



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

Síntesis y caracterización de amidas derivadas del ácido cinámico (CAPA) con posible actividad inhibitoria sobre la proteasa M^{pro} del virus SARS-CoV-2

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUÍMICO INDUSTRIAL**

P R E S E N T A:

RODOLFO EMMANUEL FALFAN VALENCIA

Asesor: Dr. Pablo Arturo Martínez Soriano

Coasesor: Dr. Enrique R. Ángeles Anguiano

Cuautitlán Izcalli, Estado de México. 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



ATN: DRA. MARIA DEL CARMEN VALDELLANA BRAVO
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de tesis y examen profesional.

Síntesis y caracterización de amidas derivadas del ácido cinámico (CAPA) con posible actividad inhibitoria sobre la proteasa Mpro del virus SARS-CoV2.

Que presenta el pasante: **Rodolfo Emmanuel Falfan Valencia**
Con número de cuenta: **418066766** para obtener el título de: **Químico Industrial**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 18 de Mayo de 2023.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. María Inés Nicolás Vázquez	
VOCAL	M.C. Ana Laura Vázquez Martínez	
SECRETARIO	Dr. Pablo Arturo Martínez Soriano	
1er. SUPLENTE	Dr. Víctor Hugo Vázquez Valadez	
2do. SUPLENTE	Q. Iván Missael Espinoza Muñoz	

NOTA: Los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.
En caso de que algún miembro del jurado no pueda asistir al examen profesional deberá dar aviso por anticipado al departamento.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Química Medicinal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, gracias a los proyectos PAPIIT IN2020, PAPIIT 206023, PIAPI CI2201, LANCAD-UNAM-DGTIC-034 y a la secretaria de relaciones exteriores (AMEXCID) en el marco del grupo de trabajo en educación, cultura, investigación e innovación 2021-2023 México-Quebec. Gracias a Moisés Hernández y Draucin Jiménez por su asistencia técnica.

“La ciencia siempre vale la pena, porque sus descubrimientos, tarde o temprano, siempre se aplican.”

Severo Ochoa.

Si se desmayan mis rodillas, si se me cae el cielo
Si se desfigura el día y se convierte en hielo
Si mi sangre se torna color cobarde frío
Si mi valor tiene el estómago vacío
Si mis sueños se pelean con la suerte
Puede que el fracaso abra los ojos y despierte
Pero estoy preparado para los días salados
Cualquiera que camine se tiene que haber resbalado
Caí con todo el peso
Pero si es fuerte la caída más impresionante será mi regreso
Ya no corro, le salieron alas a mis botas
Mi cuerpo navega por el aire, ¡flota!
Voy contra todo, hago sudar al viento
Cada paso que doy va narrando un cuento
Hasta mis hazañas se asombran
La historia me persigue por que la convertí en sombra

Calle 13.

DEDICATORIAS

- A mi madre Martha Imelda †, gracias por todo lo que me diste, gracias por ser uno de mis ejemplos a seguir y apoyarme en todo momento. No tengo palabras para explicarte cuanto te quiero y cuanta falta me haces, ojalá estuvieras en este momento para ver el fruto de todos los años de esfuerzo. Todo esto es gracias a ti, desde donde estas me sigues inspirando y dando las fuerzas de crecer más y más.
- A mi padre Ramcés, gracias por estar conmigo, por ser mi padre y apoyarme. Eres y siempre serás un gran ejemplo para seguir, tu determinación a conseguir lo que te propones, así como tu sed de conocimiento siempre me influye a continuar explorando este gran universo de conocimiento.
- A mi tía Penny y mi tío Carlos por apoyarme incondicionalmente día a día, por guiarme y darme ánimos en esos días de la universidad donde me encontraba cansado y harto
- A mi hermanita Karla Fernanda, gracias por estar ahí en todo momento, por esas risas y regaños, que aunque hay veces que no te entiendo nada por nuestra brecha generacional sabes que siempre estaré ahí.
- A mis primos Ian y Denisse y mi tía Gloria, quienes forman parte fundamental de este crecimiento, gracias por todos los momentos que vivimos juntos.
- A la Familia Campos Gutiérrez, quienes a pesar de no ser mi familia directa siempre me contaron como uno mas de ellos, estuvieron al pendiente de mi y todo mi recorrido en esta aventura.
- A ti mi amor, Sabrina, quien en toda la carrera estuvo conmigo y nos ayudamos mutuamente, en todos los momentos difíciles de la carrera y ahora de la vida, gracias por todas esas risas y alegrías que compartimos, te amo inmensamente.
- A la Píldora (Olga, Sabrina, Jean y Adrián), gracias por todos los momentos de compartimos, por ser mis amigos y todas las desveladas y locuras que hicimos juntos, son unos grandes amigos.
- A los Chapulines (Bere, Carina, David y Nicib) y Paty, gracias por todo el relajo que echamos, por siempre apoyarnos entre todos y salvar los semestres de ultima hora. Se que siempre puedo contar con ustedes en todo momento.

- A mis amigos Connie, Alejandra, Alexis, Lizu, Mauricio, Enrique, Ana y Angie, aunque no los veo muy seguido o platicamos poco, se que siempre puedo contar con ustedes y contarles algo de la nada, gracias por todos los años de amistad que me han dado.
- Al Dr. Pablo, manito, muchas gracias por ser mi asesor y mi amigo, por ayudarme y escucharme, por todo el conocimiento que compartiste conmigo y los momentos de diversión. Eres una gran persona y profesor, sigue así Pablin con ese entusiasmo por querer enseñar a las nuevas generaciones sobre la química orgánica.
- Al Dr. Ángeles y la Dra. Ana María, gracias por brindarme la oportunidad y confianza para pertenecer al laboratorio, por la paciencia y conocimiento que me compartieron, son unas excelentes personas y académicos de las cuales hay que aprender muchísimo.
- A mis amigos del LQM (Pablón, Alex, Yoshi, Vic, Andrea, Erick, Omar, Mónica, Poncho, Eli, Emilio, Laura, Yahir) gracias por compartir esta etapa y conocimientos, ustedes hicieron mas ameno este proceso de todas las horas que pasamos en el laboratorio al día.
- A la FES Cuautitlán, por darme la oportunidad de estudiar en esta grandiosa facultad a la cual siempre le tendré un cariño especial.
- A mis maestros de carrera, quienes me formaron y dieron las bases de lo que hoy en día se, gracias por compartir su tiempo dándome conocimiento.
- A ti que te estas tomando el tiempo de leer este trabajo, espero que sea de tu agrado este trabajo y pueda contribuir un poco a tu curiosidad sobre estos temas que abordo.

Índice General

Índice General.....	1
Índice de Tablas	3
Índice de Figuras	4
Glosario de Compuestos Sintetizados	6
Abreviaturas y Acrónimos	7
Resumen.....	9
Abstract.....	10
1. Introducción.....	11
2. Antecedentes.....	13
2.1. COVID-19.....	13
2.1.1 Síntomas.....	13
2.1.2. Transmisión.	15
2.1.3. SARS-CoV-2.....	15
2.1.3.1 Variantes.....	16
2.1.4 Replicación del SARS-CoV-2.....	17
2.1.5. Proteasa Principal del SARS-CoV-2 (M ^{pro} 3CL).	19
2.1.6. Tratamientos experimentales con aprobación de emergencia.....	20
2.1.6.1. Paxlovid™.....	21
2.1.6.2. Remdesivir™.....	22
2.1.6.3. Lopinavir-Ritonavir (Kaletra™).....	23
2.1.6.4. Molnupiravir™.....	24
2.2 Ácido Cinámico.....	25
2.3 Preparación de Amidas.....	25
2.3.1. Conversión de ácidos carboxílicos en amidas.	26
2.3.2. Conversión de un cloruro de ácido en amida (Síntesis de Schotten-Baumann).	27
2.3.3. Conversión de un anhídrido en una amida.	28
2.3.4. Conversión de un éster en una amida (amoniólisis de un éster).	29
2.3.5. Hidrólisis de un nitrilo catalizada por una base.....	30
2.3.6. Litiación-ciclación dirigida por nitrógeno, con presencia de carbonatos.....	30
2.3.7. Reacción de Schmidt a partir de cetonas con ácido hidrazoico.....	31

2.3.8. Reordenamiento de Beckmann de oximas.....	31
2.3.9. Formación de amidas mediada por LiHMDS en condiciones de flujo continuo.	32
2.3.10. Síntesis de amidas α,β -insaturadas a partir de azidas de arilo.....	32
2.4. Técnicas espectroscópicas.....	33
2.4.1. Espectroscopia Infrarroja.....	34
2.4.2. Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear.....	35
2.4.3. Espectrometría de Masas.....	36
2.5. Química Computacional en el Diseño de Fármacos.....	37
2.6. Acoplamiento Molecular (Docking).....	38
2.7. Molecular Operating Environment (MOE).....	40
2.7.1. "Site Finder".....	41
2.7.2. Patrones de Interacción Proteína-Ligando (PLIF por sus siglas en inglés)....	43
2.8. Diagrama de Ramachandran.....	44
2.9. Desviación Cuadrática Media de las Posiciones Atómicas (RMSD por sus siglas en inglés).....	45
3. Justificación.....	46
4. Objetivos.....	47
4.1 Objetivo General.....	47
4.2 Objetivos particulares.....	47
5. Metodología.....	48
5.1. Síntesis de amidas.....	48
5.2. Determinación espectroscópica.....	49
5.3. Acoplamiento Molecular.....	50
6. Resultados y Discusión.....	51
6.1. Síntesis.....	51
6.2. Caracterización espectroscópica.....	53
6.3. Acoplamiento Molecular.....	56
7. Conclusiones.....	71
8. Prospectivas.....	72
9. Referencias.....	73
10. Anexos.....	79

Índice de Tablas

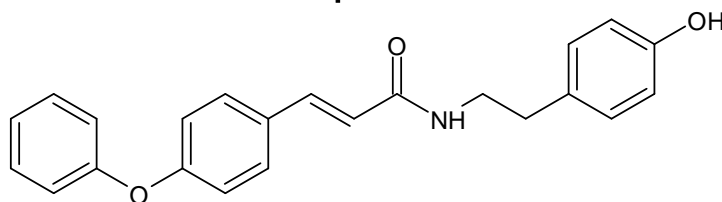
Tabla 1. Características fisicoquímicas del compuesto LQM 794.	51
Tabla 2. Características fisicoquímicas del compuesto LQM 795.	52
Tabla 3. Características fisicoquímicas del compuesto LQM 796.	52
Tabla 4. Características fisicoquímicas del compuesto LQM 797.	52
Tabla 5. Características fisicoquímicas del compuesto LQM 798.	53
Tabla 6. Resultados espectroscópicos IR, RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto LQM 794.	53
Tabla 7. Resultados espectroscópicos IR, RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto LQM 795.	54
Tabla 8. Resultados espectroscópicos IR, RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto LQM 796.	54
Tabla 9. Resultados espectroscópicos IR, RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto LQM 797.	55
Tabla 10. Resultados espectroscópicos IR, RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto LQM 798.	55
Tabla 11. M ^{pro} del SARS-CoV-2 seleccionadas presentes en el año 2022 para su evaluación de mutación y estabilidad.	56
Tabla 12. Reporte de residuos con valores atípicos encontrados en las diferentes M ^{pro} empleadas.	61
Tabla 13. Aminoácidos elegidos mediante “Site Finder” como posible sitio receptor en M ^{pro} 7ALH.	62
Tabla 14. Energías de interacción de los diferentes ligandos analizados.	63

Índice de Figuras

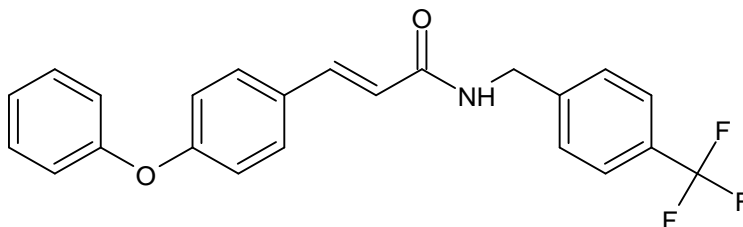
Fig 2. Mecanismo de replicación del virus SARS-CoV-2 en el cuerpo humano.....	18
Fig 3. Estructura cristalina de la M ^{pro} del SARS-CoV-2 Omicron en complejo con el inhibidor GC376.....	19
Fig 4. Estructura del Nirmatrelvir.....	21
Fig 5. Estructura del Ritonavir.....	21
Fig 6. Estructura del Remdesivir.....	22
Fig 7. Estructura del Lopinavir.....	23
Fig 8. Estructura del Molnupiravir™.....	24
Fig 9. Estructura del ácido cinámico.....	25
Fig 10. Clasificación de aminas dependiendo de la cantidad de radicales sustituidos.....	26
Fig 11. Síntesis directa de amidas.....	26
Fig 12. Mecanismo de reacción de conversión de un cloruro de ácido en amida.....	27
Fig 14. Mecanismo de reacción de conversión de un éster en una amida.....	29
Fig 15. Mecanismo de reacción de la hidrólisis de un nitrilo catalizada por una base.....	30
Fig 16. Reacción de Litiación-ciclación dirigida por nitrógeno.....	30
Fig 17. Mecanismo de reacción de Schmidt a partir de cetonas con ácido hidrazoico.....	31
Fig 18. Reacción de reordenamiento de Beckmann.....	31
Fig 20. Formación de amidas mediada por LiHMDS.....	32
Fig 21. Síntesis de amidas α,β -insaturadas a partir de azidas de arilo.....	32
Fig 22. Regiones del espectro electromagnético.....	33
Fig 23. Diagrama de un espectrofotómetro de Infrarrojo.....	35
Fig 24. Diagrama de un espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear.....	36
Fig 25. Ejemplificación del “Docking” Molecular mediante el modelo “Llave-Cerradura” ..	39
Fig 26. Panel de control de Site Finder de MOE.....	42
Fig 27. Panel de resultados de PLIF en MOE.....	43
Fig 28. Ejemplo de Diagrama de Ramachandran.....	44
Fig 29. Síntesis de amidas derivadas del ácido cinámico con fenetilaminas y bencilaminas sustituidas.....	48
Fig 30. Alineación y superposición de los M ^{pro} estudiadas.....	57
Fig 31. Matriz de similitud de 24 diferentes M ^{pro} reportadas en PDB.....	58
Fig 32. Comparación de RMSD entre las diferentes M ^{pro} empleadas.....	59
Fig 33. Comparativo de Diagramas de Ramachandran.....	60
Fig 34. Estructura cristalina de la M ^{pro} del SARS-CoV-2 con código PDB 7ALH.....	61

Fig 35. Posibles sitios receptores por medio de "Site Finder" de 7ALH.	62
Fig 36. Clúster de interacciones del LQM 794 con el sitio receptor.	64
Fig 37. Clúster de interacciones del LQM 797 con el sitio receptor.	65
Fig 38. Clúster de interacciones de Nirmatrelvir con el sitio receptor.	65
Fig 39. PLIF de la M ^{pro} 7ALH frente al LQM 794.	66
Fig 40. Interacciones del LQM 794 con los aminoácidos de la M ^{pro} 7ALH.	67
Fig 41. PLIF de la M ^{pro} 7ALH frente al LQM 797.	68
Fig 42. Interacciones del LQM 797 con los aminoácidos de la M ^{pro} 7ALH.	68
Fig 43. PLIF de la M ^{pro} 7ALH frente al Nirmaltrelvir.	69
Fig 44. Interacciones del Nirmatrelvir con los aminoácidos de la M ^{pro} 7ALH.	70

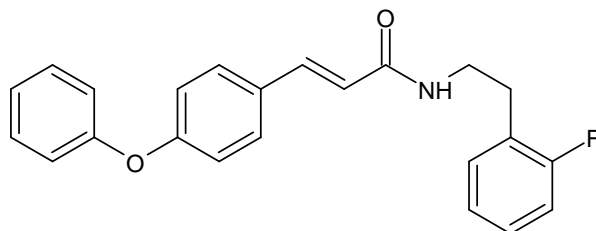
Glosario de Compuestos Sintetizados



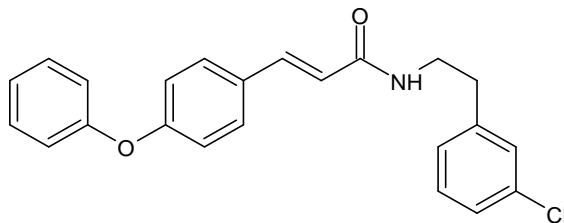
(2E)-3-(4-fenoxifenil)-N-(4-hidroxifeniletíl)prop-2-enamida.
Clave: LQM 794.



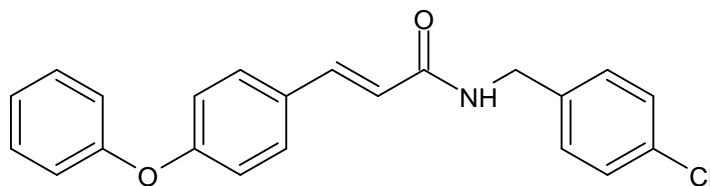
(2E)-3-(4-fenoxifenil)-N-(4-(trifluorometil)bencil)prop-2-enamida.
Clave: LQM 795.



(2E)-3-(4-fenoxifenil)-N-(2-fluorfeniletíl)prop-2-enamida.
Clave: LQM 796.



(2E)-N-(3-clorofeniletíl)-3-(4-fenoxifenil)prop-2-enamida.
Clave: LQM 797.



(2E)-N-(4-clorobencil)-3-(4-fenoxifenil)prop-2-enamida.
Clave: LQM 798.

Abreviaturas y Acrónimos

°C	Grados Centígrados.
2019-nCoV	2019 Novel Coronavirus.
3CLpro	Proteasa similar a la quimotripsina tipo 3.
Å	Angstrom.
ACE2	Enzima Convertidora de Angiotensina 2.
AcOEt	Acetato de Etilo.
ARG	Arginina.
ARN	Ácido ribonucleico.
ASN	Asparagina.
BuLi	N-butil-litio.
CADD	Diseño de Fármacos Asistido por Ordenador (Por sus siglas en inglés).
CAPA	Amida Fenilico del del Ácido Cafeico.
CCF	Cromatografía en Capa Fina.
cm	Centímetros.
COVID-19	Enfermedad del Coronavirus 2019.
CoV-SRAG-2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2.
CYP3A	Citocromo P450 3A4.
CYS	Cisteína.
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida.
DMSO-d6	Dimetilsulfóxido Deuterado.
EPOC	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.
Et ₂ O	Éter etílico.
EE. UU	Estados Unidos de América.
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos.
g	Gramos.
GLN	Glutamina.
GLU	Ácido Glutámico.
GLY	Glicina.
HHS	Departamento de Salud y Servicios Humanos.
HIS	Histidina.
Hz	Hertz.
IR	Infrarrojo.
LEU	Leucina.
LiHMDS	Hexametildisilazano de litio.
MERS-CoV	Coronavirus del Síndrome Respiratorio de Oriente Medio.
MET	Metionina.
MOE	Molecular Operating Environment.
M ^{pro}	Proteasa principal.

NHC	N4-hidroxicitidina.
NHC-TP	NHC-Trifosfato.
nm	Nanómetro.
nsp12	ARN polimerasa dependiente de ARN de la proteína no estructural 12.
NSPS	Proteínas No Estructurales.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
PDB	Banco de Datos de Proteínas (Por sus siglas en inglés).
PLB	Unión de Proteína-Ligando (Por sus siglas en inglés).
PLIF	Patrones de Interacción Proteína-Ligando (Por sus siglas en inglés).
PL _{pro}	Proteasa similar a la papaína.
ppm	Partes Por Millón.
PRO	Prolina.
RaTG13	Beta coronavirus RaTG13 de murciélago.
RdRp	RNA polimerasa dependiente de RNA.
RE	Retículo Endoplasmático.
RMN	Resonancia Magnética Nuclear.
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear ¹³ C.
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear ¹ H.
RMSD	Desviación Cuadrática Media de las Posiciones Atómicas
RMYN02	Coronavirus RMYN02 de murciélago.
RTC	Complejo Replicasa Transcriptasa.
SAR	Relación Estructura-Actividad.
SARS-CoV-2	Coronavirus 2 del Síndrome Respiratorio Agudo Severo.
SER	Serina.
SIG	Grupo Inter agencias del SARS-CoV-2.
<i>t</i> -BuLi	<i>Ter</i> -butil-litio.
THF	Tetrahidrofurano.
THR	Treonina.
VBM	Variante Bajo Monitoreo.
VHS-2	Virus del Herpes Simple tipo 2.
VIH-1	Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 1.
VOC	Variantes de Preocupación.
VOI	Variantes de Interés.

Resumen

El presente trabajo fue desarrollado como una respuesta frente a la pandemia de la COVID-19 causada por el virus SARS-CoV-2 que afecta al mundo desde el 2019, y además de la necesidad de contar con posibles moléculas que actúen como fármacos que ayuden a mitigar los efectos sobre la población vulnerable a este virus debido a la poca cantidad y especificidad de moléculas antivirales que se tienen en la actualidad. Se busca que las nuevas moléculas que se desarrollaron tengan actividad inhibitoria de la M^{pro} del SARS-CoV-2 (entre otras actividades) ya que dicha proteasa se visualiza como un blanco terapéutico contra este virus.

Esta tesis fue desarrollada en el Laboratorio de Química Medicinal y Teórica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, bajo la supervisión del Dr. Enrique Ángeles Anguiano y el Dr. Pablo Arturo Martínez Soriano.

Se aborda la síntesis de cinco nuevas amidas derivadas del ácido cinámico (CAPA), mediante el uso de luz infrarroja y en ausencia de disolventes. Las moléculas fueron caracterizadas mediante espectroscopia IR y RMN (¹H y ¹³C) y espectrometría de masas con el fin de elucidar su estructura.

Se obtuvieron 24 proteínas del año 2022 llamadas M^{pro} mediante la página Protein Data Bank (www.rcsb.org) para validar su estructura mediante el programa Molecular Operating Environment (MOE), permitiéndonos confirmar que esta proteasa no se ve afectada por mutaciones que impidan que cambie su sitio de inhibición

Finalmente se realizó un acoplamiento molecular de las cinco amidas sintetizadas (LQM 794-798) y cinco medicamentos con aprobación de emergencia contra el SARS-CoV-2 frente a la M^{pro} para evaluar la posible inhibición de esta proteasa.

Abstract

The present work was developed as a response to the COVID-19 pandemic caused by the SARS-CoV-2 virus that has been affecting the world since 2019, it also arises from the need to have potential molecules that act as drugs to help mitigate the effects on the population vulnerable to this virus, due to the limited quantity and specificity of antiviral molecules currently available. The aim is for the newly developed molecules to have inhibitory activity against the M^{pro} of SARS-CoV-2 (among other activities), as this protease is envisioned as a therapeutic target against this virus.

This thesis was developed in the Laboratory of Medicinal and Theoretical Chemistry at the Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, under the supervision of Dr. Enrique Ángeles Anguiano and Dr. Pablo Arturo Martínez Soriano.

The synthesis of five new amides derived from cinnamic acid (CAPA) is addressed using infrared light and in the absence of solvents. The molecules were characterized using IR, (¹H and ¹³C NMR) spectroscopy, and mass spectrometry in order to elucidate their structure.

Twenty-four proteins from the year 2022 called M^{pro} were obtained from the Protein Data Bank (www.rcsb.org) to validate their structure using the Molecular Operating Environment (MOE) program, allowing us to confirm that this protease is not affected by mutations that prevent its inhibition site from changing.

Finally, a molecular docking of the five synthesized amides (LQM 794-798) and five emergency-approved drugs against SARS-CoV-2 was performed against M^{pro} to evaluate possible inhibition of this protease.

1. Introducción

En el Laboratorio de Química Medicinal y Teórica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán se busca desarrollar nuevas moléculas las cuales tengan posible actividad biológica como inhibidor de la proteasa M^{pro} del SARS-CoV-2, las cuales puedan ser utilizadas como antivirales. Este trabajo de tesis pretende obtener nuevas moléculas las cuales sean amidas derivadas del ácido cinámico, las cuales tengan una actividad antiviral, con procesos de síntesis cortos, que puedan ayudar a generarse de una manera rápida y económica, lo que contribuye a tener acceso a un tratamiento eficaz y económico al usuario final.

La COVID-19 es una enfermedad respiratoria causada por el virus SARS-CoV-2, teniendo síntomas muy parecidos al de la influenza, sin embargo, en personas con ciertas comorbilidades asociadas, así como adultos mayores, pueden desarrollar casos graves que provocan la muerte.¹ Aunado a esto, esta enfermedad tiene una alta tasa de contagio, por lo que en marzo del 2020 fue declarada pandemia por la OMS.²

Esta situación sanitaria ha llevado a un gran número de defunciones a nivel global, teniendo un estimado de 7,5 millones de muertos a principios de enero de 2023 y tan solo en México se tienen registros hasta mediados de enero de 2023 de 324,033 muertes confirmadas por esta enfermedad.³

Debido a la necesidad de contar con fármacos que ayuden a enfrentar este nuevo virus, la investigación y desarrollo de estos se aceleró de una manera nunca vista en la historia. Sin embargo, a más de dos años de que se declaró un estado de emergencia por pandemia, la cantidad de nuevos fármacos antivirales es limitada debido a la rápida mutación que tienen algunos virus y a la especificidad de los antivirales existentes, la poca disponibilidad de dianas propias del virus, la falta de modelos animales experimentales que puedan imitar a un hospedero humano, lo que desencadena un uso de recursos desmedidos en investigación, tanto económicos como de tiempo y capital humano.⁴

Actualmente se cuentan con algunos tratamientos experimentales con aprobación de emergencia, como los siguientes:

- Paxlovid™ (Nirmatrelvir-Ritonavir)
- Remdesivir™.
- Kaletra™ (Lopinavir-Ritonavir).
- Molnupiravir™.

Los medicamentos mencionados anteriormente funcionan de diferente manera, por ejemplo, el Paxlovid™ es un medicamento de terapia combinada, en el cual su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la M^{pro} del SARS-CoV-2, por otro lado, el Remdesivir™ inhibe la ARN polimerasa ARN-dependiente (RdRp) del SARS-CoV-2, mientras que Kaletra™ emplea un inhibidor de la proteasa VIH-1 aunque se cree que también afecta a la M^{pro}. Finalmente, el Molnupiravir™ genera errores en el genoma viral que da lugar a la inhibición de la replicación.

Siguiendo la línea de estudios que se han realizado en los últimos meses sobre los fármacos en desarrollo o que se estudian para reposicionamiento contra dianas blanco del SARS-CoV-2, se ha observado que la M^{pro} del SARS-CoV-2 (M^{pro} 3CL) tiene una alta conservación en las secuencias genómicas entre las diferentes cepas del virus que existen, por lo que esto se ha convertido en uno de los objetivos más viables y atractivos de los nuevos fármacos contra el virus del SARS-CoV-2.⁵

Debido a los altos costos relacionados al desarrollar nuevos fármacos, se ha buscado el apoyo de modelos de “Química computacional”; estos modelos computacionales han evolucionado enormemente con el paso de los años, por lo que se han ido apegando lentamente pero de manera constante a los sistemas reales.⁶ El Diseño de Fármacos Asistido por Ordenador (CADD por sus siglas en inglés) se basa la búsqueda de nuevos compuestos con actividad biológica, sobre una base sistemática y racional. Esta base es la información experimental de la diana molecular pretendida o de una biomolécula similar y/o ligantes conocidos de dicha diana.⁷

2. Antecedentes

2.1. COVID-19.

Durante diciembre del 2019 se observó la aparición y propagación de un nuevo tipo de coronavirus (SARS-CoV-2) en tres pacientes con neumonía que presentó una conexión con el grupo de casos de enfermedades respiratorias agudas en la región de Wuhan, China.² La nueva enfermedad se denominó COVID-19 (Enfermedad por Coronavirus 2019) la cual presentó una rápida evolución y altas tasas de contagio, de forma que, el 30 de enero del 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró a la COVID-19 como la sexta emergencia de salud pública de importancia internacional; el 12 de marzo del 2020 este brote fue declarado pandemia.⁸

Para el 5 de enero de 2023, se habían informado más de 662.48 millones de casos de COVID-19 en todo el mundo y más de 7,5 millones de personas habían fallecido.⁸ En México, hasta el 15 de enero de 2023 los casos positivos confirmados fueron de 7,314,891 y 331,595 defunciones a causa de esta enfermedad.³

2.1.1 Síntomas.

La COVID-19 causa, en la mayoría de las personas, una enfermedad respiratoria leve con síntomas similares a la influenza, sin embargo, en los adultos mayores o personas con ciertas enfermedades preexistentes (diabetes, obesidad, hipertensión, asma, EPOC, cáncer, cardiopatías, sistema inmune debilitado, entre otras) desarrollan casos graves. En algunas personas pueden no existir síntomas en absoluto, denominados “casos asintomáticos”, pero pueden contagiar a las personas con las que conviven (transmisión asintomática) y, por otro lado, existen personas las cuales presentan cuadros agudos de disnea, neumonía e incluso síndrome multisistémico inflamatorio (este síndrome presentado en niños).¹

Debido a que la COVID-19 afecta de manera diferente a cada persona, es necesario estar atento a los siguientes síntomas, los cuales suelen aparecer en un intervalo de 2 a 14 días después de la exposición al virus:⁹

- Fiebre o escalofríos.
- Tos.
- Fatiga.

- Perdida del gusto y/o olfato.
- Disnea.
- Dolores musculares o corporales.
- Dolor de cabeza.
- Dolor de garganta.
- Congestión o secreción nasal.
- Nauseas o vómitos.
- Diarrea.

Los síntomas tienen un curso de cinco a seis días en promedio hasta desaparecer, pero pueden permanecer hasta 14 días o más, no obstante, en numerosos pacientes, existe la persistencia de síntomas que surgen durante o después de padecer COVID-19 (incluso en personas que originalmente fueron asintomáticos). Estos síntomas pueden permanecer más de 12 semanas por lo que se denominó a este trastorno como síndrome Post-COVID-19 o COVID persistente. Los síntomas principales de este síndrome son:¹⁰

- Fatiga.
- Dificultad para pensar o concentrarse (“niebla mental” o brain fog).
- Cefalea.
- Pérdida del gusto o del olfato.
- Mareo en bipedestación.
- Palpitaciones.
- Disnea.
- Tos.
- Dolor muscular o de las articulaciones.
- Ansiedad y/o depresión.
- Fiebre.

2.1.2. Transmisión.

El método de propagación de la COVID-19 inicia con una persona infectada, esta exhala pequeñas gotas y partículas respiratorias que contienen al virus SARS-CoV-2 cuando esta tose o estornuda. Estas gotas o partículas pueden ser inhaladas directamente por una persona sana o depositarse sobre ojos, nariz, boca o depósitos en materiales o estructuras, conocidos como fómites. La importancia del lavado de manos radica en que las manos pueden estar contaminadas con el virus y al tocarse ojos, nariz o boca este pueda acceder al sistema respiratorio.¹¹

2.1.3. SARS-CoV-2.

El virus SARS-CoV-2, también llamado inicialmente coronavirus 2019-nCoV, coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave de tipo 2 y CoV-SRAG-2 es un virus de la familia de los *Coronaviridae*, los cuales infectan a los seres humanos y a algunos animales.¹² La secuencia genómica del SARS-CoV-2 muestra que tiene alrededor del 80% de similitud frente al SARS-CoV y alrededor del 50% con el MERS-CoV.¹³

Se han encontrado virus estrechamente relacionados en murciélagos del género *Rhinolophus*, en particular RaTG13 y RMYN02, que comparten respectivamente un 96,3 % y un 93 % de identidad de nucleótidos con el SARS CoV-2, por lo que una hipótesis es posible que esta enfermedad provenga de los murciélagos.¹⁴

El virión del SARS-CoV-2 tiene una apariencia de corona solar, con un diámetro que varía entre los 60 a 140 nm, además de tener espigas o “*spikes*” con una longitud de entre 8 a 12 nm. Este virus consiste en una nucleocápside, cuya función es proteger al material genético viral y una envoltura externa. En la envoltura externa, se encuentran proteínas estructurales principales denominadas: proteína “*Spike*” (Proteína S), proteína de membrana y proteína de envoltura, además de otras proteínas accesorias.¹⁵

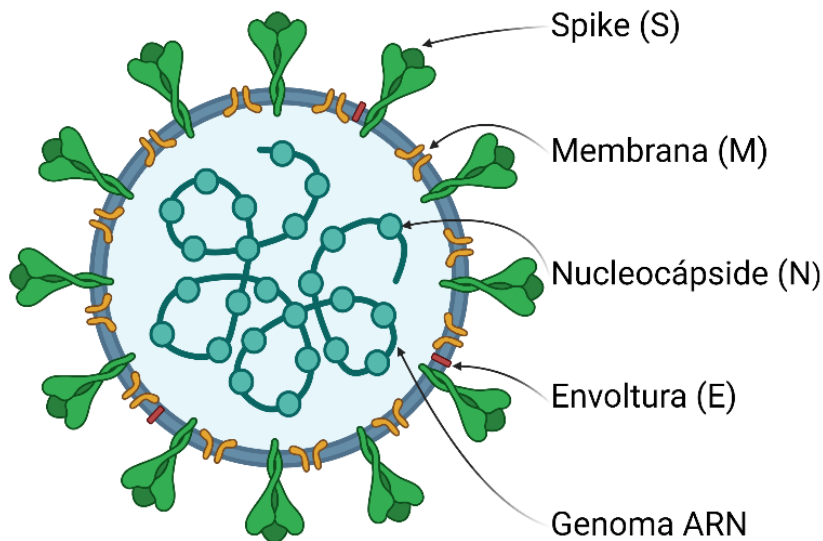


Fig 1. Estructura del virus del SARS-CoV-2 (Imagen creada en BioRender.com).

2.1.3.1 Variantes

Debido a las mutaciones genéticas o la recombinación viral, el virus del SARS-CoV-2 sufre cambios en su código genético. Una variante tiene una o más mutaciones que la diferencian de las otras variantes del virus del SARS-CoV-2. Un recombinante es una variante creada por la combinación de material genético de dos variantes diferentes¹⁶, un ejemplo de estos son las variantes Delta y Ómicron (esta última considerada altamente transmisible) donde ha sido reportado que contienen más de 30 mutaciones en la proteína Spike.^{17,18}

El Departamento de Salud y Servicios Humanos (HHS) de los EE. UU. estableció un grupo entre agencias (SIG) para estudiar el SARS-CoV-2, el cual ha realizado una clasificación de las variantes con base en sus atributos.

