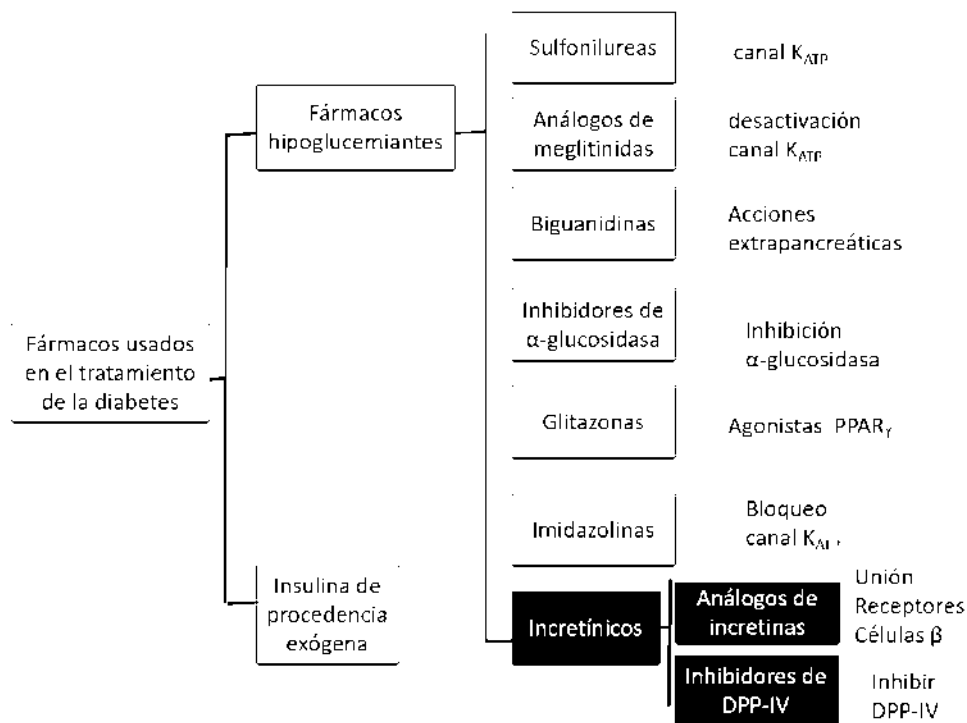
**Keywords:** DPP-IV, sitagliptin, serine, Ugi-azide, tetrazole, DFT.



# 1. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es un trastorno del metabolismo de los hidratos de carbono, caracterizado por un estado de hiperglucemia mantenido, provocado por un defecto endocrinológico atribuido a un déficit en la secreción y/o en la actividad de la insulina, condicionado tanto por factores genéticos, como por diversas circunstancias particulares de cada individuo. Los trastornos metabólicos de la DM son de gran importancia ya que predisponen al desarrollo de complicaciones vasculares específicas, como son la microangiopatía, retinopatía, nefropatía y neuropatía e inespecíficas como son la macroangiopatía, arteriopatía, cardiopatía isquémica y accidentes cerebrovasculares, que son las que determinan la elevada morbimortalidad asociada a la enfermedad además de que la DM tipo II representa el 90% de los casos totales de los pacientes con diabetes.<sup>1</sup>

De las moléculas usadas en el tratamiento de la diabetes existen varias clasificaciones y esto es debido al tipo de mecanismo por el cual ejercen su efecto hipoglucemiante, dicha clasificación se ilustra en el esquema 1.<sup>2</sup>



Esquema 1. Clasificación de los fármacos usados en el tratamiento de la diabetes mellitus.

Las incretinas son un grupo de hormonas peptídicas sintetizadas y secretadas por el intestino, dichos péptidos están involucrados en el control de los niveles de glucosa postprandiales al regular los niveles de la hormona insulina y glucagón, preparando al organismo para almacenar los alimentos recibidos es decir mantener los niveles de glucemia en los valores adecuados.<sup>3</sup> Su acción

farmacológica deriva en el efecto fisiológico que presenta la glucosa al ser administrada por vía oral donde se produce una secreción de insulina de tres a cuatro veces mayor que la obtenida al administrar la misma cantidad de glucosa por vía sanguínea, dicha diferencia es debido a las hormonas incretinas producidas tras la ingestión de alimentos. Las dos incretinas principales son el *péptido similar al glucagón* (GLP-1) un polipéptido de 30 aminoácidos y el *polipéptido insulínico dependiente de glucosa* (GIP) un polipéptido de 42 aminoácidos. En pacientes con DM tipo II la secreción de GLP-1 está reducida y la acción de GIP se encuentra muy atenuada. Ya que los efectos del GLP-1 están preservados, la orientación terapéutica se ha orientado por esta hormona. La GLP-1 estimula la biosíntesis y secreción de la insulina, restaurando la primera fase insulino-secretora defectuosa en la DM tipo II. Mantiene la masa de los islotes al favorecer la proliferación, inhibir la apoptosis y suprimir la liberación de glucagón.<sup>3</sup>

A pesar de esto el GLP-1 y GIP presentan varios inconvenientes, éstas son rápidamente degradadas por una enzima llamada dipeptidil peptidasa IV disminuyendo las concentraciones plasmáticas de estas hormonas.<sup>3</sup> En la figura 1 se muestra una representación general de la acción de las incretinas, su importante rol en el control de la glucemia y su posterior degradación por la DPP-IV.

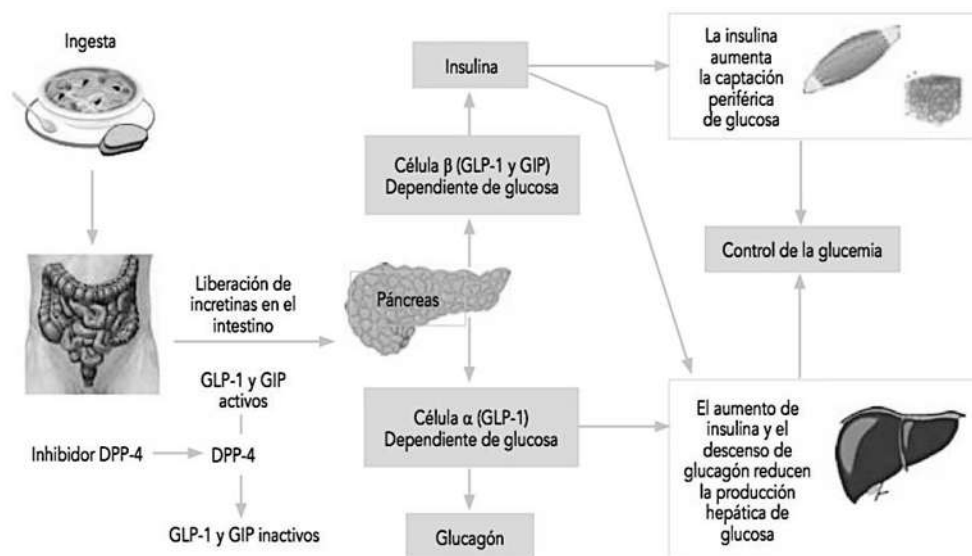
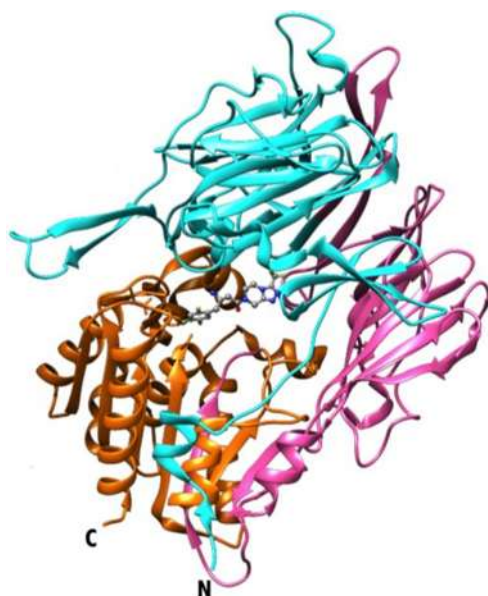


Figura 1. Rol de las hormonas incretinas y su desactivación por la enzima DPP-IV.

La dipeptidil peptidasa-IV (DPP-IV), es una glucoproteína transmembranal homodimérica constituida de 766 aminoácidos (figura 2) y dividida en 5 regiones, siendo las regiones 3-5 las más importantes como se muestra en la figura 2.<sup>4</sup>

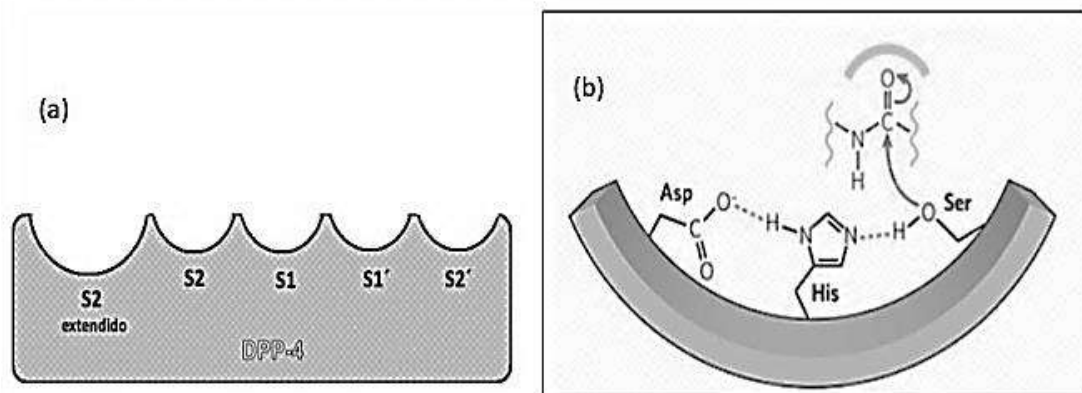
1. Una región orientada hacia el citoplasma y constituida por los residuos 1-6.
2. Una región transmembranal integrada por los residuos 7-28.
3. Una región muy glicosilada constituida de los residuos 29-323.

- Una región abundante en cisteína y compuesta de los residuos 324-551.
- Una región catalítica constituida de los residuos 552-766.



**Figura 2.** Monómero de la DPP-IV clasificada; azul: región muy glicosilada, rosa: región rica en cisteína y naranja: región catalítica.

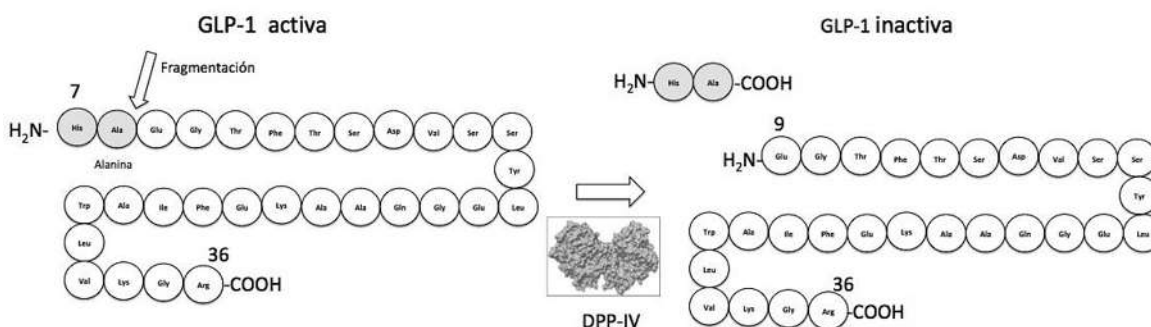
Dentro de la región catalítica tenemos diferentes subdivisiones según la forma de unión del sustrato endógeno (GLP-1), a éstas se les denota por las letras S1', S2', S1, S2 y S2 extendido como se muestra a modo de ejemplo en la figura 3(a).<sup>5, 6</sup> El sitio S1 es el más importante ya que dentro de este se encuentra la nombrada *tríada catalítica*<sup>5, 6</sup> la cual está integrada por los residuos aminoacídicos serina 630, asparatato 708 e histidina 740 y es la responsable de la función peptidasa de la enzima, la cual se muestra en la figura 3(b).



**Figura 3.** (a) Sitios de unión de los inhibidores de la DPP-IV, (b) Tríada catalítica responsable de la actividad de la enzima con ubicación en el sitio S1 de la enzima.

La DPP-IV es una oligopeptidasa de serina (serina proteasa) que actúa sobre oligopéptidos en los que el segundo aminoácido amino terminal es alanina (Ala) o

prolina (Pro). Esta enzima separa estos oligopéptidos en fragmentos dipeptídicos amino terminales. Debido a que la GLP-1 es un oligopéptido que en su extremo amino terminal presenta el fragmento - His-Ala-Glu -, se convierte en un buen sustrato de la enzima DPP-IV como se muestra en la figura 4.



**Figura 4.** Forma de desactivación de las hormonas incretinas por la DPP-IV.

Una vez desenmascarado el importante efecto activador insulinoscretor que juegan las hormonas incretinas, al estimular los receptores de las células  $\beta$  pancreáticas, se puso especial interés al desarrollo de moléculas farmacológicas con mecanismos de acción relacionados, obteniéndose varias de éstas. Los fármacos incretínicos están clasificados en dos grandes categorías; los que son peptidomiméticos y los que no lo son.<sup>4</sup> Dentro de los fármacos incretínicos peptidomiméticos están aquellos que son análogos estructurales del péptido GLP-1 y presentan el mismo mecanismo de acción de la GLP-1 al estimular los receptores de la células  $\beta$  pancreáticas dentro de este tipo de fármacos encontramos el péptido semisintético de 37 aminoácidos con una cadena de ácido palmítico llamado liraglutida y el péptido semisintético exenetida de 45 aminoácidos, obtenido de la saliva del monstruo de Gila<sup>7</sup> (figura 5). Estos péptidos son análogos de GLP-1 pero más resistentes a la degradación por la DPP-IV. Estos análogos suelen presentar efectos colaterales, siendo los más frecuentes los gastrointestinales en el 40% de los pacientes que hacen uso de éstos.

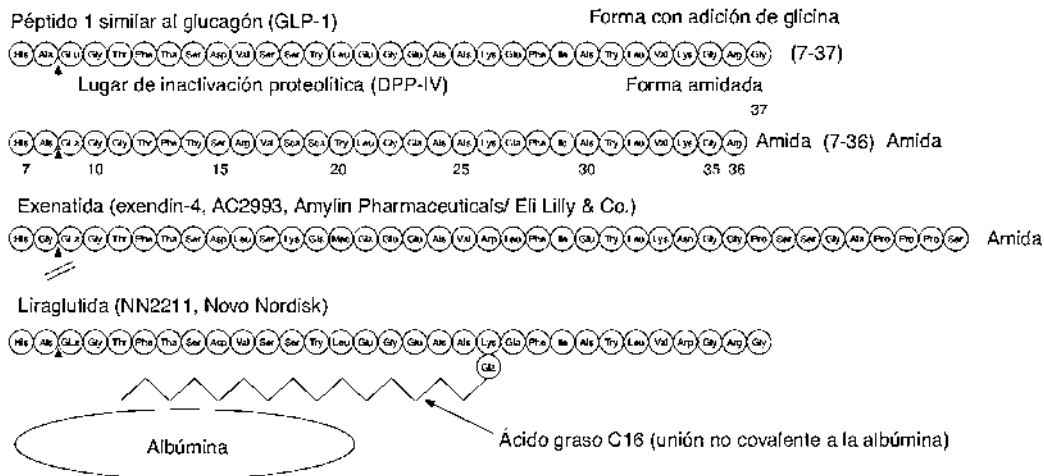
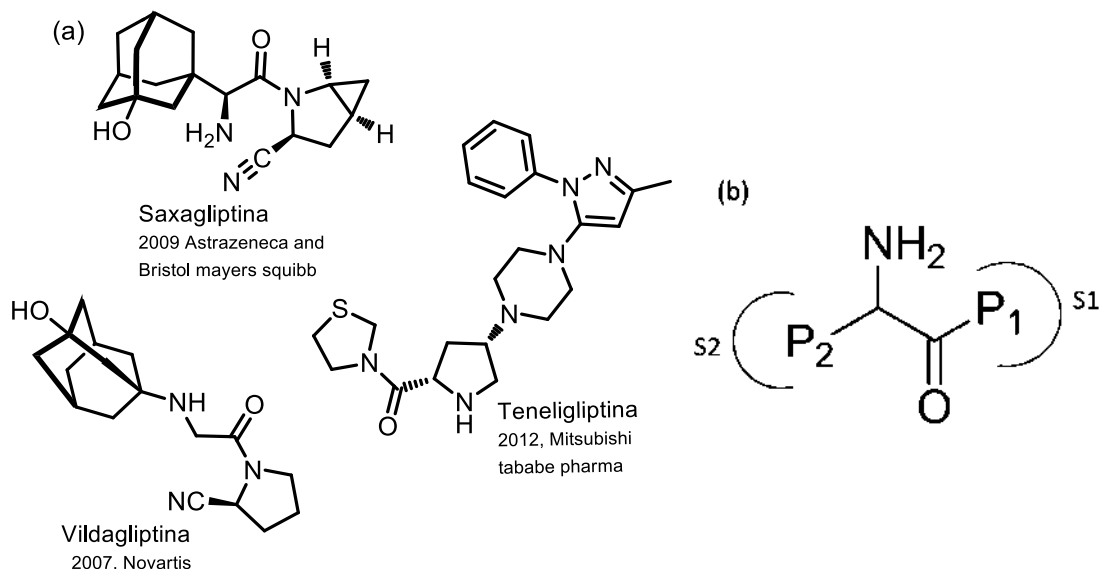


Figura 5. Composición de aminoácidos de los inhibidores de la DPP-IV peptidomiméticos.

Los fármacos incretínicos no peptidomiméticos son aquellos que no presentan algún parecido a la estructura polipeptídica de GLP-1 y en su lugar tienen su actividad al inhibir la acción de la DPP-IV por unión a ésta. Los inhibidores de la DPP-IV son clasificados en dos grupos según su estructura; los que presentan un sustituyente parecido al sustrato endógeno y los que no.<sup>4</sup>

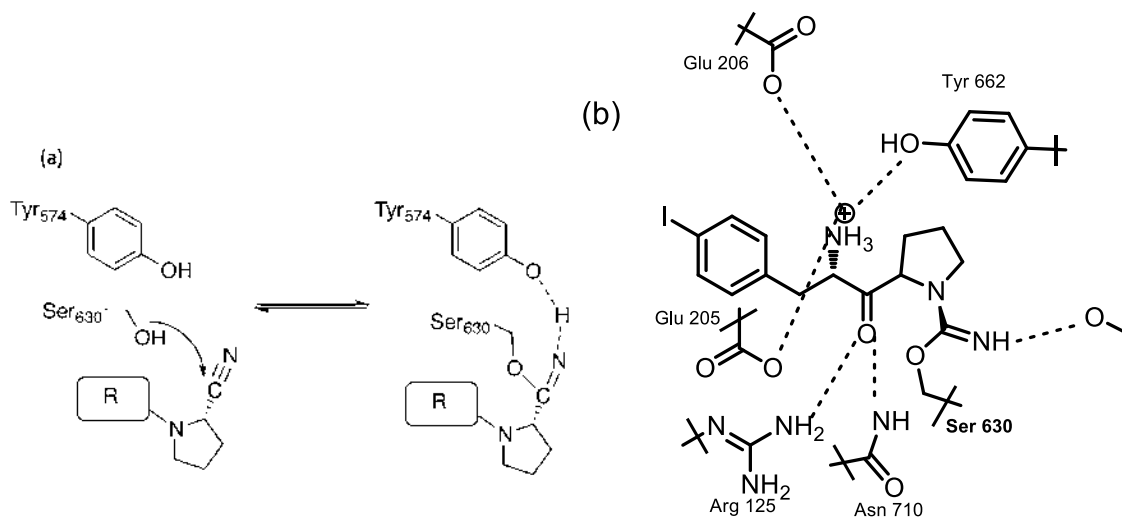
### 1.1. Inhibidores de la DPP-IV con grupos miméticos

Los inhibidos de la DPP-IV con grupos miméticos son más comunes que los que no presentan grupos miméticos. En este grupo la unión a la DPP-IV puede ser de manera covalente o no covalente. Dentro de esta categoría encontramos la saxagliptina<sup>8</sup>, vildagliptina<sup>9</sup> y la teneligliptina<sup>10</sup> mostrados en la figura 6(a). La estructura química de los inhibidores con grupos miméticos presentan en común un fragmento  $\alpha$ -amino amida el cual se visualiza en la figura 6(b) como un fragmento de  $\alpha$ -aminoácido sustituido por P1 y P2, donde los sustituyentes en P1 tendrán interacción con el sitio S1, lugar donde se ubica la tríada catalítica, y los sustituyentes en P2 tendrán interacción con el sitio S2.<sup>11</sup>



**Figura 6.** (a) Estructura química de los I-DPP-IV con grupos miméticos, (b) fragmento  $\alpha$ -aminoácido presente en la estructura de los I-DPP-IV con grupos miméticos.

Como el sitio S1 presenta una gran afinidad hacia residuos de prolina, es por ello que estos compuestos presentan un anillo de pirrolidina. La saxagliptina y vildagliptina presentan un anillo de cianopirrolidina el cual forma un enlace covalente reversible con la serina 630 [figura 7(a)], formando un imidato estabilizado por interacciones intermoleculares con otros residuos, como son los puentes de hidrógeno entre el grupo amino de los derivados y los residuos de glutamato 205, glutamato 206 y tirosina 662 [figura 7(b)].<sup>4,11</sup>



**Figura 7.** (a) Mecanismo de unión de la serina 630 a los I-DPP-IV con grupos de cianopirrolidina, (b) Estabilización del imidato inestable formado por unión de la serina 630 con el grupo cianopirrolidina.

Éstos compuestos pueden a llegar a perder potencia si este grupo amino en la posición alfa es removido, aunque es bien sabido que el intercambio de este grupo amino por un grupo hidrazina no disminuye la potencia de estos derivados, en su

lugar presentan un efecto preventivo contra complicaciones vasculares consecuencia de la diabetes y una protección contra el daño por radicales libres.<sup>4</sup> Se ha logrado reemplazar el anillo de cianopirrolidina por otros grupos como es el anillo de tiazolina presente en la teneligliptina (figura 8), con lo que se logró aumentar la potencia pero con pérdida de estabilidad y de especificidad, dando interacciones con la DPP-VIII y DPP-IX.<sup>11</sup>

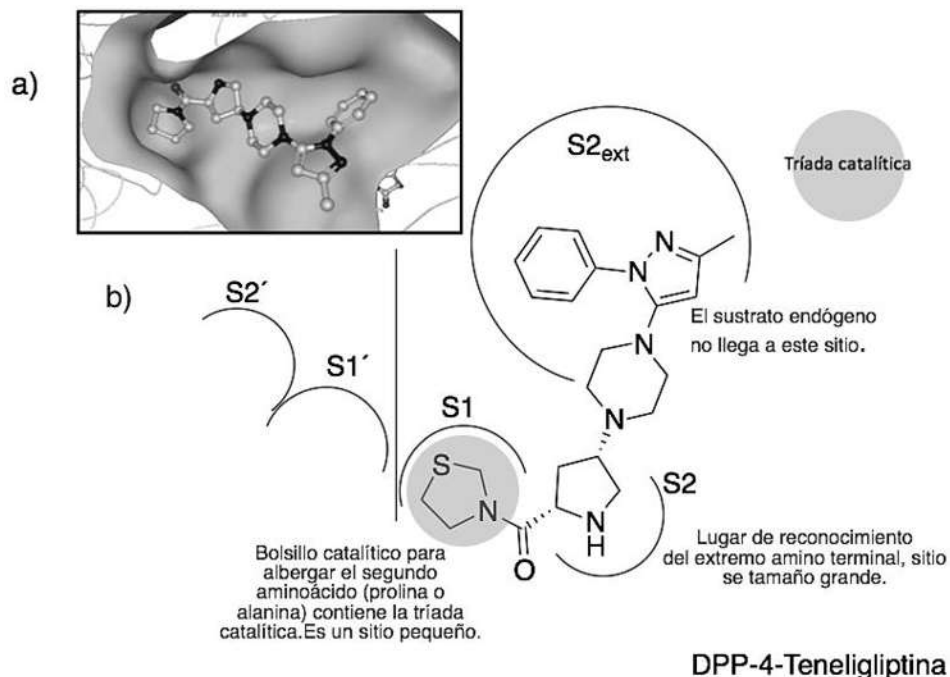


Figura 8. Forma de unión de un I-DPP-IV con un grupo tiazolina en su estructura.

En general este tipo de compuestos cianopirrolidinicos no eran muy estables debido a que llevan a cabo reacciones de autociclización, lo cual era promovido por la conversión del rotámero *trans* amida a *cis* amida (figura 9), siendo el rotámero *trans* el que lleva a cabo la unión a la DPP-IV.<sup>10</sup>

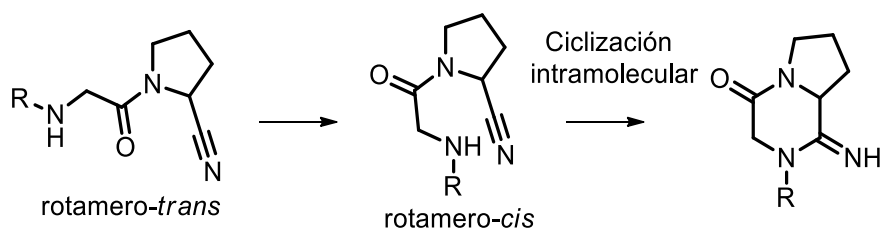


Figura 9. Autociclización intramolecular de los I-DPP-IV con grupos miméticos.

Al incorporar sustituyentes que generaran un alto impedimento estérico se ha logrado superar este problema al impedir la conversión *cis-trans* amida. La vildagliptina descubierta en 1998 pero comercializada hasta el 2007,<sup>9</sup> fue de los derivados que lograron superar los inconvenientes de la estabilidad al igual que la saxagliptina, al incorporar un grupo adamantilo [figura 6(a)] como impedimento

estérico, disminuyendo la conversión *cis-trans* amida.<sup>11</sup>

## 1.2. Inhibidores de la DPP-IV sin grupos miméticos

La inhibición de la DPP-IV en el grupo de los inhibidores de la DPP-IV sin grupos miméticos es exclusivamente de forma no covalente. Este tipo de derivados usualmente contienen un anillo aromático que ocupa el sitio S1, en lugar de un grupo mimético prolina.<sup>4, 11</sup> Las farmacéuticas dejaron de trabajar en las series de derivados basados en la estructura de  $\alpha$  aminoácido para trabajar con derivados con el fragmento de  $\beta$  aminoácido. Dentro de este grupo encontramos la sitagliptina,<sup>12</sup> alogliptina<sup>13</sup> y linagliptina<sup>14</sup> (figura 10).

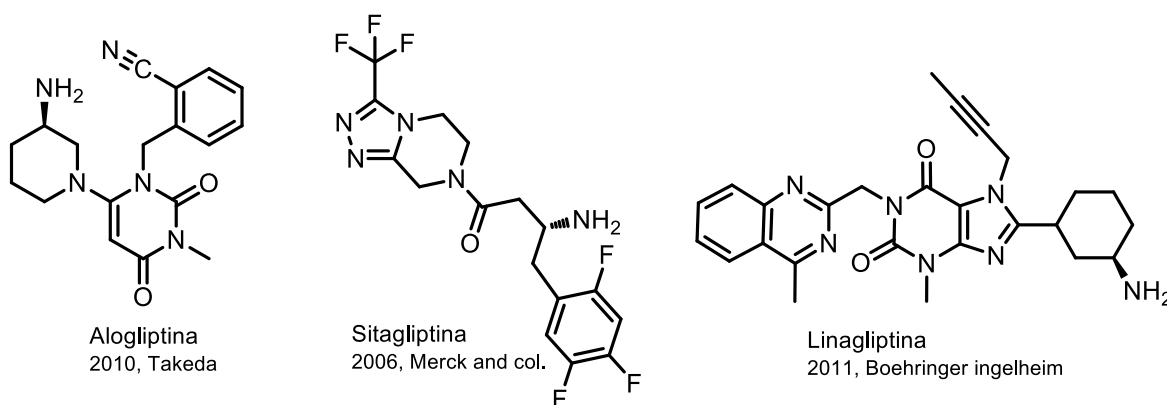
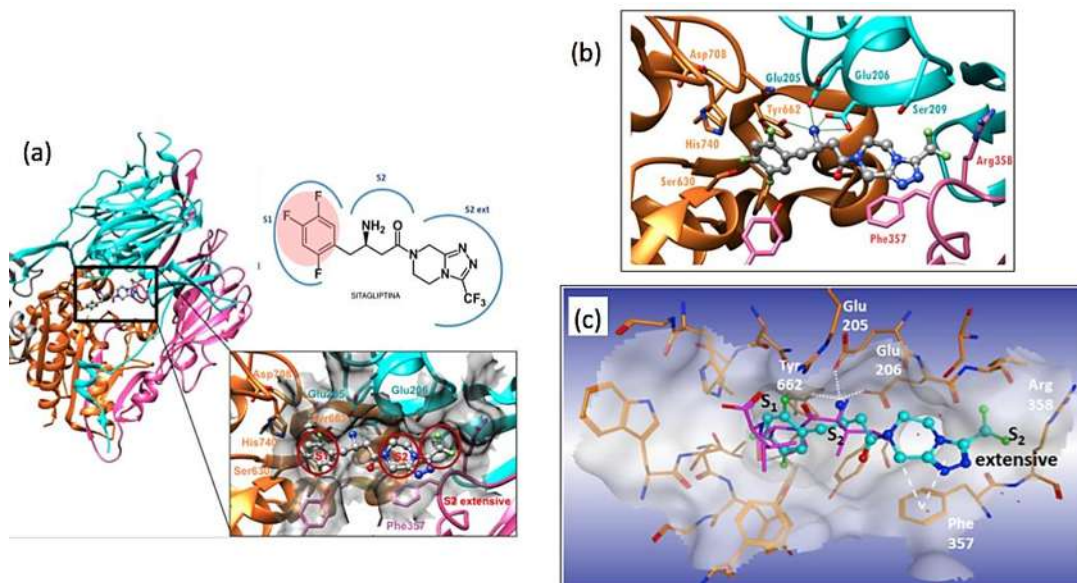


Figura 10. Estructura química de los I-DPP-IV sin grupos miméticos.

El derivado más representativo de este grupo es la sitagliptina, la cual presenta un anillo de trifluorfenilo que se coloca en el sitio S1 de la DPP-IV, presenta un grupo trifluorometilo que interacciona con los residuos arginina 358 y serina 209 localizados en el sitio S2 extendido, el grupo amino de la sitagliptina forma puentes de hidrógeno con la tirosina 662, glutamato 205 y glutamato 206 y además forma una interacción no polar del grupo triazolopiperazina con el residuo aromático fenilalanina 357 como se esquematiza en la figura 11.<sup>6</sup>

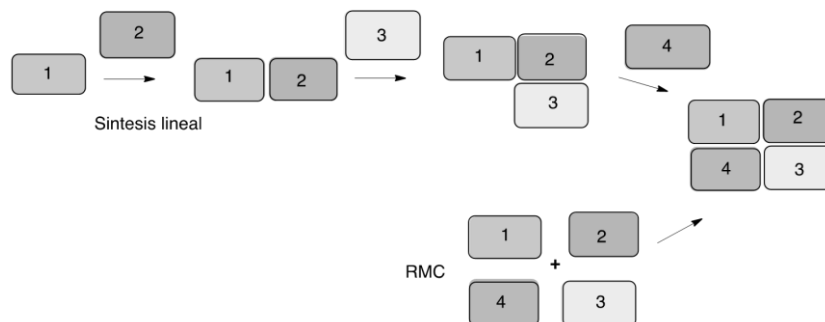




**Figura 11.** (a) Forma de unión de la sitagliptina en el sitio catalítico de la enzima DPP-IV, (b) Acercamiento forma de unión de la sitagliptina en el sitio catalítico de la enzima DPP-IV, (c) Forma de unión de la sitagliptina en el sitio catalítico de la enzima DPP-IV según nabeno.

## 2. ANTECEDENTES

Las reacciones de multicomponentes son procesos en los cuales 3 o más reactivos son acoplados al mismo tiempo para formar un solo producto. Estas reacciones de inicio no reaccionan simultáneamente en un solo paso, en su lugar lo hacen en una secuencia de pasos elementales de acuerdo a un programa propiamente dicho, en el esquema 2 se puede ver una representación general de este tipo de reacciones.<sup>15-18</sup>



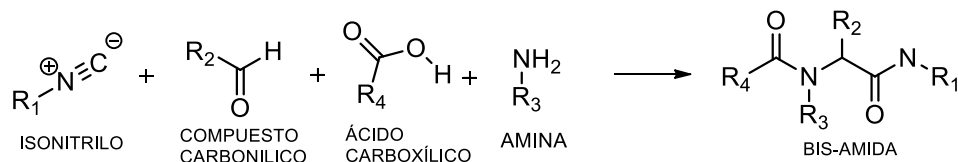
**Esquema 2.** Síntesis lineal vs reacción multicomponentes.

Las reacciones de multicomponentes son procesos convergentes en los cuales tres o más materias primas reaccionan para formar un aducto, el cual estará formado ya sea por todos o la mayoría de las materias de partida.

Considerando las reacciones de multicomponentes existe una importante clase de reacciones, las llamadas RMC con isonitrilos que son aquellas reacciones de multicomponentes que hacen uso de isocianuros; compuestos venenosos caracterizados por su repulsivo mal olor (hedor). Los isonitrilos también pueden ser llamados isocianuros o carbilaminas. Los isonitrilos están bien referenciados por su repulsivo olor que en comparación con sus isómeros estructurales los nitrilos, estos presentan olores intensos pero menos desagradables, hay que hacer notar que entre estos dos los isocompuestos son mucho más venenosos.

### 2.1. La reacción de Ugi

Particularmente en las reacciones de multicomponentes con isocianuros se encuentra la reacción de Ugi, la cual se trata de una condensación de 4 componentes: Ácidos carboxílicos, isocianuros, compuestos carbonílicos como aldehídos o cetonas y una amina primaria o secundaria para producir una bis-amida (esquema 3).<sup>15, 16</sup>



**Esquema 3.** Reacción de multicomponentes de Ugi.

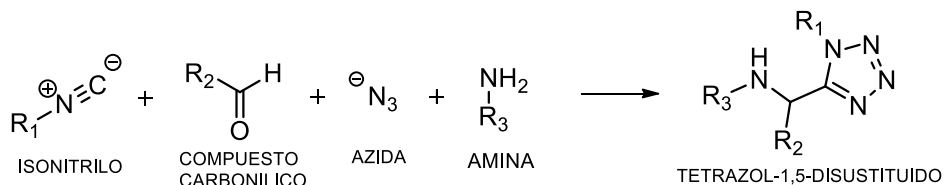
De la metodología clásica de Ugi han aparecido una alta generación de variantes haciendo intercambio del componente ácido; haciéndose entonces de un inicio con ácidos carboxílicos posteriormente con ácido hidrazoico, cianatos, tiocianatos, monoésteres del ácido carbónico, sales de aminas secundarias, agua, sulfuro de hidrógeno,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  y seleniuro de hidrógeno. Los componentes carbonílicos de esta condensación puede ser tanto cetonas como aldehídos, las aminas pueden ser primarias y secundarias, hidracinas e hidroxilaminas.

La reacción de Ugi hace uso como solventes los alcoholes de bajo peso molecular como metanol, etanol o trifluoroetanol. Este tipo de reacciones se lleva a cabo mejor en solventes próticos como es el metanol, debido a que el mecanismo de reacción es de naturaleza iónica.<sup>17</sup>

Existen varias variantes de la reacción de Ugi según el tipo de componente ácido empleado. Generalmente se sabe la reacción procede mejor si los reactivos están presentes en altas concentraciones (0.5-2 molar). La pre condensación de la amina y el compuesto carbonílico usualmente como los experimentos constatan tiene un efecto positivo en los rendimientos de reacción.<sup>17,</sup>

## 2.2. La reacción de Ugi-azida

Una variante de la reacción clásica de Ugi de cuatro componentes es la que hace uso de ácido hidrazoico (como azida) en lugar de ácidos carboxílicos. La reacción de Ugi-azida representa una de las metodologías sintéticas más apreciadas dentro de la química medicinal, debido a que genera una extensa variedad de sistemas tetrazólicos 1,5-disustituídos como se observa en el esquema 4.<sup>15,17</sup>



**Esquema 4.** Reacción de multicomponentes de Ugi-azida.

Los tetrazoles 1,5-DS son heterociclos aromáticos de cinco miembros no presentes en productos naturales y que han recibido gran atención dentro del área de la química medicinal debido a su amplio rango de actividades biológicas y farmacológicas, así como su capacidad de comportarse como bioisómeros de los enlaces *cis*-amida (figura 12), lo cual ha permitido preparar tetrazoles biomiméticos de péptidos con alta estabilidad metabólica.

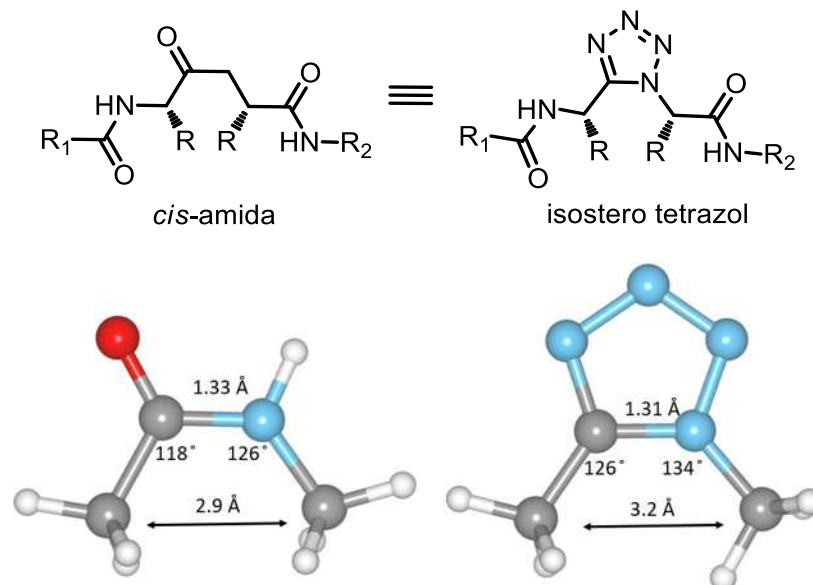


Figura 12. Bioisómero del enlace *cis*-amida.

El anillo de tetrazol 1,5-disustituido al ser un grupo altamente peptidomimético se puede encontrar en la estructura química de una gran parte de moléculas con actividad biológica, tal es el caso de algunos retrovirales, en el cual un grupo  $\alpha$ -metilentetrazol es introducido en estos derivados probados contra la enzima proteasa del virus del VIH (figura 13).<sup>18</sup>

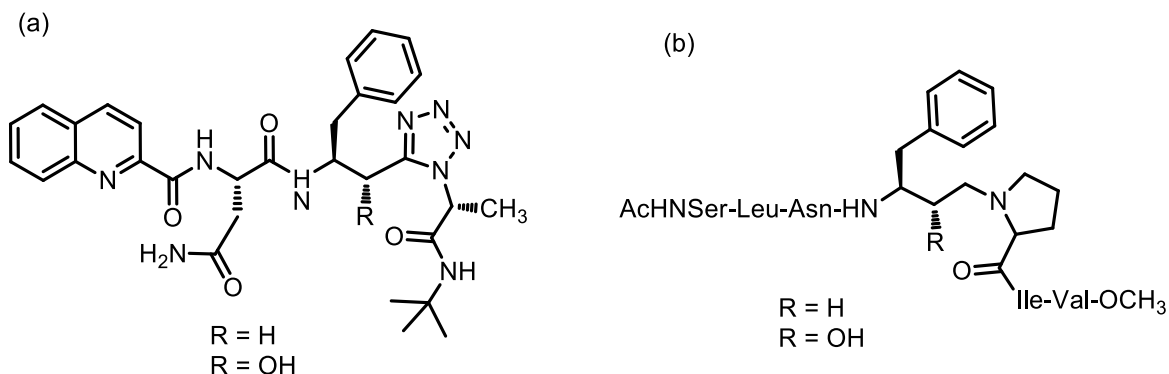


Figura 13. Retrovirales con anillos de tetrazol 1,5-DS.

El anillo de tetrazol 1,5 disustituido también se puede encontrar en la estructura de moléculas con actividad antiinflamatoria, ejemplos de este tipo de moléculas se muestra en la figura 14.<sup>19</sup>

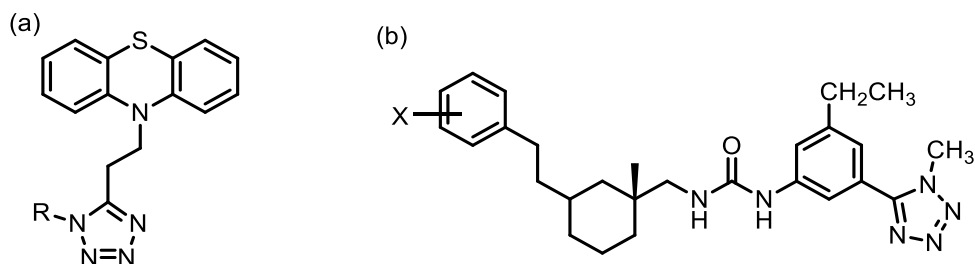
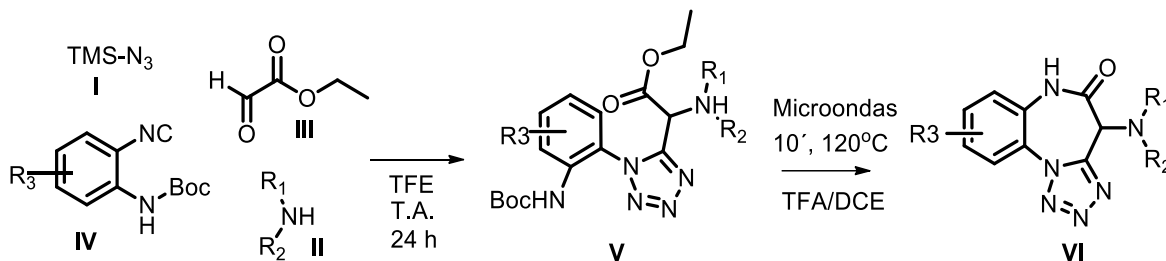


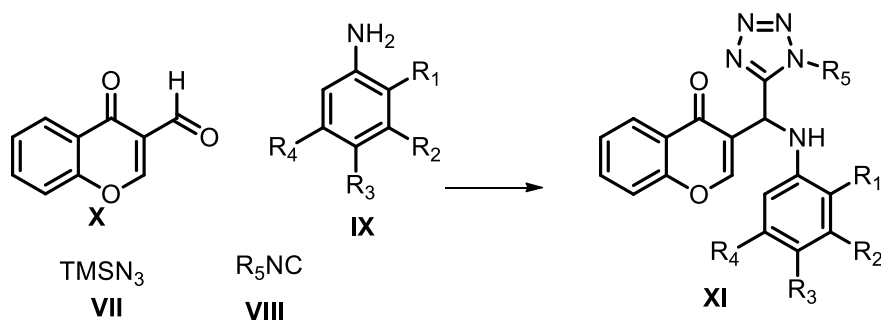
Figura 14. Antiinflamatorios con anillos de tetrazol 1,5-DS.

En el año 2012 Dowmling y col.,<sup>20</sup> reportaron la síntesis de tetrazol-benzodiazepinas y tetrazol-benzodiazepinonas **VI** mediante un protocolo de dos pasos usando la reacción de Ugi-azida como primer paso. En este trabajo ellos hicieron uso de aminas cíclicas secundarias, etilglioxaldehído como el compuesto carbonílico, la trimetilazida e isonitrilos aromáticos en este caso los fenilisonitrilos *orto*-N-Boc protegidos (esquema 5). Ellos sugieren el uso de trifluoroetanol como disolvente prático en lugar de MeOH, debido a que este no es nucleofílico y además de que el uso de MeOH como disolvente no promueve la obtención producto de condensación de Ugi y que en su lugar se obtiene otro, por la adición de metanol a la base de Schiff (imina) generada durante la reacción.



**Esquema 5.** Obtención tetrazol benzodiazepinonas, síntesis de 2 pasos usando aminas secundarias, etilenglioxaldehído, TMS-azida y fenilisonitrilos *orto*-N-Boc protegidos.

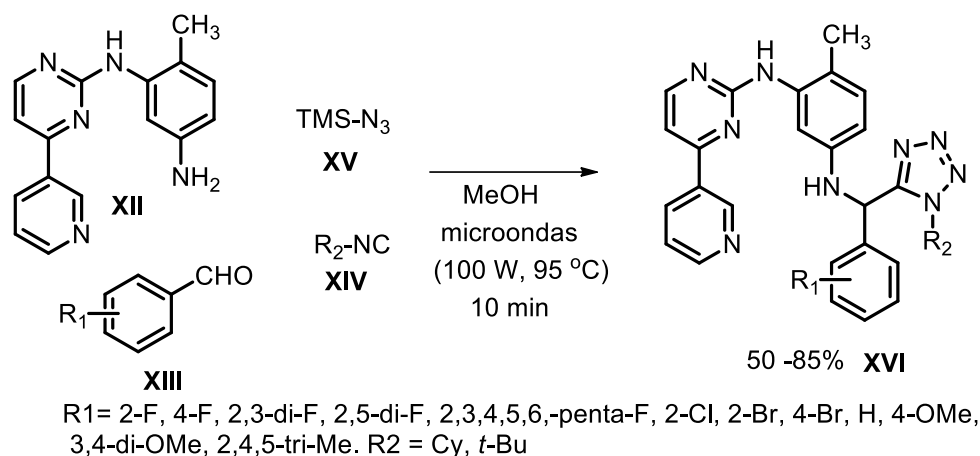
En el año 2014 Gámez Montaña y colaboradores<sup>21</sup> reportaron las síntesis de tetrazol-cromonas **XI** mediante una reacción de I-MCR de Ugi-azida como se ve en el esquema 6, al igual que un estudio de actividad antimicrobiana de los productos obtenidos contra diferentes agentes patógenos dando buenos resultados. Gámez Montaña y col., reportan el uso de aminas aromáticas aunque las anilinas son comúnmente malos nucleófilos, se ha reportado que los ácidos de Lewis favorecen las reacciones de condensación entre anilinas y compuestos carbonílicos, por lo que al agregar cantidades catalíticas de  $\text{InCl}_3$  (5% mol) se logró aumentar la electrophilia de la 3 formil-cromenona **VII** promoviendo la condensación con anilinas sustituidas.



**Esquema 6.** Reacción de obtención de tetrazol Cromonas.

La reacción de Ugi-azida clásica sin catalizador usualmente funciona bien cuando se usan aminas altamente nucleofílicas (no aromáticas).

Cortes y Gámez Montaña reportaron las síntesis de nuevos derivados tetrazol 1,5-disustituídos **XVI** del fármaco anticanceroso imatinib mediante una I-RMC de Ugi-azida asistida por microondas obteniendo el producto de Ugi de moderados a buenos rendimientos como se ilustra en el esquema 7.<sup>22</sup>



Esquema 7. Obtención de derivados tetrazólicos del fármaco imatinib.

Por otra parte Baker y col.,<sup>23</sup> reportaron la síntesis de tetrazoles 1,5-diaril sustituidos con los grupos metilsulfonilo y amino-sulfonilo como una nueva clase de inhibidores de la COX-2 (figura 15). En este trabajo Baker y col., reportaron además los estudios de docking molecular de los derivados tetrazólicos 1,5-disustituídos.

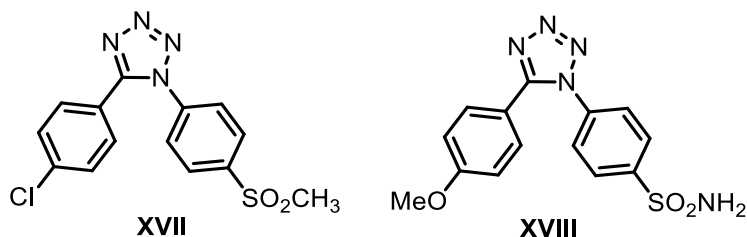


Figura 15. Derivados Sulfonil tetrazólicos I y II sintetizados por Baker.

Ellos reportan el estudio docking de estos derivados con la ciclooxigenasa 2 (COX-2). El estudio docking de los compuestos **XVII** y **XVIII** se realizó considerando los ligandos flexibles. Se evaluaron 500 poses de unión de los ligandos con el sitio activo de la COX-2 obteniéndose las mejores poses de unión. Se analizaron las interacciones del anillo de tetrazol de los compuestos **XVII** y **XVIII**, observándose interacciones de tipo puente de hidrógeno a 4 Å de distancia con los residuos aminoacídicos donadores de puentes de hidrógeno, debido a que el anillo de tetrazol actúa como aceptor de puentes de hidrógeno, ya que un anillo de tetrazol puede formar más de un puente como se muestra en figura 16 donde forma dos interacciones, por poseer una mayor superficie de interacción con grupos donadores de puentes de hidrógeno.

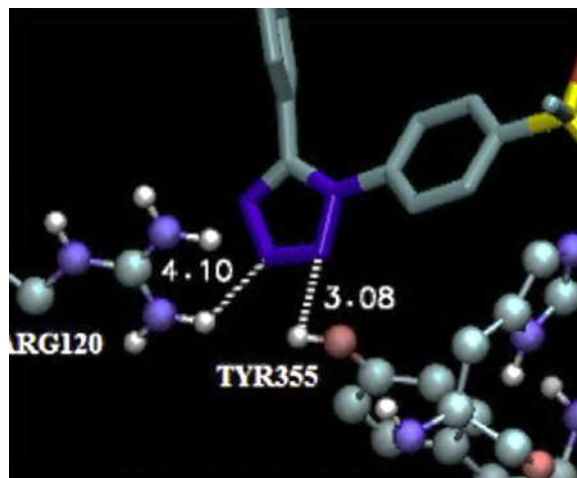


Figura 16. Forma de interacción de un anillo de tetrazol 1,5-disustituido con los residuos aminoácidos de una proteína reportado por Baker.

Por otra parte se han reportado ya modificaciones estructurales del antidiabético sitagliptina en dos de sus anillos (anillo de trifluorofenilo y anillo triazolopiperazínico) por parte de Kim y col.,<sup>24</sup> pero no ha habido modificaciones estructurales en el grupo amino primario de ésta como se muestra en la tabla 1, por lo que se propone la adición del anillo de tetrazol 1,5-DS en el grupo amino de esta.

Tabla 1. Modificaciones previas de la sitagliptina.

Compound	R <sup>1</sup>	Compound	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
20	2-F	42	2,5-Di-F	
21	3-F	43	2,5-Di-F	
22	4-F	44	2,5-Di-F	
23	3,4-Di-F	45	2,5-Di-F	
24	2,4-Di-F	46	2,5-Di-F	
25	2,5-Di-F	47	2,4,5-Tri-F	Et
26	2,3,5-Tri-F	48	2,4,5-Tri-F	
27	2,3,6-Tri-F	49	2,4,5-Tri-F	
28	2,4,6-Tri-F			
1 (Sitagliptin)	2,4,5-Tri-F			
29	2,3,4,5,6-Penta-F			
30	2-CF <sub>3</sub>			
31	3-CF <sub>3</sub>			
32	4-CF <sub>3</sub>			
33	2-Cl			
34	3-Cl			
35	4-Cl			
36	3,4-Di-Cl			
37	2,4-Di-Cl			
38	2,5-Di-Cl			
39	2-F, 5-Cl			
40	2,5-Di-F, 4-Cl			
41	2-Cl, 4,5-di-F			

### 3. JUSTIFICACIÓN

La diabetes mellitus es un padecimiento que afecta a una gran parte de la población en México, sector para el cual la terapia farmacológica es imprescindible para el correcto control de esta enfermedad, por lo que la incorporación de potenciales nuevas moléculas contra este padecimiento sigue siendo objeto de interés para el sector salud.

Se han reportado ya modificaciones estructurales en el esqueleto del antidiabético sitagliptina pero todas ellas han sido en torno al anillo trifluorofenilo o al anillo triazolopiperazínico pero no en el grupo funcional amino primario como se esta proponiendo en este trabajo de investigación.

Los tetrazoles 1,5 disustituidos han recibido gran atención dentro del área de la química medicinal debido al amplio rango de actividades biológicas y farmacológicas reportadas en varias moléculas que incluyen este grupo en su estructura, debido a la capacidad de estos de comportarse como bioisómeros de los enlaces *cis*-amida, lo cual ha permitido preparar tetrazoles biomiméticos con una alta estabilidad metabólica.

La introducción de un grupo tetrazol 1,5 disustituido en el grupo amino de la molécula de la sitagliptina empleando la reacción de multicomponentes de Ugi-azida, se podría obtener un derivado con buena afinidad al sitio catalítico de la enzima DPP-IV, teniendo en cuenta que un anillo de tetrazol es un buen aceptor de puentes de hidrógeno y que además puede formar más de un puente de hidrógeno por la mayor superficie que presenta el anillo de tetrazol.



## 4. OBJETIVO GENERAL

Estudiar mediante cálculos químico-computacionales la reactividad intrínseca de la sitagliptina siguiendo la reacción de Ugi-azida en su mecanismo de reacción y predecir la reactividad de los productos tetrazólicos.

### 4.1. Objetivos específicos

- 4.1.1. Calcular los índices de reactividad intrínseca de la sitagliptina que nos ayuden a justificar los aspectos experimentales en el proceso de funcionalización con tetrazol en la reacción de Ugi-azida.
- 4.1.2. Realizar un análisis de estabilidad y reactividad comparando la distribución electrónica en las isosuperficies del potencial electrostático molecular de la sitagliptina con diversos sustituyentes que permitan proponer mejores rutas de síntesis.
- 4.1.3. Evaluar mediante descriptores locales de reactividad la capacidad nucleofílica o electrofílica de los sitios de interés donde se pretenden realizar las adiciones de sustituyentes.
- 4.1.4. En base a los resultados obtenidos del estudio de reactividad, sintetizar nuevos derivados tetrazólicos de la sitagliptina para su posible uso farmacológico.
- 4.1.5. Predecir los índices de reactividad de los principales productos obtenidos en la síntesis de Ugi-azida para elucidar su reactividad o posible uso farmacológico.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Sección experimental

Se obtuvo el espectro de  $^1\text{H}$  RMN de la amina sitagliptina, el cual se muestra en la figura 27 donde se identifican todos los protones de su estructura, tomando en cuenta que esta es la materia prima de partida para los derivados tetrazólicos, considerando que la estructura de la sitagliptina representa aproximadamente el 60% de la estructura de los derivados tetrazólicos, por lo que es conveniente identificar las señales de RMN de ésta. La sitagliptina es un  $\beta$ -amino carboxamida con una porción trifluorofenilo y una porción de triazolopiperazina. Al analizar el espectro de  $^1\text{H}$  podemos observar desde 7.50 a 6.80 ppm la aparición de dos señales dobles de dobles con constantes de acoplamiento de 16.3 y 9.4 Hz pertenecientes a los protones aromáticos 13 y 16 del anillo de trifluorofenilo, dentro del intervalo comprendido entre 4.85 a 5.20 ppm se localizan las señales correspondientes a los protones geminales 4a y 4b pertenecientes al anillo de triazolopiperazina, posteriormente encontramos las señales múltiples solapadas pertenecientes a los protones 2a, 2b, 1a y 1b también correspondientes al anillo de triazolopiperazina, más adelante dentro intervalo de 3.50 a 3.65 ppm aparece una señal simple ancha correspondiente al protón del carbono quiral 9, en 2.78 ppm aparece una señal doble de dobles para el protón diasterotópico 10b con constantes de acoplamiento de 13.7 y 5.8 Hz, en 2.67 ppm apareció también una señal doble de dobles para el protón diasterotópico 10a con constantes de acoplamiento de 13.6 y 7.8 Hz, en 2.54 hay una señal doble de dobles para el protón diasterotópico 8b con constantes de acoplamiento de 16 y 3.6 Hz y por último en 2.45 una señal doble de dobles para el protón 8a con constantes de acoplamiento de 16.1 y 8.7 Hz. La asignación de las señales de la sitagliptina se llevó a cabo con ayuda de reportes donde se describe la espectroscopía de esta.<sup>25</sup>

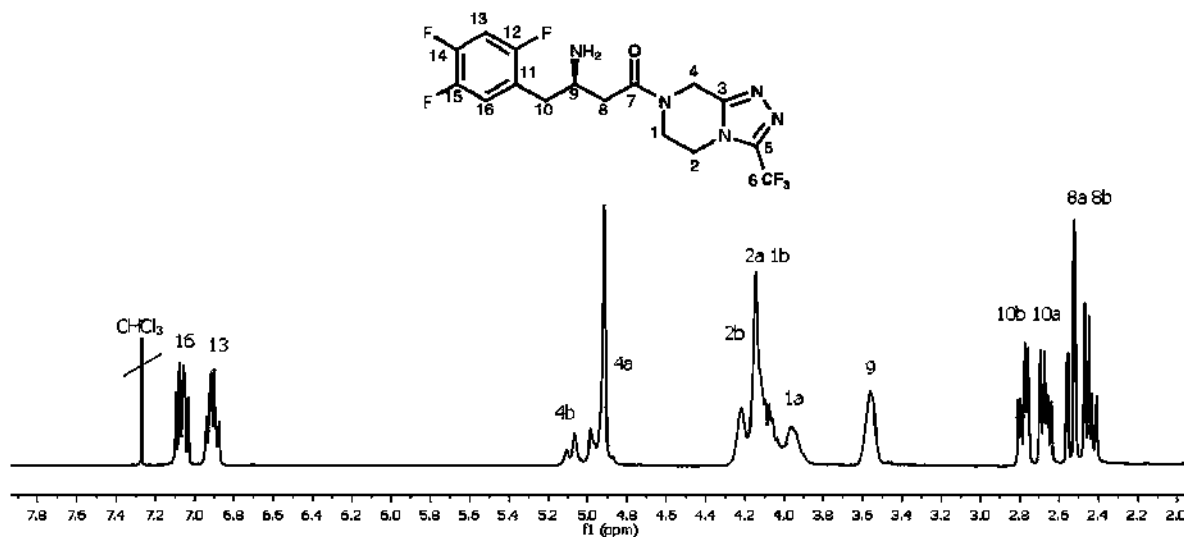


Figura 27. Espectro  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de la sitagliptina.

También se obtuvo el espectro de  $^{13}\text{C}$  de la sitagliptina, el cual se muestra en la figura 28, donde podemos constatar la aparición de todas las señales correspondientes a los carbonos de la estructura.

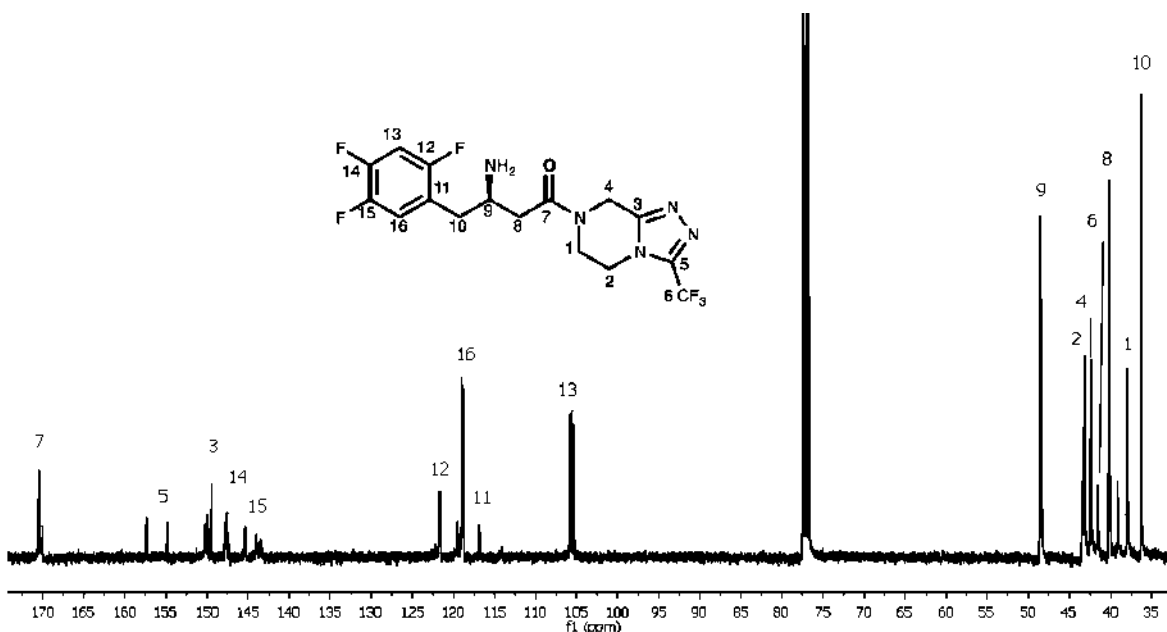
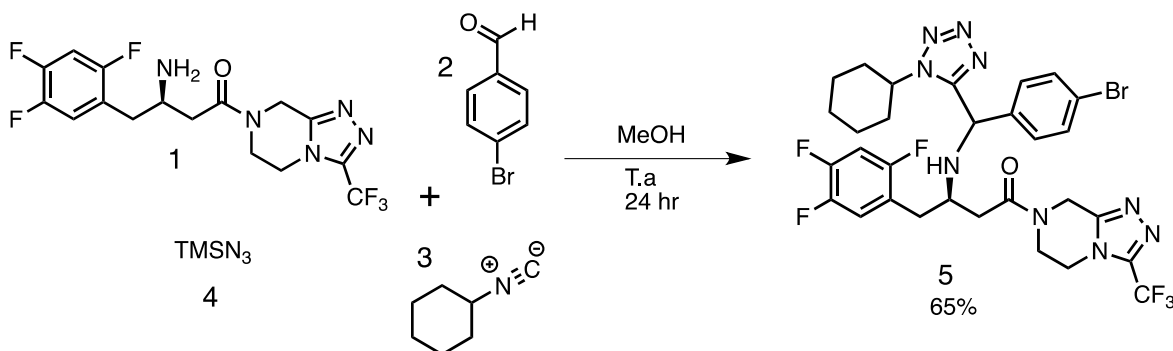


Figura 28. Espectro  $^{13}\text{C}$  RMN a 100 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de la sitagliptina.

La síntesis del derivado tetrazólico **5** se llevó a cabo a partir de la amina primaria sitagliptina **1**, el aldehído 4-bromobenzaldehído **2**, el ciclohexilisonitrilo **3** y la trimetilazida **4** como se muestra en el esquema 8, obteniéndose el derivado tetrazólico **5** en un rendimiento del 65%.



Esquema 8. Obtención de del derivado tetrazólico **5** mediante la reacción de Ugi-azida.

El análisis preliminar de espectros de  $^1\text{H}$  RMN de la amina sitagliptina **1** y del producto tetrazólico **5** representado en la figura 29 muestra notables diferencias, como es el agregado de nuevas señales en la región comprendida entre 1.1 hasta 2 ppm, señales que son correspondientes al anillo de ciclohexilo proveniente del ciclohexilisonitrilo, también se observa la aparición de nuevas señales en la región aromática en la región comprendida entre 7.10 a 7.60 ppm, señales correspondientes al nuevo sistema aromático proveniente del *para*-bromobenzaldehído y dentro del intervalo de 5.25 a 5.50 ppm se observa el

agregado de nuevas señales referentes a los protones del nuevo centro de quiralidad formado (C17).

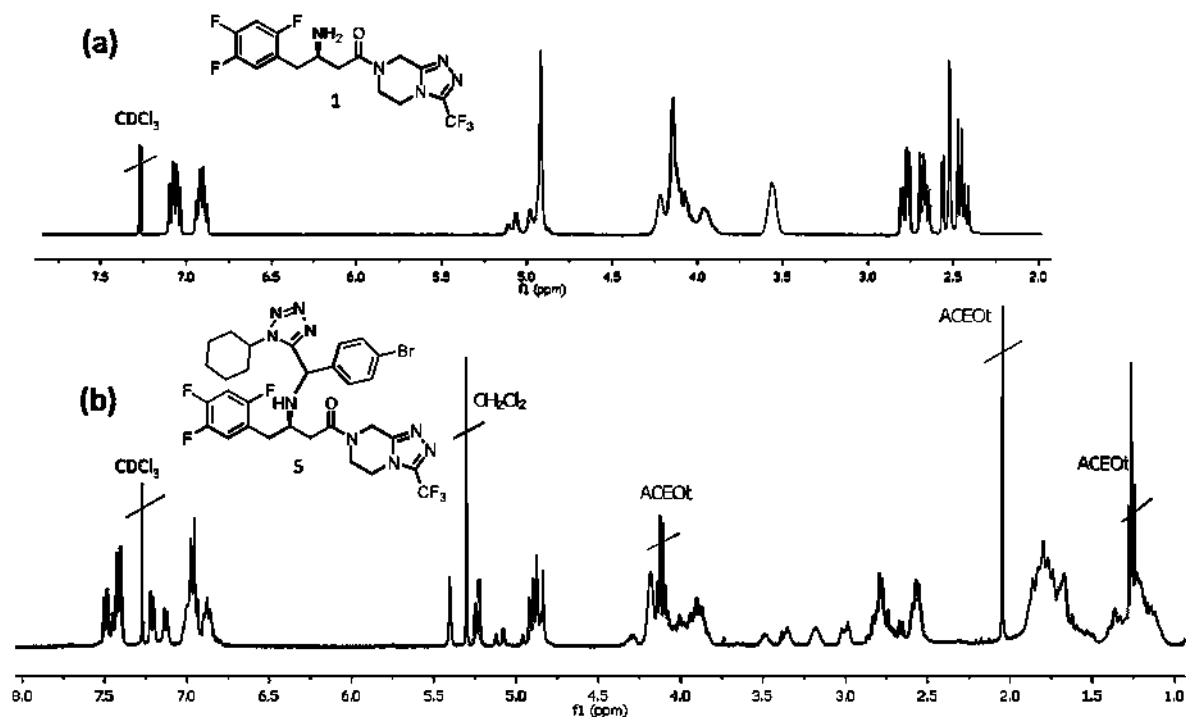


Figura 29. (a) Espectro <sup>1</sup>H RMN a 400 MHz en CDCl<sub>3</sub> de la sitagliptina, (b) Espectro <sup>1</sup>H RMN a 400 MHz en CDCl<sub>3</sub> del derivado 5.

Por otra parte también se compararon los espectros de <sup>13</sup>C RMN de 1 y el derivado tetrazólico 5 como se aprecia en la figura 30. En el espectro de RMN <sup>13</sup>C del derivado 5 (figura 30b) se muestran nuevas señales entre 25 y 35 ppm relacionadas al ciclo de seis miembros, también en 125 a 135 ppm encontramos las señales de los carbonos alusivas al sistema aromático del bromofenilo.

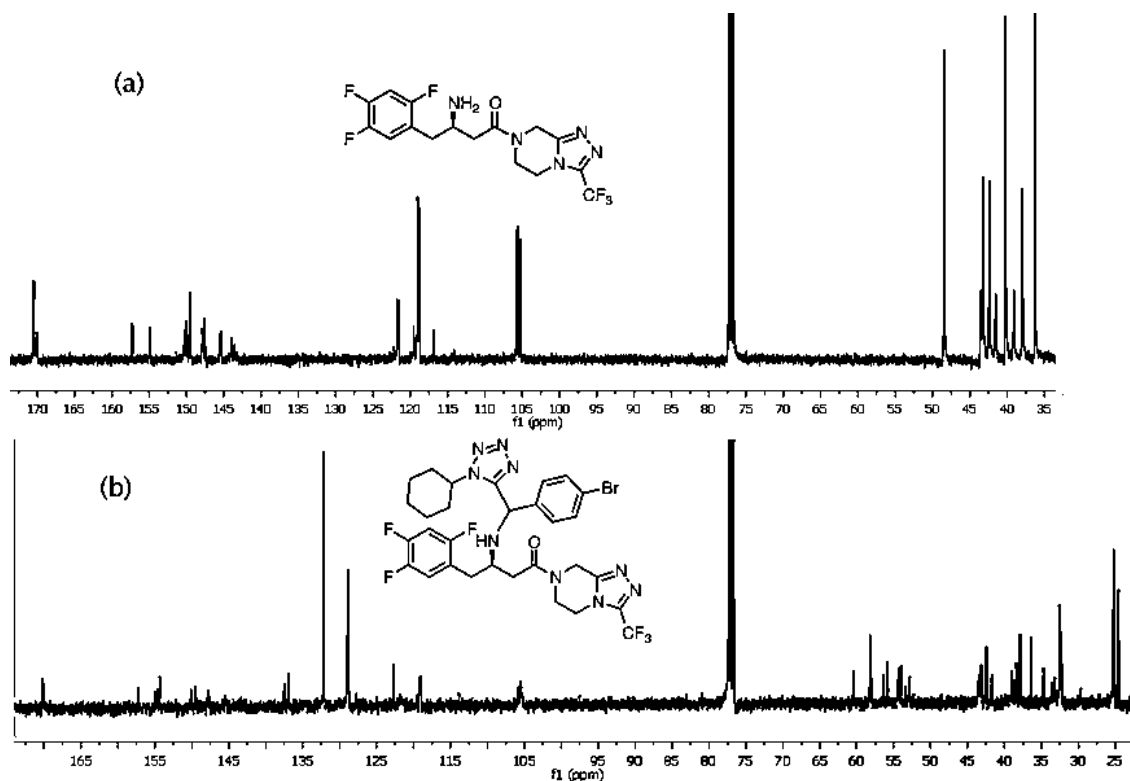
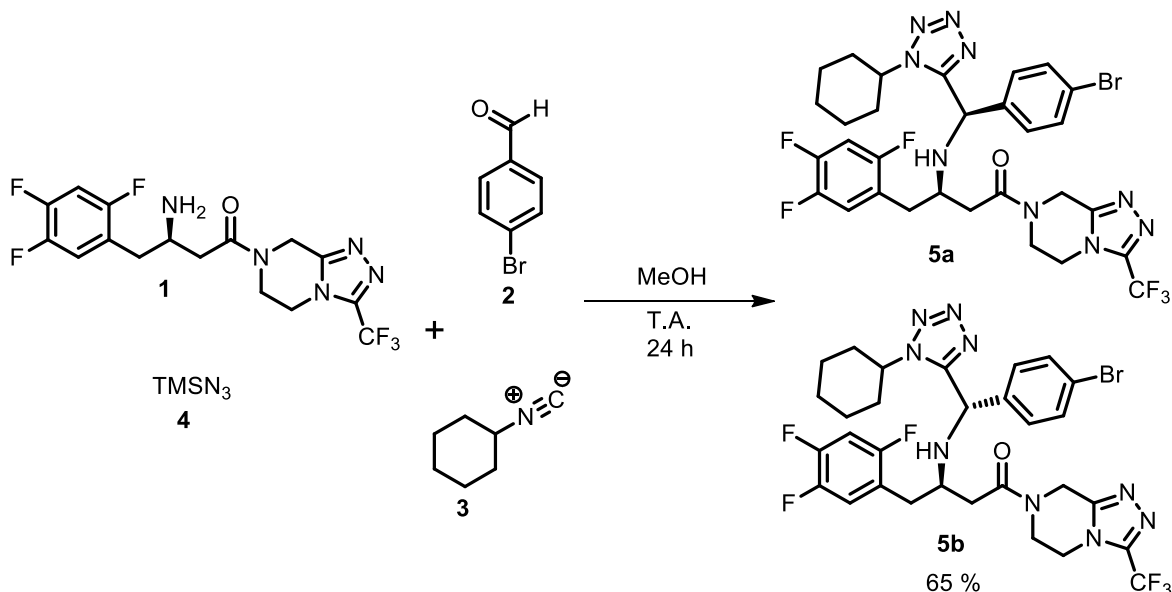


Figura 30. (a) Espectro  $^{13}\text{C}$  RMN a 100 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de la sitagliptina, (b) Espectro  $^{13}\text{C}$  RMN a 100 MHz en  $\text{CDCl}_3$  del derivado **5**.

La sitagliptina presenta un centro estereogénico en su estructura, pudiéndose encontrar los dos enantiómeros de ésta. En este proyecto la sitagliptina usada fue adquirida enantioméricamente pura, siendo la síntesis de los derivados tetrazólicos a partir del enantiómero *R*, debido a que en la reacción de Ugi se forma un nuevo centro estereogénico, los derivados presentan dos centros quirales, de los cuales uno tendrá configuración constante por partir de un enantiómero puro, por lo que se tendrá la mezcla de los diastereoisómeros *RR* y *RS* como se representa en el esquema 9 donde se esquematiza la reacción para la obtención del derivado **5** tomando en cuenta la formación de los diastereoisómeros **5a** y **5b** correspondientes a los el diastereoisómeros *RR* y *RS* respectivamente.



Esquema 9. Obtención de los diastereoisómeros del derivado tetrazólico 5.

Los diastereoisómeros **5-1** y **5-2** fueron separados por técnicas cromatográficas pudiéndose obtener espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  RMN para estos dos estereoisómeros. Enseguida en la figura 31 se incluye el espectro de  $^1\text{H}$  RMN del producto estereoisomérico **5**.

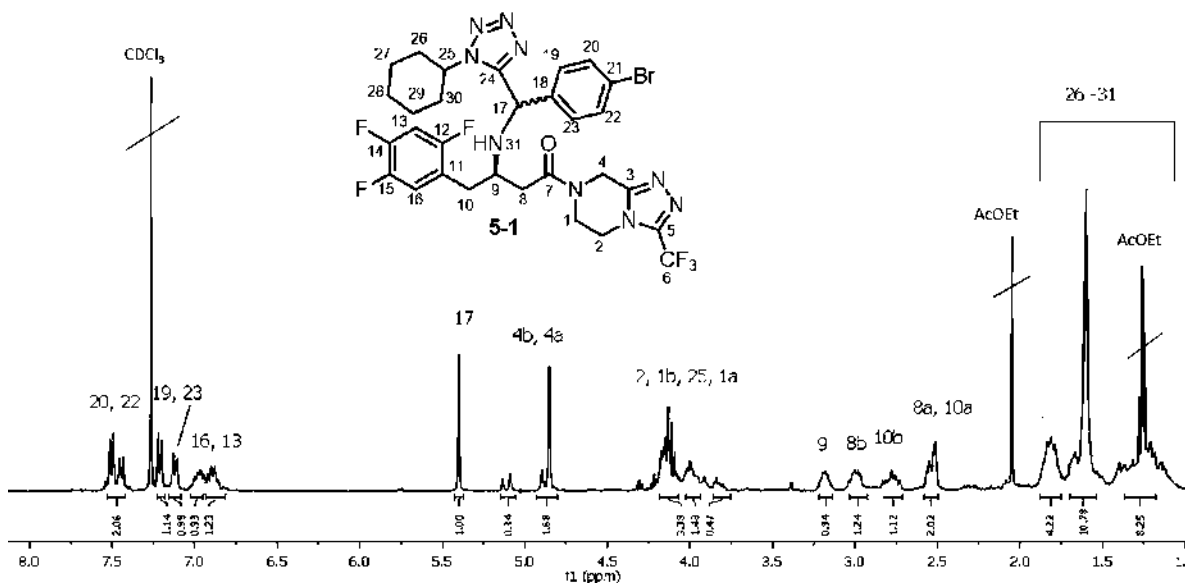


Figura 31. Espectro  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en  $\text{CDCl}_3$  del diastereoisómero **5-1**.

En el espectro de  $^1\text{H}$  RMN del derivado **5-1** de la figura 33, se observa desde campo bajo dentro del intervalo de 7.60 a 7.00 ppm las señales dobles de los protones aromáticos 20, 22, 19 y 23, todas con una constante de acoplamiento de 8.2 Hz, estos protones pertenecen al anillo de 4-bromofenilo, dicho sistema de señales resulta ser objeto de análisis pues el patrón de estas señales no es el de un sistema *para* sustituido común, donde normalmente encontraríamos un par de señales dobles, donde cada señal doble integraría para dos protones, por lo que la

equivalencia químico-magnética entre los pares de protones 20, 22 y 23, 19 debe estar siendo alterada por algún grupo vecino. Continuando el análisis, entre 7 a 6.8 ppm encontramos las señales de los protones 16 y 13 pertenecientes al anillo de trifluorofenilo. En 5.40 ppm tenemos la señal simple del protón 17 correspondiente al nuevo centro de quiralidad formado, así como más adelante encontramos las señales de los protones 4b y 4a del anillo de triazolopiperazina. En el intervalo de 4.3 a 3.75 ppm encontramos las señales para los protones 2b, 2a, 1b y 1a también del anillo de triazolopiperazina, así como de igual forma en esta región se encuentra la señal para el protón 25 perteneciente al anillo de ciclohexilo agregado en la reacción. En el intervalo de 3.25 hasta 2.3 ppm se ubican las señales múltiples de los protones diastereotópicos 9, 8b, 10b, 8a y 10a y por último en la región comprendida entre 1 a 2 ppm tenemos las señales múltiples intensas pertenecientes a los protones del anillo de ciclohexilo donde se observan algunas señales del disolvente AcOEt el cuál fue usado como componente del sistema eluyente empleado en la purificación de este derivado. En la figura 32 se muestra también el espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN del derivado **5-1**, en donde podemos encontrar las señales para todos los carbonos de la estructura.

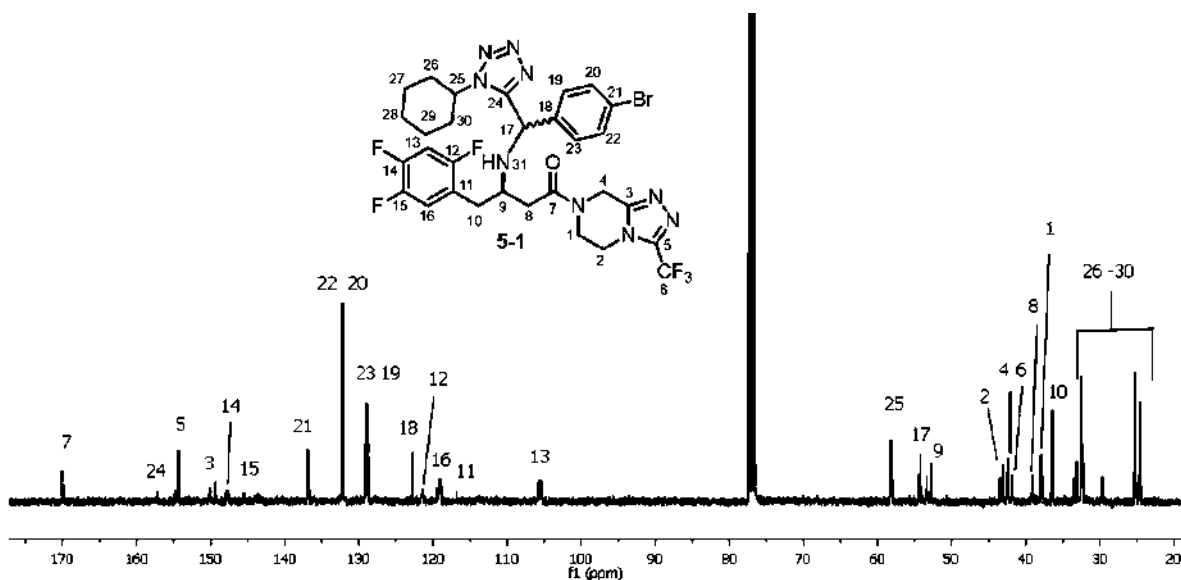


Figura 32. Espectro  $^{13}\text{C}$  RMN a 100 MHz en  $\text{CDCl}_3$  del diastereoisómero **5-1**.

La asignación de las señales de RMN se llevó a cabo con ayuda del espectro bidimensional de correlación homonuclear (COSY) el cual nos indica acoplamiento entre protones vecinos, este espectro se ilustra en la figura 33.

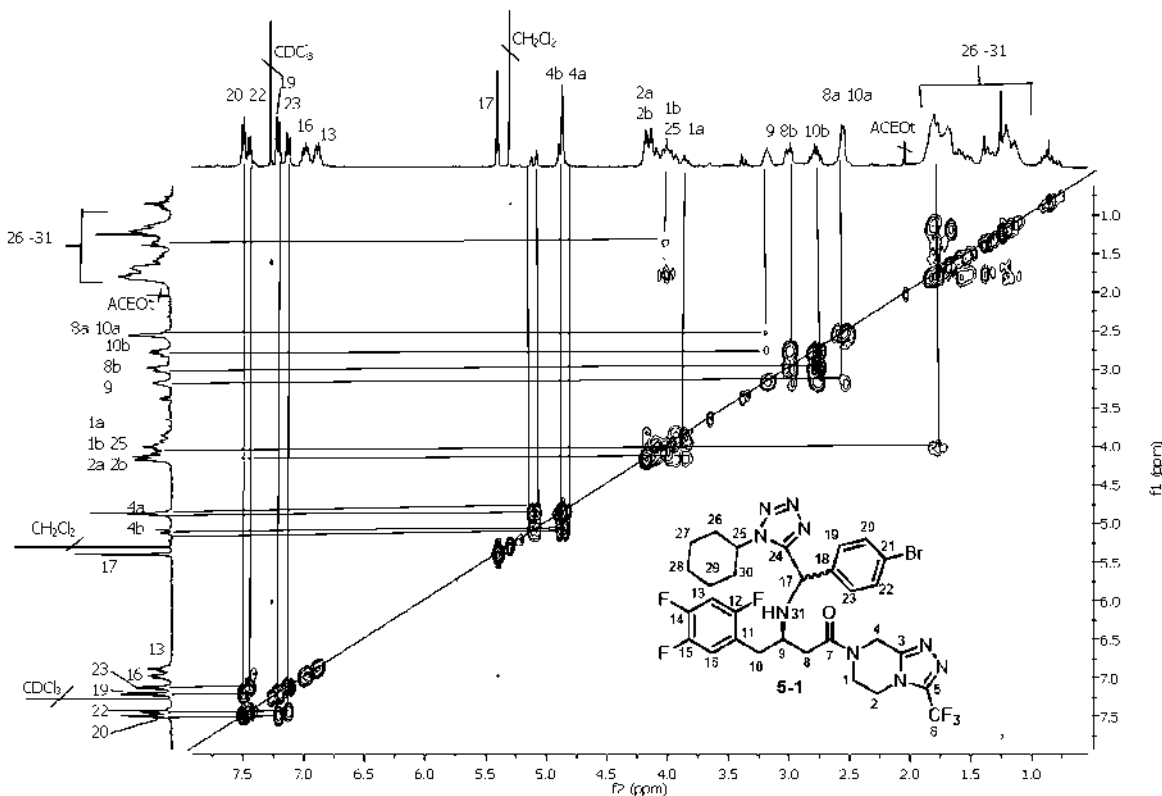


Figura 33. Espectro COSY RMN en  $\text{CDCl}_3$  del diastereoisómero 5-1.

El espectro COSY mostró una correlación entre las señales ubicadas en la región comprendida entre el intervalo de 2.5 a 3.5 ppm donde se encuentran las señales para los protones 8, 10 y 9, lo cual nos indica un acoplamiento vecinal de los protones de 10 y de 8 con el protón 9, posteriormente en el intervalo formado desde 3.9 hasta 4.05 ppm, encontramos la señal del protón 25 del anillo de ciclohexilo, cuya señal tiene correlación con las señales de la zona formada entre 1 a 2 ppm donde se encuentran las señales para los demás protones del anillo de ciclohexilo. En la zona conformada desde 7.10 a 7.60 ppm se visualiza otra correlación de los protones aromáticos del anillo de *para*-bromofenilo, donde se ve un acoplamiento de 23 con 22 y 19 con 20. También se hizo uso del espectro bidimensional de correlación heteronuclear (HETCOR) el cual se visualiza en la figura 34, que muestra la relación de los protones del espectro de  $^1\text{H}$  con las señales de carbono de un espectro de  $^{13}\text{C}$  con lo que se pudo corroborar la asignación de las señales de estos dos espectros.



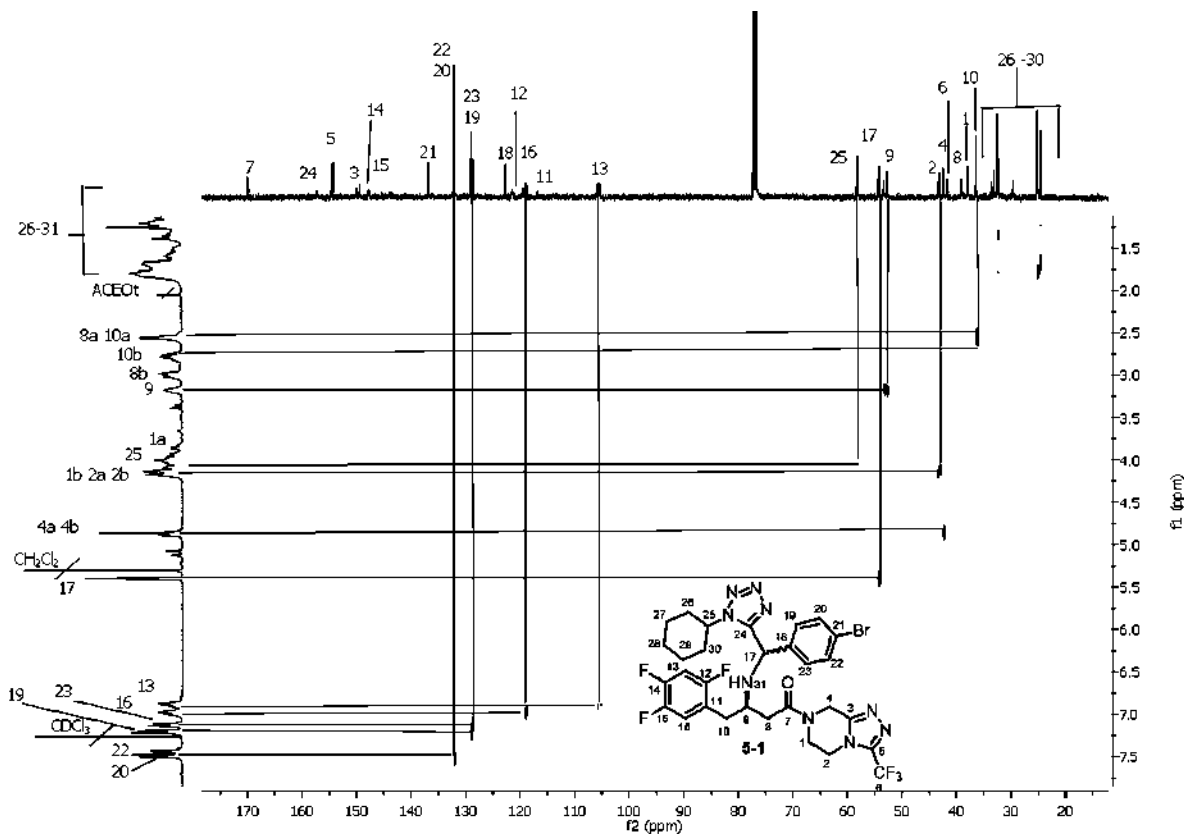


Figura 34. Espectro Hetero RMN en  $CDCl_3$  del diastereoisómero 5-1.

Con estos resultados podemos concluir que la caracterización estructural del derivado 5-1 fue confiablemente determinada. Continuando con la caracterización estructural de los de los derivados de la sitagliptina, en la figura 35 se incluye el espectro de  $^1H$  RMN para el producto estereoisomérico 5-2.

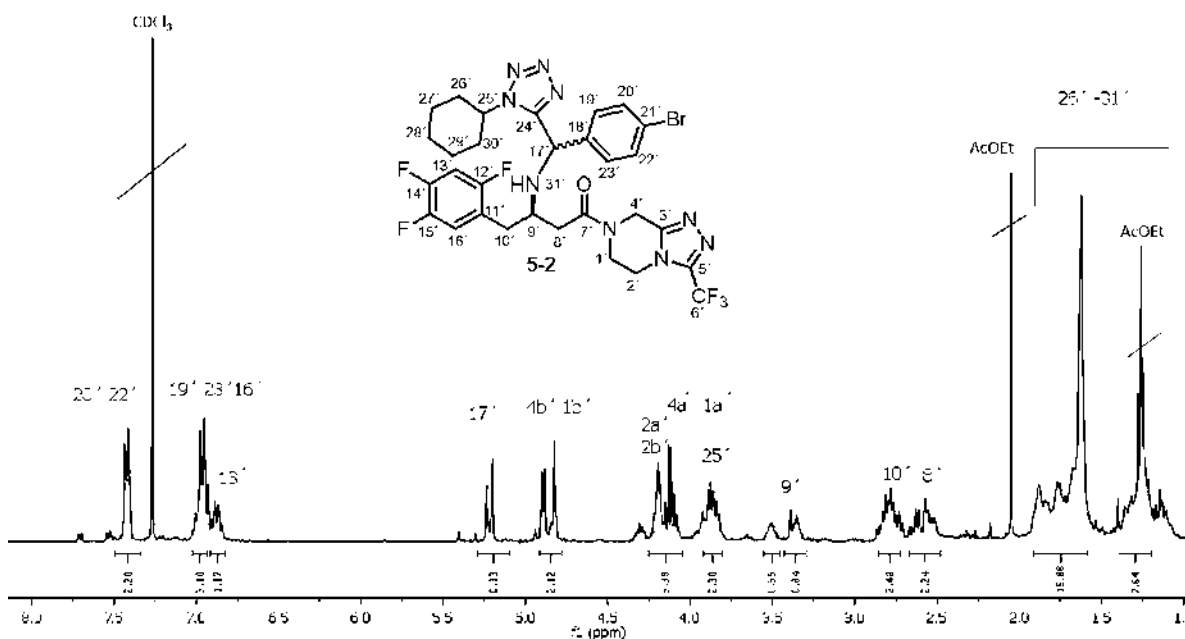


Figura 35. Espectro  $^1H$  RMN a 400 MHz en  $CDCl_3$  del diastereoisómero 5-2.

En el espectro de  $^1\text{H}$  RMN del derivado **5-2**, encontramos una señal aparentemente como una señal doble de dobles en 7.42 ppm con constantes de acoplamiento de 8.3 y 4 Hz, correspondiente a los protones 20' y 22' del anillo de bromofenilo, en 7 ppm encontramos las señales de los protones 19', 20' solapadas con la señal múltiple del protón 16' perteneciente al anillo de trifluorofenilo, en 6.8 ppm aparece la señal múltiple para el protón 13' también del anillo de trifluorofenilo. En 5.2 ppm encontramos una señal simple para el protón 17' correspondiente al nuevo centro de quiralidad formado, así como entre 4.75 y 5 ppm encontramos las señales de los protones 4b' y 4a'. Dentro del intervalo de 4.3 a 3.75 se ubican las señales para los protones 2b, 2a, 1b y 1a así como también para el protón 25 perteneciente al anillo de ciclohexilo. Más adelante en el intervalo de 3.5 a 3.25 ppm tiene lugar la señal para el protón 9, así como seguidamente en el intervalo de 3 a 2.5 ppm las señales para los protones diastereotópicos 10b, 10a, 8b y 8a, por último en la región comprendida entre 1 a 2 ppm tenemos las señales múltiples pertenecientes a los protones del anillo de ciclohexilo. En la figura 36 se muestra también el espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN del derivado **5-2**, en donde podemos encontrar las señales para todos los carbonos de la estructura.

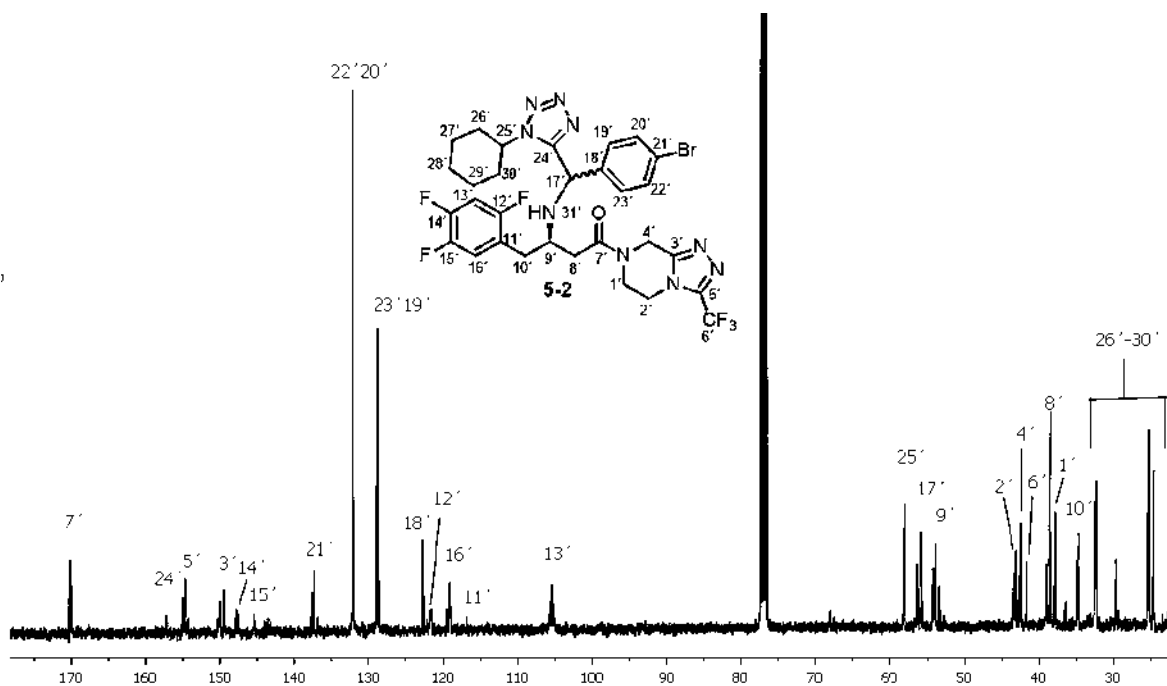


Figura 36. Espectro  $^{13}\text{C}$  RMN a 100 MHz en  $\text{CDCl}_3$  del diastereoisómero **5-2**.