- **Variante Bajo Monitoreo (VBM):** Estas variantes son aquellas en las cuales existe un impacto claro y potencial sobre las contramedidas o han estado asociadas a casos de enfermedad más grave o a una mayor transmisión, pero ya no se detectan o su propagación es muy baja en la actualidad. Estas no representan un riesgo significativo e inminente para la salud pública. Las variantes son: Alfa, Beta, Gamma, Delta, Epsilon, Eta, Iota, Kappa, Zeta y Mu.¹⁶

- **Variantes de Interés (VOI):** Estas variantes tienen marcadores genéticos específicos a los que se ha asociado a cambios en la unión al receptor, una menor neutralización por los anticuerpos generados contra una infección anterior o la vacunación, una menor eficacia de los tratamientos, el posible impacto del diagnóstico, o el aumento pronosticado en la transmisibilidad o gravedad de la enfermedad.¹⁶
- **Variantes de Preocupación (VOC):** Las variantes VOC tienen una mayor transmisibilidad, casos más graves de enfermedad, reducción significativa en la neutralización por los anticuerpos generados durante una infección anterior o la vacunación, menor efectividad de los tratamientos o las vacunas, o fallas de detección de diagnóstico. Actualmente las variantes de preocupación son: Delta y Omicron.¹⁶

2.1.4 Replicación del SARS-CoV-2.

La replicación viral, es la forma en la que los virus se multiplican dentro de una célula y requiere de varios eventos, una vez que encontró su célula blanco. El método de entrada del SARS-CoV-2 a la célula hospedera es por medio del acoplamiento de la proteína S del virus a la glicoproteína de membrana ACE2 (Enzima Convertidora de Angiotensina 2) en el alvéolo pulmonar, lo que produce la entrada de la nucleocápside en el citoplasma pulmonar e iniciando el proceso de fusión.¹⁹ El receptor ACE2 se expresa principalmente en los pulmones, riñones y el intestino.²⁰

Al finalizar la fusión del virus con la membrana celular, el ARN viral se libera en el citoplasma y se “desnuda” para permitir la formación de las poliproteínas (pp) 1a y 1ab, la transcripción de los ARNs subgenómicos y replicación del genoma viral.¹⁹ Estas poliproteínas son procesadas proteolíticamente por enzimas proteasas como quimiotripsina codificada viralmente (3CLpro), proteasa principal (M^{pro}) y una o dos proteasas similares a la papaína, lo que da lugar a la producción de las 16 proteínas no estructurales (NSPs). Las NSPs son necesarias para formar el llamado complejo replicasa transcriptasa (RTC), el cual, es ensamblado a vesículas de doble membrana originadas a partir del retículo endoplasmático (RE), así mismo la mayoría de estas están implicadas en la replicación y transcripción genómica del virus ejerciendo actividades enzimáticas de tipo proteasa, RNA polimerasa

dependiente de RNA (RdRp), helicasa, exorribonucleasa, endorribonucleasa y metiltransferasa.¹⁵

Posteriormente también se sintetizan proteínas estructurales (SP) que dan origen a la estructura viral madura (proteínas de cápside y envoltura) y material genético RNA. Las glicoproteínas de envoltura recién formadas se insertan en el retículo endoplásmico rugoso o en las membranas de Golgi. Consecutivamente, el ARN mensajero y las proteínas de nucleocápside se combinan para formar los viriones. Las partículas virales recién formadas entonces brotan dentro del compartimento intermedio Retículo Endoplásmico-Golgi. De este compartimento, las vesículas que contienen los viriones emergen y migran hacia la membrana plasmática celular con la cual se fusionan, armando así las partículas virales completas. Una vez estructuradas, las partículas virales son liberadas por la célula y proceden a infectar nuevas células.¹⁹

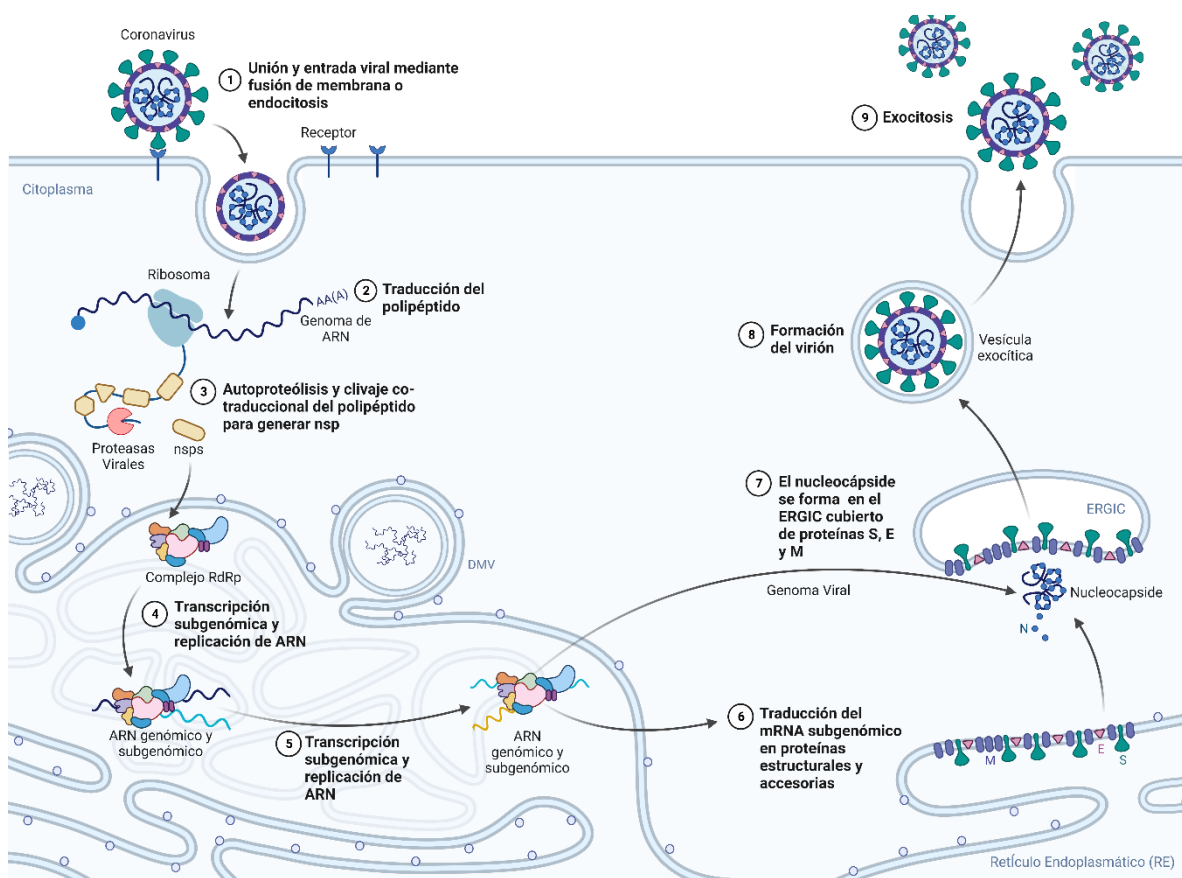


Fig 2. Mecanismo de replicación del virus SARS-CoV-2 en el cuerpo humano (Imagen generada con BioRender.com)

2.1.5. Proteasa Principal del SARS-CoV-2 (M^{pro} 3CL).

La Proteasa Principal del SARS-CoV-2 también llamada M^{pro} 3CL es una enzima crítica en el ciclo de replicación del virus ya que esta da origen a proteínas no estructurales las cuales son cruciales para la replicación del genoma y proteínas estructurales y por lo tanto, la producción de viriones de coronavirus.²¹ Al ingresar el virus a la célula y tomar la maquinaria metabólica, se produce la proteína S la cual une al receptor ACE2 de la célula y es necesaria para el ingreso del virus, el ARN del SARS-CoV-2 se unirá directamente al ribosoma del hospedador y producirá dos proteínas de alto peso molecular (pp1a y pp1ab), que luego se procesan mediante proteólisis en componentes para empaquetar nuevos viriones, dicha proteólisis está controlada por las dos proteasas, la Proteasa Principal (M^{pro}) y la Proteasa tipo Papaína (PL^{pro}).²²

Debido a la alta conservación en su secuencia entre las diferentes cepas del SARS-CoV-2, así como la ausencia de análogos funcionales en el proteoma humano la M^{pro} 3CL es uno de los objetivos virales más atractivos para el desarrollo de fármacos antivirales contra el SARS-CoV-2, ya que su inhibición puede detener la producción de partículas virales y detener así el progreso de la enfermedad.^{5,23}



Fig 3. Estructura cristalina de la M^{pro} del SARS-CoV-2 Omicron en complejo con el inhibidor GC376.²³

2.1.6. Tratamientos experimentales con aprobación de emergencia.

La pandemia provocada por la COVID-19 aceleró de una forma nunca vista en la historia del desarrollo de medicamentos en búsqueda de un tratamiento eficiente para afrontar esta nueva enfermedad. Tras dos años de pandemia, el número de moléculas de pequeño peso molecular candidatas como antiviral contra el SARS-CoV-2 son escasas y en su mayoría se está realizando un enfoque de reposicionamiento de fármacos en fases avanzadas de desarrollo ya que la aprobación de un fármaco conlleva un tiempo 12 a 15 años y millones de dólares.⁴

Las terapias contra el SARS-CoV-2 se engloban en dos clases: antivirales de acción directa y terapias dirigidas al hospedero. Los antivirales de acción directa son aquellas terapias que se dirigen a componentes del virus e inhiben su replicación. Para que estos antivirales de acción directa sean eficaces, deben administrarse en una fase temprana de la infección, antes de que el virus alcance su pico de replicación, por lo que se utilizan para prevenir la progresión de la enfermedad grave. Por otro lado, las terapias dirigidas al hospedero se dirigen a componentes de la célula hospedera necesarios para la replicación del virus o tienen como objetivo amortiguar la respuesta inflamatoria desregulada por la infección.²⁴

En la actualidad se cuentan con pocos fármacos con una actividad antiviral y es que el desarrollo de estos se ve limitado por varias variantes como lo son la rápida mutación de los virus, las pocas dianas propias del virus, la ventana de tiempo para la administración del medicamento y conservar su eficacia, así como la falta de modelos animales o celulares experimentales que puedan imitar realmente a un hospedero humano.⁴

2.1.6.1. Paxlovid™.

Paxlovid™ es un fármaco de terapia combinada desarrollado por Pfizer®, en presentación de tabletas de Nirmatrelvir (PF-07321332) empaquetadas junto con tabletas de Ritonavir, las cuales deben de tomarse al mismo tiempo. La Administración de Drogas y Alimentos de los EE. UU. (FDA) emitió una autorización de uso de emergencia en Estados Unidos de América para el uso de emergencia de Paxlovid™ en el tratamiento de la COVID-19 de leve a moderada en adultos, pacientes pediátricos y aquellos que tienen un alto riesgo de progresión a COVID-19 grave, incluida la hospitalización o la muerte. El Nirmatrelvir es un inhibidor de la M^{pro} del SARS-CoV-2 y el Ritonavir es un inhibidor de la proteasa del VIH-1 y un inhibidor de Citocromo P450 3A4 (CYP3A).²⁵

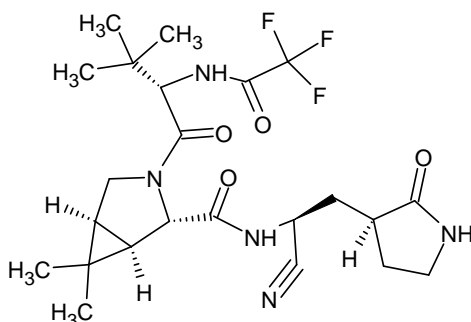


Fig 4. Estructura del Nirmatrelvir.

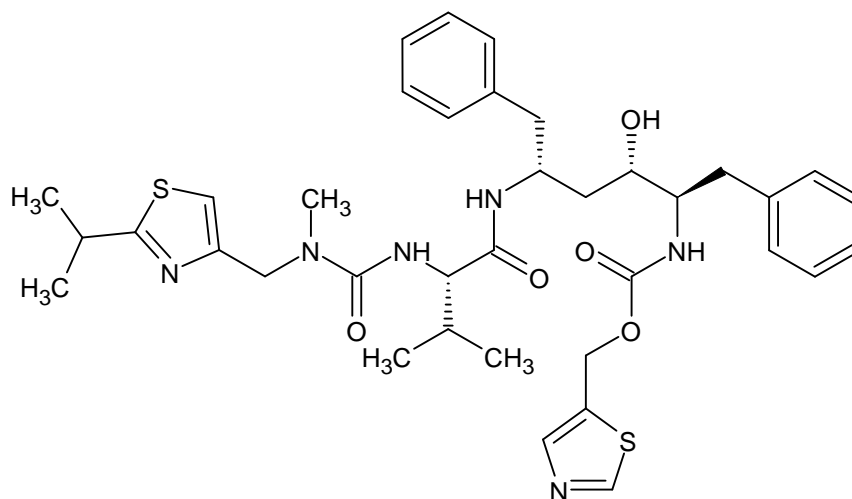


Fig 5. Estructura del Ritonavir.

2.1.6.2. Remdesivir™.

Este es un profármaco monofosforamídico del nucleósido GS-441524, desarrollado originalmente para tratar las infecciones por el virus del Ébola, inhibe la ARN polimerasa ARN-dependiente (RdRp) del SARS-CoV-2. Fue el primer antiviral aprobado o autorizado para uso de emergencia para tratar el COVID-19 en varios países. Remdesivir™ mejora los resultados clínicos de los pacientes hospitalizados con enfermedad de moderada a grave y previene el progreso de la enfermedad en pacientes ambulatorios.²⁶

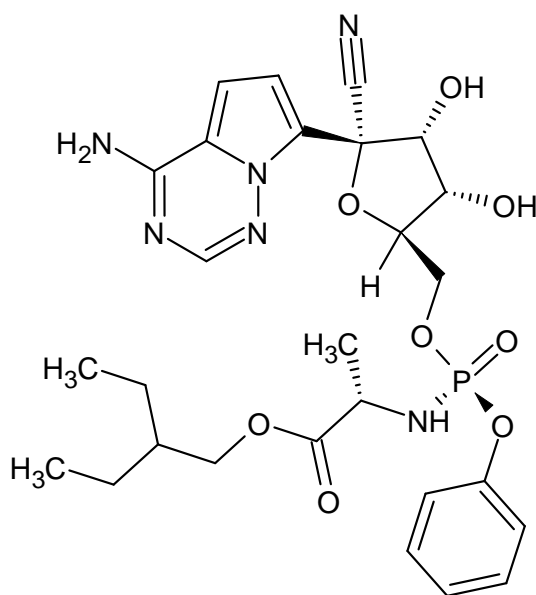


Fig 6. Estructura del Remdesivir.

2.1.6.4. Molnupiravir™.

Molnupiravir™ es el tratamiento ofrecido por la farmacéutica estadounidense Merck®; este fármaco se metaboliza en el análogo nucleósido de la citidina, NHC (por las siglas en inglés para *N*4-hidroxicitidina), que se distribuye en las células donde el NHC se fosforila para formar el ribonucleósido trifosfato farmacológicamente activo (NHC-TP). La incorporación del NHC-TP (como NHC-monofosfato [NHC-MP]) en el ARN del SARS-CoV-2 por parte de la ARN polimerasa viral (nsp12) da lugar a una acumulación de errores en el genoma viral que conduce a la inhibición de la replicación.²⁸

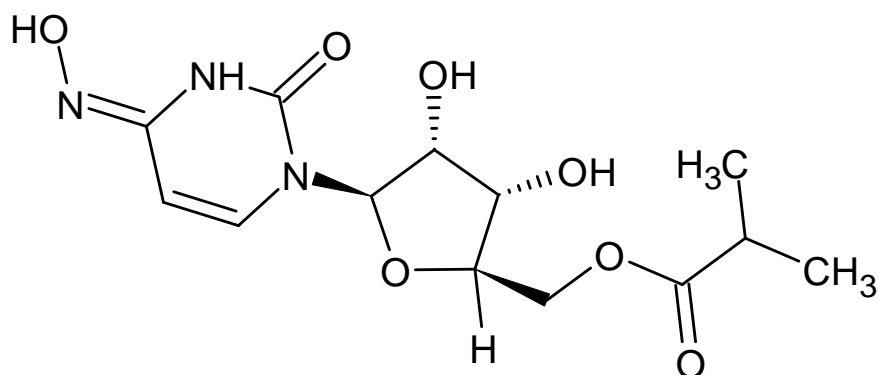


Fig 8. Estructura del Molnupiravir™.

2.2 Ácido Cinámico.

El ácido cinámico o ácido (*E*)-3-fenil-2-propenoico es un sólido de un color blanco aperlado claro, de fórmula molecular $C_9H_8O_2$ y peso molecular de 148.16 g/mol, cuenta con un intervalo de punto de fusión reportado de 131-136° C, este es aislado principalmente de la canela y otras fuentes.²⁹ Este ácido está formado de un anillo de benceno, y un ácido propenoico. Debido a la posibilidad de modificar su estructura con una variedad de compuestos, los ácidos cinámicos se han explorado activamente para mejorar su eficacia biológica.³⁰

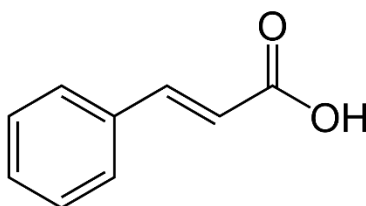


Fig 9. Estructura del ácido cinámico.

El ácido cinámico, así como sus derivados es conocido por sus propiedades antioxidantes, antitumorales, antibacterianas y antimicóticas ³¹, además de contar con efectos protectores del sistema nervioso y sistema cardiovascular, así como actividad antiviral teniendo un efecto inhibitor específico sobre VHS-2, virus de la varicela-zóster, citomegalovirus y VIH-1.³²

2.3 Preparación de Amidas.

Cuando se tiene un ácido carboxílico y el grupo hidroxilo (-OH) es sustituido por un grupo amino (-NH₂) surge una amida primaria (RCONH₂). Si a esta amida primaria se le reemplazan uno o ambos hidrógenos con otros radicales orgánicos (R') se denomina secundaria o terciaria, respectivamente. Debido a la posibilidad de enlaces de hidrógeno intermoleculares, todas las amidas simples (excepto la formamida, que es un líquido) son sólidos de punto de fusión relativamente bajo que son estables, solo los de bajo peso molecular son solubles en agua. Las amidas se utilizan a menudo en la identificación de ácidos carboxílicos desconocidos en análisis cualitativos.³³

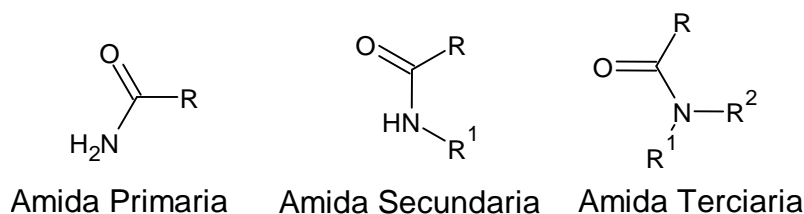


Fig 10. Clasificación de aminas dependiendo de la cantidad de radicales sustituidos.

Las amidas de los ácidos carboxílicos lineales de cadena larga se utilizan ampliamente como agentes impermeabilizantes, aditivos lubricantes, detergentes, emulsionantes y agentes humectantes. Otras amidas tienen presencia en los seres vivos (péptidos), productos farmacéuticos y polímeros.³³

2.3.1. Conversión de ácidos carboxílicos en amidas.

La síntesis de amidas puede darse directamente partiendo de ácidos carboxílicos, utilizando calor para separar el agua y forzar que la reacción se complete, lo que se conoce como pirólisis. La reacción inicia con la formación de una sal de carboxilato de amonio, el cual se produce en la reacción inicial. El ion carboxilato es un electrófilo pobre y el ion amonio no es nucleofílico, por lo que la reacción se detiene en este punto. Al calentar esta sal por arriba de los 100 °C lleva a cabo una deshidratación y forma una amida. Este proceso de formación directa es ampliamente utilizado en la industria.^{34,35}

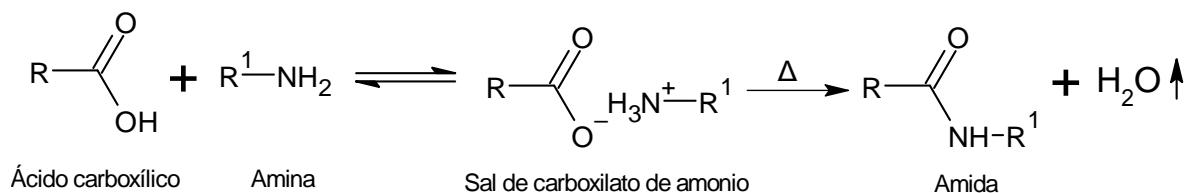


Fig 11. Síntesis directa de amidas.

2.3.2. Conversión de un cloruro de ácido en amida (Síntesis de Schotten-Baumann).

La conversión de un cloruro de ácido en amida es llevada a cabo mediante un proceso de adición-eliminación, ya que los cloruros de ácido reaccionan con rapidez con amoníaco y aminas para formar amidas. Dicha reacción provoca la generación de ácido clorhídrico, el cual puede protonar a la amina usada como materia prima, por lo que se requiere un exceso de la amina (2:1) o del uso de aminas no nucleofílicas o básicas, como la trietilamina que precipita al reaccionar con el HCl que se produce en la reacción.³⁴

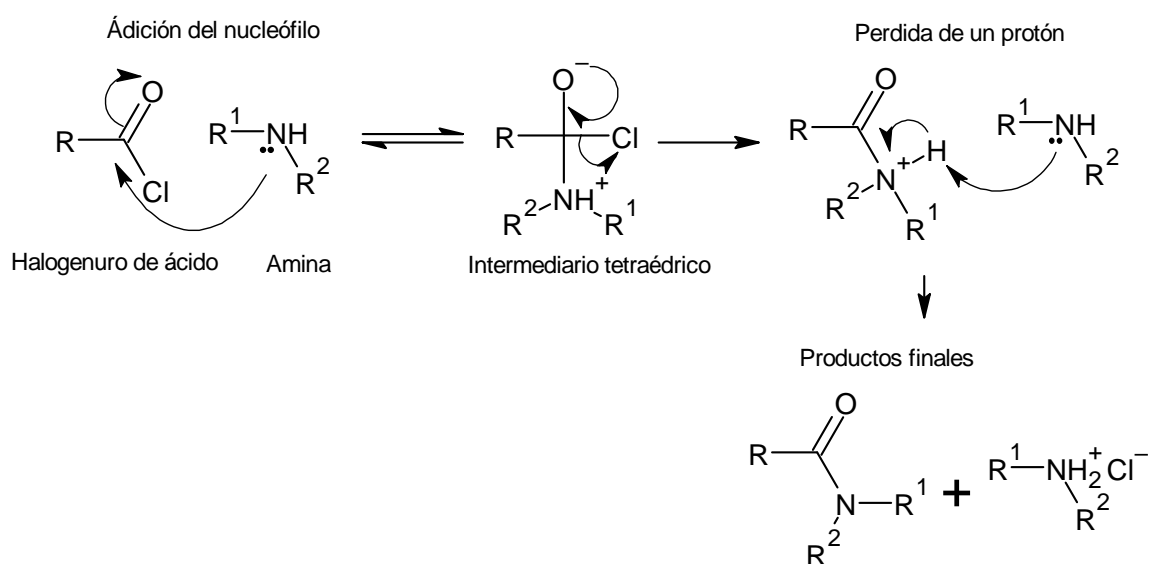


Fig 12. Mecanismo de reacción de conversión de un cloruro de ácido en amida.

2.3.3. Conversión de un anhídrido en una amida.

Los anhídridos reaccionan con una amina primaria para formar una amida secundaria, y con una amina secundaria para formar una amida terciaria. Esta reacción de adición-eliminación se lleva con gran rapidez.³⁴

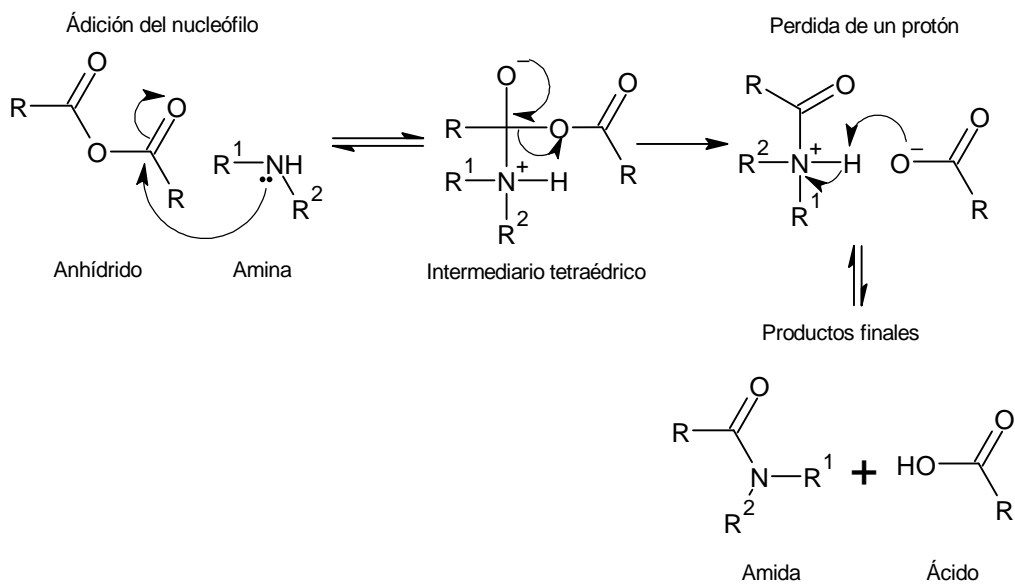


Fig 13. Mecanismo de reacción de conversión de un anhídrido en una amida.

2.3.4. Conversión de un éster en una amida (amoniólisis de un éster).

A diferencia de los anhídridos, cloruros de ácido y ácidos carboxílicos, los ésteres son menos reactivos, por lo que necesitan un calentamiento para hacer reaccionar al amoniaco o amina presente con el éster, este proceso tiene por nombre “amoniólisis” que significa “ruptura por amina”.³⁴

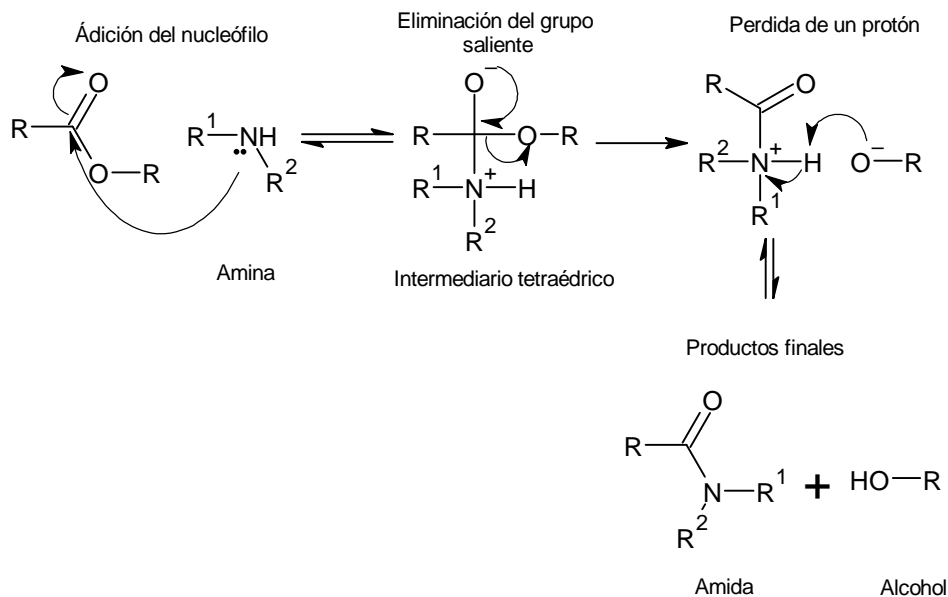


Fig 14. Mecanismo de reacción de conversión de un éster en una amida.

2.3.5. Hidrólisis de un nitrilo catalizada por una base.

Los nitrilos se pueden hidrolizar parcialmente para obtener una amida y posteriormente, la reacción puede seguir hasta obtener un ácido carboxílico. Dicha reacción se da por medio del ataque del hidroxilo al carbono electrofílico del grupo ciano, al protonarse se forma el tautómero enólico inestable de una amida. Debido a la presencia de base, se lleva a cabo la eliminación de un protón del oxígeno y la reprotonación en el nitrógeno forma la amida.³⁴

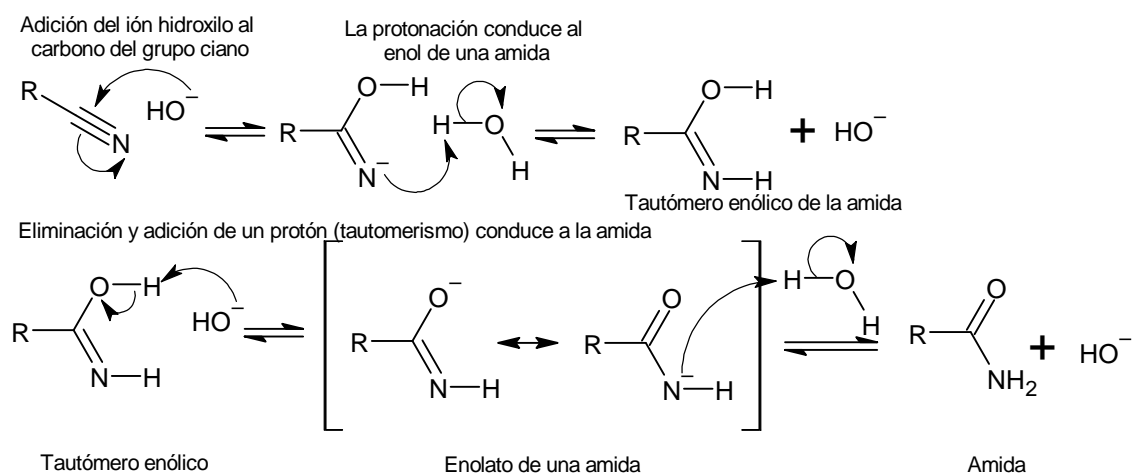


Fig 15. Mecanismo de reacción de la hidrólisis de un nitrilo catalizada por una base.³¹

2.3.6. Litiación-ciclación dirigida por nitrógeno, con presencia de carbonatos.³⁶

Esta reacción es del tipo One-pot, donde se parte específicamente de una alilamina la cual es catalizada por n-butillitio, éter etílico y t-butillitio dando un intermediario organolitio. Dicho intermediario reaccionará *in situ* con carbonato de dietilo y tras la hidrólisis, produce butirolactonas α,β -insaturadas.

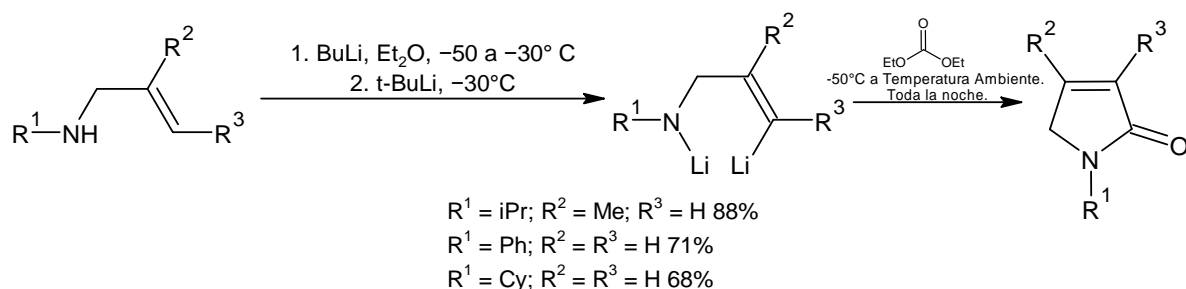


Fig 16. Reacción de Litiación-ciclación dirigida por nitrógeno.

2.3.7. Reacción de Schmidt a partir de cetonas con ácido hidrazoico.

La reacción de Schmidt de cetonas con ácido hidrazoico (HN_3) es un método muy útil para la preparación de amidas y lactamas no sustituidas.³⁶

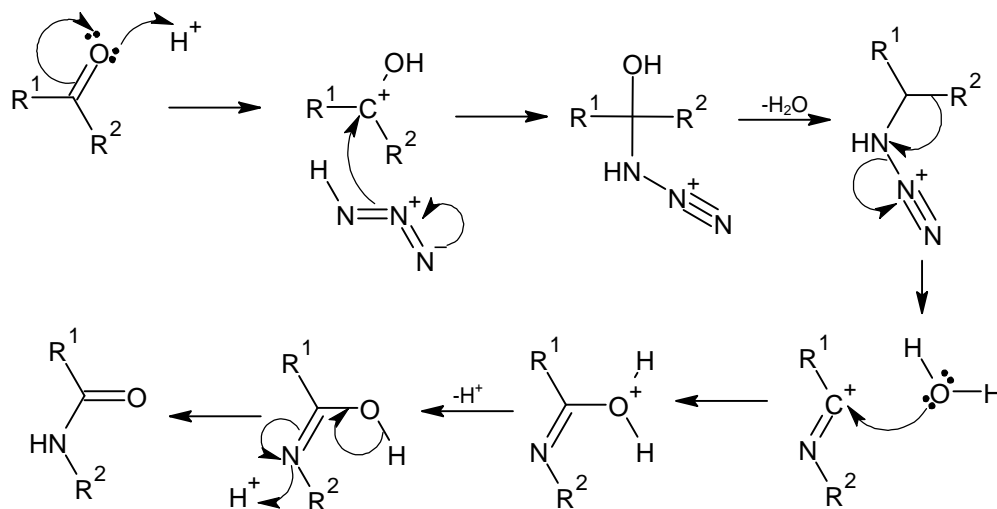


Fig 17. Mecanismo de reacción de Schmidt a partir de cetonas con ácido hidrazoico.