En la figura 37 se incluye también el espectro COSY para la correcta asignación de las señales del derivado **5-2** en el espectro de  $^1\text{H}$  RMN.

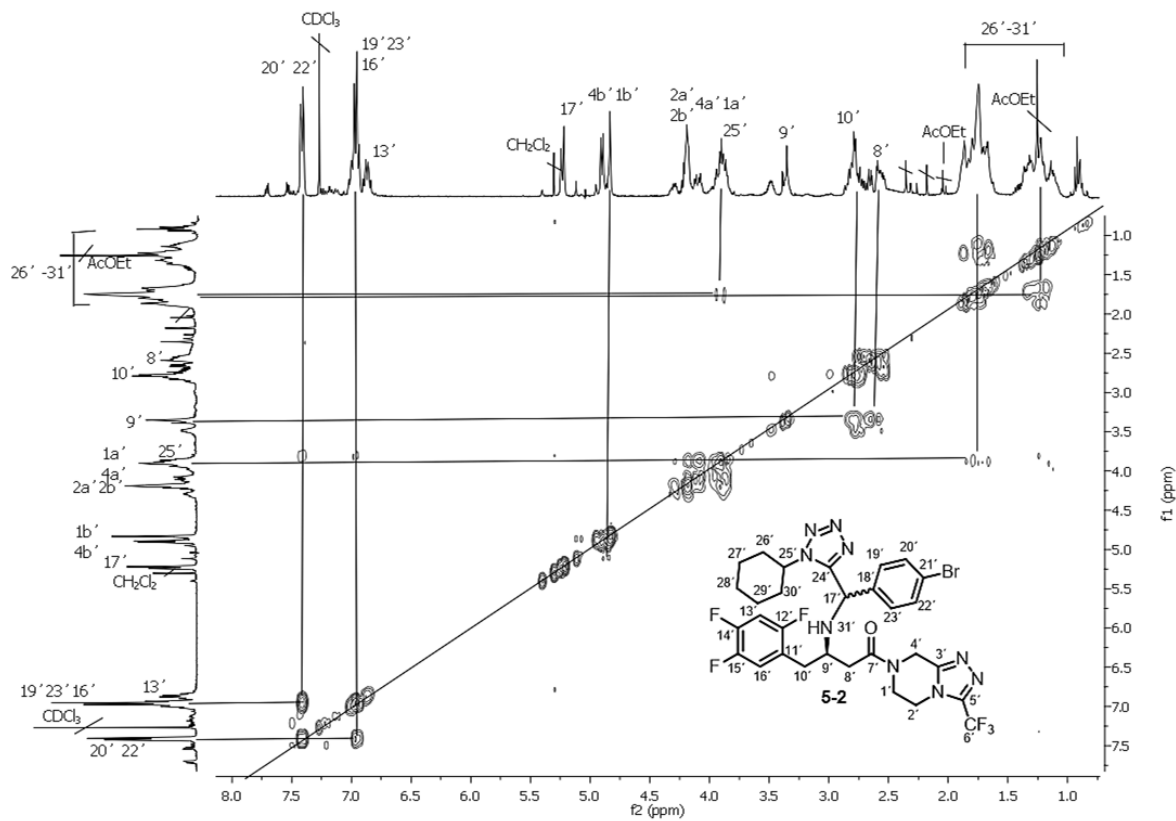


Figura 37. Espectro COSY RMN en  $\text{CDCl}_3$  del diastereoisómero **5-2**.

También se hizo uso del espectro HETCOR el cual se visualiza en la figura 38. En este podemos apreciar a diferencia del espectro del derivado **5-1** que las señales de los pares de protones de  $4a'$ ,  $4b'$  y  $1a'$ ,  $1b'$  del anillo de triazolopiperazina ya no aparecen ubicados en una misma zona, ya que en la región comprendida entre 4.6 a 5.0 ppm donde encontraríamos normalmente las señales de los protones  $4a'$  y  $4b'$ , aparecen en su lugar las señales de  $1b'$  y  $4b'$ , esto tiene sentido al ver que esta región existe una correlación de estas dos señales con los carbonos 4 y 1 del espectro de  $^{13}\text{C}$ , cuando solo se esperaría tener correlación con el carbono 4, lo que nos indicó un ambiente químico y magnético diferente entre los protones de 4 y los de 1, pero similar para  $4a'$  y  $1a'$  al igual que para  $4b'$  y  $1b'$ .

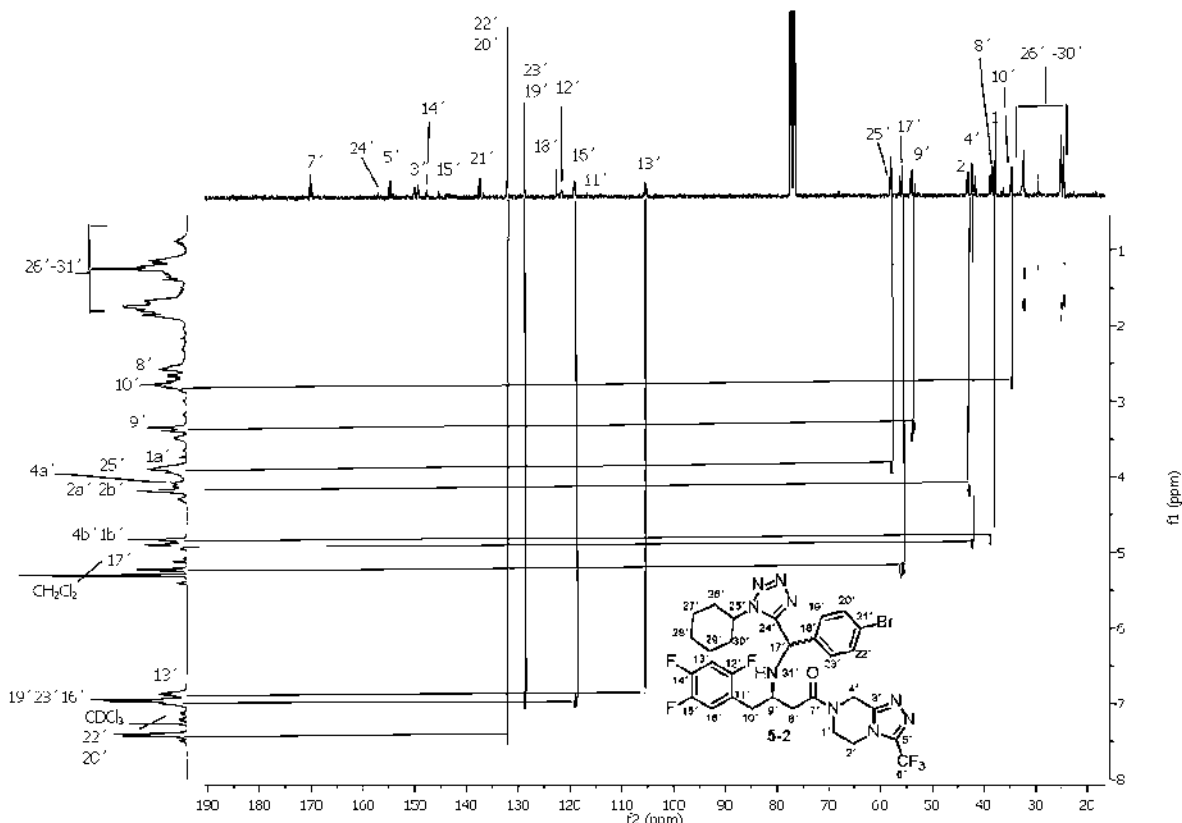


Figura 38. Espectro Hetcor RMN en  $\text{CDCl}_3$  del diastereoisómero **5-2**.

Una vez separados los diastereoisómeros **5-1** y **5-2**, así como también asignados sus espectros de RMN, se pudieron identificar y marcar las señales correspondientes de cada diastereoisómero en la mezcla de **5-1** y **5-2** como se muestra en la figura 39.

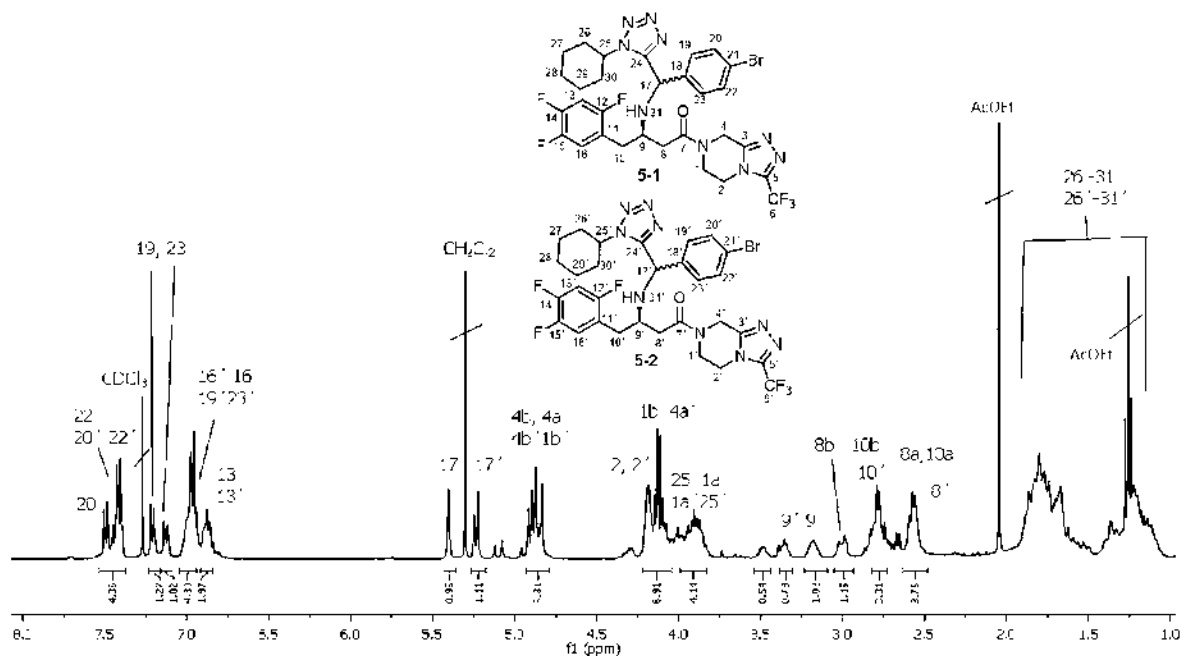
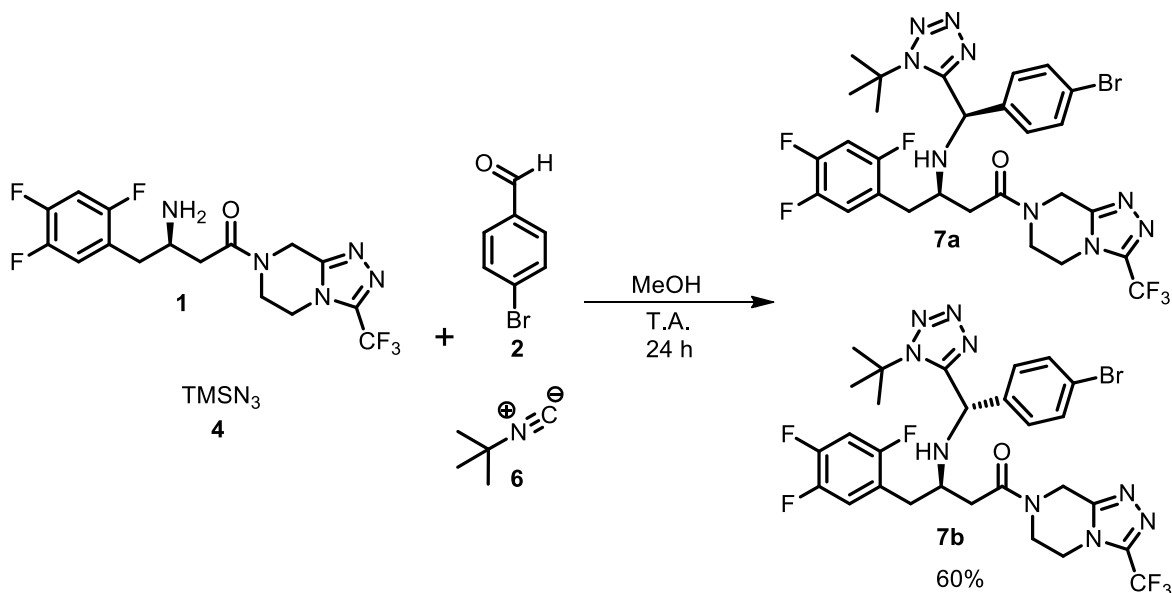


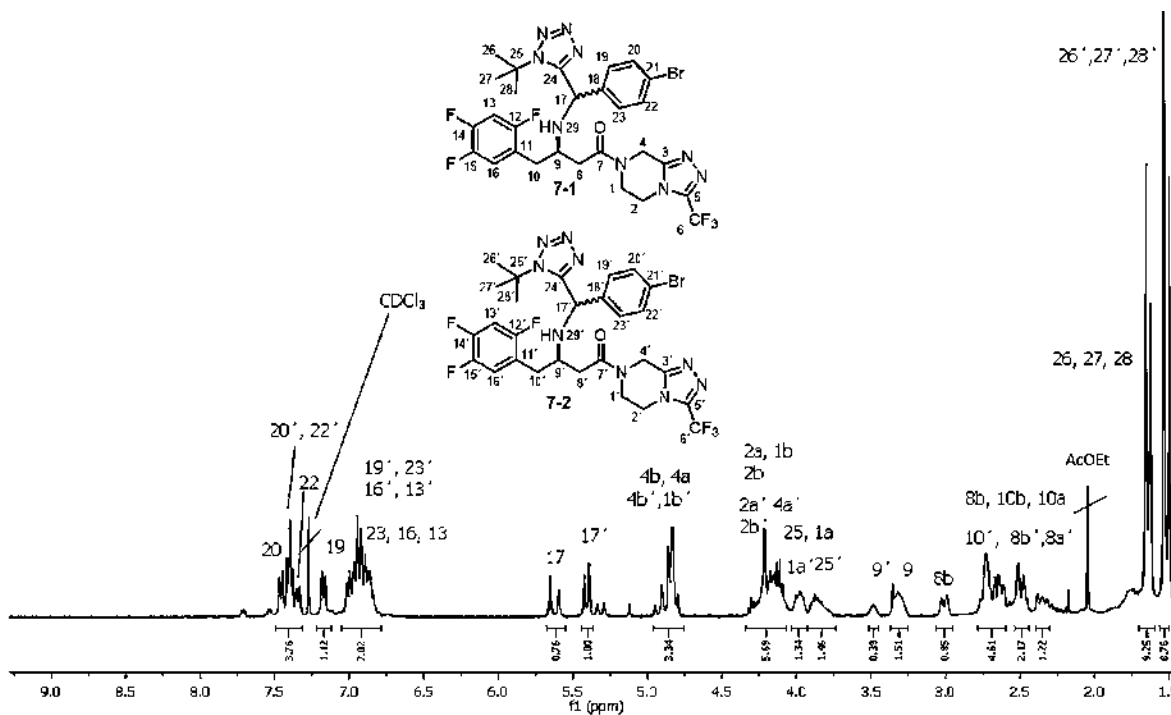
Figura 39. Espectro  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de la mezcla de los diastereoisómeros **5-1** y **5-2**.

La síntesis del derivado tetrazólico **7** se llevó a partir de la amina primaria sitagliptina **1**, el aldehído *para*-bromobenzaldehído **2**, el *tert*-butilisonitrilo **6** y la trimetilazida **4**, el esquema general de reacción se muestra a continuación en el esquema 10, obteniéndose el derivado tetrazólico **7** en un rendimiento del 60%.



**Esquema 10.** Obtención del derivado tetrazólico **7** como mezcla de los diastereoisómeros **7a** y **7b**.

En la figura 40 y 41 se muestra los espectros de  $^1\text{H}$  RMN y de  $^{13}\text{C}$  RMN respectivamente de la mezcla diastereomérica de **7a** y **7b**, que con ayuda de la mezcla asignada del derivado **5** se pudo elucidar las señales de RMN para la mezcla de este derivado.



**Figura 40.** Espectro  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de la mezcla de los diastereoisómeros **7-1** y **7-2**.

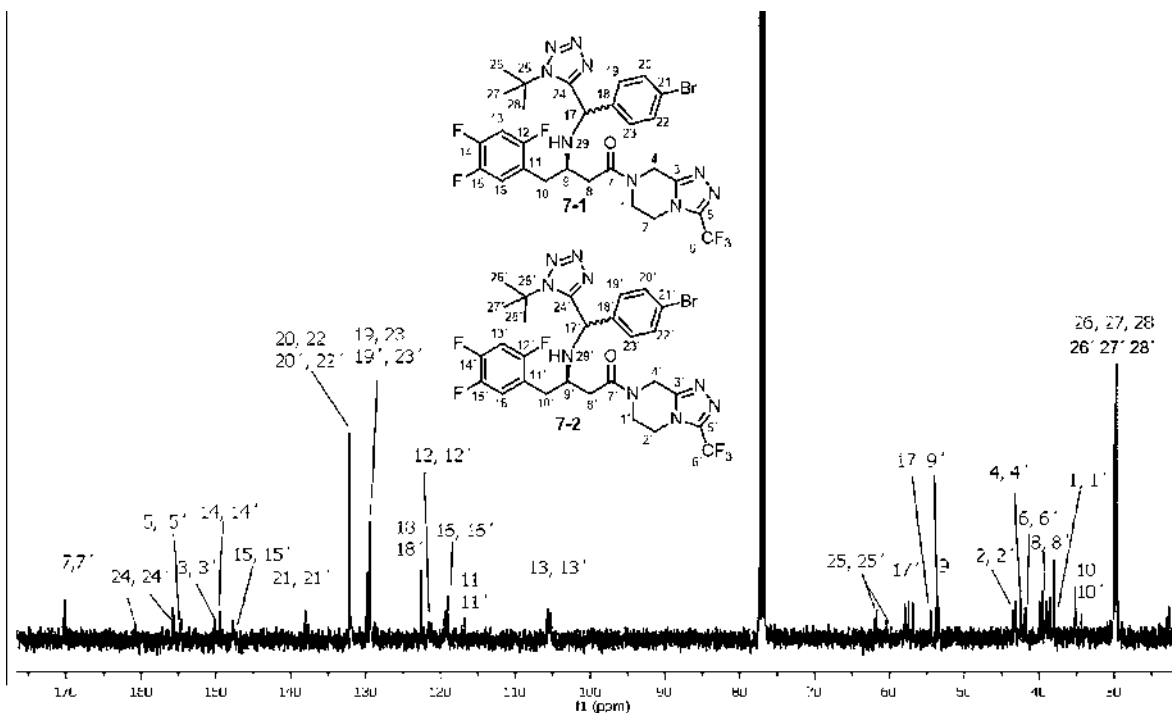


Figura 41. Espectro  $^{13}\text{C}$  RMN a 100 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de la mezcla de los diastereoisómeros **7-1** y **7-2**.

Los diastereoisómeros **7-1** y **7-2** se pudieron separar de manera parcial obteniendo el espectro de  $^1\text{H}$  RMN de una muestra enriquecida con el derivado **7-1**, el cual se reporta en la figura 42.

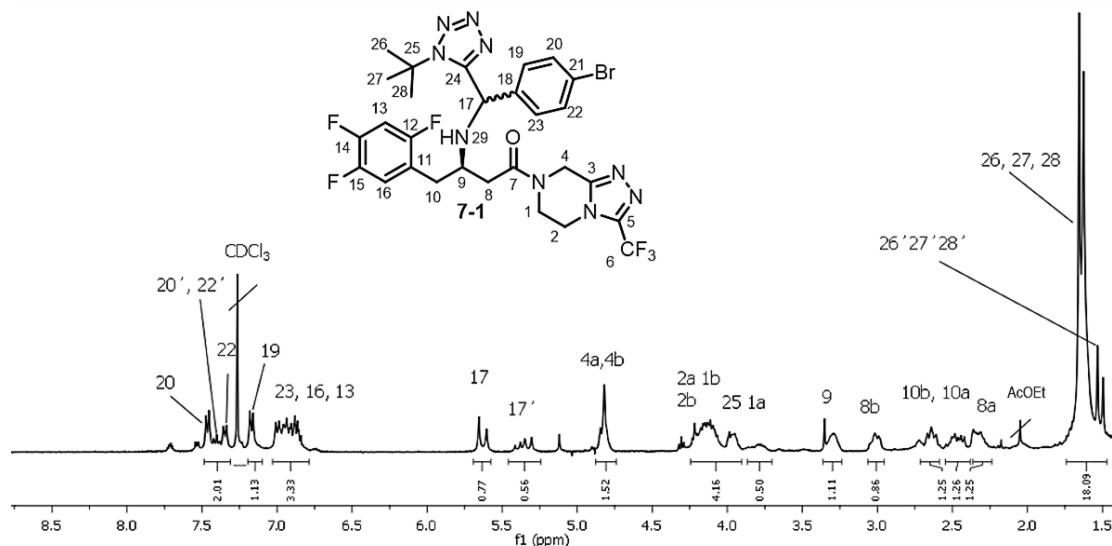


Figura 42. Espectro  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en  $\text{CDCl}_3$  del derivado tetrazólico **7-1**.

En el espectro de  $^1\text{H}$  RMN del derivado **7-1** mostrado arriba, encontramos en el intervalo de 7.6 a 7.1 ppm las señales dobles de los protones 20, 22, y 19 con constantes de acoplamiento de 8.2, 7.9 y 8.1 Hz respectivamente, en donde se puede notar la leve presencia de las señales de los protones 20' y 22' del diastereoisómero **7-2**, más adelante entre 7.1 y 6.75 ppm encontramos las señales de los protones 23, 16 y 13 como señales múltiples. En 5.62 ppm tenemos la señal

doble del protón 17 con una constante de acoplamiento de 20.4 Hz correspondiente al nuevo centro de quiralidad formado, así como más adelante en 4.82 ppm encontramos las señales de los protones 4b y 4a, solapadas en una señal múltiple que integra para dos protones. Dentro del intervalo de 4.3 a 3.75 encontramos las señales para los protones 2b, 2a, 1b y 1a así como también para el protón 25 perteneciente al anillo de ciclohexilo. Más adelante en 3.3 ppm se localiza la señal para el protón 9 del carbono quiral, los protones diastereotópicos 8b, 10b, 10a y 8a vecinos a 9 se localizan en el intervalo de 3.1 hasta 2.25 ppm y por último en 1.64 ppm tenemos las señal intensa perteneciente al grupo *tert*-butilo, además de que en 1.5 apareció la señal de *tert*-butilo para el diastereoisómero **7-2** pues se trata de una muestra enriquecida.

En la figura 43 se muestra a continuación el espectro de  $^1\text{H}$  RMN de una muestra enriquecida del derivado **7-2**.

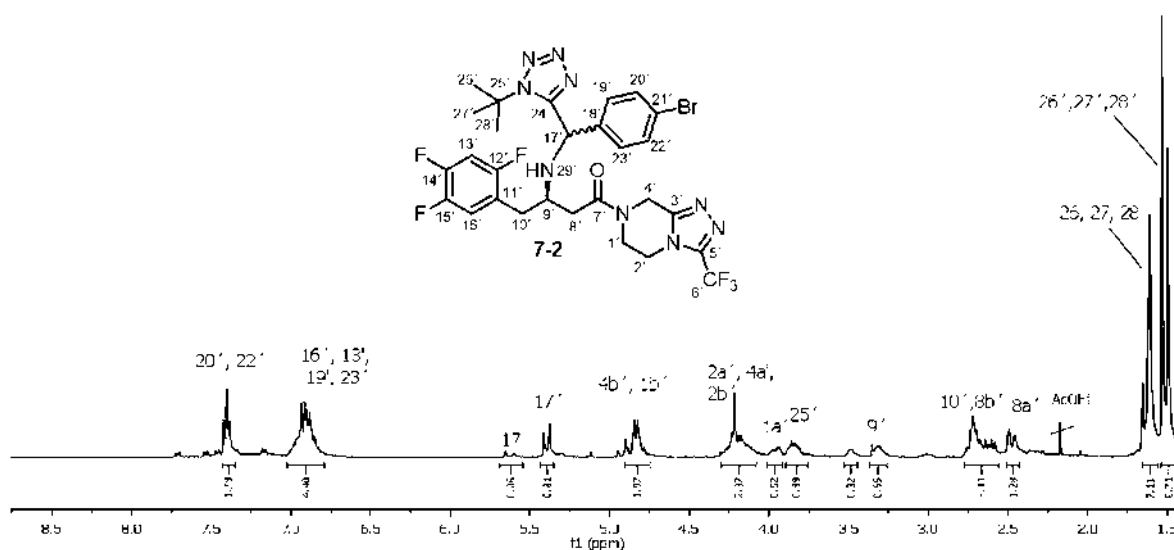
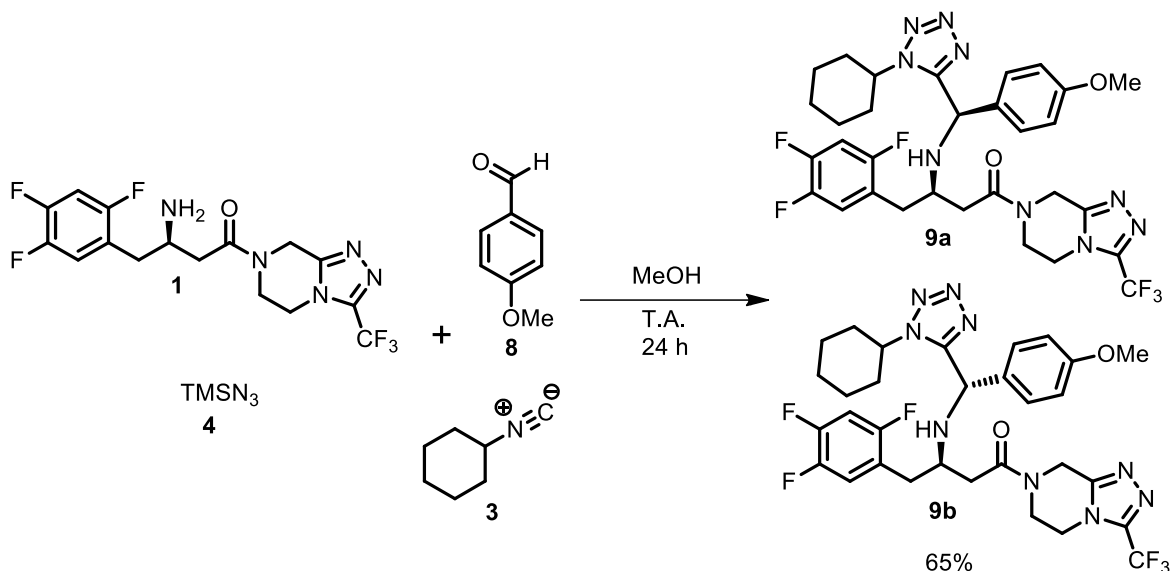


Figura 43. Espectro  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en  $\text{CDCl}_3$  del derivado tetrazólico **7-2**.

En el espectro de  $^1\text{H}$  RMN del derivado **7-2**, encontramos en 7.40 ppm una señal de una multiplicidad aparentemente triple que presento una constante de acoplamiento de 8.1 Hz, dicha señal es correspondiente a los protones 20' y 22' del anillo de *para*-bromofenilo, entre 7 a 6.83 ppm tenemos una señal ancha múltiple correspondiente al agrupado de las señales pertenecientes a los protones 19' y 23' del anillo de *para*-bromofenilo y los protones 16' y 13' del anillo de trifluorofenilo. En 5.6 ppm tenemos la señal doble de intensidad reducida del protón 17 del diastereoisómero **7-1** con una constante de acoplamiento de 20.4 Hz y en 5.4 ppm aparece la señal doble con una constante de acoplamiento de 8 Hz del protón 17 perteneciente al diastereoisómero **7-2**, así como en 4.8 ppm encontramos las señales de los protones 4b' y 1b', solapadas en una señal múltiple que integra para dos protones. Dentro del intervalo de 4.30 a 3.75 ppm se encuentran las señales para los protones 2b', 2a', 4a' y 1a' así como también para el protón 25. En 3.30 ppm se localiza la señal para el protón 9', los protones diastereotópicos 10b', 10a', 8b' y 8a' vecinos a 9' se localizan en el intervalo de 2.8

hasta 2.3 ppm y por último en 1.5 ppm tenemos la señal intensa perteneciente al grupo *tert*-butilo cuya señal integra para 9 protones, además de que en 1.64 apareció la señal de *tert*-butilo para el diastereoisómero **7-1** ya que se trata de una muestra enriquecida de **7-2**.

La síntesis del derivado tetrazólico **9** se llevó a cabo mediante reacción entre la amina primaria sitagliptina **1**, el aldehído *para*-metoxibenzaldehído **8**, el ciclohexilisonitrilo **3** y la trimetilazida **4** como se muestra en el esquema 11, obteniéndose el derivado tetrazólico **9** en un rendimiento del 65%.



**Esquema 11.** Obtención del derivado tetrazólico **9** como mezcla de los diastereoisómeros **9a** y **9b**.

En la figuras 44 se muestran el espectro de  $^1\text{H}$  RMN de la mezcla diastereoisomérica de **9-1** y **9-2**.



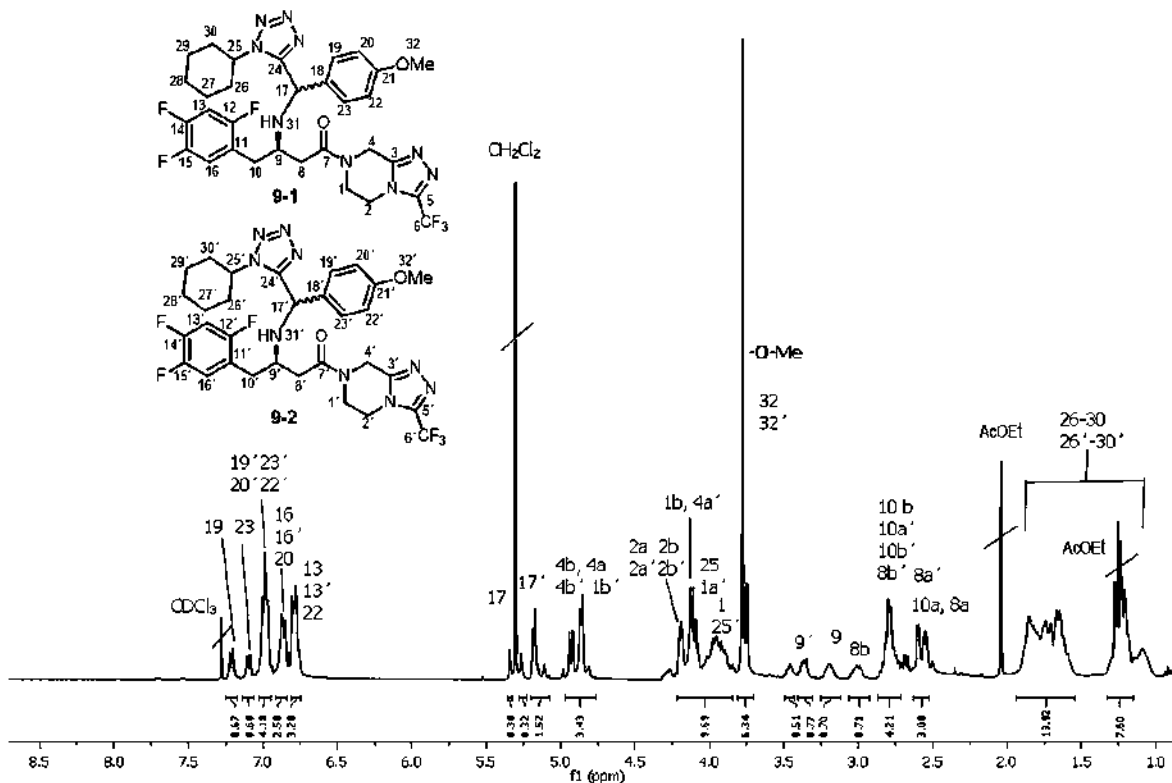


Figura 44. Espectro  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de la mezcla de los diastereoisómeros **9-1** y **9-2**.

En el espectro de  $^1\text{H}$  RMN en 7.21 y 7.10 ppm aparecen las señales dobles para los protones aromáticos 19 y 23 respectivamente del diastereoisómero **9-1** con constantes de acoplamiento de 8.4 Hz, más adelante en 6.99 ppm se tiene una señal triple con una constante de acoplamiento de 7.1 Hz que integra para los 4 protones 19', 23', 20' y 22' del derivado **9-2**. En 6.87 ppm se tiene una señal múltiple correspondiente a los protones 16 y 20 de **9-1** y 16' de **9-2** y más adelante en 6.78 ppm apareció una señal doble de dobles con constantes de acoplamiento de 11.3 y 7.3 Hz correspondiente a los protones 13 y 22 de **9-1** y 13' de **9-2**, después en el intervalo formado entre 5.40 y 5.0 ppm podemos encontrar las señales múltiples correspondientes al protón 17 de ambos diastereoisómeros. Dentro del intervalo de 5 a 2.40 se ubican las señales para los protones del anillo de triazolopiperazina y los protones de 8, 9 y 10 de ambos diastereoisómeros y por último en la región comprendida entre 1 a 2 ppm tenemos las señales múltiples pertenecientes a los protones del anillo de ciclohexilo también para ambos diastereoisómeros. En la figura 45 se muestra también el espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN del derivado **9** en mezcla diastereoisomérica, en donde podemos encontrar las señales para todos los carbonos de la estructura.

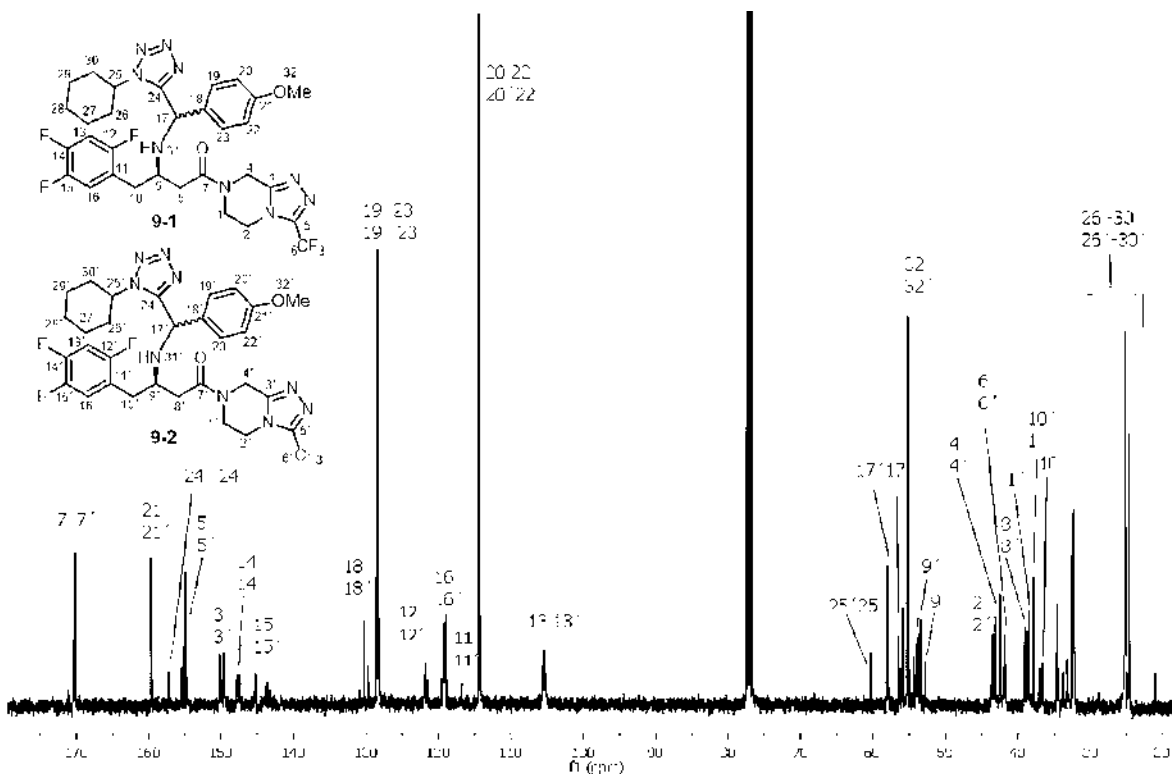
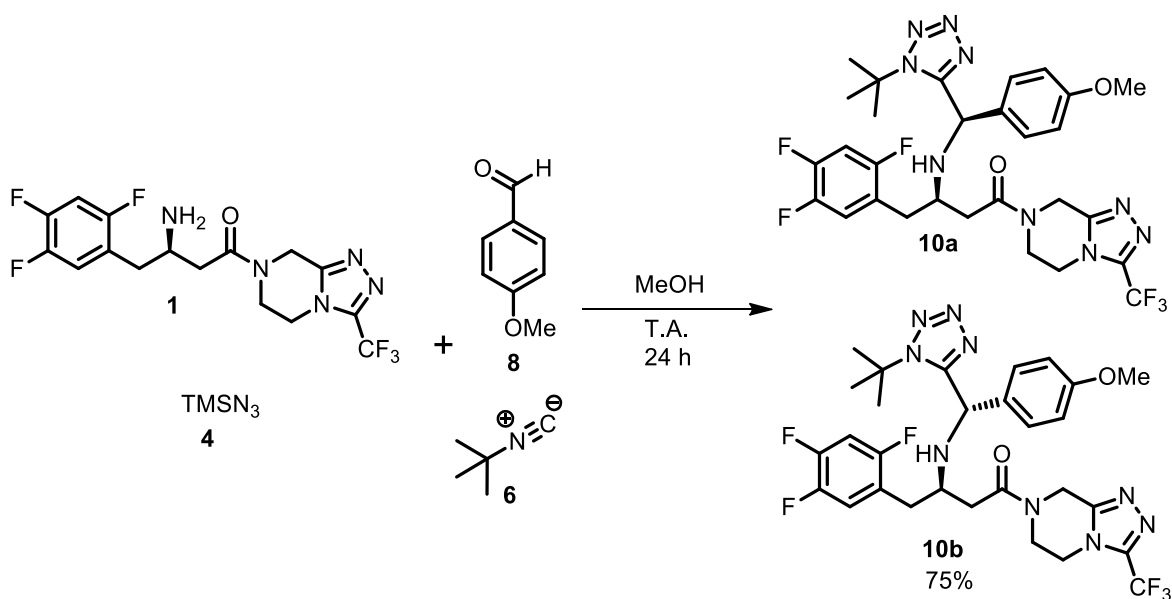


Figura 45. Espectro  $^{13}\text{C}$  RMN a 100 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de la mezcla de los diastereoisómeros **9-1** y **9-2**.

La síntesis del derivado tetrazólico **10** se llevó a cabo mediante reacción de la amina primaria sitagliptina **1**, el aldehído *para*-metoxibenzaldehído **8**, el *tert*-butilisonitrilo **6** y la trimetilazida **4** como se muestra en el esquema 12, obteniéndose el derivado tetrazólico **10** en un rendimiento del 75%.



Esquema 12. Obtención del derivado tetrazólico **10** como mezcla de los diastereoisómeros **10a** y **10b**.

En la figura 46 se muestra en espectro de  $^1\text{H}$  RMN de la mezcla diastereoisomérica de **10-1** y **10-2**.

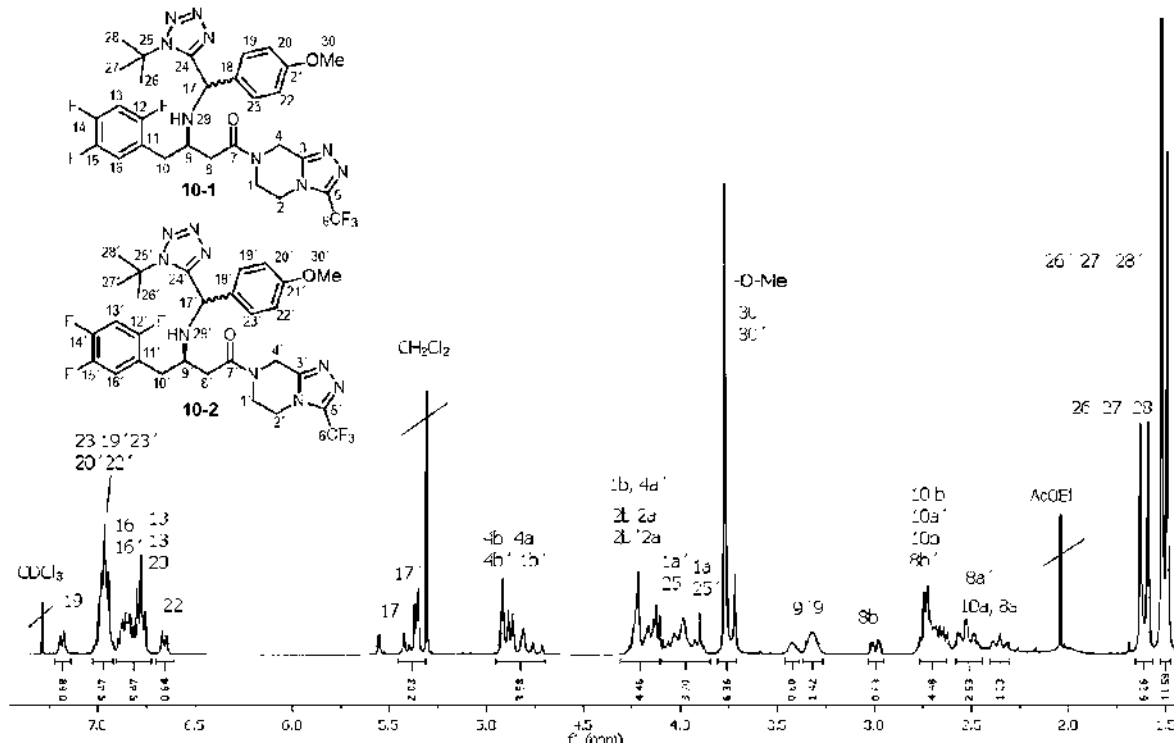


Figura 46. Espectro  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de la mezcla de los diastereoisómeros **10-1** y **10-2**.

En el espectro de  $^1\text{H}$  RMN se puede observar una señal doble con una constante de acoplamiento de 8.4 Hz en 7.19 ppm perteneciente al protón aromático 19 de **10-1**, dentro de 7.01 y 6.92 ppm aparece una señal triple con una constante de acoplamiento de 7.80 Hz para las señales del protón aromático 23 de **10-1** y los protones 19', 23', 20' y 22' de **10-2**. En la región entre los 6.90 y 6.75 ppm aparece una señal múltiple conformada por las señales de 16, 13 y 20 de **10-1** y 16' y 13' de **10-2** y más adelante en 6.66 ppm se tiene una señal doble con una constante de acoplamiento de 8.50 Hz para el protón 22 de **10-1**, más adelante en la región formada entre 5.60 y 5.30 ppm podemos encontrar las señales múltiples para los protones 17 y 17' de ambos diastereoisómeros. Dentro del intervalo de 5 a 2.25 ppm damos ubicación a las señales para los protones del anillo de triazolopiperazina y los protones de 8, 9 y 10 de ambos diastereoisómeros y por último en 1.61 ppm tenemos la señal intensa perteneciente al grupo *tert*-butilo de **10-1** y en 1.51 ppm la señal del grupo *tert*-butilo para el diastereoisómero **10-2**. En la figura 47 se muestra también el espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN del derivado **10** en mezcla diastereoisomérica, en donde podemos encontrar las señales para todos los carbonos de la estructura del derivado.

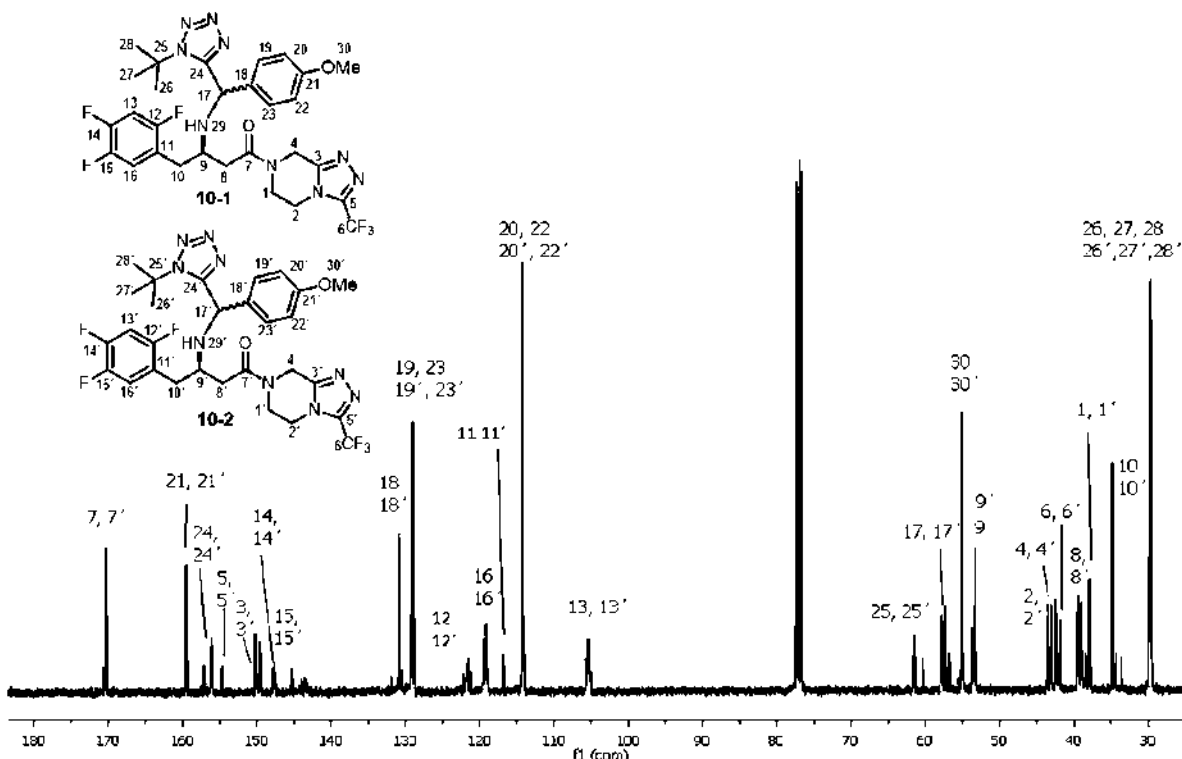
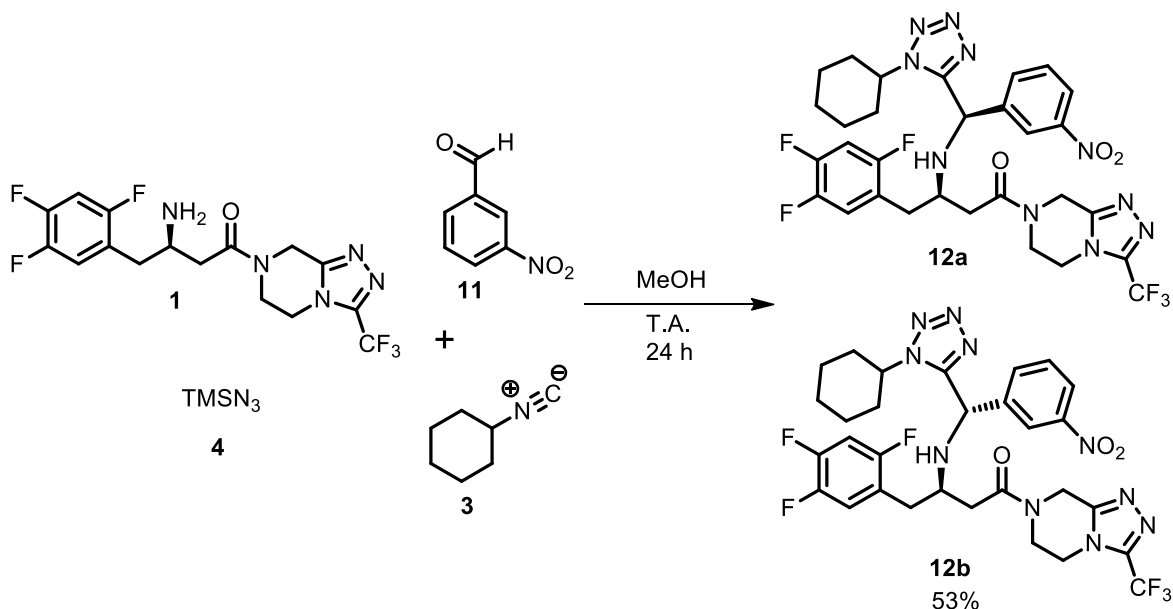


Figura 47. Espectro  $^{13}\text{C}$  RMN a 100 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de la mezcla de los diastereoisómeros **10-1** y **10-2**.