2.3.8. Reordenamiento de Beckmann de oximas.

El reordenamiento de Beckmann implica la conversión de oximas en amidas o lactamas en presencia de un ácido o un agente acilante. Esta reacción se descubrió en 1886, por lo que es una de las reacciones más antiguas de la síntesis orgánica.³⁸

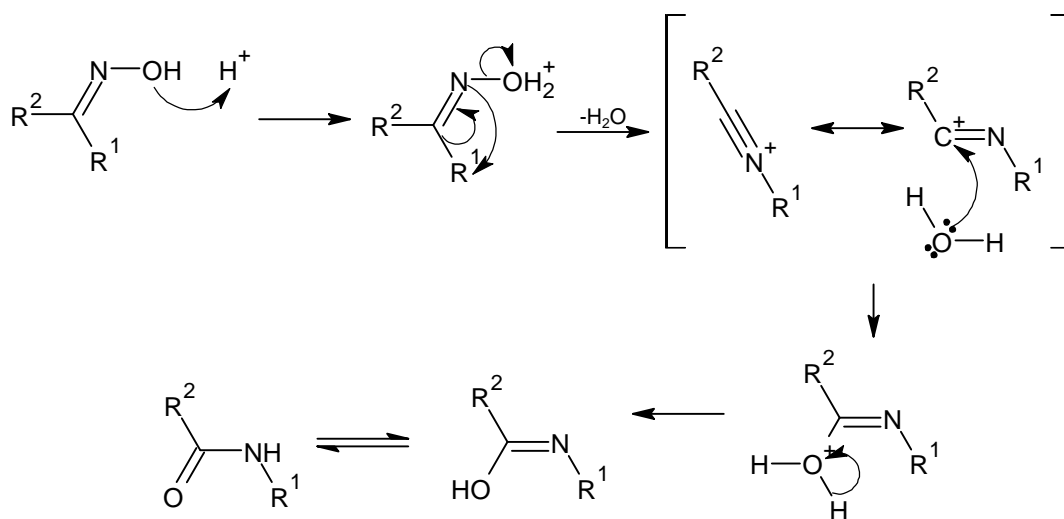


Fig 18. Reacción de reordenamiento de Beckmann.

2.3.9. Formación de amidas mediada por LiHMDS en condiciones de flujo continuo.

Esta reacción es catalizada por bis(trimetilsilil)amida de litio (LiHMDS) y utilizando como disolvente *N,N*-dimetilformamida (DMF), en donde se requiere un exceso de la amina y una base de amida de litio para obtener el producto con buenos rendimientos (63%).³⁹

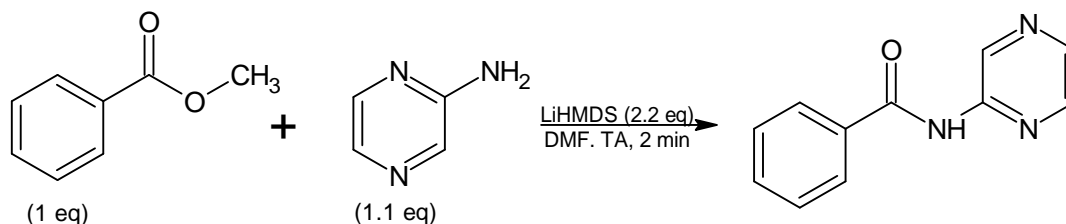


Fig 20. Formación de amidas mediada por LiHMDS.

2.3.10. Síntesis de amidas α,β -insaturadas a partir de azidas de arilo.

Para dicha reacción, se utiliza como reactivos iniciales azidas de arilo y reactivo de alquenaluminio y como catalizador $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ con XPhos (El XPhos es un ligando de fosfina tridentado utilizado catálisis homogénea de metales de transición), THF y 10 bar de CO a 80 °C durante 16 horas. Los rendimientos son superiores al 74%.⁴⁰

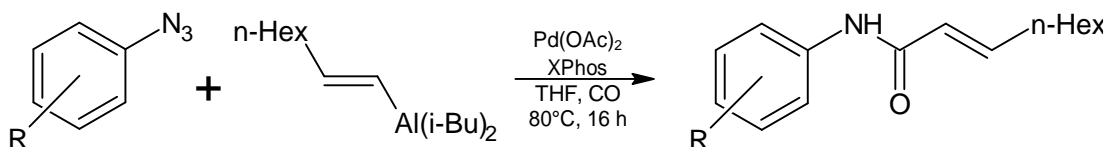
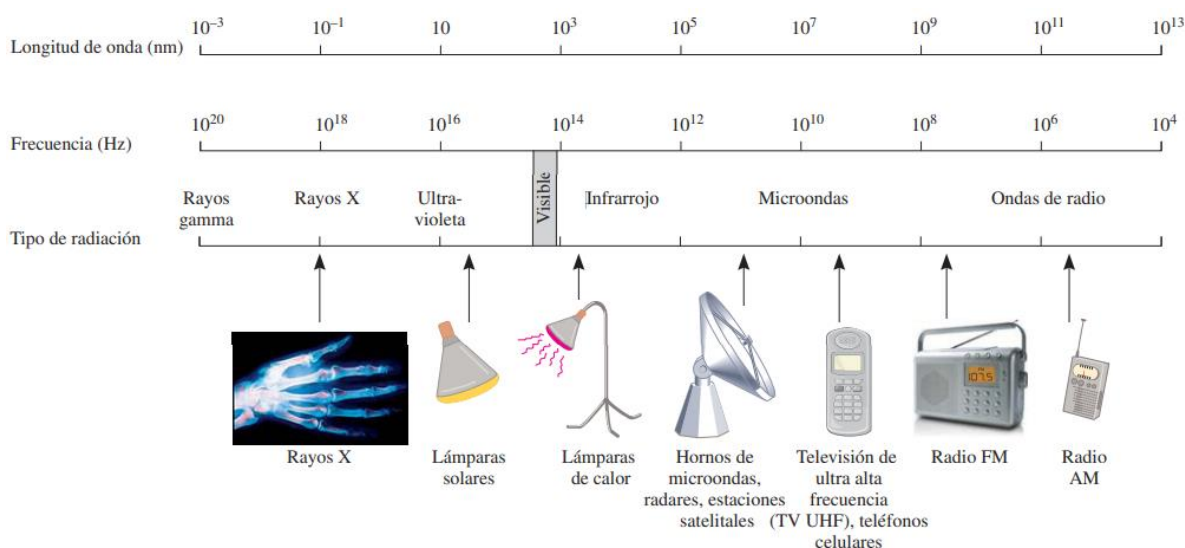


Fig 21. Síntesis de amidas α,β -insaturadas a partir de azidas de arilo.

2.4. Técnicas espectroscópicas.

Se entiende como espectroscopia al estudio de las interacciones de la radiación electromagnética o luz con la materia con el fin de obtener información sobre los átomos o enlaces presentes dentro del sistema que se está estudiando.⁴¹

La radiación electromagnética abarca diferentes zonas como lo son Rayos Gamma, Rayos X, luz ultravioleta, luz visible, infrarrojo, microondas y ondas de radio. Las ondas electromagnéticas viajan como fotones, los cuales son paquetes de energía sin masa.⁴²



*Fig 22. Regiones del espectro electromagnético.*⁴³

Existen diferentes técnicas espectroscópicas, sin embargo, la mayoría de las técnicas se basan en la absorción o emisión de fotones del material que se encuentra estudiando.⁴¹

- **Técnicas de absorción:** Implican la absorción de fotones por la materia y puede dar información sobre los tipos de átomos o enlaces en una molécula. Por lo general, un material dado absorberá longitudes de onda específicas de luz y reflejará o transmitirá todas las demás longitudes de onda.⁴¹ En estas encontramos la espectroscopia de UV-Visible, Infrarrojo, Resonancia Magnética Nuclear y Absorción Atómica.

- **Técnicas de emisión:** En esta, una muestra se atomiza y excita mediante una fuente de calor (llama o plasma), posteriormente este analito excitado emitirá una longitud de onda que es característica de alguno de los elementos presentes, por lo que al obtener las longitudes de onda emitidas de la luz, los elementos en la muestra se pueden identificar y cuantificar.⁴¹ Aquí encontramos la espectroscopia de Emisión Atómica, Espectroscopia de plasma (ICP-OES), entre otros.
- **Técnicas de dispersión:** En esta técnica se mide el índice de refracción que tiene la muestra analizada en función de la longitud de onda, por lo que, es posible caracterizar y/o cuantificar molecularmente materiales por este método de dispersión de radiación electromagnética. Sus variantes son varias en las que encontramos: La Espectroscopia de Dispersión de Laser de “Chirrido” (CLaDS), espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS) y la más documentada la espectroscopia de Raman.^{44,45}
La espectroscopia Raman es una técnica espectroscópica vibracional no destructiva basada en la dispersión de luz inelástica.⁴¹

2.4.1. Espectroscopia Infrarroja.

La región infrarroja del espectro corresponde a las frecuencias que se encuentran justo por debajo de las frecuencias del espectro visible, y por encima de las frecuencias más altas de microondas (aproximadamente 800 a 100,000 nm).⁴³

Un espectrofotómetro infrarrojo mide la luz infrarroja absorbida por un compuesto y proporciona información sobre los tipos de enlaces de los grupos funcionales presentes.⁴² El funcionamiento del Infrarrojo se basa en el principio del interferómetro de Michelson, el cual se basa en la interferencia de dos haces de luz que provienen de una misma fuente de luz y que han sido separados por un divisor de haz y dirigidos a dos espejos, por lo que regresan y recombinan en el divisor de haz, se produce una interferencia, al medir el patrón de interferencia resultante, es posible determinar la absorción de energía infrarroja por parte de la muestra.⁴⁶

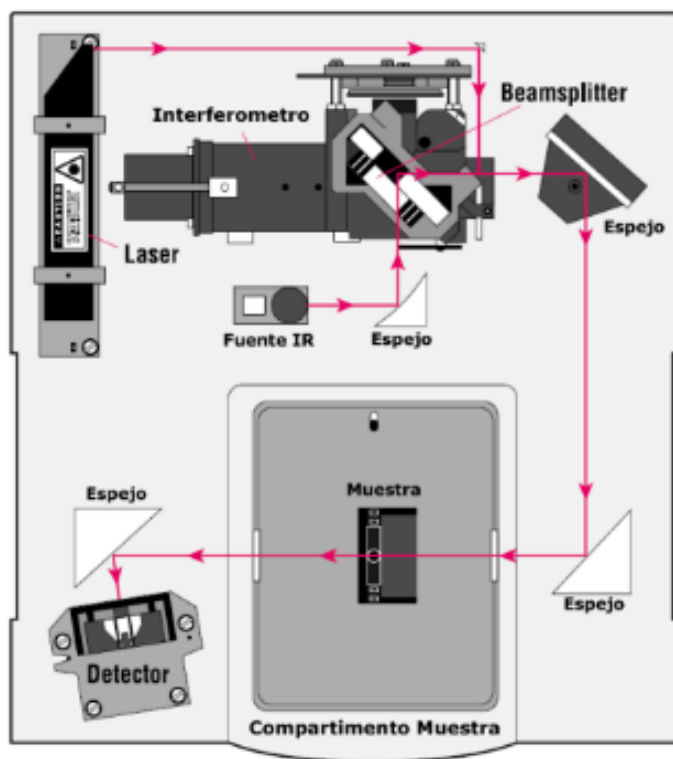


Fig 23. Diagrama de un espectrofotómetro de Infrarrojo.⁴⁶

2.4.2. Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear.

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es una técnica espectroscópica utilizada para determinar la estructura y en algunos casos la concentración.⁴⁷ La RMN depende de las propiedades magnéticas de los núcleos, dichos núcleos están compuestos de protones. Cualquier partícula que tenga un valor de espín distinto de cero es un dipolo magnético. Para entender este proceso, lo podemos visualizar como un protón que gira como una esfera rotatoria con carga positiva, que genera un campo magnético llamado momento magnético, que se parece al campo de una pequeña barra de imán.⁴²

Dado que cada orientación del dipolo del protón tiene una energía diferente, un solo protón en un campo magnético posee solo dos estados de energía. La existencia de dos estados de energía discretos para un solo protón en un campo magnético aplicado proporciona la base para la espectroscopia de RMN. Si un protón en el estado de espín más estable es irradiado con radiación electromagnética a la frecuencia resonante, absorbe un fotón, una partícula de luz, y se excita al estado de espín más energético.⁴⁷

Al igual que con la espectroscopia infrarroja, en esta técnica se utiliza una cantidad de muestra muy pequeña y esta no se daña. El alcance de esta técnica abarca diferentes núcleos como lo son el ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^9F y ^{31}P , estos núcleos se pueden estudiar mediante RMN debido a que tienen un numero impar de protones y/o neutrones, por lo que estos tendrán un spin diferente de cero.⁴²

Un equipo de RMN consta en su mayoría de cuatro partes, las cuales se ven representados en la Fig 24.

- Imán estable generalmente un superconductor, con un controlador sensible para producir un campo magnético preciso.
- Transmisor de radiofrecuencia (RF), que emite una frecuencia precisa.
- Detector para medir la absorción de la energía de RF por parte de la muestra.
- Registrador para graficar la señal de salida del detector en función del campo magnético aplicado.

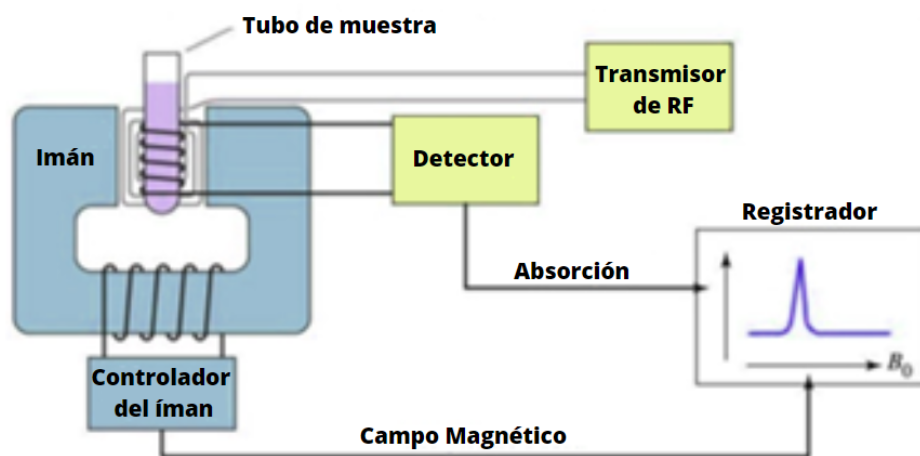


Fig 24. Diagrama de un espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear.⁴⁸

2.4.3. Espectrometría de Masas.

La espectrometría de masas (EM) es una poderosa herramienta analítica con múltiples aplicaciones, que permite identificar compuestos desconocidos al determinar su masa molecular, composición elemental o su estructura química. Se divide en dos categorías principales: espectrometría de masas atómica y espectrometría de masas molecular.⁷⁴

En la espectrometría de masas, las moléculas analizadas se convierten en iones mediante la aplicación de energía, que luego se separan en función de su relación masa-carga (m/z) y se registran como una señal eléctrica. Los iones con diferentes relaciones m/z son dirigidos al detector de forma secuencial mediante un barrido o pueden impactar simultáneamente en un detector multicanal. El resultado de esta medición, que muestra la abundancia de iones frente a la relación masa-carga, se conoce como espectro de masas. Normalmente, en la fuente de ionización se generan iones monovalentes, lo que simplifica el espectro a una representación gráfica de la cantidad de iones en función de su masa.⁷⁴

2.5. Química Computacional en el Diseño de Fármacos.

La Química computacional fue desarrollada a finales de los años setenta, por los químicos dedicados a la obtención de medicamentos, esto con el fin de desarrollar moléculas que tuvieran posibilidades elevadas de mostrar la actividad biológica deseada mediante la ayuda de computadoras.⁴⁹

El término de “Química computacional” consiste en determinar la estructura y propiedades moleculares mediante el uso de mecánica molecular y/o química cuántica; realizando un modelado cuantitativo de los fenómenos químicos con el uso de técnicas computacionales.⁵⁰

Conforme la tecnología fue avanzando, los métodos de química computacional se han ido perfeccionando, siendo cada vez más apegados a los sistemas reales. El problema de predecir la actividad biológica de ciertos compuestos químicos y el diseño de nuevos compuestos con una actividad determinada es uno de los más importantes en la química moderna.⁶

Dentro de la Química computacional, se tienen el diseño de fármacos, el cual describe la búsqueda de nuevos compuestos con actividad biológica, sobre una base sistemática y racional. Esta base es la información experimental de la diana molecular pretendida o de una biomolécula similar y/o ligantes conocidos de dicha diana.⁴⁶ Por lo tanto, para poder realizar un estudio de este tipo es necesario centrarse en los siguientes puntos:⁵¹

1. Idear métodos de representación molecular, alineación y coincidencia de características.
2. Medir la similitud molecular de forma rápida y precisa.
3. Explorar el espacio de la Relación Estructura-Actividad (SAR) utilizando la información química contenida en los ligandos.

El diseño de fármacos asistido por ordenador (CADD por sus siglas en inglés) es ampliamente utilizado en la actualidad en el desarrollo de fármacos de forma más eficiente y precisa, reduciendo costo del descubrimiento y el desarrollo de fármacos a un 50% con el uso de CADD.⁵²

2.6. Acoplamiento Molecular (Docking).

El acoplamiento molecular o “docking” molecular es un método bioinformático que se ha convertido en una herramienta importante para búsqueda y selección virtual con base en la estructura, tanto de ligandos con actividad biológica como de posibles blancos terapéuticos.⁵³

El objetivo del “docking” molecular es ofrecer una predicción de la estructura del complejo ligando-receptor mediante métodos de cálculo. El “docking” puede lograrse mediante dos pasos interrelacionados: primero, muestreando las conformaciones del ligando en el sitio activo de la proteína; luego, clasificando estas conformaciones mediante una función de puntuación. Idealmente, los algoritmos de muestreo deben ser capaces de reproducir el modo de experimental y la función de puntuación también debería clasificarla entre todas las conformaciones generadas. Es decir, el proceso de simulación entre el ligando y el receptor tiene como finalidad la obtención de un complejo estable, para comprender dicha simulación podemos entenderla como un modelo “Llave-Cerradura” donde la posición de la llave (ligando) se optimiza para acomodarse en la cerradura (bolsillo de unión objetivo) y así obtener datos importantes, tal como se puede observar en la fig 25.⁵⁴

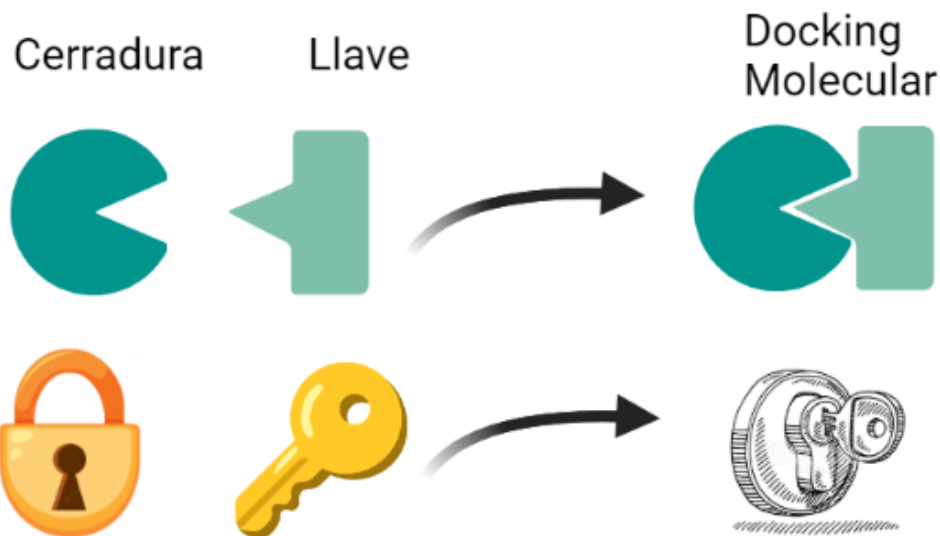


Fig 25. Ejemplificación del “Docking” Molecular mediante el modelo “Llave-Cerradura”. (Imagen creada en BioRender.com).

El algoritmo de búsqueda conformacional explora las posturas dentro de un espacio conformacional particular, mientras que el papel de la función de puntuación es dar puntaje a cada postura que muestra su afinidad de unión relativa, siendo por lo general el primer lugar de puntuación de acoplamiento como la mejor pose de acoplamiento.⁵⁴

Para realizar un acoplamiento de manera adecuada es necesario preparar las estructuras moleculares empleadas, en cuanto a la proteína a menudo no se utiliza la estructura completa con todas sus coordenadas en el proceso de “docking”, sino una representación simulada o reducida preparada a partir de la estructura original, esto debido al problema de optimización, ya que se busca que sea computacionalmente manejable, además de tener una búsqueda más eficiente. Por un lado, la región de búsqueda suele limitarse al área del sitio de unión, que en la mayoría de los casos prácticos se conoce al menos de forma aproximada. De lo contrario, hay que realizar un “acoplamiento ciego” a toda la superficie de la proteína.⁵¹

En la actualidad, para poder comenzar un “docking” es necesario contar con un archivo de coordenadas de la proteína a estudiar, el cual suele obtenerse de la determinación de la estructura mediante cristalografía de rayos X y que se

proporciona en el formato PDB (Protein Data Bank), por lo tanto, los resultados obtenidos del “docking” depende críticamente de la calidad del archivo de esta estructura, siendo necesario revisar antes que nada este tipo de archivos; en caso de no contar con una estructura cristalina se puede recurrir al Modelado de Proteínas por Homología, en dónde por medio de su secuencia genómica y una estructura cristalina de alta resolución de una proteína homóloga se puede modelar tridimensionalmente la proteína deseada. Respecto al ligando, se usa un tratamiento atómico completo debido al tamaño de estos. La configuración del ligando para el “docking” también debe considerar cuidadosamente los posibles estereoisómeros, tautómeros y estados de protonación.⁵¹

2.7. Molecular Operating Environment (MOE).

Molecular Operating Environment (MOE) es una herramienta interactiva de cálculo químico y modelado molecular desarrollado por el “Chemical Computing Group™”, proporcionando una interfaz de visualización completa e interactiva que permite múltiples vistas de un sistema molecular. Este cuenta con una amplia base de aplicaciones científicas como lo son las siguientes:⁵⁵

- Bioinformática.
- Modelado de proteínas.
- Diseño de fármacos basados en ligandos.
- Diseño de fármacos basado en la estructura.
- Quimioinformática.
- Descubrimiento de alto rendimiento.
- Modelado y simulaciones moleculares.
- Desarrollo e implementación de metodologías.

El “software MOE” se ha utilizado en varios estudios para llevar a cabo el acoplamiento molecular de diferentes ligandos a una serie de objetivos biológicos, demostrando la aplicabilidad del software MOE a la química medicinal computacional basada en estructuras.⁵⁶

2.7.1. "Site Finder".

"Site Finder" es una herramienta de MOE cuyo propósito es calcular posibles sitios activos en un receptor a partir de las coordenadas atómicas 3D del mismo. Este cálculo es útil para los experimentos de mutagénesis dirigida al sitio para ayudar a determinar los sitios potenciales para los cálculos de acoplamiento del ligando. "Site Finder" entra en la categoría de métodos geométricos ya que no se utilizan modelos de energía, en su lugar, se consideran las posiciones relativas y la accesibilidad de los átomos receptores junto con una clasificación aproximada del tipo químico, esto es ventajoso ya que no se requiere la localización de protones.⁵⁵

La metodología llevada a cabo para seleccionar los posibles sitios activos es la siguiente:⁵⁵

1. Identificar las regiones de empaquetamiento atómico.
2. Filtrar los sitios que están "demasiado expuestos" al disolvente.
3. Clasificar los sitios como hidrofóbicos o hidrofílicos.
4. Calcular las esferas α en los sitios receptores. (Las esferas alfa son representaciones gráficas de las regiones accesibles para el ligando, estas contienen un mapa de energía para la unión potencial entre el sitio receptor y el ligando).
5. La colección de esferas α se selecciona eliminando las que corresponden a regiones inaccesibles del receptor, así como las que están demasiado expuestas al disolvente.
6. Se clasifican las esferas α como "hidrofóbicas" o "hidrofílicas" dependiendo de si la esfera se encuentra en un buen punto de enlace de hidrógeno en el receptor. Se eliminan las esferas hidrofílicas que no estén cerca de una esfera hidrofóbica.
7. Agrupar las esferas α utilizando un algoritmo de agrupación de doble enlace para producir una colección de sitios. Cada sitio está formado por una o más esferas alfa, de las cuales al menos una es hidrofóbica.
8. Se clasifican los sitios de acuerdo con su puntuación de propensión a la unión del ligando.

A Site	B Size	C PLB	D Hyd	E Side	F Residues
1	52	2.48	28	54	1:(ASN23 LEU25 SER27 TYR43 SER4
2	15	0.06	4	6	1:(ALA13 SER69 GLY70 THR71 TYR9
3	20	0.00	4	7	1:(ALA13 ASP61 SER62 ALA63 ALA6
4	7	-0.09	3	6	1:(THR57 GLY58 ARG59 LEU73 GLY7
5	9	-0.27	3	3	1:(ARG59 TYR60 ASP61 ALA72 LEU7
6	7	-0.39	8	9	1:(THR42 ARG53 TYR54 VAL55 ALA7
7	9	-0.76	4	11	1:(SER93 GLY94 GLN95 ASN105 THR
8	8	-1.02	2	5	1:(SER93 GLY94 GLN95)

Fig 26. Panel de control de Site Finder de MOE.⁵⁵

Esta herramienta nos proporciona diferente información sobre los posibles sitios de acoplamiento, estos se ven representados en la Fig 26 donde se tienen seis columnas: la primera de ellas (A) es el número de sitio; segundo (B) el tamaño del sitio (Capacidad de acomodo de moléculas en el sitio); en tercer lugar (C) PLB es Protein Ligand Binding el cual indica el tipo de interacción que se espera que ocurra entre un ligando y una proteína en un sitio de unión específico; “Hyd” (D) es la capacidad del sitio de unión para interactuar con moléculas hidrofóbicas; por su parte “Side” (E) expresa la capacidad del sitio de unión para interactuar con grupos laterales de aminoácidos que componen la superficie de la proteína y finalmente Residues (F) son los aminoácidos presentes en el sitio.⁵⁵

2.7.2. Patrones de Interacción Proteína-Ligando (PLIF por sus siglas en inglés).

La herramienta de Patrones de Interacción Proteína-Ligando (PLIF por sus siglas en inglés) es un método para resumir las interacciones entre ligandos y proteínas provenientes de las estructuras cristalinas de Rayos X y los resultados de docking mediante un esquema de huellas dactilares. Las interacciones como los enlaces de hidrógeno, las interacciones iónicas y los contactos superficiales se clasifican según el residuo de origen, y se incorporan a un esquema de huellas dactilares que es representativo de una base de datos determinada de complejos proteína-ligando.⁵⁵

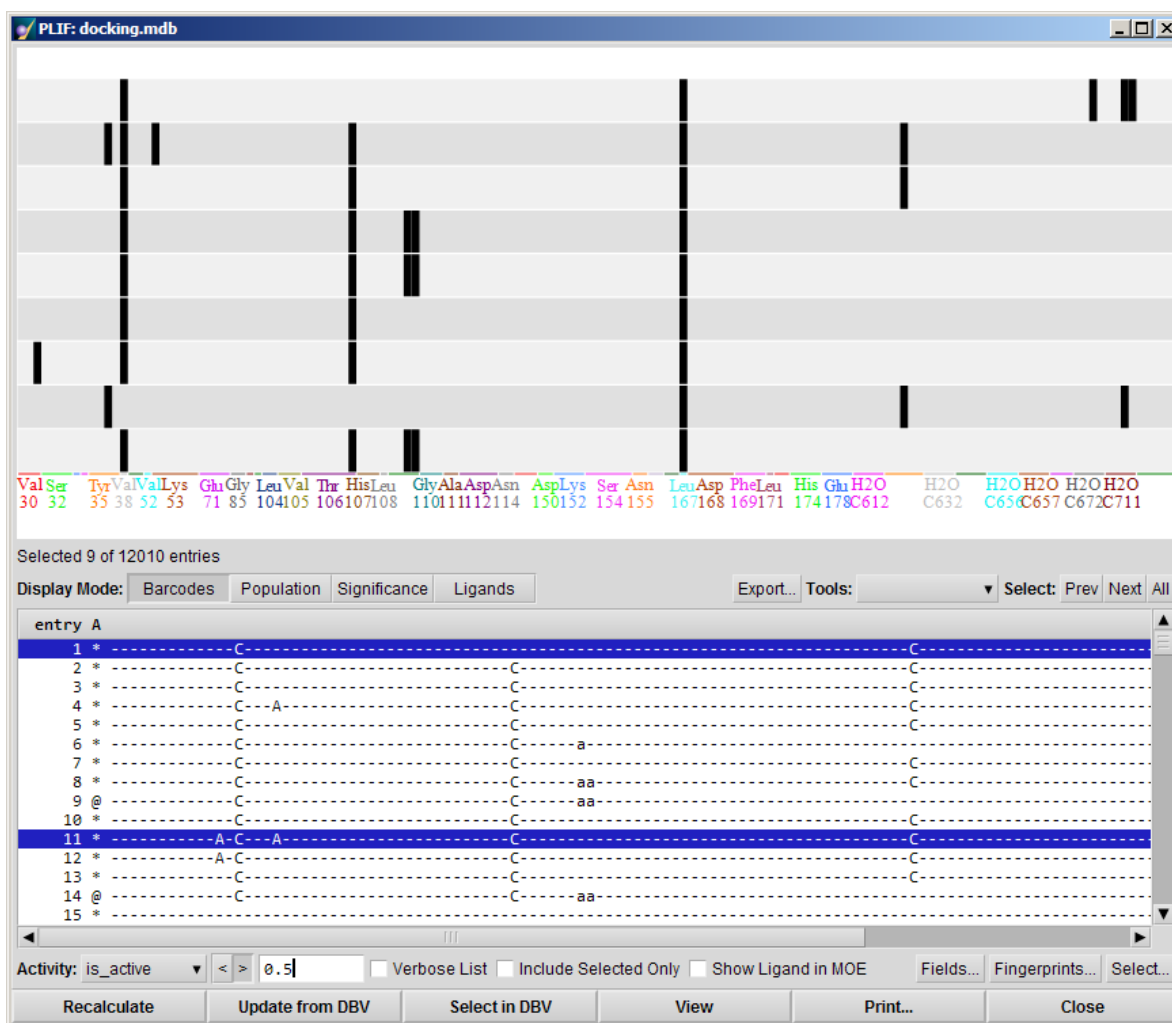
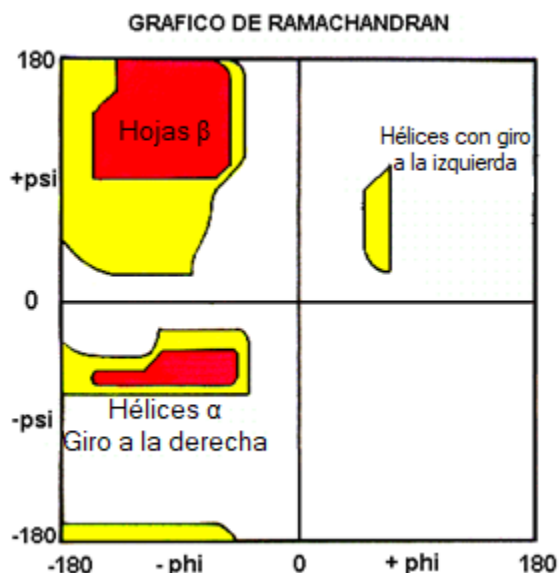


Fig 27. Panel de resultados de PLIF en MOE, en pantalla superior se mostrarán gráficamente las huellas dactilares de las interacciones entre el ligando-proteína.⁵⁵

2.8. Diagrama de Ramachandran.

El Diagrama de Ramachandran ha proporcionado una potente comprobación de la validación de los modelos de estructura de las proteínas, ya sean determinados experimental o computacionalmente.⁵⁷ Se trata de un diagrama 2D que representa las rotaciones por los ángulos de torsión phi (Φ) y psi (Ψ), respectivamente, a lo largo de la columna vertebral de una proteína. El plano se divide en diferentes subáreas (Hojas β , Hélices α dextrógira y Hélices α levógira), que determinan la estructura secundaria de la proteína. Con este diagrama se puede mostrar la distribución experimental de los puntos de datos de una molécula. En este caso, los científicos quieren probar si un nuevo modelo de molécula se ajusta a los datos experimentales que han recogido.⁵⁸



*Fig 28. Ejemplo de Diagrama de Ramachandran.*⁵⁹

El plano se divide en diferentes regiones, la primera de ella es la de hojas β que nos dice las combinaciones de ángulos ϕ y ψ que permiten la formación de estas hojas; la segunda es de hélices α con giro a la derecha las cuales son las más comunes, aunque se puede dar el caso de hélices con giro a la izquierda, por lo que se denota en la tercera sección. Como podemos observar en la Fig 28, las regiones de color rojo son aquellas conformaciones correctas, la región amarilla son aquellas que se encuentran permitidas y todo aquello fuera de esas áreas se consideran conformaciones no permitidas.⁵⁹

Por lo tanto, la utilidad de este gráfico en los estudios de docking molecular es la comprobación de que los residuos presentes en la secuencia de la proteína se encuentran con regiones favorables o conformaciones dadas por los Rayos X, ayudando a observar la calidad de la proteína y por ellos, los sitios aceptores de los ligandos.

2.9. Desviación Cuadrática Media de las Posiciones Atómicas (RMSD por sus siglas en inglés).

La Desviación Cuadrática Media de las Posiciones Atómicas o RMSD es la medida cuantitativa más utilizada de la similitud entre dos coordenadas atómicas superpuestas, dichos valores se presentan en Å y se calculan mediante la siguiente fórmula:⁶⁰

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n d_i^2}$$

Ecuación 1. Obtención de RMSD.

Donde el promedio se realiza sobre los n pares de átomos equivalentes (Número total de átomos) y d_i es la distancia entre los dos átomos del i -ésimo par.

Mediante el RMSD podemos determinar la similitud de las posiciones de los átomos entre dos o más estructuras proteicas, ya que este nos proporciona la desviación promedio de los átomos entre las estructuras, por lo que mientras más bajo sea el valor del RMSD, menor será la variación existente entre ellas.

3. Justificación

La COVID-19 es una enfermedad que ha causado afectaciones a nivel global afectando economías enteras, así como el costo en vidas que se ha generado, habiendo sido declarada pandemia el 12 de marzo del 2020 por la OMS. A nivel mundial, hasta el 24 de mayo de 2023 se ha reportado más de 766.9 millones de casos confirmado y más de 6.9 millones de muertes a causa de esta enfermedad.⁶¹ En México para el 24 de mayo de 2023 se tenían reportados más de 7.5 millones de casos confirmado y 327,634 defunciones, teniendo una letalidad del 4.4% del total de la población infectada.⁶²

A pesar de que el 5 de mayo del 2023 la OMS declaró el fin de la emergencia sanitaria por la COVID-19, los tratamientos con los que actualmente contamos para afrontar esta enfermedad son experimentales y estos únicamente tienen aprobación de emergencia; por ello es de gran importancia la investigación y desarrollo de fármacos que ayuden a controlar la pandemia, con la finalidad de que la tasa de letalidad se vea reducida.

4. Objetivos

4.1 Objetivo General

Sintetizar y caracterizar amidas derivadas del ácido cinámico (CAPA) en ausencia de disolvente y utilizando como fuente de energía radiación infrarroja, evaluando su posible actividad biológica mediante acoplamiento molecular sobre la M^{pro} del SARS-CoV-2.

4.2 Objetivos particulares

- Sintetizar cinco amidas nuevas derivadas del ácido cinámico (CAPA).
- Caracterizar estos compuestos mediante técnicas espectroscópicas (IR, RMN ¹H y ¹³C y espectrometría de masas).
- Realizar un acoplamiento molecular de los compuestos propuestos para determinar cuáles pueden presentar mejor actividad como inhibidor de la M^{pro} del SARS-CoV-2.

5. Metodología

La metodología experimental de este trabajo se llevó a cabo en dos procesos, los cuales se presentan a continuación:

Parte A: Síntesis y caracterización de amidas derivadas del ácido cinámico.

5.1. Síntesis de amidas.

En un matraz bola se coloca el ácido 4-fenoxicinámico junto con la amina correspondiente en una proporción (1:1.5). Colocados los reactivos se conecta a reflujo y se irradia con luz IR a una temperatura aproximada de 180°C. Esta reacción se lleva a cabo en ausencia de disolventes.

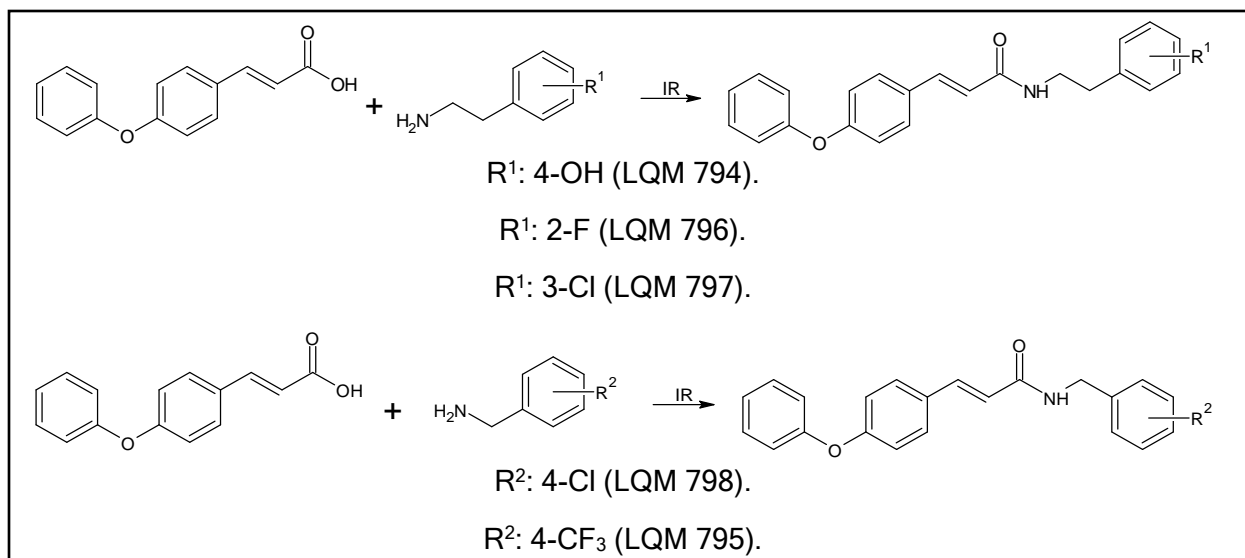


Fig 29. Síntesis de amidas derivadas del ácido cinámico con fenetilaminas y bencilaminas sustituidas.

Para poder determinar el punto final de la reacción es necesario realizar un seguimiento por CCF utilizando un sistema Hexano-AcOEt (50:50). Una vez finalizada la reacción, se deja el matraz alcanzar la temperatura ambiente.

Añadir el suficiente AcOEt para disolver el sólido formado, adicionar carbón activado y sulfato de sodio con la finalidad de eliminar las impurezas y agua presentes, seguido de esto, se filtra a través de tierra de diatomeas.

La solución obtenida de los pasos anteriores se concentra en el rotavapor casi a sequedad, manteniendo un poco de disolvente en el matraz. El matraz debe de colocarse en hielo hasta la formación de cristales. Dichos cristales deberán de lavarse con AcOEt frío.

Las aminas utilizadas para este trabajo fueron: 4-(2-aminoetil) fenol, 2-fluorofenetilamina, 3-clorofenetilamina, 2-clorobencilamina y 4-(trifluorometil)bencilamina. Todos estos reactivos fueron adquiridos en Sigma Aldrich®.

El ácido 4-fenoxicinámico, fue sintetizado en el mismo laboratorio.

Se sintetizaron los compuestos con las siguientes claves: LQM 794, LQM 795, LQM 796, LQM 797 y LQM 798.

5.2. Determinación espectroscópica.

Los compuestos sintetizados se caracterizaron por medio de espectroscopia de infrarrojo (IR) y Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ^1H y ^{13}C .

Los espectros de infrarrojo se realizaron en fase sólida utilizando un equipo NICOLET iS10 ThermoScientific, el cual tiene acoplado el módulo de ATR.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (^1H , ^{13}C) se obtuvieron en fase líquida usando como disolvente DMSO- d_6 empleando un equipo Bruker BioSpin GmbH.

La espectrometría de masas fue llevada a cabo mediante un equipo MStation JMS-700 JEOL.

Parte B: Estudios in-silico de las amidas del ácido cinámico propuestas frente a la M^{pro} del SARS-CoV-2 por medio de docking molecular.

5.3. Acoplamiento Molecular.

1. Búsqueda de proteínas M^{pro} del SARS-CoV-2 utilizando la base de datos *Protein Data Bank (PDB)*.
2. Análisis de las proteínas mediante diagrama de Ramachandran y RMSD para conocer la similitud y calidad de las proteínas, lo que permite seleccionar una.
3. Minimización energética de la proteína seleccionada mediante MOE 2022.
4. Identificación del sitio activo de la M^{pro} del SARS-CoV-2 mediante Site Finder en MOE 2022.
5. Modelar las moléculas sintetizadas en este trabajo y las propuestas de antivirales aprobadas de emergencia y guardarlas en formato *.mol2 mediante el uso de Chems sketch.
6. Realizar una minimización de energía de las moléculas modeladas previamente.
7. Acoplamiento de las moléculas propuestas y los tratamientos experimentales frente a la M^{pro} seleccionada usando MOE 2022.

6. Resultados y Discusión

6.1. Síntesis

Como resultado del trabajo de síntesis se presentan los compuestos LQM 794, LQM 795, LQM 796, LQM 797 y LQM 798 los cuales se muestran en la serie de Tablas 1-5.

Esta serie de compuestos tienen rendimientos superiores del 70%, siendo el LQM 794 (71.86%) el que tiene un rendimiento más bajo y el LQM 797 con el mayor rendimiento (87.07%).

La obtención de estas aminas se lleva a cabo bajo condición sin disolvente, utilizando el método de lampara IR como fuente de energía. Este método de obtención de amidas fue reportado anteriormente por Martínez-Soriano, P.A en 2017, donde el rendimiento de la reacción se vio mejorado al incrementar la cantidad de amina en reacción.³⁵

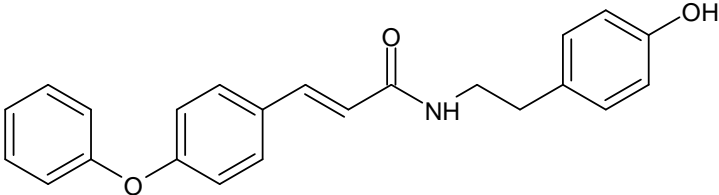
Tabla 1. Características fisicoquímicas del compuesto LQM 794.	
Estructura Molecular	
Nombre IUPAC	(2E)-3-(4-fenoxifenil)-N-(4-hidroxifeniletíl)prop-2-enamida.
Fórmula Molecular	C ₂₃ H ₂₁ NO ₃ .
Peso Molecular	359.41 g/mol.
Apariencia física	Sólido blanco.
Punto de fusión	158-160°C.
Solubilidad	Acetona, Acetato de Etilo y DMSO.
Rendimiento	71.86%

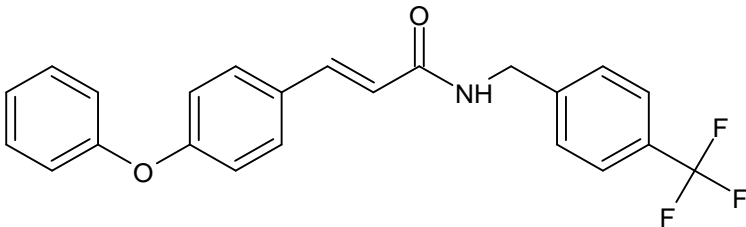
Tabla 2. Características fisicoquímicas del compuesto LQM 795.	
Estructura Molecular	
Nombre IUPAC	(2E)-3-(4-fenoxifenil)-N-(4-(trifluorometil)encil)prop-2-enamida.
Fórmula Molecular	C ₂₃ H ₁₈ F ₃ NO ₂ .
Peso Molecular	397.38 g/mol.
Apariencia física	Sólido blanco.
Punto de fusión	169-171°C.
Solubilidad	Acetona, Acetato de Etilo y DMSO.
Rendimiento	78.37%

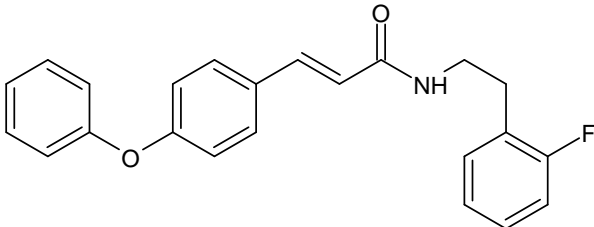
Tabla 3. Características fisicoquímicas del compuesto LQM 796.	
Estructura Molecular	
Nombre IUPAC	(2E)-3-(4-fenoxifenil)-N-(2-fluorfeniletíl)prop-2-enamida.
Fórmula Molecular	C ₂₃ H ₂₀ FNO ₂ .
Peso Molecular	361.40 g/mol.
Apariencia física	Sólido blanco.
Punto de fusión	120-122°C.
Solubilidad	Acetona, Acetato de Etilo y DMSO.
Rendimiento	86.24%

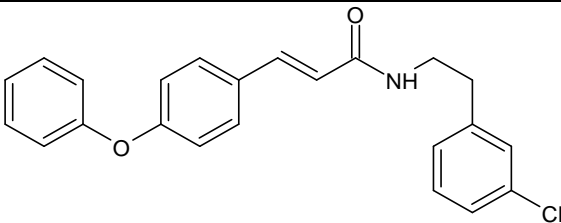
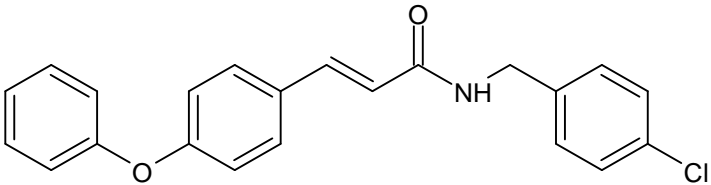
Tabla 4. Características fisicoquímicas del compuesto LQM 797.	
Estructura Molecular	
Nombre IUPAC	(2E)-N-(3-clorofeniletíl)-3-(4-fenoxifenil)prop-2-enamida.
Fórmula Molecular	C ₂₃ H ₂₀ ClNO ₂ .
Peso Molecular	377.86 g/mol.
Apariencia física	Sólido blanco.
Punto de fusión	116-118°C.
Solubilidad	Acetona, Acetato de Etilo y DMSO.
Rendimiento	87.07%

Tabla 5. Características fisicoquímicas del compuesto LQM 798.	
Estructura Molecular	
Nombre IUPAC	(2E)-N-(4-clorobencil)-3-(4-fenoxifenil)prop-2-enamida.
Fórmula Molecular	C ₂₂ H ₁₈ ClNO ₂ .
Peso Molecular	363.83 g/mol.
Apariencia física	Sólido blanco.
Punto de fusión	160-162°C.
Solubilidad	Acetona, Acetato de Etilo y DMSO.
Rendimiento	83.96%

6.2. Caracterización espectroscópica.

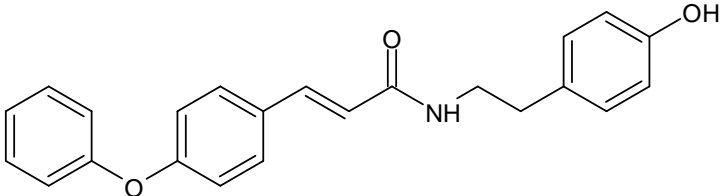
Tabla 6. Resultados espectroscópicos IR, RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto LQM 794.	
	
(2E)-3-(4-fenoxifenil)-N-(4-hidroxifeniletil)prop-2-enamida.	
IR (Diamante, γ _{max} , cm ⁻¹): 3361 (OH), 3272 (NH), 2934 (CH alifático), 1600 (C=O).	
¹ H RMN (500MHz; DMSO-d ₆) δ (ppm): 9.19 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.57 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.41 (s, 2H), 7.18 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.10 - 6.96 (m, 3H), 6.69 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.54 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 3.35 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 2.66 (t, J = 7.4 Hz, 1H).	
¹³ C RMN (125MHz; DMSO-d ₆) δ (ppm): 164.96 (s), 157.89 (s), 155.95 (s), 155.67 (s), 137.74 (s), 130.18 (s), 129.43 (s), 124.02 (s), 121.24 (s), 119.23 (s), 118.46 (s), 115.14 (s).	
EM m/z: 359.15 [M] ⁺ , 360.15 [M+1H] ⁺ .	

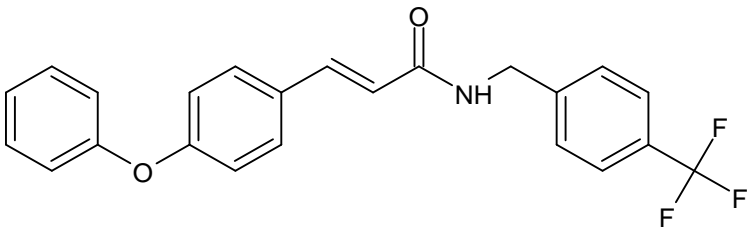
Tabla 7. Resultados espectroscópicos IR, RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto LQM 795.

(2E)-3-(4-fenoxifenil)-N-(4-(trifluorometil)bencil)prop-2-enamida.
<p>IR (Diamante, γ_{\max}, cm^{-1}): 3276 (NH), 3056 (CH alifático), 1595 (C=O), 1242 (CF).</p> <p>¹H RMN (500MHz; DMSO-d₆) δ (ppm): 8.72 (s, 1H), 7.56 (ddd, J= 49.1, 44.6, 15.9 Hz, 9H), 7.24 - 6.93 (m, 5H), 6.63 (d, J= 15.5 Hz, 1H), 4.50 (s, 1H), 3.36 (s, 1H).</p> <p>¹³C RMN (125MHz; DMSO-d₆) δ (ppm): 165.28 (s), 158.06 (s), 155.88 (s), 144.44 (s), 138.54 (s), 130.17 (s), 129.88 (s), 129.47 (s), 127.96 (s), 125.20 (s), 124.06 (s), 120.67 (s), 119.28 (s), 118.41 (s).</p> <p>EM m/z: 397.12 [M]⁺, 398.12 [M+1H]⁺.</p>

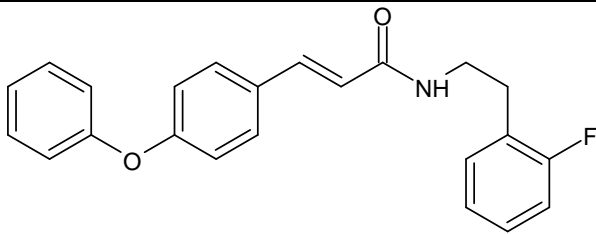
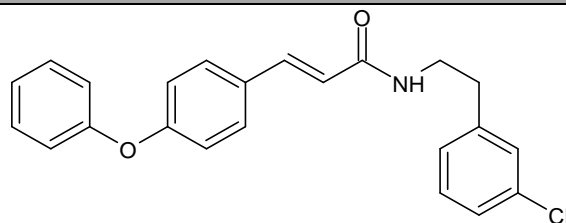
Tabla 8. Resultados espectroscópicos IR, RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto LQM 796.

(2E)-3-(4-fenoxifenil)-N-(2-fluorfeniletíl)prop-2-enamida.
<p>IR (Diamante, γ_{\max}, cm^{-1}): 3324 (NH), 3043 (CH alifático), 1548 (C=O), 1211 (CF).</p> <p>¹H RMN (500MHz; DMSO-d₆) δ (ppm): 8.22 (s, 1H), 7.57 (d, J= 8.6 Hz, 2H), 7.45 - 7.37 (m, 3H), 7.30 (s, 2H), 7.15 (dd, J= 18.0, 7.9 Hz, 3H), 7.06 (d, J= 8.0 Hz, 2H), 7.00 (d, J= 8.6 Hz, 2H), 6.52 (d, J= 15.8 Hz, 1H), 3.42 (d, J= 6.6 Hz, 2H), 3.37 (s, 1H), 2.82 (s, 2H).</p> <p>¹³C RMN (125MHz; DMSO-d₆) δ (ppm): 165.04 (s), 157.91 (s), 155.93 (s), 129.37 (s), 128.28 (s), 126.03 (s), 124.35 (s), 124.01 (s), 121.05 (s), 119.22 (s), 118.44 (s), 115.20 (s), 115.02 (s).</p> <p>EM m/z: 361.15 [M]⁺, 362.15 [M+1H]⁺.</p>

Tabla 9. Resultados espectroscópicos IR, RMN ¹H y ¹³C del compuesto LQM 797.



(2E)-N-(3-clorofenilet)il)-3-(4-fenoxifenil)prop-2-enamida.

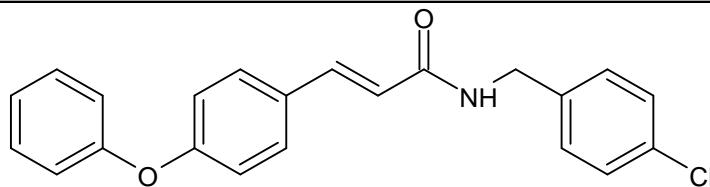
IR (Diamante, γ_{\max} , cm^{-1}): 3348 (NH), 3036 (CH alifático), 1588 (C=O), 689 (C-Cl).

¹H RMN (500MHz; DMSO-d₆) δ (ppm): 8.16 (s, 3H), 7.74 - 7.38 (m, 12H), 7.42 (s, 7H), 7.37 (d, J = 51.4 Hz, 11H), 7.27 (s, 2H), 7.23 (d, J = 37.3 Hz, 5H), 7.20 - 7.04 (m, 8H), 7.00 (d, J = 5.5 Hz, 5H), 6.53 (d, J = 15.4 Hz, 4H), 3.39 (d, J = 35.4 Hz, 9H), 2.79 (s, 5H).

¹³C RMN (125MHz; DMSO-d₆) δ (ppm): 165.05 (s), 157.91 (s), 155.91 (s), 142.11 (s), 137.86 (s), 132.93 (s), 130.16 (s), 129.98 (s), 129.36 (s), 128.53 (s), 127.44 (s), 126.10 (s), 124.01 (s), 121.03 (s), 119.23 (s), 118.43 (s).

EM m/z: 377.11 [M]⁺, 378.11 [M+1H]⁺.

Tabla 10. Resultados espectroscópicos IR, RMN ¹H y ¹³C del compuesto LQM 798.



(2E)-N-(4-clorobencil)-3-(4-fenoxifenil)prop-2-enamida.

IR (Diamante, γ_{\max} , cm^{-1}): 3280 (NH), 3057 (CH alifático), 1593 (C=O), 801 (C-Cl).

¹H RMN (500MHz; DMSO-d₆) δ (ppm): 8.63 (s, 1H), 7.59 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.52 - 7.33 (m, 5H), 7.31 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.07 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 7.01 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 6.61 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 4.40 (s, 2H), 3.36 (s, 1H).

¹³C RMN (125MHz; DMSO-d₆) δ (ppm): 165.14 (s), 158.01 (s), 155.88 (s), 138.47 (s), 131.38 (s), 130.17 (s), 129.91 (s), 129.44 (s), 129.20 (s), 128.26 (s), 124.04 (s), 120.79 (s), 119.27 (s), 118.41 (s), 41.64 (s).

EM m/z: 363.11 [M]⁺, 364.10 [M+1H]⁺.

6.3. Acoplamiento Molecular.

La M^{pro} del SARS-CoV-2 es una diana terapéutica en los tratamientos para la COVID-19 debido a la alta conservación en su secuencia entre las diferentes cepas del SARS-CoV-2 ⁵, por lo que se realizó una búsqueda de estructuras cristalizadas de proteasa obtenidas durante el año 2022 presentadas en el PDB.

CLAVE	NOMBRE
7AEG	SARS-CoV-2 main protease in a covalent complex with SDZ 224015 derivative, compound 5.
7AEH	SARS-CoV-2 main protease in a covalent complex with a pyridine derivative of ABT-957, compound 1.
7ALH	Crystal structure of the main protease (3CLpro/Mpro) of SARS-CoV-2 at 1.65Å resolution (spacegroup C2).
7ALI	Crystal structure of the main protease (3CLpro/Mpro) of SARS-CoV-2 at 1.65Å resolution (spacegroup P2(1)).
7BB2	Crystal structure of the main protease (3CLpro/Mpro) of SARS-CoV-2 at 1.6Å resolution (spacegroup P2(1)2(1)2(1)).
7BE7	Crystal structure of MG-132 covalently bound to the main protease (3CLpro/Mpro) of SARS-CoV-2.
7BFB	Crystal structure of ebselen covalently bound to the main protease (3CLpro/Mpro) of SARS-CoV-2.
7BGP	Crystal structure of MG-132 covalently bound to the main protease (3CLpro/Mpro) of SARS-CoV-2 in absence of DTT.
7JYC	Crystal Structure of SARS-CoV-2 Main Protease (3CLpro/Mpro) in Complex with Covalent Inhibitor Nalraprevir.
7K3T	Crystal Structure of SARS-CoV-2 Main Protease (3CLpro/Mpro) in the Apo Form at 1.2 Å Resolution.
7K6D	SARS-CoV-2 Main Protease Co-Crystal Structure with Telaprevir Determined from Crystals Grown with 40 nL Acoustically Ejected Mpro Droplets.
7K6E	SARS-CoV-2 Main Protease Co-Crystal Structure with Telaprevir Determined from Crystals Grown with 40 nL Acoustically Ejected Mpro Droplets.
7K40	Crystal Structure of SARS-CoV-2 Main Protease (3CLpro/Mpro) in Complex with Covalent Inhibitor Boceprevir at 1.35 Å Resolution.
7MHP	Ensemble refinement structure of apo/unliganded SARS-CoV-2 main protease (Mpro) at 298 K at high humidity.
7MHQ	Ensemble refinement structure of apo/unliganded SARS-CoV-2 main protease (Mpro) at 310 K.
7MNG	Crystal Structure of SARS-CoV-2 Main Protease (3CLpro/Mpro) in Complex with Covalent Inhibitor VBY-825 (Partial Occupancy).
7NBY	Crystal structure of SU3327 (halicin) covalently bound to the main protease (3CLpro/Mpro) of SARS-CoV-2.
7NF5	Crystal structure of MG-132 covalently bound to the main protease (3CLpro/Mpro) of SARS-CoV-2 in spacegroup C2.
7NG3	Crystal structure of MG-132 covalently bound to the main protease (3CLpro/Mpro) of SARS-CoV-2 in spacegroup P1.
7NG6	Crystal structure of MG-132 covalently bound to the main protease (3CLpro/Mpro) of SARS-CoV-2 in spacegroup P1 in absence of DTT.
7TVS	The Crystal Structure of SARS-CoV-2 Omicron Mpro (P132H) in complex with demethylated analog of masitinib.
7TVX	The Crystal Structure of SARS-CoV-2 Omicron Mpro (P132H) in complex with masitinib.
7TOB	Crystal structure of the SARS-CoV-2 Omicron main protease (Mpro) in complex with inhibitor GC376.
7TLL	Structure of SARS-CoV-2 Mpro Omicron P132H in complex with Nirmatrelvir (PF-07321332).

Tabla 11. M^{pro} del SARS-CoV-2 seleccionadas presentes en el año 2022 para su evaluación de mutación y estabilidad.

En la Tabla 11 se pueden observar las diferentes proteasas empleadas, con su respectiva clave PDB. Estas estructuras fueron comparadas para obtener su similitud, para de esta manera poder determinar si existe una diferencia significativa que pudiera afectar los resultados posteriores. La manera utilizada de realizar la comparación fue mediante la alineación y superposición (Fig 30) en el programa Molecular Operating Environment (MOE) 2022.

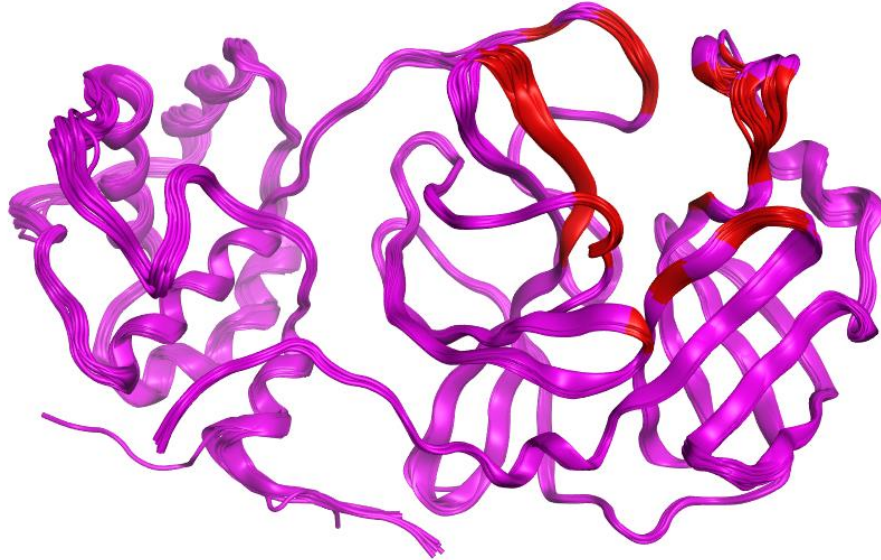


Fig 30. Alineación y superposición de los M^{pro} estudiadas, en color rojo se encuentra el posible sitio receptor.

Realizado el proceso de alineación y superposición se obtuvo el índice de similitud (Fig 31) que existe entre las 24 proteasas obtenidas de PDB, obteniendo valores mayores a 99.3% de similitud entre ellas.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1:7AEH.A		99.7	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.3	99.3	99.3	99.3	99.7
2:7ALH.A	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
3:7AEG.A	100.0	99.7		99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.3	99.3	99.3	99.3	99.7
4:7BB2.A	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
5:7BE7.A	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
6:7BFB.A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
7:7BGF.A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
8:7JYC.A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
9:7K3T.A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
10:7K6D.A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
11:7KEE.A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
12:7K40.A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
13:7NHF.A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
14:7NHQ.A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
15:7NIG.A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
16:7NIEY.A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
17:7NIF5.A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
18:7NIG3.A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
19:7NIG6.A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		99.7	99.7	99.7	99.7	100.0
20:7TLL.A	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0	100.0	100.0	99.7
21:7TOS.A	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0		100.0	99.7
22:7TV5.A	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0	100.0		99.7
23:7TVX.A	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	99.7	100.0	100.0	100.0	99.7
24:7ALI.A	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.7	99.7	99.7	99.7	

Fig 31. Matriz de similitud de 24 diferentes M^{pro} reportadas en PDB.

Además del índice de similitud, se obtuvo el RMSD de todas las proteasas analizadas, este valor sobrepone las estructuras proteicas, midiendo las distancias entre los átomos correspondientes de ambas estructuras para luego calcular la desviación cuadrática media de estas distancias. Por lo tanto, entre menor sea el valor del RMSD podemos decir que la similitud entre proteínas es mayor.

RMSD = 0.663 Å

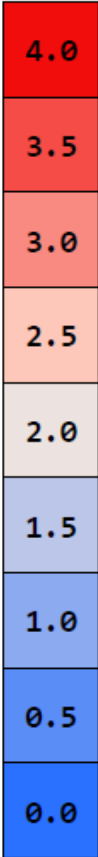
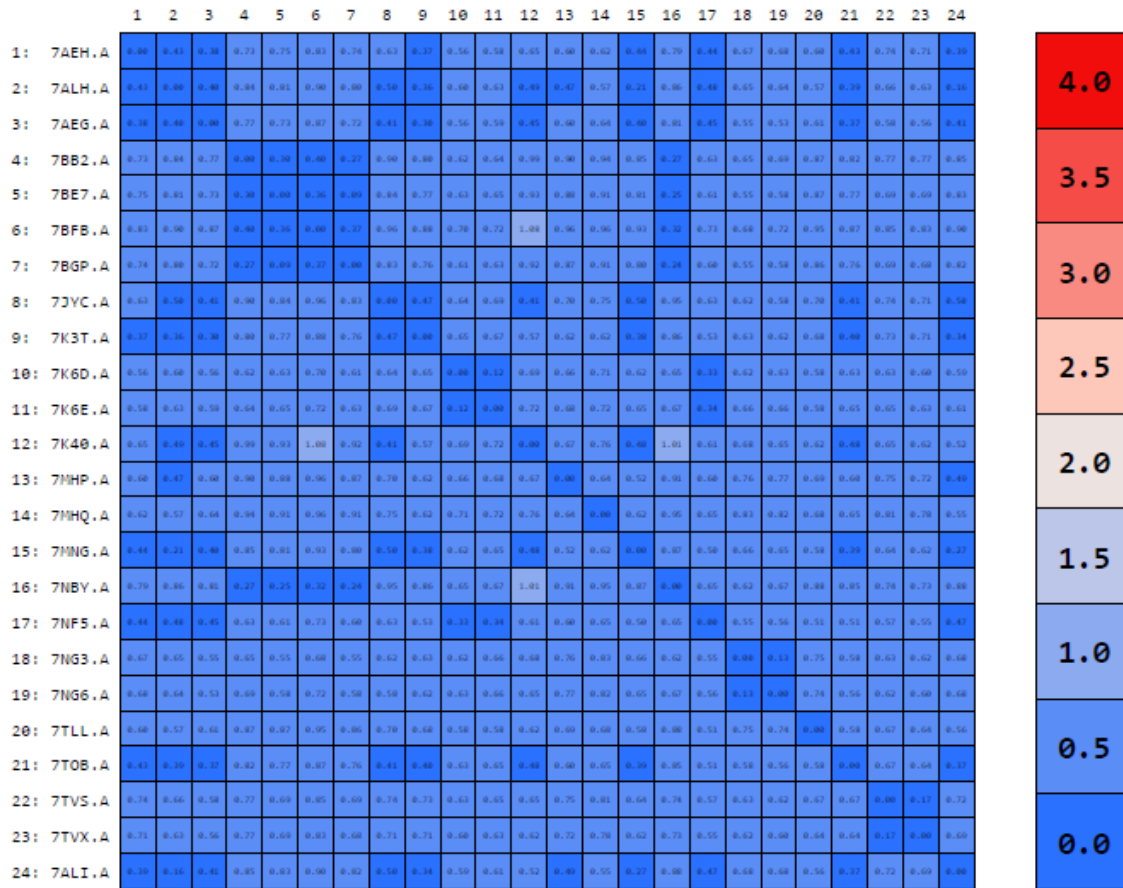


Fig 32. Comparación de RMSD entre las diferentes M^{pro} empleadas.

Para el caso de las 24 M^{pro} analizadas se obtuvo un valor de RMSD igual a 0.663 Å (Fig 32), lo que nos indica que la similitud estructural entre las proteasas analizadas es alta, por lo que no encontramos mutaciones significativas entre los aminoácidos de la proteasa.

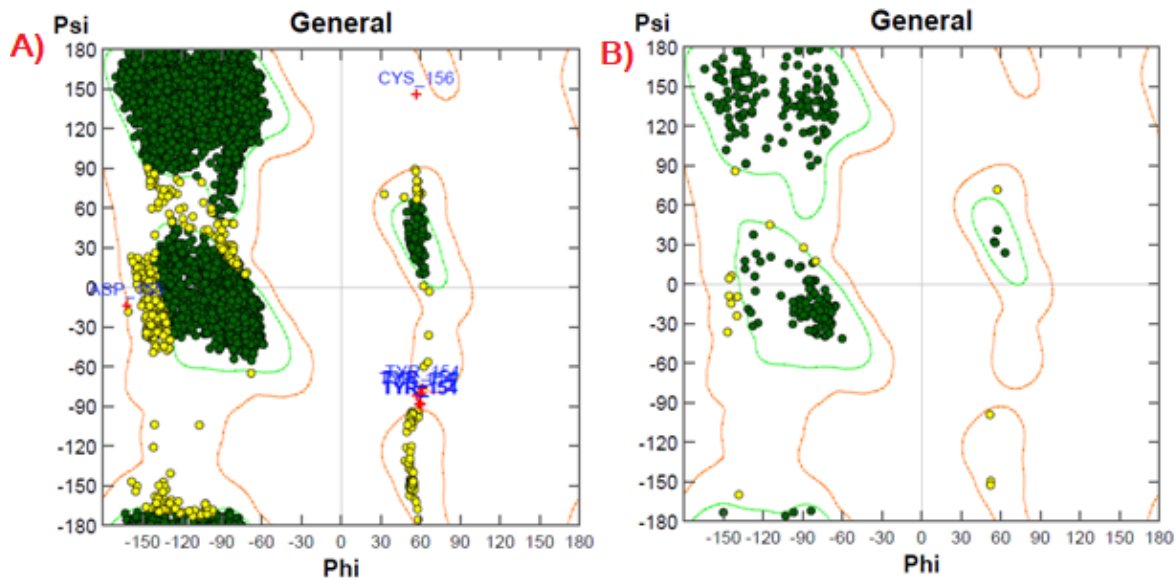


Fig 33. Comparativo de Diagramas de Ramachandran. A) Diagramas de Ramachandran de las 24 M^{pro} analizadas. B) Diagrama de Ramachandran de la M^{pro} 7ALH.