La síntesis del derivado tetrazólico **12** se llevó a cabo utilizando la amina sitagliptina **1**, el aldehído *meta*-nitrobenzaldehído **11**, el ciclohexilisonitrilo **3** y la trimetilazida **4** como se muestra en el esquema 13, obteniéndose el derivado tetrazólico **12** en un rendimiento del 53%.



Esquema 13. Obtención de los diastereoisómeros del derivado tetrazólico **12**.

En la figura 48 se muestra el espectro de  $^1\text{H}$  RMN de la mezcla diastereoisomérica de **12-1** y **12-2**.

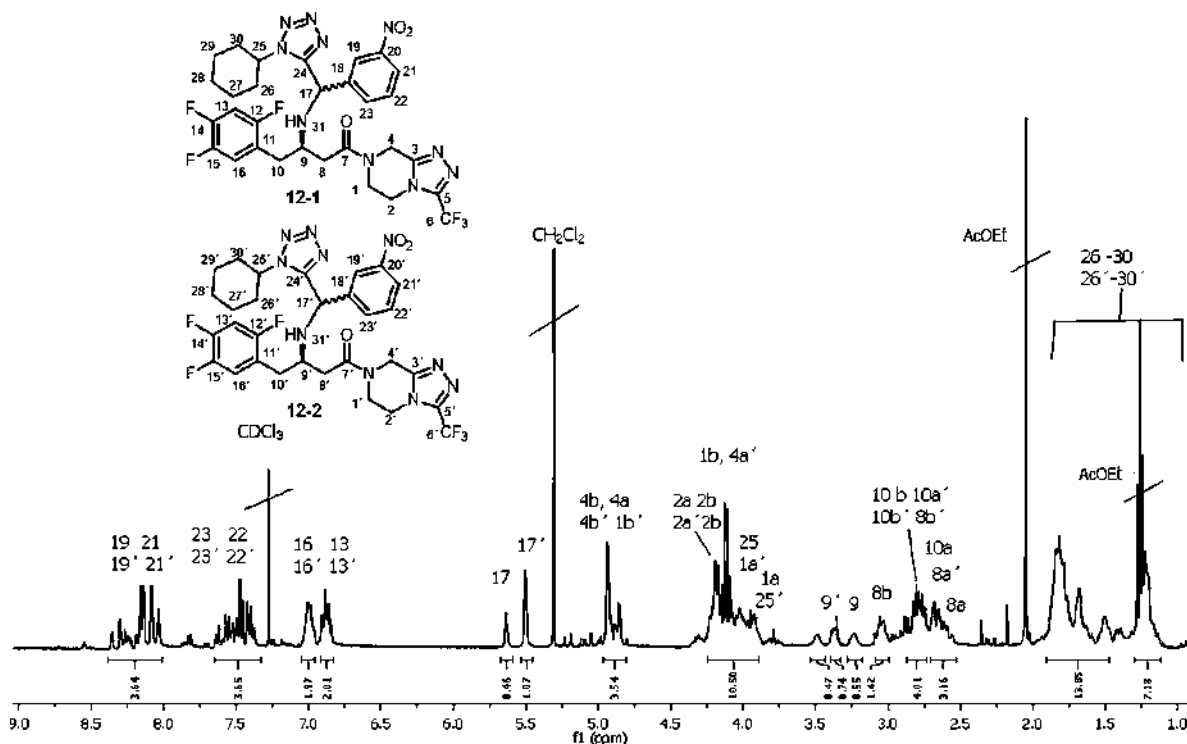


Figura 48. Espectro  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de la mezcla de los diastereoisómeros **12-1** y **12-2**.

El espectro  $^1\text{H}$  RMN presenta dentro del intervalo de 8.40 a 8.00 ppm un grupo de señales múltiples pertenecientes a los protones aromáticos 19 y 21 de ambos diastereoisómeros de **12**, y más adelante en la zona comprendida entre 7.75 y 7.35 ppm encontramos las señales múltiples para los protones 23 y 22 también para ambos diastereoisómeros, de igual manera en 7.00 ppm y 6.87 ppm tienen lugar las señales de los protones 16 y 13 tanto de **12-1** como de **12-2**. En 5.63 ppm encontramos la señal para el protón 17 de **12-1** y en 5.49 la señal para 17' de **12-2**. Dentro del intervalo de 5.00 a 2.40 ppm damos ubicación a las señales para los protones del anillo de triazolopiperazina y los protones de 8, 9 y 10 de ambos diastereoisómeros y por último en la región comprendida entre 1 a 2 ppm tenemos las señales múltiples pertenecientes a los protones del anillo de ciclohexilo también para ambos diastereoisómeros. En la figura 49 se muestra también el espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN del derivado **12** en mezcla diastereoisomérica, en donde podemos encontrar las señales para todos los carbonos de la estructura.

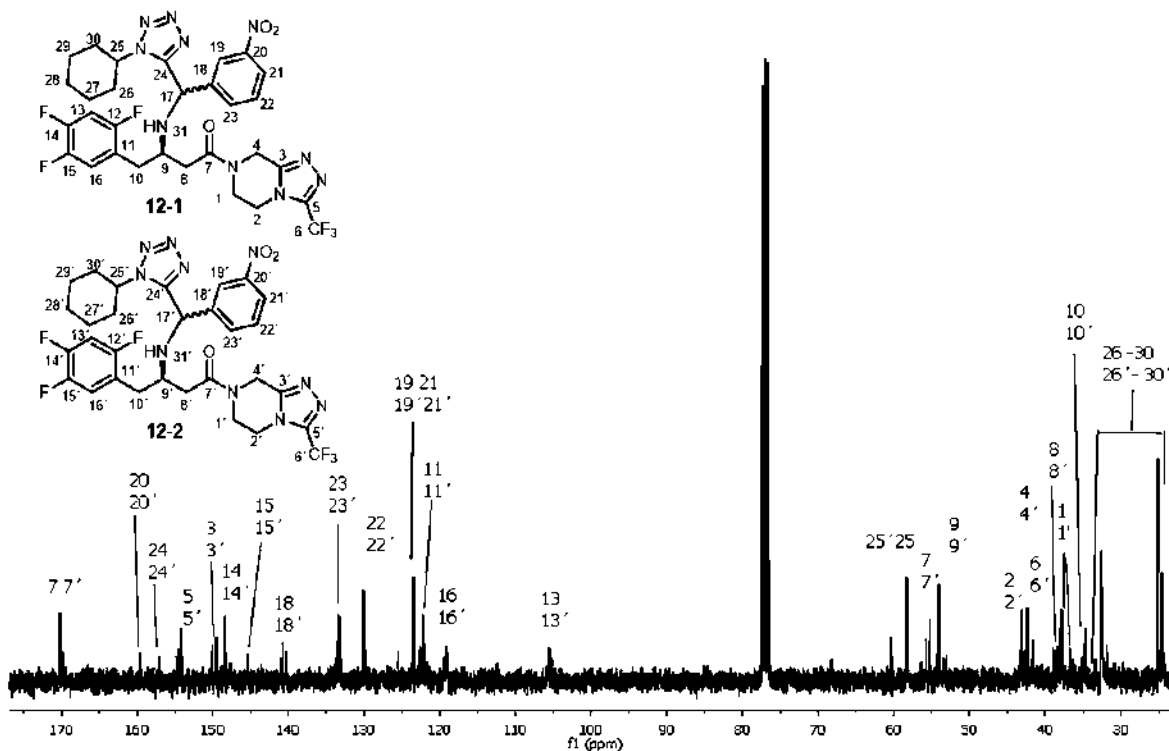
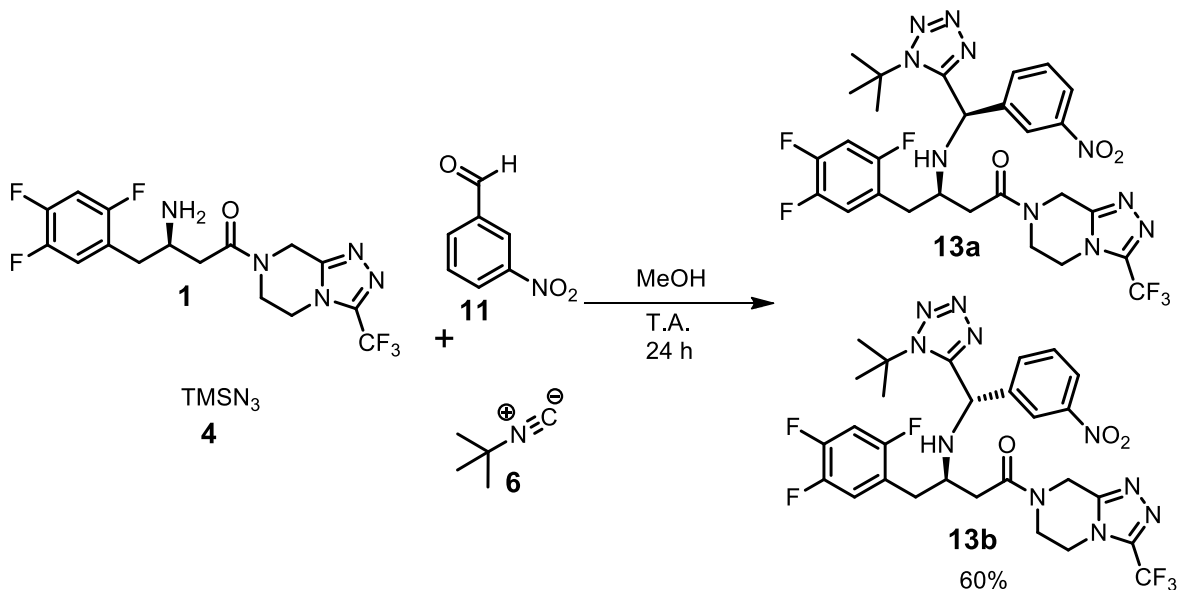


Figura 49 Espectro  $^{13}\text{C}$  RMN a 100 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de la mezcla de los diastereoisómeros **12-1** y **12-2**.

La síntesis del derivado tetrazólico **13** se llevó a cabo mediante reacción entre la amina sitagliptina **1**, el aldehído *meta*-nitrobenzaldehído **11**, el ciclohexilisonitrilo **3** y la trimetilazida **4** como se muestra en el esquema 14, obteniéndose el derivado tetrazólico **13** en un rendimiento del 60%.



Esquema 14. Obtención de los diastereoisómeros del derivado tetrazólico **13**.

En la figura 50 se muestra en espectro de  $^1\text{H}$  RMN de la mezcla diastereomérica de **13-1** y **13-2**. Debido a causa de la reacción o a la manipulación durante la

purificación la concentración del derivado **13-1** se encuentra baja respecto al diastereoisómero **13-2**, lo cual se puede ver en este espectro, donde las señales correspondientes para **13-1** aparecen con una intensidad reducida e incluso no aparecen.

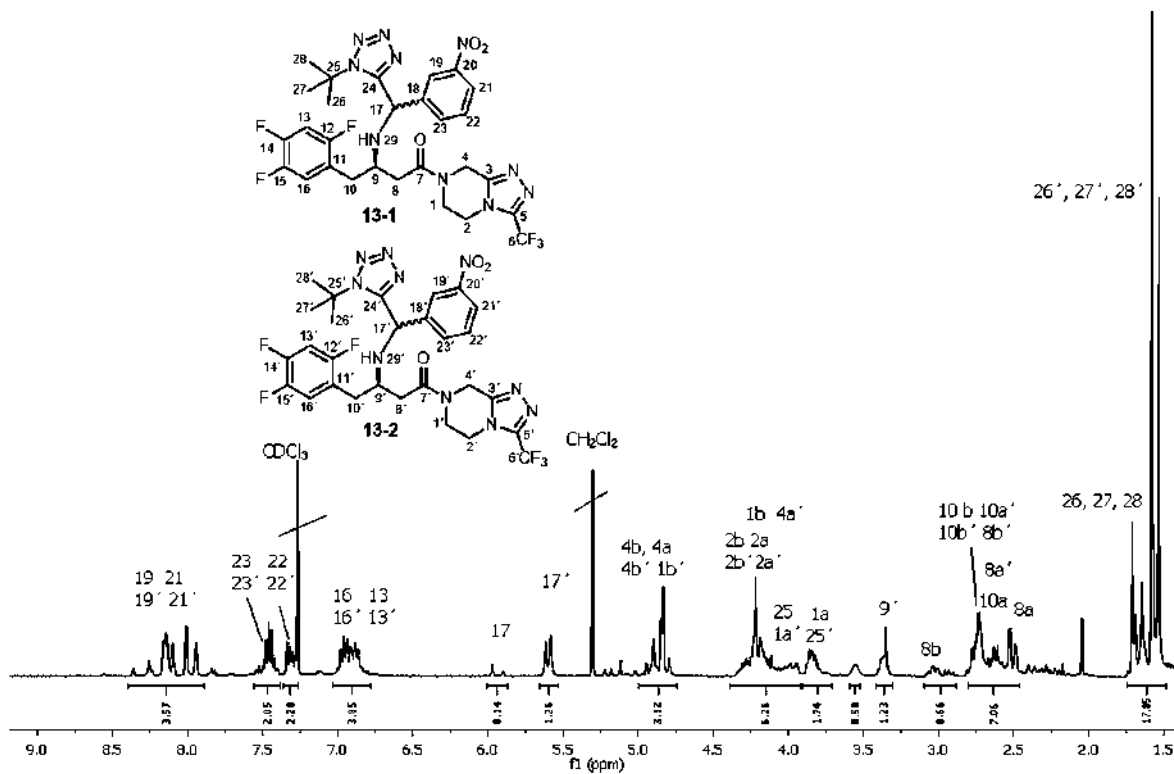


Figura 50. Espectro <sup>1</sup>H RMN a 400 MHz en CDCl<sub>3</sub> de la mezcla de los diastereoisómeros **13-1** y **13-2**.

En el intervalo de 8.40 a 7.80 ppm se encuentra un grupo de señales múltiples correspondientes a los protones aromáticos 19 y 21 de ambos diastereoisómeros de **13**, entre 7.55 y 7.40 ppm apareció una señal múltiple para el protón 23 de ambos diastereoisómeros, más adelante entre 7.34 a 7.26 ppm se tienen las señales para el protón 22 tanto de **13-1** como de **13-2**, de igual manera entre 7 y 6.83 ppm tienen lugar las señales múltiples de los protones 16 y 13 tanto de **13-1** como de **13-2**. En 5.93 ppm encontramos la señal doble con una constante de acoplamiento de 28.8 Hz para el protón 17 de **13-1** y en 5.60 la señal doble con una constante de acoplamiento de 13.7 Hz para 17' de **13-2**. Dentro del intervalo de 5.00 a 2.40 aparecen las señales para los protones del anillo de triazolopiperazina y los protones de 8, 9 y 10 de ambos diastereoisómeros, donde la intensidad para las señales para el derivado **13-1** están reducidas e incluso la señal para 9 que aparecería en 3.50 ppm no se encuentra y por último en 1.61 ppm tenemos la señal de intensidad reducida perteneciente al grupo *tert*-butilo de **13-1** y en 1.51 ppm la señal del grupo *tert*-butilo para el diastereoisómero **13-2**. En la figura 51 se muestra también el espectro de <sup>13</sup>C RMN del derivado **13** en mezcla diastereoisomérica, en donde podemos encontrar las señales para todos los carbonos de la estructura.

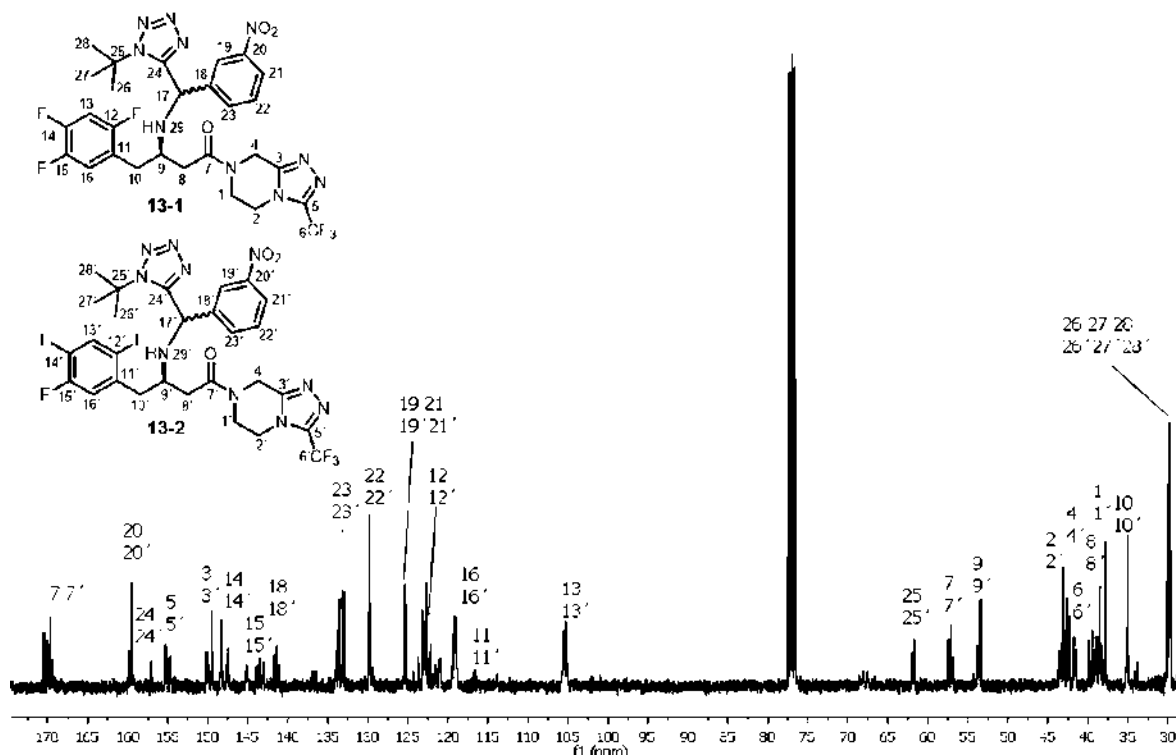
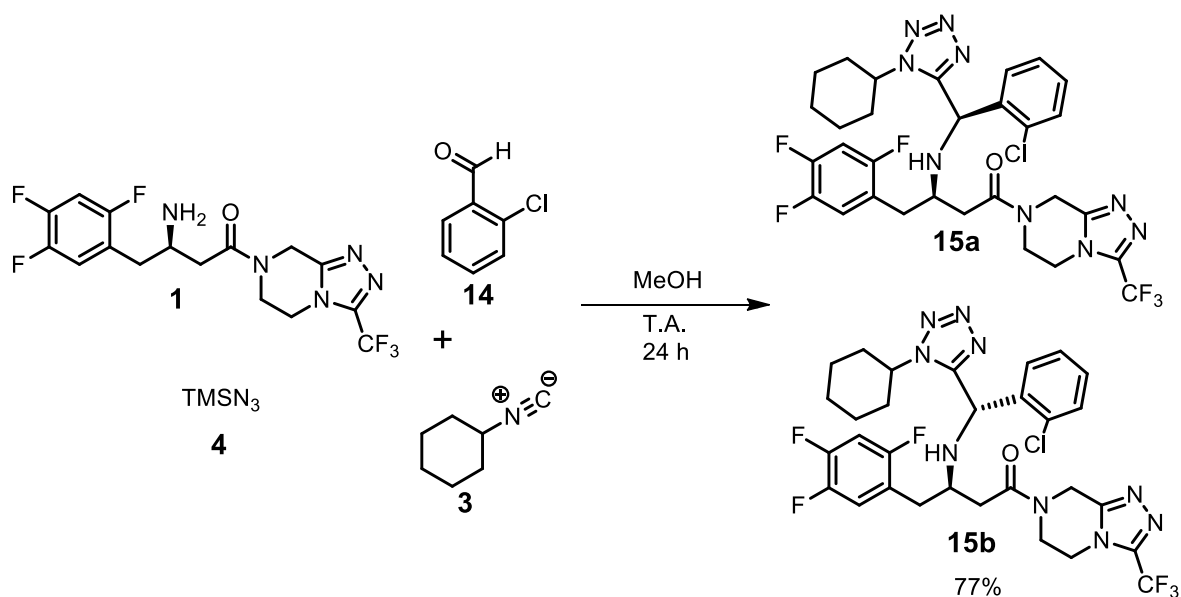


Figura 51 Espectro  $^{13}\text{C}$  RMN a 100 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de la mezcla de los diastereoisómeros **13-1** y **13-2**.

En la síntesis del derivado tetrazólico **15** se usó la amina primaria sitagliptina **1**, el aldehído *orto*-clorobenzaldehído **14**, el ciclohexilisonitrilo **3** y la trimetilazida **4** como se muestra en el esquema 15, obteniéndose el derivado tetrazólico **15** en un rendimiento del 77%.



Esquema 15. Obtención de los diastereoisómeros del derivado tetrazólico **15**.

En la figura 52 se muestra en espectro de  $^1\text{H}$  RMN de la mezcla diastereoisomérica de **15-1** y **15-2**.



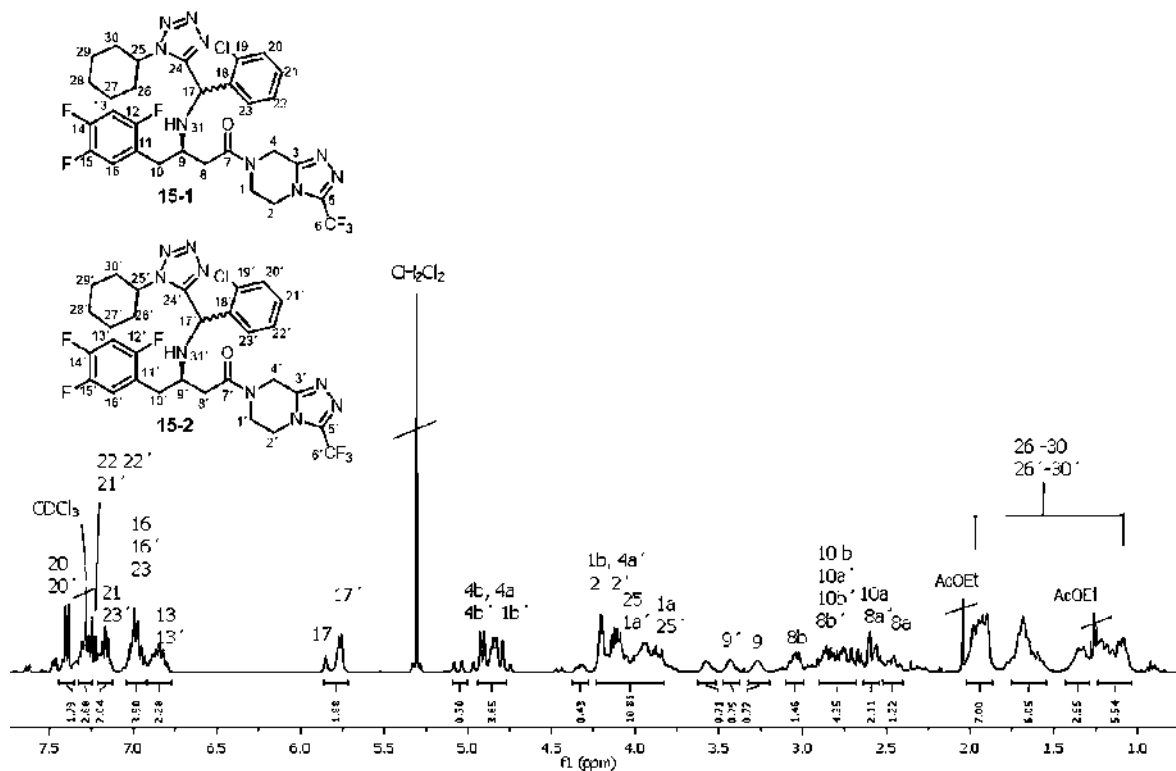


Figura 52. Espectro  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de la mezcla de los diastereoisómeros **15-1** y **15-2**.

El espectro  $^1\text{H}$  de este derivado muestra en 7.39 ppm una señal doble con constante de acoplamiento de 8 Hz, señal asignada para el protón 20 de ambos diastereoisómeros, en 7.34 a 7.22 ppm aparece una señal múltiple asignada para el protón 22 de **15-1** y los protones 22' y 21' de **15-2**, más adelante en 7.17 una señal múltiple para los protones 21 y 23' de **15-1** y **15-2** respectivamente, en 6.99 ppm se tiene una señal múltiple asignada para los protones 16 y 23 de **15-1** como también para 16' de **15-2** y en 6.85 ppm una señal doble de doble de dobles con constantes de acoplamiento de 16.1, 7.6 y 5.1 Hz, señal asignada a los protones 13 y 13'. En 5.85 ppm encontramos la señal simple para el protón 17 de **15-1** y en 5.76 la señal doble con una constante de acoplamiento de 6.5 Hz para 17' de **15-2**. Dentro del intervalo de 5.00 a 2.4 ppm damos ubicación a las señales para los protones del anillo de triazolopiperazina y los protones de 8, 9 y 10 de ambos diastereoisómeros y por último en la región comprendida entre 1 a 2 ppm tenemos las señales múltiples pertenecientes a los protones del anillo de ciclohexilo también para ambos diastereoisómeros de **15**. En la figura 53 se muestra también el espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN del derivado **15** en mezcla diastereoisomérica, en donde podemos encontrar las señales para todos los carbonos de la estructura.

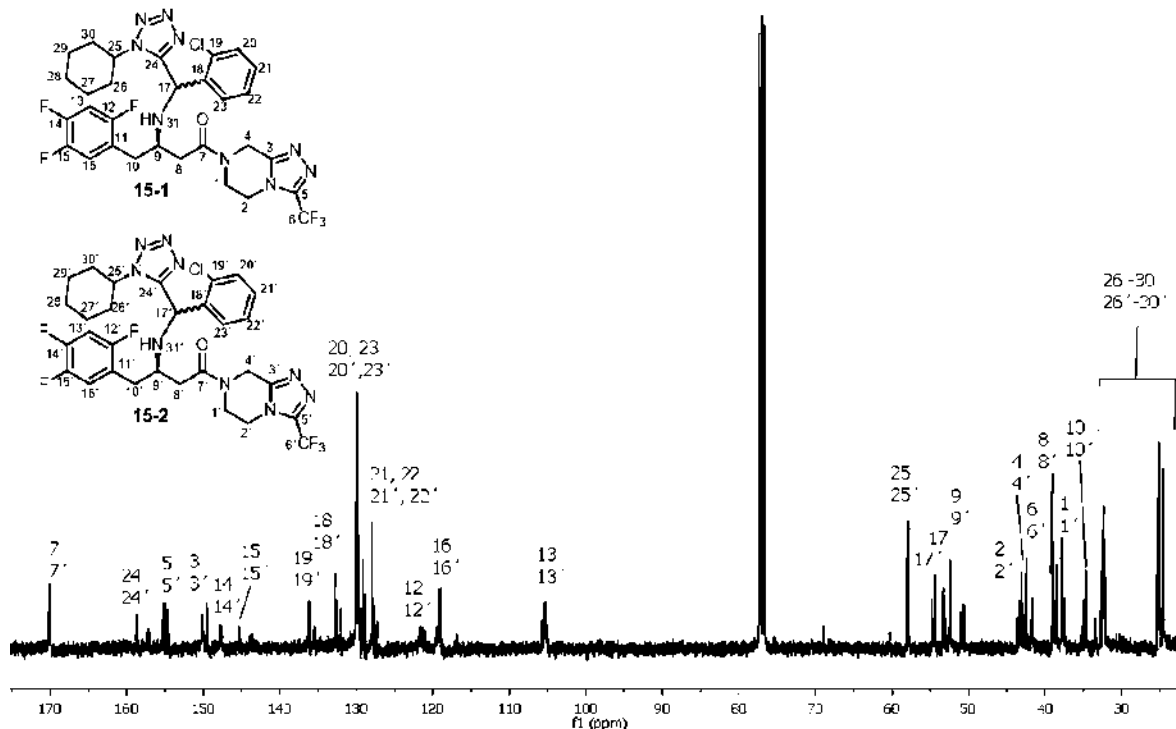
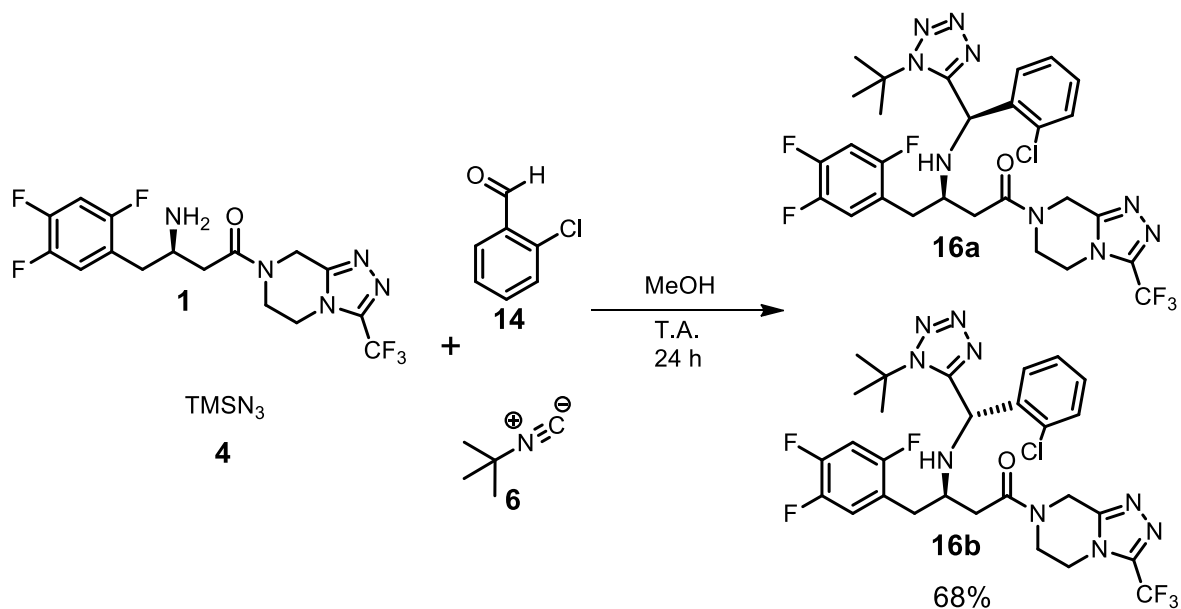


Figura 53. Espectro  $^{13}\text{C}$  RMN a 100 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de la mezcla de los diastereoisómeros **15-1** y **15-2**.

La síntesis del derivado tetrazólico **16** se llevó a cabo mediante la reacción de la amina sitagliptina **1**, el aldehído *orto*-nitrobenzaldehído **14**, el ciclohexilisonitrilo **3** y la trimetilazida **4** como se muestra en el esquema 16, obteniéndose el derivado tetrazólico **16** en un rendimiento del 68%.



Esquema 16. Obtención de los diastereoisómeros del derivado tetrazólico **16**.

En la figura 54 se muestra en espectro de  $^1\text{H}$  de la mezcla diastereoisomérica de **16-1** y **16-2**.

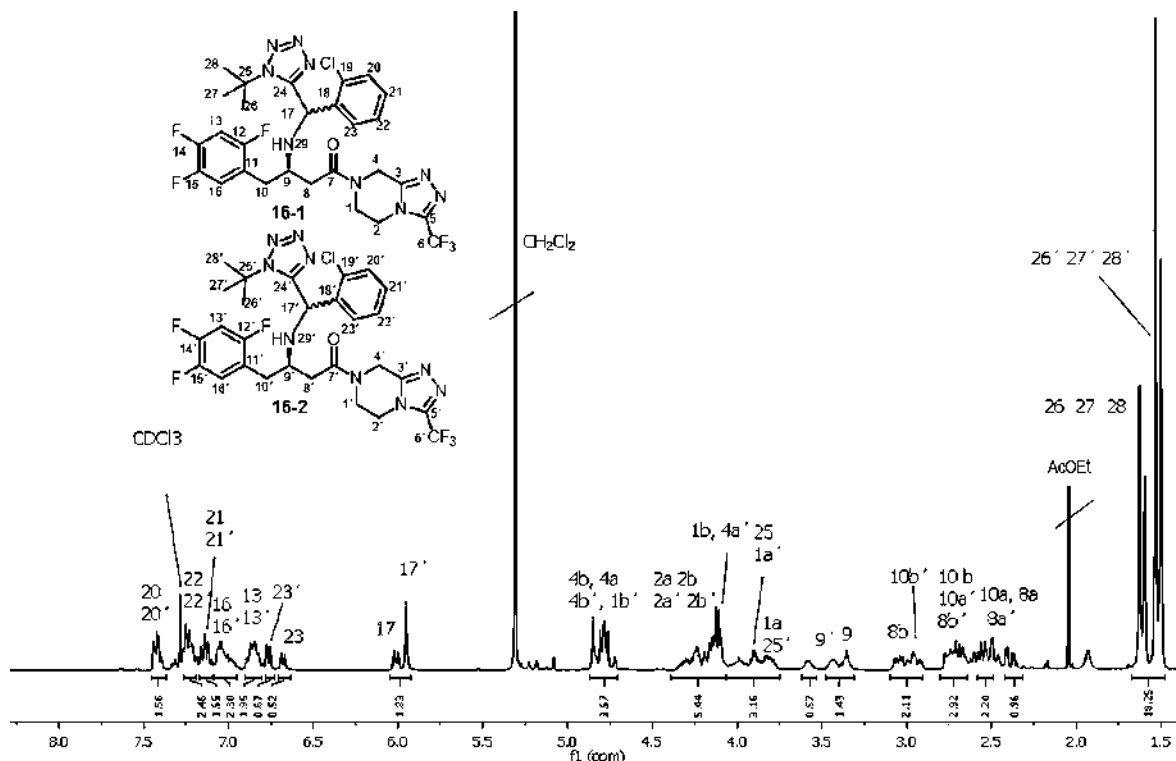


Figura 54. Espectro  $^1\text{H}$  RMN a 400 MHz en  $\text{CDCl}_3$  de la mezcla de los diastereoisómeros **16-1** y **16-2**.

El espectro  $^1\text{H}$  de este derivado muestra en 7.43 ppm una señal doble de dobles con constantes de acoplamiento de 7.90 y 3.20 Hz, señal asignada para los proton 20 de ambos diastereoisómeros, en 7.24 a 7.14 ppm hay una señal múltiple para los protones 22 y 21 de ambos diastereoisómeros, en 7.03 a 6.85 ppm aparecen las señales múltiples para los protones 16 y 13 de ambos diastereoisómeros de **16**, en 6.76 ppm aparece la señal doble con una constante de acoplamiento de 6.6 Hz para el protón 23' de **16-2** y en 6.68 ppm la señal doble para el protón 23 de **16a**. En 6.01 ppm encontramos la señal doble con una constante de acoplamiento de 9.8 Hz para el protón 17 de **16-1** y en 5.95 ppm la señal simple para 17' de **16-2**. Dentro del intervalo de 5.00 a 2.25 damos ubicación a las señales para los protones del anillo de triazolopiperazina y los protones de 8, 9 y 10 de ambos diastereoisómeros y por último en 1.61 ppm tenemos la señal intensa perteneciente al grupo *tert*-butilo de **16-1** y en 1.51 ppm la señal del grupo *tert*-butilo para el diastereoisómero **16-2**. En la figura 55 se muestra también el espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN del derivado **16** en mezcla diastereoisomérica, en donde podemos encontrar las señales para todos los carbonos de la estructura de este derivado.

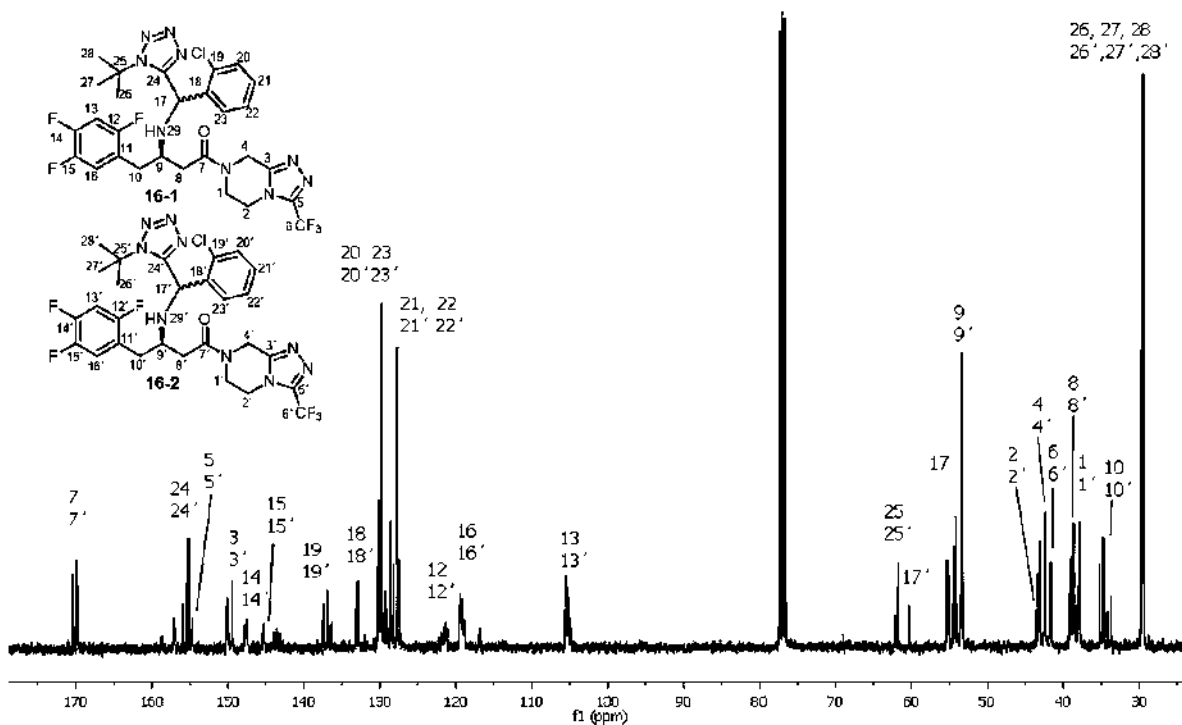


Figura 55. Espectro <sup>13</sup>C RMN a 100 MHz en CDCl<sub>3</sub> de la mezcla de los diastereoisómeros 16-1 y 16-2.

## 5.2. Sección computacional

### 5.2.1. Modelado molecular de la sitagliptina

Los compuestos orgánicos usualmente son una mezcla de isómeros conformacionales, tal es el caso de la sitagliptina, debido que esta presenta un elevado número de enlaces rotables puede tener una gran cantidad de conformeros, es por ello que se llevó a cabo el cálculo de fracciones molares de la amina sitagliptina con la finalidad de encontrar el conformero de mayor abundancia. Se realizó un análisis conformacional para la selección de los conformeros presentes en el equilibrio conformacional de la sitagliptina. Se obtuvieron 15 conformeros dentro del rango de las 3 kcal/mol al nivel de teoría B3LYP/6-31G\* usando Teoría de Funcionales de la Densidad, la lista de conformeros se muestra en la tabla 2 en donde se listan los conformeros de acuerdo al valor del cambio de energía libre.

Tabla 2. Conformeros de la sitagliptina						
Conformero	$\Delta E_{MMFF}$	% <sub>MMFF</sub>	$\Delta E_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>	$\Delta G_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>
<b>1-1</b>	4.98	0.1	1.31	5.7	0.00	36.3
<b>1-2</b>	6.05	0.0	1.15	7.4	0.59	13.4
<b>1-3</b>	5.91	0.0	0.98	9.9	0.76	10.1
<b>1-4</b>	3.25	0.3	0.00	51.7	0.88	8.2
<b>1-5</b>	2.95	0.5	2.66	0.6	0.94	7.4
<b>1-6</b>	4.24	0.1	2.77	0.5	1.25	4.4
<b>1-7</b>	1.11	10.6	2.06	1.6	1.27	4.2
<b>1-8</b>	3.70	0.1	1.93	2.0	1.30	4.0
<b>1-9</b>	3.62	0.1	0.89	11.5	1.44	3.2
<b>1-10</b>	1.18	9.5	1.38	5.0	1.61	2.4
<b>1-11</b>	1.26	8.3	2.34	1.0	1.65	2.2
<b>1-12</b>	4.08	0.7	2.40	0.9	1.94	1.4
<b>1-13</b>	3.62	0.1	2.57	0.7	1.95	1.3
<b>1-14</b>	2.57	0.9	2.53	0.7	2.09	1.1
<b>1-15</b>	0.00	69.3	2.41	0.9	3.00	0.2

Se calculó la fracción molar de cada conformero mediante la expresión de la energía libre de Gibbs que incluye la constante de equilibrio (ecuación 1) y la cual fue reordenada para calcular la fracción molar de cada conformero (ecuación 2).

$$\Delta G = -RT \ln K \quad (1)$$

$$n_1 = n_2 / \exp [(\Delta G) / -RT] \quad (2)$$

El cálculo de la fracción molar se hizo respecto al cambio de energía libre, obteniéndose el conformero mas abundante con una contribución poblacional de

36.3% el cual presenta el grupo trifluorometilo en disposición *anti* respecto al grupo carbonilo y un segundo conformero abundante con 13.4% de contribución poblacional con una disposición *sin* de estos mismos grupos como se muestra en la figura 85 lo que indica que la sitagliptina se puede encontrar como las dos estructuras *cis* y *trans* amida.

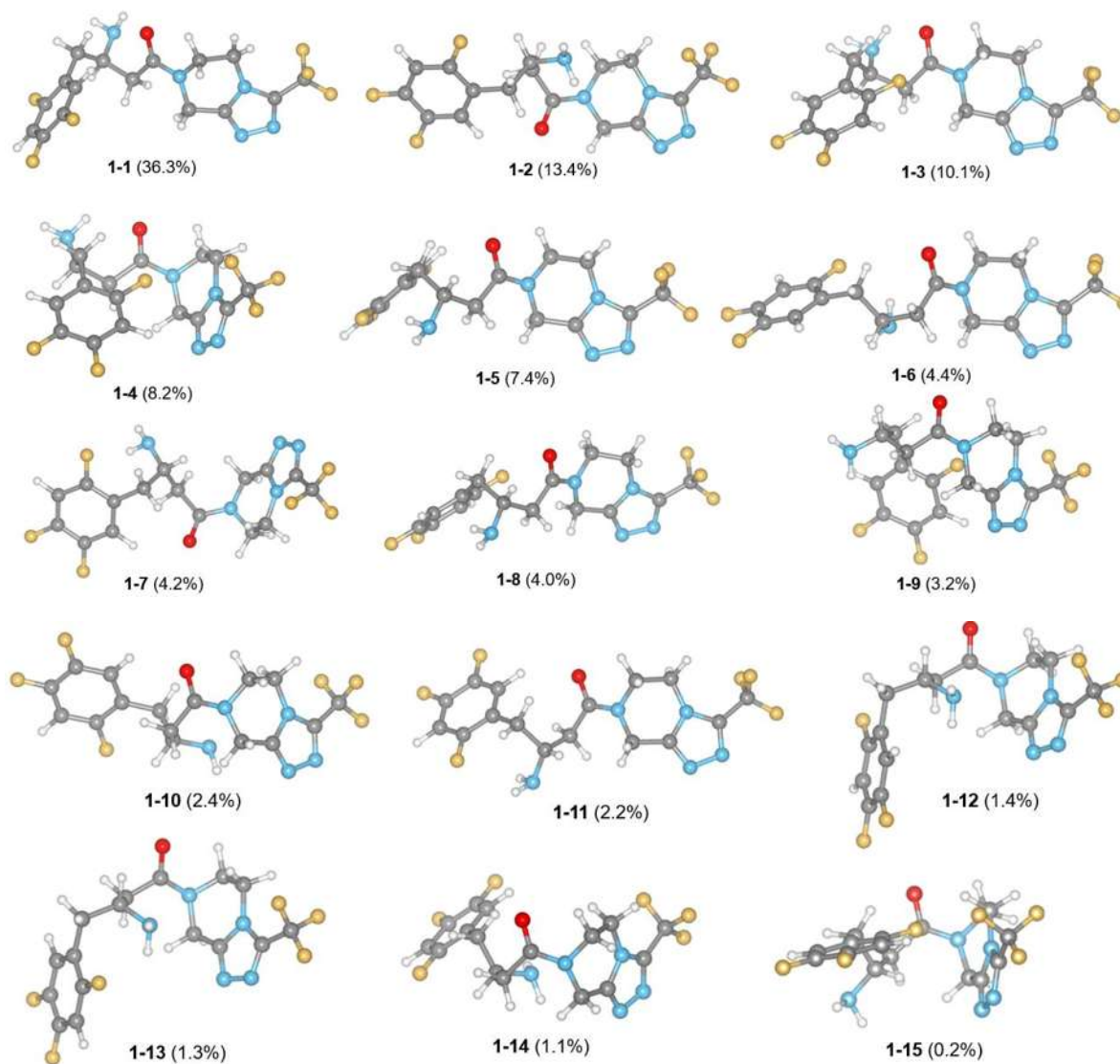


Figura 56. Confórmers de equilibrio de la sitagliptina según el valor de energía libre.