Finalmente, el último método de comprobación de la integridad de las proteasas analizadas fue la obtención del diagrama de Ramachandran el cual nos ayuda para validar la estructura de las proteínas que fueron obtenidas por medio de Rayos X, asegurando que la conformación proteica sea correcta. En la Fig 33 podemos observar del lado izquierdo el diagrama de Ramachandran de las 24 proteasas, donde se encuentran que la gran mayoría refiere a círculos verdes, los cuales nos indica que se encuentran correctas respecto a los ángulos de torsión, una menor parte se encuentra en círculos amarillos, que son aminoácidos que se encuentran en el área permitida, los cuales siguen siendo favorables para la conservación de la estructura y finalmente encontramos nueve cruces rojas que nos refieren valores atípicos en los residuos.

Revisando con mayor profundidad se puede observar en la Tabla 12 que estos valores se encuentran en nueve proteasas diferentes, teniendo un error en algún residuo de la proteína del 0.32% en cada una de ellas, lo que nos lleva a interpretar que la estructura proteica no se ve comprometida, sin embargo, se buscó la M^{pro} 7ALH la cual no presenta errores representados en su diagrama (Fig 33).

#	Chain	Residue	Psi	Phi	Score	Region
1	4:[7BFB.B]	TYR 154	-80.2	60.5	0.00033	outlier
2	8:[7K3T.A]	TYR 154	-81.7	56.9	0.00026	outlier
3	10:[7K6E.A]	TYR 154	-80.6	59.0	0.00031	outlier
4	12:[7MHP.A]	CYS 156	145.9	56.8	0.00015	outlier
5	15:[7NBY.A]	TYR 154	-87.6	60.0	0.00033	outlier
6	16:[7NBY.B]	TYR 154	-88.7	60.2	0.00035	outlier
7	19:[7NG3.B]	TYR 154	-76.1	61.6	0.00050	outlier
8	21:[7NG6.B]	ASP 155	-13.7	-162.0	0.00043	outlier
9	31:[7ALI.B]	TYR 154	-88.3	58.6	0.00034	outlier

Tabla 12. Reporte de residuos con valores atípicos encontrados en las diferentes M^{pro} empleadas.

Teniendo en cuenta esto, se eligió la M^{pro} del SARS-CoV-2 con código PDB 7ALH, la cual tiene por nombre “Crystal structure of the main protease (3CL^{pro}/M^{pro}) of SARS-CoV-2 at 1.65Å resolution (spacegroup C2)” (Fig 34) con la finalidad de realizar todos los estudios de acoplamiento molecular en dicha proteasa.

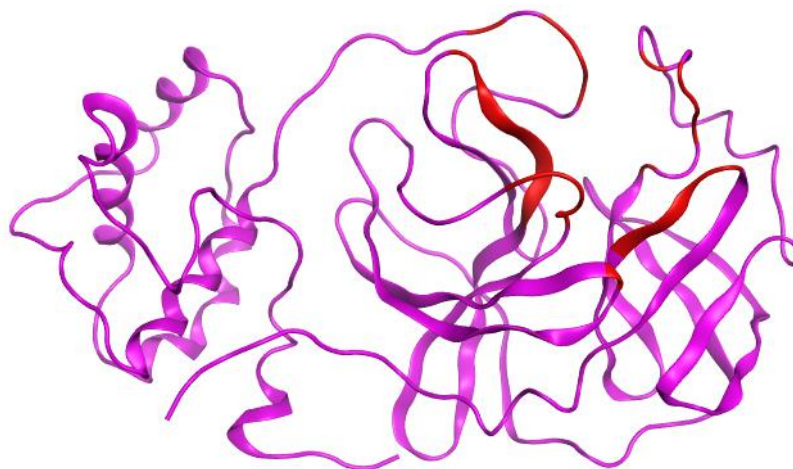


Fig 34. Estructura cristalina de la M^{pro} del SARS-CoV-2 con código PDB 7ALH.

Para poder realizar el “docking” molecular fue necesario buscar el sitio con mejor actividad de acoplamiento dentro de la M^{pro} 7ALH por lo cual fue necesario recurrir a la herramienta “Site Finder” de MOE con la intención de analizar en cuál posición se encuentran los mejores aminoácidos receptores de la M^{pro} empleada, por lo que se encontró que “Site Finder” arrojó como mejor sitio de acoplamiento de ligando el mostrado en la tabla 13, la cual contiene la Histidina 41 (HIS41) y la Cisteína 145 (CYS145) que se considera una diada catalítica de la M^{pro} del SARS-CoV-2 para

catalizar la ruptura de la poliproteína viral en múltiples proteínas esenciales para la replicación.⁶³

Tabla 13. Aminoácidos elegidos mediante "Site Finder" como posible sitio receptor en M ^{pro} 7ALH.									
THR24	THR25	LEU27	HIS41	CYS44	THR45	SER46	MET49	ASN119	ASN142
GLY143	SER144	CYS145	HIS163	HIS164	MET165	GLU166	LEU167	PRO168	
ARG188	GLN189	THR190	GLN192						

Dicho sitio puede verse representado gráficamente en la Fig 35, donde en las cintas de color rojo se encuentran los aminoácidos empleados por "Site Finder", las esferas rojas marcadas representan los sitios hidrófilos y las esferas blancas los sitios hidrófobos, así mismo se encuentra marcada la diada catalítica con sus respectivos nombres.

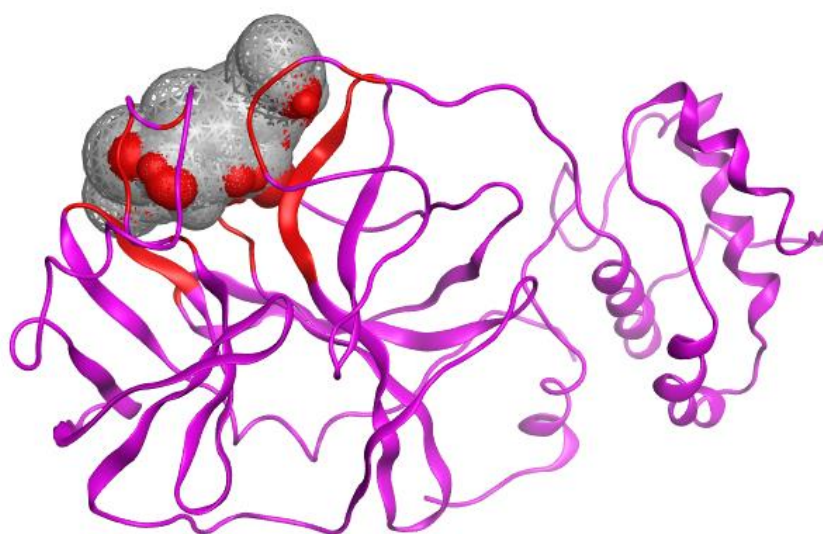


Fig 35. Posibles sitios receptores por medio de "Site Finder" de 7ALH.

Conociendo el sitio de estudio se procedió a realizar el "docking" molecular por medio del programa MOE donde se utilizaron los diferentes medicamentos con aprobación de emergencia como son Lopinavir, Molnupiravir™, Nirmatrelvir, Ritonavir y Remdesivir™ frente a los compuestos sintetizados LQM 794, LQM 795, LQM 796, LQM 797 Y LQM 798.

Tabla 14. Energías de interacción de los diferentes ligandos analizados.	
Molécula	Energía de Interacción (KJ/mol)
LQM 794	-5.86
LQM 795	-5.57
LQM 796	-5.67
LQM 797	-5.86
LQM 798	-5.56
Lopinavir	-7.36
Molnupiravir	-5.79
Nirmatrelvir	-6.40
Ritonavir	-7.84
Remdesivir	-6.98

Analizando los datos obtenidos del “docking” podemos observar que por la parte de las propuestas de nuevas moléculas sintetizadas tenemos dos candidatos, los cuales son el LQM 794 y LQM 797 los cuales fueron los tuvieron la energía de interacción más alta. Por el lado de los fármacos tenemos al Ritonavir que fue la molécula con mayor interacción obtenida, sin embargo, es importante recalcar que Ritonavir es administrado junto con Nirmatrelvir bajo el nombre de Paxlovid® y el fármaco de aprobación de emergencia con la menor interacción es el Molnupiravir, este medicamento actúa mediante la acumulación de errores mediante la metabolización del análogo nucleósido de la citidina, por lo que su efecto sobre la M^{pro} no es su principal blanco de acción.

El Nirmaltrelvir ha sido reportado extensamente como un inhibidor de la M^{pro} del SARS-CoV-2, por otro lado el Ritonavir es un inhibidor de la proteasa VIH-1 pero en este caso es utilizado como un potenciador farmacológico al inhibir la enzima metabolizadora de citocromo P450 3A4 alargando de esta manera la vida media del Nirmaltrelvir.⁶⁴

A pesar de tener una buena energía de interacción con Ritonavir en este estudio *in silico*, mediante un estudio *in vitro* se demostró que este medicamento por sí solo no tenía actividad alguna contra el SARS-CoV-2. De igual manera, en otro estudio *in*

vitro se observó que el Lopinavir que es otro inhibidor de la Proteasa de VIH-1 (El cual muestra otra energía de interacción alta) en concentraciones altas presentaba actividad frente al SARS-CoV-2, al igual que en su combinación de Lopinavir/Ritonavir^{65,66}, pero un estudio reciente en modelos animales demuestra que estos medicamentos no tienen efecto antiviral sobre el SARS-CoV-2.^{65,67}

Por estas razones es que la comparación de las Moléculas LQM 794 y 797 se harán únicamente frente a Nirmatrelvir, el cual cuenta con estudios que avalan su eficacia frente al SARS-CoV-2⁶⁸ y como inhibidor de la M^{pro} que es la proteína en la cual se basa este estudio.

Para poder evaluar que los resultados de los “docking” sean certeros y no presenten datos anómalos, a cada uno se le realizó un clúster (Agrupación de moléculas evaluadas en el docking) de todas sus conformaciones con el fin de observar si alguna conformación se realizó fuera del sitio especificado, por lo que para los sistemas evaluados (Fig 36-38) todas las conformaciones fueron correctas.

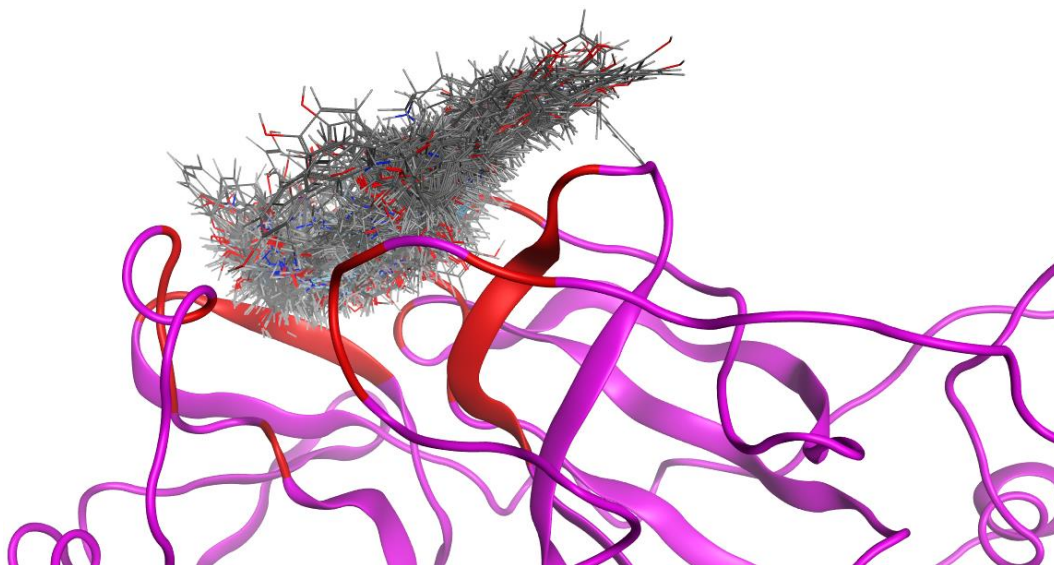


Fig 36. Clúster de interacciones del LQM 794 con el sitio receptor.

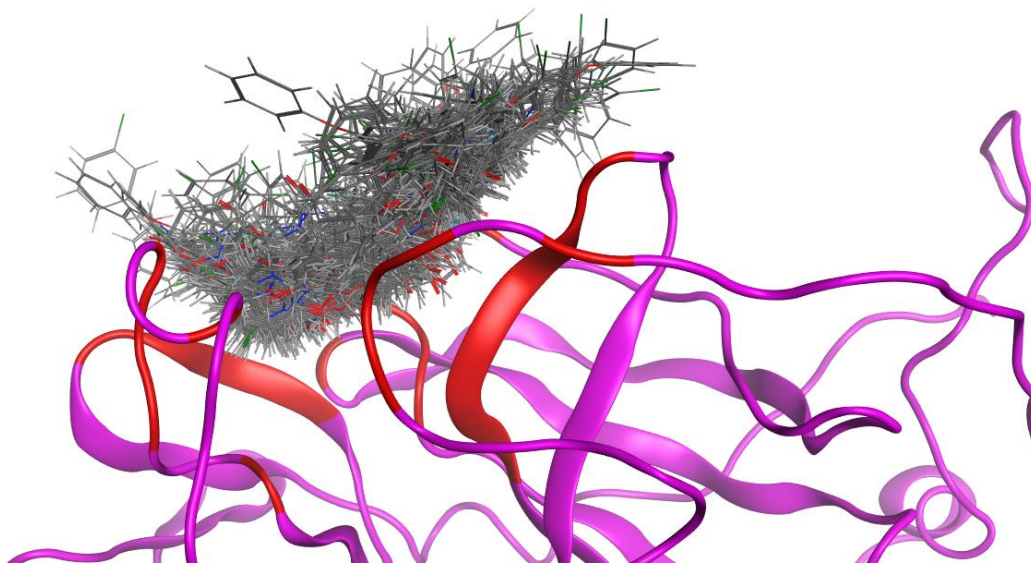


Fig 37. Clúster de interacciones del LQM 797 con el sitio receptor.

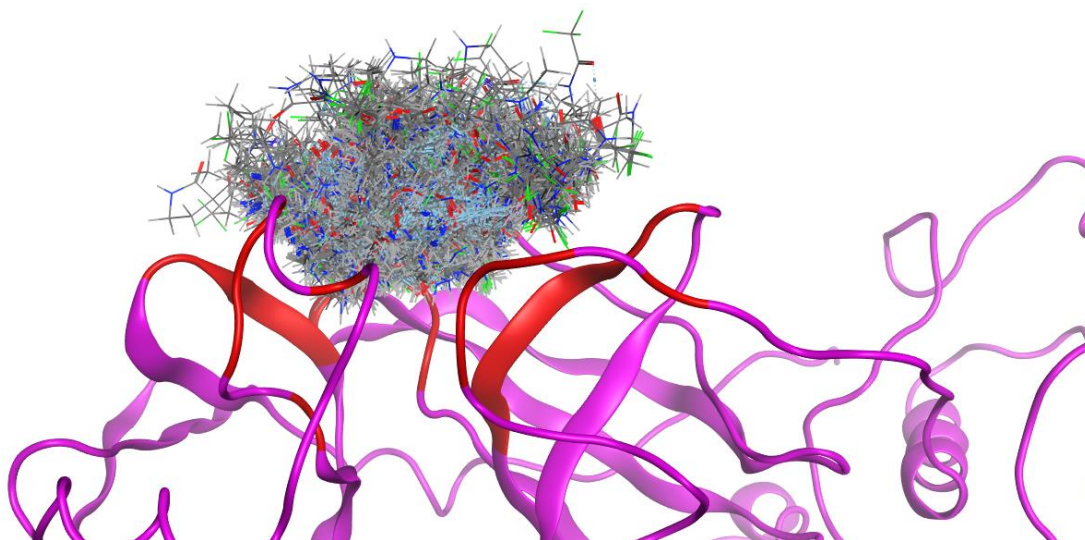


Fig 38. Clúster de interacciones de Nirmatrelvir con el sitio receptor.

Se realizó un PLIF mediante MOE de las moléculas evaluadas frente a la M^{pro} con la finalidad de obtener de una manera gráfica y resumida las interacciones que existen de los aminoácidos del receptor con el ligando.

Para el caso del LQM 794, se observó que la interacción de los aminoácidos (Fig 39) tiene una mayor frecuencia con el THR25 y GLU166, teniendo en tercera posición la interacción con CYS145, sin embargo, las interacciones del LQM 794 con la HIS41 no son representativas.

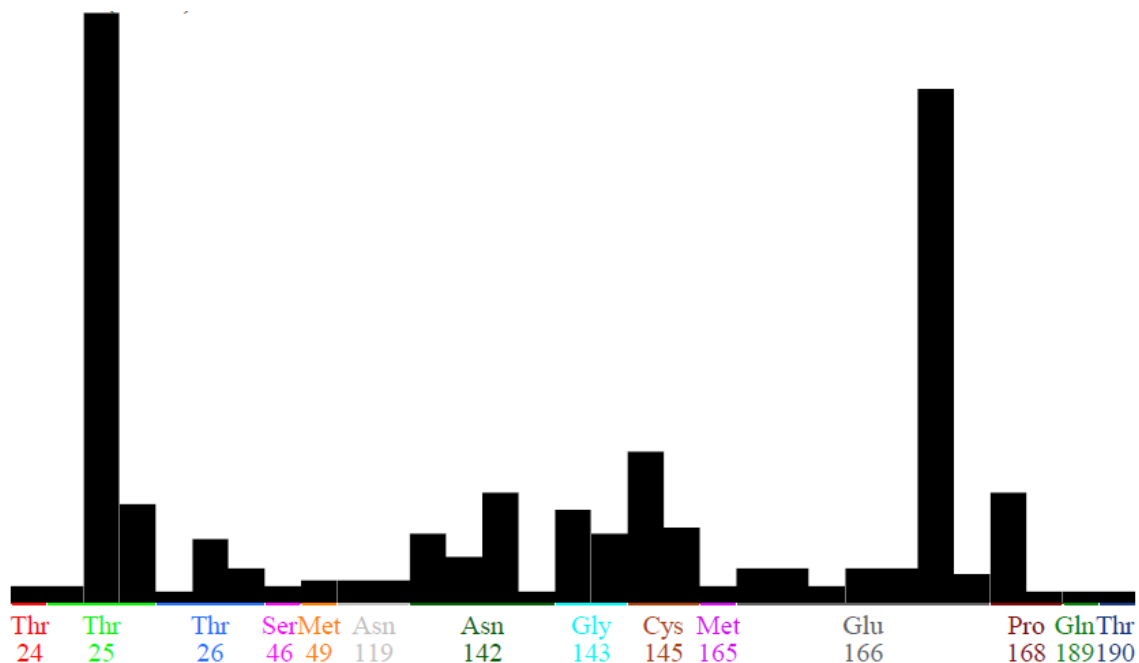


Fig 39. PLIF de la M^{pro} 7ALH frente al LQM 794.

Por lo que, al analizar cada uno de los diagramas de interacciones, no se encontró alguna conformación en la cual se tenga a la diada catalítica, esto ocurre debido a diferentes razones, una de ellas es que, al ser un acoplamiento molecular lo que se realizó, no se ponen en el sistema otros factores como lo son: la interacción con agua, iones, pH entre otros, por lo que se ha observado mediante dinámicas moleculares y difracción de Rayos X que una molécula de agua es la responsable de favorecer las interacciones, funcionando como un aceptor de puentes de hidrogeno desde el N δ 1 protonada de HIS41⁶⁹. Aunado a esto, mediante a diferentes pH en dinámicas moleculares se ha observado que la protonación de diferentes residuos cercanos y en la diada catalítica aumentan las distancias de enlace y flexibilidad que estos tienen.⁷⁰

En la Fig 40, se puede observar la conformación con mejor energía obtenida, la cual presenta una interacción de la GLN189 con el grupo OH del LQM 794 formando un puente de hidrógeno. Es importante recalcar esta interacción ya que se han presentado estudios que sugieren una importancia en la flexibilidad de este aminoácido en el reconocimiento de inhibidores de la proteasa⁷¹. La segunda interacción de la CYS145 mediante su grupo tiol con el grupo carbonilo presente en

el LQM 794, logrando la inhibición de este aminoácido el cual es parte fundamental de la inhibición de la M^{pro}. Finalmente, se observa una interacción entre uno de los anillos aromáticos del LQM 794 con un hidrógeno de la MET49, donde este aminoácido es crítico ya que se ha demostrado que otros compuestos al formar enlaces con la MET49 resulta en una fuerte inhibición de la actividad de la M^{pro}, por lo que los inhibidores que se unen a este aminoácido pueden tener potencial como posibles tratamientos contra el SARS-CoV-2.⁷²

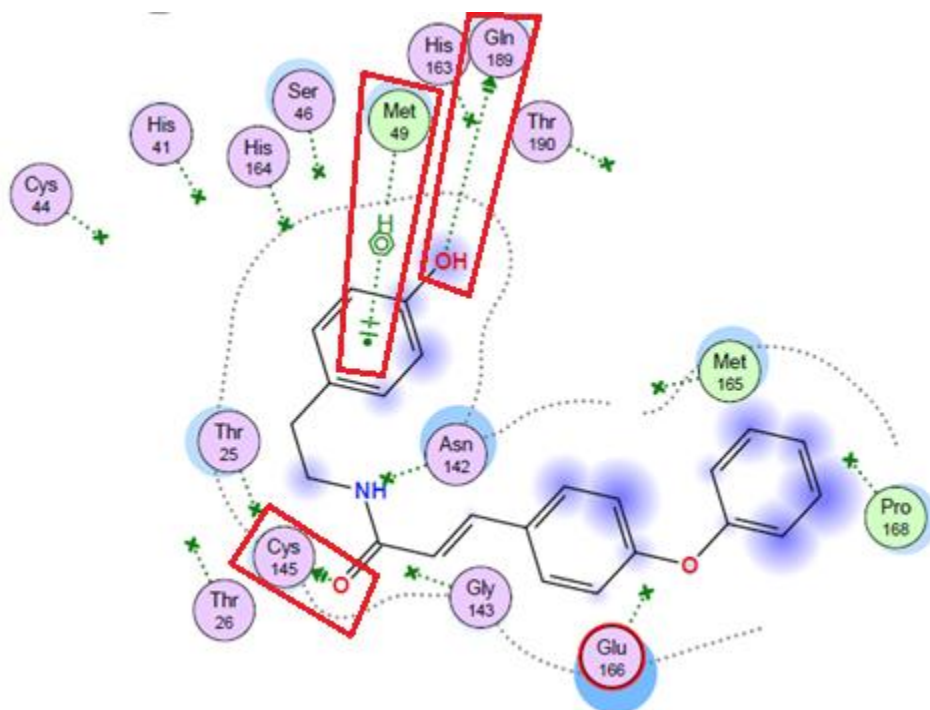


Fig 40. Interacciones del LQM 794 con los aminoácidos de la M^{pro} 7ALH.

Al examinar el PLIF del LQM 797 (Fig 41) encontramos de nueva cuenta mayores interacciones en con la THR25 y la GLU166, sin embargo las interacciones con la diada catalítica son más relevantes comparado con el LQM 794.

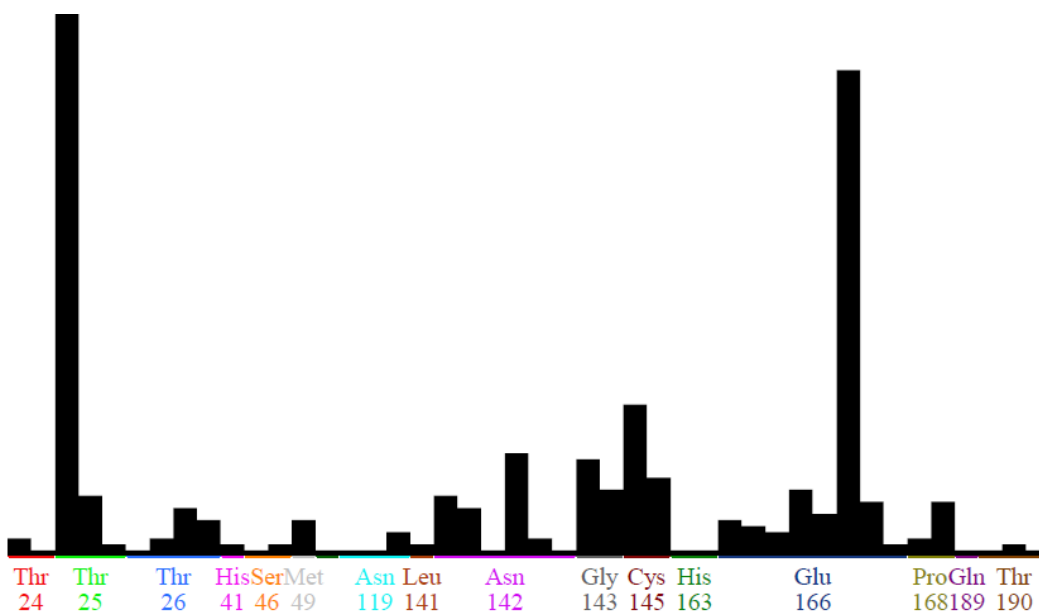


Fig 41. PLIF de la M^{pro} 7ALH frente al LQM 797.

Respecto al diagrama de interacciones del LQM 797 (Fig 42) encontramos mayores interacciones del compuesto frente a la M^{pro}, iniciando por la diada catalítica de CYS145 e HIS41 la cual se encuentra apoyada de la MET49 para realizar la posible inhibición de la M^{pro}.

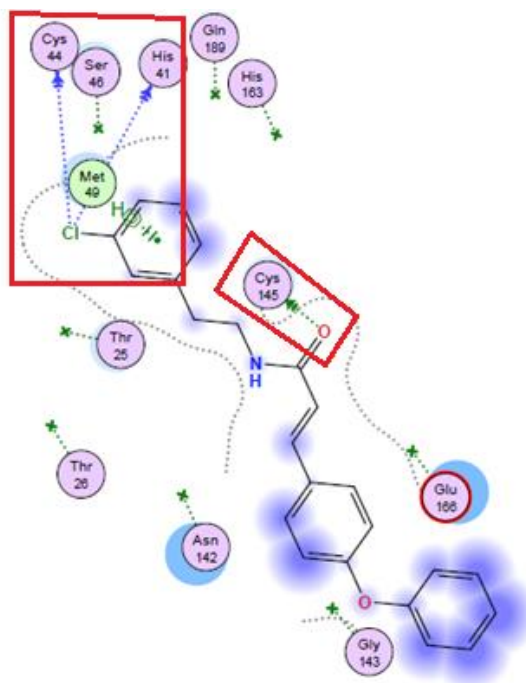


Fig 42. Interacciones del LQM 797 con los aminoácidos de la M^{pro} 7ALH.

Finalmente tenemos el PLIF del medicamento con aprobación de emergencia Nirmaltrelvir (Fig 43) donde las mayores interacciones se dan en la THR24, GLN189 y GLY143, en un cuarto lugar se tienen las interacciones dadas por la CYS145 y al igual que con el LQM 794, las interacciones con la HIS41 son menores pero significativas por medio de la diada catalítica.

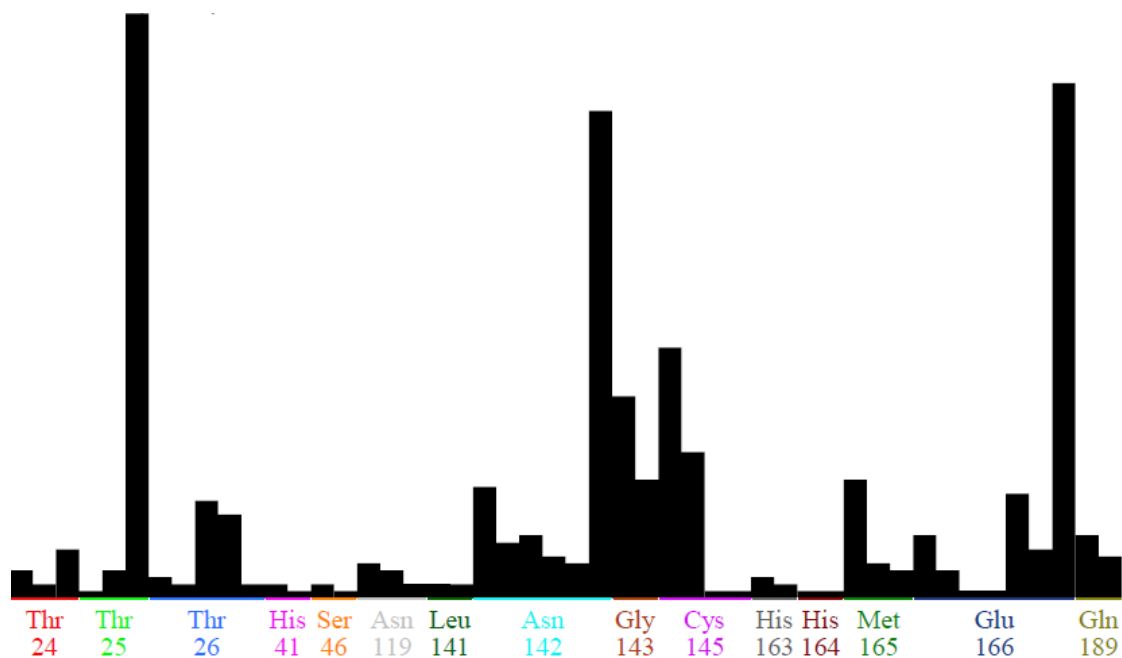


Fig 43. PLIF de la M^{pro} 7ALH frente al Nirmaltrelvir.

En una comparación frente a los compuestos nuevos, encontramos que el Nirmaltrelvir cuenta con un mayor número de interacciones demostradas mediante su diagrama (Fig 44), donde además de encontrar la diada catalítica interaccionando se observa la interacción del HIS163 formando un puente de hidrogeno con el nitrógeno del ciano presente en la molécula, la HIS163 se encuentra involucrada en la catálisis de la enzima, por lo que su inhibición ayuda al fármaco.

7. Conclusiones

- Se realizó la síntesis de cinco nuevas amidas derivadas del ácido cinámico mediante irradiación IR y ausencia de disolventes con buenos rendimientos.
- Las nuevas amidas fueron caracterizadas mediante espectroscopia IR, RMN (^1H y ^{13}C) y espectrometría de masas, demostrando que se obtuvieron las moléculas deseadas.
- Se realizó un estudio de comparación de las estructuras cristalinas de la M^{pro} reportadas en 2022, demostrando que estas no tienen mutaciones las cuales afecten la posibilidad de usar a la M^{pro} como una diana biológica contra el SARS-CoV-2.
- Mediante Site Finder se obtuvo el sitio receptor para lograr la inhibición de la M^{pro}, en dicho sitio se encontraba la diada catalítica (HIS41 y CYS145), la cual ha sido reportada junto con otros aminoácidos como los implicados en la inhibición de la proteasa.
- Usando la técnica de “docking” molecular se realizó un estudio de interacción de los nuevos compuestos LQM 794, LQM 795, LQM 796, LQM 797 y LQM 798, así como algunos fármacos con aprobación de emergencia frente a la M^{pro} 7ALH, observando el potencial del LQM 794 y LQM 797 como un posible inhibidor de la M^{pro} del SARS-CoV-2.

8. Prospectivas

Pese a que este trabajo engloba una sección de síntesis de nuevos compuestos y otra donde se prueban mediante técnicas *in silico* dichos compuestos como posibles inhibidores del SARS-CoV-2 aún queda un extenso trabajo por realizar en investigaciones posteriores, por lo cual:

- Realizar un estudio de dinámica molecular, la cual nos permita verificar con mayor precisión los valores de interacción obtenidos.
- Llevar a cabo estudios *in vitro* que confirmen que las amidas presentadas tienen su posible uso como inhibidor de la M^{pro}.
- Los compuestos LQM 700's han presentado diferentes actividades biológicas, entre dichas actividades se han estudiado como posibles antineoplásicos y más recientemente como posibles tratamientos contra Zika y Dengue, por lo que se propone realizar estudios de nuevas posibles actividades además de la ya propuesta como inhibidor.

9. Referencias

1. Mayo Clinic. (s.f). *Enfermedad del coronavirus 2019 (COVID-19)*. <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/coronavirus/symptoms-causes/syc-20479963>.
2. Verma, P., Dumka, A., Ashok, A., Dumka, A., & Bhardwaj, A. (2021). COVID-19: origin, detection and impact analysis using artificial intelligence computational techniques. Boca Ratón: CRC Press.
3. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). (s.f). *COVID-19 México*. <https://datos.covid-19.conacyt.mx/>
4. Ho, W. S., Zhang, R., Tan, Y. L., & Chai, C. L. L. (2022). COVID-19 and the promise of small molecule therapeutics: Are there lessons to be learnt? *Pharmacological Research*, 179, 106201. DOI: 10.1016/j.phrs.2022.106201
5. Merck. (s.f). *Mpro, 3CL Protease from coronavirus SARS-COV-2*. <https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/product/sigma/sae0172>
6. Andres, J., & Beltran, J. (2000). *Química teórica y computacional*. Universitat Jaume I: Servei de Comunicació i Publicacions.
7. Gore, M., & Jagtap, U. B. (2018). *Computational drug discovery and design*. NJ: Humana Press.
8. Shepesh, R. (2022). Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Nueva York: Salem Press Encyclopedia of Health.
9. Center for Disease Control and Prevention (CDC). (s.f). *Symptoms of COVID-19*. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>
10. Carod-Artal FJ. Síndrome post-COVID-19: epidemiología, criterios diagnósticos y mecanismos patogénicos implicados. *Rev Neurol* 2021;72 (11):384-396. DOI: 10.33588/rn.7211.2021230.
11. Center for Disease Control and Prevention (CDC). (s.f). *How COVID-19 Spreads*. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covid-spreads.html>
12. Instituto Nacional del Cáncer. (s.f). *SARS-CoV-2*. <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/sars-cov-2>.
13. Harrison AG, Lin T, Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends Immunol*. 2020 Dec;41(12):1100-1115. DOI: 10.1016/j.it.2020.10.004.
14. Peiris, M. (2021). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) (Coronaviridae). *In Encyclopedia of Virology* (Vol. 2). Elsevier Ltd. DOI: 10.1016/b978-0-12-814515-9.00155-7.
15. Pastrian-Soto, Gabriel. (2020). Bases Genéticas y Moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de Patogénesis y de Respuesta Inmune. *International journal of odontostomatology*, 14(3), 331-337. DOI: 10.4067/S0718-381X2020000300331

16. Center for Disease Control and Prevention (CDC). (s.f). *Clasificaciones y definiciones de las variantes del SARS-CoV-2*. <https://espanol.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html>
17. Wierzchó, M. (1,2), Orozco, M. (1,5), Tang, P. K. (3,4), & Cossio, P. (3,4). (2023). Omicron mutations increase interdomain interactions and reduce epitope exposure in the SARS-CoV-2 spike. *Science*, 26(2). DOI: 10.1016/j.isci.2023.105981
18. Chan, K. C. (1,2), Song, Y. (1), Shang, C. (1), Zhou, R. (1,2,4,5), & Xu, Z. (3). (2022). SARS-CoV-2 Delta Variant: Interplay between Individual Mutations and Their Allosteric Synergy. *Biomolecules*, 12(12). DOI: 10.3390/biom12121742
19. Oliva Marín, J. E. (2020). SARS-CoV-2: origen, estructura, replicación y patogénesis. *Alerta, Revista científica Del Instituto Nacional De Salud*, 3(2 (julio-diciembre), 79-86. DOI: 10.5377/alerta.v3i2.9619
20. Arandia-Guzmán, Jaime, & Antezana-Llaveta, Gabriela. (2020). SARS-CoV-2: estructura, replicación y mecanismos fisiopatológicos relacionados con COVID-19. *Gaceta Médica Boliviana*, 43(2), 170-178. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662020000200009&lng=es&tlng=es.
21. Huff, S., Kummetha, I. R., Tiwari, S. K., Huante, M. B., Clark, A. E., Wang, S., Bray, W., Smith, D., Carlin, A. F., Endsley, M., & Rana, T. M. (2022). Discovery and Mechanism of SARS-CoV-2 Main Protease Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 65(4), 2866-2879. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.1c00566.
22. Ullrich, S., & Nitsche, C. (2020). The SARS-CoV-2 main protease as drug target. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 30(17), 127377. DOI: 10.1016/j.bmcl.2020.127377
23. Sacco, M. D., Hu, Y., Gongora, M. V., Meilleur, F., Kemp, M. T., Zhang, X., Wang, J., & Chen, Y. (2022). The P132H mutation in the main protease of Omicron SARS-CoV-2 decreases thermal stability without compromising catalysis or small-molecule drug inhibition. *Cell Res* 32, 498-500. DOI: 10.1038/s41422-022-00640-y
24. Singh, M., & de Wit, E. (2022). Antiviral agents for the treatment of COVID-19: Progress and challenges. *Cell Reports Medicine*, 3(3), 100549. DOI: 10.1016/j.xcrm.2022.100549
25. Pfizer Laboratories. (s.f). *FACT SHEET FOR HEALTHCARE PROVIDERS: EMERGENCY USE AUTHORIZATION FOR PAXLOVID*. <https://labeling.pfizer.com/ShowLabeling.aspx?id=16474>
26. Vangeel, L., Chiu, W., De Jonghe, S., Maes, P., Slechten, B., Raymenants, J., André, E., Leyssen, P., Neyts, J., & Jochmans, D. (2022). Remdesivir, Molnupiravir and Nirmatrelvir remain active against SARS-CoV-2 Omicron and other variants of concern. *Antiviral Research*, 198, 105252. DOI: 1016/j.antiviral.2022.105252

27. Food and Drug Administration (FDA). (s.f). *KALETRA safely and effective*.
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/021251s052_021906s046lbl.pdf
28. Food and Drug Administration (FDA). (s.f). *FACT SHEET FOR HEALTHCARE PROVIDERS: EMERGENCY USE AUTHORIZATION FOR LAGEVRIO™ (molnupiravir) CAPSULES*.
<https://www.fda.gov/media/155054/download>
29. O'Neil, M.J. (2006). *The Merck Index: Una Enciclopedia de químicos, drogas y productos biológicos (14a ed.)*. NJ: Merck.
30. Yusoff, N. M., Asari, A., & Addis, S. N. K. (2022). The data on molecular docking of cinnamic acid amide on dengue viral target NS2B/NS3. *Data in Brief*, 42, 108036. DOI: 10.1016/j.dib.2022.108036
31. Das, A. B., Goud, V. V., & Das, C. (2019). Phenolic Compounds as Functional Ingredients in Beverages. *Value-Added Ingredients and Enrichments of Beverages*, 285-323. DOI:10.1016/b978-0-12-816687-1.00009-6
32. Chen, Y., Li, Z., Pan, P., Lao, Z., Xu, J., Li, Z., Zhan, S., Liu, X., Wu, Y., Wang, W., & Li, G. (2021). Cinnamic acid inhibits Zika virus by inhibiting RdRp activity. *Antiviral Research*, 192, 105117. DOI: 10.1016/j.antiviral.2021.105117
33. Ghayourmanesh, S. (2020). *Amides*. Nueva York: Salem Press Encyclopedia of Science.
34. Wade, L. (2006). *Química Organica Vol. 2 (5a. Ed.)*. Mexico: Prentice-Hall Hispanoamericana.
35. Martínez Soriano, Pablo Arturo. (2017). "Síntesis y actividad antineoplásica de derivados y/o análogos del ácido cinámico". (Tesis de Doctorado). Universidad Nacional Autónoma de México, México. Recuperado de <https://repositorio.unam.mx/contenidos/86606>.
36. Barluenga, J., Fañanás, F. J., Foubelo, F., & Yus, M. (1988). One-pot synthesis of α , β -unsaturated butyrolactams from allyl amines. *Tetrahedron Letters*, 29(38), 4859-4862. DOI: 10.1016/S0040-4039(00)80627-9
37. Gracias, V., Milligan, G. L., & Aubé, J. (1995). Efficient Nitrogen Ring-Expansion Process Facilitated by in Situ Hemiketal Formation. An Asymmetric Schmidt Reaction. *J. Am. Chem. Soc*, 117(1), 10183-10194. DOI:1021/ja00135a036
38. Beckmann, E. (1886), Zur Kenntniss der Isonitrosoverbindungen. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 19: 988-993. DOI: 10.1002/cber.188601901222
39. Gbadebo, O., Fox, K., Sutton, G., Murphy, P. V., Smith, D., & O'Leary, P. (2022). Novel versatile synthesis method for amides, carbamates and ureas employing a Grignard base, an amine and an ester. *Results in Chemistry*, 4, 100253. DOI: 10.1016/j.rechem.2021.100253
40. Chen, B., & Wu, X. F. (2020). Palladium-catalyzed carbonylative synthesis of α,β -unsaturated amides from aryl azides and alkenylaluminum reagent. *Journal of Catalysis*, 383, 160-163. DOI: 10.1016/j.jcat.2020.01.017

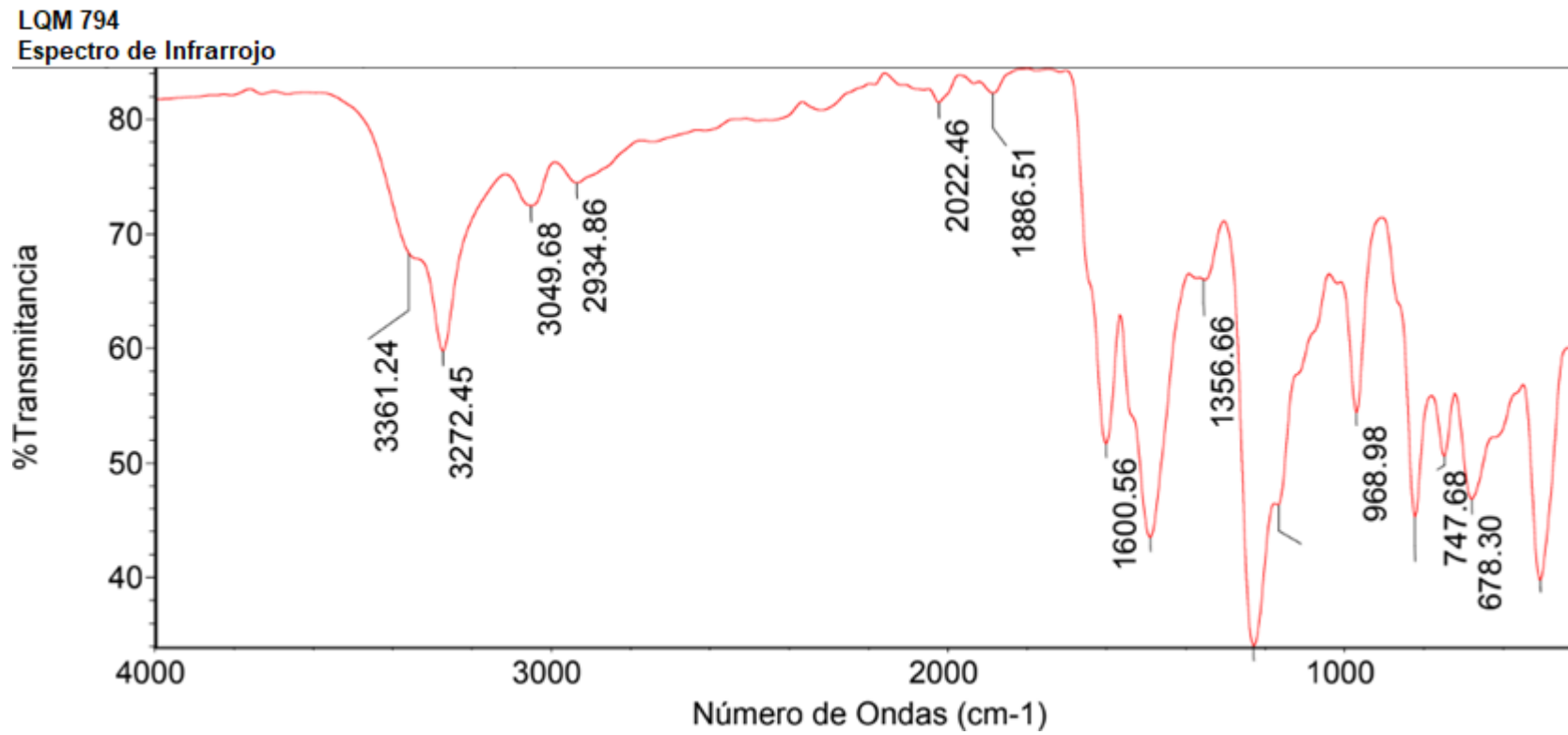
41. LaGoo, L. B. S. . M. S. (2020). Spectroscopy. Nueva York: Salem Press Encyclopedia of Science.
42. Wade, L. (2006). Química Organica Vol. 1 (5a. Ed.). México: Prentice-Hall Hispanoamericana.
43. Chang, R. (2013). Química (11a. ed.). México D.F: McGraw Hill.
44. Thermo Fisher Scientific. (s.f). *Espectroscopia de energía dispersiva*. <https://www.thermofisher.com/mx/es/home/materials-science/eds-technology.html>
45. Princeton University. (s.f). *Molecular Dispersion Spectroscopy*. <https://wsocki.princeton.edu/molecular-dispersion-spectroscopy>
46. Harris, D. C. (2012). Análisis químico cuantitativo (3a.ed.). Barcelona: Reverté.
47. Steinmetz, W. E. (2022). Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Nueva York: Salem Press Encyclopedia of Science.
48. Microbe Notes. (s.f). *NMR Spectroscopy- Definition, Principle, Steps, Parts, Uses*. <https://microbenotes.com/nuclear-magnetic-resonance-nmr-spectroscopy/>
49. Cuevas, G. (s.f). *Química computacional*. http://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/56_2/quimica_computacional.pdf
50. Cuevas, G., & Cortés, F. (2003). *Introducción a la química computacional* (1.ª ed.). México: Fondo de Cultura Económica.
51. Cavasotto, C. N. (2016). *In silico drug discovery and design: theory, methods, challenges, and applications*. Boca Ratón: CRC Press.
52. Coumar, M. S. (2021). *Molecular docking for computer-aided drug design: fundamentals, techniques, resources and applications*. Massachusetts: Academic Press.
53. Ballón Paucara, Wendy Guadalupe, & Grados Torrez, Ricardo Enrique. (2019). Acomplamiento molecular: criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos. *Revista CON-CIENCIA*, 7(2), 55-72. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2310-02652019000200006&lng=es&tlng=es.
54. Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., & Cui, M. (2012). Molecular docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*. DOI: 10.2174/157340911795677602
55. *Molecular Operating Environment (MOE)*, 2015.10; Chemical Computing Group Inc., 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, 2015.
56. Vilar, S., Cozza, G., & Moro, S. (2008). Medicinal Chemistry and the Molecular Operating Environment (MOE): Application of QSAR and Molecular Docking to Drug Discovery. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 8(18), 1555-1572. DOI: 10.2174/156802608786786624.

57. Laskowski, R. A., Furnham, N., & Thornton, J. M. (n.d.). *The Ramachandran plot and protein structure validation*. World Scientific Publishing Co. DOI: 10.1142/9789814449144_0005.
58. Maack, R. G. C., Gillmann, C., & Hagen, H. (2019). Uncertainty-Aware Ramachandran Plots. *2019 IEEE Pacific Visualization Symposium (PacificVis), Pacific Visualization Symposium (PacificVis), 2019 IEEE, PACIFICVIS*, 227-231. DOI: 10.1109/PacificVis.2019.00034.
59. Universidad de Concepción. (s.f) *Principios de Estructura de Proteínas*. <http://www2.udec.cl/~jmartine/Capitulo3.htm>
60. Orry, A. J. W., Editor, Abagyan, R., Editor, Kufareva, I., & Abagyan, R. (2012). Methods of Protein Structure Comparison. *Homology Modeling: Methods and Protocols*, 231. DOI: 10.1007/978-1-61779-588-6_10
61. Organización Panamericana de la Salud (OPS). (s.f). *Brote de enfermedad por el Coronavirus (COVID-19)*. <https://www.paho.org/es/temas/coronavirus/brote-enfermedad-por-coronavirus-covid-19>
62. Universidad Nacional Autónoma de México. (s.f). *COVID-19 Monitoreo de la Situación por Estados*. <https://covid19.ciga.unam.mx/apps/covid-19-monitoreo-de-la-situaci%C3%B3n-por-estados/explore>
63. Ferreira, J. C., Fadl, S., Villanueva, A. J., & Rabeh, W. M. (2021). Catalytic Dyad Residues His41 and Cys145 Impact the Catalytic Activity and Overall Conformational Fold of the Main SARS-CoV-2 Protease 3-Chymotrypsin-Like Protease. *Frontiers in chemistry*, *9*, 692168. DOI: 10.3389/fchem.2021.692168
64. Hashemian, S. M. R., Sheida, A., Taghizadieh, M., Memar, M. Y., Hamblin, M. R., Bannazadeh Baghi, H., Sadri Nahand, J., Asemi, Z., & Mirzaei, H. (2023). Paxlovid (Nirmatrelvir/Ritonavir): A new approach to Covid-19 therapy?. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, *162*, 114367. Advance online publication. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.114367
65. Patel, T. K., Patel, P. B., Barvaliya, M., Saurabh, M. K., Bhalla, H. L., & Khosla, P. P. (2021). Efficacy and safety of lopinavir-ritonavir in COVID-19: A systematic review of randomized controlled trials. *Journal of Infection and Public Health*, *14*(6), 740-748. DOI: 10.1016/J.JIPH.2021.03.015.
66. Kang, C. K., Seong, M. W., Choi, S. J., Kim, T. S., Choe, P. G., Song, S. H., ... & Oh, M. D. (2020). In vitro activity of lopinavir/ritonavir and hydroxychloroquine against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 at concentrations achievable by usual doses. *The Korean journal of internal medicine*, *35*(4), 728. DOI: 10.3904/kjim.2020.157.
67. Park, S. J., Yu, K. M., Kim, Y. I., Kim, S. M., Kim, E. H., Kim, S. G., ... & Choi, Y. K. (2020). Antiviral efficacies of FDA-approved drugs against SARS-CoV-2 infection in ferrets. *MBio*, *11*(3), e01114-20. DOI: 10.1128/mbio.01114-20.
68. Heather Eng, Alyssa L. Dantonio, Eugene P. Kadar, R. Scott Obach, Li Di, Jian Lin, Nandini C. Patel, Britton Boras, Gregory S. Walker, Jonathan J.

- Novak, Emi Kimoto, Ravi Shankar P. Singh and Amit S. Kalgutkar. Disposition of Nirmatrelvir, an Orally Bioavailable Inhibitor of SARS-CoV-2 3C-Like Protease, across Animals and Humans. *Drug Metabolism and Disposition*. 50 (5) 576-590; DOI: 10.1124/dmd.121.000801.
69. Macchiagodena, M., Pagliai, M., & Procacci, P. (2022). Characterization of the non-covalent interaction between the PF-07321332 inhibitor and the SARS-CoV-2 main protease. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 110, 108042. DOI: 10.1016/J.JMGM.2021.108042.
70. Pavlova, A., Lynch, D. L., Daidone, I., Zanetti-Polzi, L., Smith, M. D., Chipot, C., Kneller, D. W., Kovalevsky, A., Coates, L., Golosov, A. A., Dickson, C. J., Velez-Vega, C., Duca, J. S., Vermaas, J. V., Pang, Y. T., Acharya, A., Parks, J. M., Smith, J. C., & Gumbart, J. C. (2021). Inhibitor binding influences the protonation states of histidines in SARS-CoV-2 main protease. *Chemical Science*, 12(4), 1513-1527. DOI: 10.1039/d0sc04942e.
71. Said, M. A., Albohy, A., Abdelrahman, M. A., & Ibrahim, H. S. (2021). Importance of glutamine 189 flexibility in SARS-CoV-2 main protease: Lesson learned from in silico virtual screening of ChEMBL database and molecular dynamics. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 160, 105744. DOI: 10.1016/j.ejps.2021.105744
72. Lee, J., Kenward, C., Worrall, L.J. et al. X-ray crystallographic characterization of the SARS-CoV-2 main protease polyprotein cleavage sites essential for viral processing and maturation. *Nat Commun* 13, 5196 (2022). DOI: 10.1038/s41467-022-32854-4
73. Cotrim Bruno A., Barros José C. (2022) Development and patent synthesis of nirmatrelvir - the main component of the first oral drug against SARS-CoV-2 Paxlovid®. *Australian Journal of Chemistry* 75, 487-491. DOI: 10.1071/CH22104.
74. Skoog, D. A., Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2023). *Fundamentos de química analítica* (Primera edición). Cengage Learning Editores.

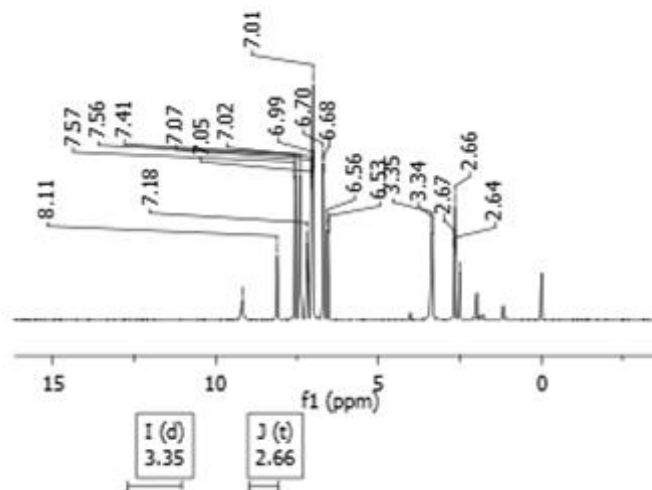
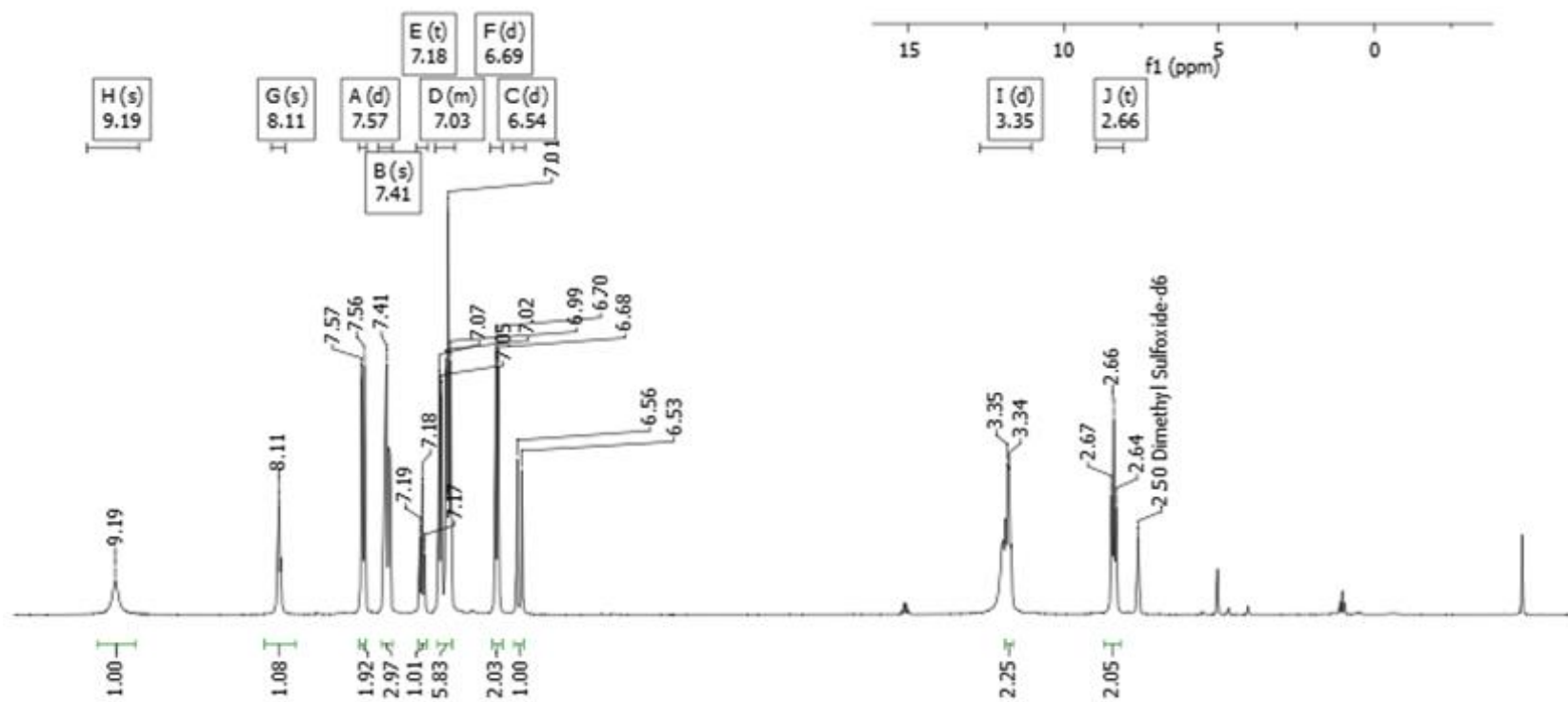
10. Anexos

Anexo 1. Espectroscopia.



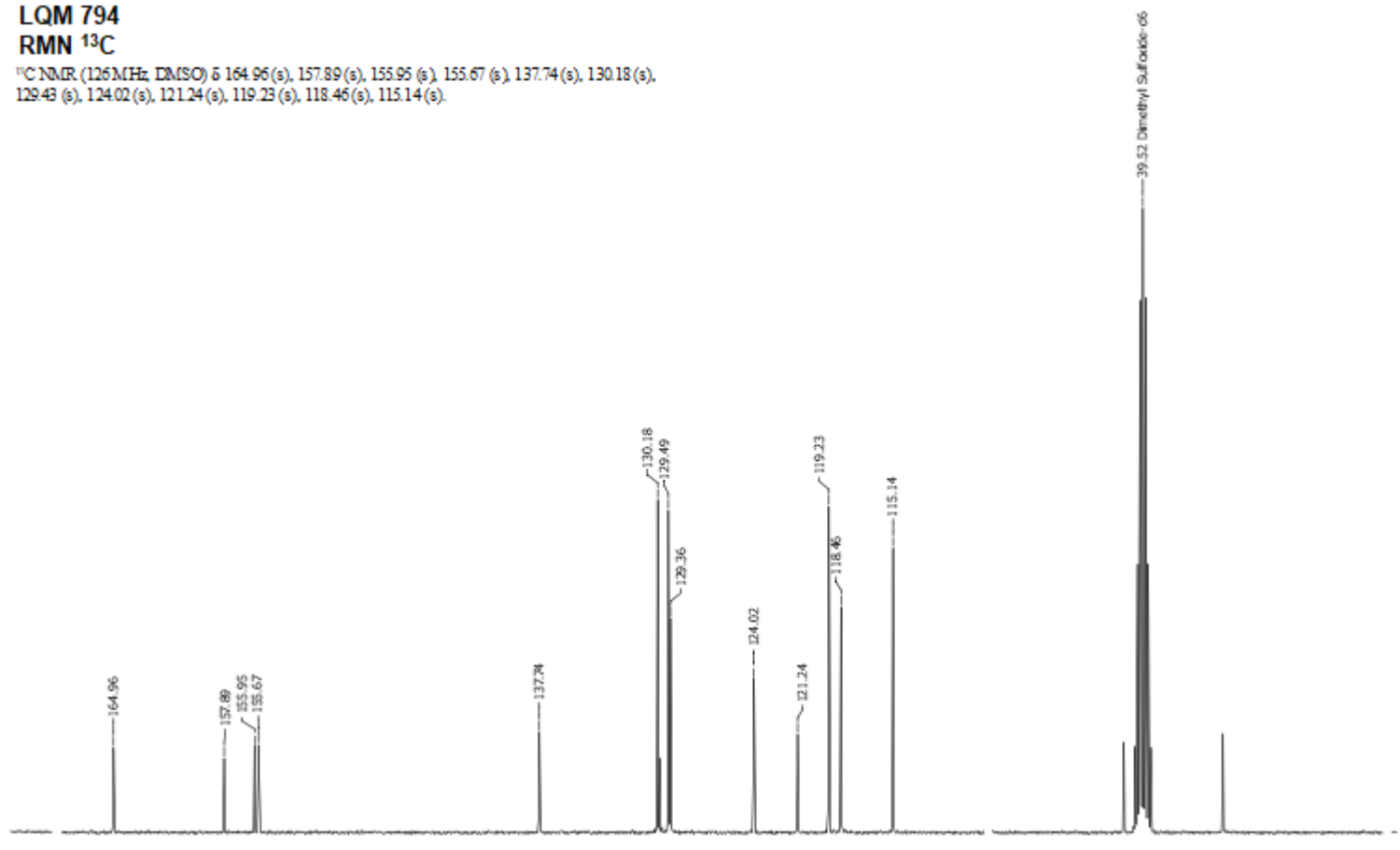
LQM 794
RMN ¹H

¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 9.19 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.57 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.41 (s, 2H), 7.18 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.10–6.96 (m, 3H), 6.69 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 6.54 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 3.35 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.66 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H).



LQM 794
RMN ¹³C

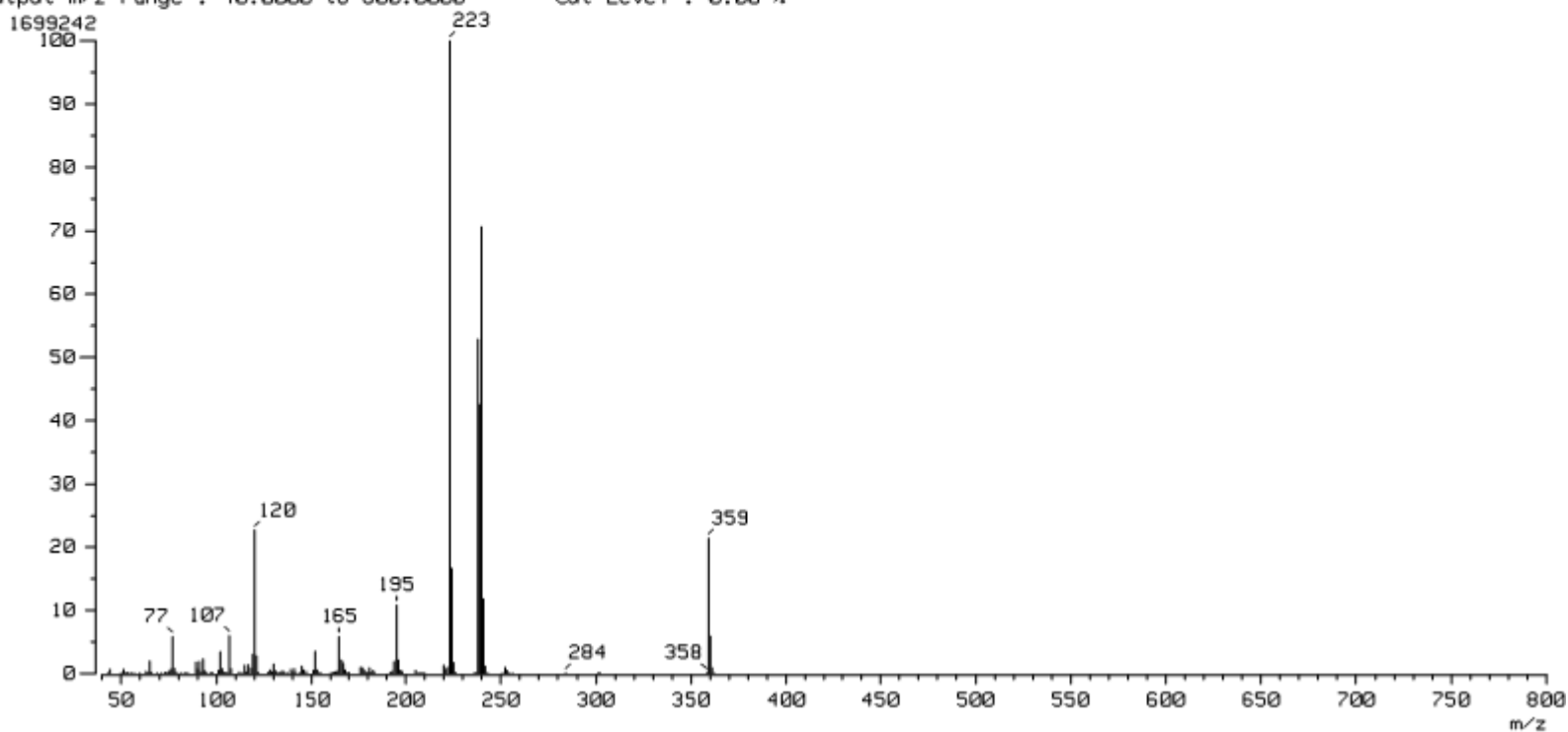
¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 164.96(s), 157.89(s), 155.95 (s), 155.67 (s), 137.74(s), 130.18 (s),
129.43 (s), 124.02(s), 121.24(s), 119.23 (s), 118.46(s), 115.14(s).