Una vez identificado el conformero más abundante se llevó a cabo el cálculo de optimización geométrica de este a un nivel más alto de teoría obteniéndose la misma estructura, la cual se muestra en la figura 57.

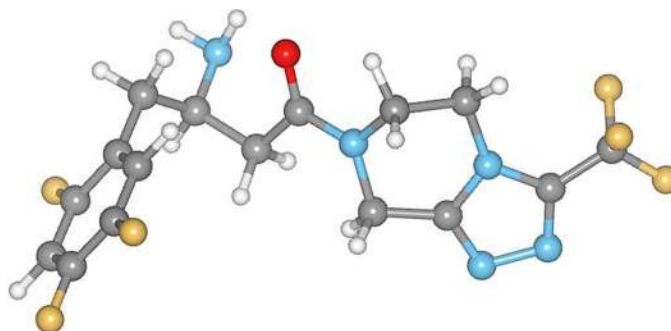


Figura 57. Estructura de la *R*-sitagliptina optimizada al nivel de teoría B3LYP/ 6-311+G (d, p).

Una vez calculada la estructura optimizada de la sitagliptina se llevo a cabo el cálculo de algunas propiedades como el potencial electrostático molecular con el cual es posible analizar la respuesta de una molécula frente a un protón. El MEP consiste en una distribución de carga electrónica promedio, la cual permite visualizar las zonas repulsivas y las zonas de atracción hacia una carga puntual unitaria positiva, es decir, un protón. Comúnmente la representación del MEP hace uso de un mapa de colores indicando las zonas de alta interacción (rojo) hasta las zonas de baja interacción (azul). En este caso el grupo amino primario, los átomos de flúor, el oxígeno del grupo carbonilo y los nitrógenos del anillo de triazol son sitios de posible interacción con un protón en contraste con las zonas azules las cuales representan zonas de baja interacción como son los átomos de carbono unidos a átomos electronegativos (figura 58).

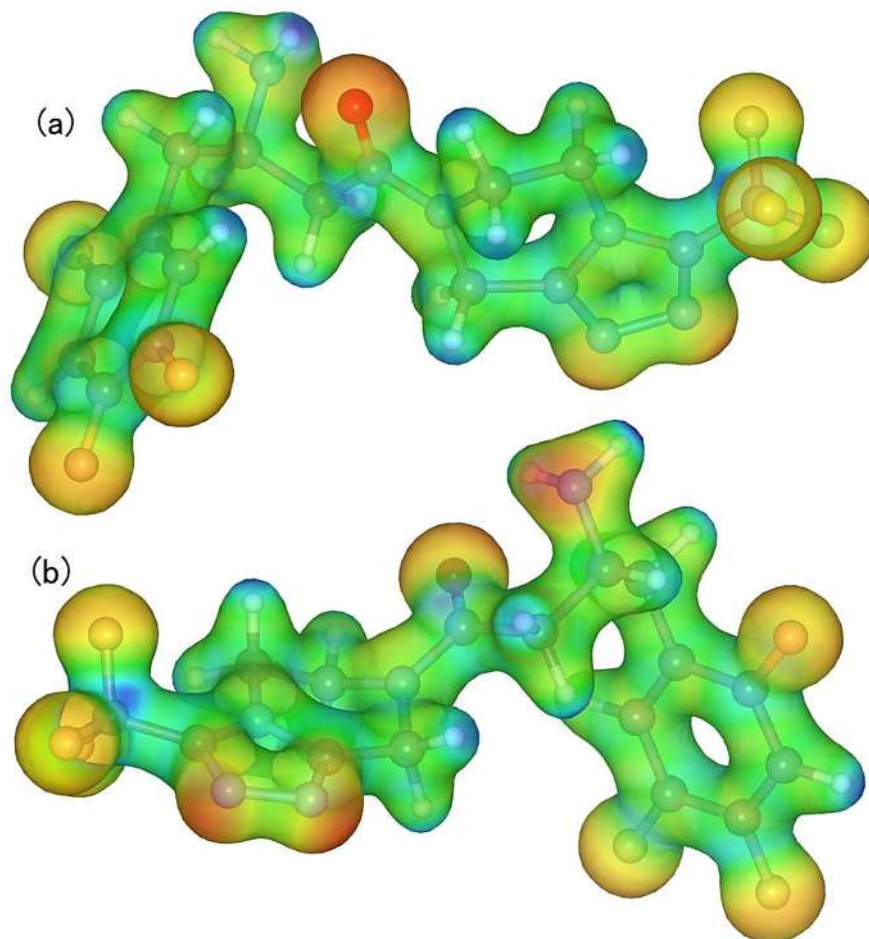


Figura 58. Potencial electrostático molecular de la sitagliptina (a) vista frontal y (b) vista trasera.

Se calcularon las funciones de Fukui de la sitagliptina, las cuales son descriptores de reactividad local y describen el comportamiento reactivo de una molécula en función de la diferencia resultante entre la densidad electrónica del sistema y la del sistema menos un electrón N-1 (ecuación 4) y el sistema más un electrón N+1 (ecuación 3).

$$f^+ = \rho(N+1) - \rho(N) \quad (3)$$

$$f^- = \rho(N) - \rho(N-1) \quad (4)$$

Se calculó la función de Fukui para un ataque electrofílico ( $f^-$ ). Particularmente este descriptor nos indica las zonas susceptibles de reaccionar con electrofílicos como se muestra en la figura 59(a) donde la función de Fukui ( $f^-$ ) nos muestra que el grupo amino primario es el sitio más reactivo hacia agentes electrofílicos, por otra parte el anillo de trifluorofenilo resulta ser también un sitio nucleofílico reactivo hacia electrofílicos. También se calculó la función de Fukui para un ataque nucleofílico ( $f^+$ ) al mismo nivel de teoría, este descriptor al igual nos indica las zonas de la molécula susceptibles de reaccionar con nucleófilos como se muestra en la figura 59(b) donde se ve que el anillo trifluorofenilo es susceptible también de ser atacado por algún agente nucleofílico.



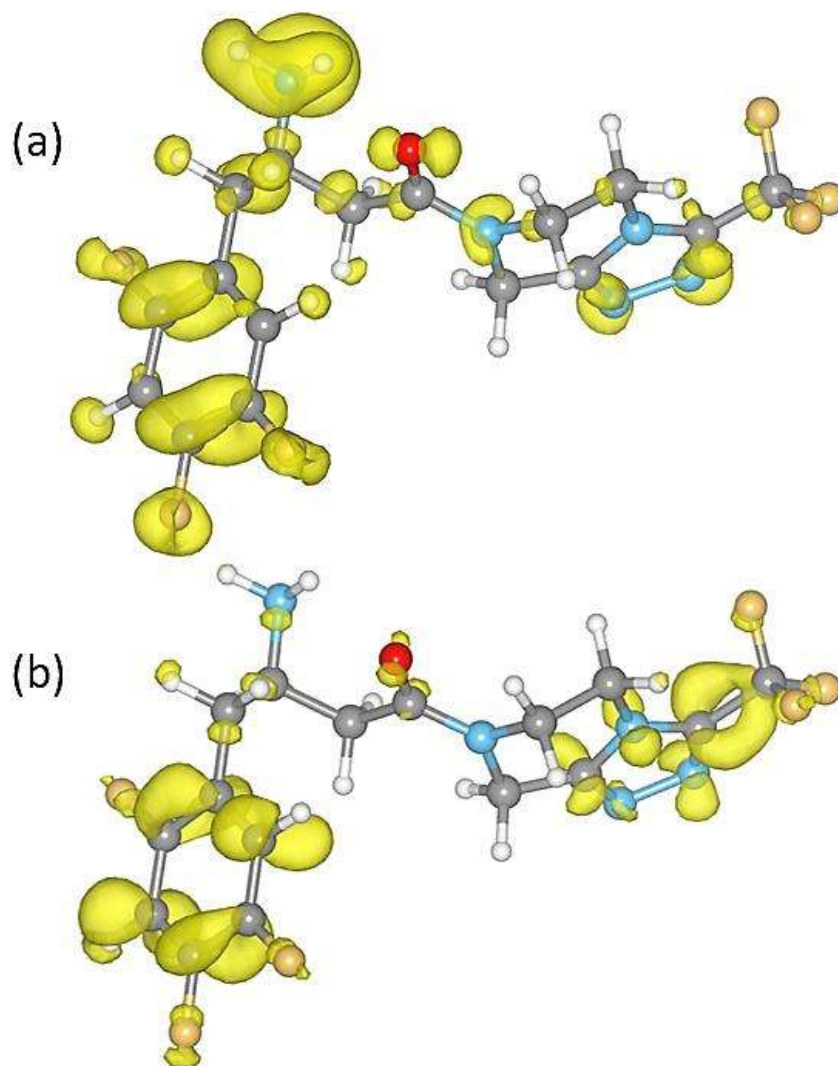
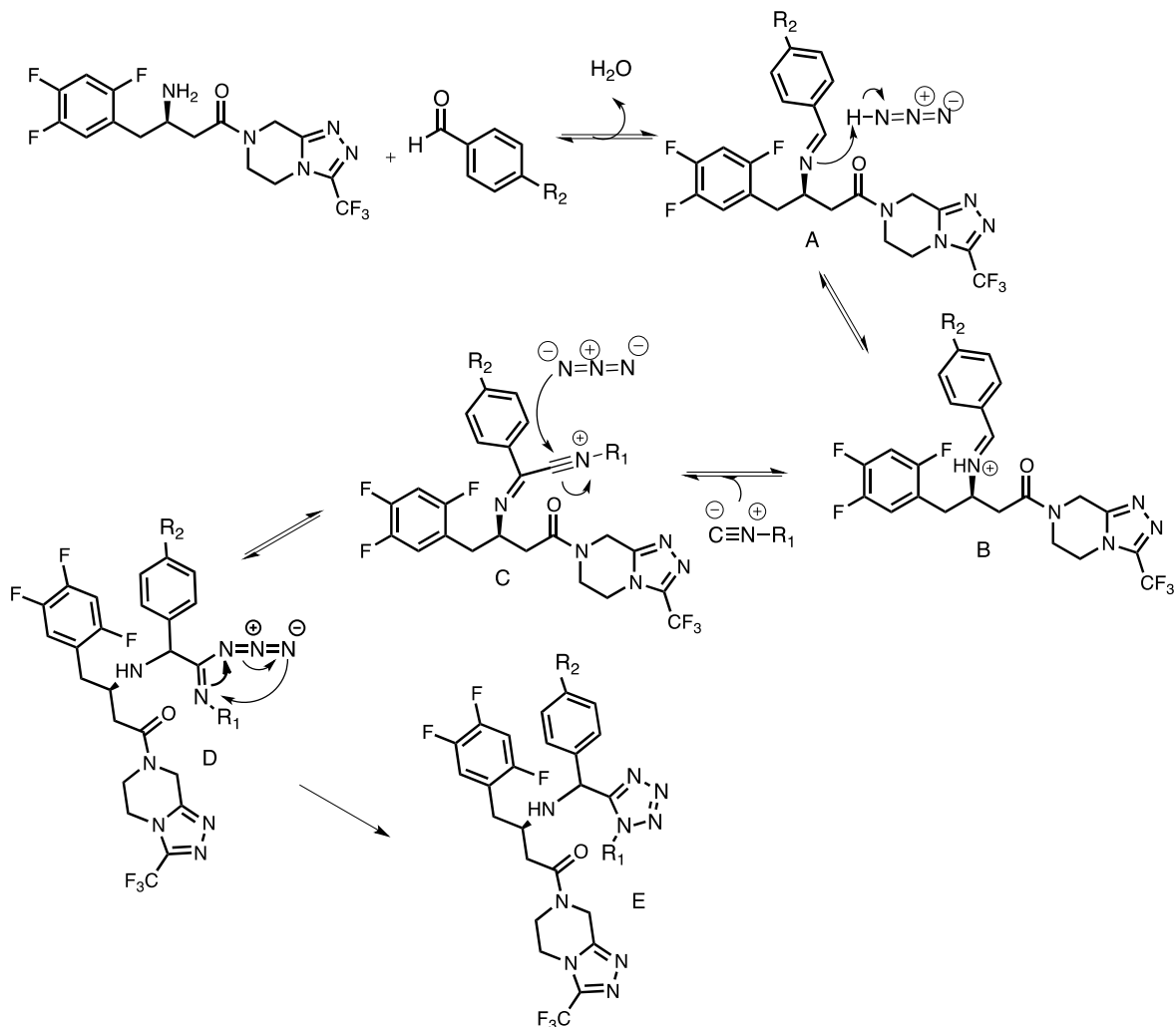


Figura 59. (a) Función de Fukui para un ataque electrofílico, (b) Función de Fukui para un ataque nucleofílico.

La elucidación de la reactividad de la sitagliptina nos sirve como referencia en este proyecto, para la obtención exitosa de los derivados tetrazólicos mediante la reacción de multicomponentes de Ugi-azida, debido a que la reacción de Ugi-azida tiene su inicio al reaccionar la amina con el aldehído, que es mediante un ataque nucleofílico por parte de la amina hacia el carbono del grupo carbonilo del compuesto carbonílico, dando como resultado una subsecuente pérdida de una molécula de agua formando una imina reactiva A, que es activada por el ácido hidrazóico formado *in situ* a partir de la trimetilazida, siendo la imina protonada B la que reacciona con el respectivo isonitrilo formando el intermediario C capaz de reaccionar con el ion azida, pasando al intermediario de reacción D el cual en un paso irreversible mediante una electrociclización 1,5 dipolar forma el producto tetrazólico E (Esquema 17). Por tanto pensamos que a partir de estos resultados se puede apreciar y considerar la importancia e implicación que tiene el anillo de trifluorofenilo para llevar a cabo con éxito la reacción de Ugi-azida.



Esquema 17. Mecanismo de reacción de Ugi-azida con la sitagliptina.

La reacción de Ugi-azida se puede llevar a cabo con éxito sabiendo elegir los componentes adecuados para la reacción, como por ejemplo el uso de compuestos carbonílicos ya sea aldehídos o cetonas que presenten la suficiente reactividad hacia agentes nucleofílicos en reacciones de condensación del carbonilo, así como también el uso de aminas ya sean primarias o secundarias con la reactividad necesaria para llevar a cabo la condensación con el compuesto carbonílico. La formación de la imina reactiva es un paso importante para que la reacción continúe, por lo que cuando se tiene baja formación de ésta, se hace uso de varias estrategias para superar este obstáculo como se mencionó en la revisión bibliográfica de este trabajo, por ejemplo el uso de ácidos de Lewis para la activación de los compuestos carbonílicos frente a aminas pobremente nucleofílicas como son las anilinas; aminas aromáticas donde el par libre electrónico del grupo amino está deslocalizado en el anillo de benceno.

## 5.2.2. Modelado molecular de los derivados tetrazólicos de la sitagliptina

Una vez obtenidos los conformeros de equilibrio, la estructura optimizada y los descriptores de reactividad para la sitagliptina, se analizó la reactividad de los productos tetrazólicos resultantes de la reacción de Ugi-azida haciendo uso de igual manera la Teoría de los Funcionales de la Densidad, para esto se llevo a cabo primero un análisis conformacional del primer derivado (derivado **5**) considerando por separado ambos diastereoisómeros *RR* Y *RS* (identificados con las letras **a** y **b**) una vez obtenidos los confórmeros de equilibrio de ambos diastereoisómeros se calcularon las fracciones molares de los confórmeros. Para el diastereoisómero **5a** se obtuvieron 6 confórmeros dentro del rango de las 3 kcal/mol de energía libre como se muestra en la tabla 3.

Confórmero	$\Delta E_{MMFF}$	%MMFF	$\Delta E_{RHF}$	%RHF	$\Delta E_{DFT}$	%DFT	$\Delta G_{DFT}$	%DFT
<b>5a-1</b>	3.35	0.3	0.11	45.0	0.00	90.8	0.00	85.1
<b>5a-2</b>	2.50	1.4	3.59	0.1	2.62	1.1	1.91	3.4
<b>5a-3</b>	0.00	96.2	4.18	0.0	2.25	2.0	1.91	3.4
<b>5a-4</b>	3.72	0.2	0.00	54.2	1.86	3.9	2.00	2.9
<b>5a-5</b>	3.07	0.5	3.50	0.1	2.41	1.5	2.03	2.8
<b>5a-6</b>	2.53	1.3	2.95	0.4	2.99	0.6	2.09	2.5

El cálculo de la fracción molar mostró que de los seis confórmeros de este diastereoisómero, uno es por mucho mas abundante, teniendo un 85.1% de contribución poblacional según el valor de energía libre de la tabla 3, la disposición geométrica de los modelos moleculares conformacionales se visualiza en la figura 60.

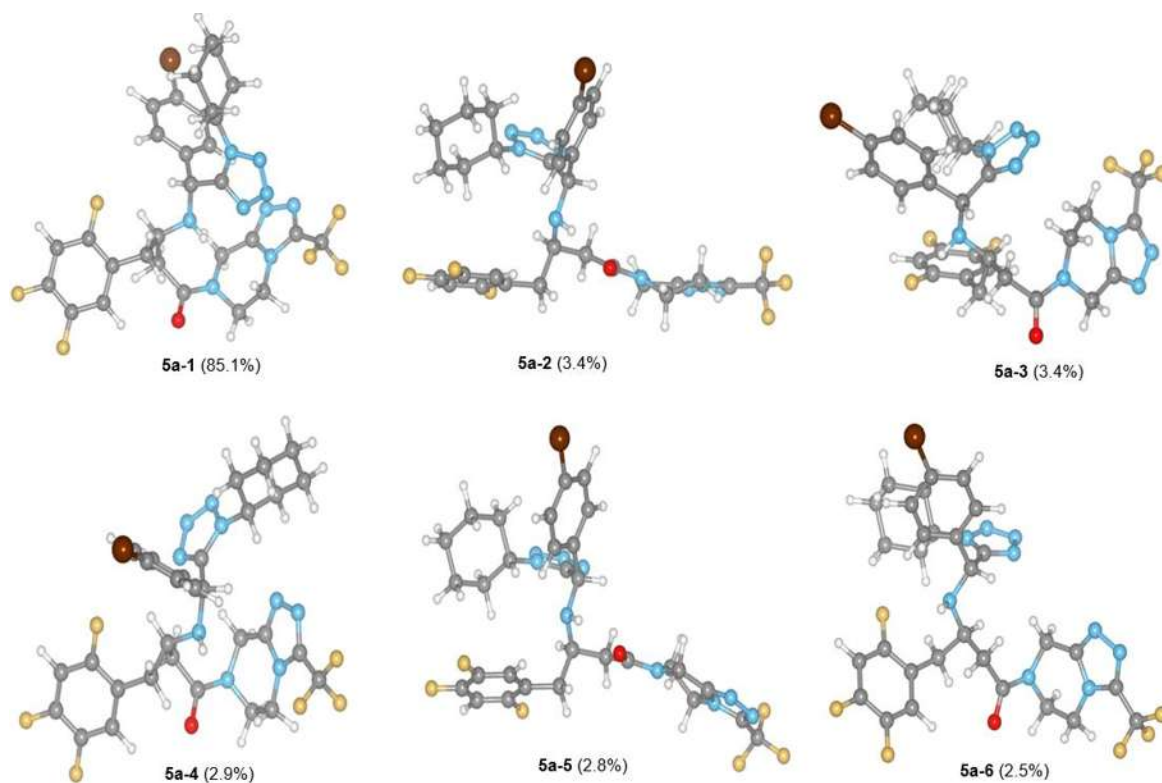


Figura 60. Conformeros de equilibrio del diastereoisómero **5a** (*RR*-5) según el valor de energía libre.

El análisis conformacional para el diastereoisómero **5b** dio como resultado seis conformeros a los cuales posteriormente se calculó la fracción molar en la tabla 4, obteniéndose cuatro conformeros mayoritarios y dentro de estos un conformero principal con un valor de 40.6% de contribución poblacional. Los modelos moleculares de los conformeros se muestran en la figura 61.

Tabla 4. Conformeros del derivado <b>5b</b> .								
Conformero	$\Delta E_{MMFF}$	%MMFF	$\Delta E_{RHF}$	%RHF	$\Delta E_{DFT}$	%DFT	$\Delta G_{DFT}$	%DFT
<b>5b-1</b>	2.82	0.5	0.00	76.7	0.02	47.6	0.00	40.5
<b>5b-2</b>	0.25	39.1	4.48	0.0	1.89	2.0	0.28	25.3
<b>5b-3</b>	4.40	0.0	0.71	23.1	0.00	49.2	0.50	17.4
<b>5b-4</b>	3.64	0.1	4.68	0.0	2.53	0.7	0.54	16.3
<b>5b-5</b>	2.77	0.5	4.88	0.0	2.78	0.5	3.00	0.2
<b>5b-6</b>	0.00	59.6	10.83	0.0	4.39	0.0	3.12	0.2

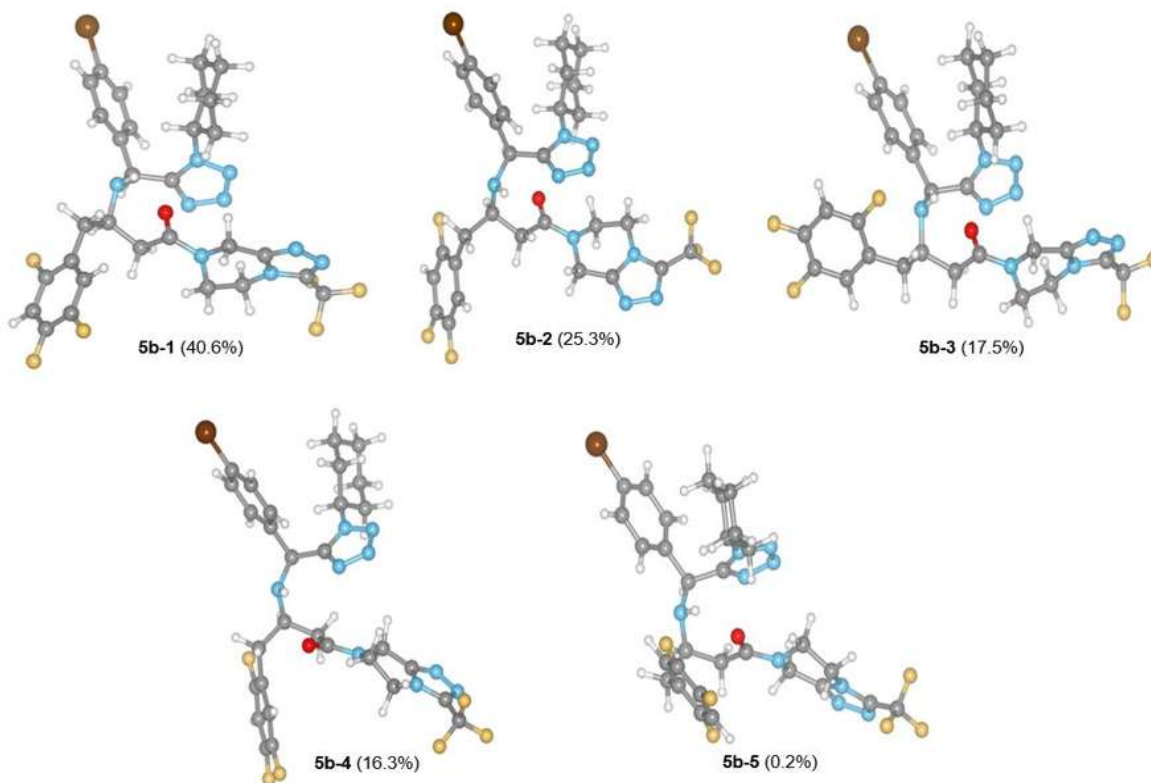


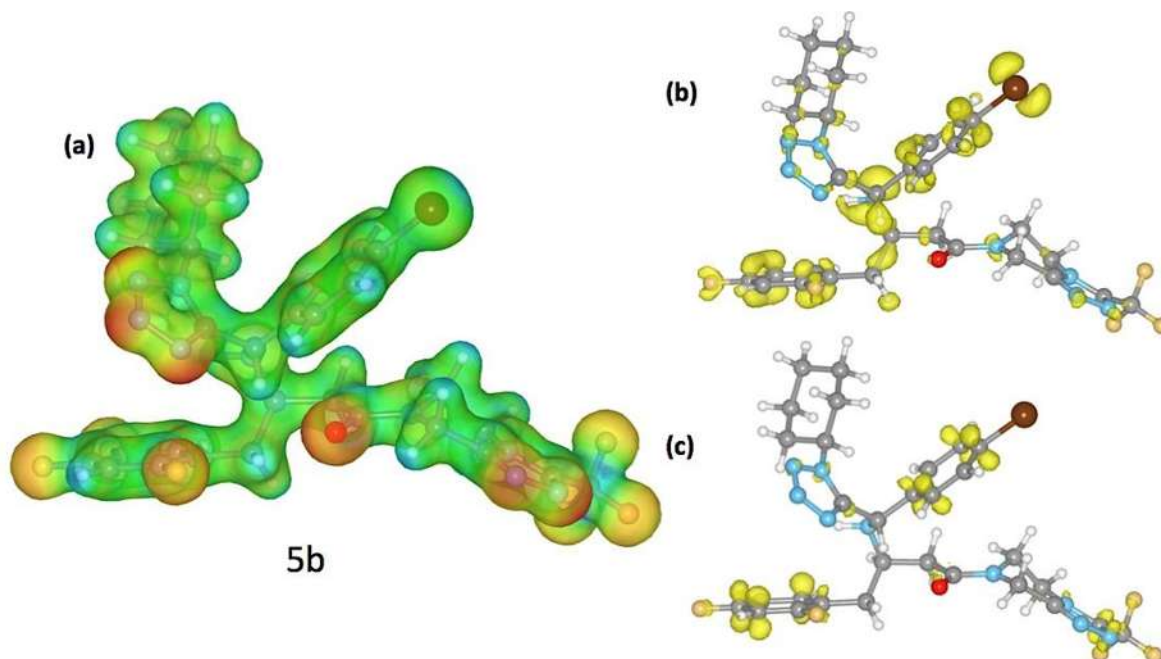
Figura 61. Conforméros de equilibrio del diastereoisómero **5b** (RS-5) según el valor de energía libre.

Estos resultados muestran que para el diastereoisómero **5a** existe un único conformero principal mientras que para el diastereoisómero **5b** existen tres, es así que se calculó la fracción molar de estos en la mezcla diastereoisomérica (ver tabla 5) quedando de manifiesto que el diastereoisómero **5b** será el más abundante en esta mezcla, al ser energéticamente más estable que el diastereoisómero **5a** en términos de su energía libre (0.40 kcal/mol).

Tabla 5. Fracción molar conforméros en la mezcla diastereoisomérica de <b>5</b> .			
Diastereoisómero	Conformero	$\Delta G_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>
<b>5b</b>	<b>5b-1</b>	0.00	39.0
<b>5b</b>	<b>5b-2</b>	0.28	24.3
<b>5a</b>	<b>5a-1</b>	0.40	19.9
<b>5b</b>	<b>5b-3</b>	0.50	16.8

Después de obtener las estructuras optimizadas de los conforméros más abundantes de los diastereoisómeros de **5** se calcularon los descriptores de reactividad, sobre el estereoisómero **5b**. A continuación en la figura 62(a) se representa el potencial electrostático molecular del derivado tetrazólico **5b**, el cual nos muestra que el grupo amino secundario tiene la capacidad de poder interactuar con un protón, de la misma manera los grupos electronegativos como son todos los átomos de flúor presentes en la molécula y el anillo de tetrazol son sitios de posible interacción, los carbonos unidos a átomos de flúor son sitios de no interacción. Se calcularon las funciones de Fukui para el derivado **5b**, la función

de Fukui para un ataque electrofílico  $f^-$  [figura 62(b)] mostró que el grupo amino secundario, el anillo de bromofenilo y en anillo trifluorofenilo son sitios susceptibles de reacción con electrofilos. La función de Fukui para un ataque nucleofílico  $f^+$  [figura 62(c)] mostró que la reactividad de este derivado tetrazólico frente a agentes nucleofílicos se ve localizada sobre los anillos aromáticos de igual manera.



**Figura 62.** (a) Potencial electrostático molecular del derivado **5b**, (b) Función de Fukui para un ataque electrofílico, (c) Función de Fukui para un ataque nucleofílico.

Se llevo a cabo el análisis conformacional de los diastereoisómeros del derivado **7** obteniendo diez conformeros para el diastereoisómero **7a** y cinco para el diastereoisómero **7b** mostrados en las tablas 5 y 6 respectivamente a los que se calcularon las fracciones molares.

Tabla 6. Conformeros del derivado <b>7a</b> .								
Conformero	$\Delta E_{MMFF}$	%MMFF	$\Delta E_{RHF}$	%RHF	$\Delta E_{DFT}$	%DFT	$\Delta G_{DFT}$	%DFT
<b>7a-1</b>	1.18	6.5	3.45	0.3	1.06	13.0	0.00	62.2
<b>7a-2</b>	1.76	2.4	4.35	0.0	2.68	0.8	0.71	18.8
<b>7a-3</b>	3.26	0.2	3.78	0.1	2.01	2.6	1.41	5.8
<b>7a-4</b>	2.77	0.4	3.74	0.2	3.09	0.4	1.68	3.6
<b>7a-5</b>	2.82	0.4	1.94	3.3	2.87	0.6	1.92	2.4
<b>7a-6</b>	3.16	0.2	4.82	0.0	4.24	0.1	1.96	2.3
<b>7a-7</b>	4.70	0.0	4.69	0.0	2.25	1.7	2.08	1.9
<b>7a-8</b>	0.00	47.5	0.00	88.4	0.0	77.6	2.13	1.7
<b>7a-9</b>	4.33	0.0	1.48	7.3	2.46	1.2	2.41	1.1
<b>7a-10</b>	0.07	42.2	3.48	0.2	2.19	1.9	3.23	0.3

El cálculo de las fracciones molares para el diastereoisómero **7a** nos indicó dos conforméromos de mayor abundancia con un 62.2% y 18.8% de contribución poblacional cuyos modelos moleculares se muestra en la figura 63.

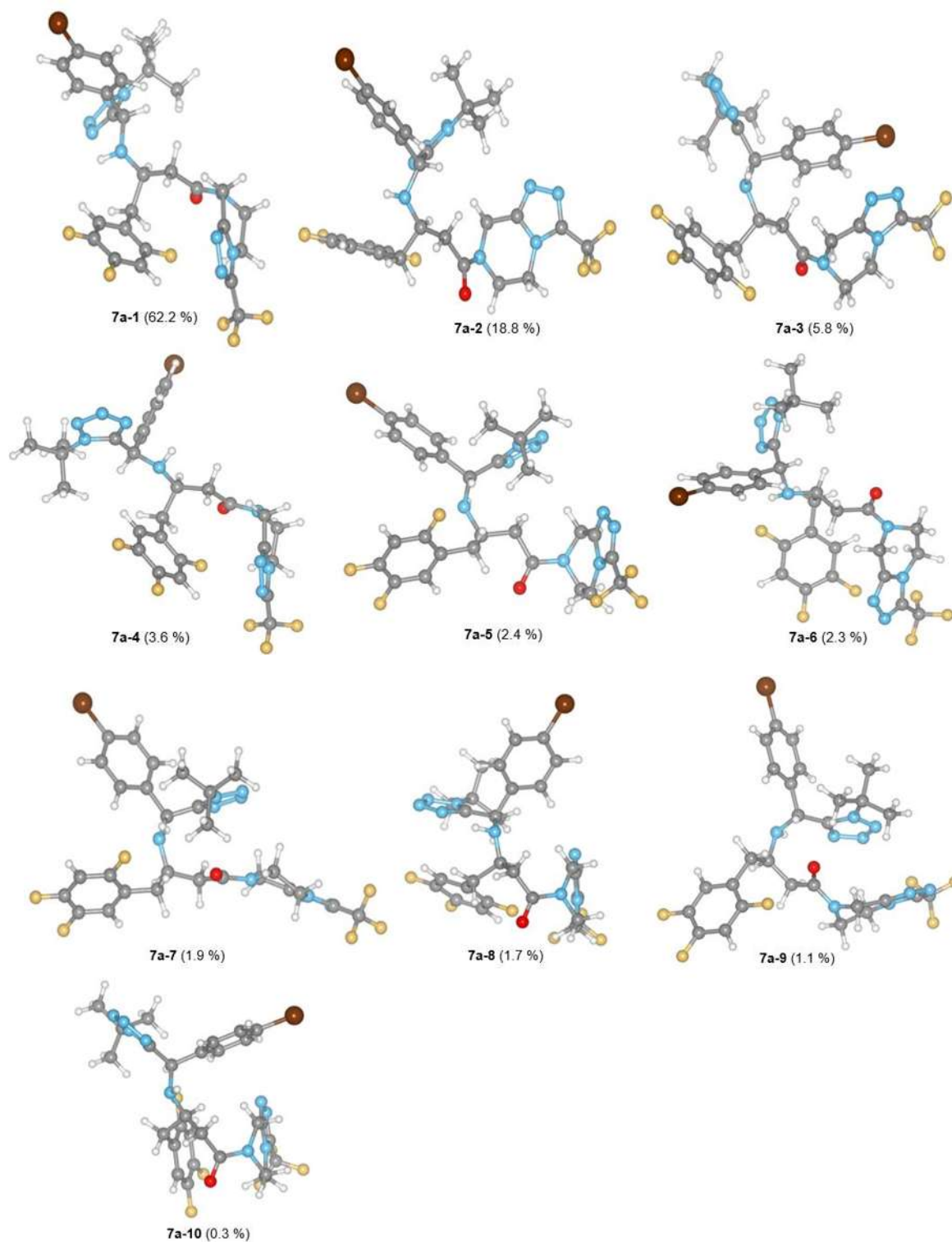


Figura 63. Conforméromos de equilibrio del diastereoisómero **7a** (RR-7) según el valor de energía libre.

El cálculo de fracción molar de los cinco conforméromos del diastereoisómero **7b** (tabla 6) señalo la presencia de un conforméromo mayoritario con un 96.9% de

contribución poblacional siendo prácticamente el único conformero que se puede encontrar para este diastereoisómero (figura 64).

Conformero	$\Delta E_{MMFF}$	% <sub>MMFF</sub>	$\Delta E_{RHF}$	% <sub>RHF</sub>	$\Delta E_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>	$\Delta G_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>
<b>7b-1</b>	0.70	21.2	0.00	99.5	0.00	95.9	0.00	96.5
<b>7b-2</b>	1.19	9.3	3.87	0.1	2.08	2.9	2.47	1.5
<b>7b-3</b>	4.33	0.0	4.33	0.1	3.29	0.4	2.67	1.1
<b>7b-4</b>	4.22	0.0	3.63	0.2	2.98	0.6	3.09	0.5
<b>7b-5</b>	0.00	69.3	4.49	0.1	3.59	0.2	3.23	0.4

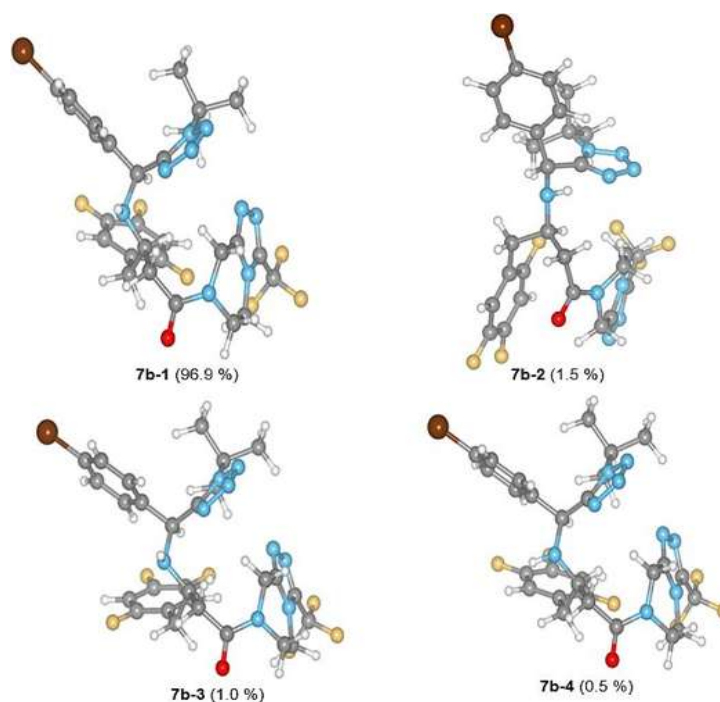


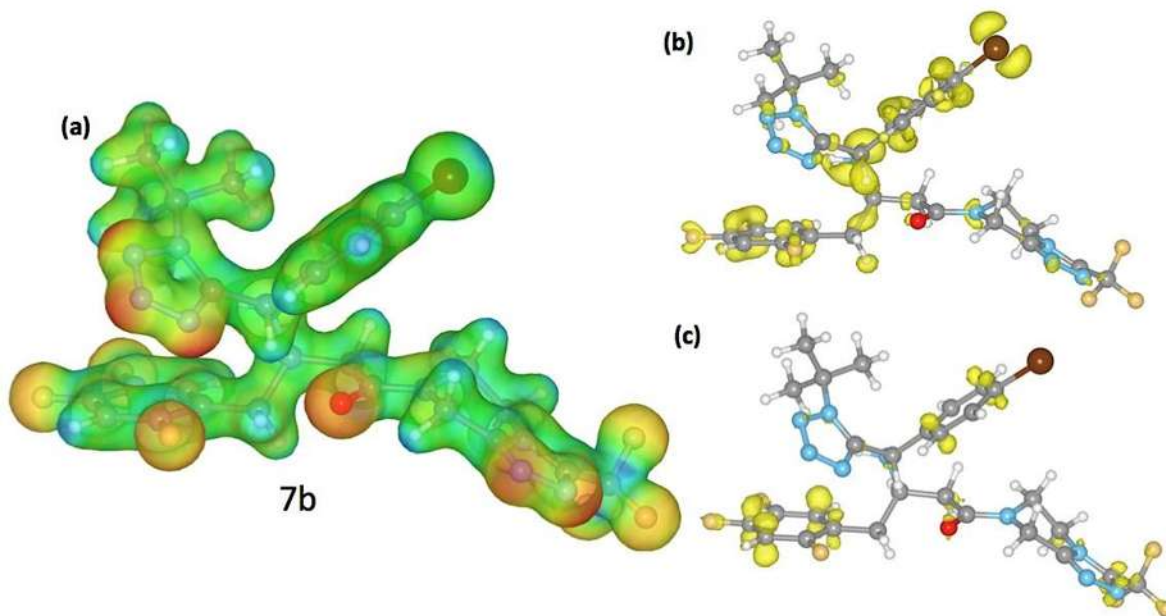
Figura 64. Conformeros de equilibrio del diastereoisómero **7b** (*RS*-**7**) según el valor de energía libre.

Estos cálculos muestran que para el diastereoisómero **7a** existen dos conformeros principales mientras que para el diastereoisómero **7b** existe uno solo, es así que se calculó la fracción molar de estos en la mezcla diastereoisomérica (ver tabla 8) donde se puede decir que el diastereoisómero **7b** será el más abundante en esta mezcla, al ser energéticamente más estable que el diastereoisómero de menor energía de **7a** en términos de su energía libre (1.11 kcal/mol).

Diastereoisómero	Conformero	$\Delta G_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>
<b>7b</b>	<b>7b-1</b>	0.00	83.3
<b>7a</b>	<b>7a-1</b>	1.11	12.8
<b>7a</b>	<b>7a-2</b>	1.82	3.9



En la figura 65(a) se representa el potencial electrostático molecular del derivado tetrazólico **7b**, el cual muestra que el grupo amino secundario como un sitio de posible interacción al igual que el anillo de tetrazol y los átomos de flúor son sitios de interacción con un protón. La función de Fukui  $f^-$  para el derivado **7b** [figura 65(b)] muestra que el grupo amino secundario, el anillo de bromofenilo y el anillo trifluorofenilo son sitios susceptibles de reacción con electrófilos. La función de Fukui  $f^+$  [figura 65(c)] mostró que la reactividad de éste derivado tetrazólico frente agentes nucleofílicos se ve localizada sobre los anillos aromáticos.



**Figura 65.** (a) Mapa de potencial electrostático, (b) Función de Fukui para un ataque electrofílico, (c) Función de Fukui para un ataque nucleofílico.

Se llevo a cabo el análisis conformacional de los diastereoisómeros del derivado **9** obteniendo seis conformeros para el diastereoisómero **9a** y cuatro para el diastereoisómero **9b**. Se calcularon las fracciones molares de los seis confórmeros del diastereoisómero **9a** obteniéndose dos confórmeros principales al presentar una contribución poblacional de 49.9% y 36.2% como se muestra en la tabla 9, cuyos modelos se esquematizan en la figura 66.

Tabla 9. Conformeros del derivado <b>9a</b> .								
Conformero	$\Delta E_{MMFF}$	%MMFF	$\Delta E_{RHF}$	%RHF	$\Delta E_{DFT}$	%DFT	$\Delta G_{DFT}$	%DFT
<b>9a-1</b>	0.00	94.5	2.12	2.7	0.00	54.4	0.00	49.9
<b>9a-2</b>	4.73	0.0	0.00	96.7	0.25	35.7	0.19	36.2
<b>9a-3</b>	2.26	2.1	3.22	0.4	1.76	2.8	1.40	4.7
<b>9a-4</b>	2.59	1.2	4.18	0.1	1.64	3.4	1.42	4.5
<b>9a-5</b>	2.44	1.5	4.21	0.1	1.66	3.3	1.43	4.5
<b>9a-6</b>	2.99	0.6	4.41	0.0	2.84	0.5	3.18	0.2

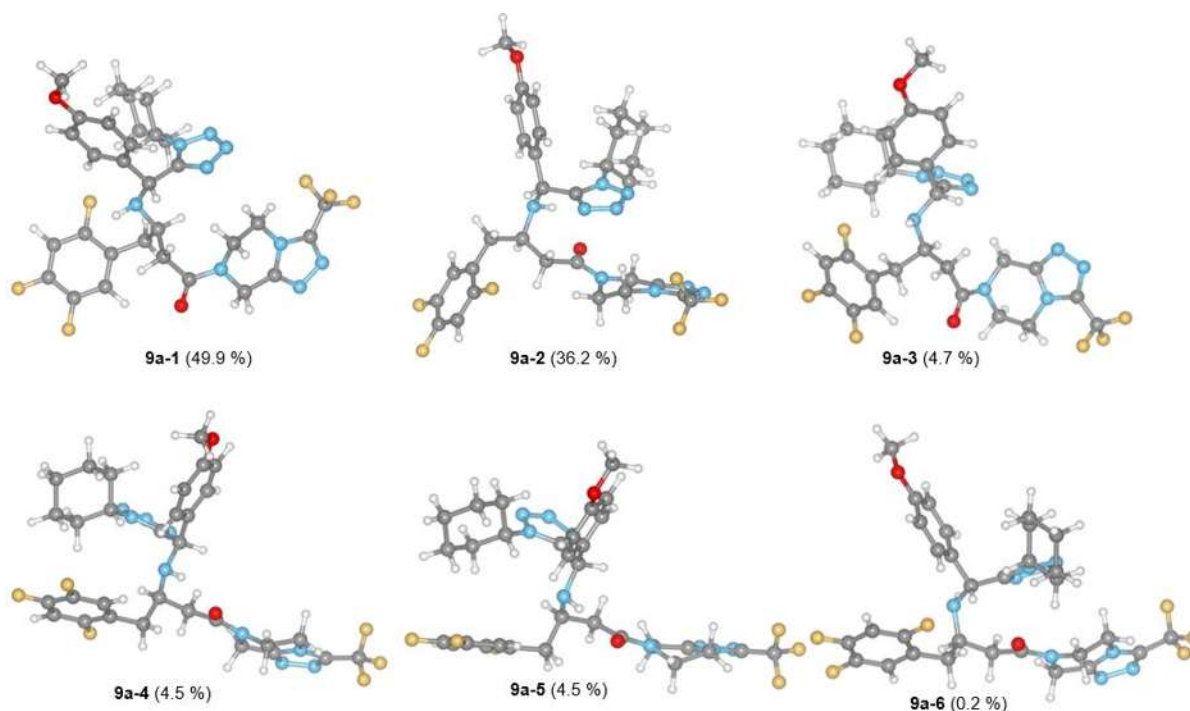


Figura 66. Conformeros de equilibrio del diastereoisómero **9a** (*RR-9*) según el valor de energía libre.

El diastereoisómero **9b** presento 5 conformeros como se muestra en la tabla 10, cuyas fracciones molares sugieren principalmente la presencia de 3 conformeros mayoritarios y cuyos modelos moleculares se representan en la figura 67.

Tabla 10. Conformeros del derivado <b>9b</b> .								
Conformero	$\Delta E_{MMFF}$	%MMFF	$\Delta E_{RHF}$	%RHF	$\Delta E_{DFT}$	%DFT	$\Delta G_{DFT}$	%DFT
<b>9b-1</b>	1.97	2.9	0.00	61.6	0.00	75.4	0.00	44.5
<b>9b-2</b>	2.68	0.9	4.55	0.0	2.59	0.9	0.22	30.7
<b>9b-3</b>	1.19	11.0	0.28	38.4	0.71	22.7	0.35	24.6
<b>9b-4</b>	1.87	3.5	4.79	0.0	2.73	0.7	3.07	0.2
<b>9b-5</b>	0.00	81.7	8.43	0.0	3.53	0.2	5.71	0.0

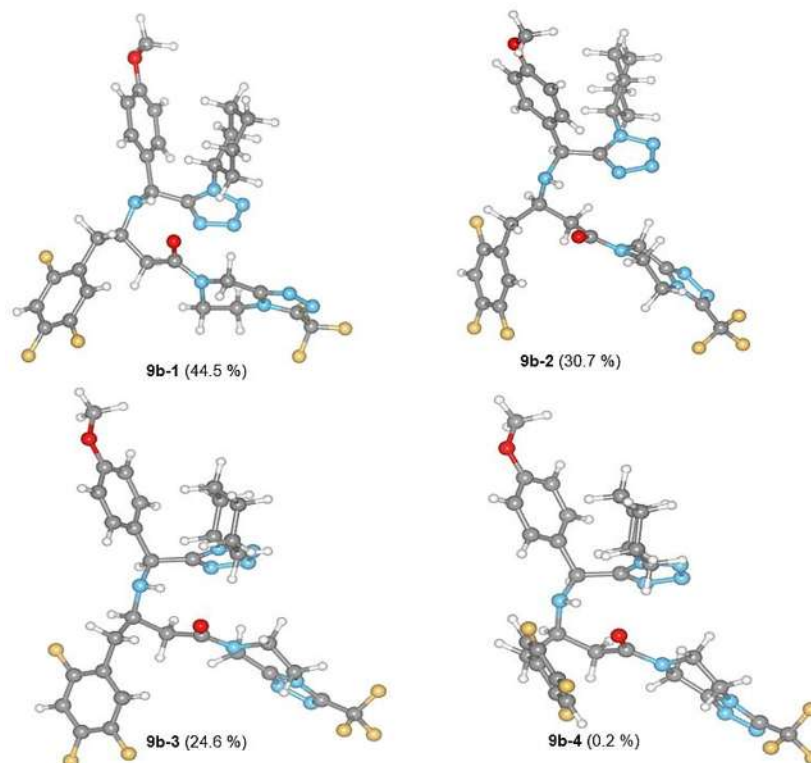


Figura 67. Conformeros de equilibrio del diastereoisómero **9b** (RS-9) según el valor de energía libre.