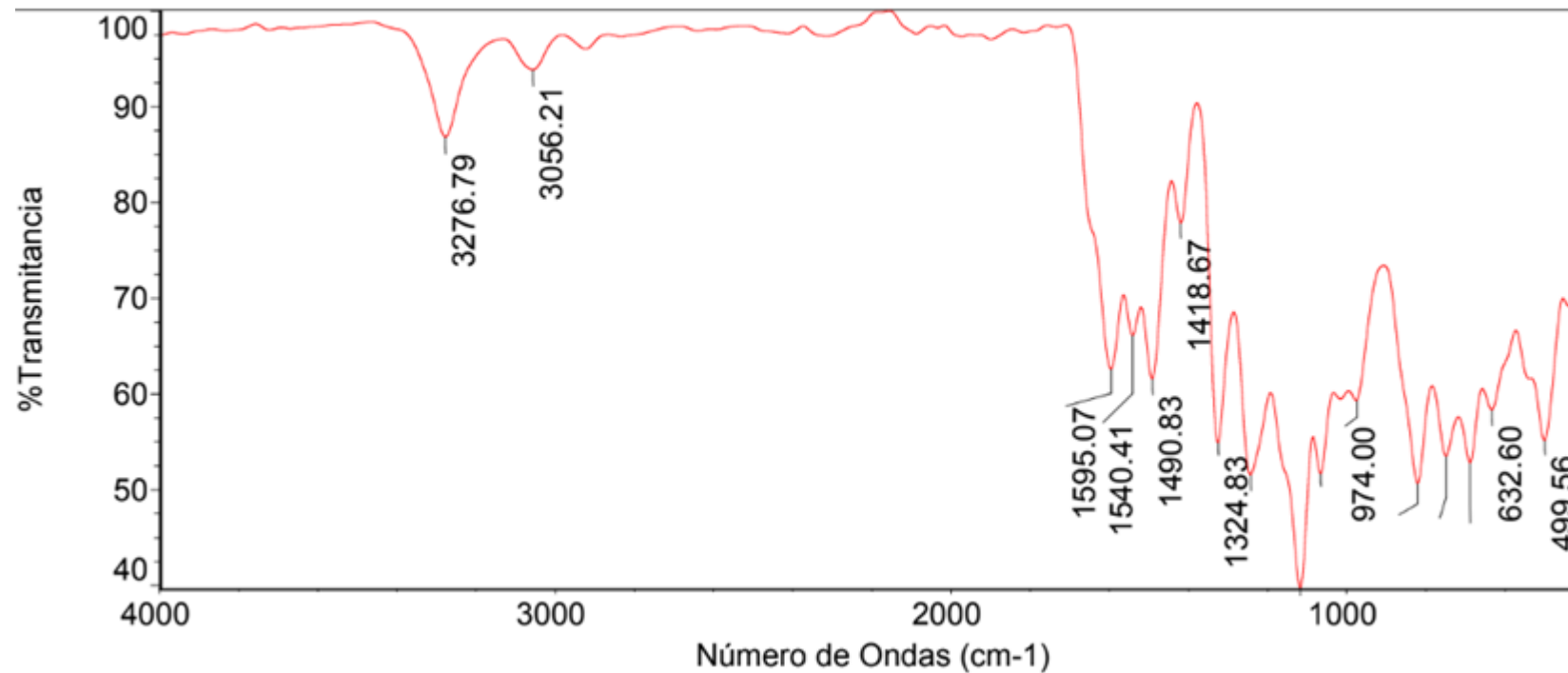
LQM 794

Espectro de Masas

[Mass Spectrum]
Data : VBL054 Date : 27-Jun-2023 14:58
Sample: VBL05-450 Operator Name:M.en ITA Victoria Labastida G.
Note : Dr.Victor Barba/Paola Centro de Investigaciones Quimicas
Inlet : Direct Ion Mode : EI+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 3.07 min Scan# : (24,26)
BP : m/z 223.0000 Int. : 162.05
Output m/z range : 40.0000 to 800.0000 Cut Level : 0.00 %

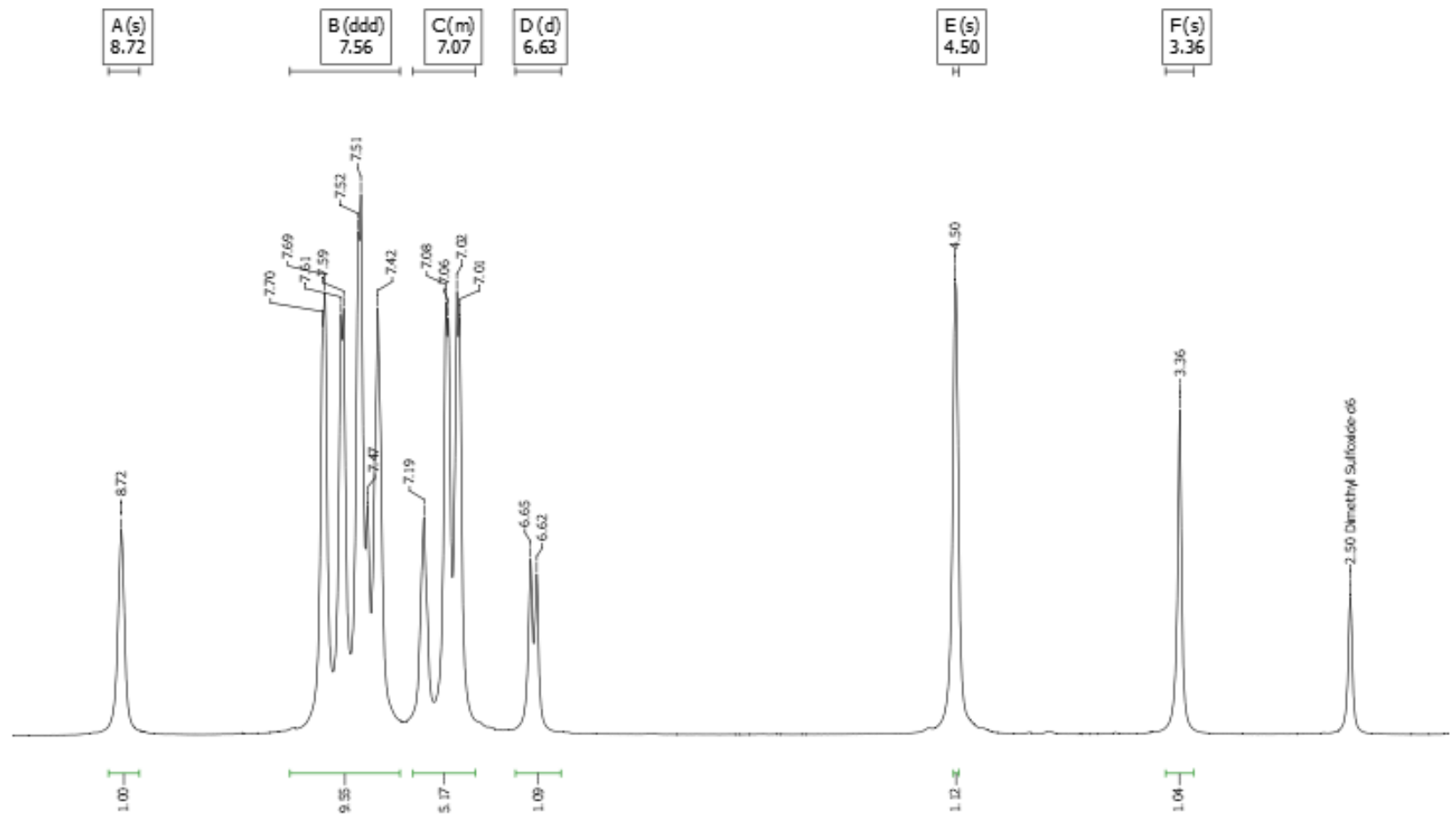


LQM 795
Espectro de Infrarrojo



LQM 795
RMN ¹H

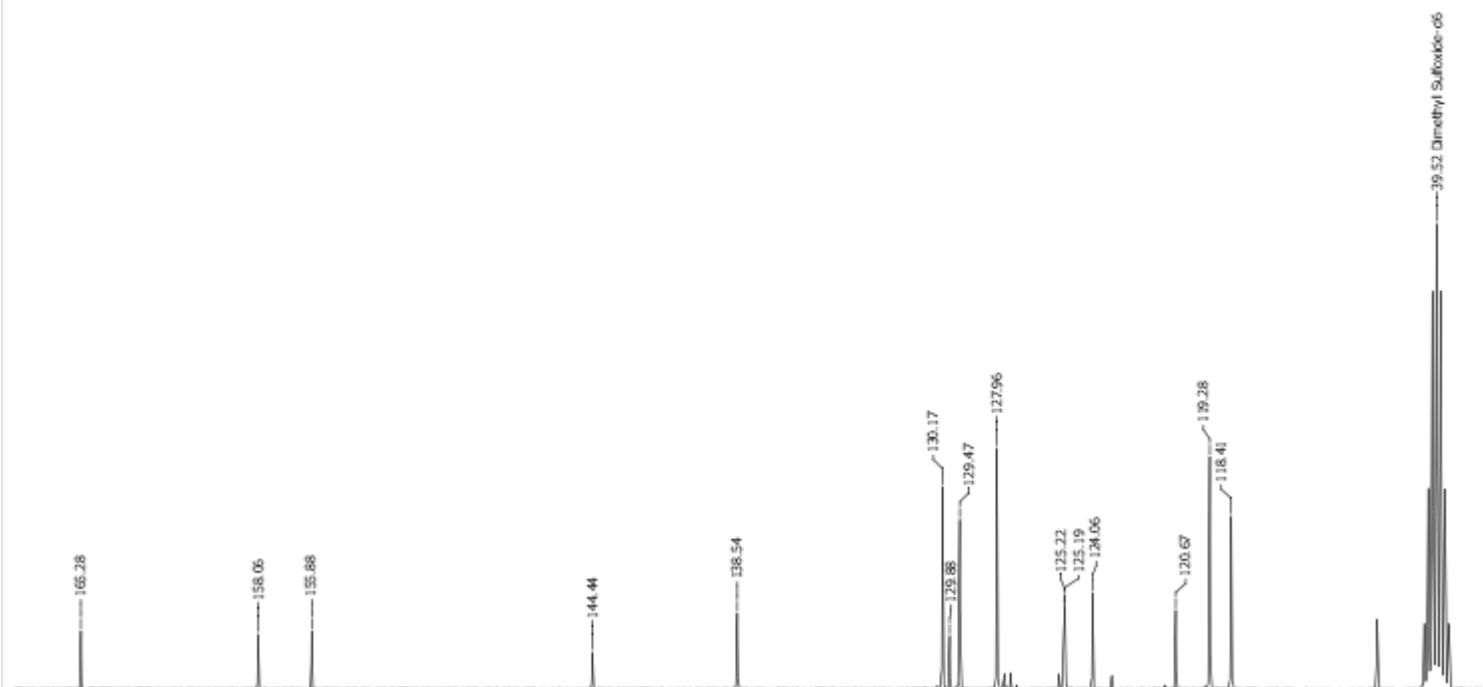
¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.72 (s, 1H), 7.56 (ddd, *J* = 49.1, 44.6, 15.9 Hz, 9H), 7.24–6.93 (m, 5H), 6.63 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 4.50 (s, 1H), 3.36 (s, 1H).



LQM 795

RMN ¹³C

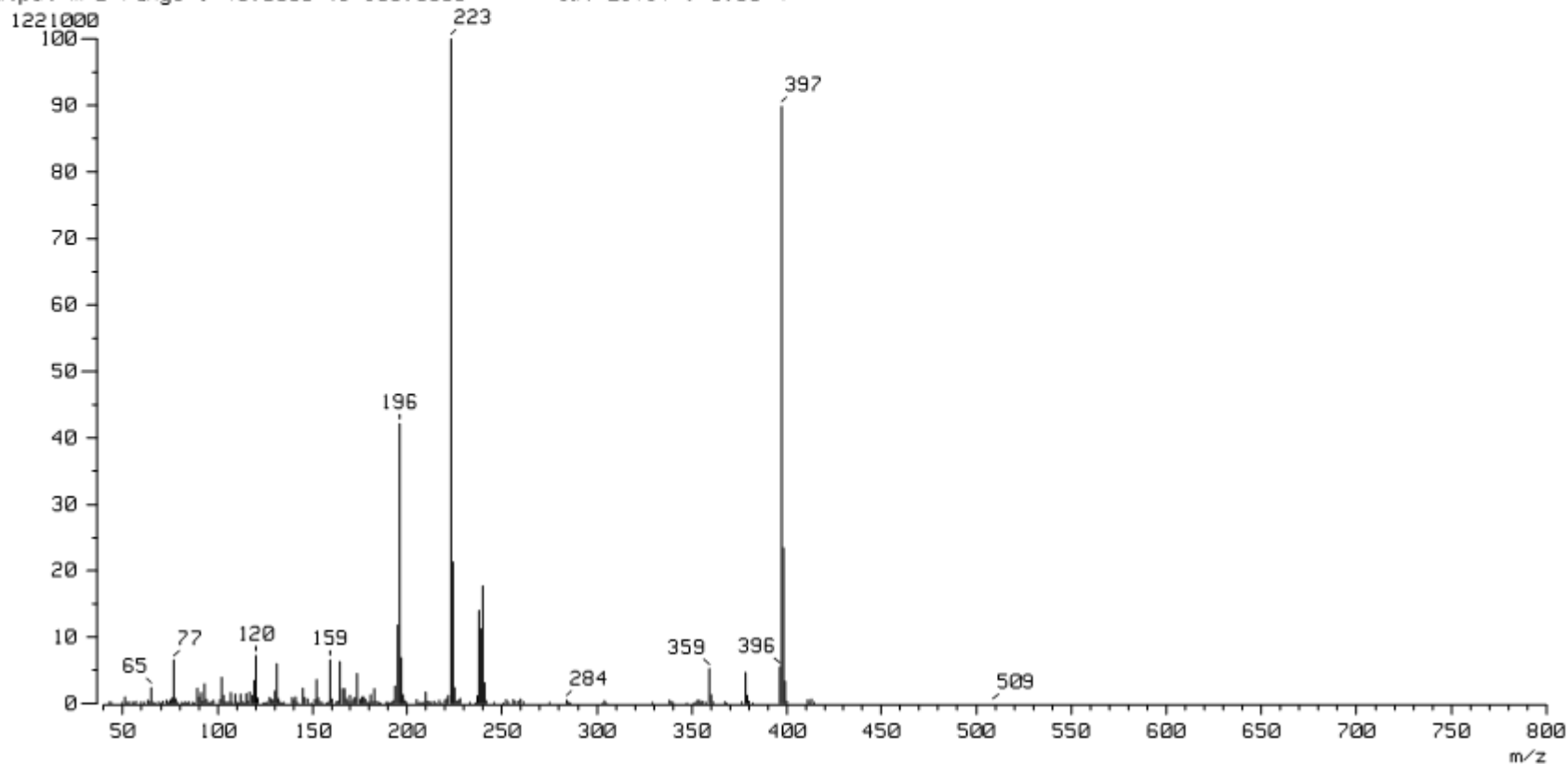
¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 165.28 (s), 158.06 (s), 155.88 (s), 144.44 (s), 138.54 (s), 130.17 (s), 129.88 (s), 129.47 (s), 127.96 (s), 125.22 (s), 125.19 (s), 124.06 (s), 120.67 (s), 119.28 (s), 118.41 (s)



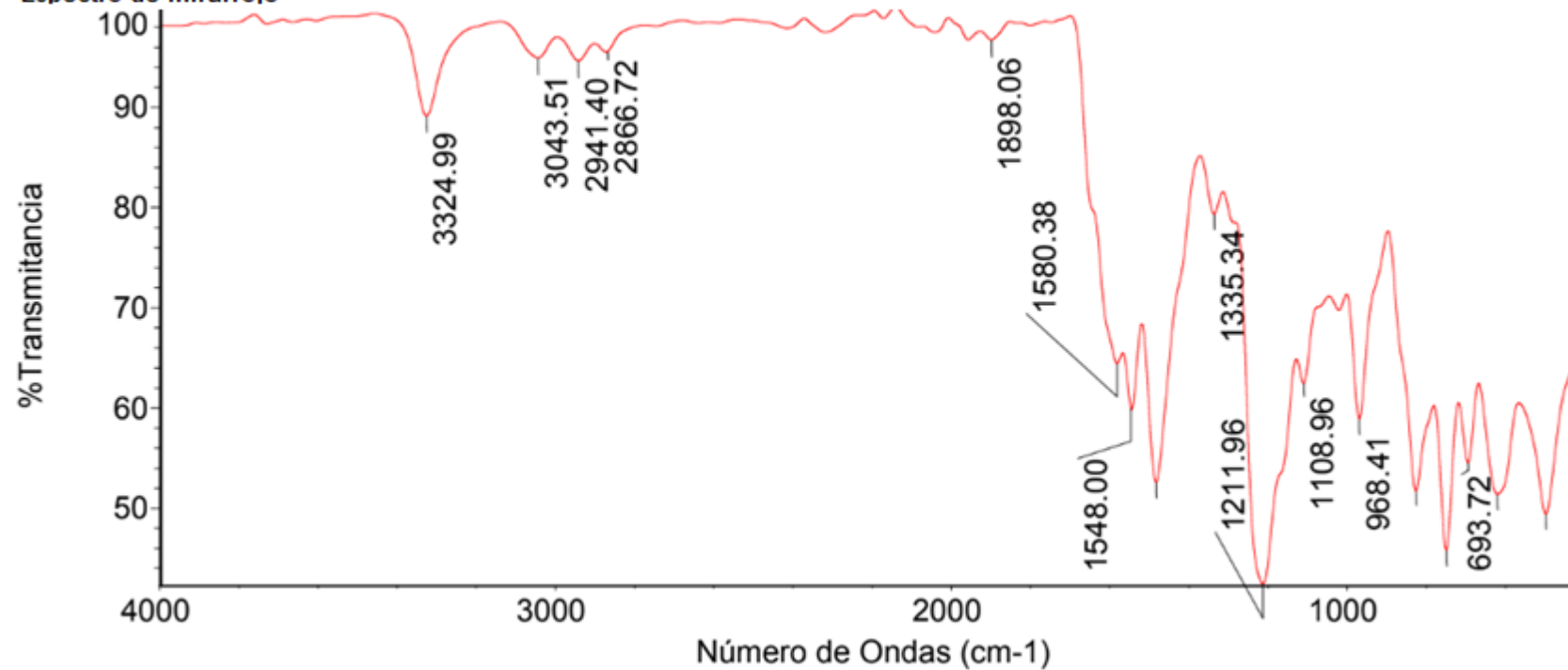
LQM 795

Espectro de Masas

[Mass Spectrum]
Data : VBL056 Date : 27-Jun-2023 15:11
Sample: VBL05-451 Operator Name:M.en ITR Victoria Labastida G.
Note : Dr.Victor Barba/Paola Centro de Investigaciones Quimicas
Inlet : Direct Ion Mode : EI+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 1.54 min Scan# : (13,14)
BP : m/z 223.0000 Int. : 116.44
Output m/z range : 40.0000 to 800.0000 Cut Level : 0.00 %

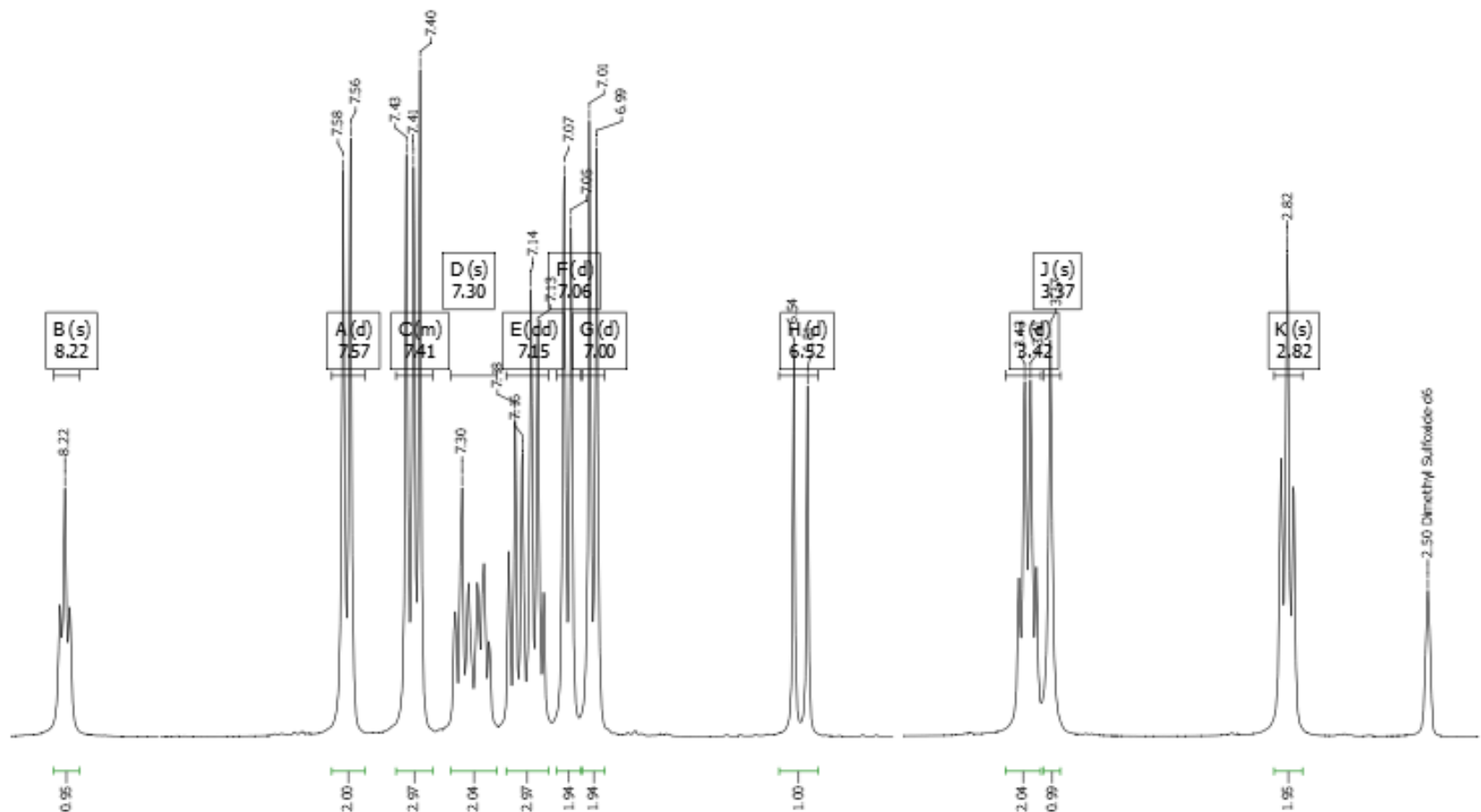


LQM 796
Espectro de Infrarrojo



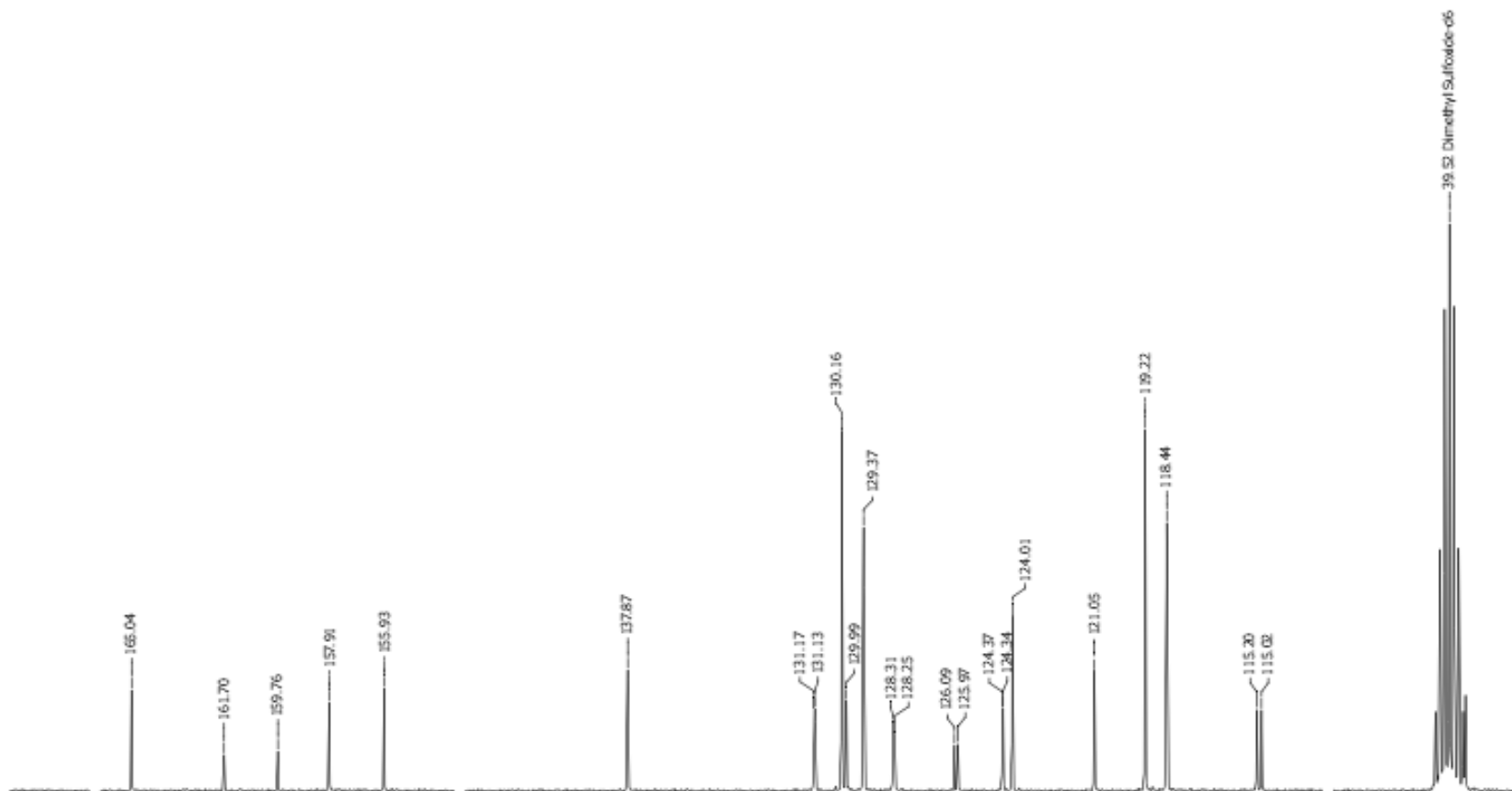
LQM 796
RMN ¹H

¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.22 (s, 1H), 7.57 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.45 – 7.37 (m, 3H), 7.30 (s, 2H), 7.15 (dd, *J* = 18.0, 7.9 Hz, 3H), 7.06 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.00 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.52 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 3.42 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.37 (s, 1H), 2.82 (s, 2H).



LQM 796
RMN ¹³C

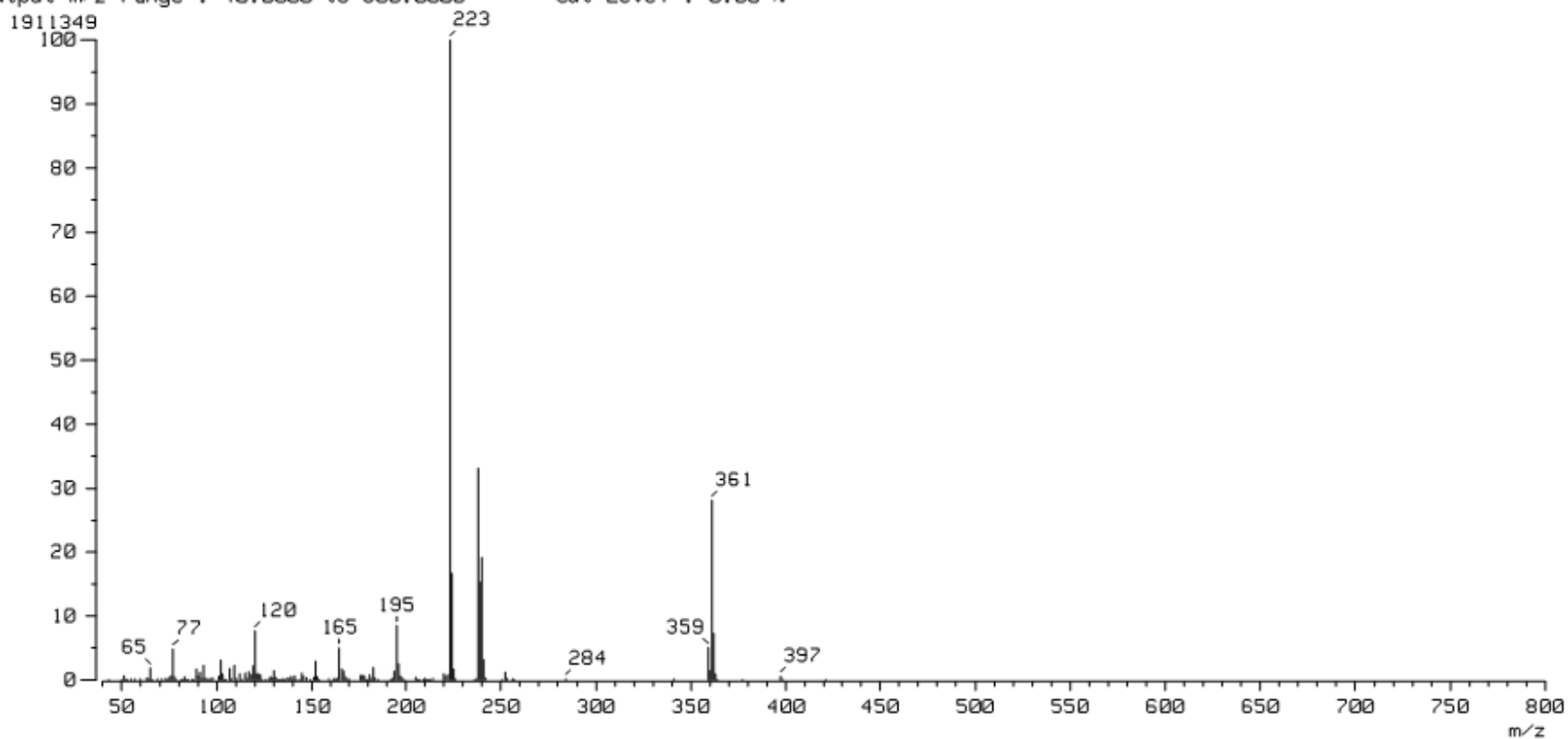
¹³C NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ 165.04 (s), 157.91 (s), 155.93 (s), 129.37 (s), 128.28 (s), 126.03 (s), 124.35 (s), 124.01 (s), 121.05 (s), 119.22 (s), 118.44 (s), 115.20 (s), 115.02 (s)



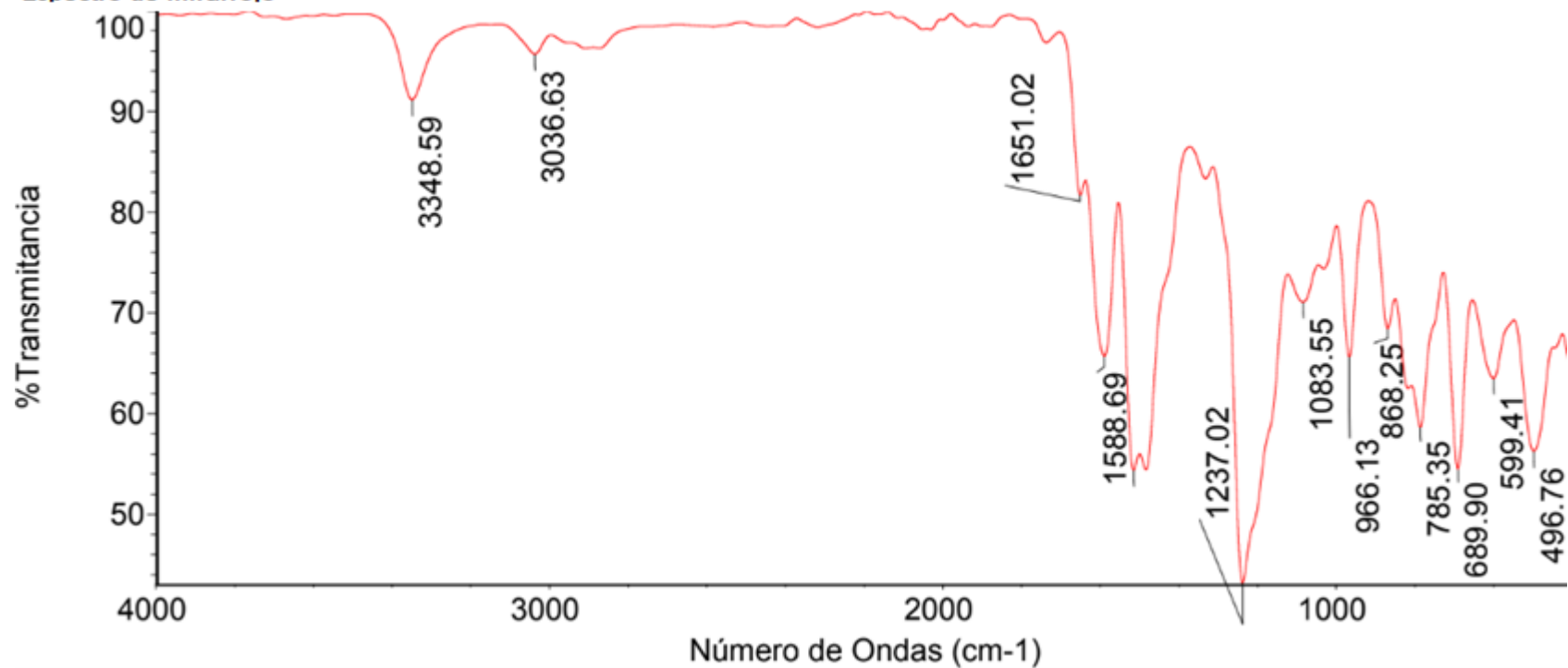
LQM 796

Espectro de Masas

[Mass Spectrum]
Data : VBL058 Date : 27-Jun-2023 15:24
Sample: VBL05-452 Operator Name: M.en ITA Victoria Labastida G.
Note : Dr.Victor Barba/Paola Centro de Investigaciones Quimicas
Inlet : Direct Ion Mode : EI+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 1.66 min Scan# : (13,15)
BP : m/z 223.0000 Int. : 182.28
Output m/z range : 40.0000 to 800.0000 Cut Level : 0.00 %