Los tres conformeros principales del diastereoisómero **9b** junto con los dos conformeros principales de **9a** fueron considerados en un solo cálculo de fracción molar (tabla 11) del cual se obtuvo que el diastereoisómero **9b** es el más abundante en esta mezcla, al ser energéticamente más estable que el diastereoisómero de menor energía de **9a** en términos de su energía libre (0.75 kcal/mol).

Tabla 11. Fracción molar conformeros en la mezcla diastereoisomérica de **9**.

Diastereoisómero	Confómero	$\Delta G_{\text{DFT}}$	% <sub>DFT</sub>
<b>9b</b>	<b>9b-1</b>	0.00	36.6
<b>9b</b>	<b>9b-2</b>	0.22	25.3
<b>9b</b>	<b>9b-3</b>	0.35	20.3
<b>9a</b>	<b>9a-1</b>	0.75	10.3
<b>9a</b>	<b>9a-2</b>	0.94	7.5

En la figura 68(a) se representa el potencial electrostático molecular del derivado tetrazólico **9b**, el cual muestra que el grupo amino secundario es un sitio de interacción fuerte, los átomos de flúor, el grupo metoxilo y el anillo de tetrazol también son sitios de interacción. La función de Fukui  $f^-$  para el derivado **9b** [figura 68(b)] muestra que el grupo amino secundario es un sitio susceptible de reacción con electrófilos, y a diferencia de los derivados previamente descritos, el anillo aromático agregado en la reacción es ahora más reactivo frente a electrófilos,

pudiendo llevar a cabo reacciones de sustitución electrofílica aromática, debido al efecto activador del grupo metoxilo. La función de Fukui para un ataque nucleofílico  $f^+$  (figura 68(c)) mostró que la reactividad de este derivado tetrazólico frente a agentes nucleofílicos se ve localizada únicamente sobre el anillo de trifluorofenilo, pues a diferencia de los derivados **5** y **7**, el anillo aromático de metoxifenilo presenta una considerable densidad electrónica sobre éste, no pudiendo tener un carácter electrofílico frente a nucleófilos.

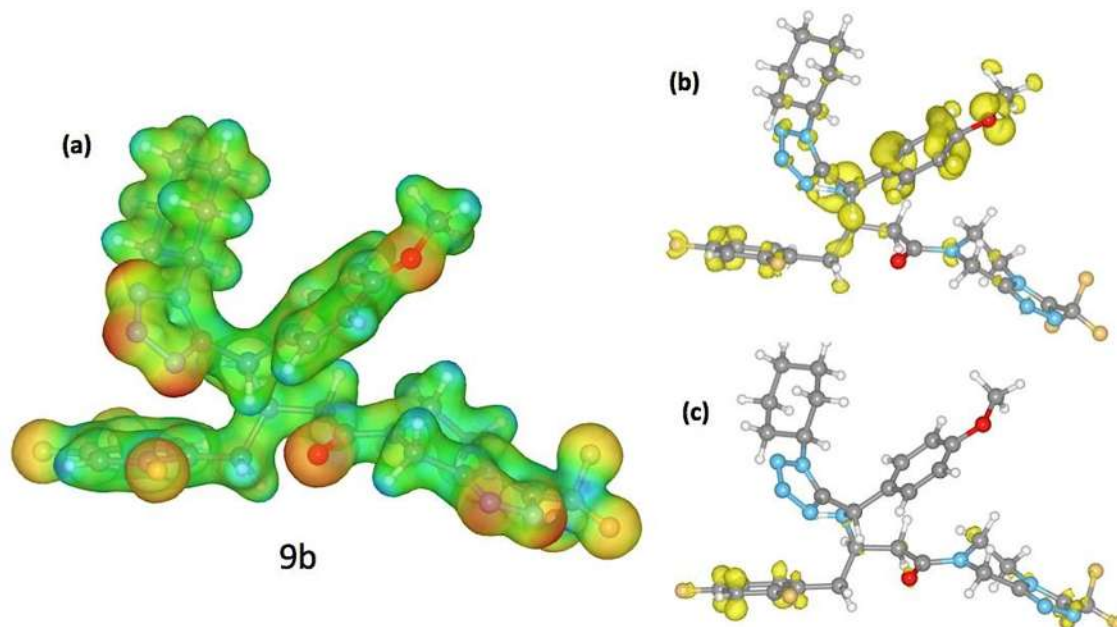


Figura 68. (a) Mapa de potencial electrostático, (b) Función de Fukui para un ataque electrofílico, (c) Función de Fukui para un ataque nucleofílico.

El análisis conformacional del diastereoisómero **10a** del derivado **10** dió como resultado 5 conformeros principales (tabla 12), uno de ellos con una contribución poblacional del 65.5% y otro con 18.8% cuyos modelos moleculares se visualizan en la figura 69.

Tabla 12. Conformeros del derivado <b>10a</b> .								
Confórmero	$\Delta E_{MMFF}$	%MMFF	$\Delta E_{RHF}$	%RHF	$\Delta E_{DFT}$	%DFT	$\Delta G_{DFT}$	%DFT
<b>10a-1</b>	3.91	0.1	4.65	0.0	2.86	0.6	0.00	65.5
<b>10a-2</b>	2.55	1.3	0.00	90.8	0.00	70.3	0.74	18.8
<b>10a-3</b>	2.03	3.1	1.53	6.9	0.79	18.5	1.28	7.5
<b>10a-4</b>	3.89	0.1	2.63	1.1	1.47	5.9	1.39	6.3
<b>10a-5</b>	3.87	0.1	2.54	1.2	1.60	4.7	2.1	1.9
<b>10a-6</b>	0.00	95.2	8.38	0.0	6.30	0.0	5.46	0.0

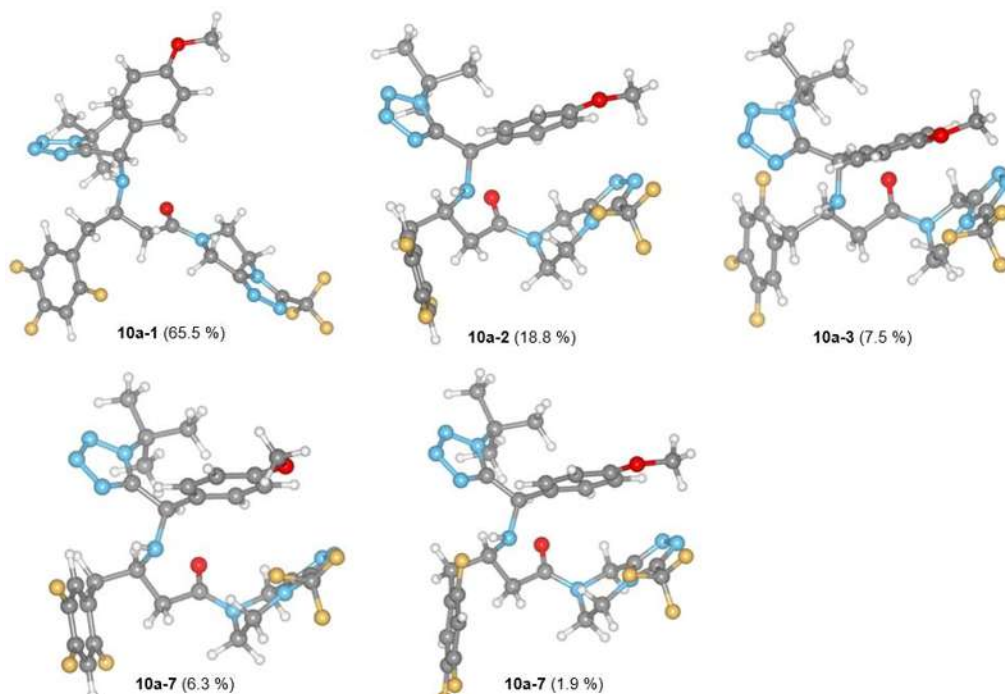


Figura 69. Conformeros de equilibrio del diastereoisómero **10a** (*RR-10*) según el valor de energía libre.

Las fracciones molares para los conformeros del diastereoisómero **10b** de la tabla 13 sugieren dos conformeros mayoritarios, uno de ellos como el principal al presentar una contribución poblacional del 55.2% y un segundo con 39.4%. Los modelos moleculares de los conformeros de equilibrio se visualizan en la figura 70.

Tabla 13. Conformeros del derivado <b>10b</b> .								
Confórmero	$\Delta E_{MMFF}$	% <sub>MMFF</sub>	$\Delta E_{RHF}$	% <sub>RHF</sub>	$\Delta E_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>	$\Delta G_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>
<b>10b-1</b>	2.48	1.5	1.27	13.7	0.00	91.5	0.00	55.2
<b>10b-2</b>	3.86	0.1	0.19	84.6	1.48	7.5	0.20	39.4
<b>10b-3</b>	2.45	1.5	2.61	1.4	2.93	0.6	1.38	5.4
<b>10b-4</b>	0.00	96.8	3.45	0.3	3.30	0.3	5.22	0.0

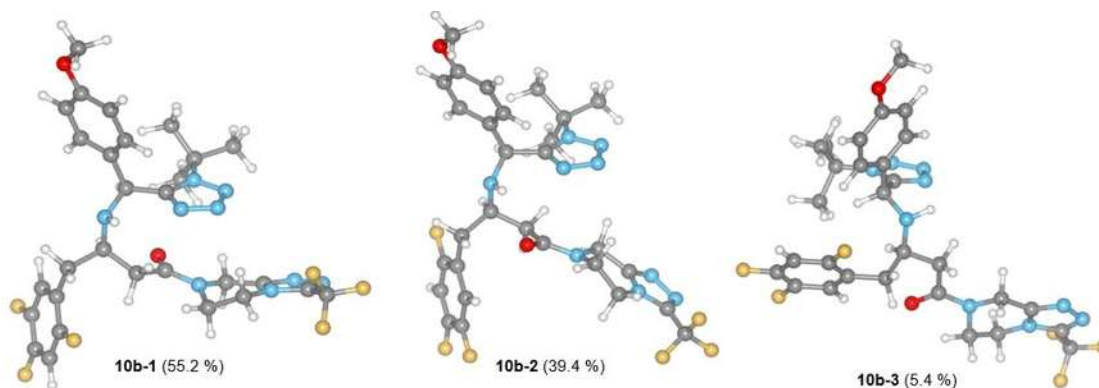
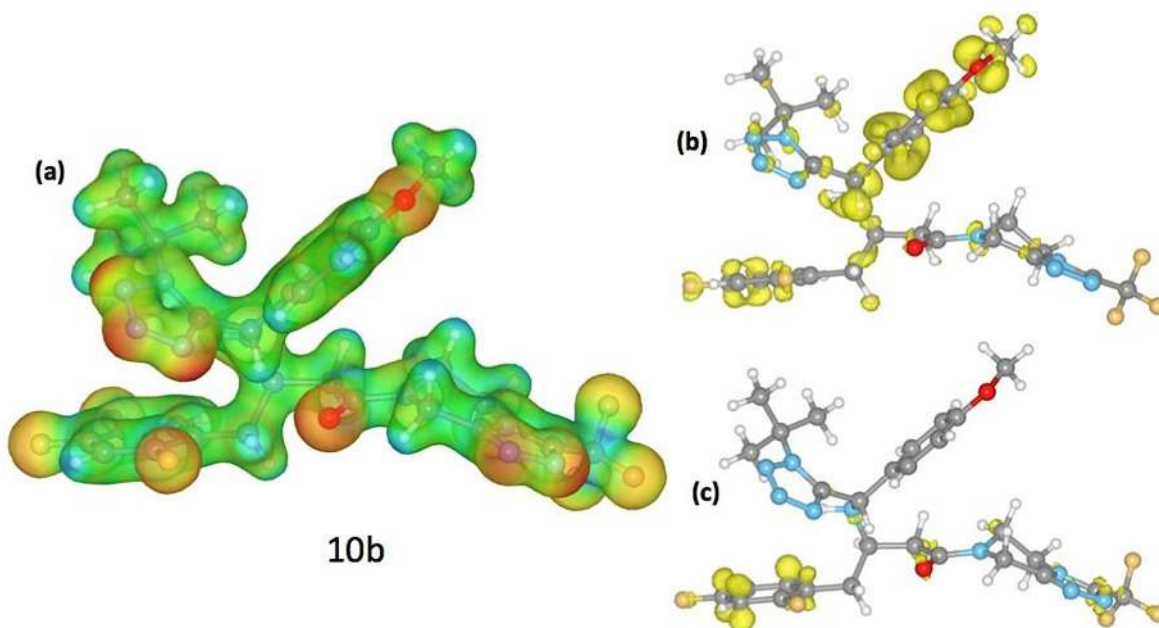


Figura 70. Conformeros de equilibrio del diastereoisómero **10b** (*RS-10*) según el valor de energía libre.

Los dos conformeros principales de cada diastereoisómero de **10** fueron considerados en un solo cálculo de fracción molar (tabla 14) donde se obtuvo que el diastereoisómero **10a** es el diastereoisómero más abundante en esta mezcla, al ser energéticamente más estable que el diastereoisómero de menor energía de **10b** en términos de su energía libre (0.50 kcal/mol).

Tabla 14. Fracción molar conformeros en la mezcla diastereoisomérica de <b>10</b> .			
Diastereoisómero	Conformero	$\Delta G_{\text{DFT}}$	% <sub>DFT</sub>
<b>10a</b>	<b>10a-1</b>	0.00	49.4
<b>10b</b>	<b>10b-1</b>	0.50	21.2
<b>10a</b>	<b>10b-2</b>	0.70	15.2
<b>10b</b>	<b>10a-2</b>	0.74	14.2

En la figura 71(a) se representa el potencial electrostático molecular del derivado tetrazólico **10b**, en donde podemos observar al grupo amino secundario, los átomos de flúor y oxígeno así como el anillo de tetrazol como sitios de interacción. La función de Fukui para un ataque electrofílico  $f^-$  de **10b** [figura 71(b)] muestra que los principales sitios de reacción con electrófilos son el grupo amino secundario y el anillo de metoxifenilo, considerando el efecto activador por parte del grupo metoxilo al anillo aromático. La función de Fukui para un ataque nucleofílico  $f^+$  [figura 71(c)] indicó que este tipo de reacciones solo podrían llevarse a cabo en el anillo de trifluorofenilo como se ha visto en los demás derivados.



**Figura 71.** (a) Mapa de potencial electrostático, (b) Función de Fukui para un ataque electrofílico, (c) Función de Fukui para un ataque nucleofílico.

El análisis conformacional para los diastereoisómeros del derivado **12** dio como resultado siete conformeros de equilibrio para **12a** y 9 conformeros de equilibrio para **12b**. Se calcularon las fracciones molares de los siete conformeros de equilibrio del diastereoisómero **12a** (tabla 15), cuyos resultados sugirieron la presencia de un conformero principal, el cual presentó un valor de contribución poblacional de 89.5%. Los modelos moleculares de los conformeros se visualizan en la figura 72.

Tabla 15. Conformeros del derivado <b>12a</b> .								
Conformero	$\Delta E_{MMFF}$	%MMFF	$\Delta E_{RHF}$	%RHF	$\Delta E_{DFT}$	%DFT	$\Delta G_{DFT}$	%DFT
<b>12a-1</b>	1.44	5.5	0.00	87.3	0.00	58.2	0.00	89.5
<b>12a-2</b>	3.31	0.2	1.43	7.8	1.38	5.7	1.74	4.7
<b>12a-3</b>	1.34	6.5	2.79	0.8	0.78	15.6	2.10	2.6
<b>12a-4</b>	0.00	62.2	2.24	2.0	1.34	6.1	2.24	2.0
<b>12a-5</b>	2.37	1.1	3.00	0.5	1.5	4.6	2.94	0.6
<b>12a-6</b>	0.62	21.8	2.60	1.1	1.09	9.2	3.16	0.4
<b>12a-7</b>	1.88	2.3	3.19	0.4	2.72	5.9	4.49	0.1

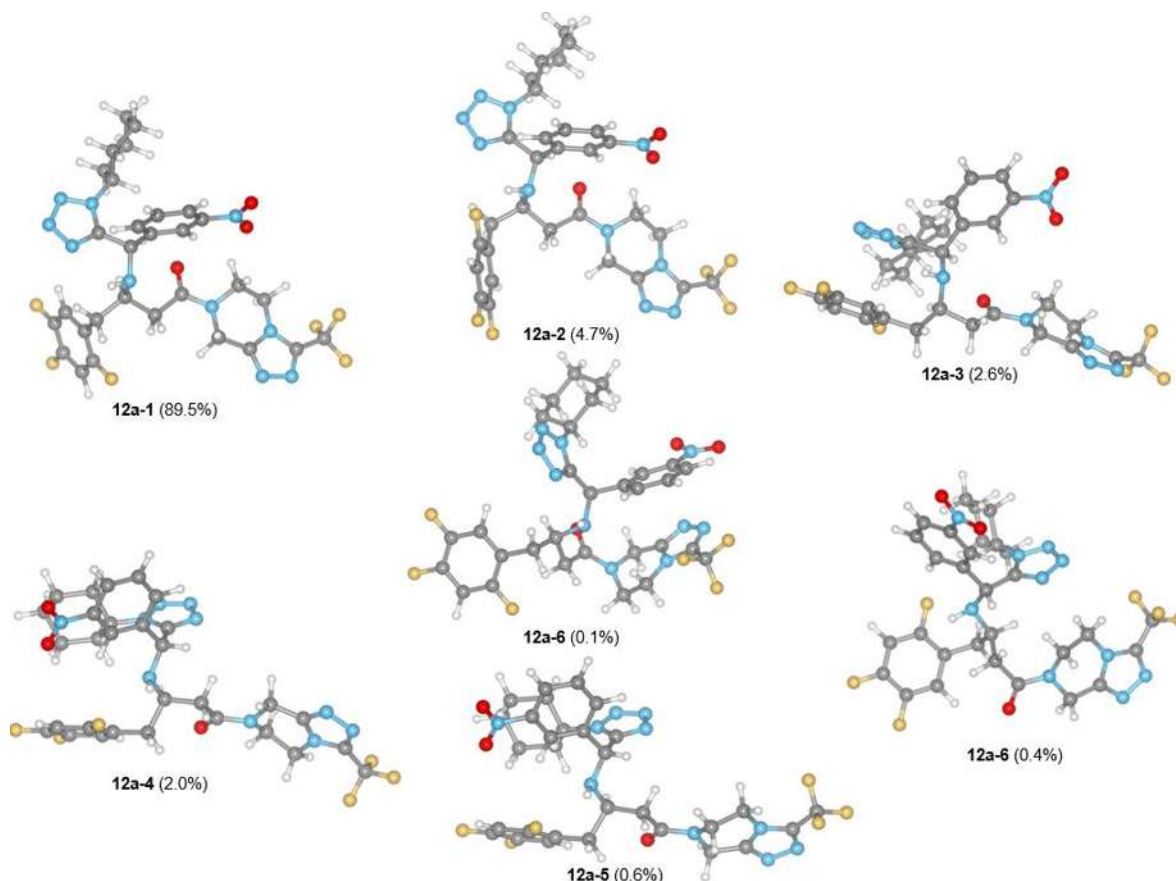


Figura 72. Conformeros de equilibrio del diastereoisómero **12a** (*RR*-**12**) según el valor de energía libre.

Los valores de fracción molar e los 9 conformeros de equilibrio de **12b** dieron como resultado dos conformeros mayoritarios con 54.4% y 16.7% de contribución

poblacional (tabla 16). Los modelos moleculares de los conformémeros de **12b** se incluyen en la figura 73.

Tabla 16. Conformémeros del derivado <b>12b</b> .								
Confórmero	$\Delta E_{MMFF}$	% <sub>MMFF</sub>	$\Delta E_{RHF}$	% <sub>RHF</sub>	$\Delta E_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>	$\Delta G_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>
<b>12b-1</b>	3.90	0.1	0.00	99.5	0.00	81.7	0.00	54.4
<b>12b-2</b>	2.52	1.0	4.20	0.1	1.75	4.3	0.70	16.7
<b>12b-3</b>	1.30	8.1	4.29	0.1	2.45	1.3	1.25	6.6
<b>12b-4</b>	3.29	0.3	4.84	0.0	1.35	8.4	1.35	5.6
<b>12b-5</b>	1.25	8.8	3.91	0.1	2.36	1.5	1.82	2.5
<b>12b-6</b>	1.60	4.9	4.93	0.0	2.67	0.9	1.84	2.43
<b>12b-7</b>	3.07	0.4	4.39	0.1	3.31	0.3	1.92	2.1
<b>12b-8</b>	1.76	3.7	4.27	0.1	2.56	1.1	2.19	1.3
<b>12b-9</b>	0.00	72.7	6.21	0.0	2.96	0.5	1.12	8.2

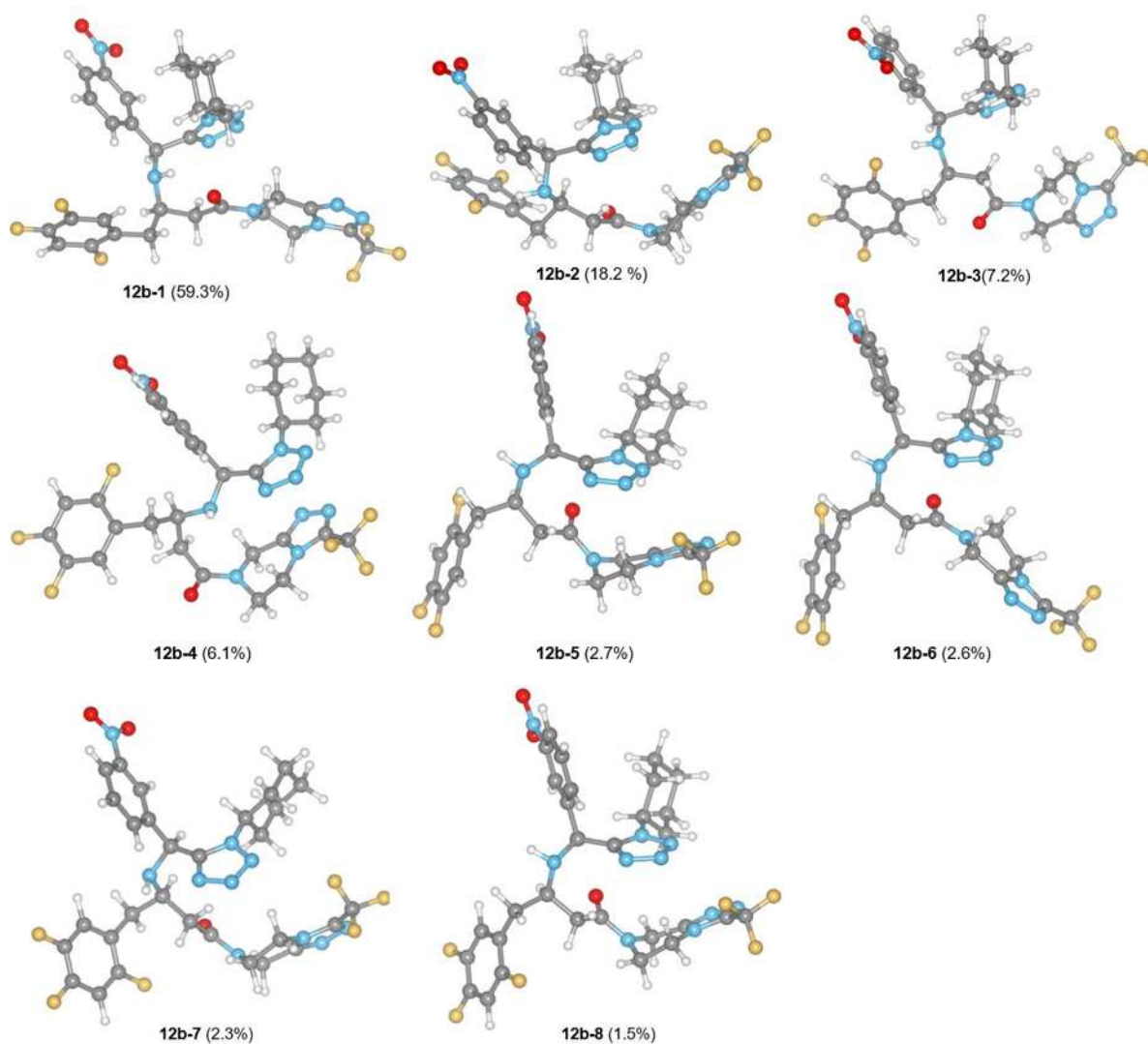


Figura 73. Conformémeros de equilibrio del diastereoisómero **12b** (RS-12) según el valor de energía libre.



Diastereoisómero	Confórmero	$\Delta G_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>
<b>12a</b>	<b>12a-1</b>	0.00	95.2
<b>12b</b>	<b>12b-1</b>	1.92	3.72
<b>12b</b>	<b>12b-2</b>	2.63	1.1

Se calculó el potencial electrostático molecular el cual se muestra en la figura 74(a), en donde podemos ver el grupo amino secundario, el anillo de tetrazol y los átomos de flúor como sitios de interacción. La función de Fukui para un ataque electrofílico  $f^-$  mostrada en la figura 74(b), muestra una clara desactivación del anillo de nitrofenilo por parte del grupo nitro al tener un anillo aromático más deficiente en electrones, aunque se puede apreciar además del grupo amino secundario y el anillo de trifluorofenilo que el anillo de triazol presenta ahora cierta reactividad hacia electrófilos.

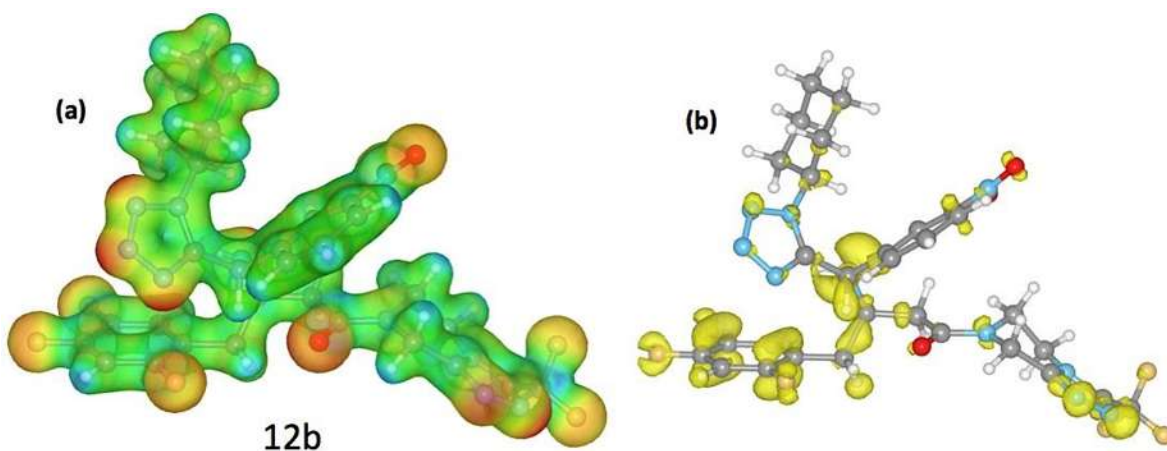


Figura 74. (a) Mapa de potencial electrostático, (b) Función de Fukui para un ataque electrofílico.

EL análisis conformacional del diastereoisómero **13a** dio como resultado seis conforméromos de equilibrio a los cuales posteriormente se calculó su valor de fracción molar. Se encontró dos conforméromos principales con 62% y 33.2% de contribución poblacional. En la figura 75 se esquematizan los modelos moleculares de los conforméromos de **13a**.

Confórmero	$\Delta E_{MMFF}$	% <sub>MMFF</sub>	$\Delta E_{RHF}$	% <sub>RHF</sub>	$\Delta E_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>	$\Delta G_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>
<b>13a-1</b>	0.51	27.3	1.27	10.3	0.71	19.9	0.00	62.0
<b>13a-2</b>	1.35	6.6	0.00	87.6	0.00	66.1	0.37	33.2
<b>13a-3</b>	2.79	0.6	2.70	0.9	2.09	1.9	2.02	2.0
<b>13a-4</b>	4.14	0.1	3.12	0.4	1.72	3.6	2.04	2.0
<b>13a-5</b>	2.61	0.8	2.80	0.8	1.22	8.4	2.57	0.8
<b>13a-6</b>	0.00	64.6	7.41	0.0	6.82	0.0	5.60	0.0

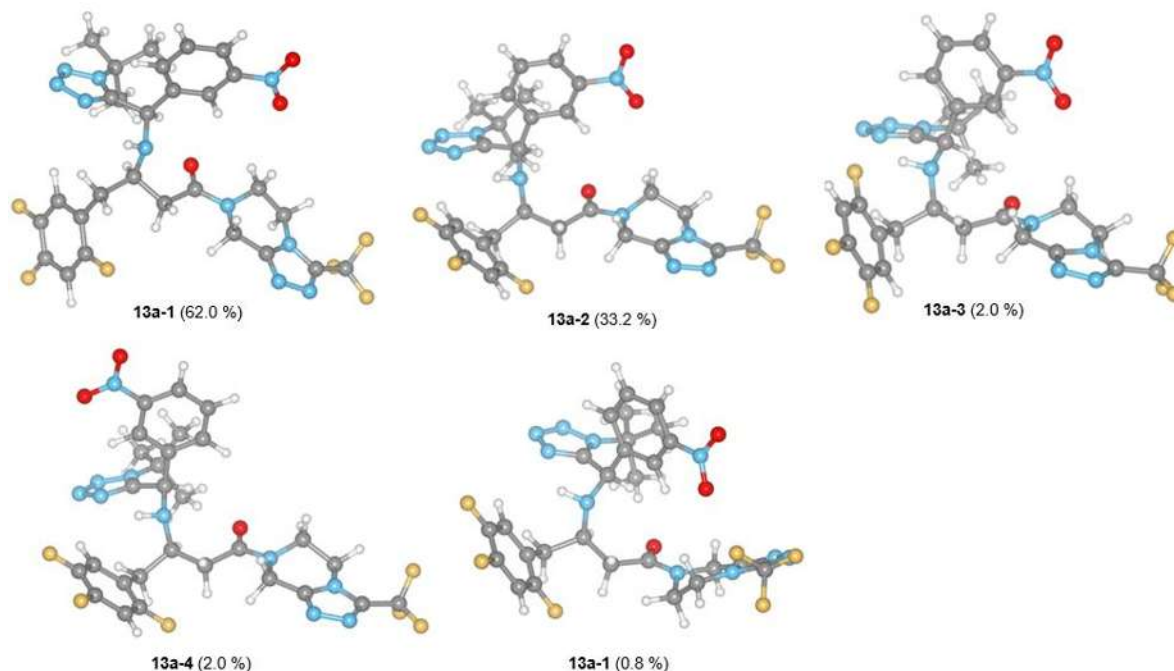


Figura 75. Estructuras optimizadas de los diastereoisómeros **13a** y **13b** del derivado **13**.

El mismo análisis conformacional para el diastereoisómero **13b** dio una población equilibrio de seis conformeros (tabla 14). Las fracciones molares para los conformeros del diastereoisómero **13b** de la tabla 19 sugieren dos conformeros mayoritarios, uno de ellos como el principal al presentar una contribución poblacional del 72.3% y un segundo con 25.5%. Los modelos moleculares de los conformeros de equilibrio de **13b** se visualizan en la figura 76.

Tabla 19. Conformeros del derivado <b>13b</b> .								
Confórmero	$\Delta E_{MMFF}$	% <sub>MMFF</sub>	$\Delta E_{RHF}$	% <sub>RHF</sub>	$\Delta E_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>	$\Delta G_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>
<b>13b-1</b>	4.16	0.1	0.76	17.2	0.00	41.4	0.00	72.3
<b>13b-2</b>	4.98	0.0	2.22	1.5	0.55	16.3	0.64	24.5
<b>13b-3</b>	4.63	0.0	3.41	0.2	0.93	8.6	2.50	1.1
<b>13b-4</b>	0.00	76.1	0.00	62.0	0.48	18.4	2.53	1.0
<b>13b-5</b>	4.46	0.0	4.15	0.1	1.52	3.2	2.59	0.9
<b>13b-6</b>	0.69	23.7	0.70	19.0	0.73	12.1	3.53	0.2

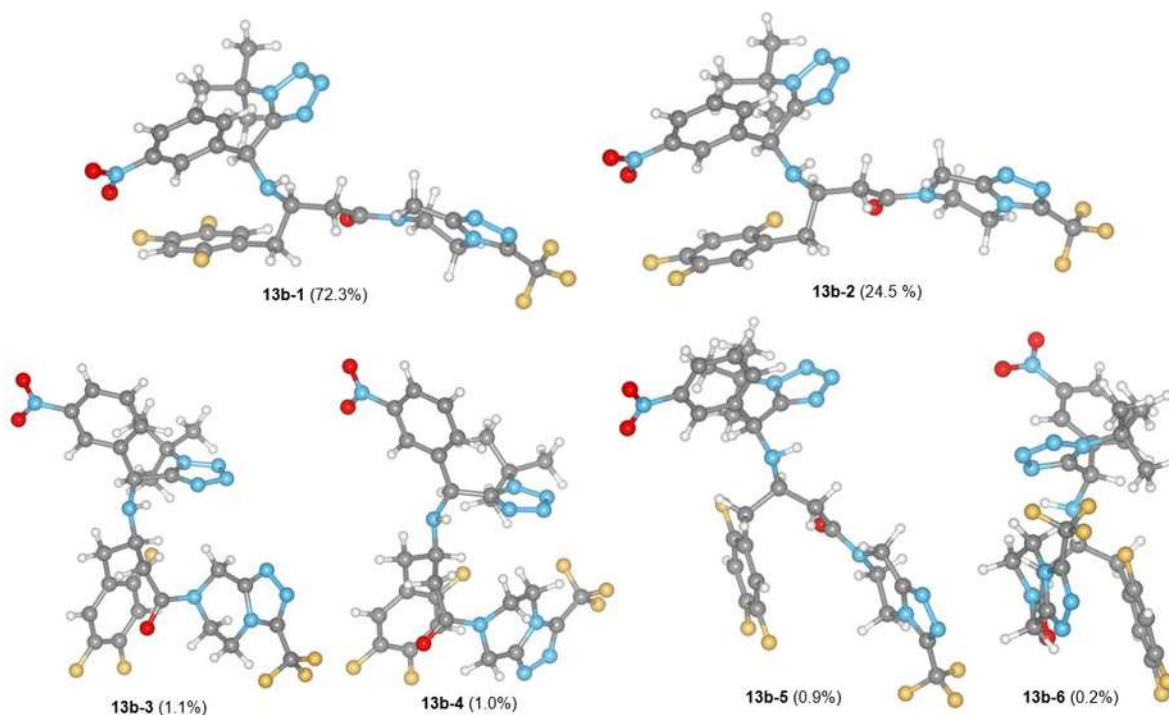


Figura 76. Conformeros de equilibrio del diastereoisómero **13b** (RS-13) según el valor de energía libre.

Tabla 20. Fracción molar confórmers en la mezcla diastereoisomérica de **13**.

Diastereoisómero	Confórmers	$\Delta G_{\text{DFT}}$	% <sub>DFT</sub>
<b>13b</b>	<b>13b-1</b>	0.00	64.4
<b>13b</b>	<b>13b-2</b>	0.37	34.5
<b>13a</b>	<b>13a-1</b>	2.60	0.8
<b>13a</b>	<b>13a-2</b>	3.25	0.3

En la figura 77(a) se representa el potencial electrostático molecular del derivado tetrazólico **13a**, el cual nos muestra que los sitios de interacción son el grupo amino secundario, los átomos de flúor presentes en la molécula y el anillo de tetrazol. La función de Fukui para un ataque electrofílico  $f^-$  para el derivado **13a** [figura 77(b)] muestra claramente el efecto desactivador por parte del grupo nitro al anillo de nitrofenilo y un importante carácter nucleofílico del grupo amino secundario. La función de Fukui para un ataque nucleofílico  $f^+$  [(figura 77c)] resalta el anillo de nitrofenilo como un sitio muy propenso a reaccionar con nucleófilos, al dejar deficiente en electrones este anillo aromático por parte del grupo desactivador nitro.

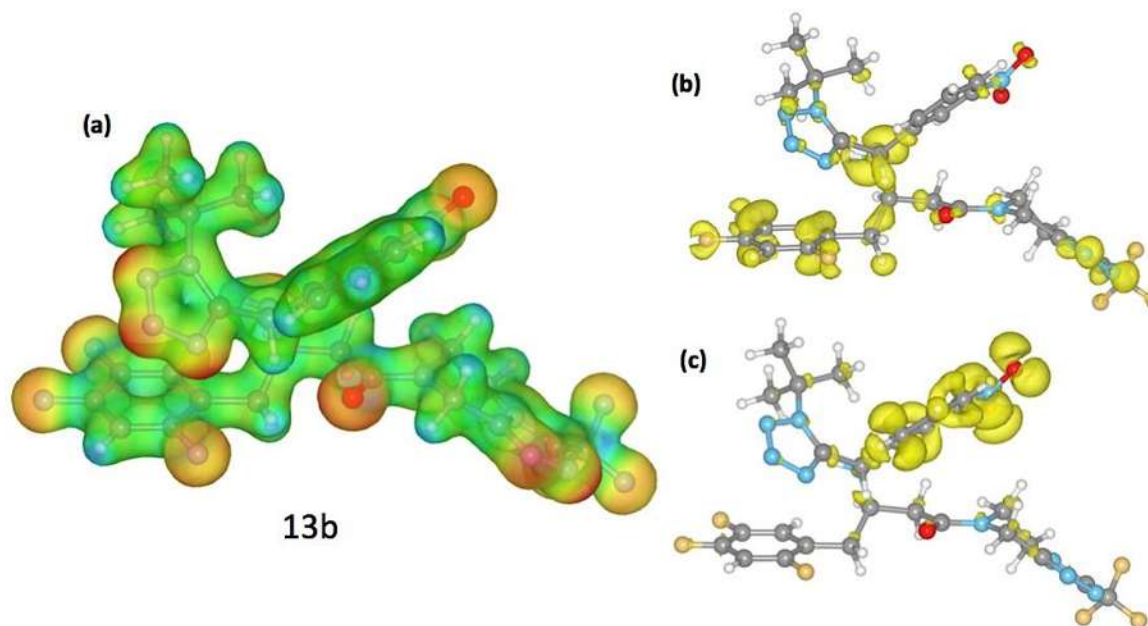


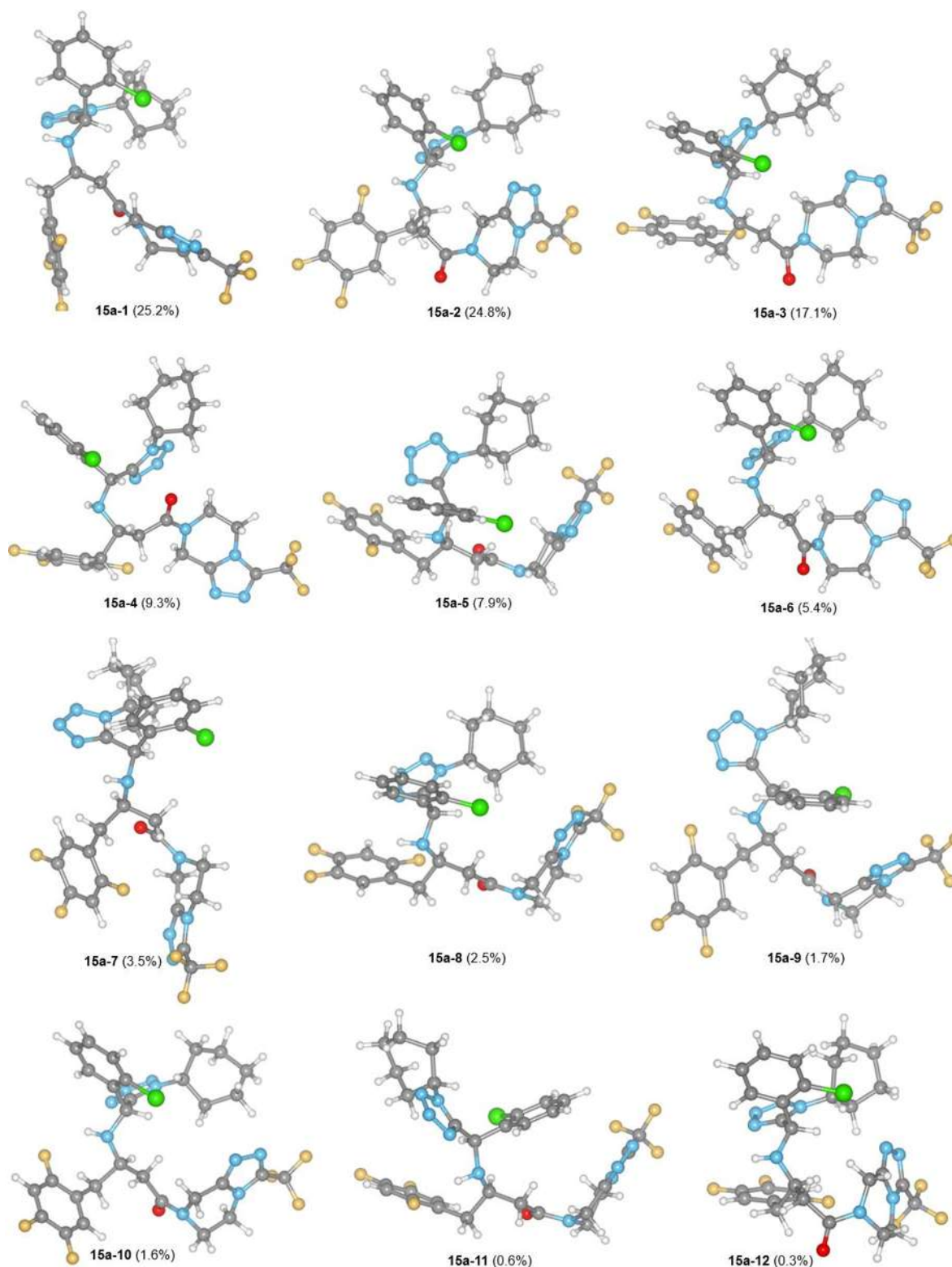
Figura 77. (a) Potencial electrostático, (b) Función de Fukui para un ataque electrofílico, (c) Función de Fukui para un ataque nucleofílico

Se llevó a cabo el análisis conformacional para cada uno de los diastereoisómeros del derivado **15**, obteniéndose doce conforméromos de equilibrio para **15a** (tabla 21) y cuatro conforméromos de equilibrio para **15b** (tabla 22). Una vez obtenidos los conforméromos de cada diastereoisómero se realizó el cálculo de las fracciones molares para los con conforméromos de **15a**, cuyos valores señalaron una mayor proporción de tres conforméromos sobre el resto, teniendo tres conforméromos principales.

Tabla 21. Conforméromos del derivado **15a**.

Confórmero	$\Delta E_{MMFF}$	% $_{MMFF}$	$\Delta E_{RHF}$	% $_{RHF}$	$\Delta E_{DFT}$	% $_{DFT}$	$\Delta G_{DFT}$	% $_{DFT}$
<b>15a-1</b>	1.92	3.4	4.45	0.1	1.30	4.9	0.00	25.2
<b>15a-2</b>	2.74	0.9	0.80	15.8	0.00	44.1	0.01	24.8
<b>15a-3</b>	2.16	2.3	2.20	1.5	1.49	3.6	0.23	17.1
<b>15a-4</b>	4.11	0.1	1.34	6.3	1.21	5.7	0.59	9.3
<b>15a-5</b>	1.89	3.6	0.00	60.9	1.14	6.4	0.69	7.9
<b>15a-6</b>	3.89	0.1	2.98	0.4	1.67	2.6	0.91	5.4
<b>15a-7</b>	2.88	0.7	3.30	0.2	0.79	11.6	1.17	3.5
<b>15a-8</b>	2.85	0.7	2.42	1.0	2.15	1.2	1.37	2.5
<b>15a-9</b>	4.09	0.1	2.47	0.9	3.02	0.3	1.60	1.7
<b>15a-10</b>	3.30	0.3	1.39	5.8	1.30	4.9	1.64	1.6
<b>15a-11</b>	3.08	0.5	1.35	6.2	2.22	1.0	2.17	0.6
<b>15a-12</b>	0.00	87.3	2.57	0.8	0.70	13.5	2.72	0.3

En la figura 78 se incluye los modelos moleculares de los conforméromos de equilibrio del diastereoisómero **15a**.



**Figura 78.** Conformeros de equilibrio del diastereoisómero **7b** (RS-7) según el valor de energía libre.

De la misma manera que **15a** se calcularon las fracciones molares para los 4 conformeros de equilibrio del diastereoisómero **15b** como se muestra en la tabla 22. El análisis de estos resultados deja de manifiesto la presencia de un único conformero mayoritario con un valor de 97.1% de contribución poblacional.

Confórmero	$\Delta E_{MMFF}$	% <sub>MMFF</sub>	$\Delta E_{RHF}$	% <sub>RHF</sub>	$\Delta E_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>	$\Delta G_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>
<b>15b-1</b>	4.90	0.0	0.00	94.2	0.00	82.6	0.00	97.1
<b>15b-2</b>	0.00	93.4	1.83	4.3	1.03	14.5	2.43	1.6
<b>15b-3</b>	3.88	0.1	2.56	1.2	2.80	0.7	2.67	1.0
<b>15b-4</b>	1.59	6.4	3.43	0.3	2.17	2.1	3.71	0.1

En la figura 79 se incluye los modelos moleculares de los conformeros de equilibrio del diastereoisómero **15b**.

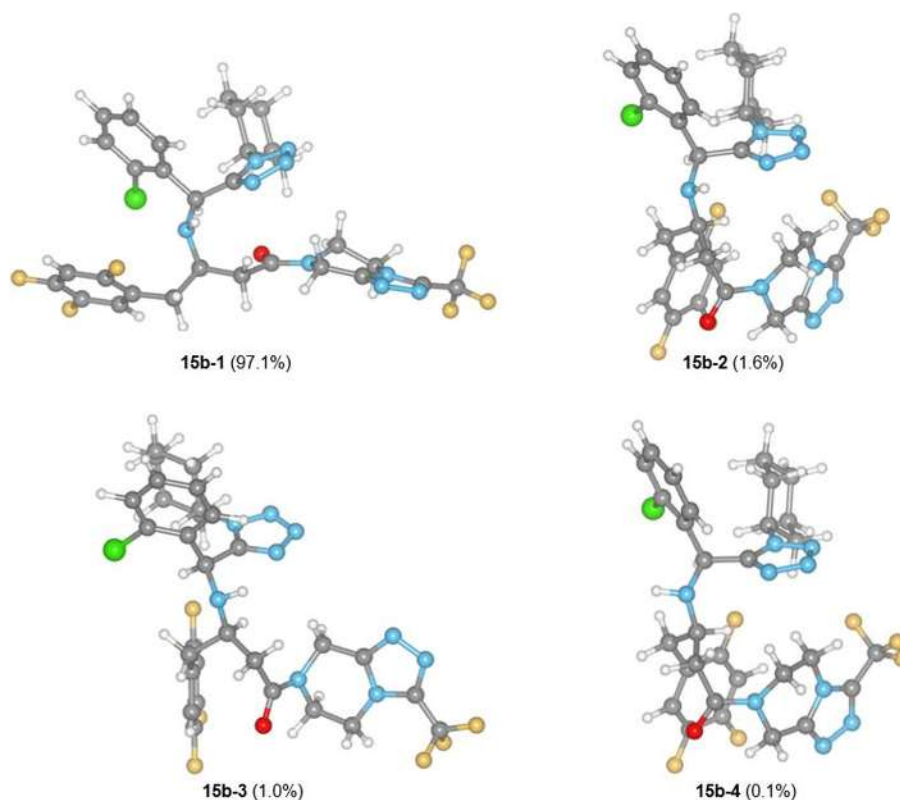
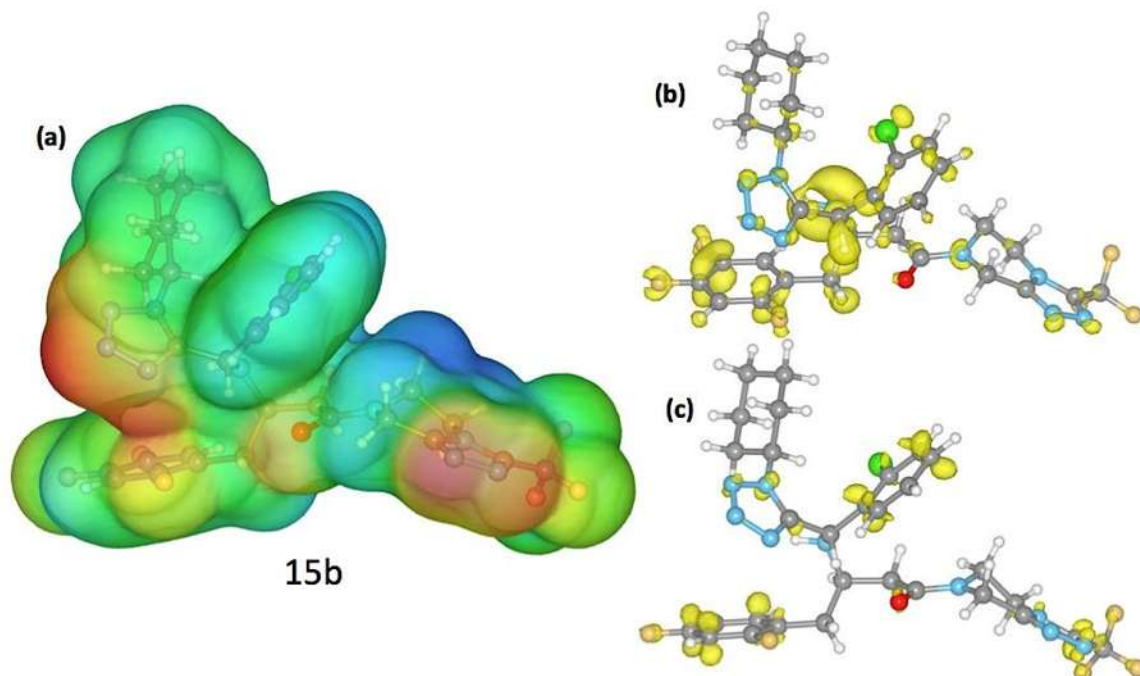


Figura 79. Conformeros de equilibrio del diastereoisómero **15b** (RS-15) según el valor de energía libre.

Diastereoisómero	Confórmero	$\Delta G_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>
<b>15b</b>	<b>15b-1</b>	0.00	99.9
<b>15a</b>	<b>15a-1</b>	7.88	0.0
<b>15a</b>	<b>15a-2</b>	7.88	0.0
<b>15a</b>	<b>15a-3</b>	8.11	0.0

A continuación en la figura 80(a) se representa el potencial electrostático molecular del derivado tetrazólico **15a**, en donde el grupo amino secundario es un posible sitio de interacción, de la misma manera los grupos electronegativos como son todos los átomos de flúor presentes en la molécula son sitios de interacción y

de igual forma el anillo de tetrazol. La función de Fukui para un ataque electrofílico  $f^-$  para el derivado 15a [figura 80(b)] muestra que el grupo amino secundario, el anillo de bromofenilo y en anillo trifluorofenilo son sitios susceptibles de reacción con electrófilos. La función de Fukui para un ataque nucleofílico  $f^+$  [figura 80(c)] mostró que la reactividad de este derivado tetrazólico frente agentes nucleofílicos se ve localizada sobre sus anillo aromáticos.



**Figura 80.** (a) Potencial electrostático molecular, (b) Función de Fukui para un ataque electrofílico, (c) Función de Fukui para un ataque nucleofílico

Las fracciones molares para diastereoisómero **a** del derivado **16** mostradas en la tabla 24 sugieren 11 conformeros dentro del equilibrio, cuyos resultados resaltan seis conformeros mayoritarios al presentar diferencias de energía libre menor a 1 kcal/mol.

Tabla 24. Conformeros del derivado <b>16a</b> .								
Confórmero	$\Delta E_{MMFF}$	% <sub>MMFF</sub>	$\Delta E_{RHF}$	% <sub>RHF</sub>	$\Delta E_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>	$\Delta G_{DFT}$	% <sub>DFT</sub>
<b>16a-1</b>	0.00	57.8	1.65	5.1	1.85	3.3	0.00	27.3
<b>16a-2</b>	1.51	4.5	3.38	0.3	0.00	75.2	0.28	17.0
<b>16a-3</b>	1.83	2.6	2.13	2.3	2.56	1.0	0.38	14.4
<b>16a-4</b>	2.52	0.8	3.24	0.3	1.85	3.3	0.48	12.2
<b>16a-5</b>	2.78	0.5	2.11	2.3	2.97	0.5	0.56	10.6
<b>16a-6</b>	1.04	10.0	1.78	4.1	2.46	1.2	0.57	10.4
<b>16a-7</b>	2.66	0.6	3.00	0.5	3.06	0.4	1.33	2.9
<b>16a-8</b>	3.55	0.1	0.00	82.6	1.05	12.8	1.42	2.5
<b>16a-9</b>	1.64	3.6	2.44	1.3	2.72	0.8	1.71	1.5
<b>16a-10</b>	0.65	19.3	3.16	0.4	2.76	0.7	2.26	0.6
<b>16a-11</b>	3.59	0.1	2.81	0.7	2.70	0.8	2.42	0.5

En la figura 81 se incluye los modelos moleculares de los 11 conforméromes del diastereoisómero **16a**. Dentro de los seis conforméromes mayoritarios se tiene uno principal con una contribución poblacional del 27.3%.

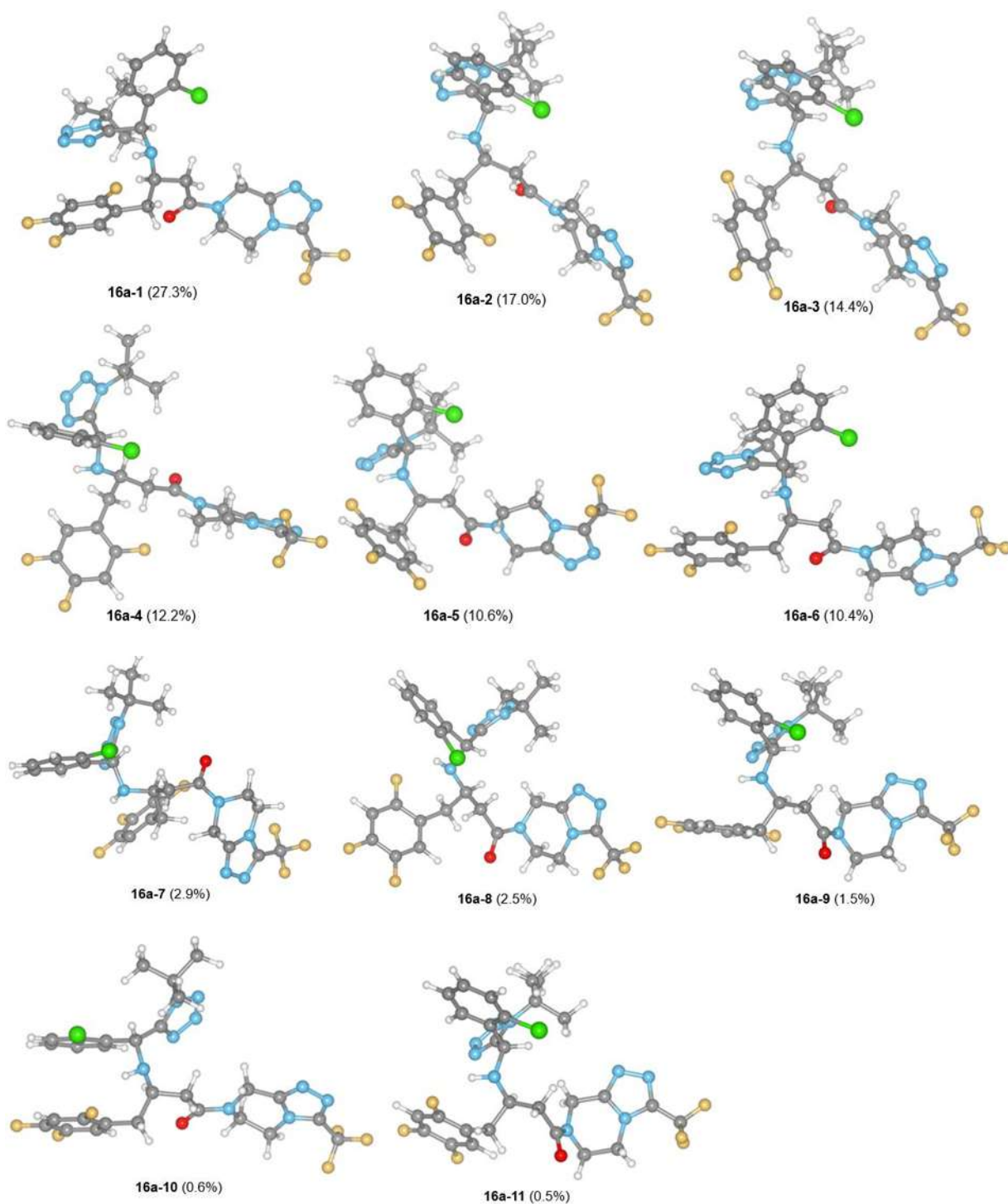
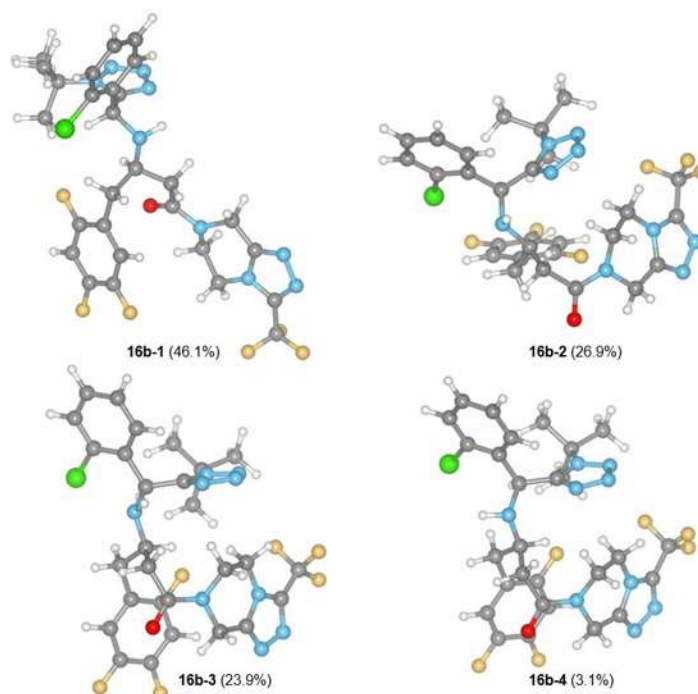


Figura 81. Conformeromeros de equilibrio del diastereoisómero **16a** (*RR*-16) según el valor de energía libre.



Confórmero	$\Delta E_{MMFF}$	%MMFF	$\Delta E_{RHF}$	%RHF	$\Delta E_{DFT}$	%DFT	$\Delta G_{DFT}$	%DFT
<b>16b-1</b>	5.03	0.0	4.86	0.0	1.68	4.7	0.00	46.1
<b>16b-2</b>	4.27	0.1	2.36	1.8	1.14	11.7	0.32	26.9
<b>16b-3</b>	0.00	96.9	0.00	97.2	0.00	80.3	0.39	23.9
<b>16b-4</b>	2.05	3.0	2.73	1.0	1.9	3.2	1.60	3.1

Figura 82. Estructuras optimizadas de los diastereoisómeros **16a** y **16b** del derivado **16**.

Diastereoisómero	Confórmero	$\Delta G_{DFT}$	%DFT
<b>16a</b>	<b>16a-1</b>	0.00	58.9
<b>16a</b>	<b>16a-2</b>	0.28	36.7
<b>16b</b>	<b>16b-1</b>	1.89	2.4
<b>16b</b>	<b>16b-2</b>	2.21	1.41
<b>16b</b>	<b>16b-3</b>	2.28	0.5

En la figura 83(a) se muestra el potencial electrostático molecular del derivado tetrazólico **16b**, el cual nos muestra que el grupo amino secundario, el anillo de tetrazol y los átomos de flúor son sitios posibles de interacción de la molécula. La función de Fukui para un ataque electrofílico  $f^-$  para el derivado **16b** [figura 83(b)] nos muestra que el grupo amino secundario, el anillo de bromofenilo y en anillo trifluorofenilo son sitios de reacción con electrófilos.

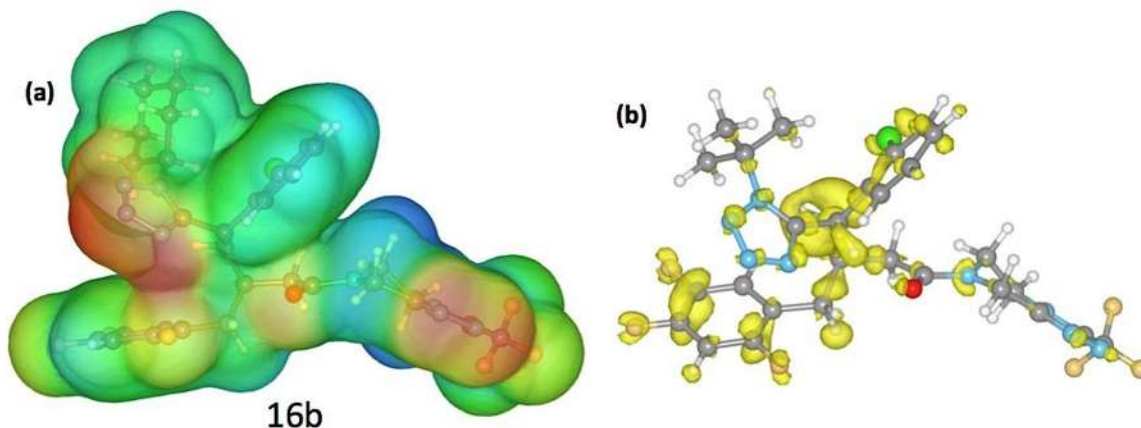
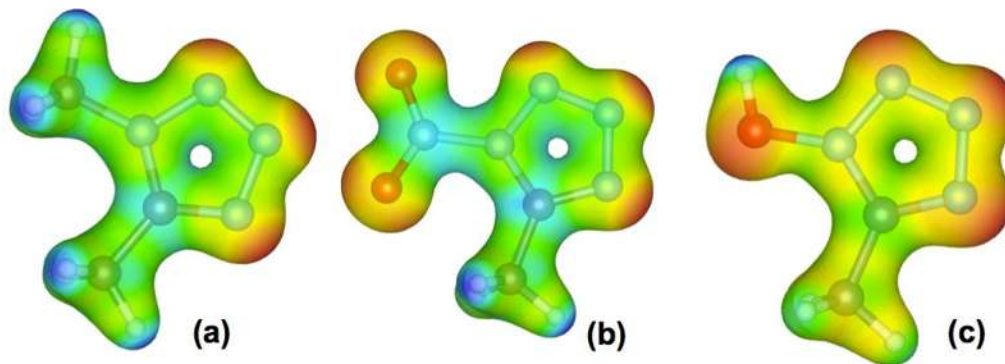


Figura 83. (a) Potencial electrostático molecular, (b) Función de Fukui para un ataque electrofílico.

### 5.2.3. Estudio de anclaje molecular entre la DPP-IV y los derivados tetrazólicos

Se realizaron los estudios de acoplamiento molecular con la enzima dipeptidil peptidasa IV con la finalidad de entender la orientación y la interacción (forma de unión) de los derivados tetrazólicos 1,5-DS de la sitagliptina en el sitio activo de la enzima, en donde podemos encontrar la agrupación de tres aminoácidos serina 630, aspartato 708 e histidina 740 a los cuales se les atribuye la actividad catalítica desactivadora de las hormonas incretinas [figura 3(b)].

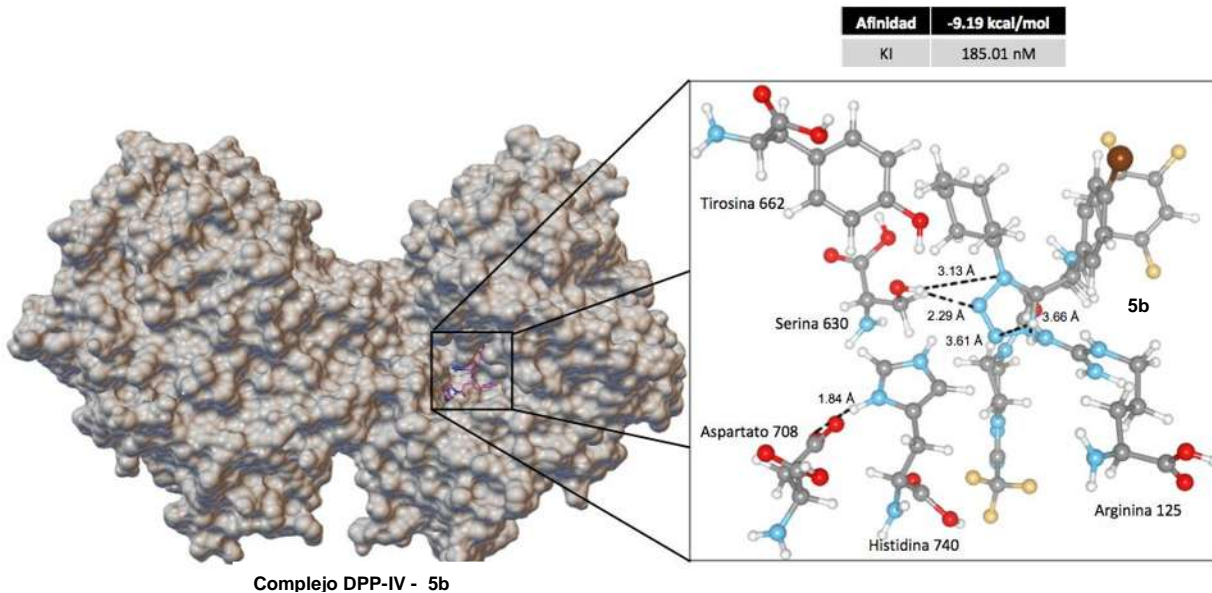
Estos fármacos como se mencionó a inicios de este trabajo se agrupan en dos categorías: aquellos que presentan un grupo químico susceptible de reaccionar con la serina 630 para formar un enlace covalente y la categoría de los que no forman un enlace covalente pero se unen mediante interacciones intermoleculares como son los puentes de hidrógeno. Teniendo en cuenta que la serina 630 es el aminoácido que lleva a cabo la actividad catalítica, se debe bloquear específicamente éste aminoácido. La forma de unión de la sitagliptina ya ha sido estudiada, la cual es mediante puentes de hidrógeno con otros aminoácidos en el sitio activo.<sup>6</sup> La serina presenta un grupo hidroxilo, un grupo químico muy polar caracterizado por ser un donador de puentes de hidrógeno, tomando en cuenta que un anillo de tetrazol 1,5-disustituido es un aceptor fuerte de puentes de hidrógeno por la gran densidad electrónica sobre este anillo, resulta lógico incorporar este grupo en la estructura de un nuevo I-DPP-IV.



**Figura 84.** (a) MEP del tetrazol 1,5 disustituido con grupos de efecto electrónico nulo, (b) MEP del tetrazol 1,5 disustituido con un grupo electroatractor, (c) MEP del tetrazol 1,5 disustituido con un grupo electrodonador.

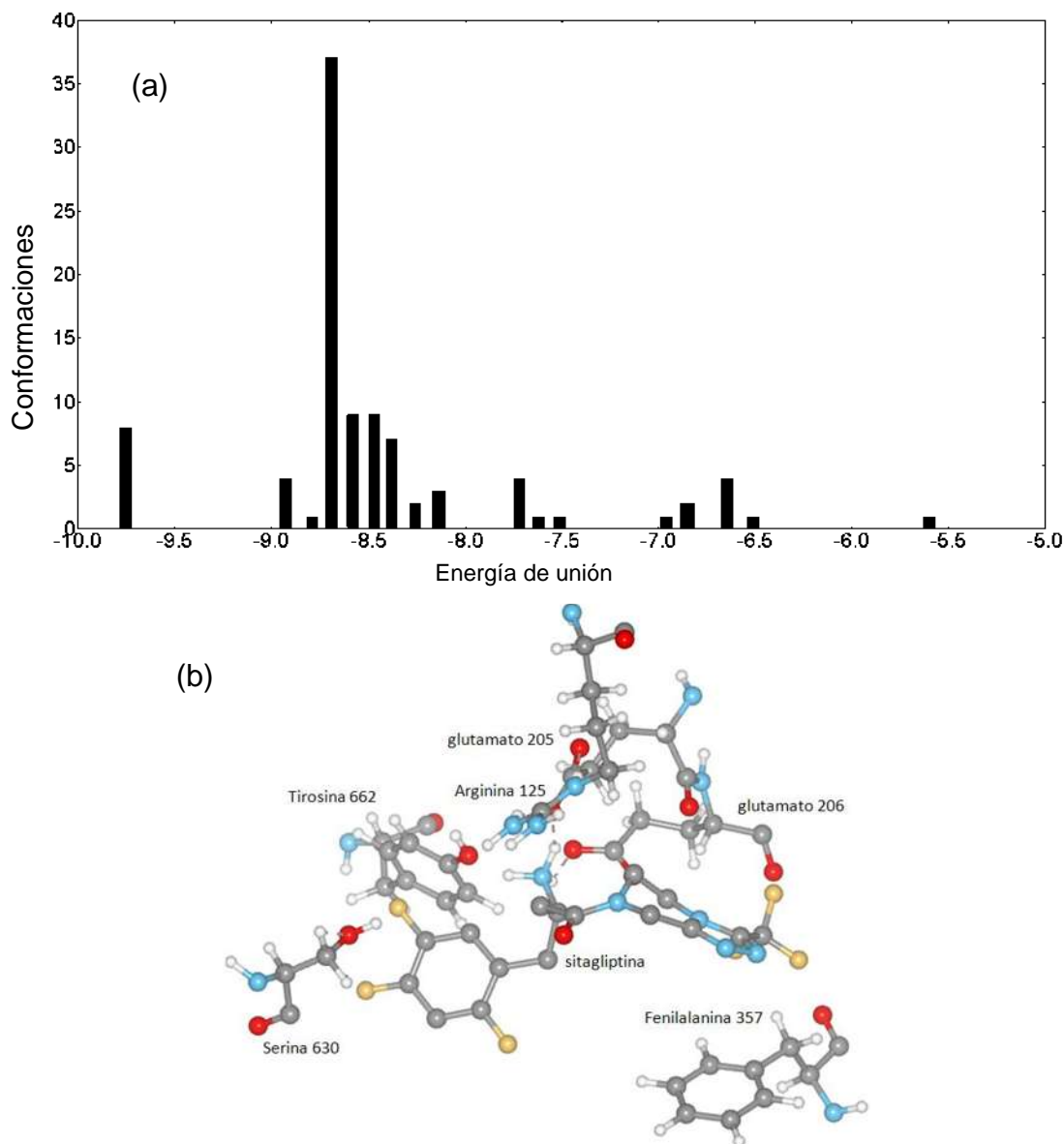
Los sustituyentes en el anillo de tetrazol son importantes ya que según el carácter electrodonador o electroatractor de estos grupos sustituyentes se tendrán anillos de tetrazol más o menos activados lo cual se puede visualizar mediante el cálculo del potencial electrostático molecular de un anillo de tetrazol 1,5 disustituido, con diferentes grupos electroattractores o electrodonadores en la posición N1, como son los grupos nitro y hidroxilo respectivamente (figura 84), se debe tomar en cuenta que en los tetrazoles 1,5-disustituidos el efecto electrónico de los sustituyentes en las posiciones 1 y 5 es diferente, ésto por la posición en el C5 del anillo la cual no se encuentra unida directamente al grupo sustituyente al presentar un metileno que une a estos, ésta disposición estructural minoriza el efecto del sustituyente en esta posición no teniendo una influencia considerable sobre la fuerza de interacción del anillo de tetrazol. Sin embargo la posición N1 del anillo de tetrazol es una posición donde el efecto de los sustituyentes es más importante y llega a dar cambios significativos en cuanto a la fuerza de interacción de este anillo.

El estudio de acoplamiento molecular del derivado **5b** con la enzima DPP-IV, dió como resultado 100 poses diferentes de interacción con el sitio catalítico de la enzima, de las cuales la pose con la menor energía de afinidad (más estable) fue aislada y se muestra en la figura 85.



**Figura 85.** Resultado del estudio de anclaje molecular entre la enzima DPP-IV y el derivado **5b** (mejor pose de unión).

Sorprendentemente para este derivado con la DPP-IV muestra cuatro interacciones con el anillo de tetrazol (figura 85), dos de éstas interacciones son con el aminoácido principal de la enzima, la serina 630 con la cual formó dos puentes de hidrógeno de 2.29 y 3.13 Å y dos puentes de hidrógeno de 3.61 y 3.66 Å con el residuo de arginina 125. Debido a que el anillo de tetrazol es un importante aceptor de puentes de hidrógeno, es de esperar que tuviera interacción con aquellos residuos con grupos donadores de puentes de hidrógeno. La serina presenta el grupo hidroxilo donador de puentes de hidrógeno y la arginina un grupo guanidino también capaz de formar puentes de hidrógeno. Para verificar nuestro estudio de acoplamiento se llevó a cabo el estudio de anclaje molecular con la amina sitagliptina en las mismas condiciones del docking del derivado **5b** con el objetivo de observar las mismas interacciones reportadas para ésta. El estudio de acoplamiento de la sitagliptina [figura 86(b)] mostró las mismas interacciones sorprendentemente con los mismos residuos con los que se reporta interacción en la literatura.

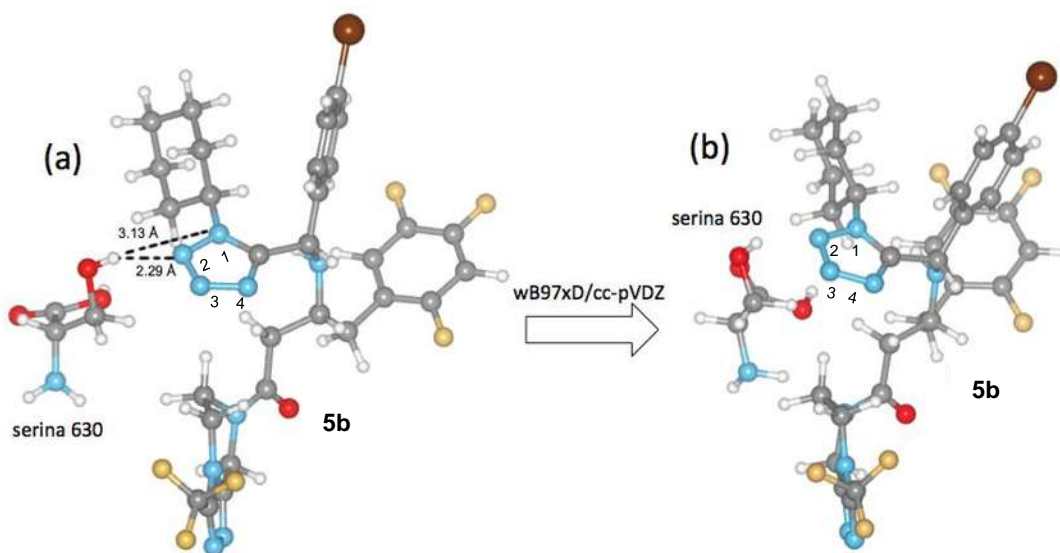


**Figura 86.** (a) Diagrama de agrupación conformacional del estudio de acoplamiento molecular de la sitagliptina con la DPP-IV (b) Pose de unión de la sitagliptina con la enzima DPP-IV resultante del acoplamiento molecular.

Una vez obtenida la pose de interacción del derivado tetrazólico **5b** con los residuos del sitio catalítico de la DPP-IV se tuvo una idea de la forma de unión que este tipo de derivados podría tener. Para mejorar este resultado y tener una mejor idea de la forma de unión de estos derivados, se tomó la nueva pose del ligando **5b** junto con los residuos con los que presentó interacción, para su posterior estudio empleando cálculos basados en la teoría de los funcionales de la densidad. El complejo de interacción aminoácidos - ligando **5b** quedó constituido por 6 moléculas que son la serina 630, tirosina 662, aspartato 708, histidina 740, arginina 125 y el derivado **5b**. Se eligió a la serina 630 y a la arginina 125 por las interacciones que tuvieron con **5b**, los residuos de aspartato 708 e histidina 740 se incluyeron por ser parte de la triada catalítica y por último la tirosina 662 fue incluida por presentar un grupo donador de puentes de hidrógeno y la gran cercanía que presentó a **5b** en la pose final de docking. Una vez seleccionados los

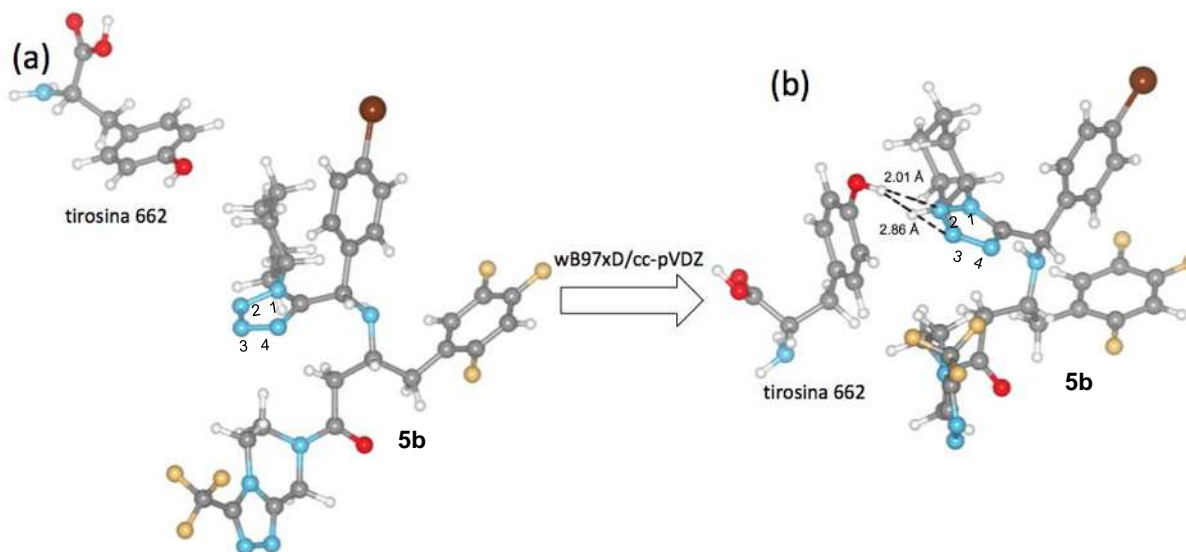
aminoácidos integrantes del complejo de interacción se evaluó la interacción del derivado **5b** individualmente con cada uno de estos aminoácidos mediante cálculos basados en la teoría de los funcionales de la densidad al nivel de teoría wB97xD/cc-pVDZ el cual considera interacciones de largo alcance.

El complejo entre el derivado **5b** y el residuo de serina 630 mostrado en la figura 87(a) fue optimizado obteniéndose la pose mostrada en la figura 87(b) en donde se observa que la distancia H–N entre el grupo –OH del residuo de serina y el nitrógeno 1 y 2 del anillo de tetrazol del derivado disminuye de 3.13 y 2.29 Å a 2.97 y 2.06 Å respectivamente, además de que la distancia N–H con el N3 de estar a 3.39 Å disminuyó a 2.87 Å pudiendo formar otra interacción.



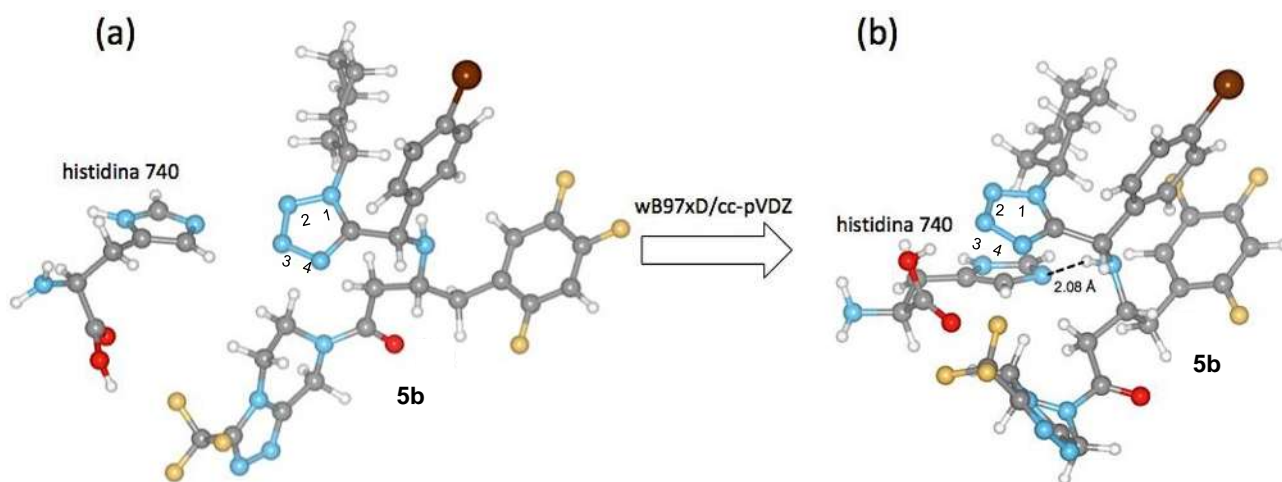
**Figura 87.** (a) Complejo entre la Serina 630 y la pose de unión del derivado **5b** resultado del estudio de acoplamiento molecular. (b) pose resultante de la optimización del complejo Serina 630-derivado **5b** (las líneas discontinuas indican una interacción, no se ponen líneas punteadas a menos que el software lo indicara).

Se evaluó el complejo entre la tirosina 662 y el derivado **5b** resultante del estudio docking [figura 88(a)], mediante un cálculo de optimización geométrica adquiriendo la disposición mostrada en la figura 88(b) en donde la distancia H–N entre el grupo hidroxilo de la tirosina y los nitrógenos 2 y 3 del anillo de tetrazol disminuye de 4.09 y 5.91 Å a 2.86 y 2.01 Å respectivamente formándose dos puentes de hidrógeno con éste residuo de tirosina.



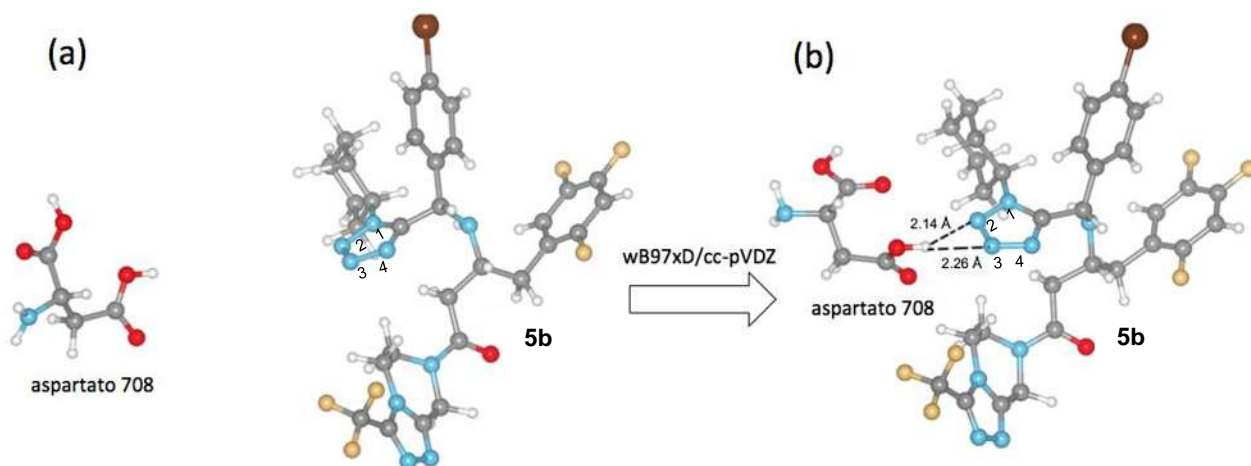
**Figura 88.** (a) Complejo entre la tirosina 662 y la pose de unión del derivado **5b** resultado del estudio de acoplamiento molecular. (b) pose resultante de la optimización del complejo tirosina 662 -derivado **5b**.

El complejo entre el residuo de histidina 740 y el derivado **5b** (figura 89(a)), después del cálculo de optimización geométrica adquirió la disposición mostrada en la figura 89(b) en donde la distancia entre el anillo de imidazol del aminoácido con respecto a el derivado **5b** disminuyó, incluso formando una nueva interacción por puente de hidrógeno de 2.08 Å con el grupo amino secundario del derivado **5b**.



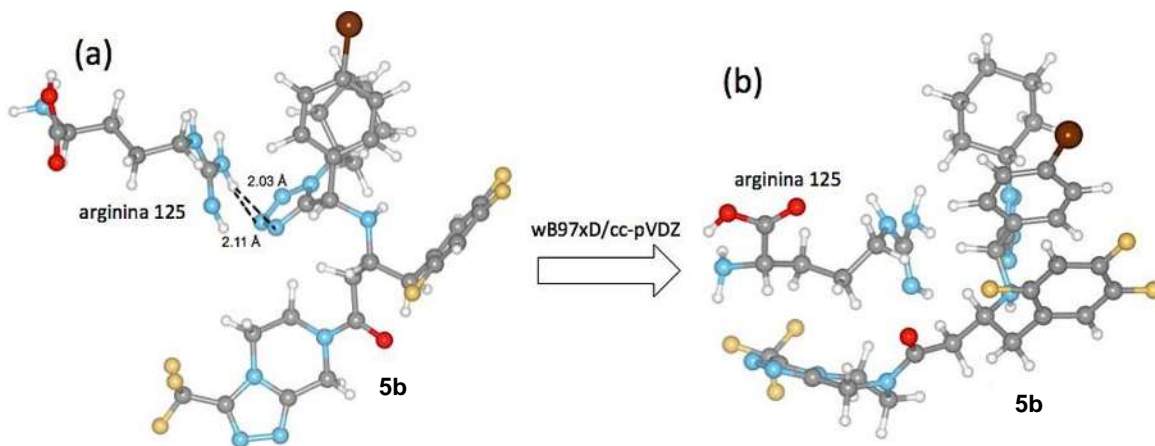
**Figura 89.** (a) Complejo entre la histidina 740 y la pose de unión del derivado **5b** resultado del estudio de acoplamiento molecular. (b) Optimización del complejo histidina 740-derivado **5b** mediante.

El complejo entre el residuo de aspartato 708 y el derivado **5b** [figura 90(a)], después del cálculo de optimización geométrica adquirió la disposición mostrada en la figura 90(b) formando dos nuevos puentes de hidrógeno de 2.26 y 2.14 Å entre el grupo carboxilo del aspartato y los nitrógenos 2 y 3 del anillo de tetrazol del derivado. Tomando en cuenta la disposición inicial en la que dichos grupos estaban alejados con 6.67 y 6.74 Å respecto a los nitrógenos 2 y 3 del anillo de tetrazol.



**Figura 90.** (a) Complejo entre la aspartato 708 y la pose de unión del derivado **5b** resultado del estudio de acoplamiento molecular. (b) Optimización del complejo aspartato 708-derivado **5b**.

El complejo entre el residuo de arginina 125 y el derivado **5b** [figura 91(a)], después del cálculo de optimización geométrica adquirió la disposición mostrada en la figura 91(b) en donde la distancia de los puentes de hidrogeno H–N entre el grupo guanidino de la arginina 125 y los nitrógenos 3 y 4 aumenta de 2.11 y 2.03 Å a 2.63 y 2.93 Å respectivamente.



**Figura 91.** (a) Complejo entre la arginina 125 y la pose de unión del derivado **5b** resultado del estudio de acoplamiento molecular. (b) Optimización del complejo arginina 125-derivado **5b**.

Se obtuvieron las energías de los complejos optimizados con las que se pudo calcular la energía de interacción máxima que podría presentar el derivado **5b** hacia cada uno de los aminoácidos es decir, realizando optimización de complejos formados individualmente entre cada un aminoácido y el derivado **5b**. Las interacciones fueron calculadas de la diferencia energética de los cálculos de optimización geométrica, esto es la diferencia de energía entre el complejo aminoácido-ligando y la sumatoria de las energías del aminoácido y ligando separados obteniéndose los valores de energía de interacción mostrados en la tabla 27.



Tabla 27. Energías de interacción	
Aminoácido	Energía de interacción (kcal/mol)
Serina 630	-18.92
Tirosina 662	-15.53
Histidina 740	-30.33
Aspartato 708	-14.69
Arginina 125	-36.21

Los valores de la tabla 14 indican una mayor energía de interacción por los residuos de histidina 740 y arginina 125 los cuales presentan un anillo de imidazol y un grupo guanidino respectivamente.

## 6. CONCLUSIONES

Se lograron sintetizar ocho derivados tetrazólicos de la sitagliptina haciendo uso de la reacción de multicomponentes de Ugi-azida, obteniendo estos en rendimientos moderados.

Los productos de la reacción de Ugi-azida se obtuvieron en mezclas diastereoisoméricas por la formación de un nuevo centro quiral, por lo que se obtuvieron solo dos diastereoisómeros en lugar de cuatro por partir de una materia prima enantioméricamente pura.

Se pudo separar los diastereoisómeros del derivado **5** y del derivado **7** para su posterior identificación por RMN, con lo que se pudo asignar las señales de RMN en las demás mezclas diastereoisoméricas de los derivados **9**, **10**, **12**, **13**, **15** y **16**.

Se calcularon los descriptores de reactividad de la sitagliptina, mediante los cuales se pudo constatar su carácter como nucleófilo, lo cual es importante para poder llevar a cabo el ataque nucleofílico hacia el grupo carbonilo del aldehído y formar la imina reactiva.

Los modelos moleculares de los diastereoisómeros *RR* y *RS* de los derivados tetrazólicos obtenidos mediante cálculos DFT lograron explicar el distinto patrón de señales de RMN para cada diastereoisómero, con lo que se logró identificar a cada diastereoisómero según los descriptores estereoquímicos *RR* y *RS* y sus sutiles diferencias energéticas podrían relacionarse con la dificultad para ser separados.

Se pudo determinar la forma de interacción de los nuevos derivados tetrazólicos de la sitagliptina a la enzima DPP-IV. La pose de unión presentó interacción entre el residuo de serina 630 y el anillo de tetrazol del derivado. El estudio DFT reveló que el derivado presenta mayor interacción con los residuos de arginina 125 y histidina 740 (residuos del sitio activo de la enzima).

En este trabajo queda de manifiesto la importancia y la estrecha relación entre la química computacional y experimental para el diseño de nuevos compuestos con posible acción biológica.

## 7. METODOLOGÍAS

### 7.1. Sección experimental

Las reacciones de multicomponentes consideradas en este proyecto se llevaron a cabo a temperatura ambiente. Los disolventes considerados fueron hexano, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, AcOEt anhidros y MeOH los cuales fueron provistos por Sigma Aldrich ®.

La purificación de crudos de reacción se llevó a cabo por cromatografía en columna utilizando como fase estacionaria gel de sílice (E. Merck 230–400 mesh) y como sistema eluyente el indicado para cada caso. La detección de los productos de reacción se realizó por medio de cromatografía en capa fina (Kieselgel 60F-254) utilizando para la detección radiación ultravioleta de 254 nm con vapores de yodo. El porcentaje de rendimiento en cada reacción se obtuvo después de purificar el crudo en cromatografía en columna.

#### 7.1.1. (*R*)-3-amino-1-(3-(trifluorometilo)-5,6-dihidro-[1, 2,4] triazolo [4,3-a] pirazin-7(8H)-il)-4-(2, 4,5-trifluorophenil) butan-1-ona [sitagliptina (1)]

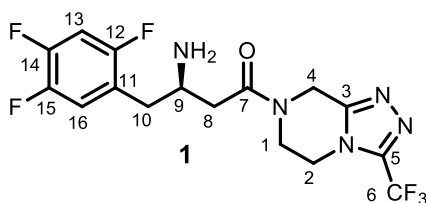


Figura 92. Sitagliptina 1..

Polvo blanco (materia prima).

RMN 1H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.45 (dd, J =16.1, 8.7 Hz, 1H, H8a), 2.54 (dd, J =16.0, 3.6 Hz, 1H, H8b), 2.67 (dd, J =13.6, 7.8 Hz, 1H, H-10a), 2.78 (dd, J =13.7, 5.8 Hz, 1H, H-10b), 3.56 (s, 1H, H-9), 3.88 -4.26 (m, 4H, H-1a, H-1b y H-2), 4.95 (m, 1H, H-4a), 5.09 (d, J =17.1 Hz, 1H, H-4b), 6.91 (dd, J =16.3, 9.4 Hz, 1H, H-13), 7.07 (dd, J = 16.3, 9.4 Hz, 1H, H-16).

RMN 13C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 36.25 (C-10), 37.94 (C-1), 40.23 (C-8), 41.53 (C-6), 42.42 (C-4), 43.18 (C-2), 48.47 (C-9), 105.45 (C-13), 119.08 (C-16), 121.62 (C-12), 143.81 (C-15), 145.41 (C-14), 149.52 (C-3), 154.77 (C-5), 170.44 (C-7).

#### 7.1.2. Síntesis de los derivados tetrazólicos de la sitagliptina

En general, la reacción de Ugi-azida fue llevada a cabo con 1 eq de la amina sitagliptina, 0.9 eq del aldehído correspondiente, 1 eq del isonitrilo y 1.6 eq de la TMS azida en metanol a una concentración de 1M. La mezcla obtenida se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 24 horas. Los crudos de reacción fueron concentrados en el rotavapor y posteriormente purificados por

cromatografía en columna obteniéndose semisólidos de coloración amarilla con rendimientos entre el 53 hasta el 77%. En los siguientes párrafos se especifica la técnica experimental para la obtención de cada uno de los derivados de sitagliptina sintetizados en este trabajo.

### 7.1.2.1. (4-bromofenil) (1-ciclohexil-1H-tetrazol-5-il)-sitagliptina (**5**)

En un matraz provisto de agitación magnética se disolvieron 100 mg de la amina sitagliptina **1** (0.24 mmol) en metanol a temperatura ambiente y posteriormente se agregaron 40.8 mg de *para*-bromobenzaldehído **2** (0.22 mmol) dejando reaccionar por 15 minutos, posteriormente se agregaron 30  $\mu$ L de ciclohexilisonitrilo **3** (0.24 mmol) y 51  $\mu$ L de la trimetilazida **4** (0.39 mmol) para dar una mezcla de reacción con una concentración 1M, se dejó reaccionar por 24 horas, posteriormente el crudo de reacción se concentró en el rotavapor a presión reducida obteniéndose un aceite denso color amarillo correspondiente al producto de reacción **5** impuro, mostrado en la figura 93.

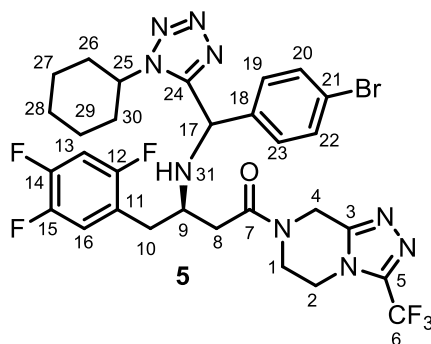


Figura 93. Derivado tetrazólico **5**.

El producto obtenido se purificó en columna cromatográfica utilizando como fase móvil un sistema 1:1 (AcOEt/Hex), usando como fase estacionaria sílica gel, obteniéndose 110 mg del producto **5** en mezcla diastereoisomérica (figura 94) como un cera de ligero tono amarillo en un rendimiento del 65%.

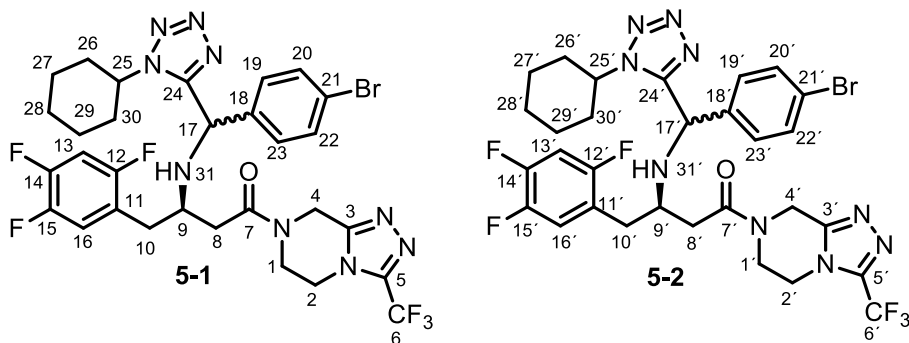


Figura 94. Diastereoisómeros **5-1** y **5-2** del derivado tetrazólico **5**.

Los productos diastereoisoméricos asignados como **5-1** y **5-2** fueron separados por cromatografía en columna utilizando un sistema 6:4 (AcEOT/Hex). Los productos fueron obtenidos como semisólidos amarillos con un  $R_f = 0.476$

(AcOEt/Hex, 9:1) para el compuesto **5-1** y un  $R_f = 0.380$  (AcOEt/Hex, 9:1) para el compuesto **5-2**.

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.04 -1.91 (m, 10 H, H's 26 -30), 2.49 -2.58 (m, 2H, H-8a, H-10a), 2.77 (m, 1H, H-10b), 2.99 (m, 1H, H-8b), 3.18 (m, 1H, H-9), 3.78 - 3.93 (m, 1H, H-1a), 3.94 -4.05 (m, 1H, H-25), 4.06 -4.23 (m, 3H, H-1b, H-2a y H-2b), 4.87 (d,  $J = 17.5$  Hz, 1H, H-4a), 5.11 (d,  $J = 18$  Hz, 1H, H-4b), 5.40 (s, 1H, H-17), 6.89 (dd,  $J = 17.5, 8.6$  Hz, 1H, H-13), 6.97 (dd,  $J = 15.8, 7$  Hz, 1H, H-16), 7.12 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H, H-19), 7.21 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H, H-23), 7.45 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H, H-20), 7.50 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H, H-22).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 24.53 -33.54 (C's 26 -30), 36.43 (C-10), 37.89 (C-1), 39.11 (C-8), 41.79 (C-6), 42.43 (C-4), 43.15 -43.44 (C-2), 52.83 -53.35 (C-9), 54.22 (C-17), 58.16 (C-25), 105.56 (C-13), 118.96 (C-16), 121.32 (C-12), 122.76 (C-18), 128.72 -129 (C-19 Y C-23), 132.15 (C-20 y C-22), 136.87 (C-21), 147.71 (C-15), 149.33 (C-14), 150.09 (C-3), 154.33 (C-5), 157.15 (C-24), 170.06 (C-7).

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.04 -1.91 (m, 10 H, H's 26' -30'), 2.49 -2.68 (m, 2H, H-8a', H-8b'), 2.70 -2.88 (m, 2H, H-10a' y 10b'), 3.35 -3.50 (m, 1H, H-9'), 3.80 - 3.95 (m, 1H, H-25 y H-1a'), 4.06 -4.23 (m, 3H, H-4a', H-2a' y H-2b'), 4.82 (s, 1H, H-1b'), 4.89 (d,  $J = 6.2$  Hz, 1H, H-4b'), 5.22 (d,  $J = 12.8$  Hz, 1H, H-17'), 6.88 (dd,  $J = 16.5, 9.5$  Hz, 1H, H-13'), 6.96 (m, 3H, H-16', H-19', H-23'), 7.42 (dd,  $J = 8.3, 4$  Hz, 2H, H-20', H-22').

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 24.53 -33.54 (C's 26 -30'), 36.43 (C-10), 37.89 (C-1), 39.11 (C-8), 41.79 (C-6), 42.43 (C-4), 43.15 -43.44 (C-2), 52.83 -53.35 (C-9), 54.22 (C-17), 58.16 (C-25), 105.56 (C-13), 118.96 (C-16), 121.32 (C-12), 122.76 (C-18), 128.72 -129 (C-19 Y C-23), 132.15 (C-20, C-22), 136.87 (C-21), 147.71 (C-15), 149.33 (C-14), 150.09 (C-3), 154.33 (C-5), 157.15 (C-24), 170.06 (C-7).

#### 7.1.2.2. (4-bromofenil) (1-*tert*-butil-1H-tetrazol-5-il)-sitagliptina (**7**)

En un matraz provisto de agitación magnética se disolvieron 100 mg de la amina sitagliptina **1** (0.24 mmol) en metanol a temperatura ambiente y posteriormente se agregaron 40.8 mg de *para*-bromobenzaldehído **2** (0.22 mmol) dejando reaccionar por 15 minutos, posteriormente se agregaron 27.7  $\mu\text{L}$  de *tert*-butilisonitrilo **6** (0.24 mmol) y 51  $\mu\text{L}$  de la trimetilazida **4** (0.39 mmol) para dar una mezcla de reacción con una concentración 1M, se dejó reaccionar por 24 horas, posteriormente el crudo de reacción se concentró en el rotavapor a presión reducida obteniéndose también un cera de ligero tono amarillo correspondiente al producto de reacción **7** impuro (figura 95).

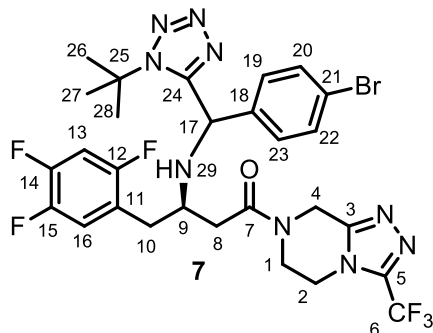


Figura 95. Derivado tetrazólico 7.

El producto obtenido se purificó en columna cromatográfica utilizando como fase móvil un sistema 1:1 (AcOEt/Hex), usando como fase estacionaria sílica gel, obteniéndose 103 mg del producto **7** en mezcla diastereoisomérica (figura 96) como un cera de ligero tono amarillo en un rendimiento del 65%.

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.51 (s, 9H, H's 26'-28'), 1.64 (s, 9H, H's 26-28), 2.32 (m, 1H, H-8a), 2.47 (m, 2H, 8a' y 10a), 2.57 -2.79 (m, 4H, H-8b', H-10b, H-10a' y H-10b'), 3.01 (d,  $J = 13.9$  Hz, 1H, H-8b), 3.26 -3.53 (m, 2H, H-9 y H-9'), 3.76 -3.90 (m, 2H, H-1a y H-25'), 3.90 -4.04 (m, 2H, H-25 y H-1a'), 4.06 -4.31 (m, 6H, H-4a', H-1b, H-2a, H-2b, H-2a' y H-2b), 4.82 (m, 3H, H-4a, H-4b y H-1b'), 5.40 (d,  $J = 13.7$  Hz, 1H, H-17'), 5.62 (d,  $J = 20.4$  Hz, 1H, H-17), 6.81 -7.04 (m, 7H, H-13, H-16, H-23, H-13', H-16', H-19 y H-23'), 7.17 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H, H-19), 7.35 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H, H-22), 7.40 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H, H-20 y H-22'), 7.46 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H, H-20).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 30 (C's 26-28 y 26'-28'), 34-35 (C-10 y C-10'), 38 (C-1 y C-1'), 39 -40 (C-8 y C-8'), 42 (C-6 y C-6'), 42.5 (C-4 y C-4'), 43.5 (C-2 y C-2'), 50.35 -50.40 (C-9 y C-9'), 50.5 (C-17), 50.7 (C-17'), 60 -60.2 (C-25 y C-25'), 105.36 (C-13 y C-13'), 117 (C-11 y C-11'), 119.14 (C-16 y C-16'), 121 (C-12 y C-12'), 122.5 (C-18 y C-18'), 129.8 (C-19, C-23, C-19' y C-23'), 132 (C-20, C-22, C-20' y C-22'), 138 (C-21 y C-21'), 147.5 (C-15 y C-15'), 149 (C-14 y C-14'), 150 (C-3 y C-3'), 154.5 (C-5 y C-5'), 155.5 (C-24 y C-24'), 170.10 (C-7 y C-7').

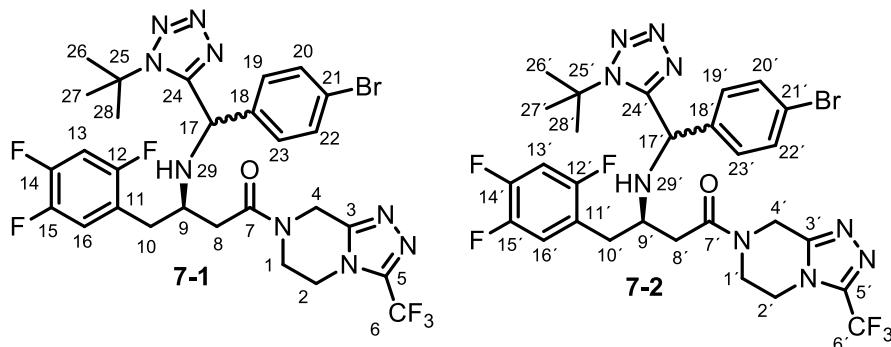


Figura 96. Diastereoisómeros 7-1 y 7-2 del derivado tetrazólico 7.

Los productos diastereoisoméricos **7-1** y **7-2** fueron separados por cromatografía en columna utilizando un sistema 6:4 (AcEOt/Hex). Los productos fueron obtenidos como ceras de ligero tono amarillo con un  $R_f = 0.416$  (AcEOt/Hex, 9:1) para **7-1** y un  $R_f = 0.321$  (AcEOt/Hex, 9:1) para **7-2**.

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.64 (s, 9H, H's 26 -28), 2.32 (m, 1H, H-8a), 2.47 (m, 1H, 10a), 2.64 (m, 1H, H-10b), 3.01 (d,  $J = 9.9$  Hz, 1H, H-8b), 3.29 (m, 1H, H-9), 3.76 -3.90 (m, 1H, H-1a), 3.90 -4.04 (m, 1H, H-25), 4.08 -4.20 (m, 1H, H-1b), 4.08 -4.20 (m, 2H, H-2a y H-2b), 4.82 (m, 2H, H-4a y H-4b), 5.62 (d,  $J = 20.4$  Hz, 1H, H-17), 6.81 -7.04 (m, 3H, H-13, H-16 y H-23), 7.17 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H, H-19), 7.35 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H, H-22), 7.46 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H, H-20).

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.51 (s, 9H, H's 26'-28'), 2.47 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H, H-8a'), 2.57 -2.79 (m, 3H, H-8b', H-10a' y H-10b'), 3.26 -3.53 (m, 1H, H-9'), 3.79 -3.89 (m, 1H, H-25'), 3.90 -4.01 (m, 1H, H-1a'), 4.06 -4.31 (m, 3H, H-4a', H-2a' y H-2b'), 4.82 (s, 1H, H-1b'), 4.85 (m, 1H, H-4b'), 5.40 (d,  $J = 13.7$  Hz, 1H, H-17'), 6.83 -7.00 (m, 4H, H-13', H-16', H-19' y H-23'), 7.35 (t,  $J = 8.1$  Hz, 1H, H-20' y H-22').

### 7.1.2.3. (4-metoxifenil) (1-ciclohexil-1H-tetrazol-5-il)-sitagliptina (**9**)

En un matraz provisto de agitación magnética se disolvieron 100 mg de la amina sitagliptina **1** (0.24 mmol) en metanol a temperatura ambiente y posteriormente se agregaron 26.8  $\mu\text{L}$  de *para*-metoxibenzaldehído **8** (0.22 mmol) dejando reaccionar esta mezcla por 15 minutos, más adelante se agregaron 30  $\mu\text{L}$  de ciclohexilisonitrilo **3** (0.24 mmol) y 51  $\mu\text{L}$  de la trimetilazida **4** (0.39 mmol) para dar una mezcla de reacción con una concentración 1M, se dejó reaccionar por 24 horas, posteriormente el crudo de reacción se concentró en el rotavapor a presión reducida obteniéndose un cera de ligero tono amarillo correspondiente al producto de reacción **9** impuro, cuya estructura química se visualiza en la figura 97.

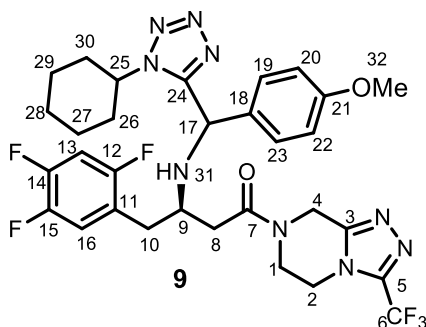


Figura 97. Derivado tetrazólico **9**.

El producto obtenido se purificó por cromatografía en columna, utilizando como fase móvil un sistema 1:1 (AcOEt/Hex), usando como fase estacionaria sílica gel, obteniéndose 108 mg del producto **9** en mezcla diastereoisomérica de **9a** y **9b** como una cera de ligero tono amarillo en un rendimiento del 65%. La mezcla diastereoisomérica presento un  $R_f = 0.33$  (AcOEt/Hex, 9:1).

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.00 -1.91 (m, 20 H, H's 26 -30 y 26'-30'), 2.49 -2.62 (m, 3H, H-8a', H-10a y H-8a), 2.70 -2.86 (m, 4H, H -10b, H-10a', H-8b' y H-10b'), 3.01 (m, 1H, H-8b), 3.20 (m, 1H, H-9), 3.33 -3.48 (m, 1H, H-9'), 3.77(s, 6H, H-32 y H-32'), 3.79 -4.05 (m, 4H, H-1a, H-25, H-25a', H-1a'), 4.06 -4.23 (m, 6H, H-1b, H-4a', H-2a, H-2b, H-2a' y H-2b'), 4.8 -4.95 (m, 4H, H-1b', H-4a, H-4b y H-4b'), 5.18 (d,  $J = 5.9$  Hz, 1H, H-17'), 5.26 -5.34 (m, 1H, H-17), 6.78 (dd,  $J = 11.3, 7.3$  Hz, 3H, H-13, H-13'y H-22), 6.87 (m, 3H, H-16, H-16'y H-20), 6.99 (t,  $J = 7.1$  Hz, 4H, H-19', H-23', H-20' y H-22'), 7.10 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, H-23), 7.21 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, H-19).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 24.41 -35.05 (C's 26 -30 y 26' -30'), 36.42 (C-10), 37.87 (C-1 y C-10'), 38.44 (C-1'), 38.94 (C-8 y C-8'), 41.79 (C-6 y C-6'), 42.41 (C-4 y C-4'), 43.21 -43.51 (C-2 y C-2'), 52.76 -54.10 (C-9 y C-9'), 55.15 (C-32 y C-32'), 55.21 - 55.32 (C-17 y C-17'), 60.02 (C-25 y C-25'), 105.36 (C-13 y C-13'), 114.29 (C-20 y C-22), 118.96 (C-16 y C-16'), 117 (C-12 y C-12'), 121.32 (C-11 y C-11'), 128.47 (C-19, C-23, C-19' y C-23'), 129.71 -130.02 (C-18 y C-18'), 143.5 - 145.04 (C-15 y C-15'), 147.71 (C-14 y C-14'), 149.33 -150.09 (C-3 y C-3'), 154.33 (C-5 y C-5'), 157.15 (C-24 y C-24'), 159.95 (C-21 y C-21'), 170.06 (C-7 y C-7').

#### 7.1.2.4. (4-metoxifenil) (1-*tert*-butil-1H-tetrazol-5-il)-sitagliptina (**10**)

En un matraz provisto de agitación magnética se disolvieron 100 mg de la amina sitagliptina **1** (0.24 mmol) en metanol a temperatura ambiente y posteriormente se agregaron 26.8  $\mu\text{L}$  de *para*-metoxibenzaldehído **8** (0.22 mmol) dejando reaccionar por 15 minutos, posteriormente se agregaron 27.7  $\mu\text{L}$  de *tert*-butilisonitrilo **6** (0.24 mmol) y 51  $\mu\text{L}$  de la trimetilazida **4** (0.39 mmol) para dar una mezcla de reacción con una concentración 1M, la cual se dejó reaccionar por 24 horas, posteriormente el crudo de reacción se concentró en el rotavapor a presión reducida obteniéndose un aceite denso color amarillo correspondiente al producto de reacción **10** impuro cuya estructura se muestra en la figura 98.

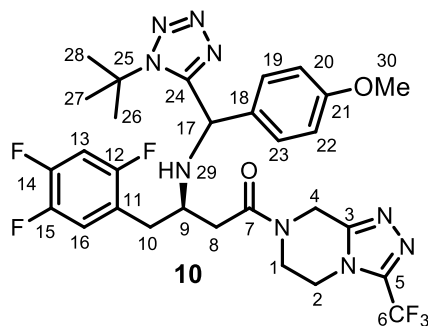


Figura 98. Derivado tetrazólico **10**.

El producto obtenido se purificó por cromatografía en columna utilizando como fase móvil un sistema 1:1 (AcOEt/Hex), usando como fase estacionaria sílica gel, obteniéndose 120 mg del producto **10** en mezcla diastereoisomérica como un semisólido amarillo en un rendimiento del 75% con un  $R_f = 0.404$  (AcOEt/Hex, 9:1).



RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.51 (s, 9 H, H's 26' -28'), 1.61 (s, 9 H, H's 26 -28), 2.31 -2.40 (m, 1H, H-8a), 2.45 -2.56 (m, 2H, H-8a' y 10a), 2.63 -2.75 (m, 4H, H-8b', H-10b', H-10a' y H-10b), 2.99 (dd,  $J = 13.7, 4.7$ , 1H, H-8b), 3.28 -3.45 (m, 2H, H-9 y H-9'), 3.77 (s, 6H, H-30 y H-30') 3.87 -3.93 (m, 2H, H-25' y H-1a), 3.96 - 4.05 (m, 2H, H-25 y H-1a'), 4.09 -4.26 (m, 6H, H-4a', H-1b, H-2a, H-2b, H-2a' y H-2b'), 4.71 -4.93 (m, 4H, H-4a, H-4b, H-1b' y H-4b'), 5.35 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H, H-17'), 5.41 (d,  $J = 10.9$  Hz, 1H, H-17), 6.66 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H, H-22), 6.75 -6.90 (m, 5H, H-13, H-16, H-13', H-16', H-20), 6.92 -7.01 (t,  $J = 7.8$  Hz, 5H, H-20', H-22', H-23, H-19' y H-23'), 7.19 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, H-19).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 30 (C's 26 -28 y 26' -28'), 34-35 (C-10 y C-10'), 38 (C-1 y C-1'), 39 -40 (C-8 y C-8'), 42 (C-6 y C-6'), 42.5 (C-4 y C-4'), 43.5 (C-2 y C-2'), 50.35 -50.40 (C-9 y C-9'), 50.5 (C-17), 50.7 (C-17'), 60 -60.2 (C-25 y C-25'), 105.36 (C-13 y C-13'), 117 (C-11 y C-11'), 119.14 (C-16 y C-16'), 121 (C-12 y C-12'), 122.5 (C-18 y C-18'), 129.8 (C-19, C-23, C-19' y C-23'), 132 (C-20, C-22, C-20' y C-22'), 138 (C-21 y C-21'), 147.5 (C-15 y C-15'), 149 (C-14 y C-14'), 150 (C-3 y C-3'), 154.5 (C-5 y C-5'), 155.5 (C-24 y C-24'), 170.10 (C-7 y C-7').

#### 7.1.2.5. (3-nitrofenil) (1-ciclohexil-1H-tetrazol-5-il)-sitagliptina (**12**)

En un matraz provisto de agitación magnética se disolvieron 100 mg de la amina sitagliptina **1** (0.24 mmol) en metanol a temperatura ambiente y posteriormente se agregaron 33.3 mg de *meta*-nitrobenzaldehído **8** (0.22 mmol) dejando reaccionar por 15 minutos, posteriormente se agregaron 30  $\mu\text{L}$  de ciclohexilisonitrilo **3** (0.24 mmol) y 51  $\mu\text{L}$  de la trimetilazida **4** (0.39 mmol) para dar una mezcla de reacción con una concentración 1M, la cual se dejó reaccionar por 24 horas, posteriormente el crudo de reacción se concentró en el rotavapor a presión reducida obteniéndose un aceite denso color amarillo correspondiente al producto de reacción **12** impuro figura 99.

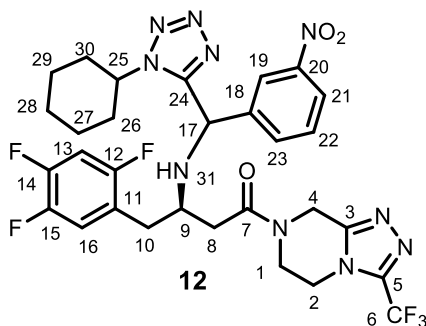


Figura 99. Derivado tetrazólico **12**.

El producto obtenido se purificó en cromatografía en columna utilizando como fase móvil un sistema 1:1 (AcOEt/Hex), usando como fase estacionaria silica gel, obteniéndose 90 mg del producto **12** en mezcla diastereoisomérica como un semisólido amarillo en un rendimiento del 53% con un  $R_f = 0.3428$  (AcOEt/Hex, 9:1).

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.11 -1.90 (m, 20 H, H's 26 -30 y 26'-30'), 2.54 -2.72 (m, 3H, H-8a', H-10a, H-8a), 2.73 -2.85 (m, 4H, H-8b', H-10b, H-10a' y H-10b'), 3.05 (m, 1H, H-8b), 3.23 (m, 1H, H-9), 3.36 -3.48 (m, 1H, H-9'), 3.88 -4.05 (m, 4H, H-1a, H-25, H-25a', H-1a'), 4.06 -4.24 (m, 6H, H-1b, H-4a', H-2a, H-2b, H-2a' y H-2b'), 4.82 -4.95 (m, 4H, H-4a, H-4b', H-1b' y H-4b), 5.49 (s, 1H, H-17'), 5.63 (s, 1H, H-17), 6.87 (m, 2H, H-13 y H-13'), 7.00 (m, 2H, H-16 y H-16'), 7.37 -7.65 (m, 4H, H-23, H-22, H-23' y H-22'), 8.00 -8.37 (m, 4H, H-19, H-21, H-19' y H-21').

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 24.41 -35.05 (C's 26 -30 y 26' -30'), 36.42 (C-10), 37.87 (C-1 y C-10'), 38.44 (C-1'), 38.94 (C-8 y C-8'), 41.79 (C-6 y C-6'), 42.41 (C-4 y C-4'), 43.21 -43.51 (C-2 y C-2'), 52.76 -54.10 (C-9 y C-9'), 55.15 (C-32 y C-32'), 55.21 - 55.32 (C-17 y C-17'), 60.02 (C-25 y C-25'), 105.36 (C-13 y C-13'), 114.29 (C-20 y C-22), 118.96 (C-16 y C-16'), 117 (C-12 y C-12'), 121.32 (C-11 y C-11'), 128.47 (C-19, C-23, C-19' y C-23'), 129.71 -130.02 (C-18 y C-18'), 143.5 - 145.04 (C-15 y C-15'), 147.71 (C-14 y C-14'), 149.33 -150.09 (C-3 y C-3'), 154.33 (C-5 y C-5'), 157.15 (C-24 y C-24'), 159.95 (C-21 y C-21'), 170.06 (C-7 y C-7').

#### 7.1.2.6. (3-nitrofenil) (1-*tert*-butil-1H-tetrazol-5-il)-sitagliptina (**13**)

En un matraz provisto de agitación magnética se disolvieron 100 mg de la amina sitagliptina **1** (0.24 mmol) en metanol a temperatura ambiente y posteriormente se agregaron 33.3 mg de *meta*-nitrobenzaldehído **11** (0.22 mmol) dejando reaccionar por 15 minutos, posteriormente se agregaron 27.7  $\mu\text{L}$  de *tert*-butilisonitrilo **6** (0.24 mmol) y 51  $\mu\text{L}$  de la trimetilazida **4** (0.39 mmol) para dar una mezcla de reacción con una concentración 1N, se dejó reaccionar por 24 horas, posteriormente el crudo de reacción se concentró en el rotavapor a presión reducida obteniéndose un aceite denso color amarillo correspondiente al producto de reacción **13** impuro cuya estructura se reporta en la figura 100.

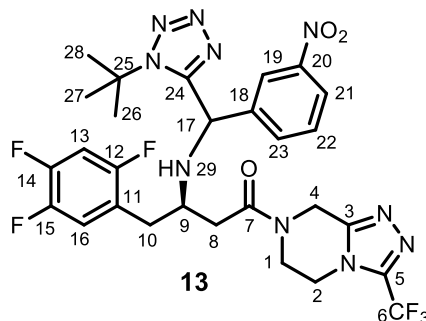


Figura 100. Derivado tetrazólico **13**.

El producto obtenido se purificó en columna cromatográfica utilizando como fase móvil un sistema 1:1 (AcOEt/Hex), usando como fase estacionaria sílica gel, obteniéndose 98 mg del producto **13** en mezcla diastereoisomérica como un semisólido amarillo en un rendimiento del 60% con un  $R_f = 0.380$  (AcOEt/Hex, 9:1) para **13a** y un con un  $R_f = 0.309$  (AcOEt/Hex, 9:1) para **13b**. Enseguida se reportan

todas las señales de RMN características de la estructura del derivado tetrazólico **13**.

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.55 (s, 9 H, H's 26' -28'), 1.67 (s, 9 H, H's 26 -28), 2.51 (dd,  $J = 15.7, 3.1\text{Hz}$ , 1H, H-8a), 2.56 -2.71 (m, 2H, H-8a' y H-10a), 2.71 -2.81 (m, 4H, H-8b', H-10b, H-10a' y H-10b'), 3.03 (t,  $J = 12.2\text{ Hz}$ , 1H, H-8b), 3.35 (m, 1H, H-9'), 3.72 -4.10 (m, 4H, H-1a, H-25, H-25a', H-1a'), 4.10 -4.37 (m, 6H, H-1b, H-4a', H-2a, H-2b, H-2a' y H-2b'), 4.75 -4.99 (m, 4H, H-4a, H-4b', H-1b' y H-4b), 5.60 (d,  $J = 13.7\text{ Hz}$ , 1H, H-17'), 5.93 (d,  $J = 28.8\text{ Hz}$ , 1H, H-17), 6.83 -7.00 (m, 4H, H-13, H-13', H-16 y H-16'), 7.26 -7.34 (m, 2H, H-22 y H-22'), 7.40 -7.55 (m, 2H, H-23 y H-23'), 7.87 -8.39 (m, 4H, H-19, H-21, H-19' y H-21').

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 24.41 -35.05 (C's 26 -30 y 26' -30'), 36.42 (C-10), 37.87 (C-1 y C-10'), 38.44 (C-1'), 38.94 (C-8 y C-8'), 41.79 (C-6 y C-6'), 42.41 (C-4 y C-4'), 43.21 -43.51 (C-2 y C-2'), 52.76 -54.10 (C-9 y C-9'), 55.15 (C-32 y C-32'), 55.21 - 55.32 (C-17 y C-17'), 60.02 (C-25 y C-25'), 105.36 (C-13 y C-13'), 114.29 (C-20 y C-22), 118.96 (C-16 y C-16'), 117 (C-12 y C-12'), 121.32 (C-11 y C-11'), 128.47 (C-19, C-23, C-19' y C-23'), 129.71 -130.02 (C-18 y C-18'), 143.5 - 145.04 (C-15 y C-15'), 147.71 (C-14 y C-14'), 149.33 -150.09 (C-3 y C-3'), 154.33 (C-5 y C-5'), 157.15 (C-24 y C-24'), 159.95 (C-21 y C-21'), 170.06 (C-7 y C-7').

#### 7.1.2.7. (2-clorofenil) (1-ciclohexil-1H-tetrazol-5-il)-sitagliptina (**15**)

En un matraz provisto de agitación magnética se disolvieron 100 mg de la amina sitagliptina **1** (0.24 mmol) en metanol a temperatura ambiente y posteriormente se agregaron 24.8  $\mu\text{L}$  de *orto*-clorobenzaldehído **14** (0.22 mmol) dejando reaccionar por 15 minutos, posteriormente se agregaron 30  $\mu\text{L}$  de ciclohexilisonitrilo **3** (0.24 mmol) y 51  $\mu\text{L}$  de la trimetilazida **4** (39 mmol) para dar una mezcla de reacción con una concentración 1M, se dejó reaccionar por 24 horas, posteriormente el crudo de reacción se concentró en el rotavapor a presión reducida obteniéndose un aceite denso color amarillo correspondiente al producto de reacción **15** impuro (figura 101).

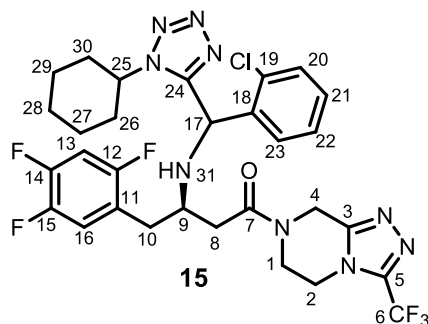


Figura 101. Derivado tetrazólico **15**.

El producto obtenido se purificó en columna cromatográfica utilizando como fase móvil un sistema 1:1 (AcOEt/Hex), usando como fase estacionaria sílica gel, obteniéndose 129 mg del producto **15** en mezcla diastereoisomérica como un semisólido amarillo en un rendimiento del 77% con un  $R_f = 0.511$  (AcOEt/Hex, 9:1).



RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.52 (s, 9 H, H's 26' -28'), 1.61 (s, 9 H, H's 26 -28), 2.32 -2.43 (m, 1H, H-8a), 2.48 -2.58 (m, 2H, H-8a', y 10a), 2.64 -2.79 (m, 3H, H-8b', H-10a' y H-10b), 2.95 (m, 1H, H-10b'), 3.05 (dd,  $J=13.3, 5.3$  Hz, 1H, H-8b), 3.36 (m, 1H, H-9) 3.58 (m, 1H, H-9'), 3.75 -4.06 (m, 4H, H-25' y H-1a, H-25 y H-1a'), 4.08 -4.36 (m, 6H, H-4a', H-1b, H-2a, H-2b, H-2a' y H-2b), 4.71 -4.87 (m, 4H, H-4a, H-4b, H-1b' y H-4b'), 5.95 (s, 1H, H-17'), 6.01 (d,  $J=9.8$  Hz, 1H, H-17), 6.68 (d,  $J=6.9$  Hz, 1H, H-23), 6.76 (d,  $J=6.6$ , 1H, H-23'), 6.85 (m, 2H, H-13 y H-13'), 7.03 (m, 2H, H-16 y H-16'), 7.14 (m, 2H, H-21 y H-21'), 7.24 (m, 2H, H-22 y H-22'), 7.43 (dd,  $J=7.9, 3.2$ , 2H, H-20 y H-20').

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 30 (C's 26 -28 y 26'-28'), 34-35 (C-10 y C-10'), 38 (C-1 y C-1'), 39 -40 (C-8 y C-8'), 42 (C-6 y C-6'), 42.5 (C-4 y C-4'), 43.5 (C-2 y C-2'), 50.35 -50.40 (C-9 y C-9'), 50.5 (C-17), 50.7 (C-17'), 60 -60.2 (C-25 y C-25'), 105.36 (C-13 y C-13'), 117 (C-11 y C-11'), 119.14 (C-16 y C-16'), 121 (C-12 y C-12'), 122.5 (C-18 y C-18'), 129.8 (C-19, C-23, C-19' y C-23'), 132 (C-20, C-22, C-20' y C-22'), 138 (C-21 y C-21'), 147.5 (C-15 y C-15'), 149 (C-14 y C-14'), 150 (C-3 y C-3'), 154.5 (C-5 y C-5'), 155.5 (C-24 y C-24'), 170.10 (C-7 y C-7').

## 7.2. Sección computacional

### 7.2.1. Fracciones molares

Los modelos moleculares tridimensionales fueron construidos en el software SPARTAN'16, los cuales posteriormente fueron sometidos a un proceso de búsqueda conformacional en el software SPARTAN'16 al nivel de mecánica molecular empleando el método MMFF y el método de búsqueda de Montecarlo de la cual se obtuvo una lista de 100 conformeros para cada molécula de los cuales se tomaron los que quedaron dentro del rango de energía relativa de 5 kcal/mol, a los cuales se les realizó un cálculo de energía en este caso se usó la Teoría de los Funcionales de la Densidad al nivel de teoría B3LYP/6-31G\* para la sitagliptina y el método de Hartree Fock para los derivados tetrazólicos al nivel de teoría RHF/3-21G también en el programa SPARTAN'16 para poder reagrupar los conformeros energéticamente. Una vez terminado este procesamiento se tomaron los conformeros comprendidos entre el rango de energía relativa de 3 kcal/mol para la sitagliptina y 5 kcal/mol para los derivados tetrazólicos, posteriormente los conformeros fueron llevados por separado a un cálculo de optimización geométrica y un cálculo de frecuencias en el programa Gaussian16 usando la teoría de funcionales de la densidad al nivel de teoría B3LYP/6-31G\*, con lo que se obtuvieron las estructuras más estables de cada conformero y se volvieron a reagrupar según su valor de energía libre, quedando solamente los conformeros dentro del rango de las 3 kcal/mol. Con este procedimiento y la subsecuente comprobación de los modos vibracionales positivos nos cercioramos de calcular las propiedades de los conformeros de menor energía y mayor estabilidad.

El cálculo de las fracciones molares se realizó mediante el software fracmol provisto por el grupo de trabajo del Dr. Cerda<sup>25</sup> usando el valor de energía libre de cada conformero.

### 7.2.2. Propiedades moleculares

Los modelos moleculares tridimensionales resultantes de la búsqueda conformacional y de la optimización geométrica en Gaussian16 con mayor valor de fracción molar fueron sometidos a otro proceso de optimización en el software Gaussian 16, usando la teoría de los funcionales de la densidad al nivel de teoría B3LYP/6-311++g (d, p). Una vez obtenidas las estructuras optimizadas se calcularon los descriptores de reactividad usando también el software Gaussian16. La interpretación y análisis de los descriptores de reactividad para la sitagliptina y cada derivado tetrazólico fueron realizados con ayuda del software VESTA. Se hizo uso del software Open Babel para la conversión entre los diversos formatos moleculares.

### 7.2.3. Estudio de anclaje molecular

Adicionalmente se realizó un estudio de anclaje molecular con el derivado tetrazólico **5b** para explorar computacionalmente la capacidad de reconocer los aminoácidos de la DPP-IV. El derivado **5b** fue previamente preparado para el docking en el paquete software MGLTools. Una vez preparado el ligando se hizo con la macromolécula receptora en este caso la enzima dipeptidil peptidasa IV. La estructura cristalográfica de la enzima fue obtenida del Protein Data Bank como un homodímero con el código de registro alfanumérico 3w2t. Las moléculas de agua fueron retiradas del archivo de la enzima, después se seleccionaron los hidrógenos polares y se agregaron cargas de Kollman. Una vez hecho lo anteriormente mencionado, se formó una caja con mallado en el sitio catalítico de la enzima, luego se seleccionó el número de evaluaciones, en este caso se seleccionaron 2500000, se hizo uso del algoritmo genético Lamarckiano como el método de búsqueda y el ligando libre de rotación de enlaces (los que pueden hacerlo). El cálculo fue llevado a cabo también en el software Autodock 4.0 dando un archivo de salida con las 100 poses más favorables del derivado tetrazólico **5b**, de las cuales se tomó la de menor energía. La mejor pose del derivado **5b** resultante del estudio de anclaje molecular fue aislada, junto con los aminoácidos con los que presentó interacción y con aquellos que forman la tríada catalítica en un complejo ligando – aminoácidos. Se evaluaron las interacciones del derivado **5b** con los residuos de aminoácidos con los que presentó interacción mediante cálculos de estructura electrónica usando el nivel de teoría wB97xD/cc-pVDZ, el cual considera en cierta manera la energía debido a interacciones de largo alcance.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Rojas-Martínez, M. R. Epidemiología de la diabetes mellitus en México. En: Aguilar-Salinas CA, Hernández-Jiménez S, Hernández-Avila M, et al, editores. *Acciones para enfrentar a la diabetes. Documento de postura. Academia Nacional de Medicina de México, México, 2015*
2. Velázquez. (2009). FARMACOLOGÍA BÁSICA Y CLÍNICA, 18ª edición, Madrid, MÉDICA PANAMERICANA.
3. Nogales, A., & Arrieta, F. (2010). Incretinas: nueva opción terapéutica para la diabetes mellitus tipo 2. *Terapéutica*, 62-66.
4. A Weber, A. E. (2004). Dipeptidyl peptidase IV inhibitors for the treatment of diabetes. *Journal of medicinal chemistry*, 47(17), 4135-4141.
5. (a) Chyan, Y. J., & Chuang, L. M. (2007). Dipeptidyl peptidase-IV inhibitors: an evolving treatment for type 2 diabetes from the incretin concept. *Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery*, 1(1), 15-24. (b) Nishad Gabhe, Rupali Tasgoankar, Bharat Dagade, Peedpesh Rao, Pradnya Sawant and Aditee Shirodkar. (2013). *International journal of Pharma and Bio Sciences.*; 4 (3):629-637.
6. Nabeno, M., Akahoshi, F., Kishida, H., Miyaguchi, I., Tanaka, Y., Ishii, S., & Kadowaki, T. (2013). A comparative study of the binding modes of recently launched dipeptidyl peptidase IV inhibitors in the active site. *Biochemical and biophysical research communications*, 434(2), 191-196.
7. Buse, J. B., Rosenstock, J., Sesti, G., Schmidt, W. E., Montanya, E., Brett, J. H. & LEAD-6 Study Group. (2009). Liraglutide once a day versus exenatide twice a day for type 2 diabetes: a 26-week randomised, parallel-group, multinational, open-label trial (LEAD-6). *The Lancet*, 374(9683), 39-47. (b) Khan, M. A., Deaton, C., Rutter, M. K., Neyses, L., & Mamas, M. A. (2013). Incretins as a novel therapeutic strategy in patients with diabetes and heart failure. *Heart failure reviews*, 18(2), 141-148
8. Augeri, D. J., Robl, J. A., Betebenner, D. A., Magnin, D. R., Khanna, A., Robertson, J. G., & Han, S. P. (2005). Discovery and preclinical profile of Saxagliptin (BMS-477118): a highly potent, long-acting, orally active dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *Journal of medicinal chemistry*, 48(15), 5025-5037.
9. Villhauer, E. B., Brinkman, J. A., Naderi, G. B., Burkey, B. F., Dunning, B. E., Prasad, K. & Hughes, T. E. (2003). 1-[[[(3-hydroxy-1-adamantyl) amino] acetyl]-2-cyano-(S)-pyrrolidine: a potent, selective, and orally bioavailable dipeptidyl peptidase IV inhibitor with antihyperglycemic properties. *Journal of medicinal chemistry*, 46(13), 2774-2789.
10. Yoshida, T., Akahoshi, F., Sakashita, H., Kitajima, H., Nakamura, M., Sonda, S., & Ishige, T. (2012). Discovery and preclinical profile of teneligliptin (3-[(2S, 4S)-4-[4-(3-methyl-1-phenyl-1H-pyrazol-5-yl) piperazin-1-yl] pyrrolidin-2-ylcarbonyl] thiazolidine): a highly potent, selective, long-lasting and orally active dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 20(19), 5705-5719.
11. MONIKA, G., SARBJOT, S., & PUNAM, G. (2009). Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors: A New approach In Diabetes Treatment. *International Journal of Drug Development and Research*, 1(1).

12. Kim, D., Wang, L., Beconi, M., Eiermann, G. J., Fisher, M. H., He, H., ... & Marsilio, F. (2005). (2 R)-4-Oxo-4-[3-(trifluoromethyl)-5, 6-dihydro [1, 2, 4] triazolo [4, 3-a] pyrazin-7 (8 H)-yl]-1-(2, 4, 5-trifluorophenyl) butan-2-amine: a potent, orally active dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *Journal of medicinal chemistry*, 48(1), 141-151.
13. Feng, J., Zhang, Z., Wallace, M. B., Stafford, J. A., Kaldor, S. W., Kassel, D. B., & Takeuchi, K. (2007). Discovery of alogliptin: a potent, selective, bioavailable, and efficacious inhibitor of dipeptidyl peptidase IV. *Journal of medicinal chemistry*, 50(10), 2297-2300.
14. Eckhardt, M., Langkopf, E., Mark, M., Tadayyon, M., Thomas, L., Nar, H., ... & Fuchs, H. (2007). 8-(3-(R)-aminopiperidin-1-yl)-7-but-2-ynyl-3-methyl-1-(4-methyl-quinazolin-2-ylmethyl)-3, 7-dihydropurine-2, 6-dione (BI 1356), a highly potent, selective, long-acting, and orally bioavailable DPP-4 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *Journal of medicinal chemistry*, 50(26), 6450-6453.
15. Dömling, A., & Ugi, I. (2000). Multicomponent reactions with isocyanides. *Angewandte Chemie International Edition*, 39(18), 3168-3210.
16. Ugi, I., Werner, B., & Dömling, A. (2003). The chemistry of isocyanides, their multicomponent reactions and their libraries. *Molecules*, 8(1), 53-66.
17. Dömling, A. (2006). Recent developments in isocyanide based multicomponent reactions in applied chemistry. *Chemical reviews*, 106(1), 17-89.
18. May, B. C.; Abell, A. D. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **2002**, 1, 172
19. Al-Hourani, B. J., Sharma, S. K., Suresh, M., & Wuest, F. (2012). Novel 5-substituted 1H-tetrazoles as cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 22(6), 2235-2238.
20. Huang, Y., Khoury, K., Chanas, T., & Dömling, A. (2012). Multicomponent synthesis of diverse 1, 4-benzodiazepine scaffolds. *Organic letters*, 14(23), 5916-5919.
21. Cano, P. A., Islas-Jácome, A., González-Marrero, J., Yépez-Mulia, L., Calzada, F., & Gámez-Montaña, R. (2014). Synthesis of 3-tetrazolymethyl-4H-chromen-4-ones via Ugi-azide and biological evaluation against *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* and *Trichomona vaginalis*. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 22(4), 1370-1376.
22. Gordillo-Cruz, R. E., Rentería-Gómez, A., Islas-Jácome, A., Cortes-García, C. J., Díaz-Cervantes, E., Robles, J., & Gámez-Montaña, R. (2013). Synthesis of 3-tetrazolymethyl-azepino [4, 5-b] indol-4-ones in two reaction steps: (Ugi-azide/N-acylation/SN 2)/free radical cyclization and docking studies to a 5-Ht 6 model. *Organic & biomolecular chemistry*, 11(38), 6470-6476.
23. Al-Hourani, B. J., El-Barghouthi, M. I., McDonald, R., Al-Awaida, W., & Wuest, F. (2015). Docking studies and the crystal structure of two tetrazole derivatives: 5-(4-chlorophenyl)-1-{4-(methylsulfonyl) phenyl}-1H-tetrazole and 4-{5-(4-methoxyphenyl)-1H-tetrazol-1-yl} benzenesulfonamide. *Journal of Molecular Structure*, 1101, 21-27
24. Kim, D., Kowalchick, J. E., Edmondson, S. D., Mastracchio, A., Xu, J., Eiermann, G. J., ... & He, H. (2007). Triazolopiperazine-amides as dipeptidyl



- peptidase IV inhibitors: Close analogs of JANUVIA™ (sitagliptin phosphate). *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 17(12), 3373-3377.
25. Sohajda, T., Hu, W. H., Zeng, L. L., Li, H., Szente, L., Noszál, B., & Béni, S. (2011). Evaluation of the interaction between sitagliptin and cyclodextrin derivatives by capillary electrophoresis and nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Electrophoresis*, 32(19), 2648-2654.
  26. Pereda-Miranda, R., Fragoso-Serrano, M., & Cerda-García-Rojas, C. M. (2001). Application of molecular mechanics in the total stereochemical elucidation of spicigerolide, a cytotoxic 6-tetraacetyloxyheptenyl-5, 6-dihydro- $\alpha$ -pyrone from *Hyptis spicigera*. *Tetrahedron*, 57(1), 47-53.