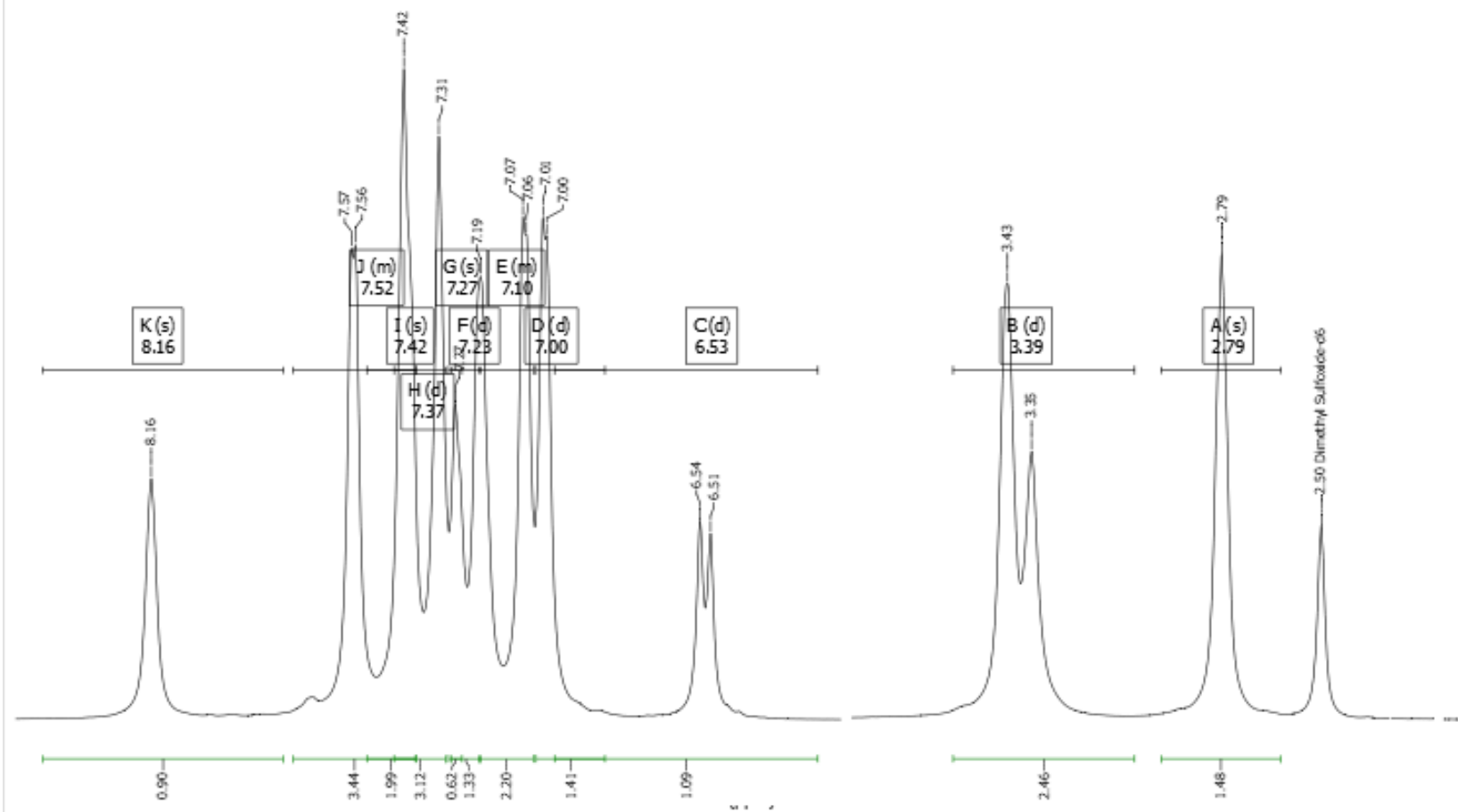
LQM 797
Espectro de Infrarrojo



LQM 797

RMN ¹H

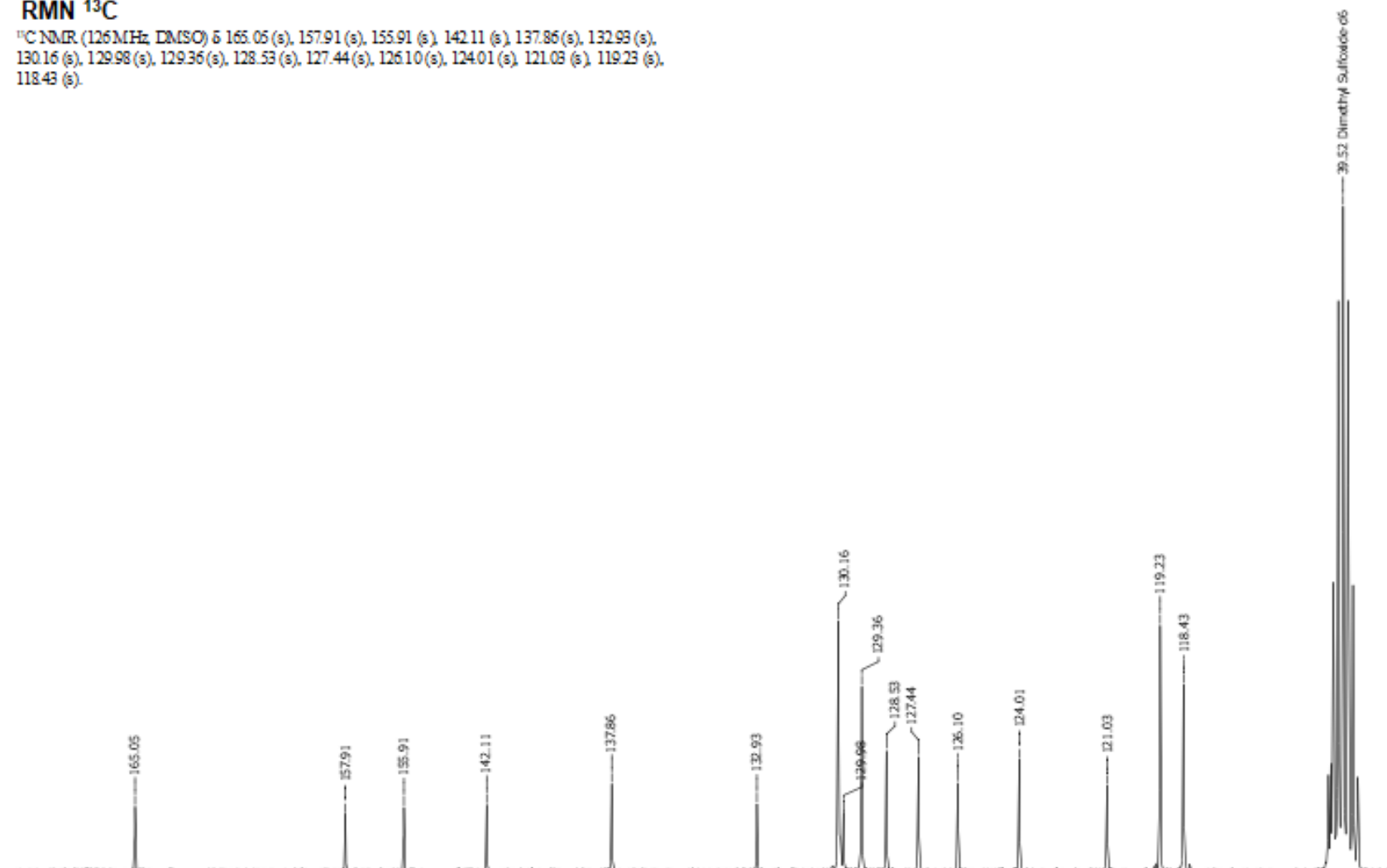
¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.16 (s, 3H), 7.74 – 7.38 (m, 12H), 7.42 (s, 7H), 7.37 (d, *J* = 51.4 Hz, 1H), 7.27 (s, 2H), 7.23 (d, *J* = 37.3 Hz, 5H), 7.20 – 7.04 (m, 8H), 7.00 (d, *J* = 5.5 Hz, 5H), 6.53 (d, *J* = 15.4 Hz, 4H), 3.39 (d, *J* = 35.4 Hz, 5H), 2.79 (s, 5H).



LQM 797

RMN ^{13}C

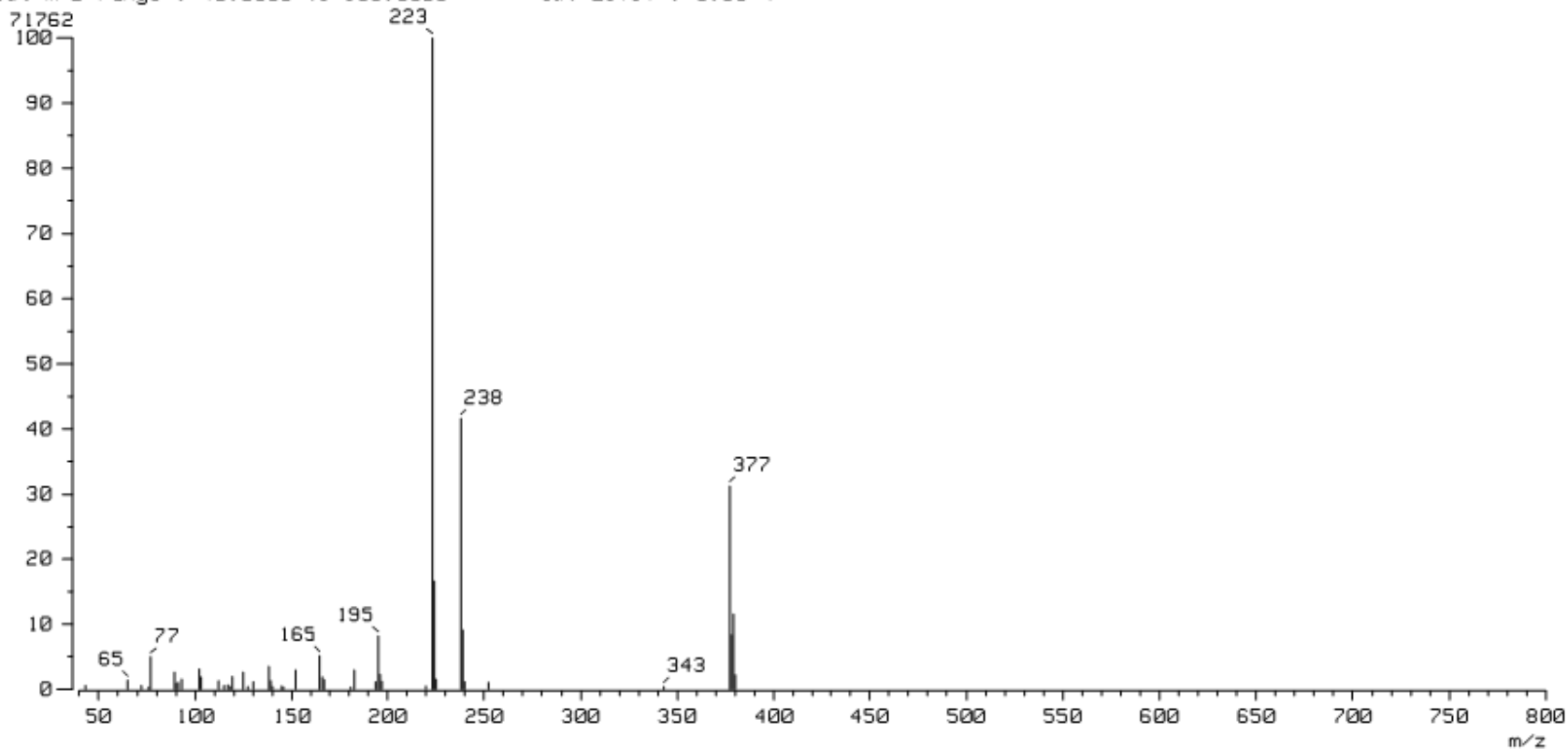
^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 165.05 (s), 157.91 (s), 155.91 (s), 142.11 (s), 137.86 (s), 132.93 (s), 130.16 (s), 129.98 (s), 129.36 (s), 128.53 (s), 127.44 (s), 126.10 (s), 124.01 (s), 121.03 (s), 119.23 (s), 118.43 (s).



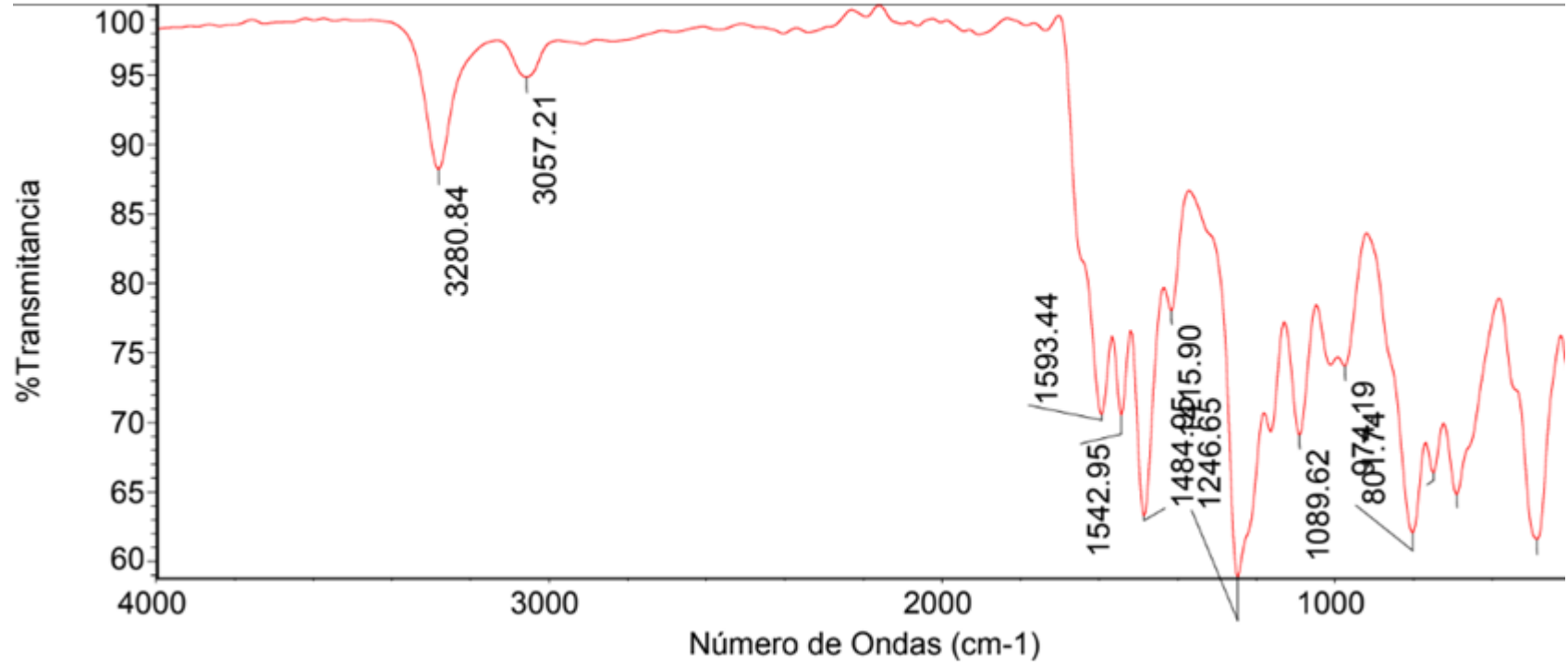
LQM 797

Espectro de Masas

[Mass Spectrum]
Data : VBL060 Date : 27-Jun-2023 15:47
Sample: VBL05-453 Operator Name:M.en ITA Victoria Labastida G.
Note : Dr.Victor Barba/Paola Centro de Investigaciones Quimicas
Inlet : Direct Ion Mode : EI+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 1.79 min Scan# : (14,17)
BP : m/z 223.0000 Int. : 6.84
Output m/z range : 40.0000 to 800.0000 Cut Level : 0.00 %



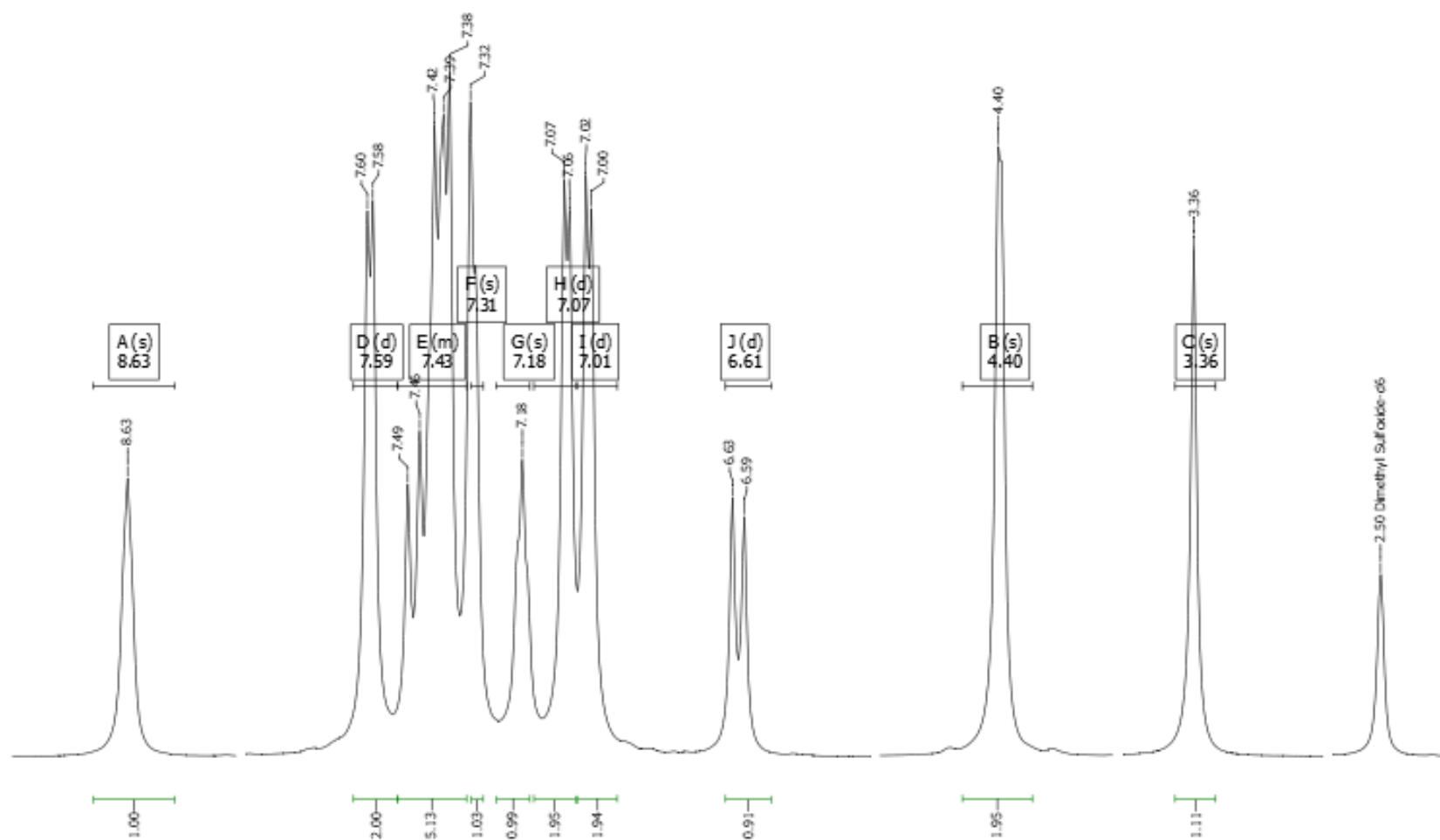
LQM 798
Espectro de Infrarrojo



LQM 798

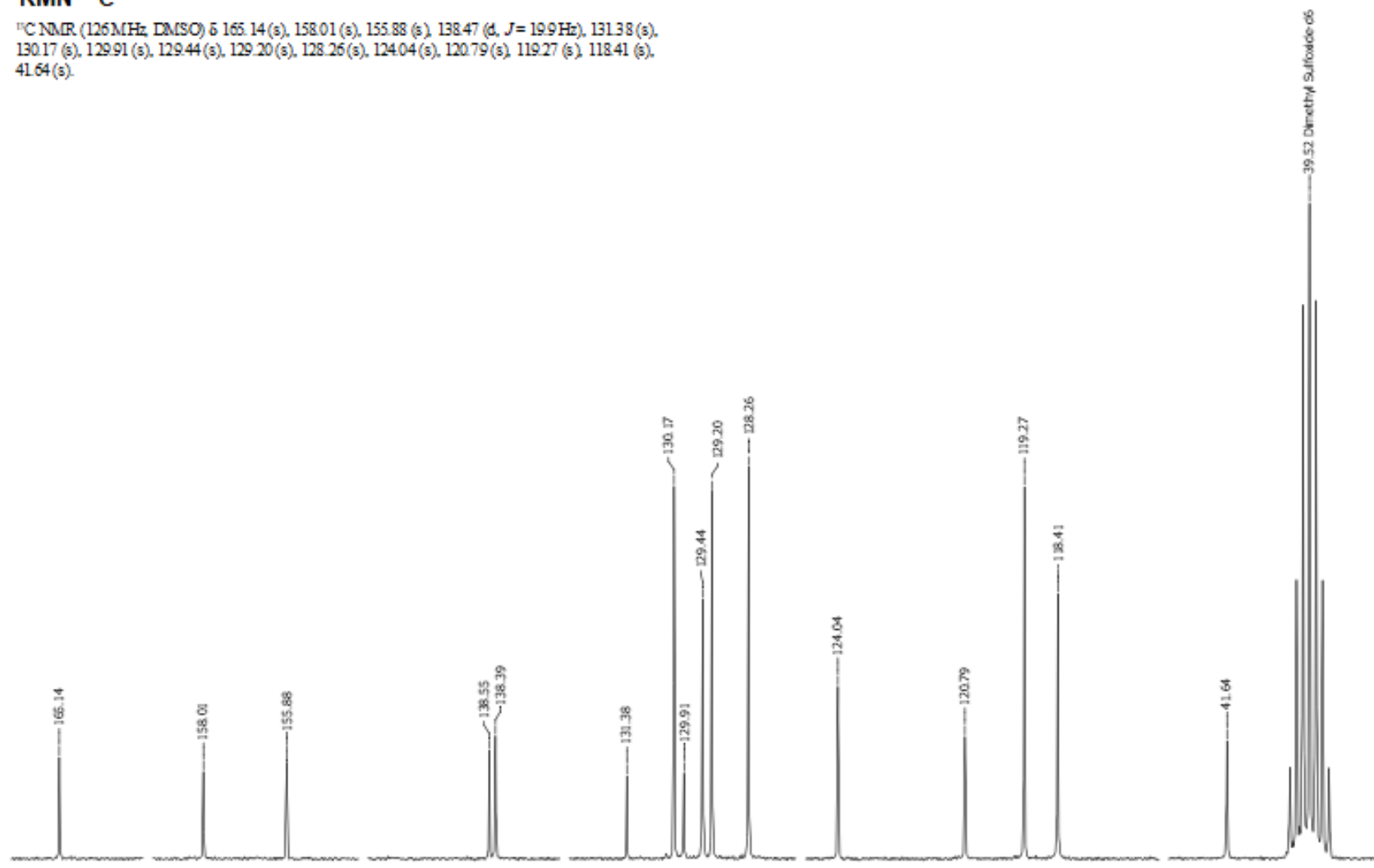
RMN ¹H

¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.63 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.52 – 7.33 (m, 5H), 7.31 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.07 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 7.01 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 6.61 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 4.40 (s, 2H), 3.36 (s, 1H).



LQM 798
RMN ¹³C

¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 165.14 (s), 158.01 (s), 155.88 (s), 138.47 (d, *J* = 19.9 Hz), 131.38 (s), 130.17 (s), 129.91 (s), 129.44 (s), 129.20 (s), 128.26 (s), 124.04 (s), 120.79 (s), 119.27 (s), 118.41 (s), 41.64 (s).



LQM 798

Espectro de Masas

[Mass Spectrum]

Data : VBL062

Date : 27-Jun-2023 16:01

Sample: VBL05-454

Operator Name: M.en ITA Victoria Labastida G.

Note : Dr.Victor Barba/Paola Centro de Investigaciones Quimicas

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

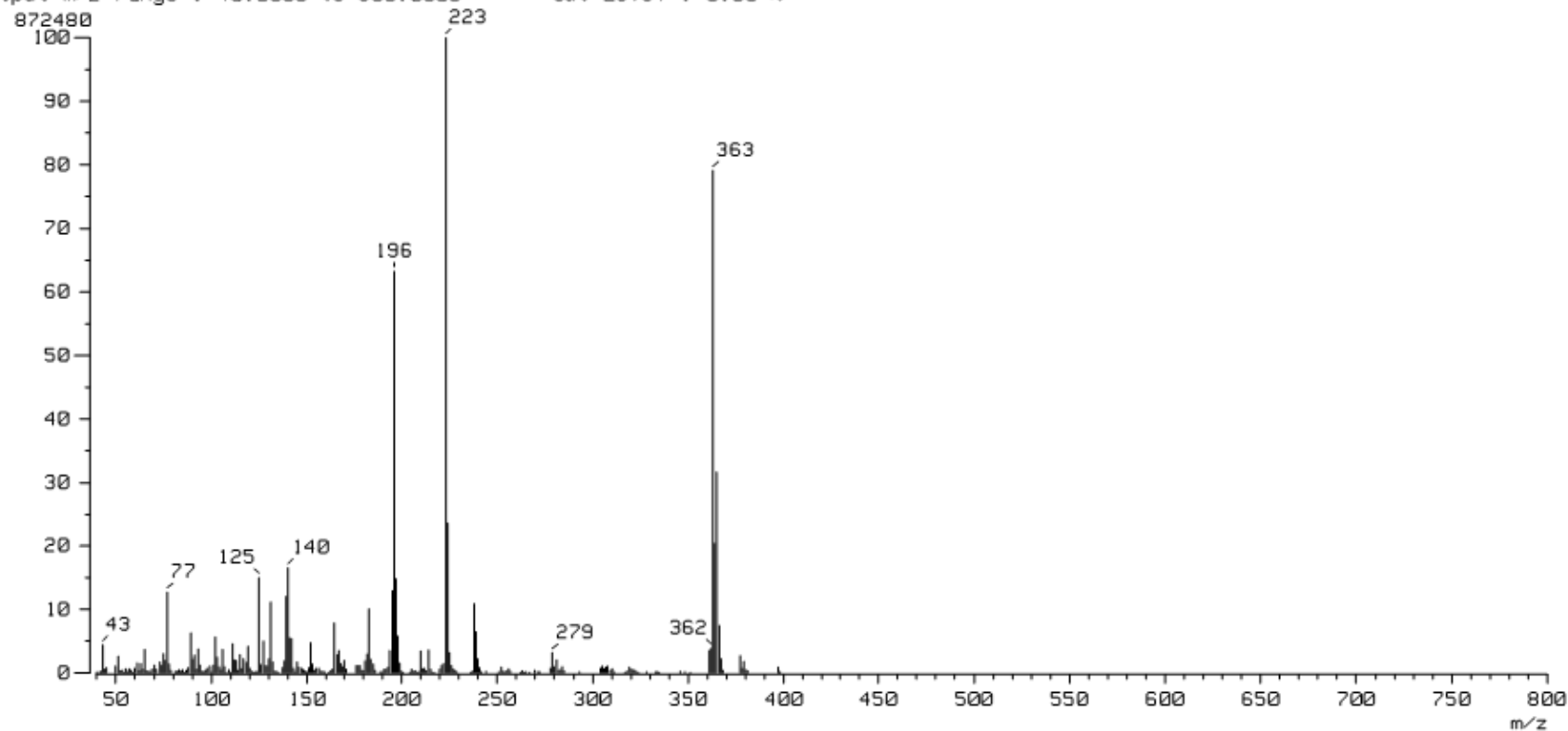
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

RT : 2.05 min Scan# : (17,18)

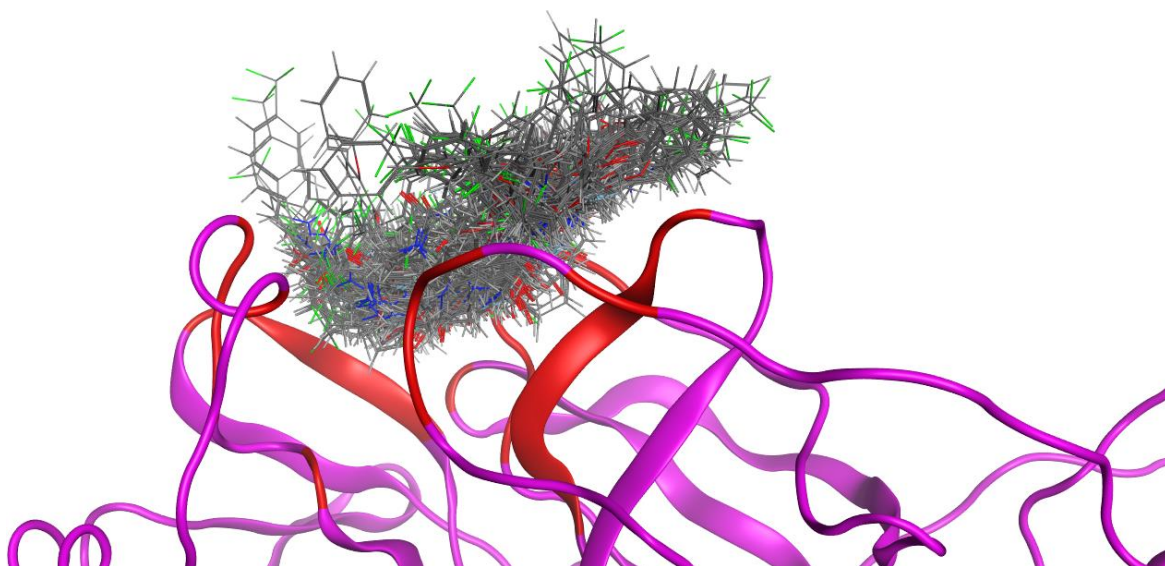
BP : m/z 223.0000 Int. : 83.21

Output m/z range : 40.0000 to 800.0000

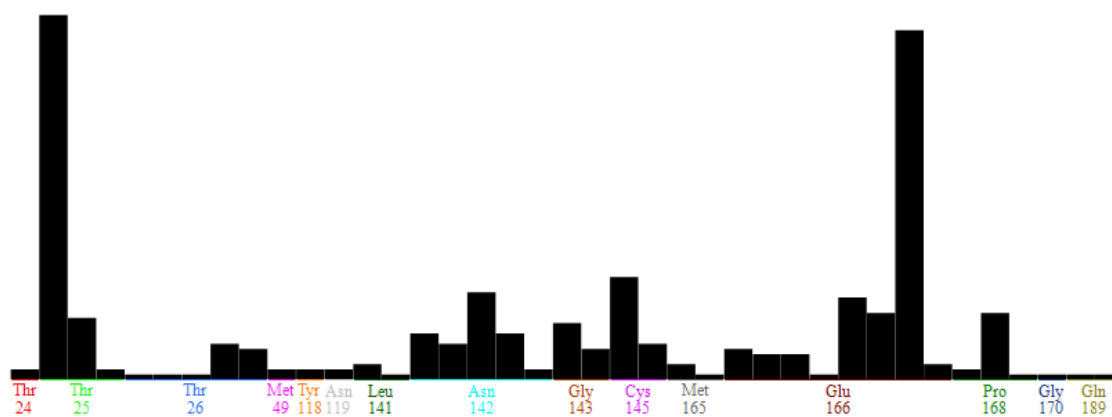
Cut Level : 0.00 %



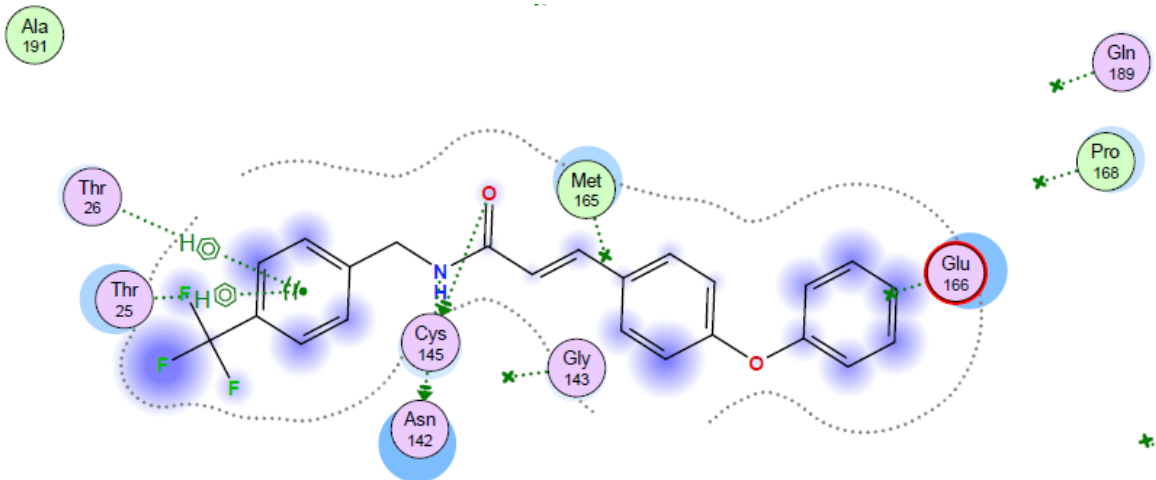
Anexo 2. Química Computacional.



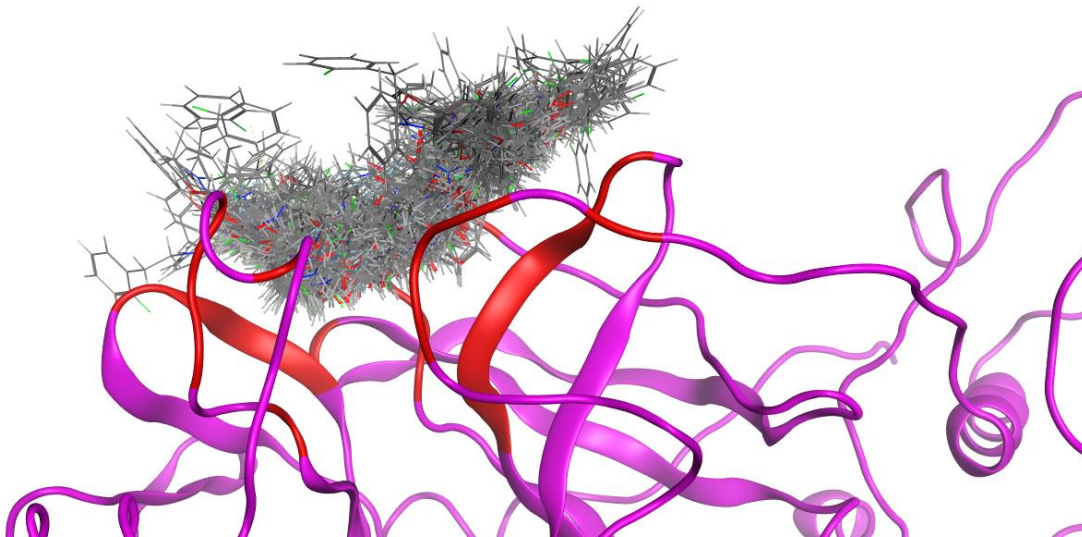
Clúster de interacciones del LQM 795 con el sitio receptor.



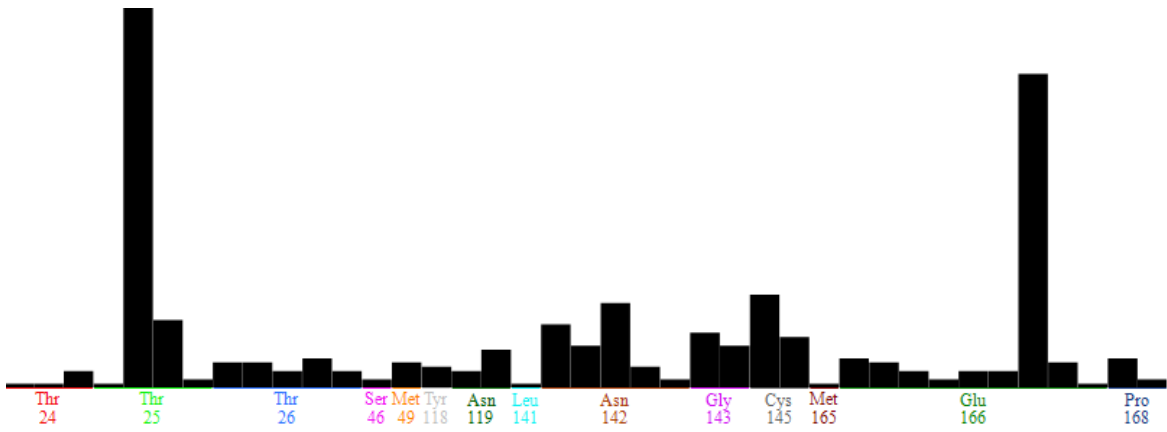
PLIF de la M^{pro} 7ALH frente al LQM 795.



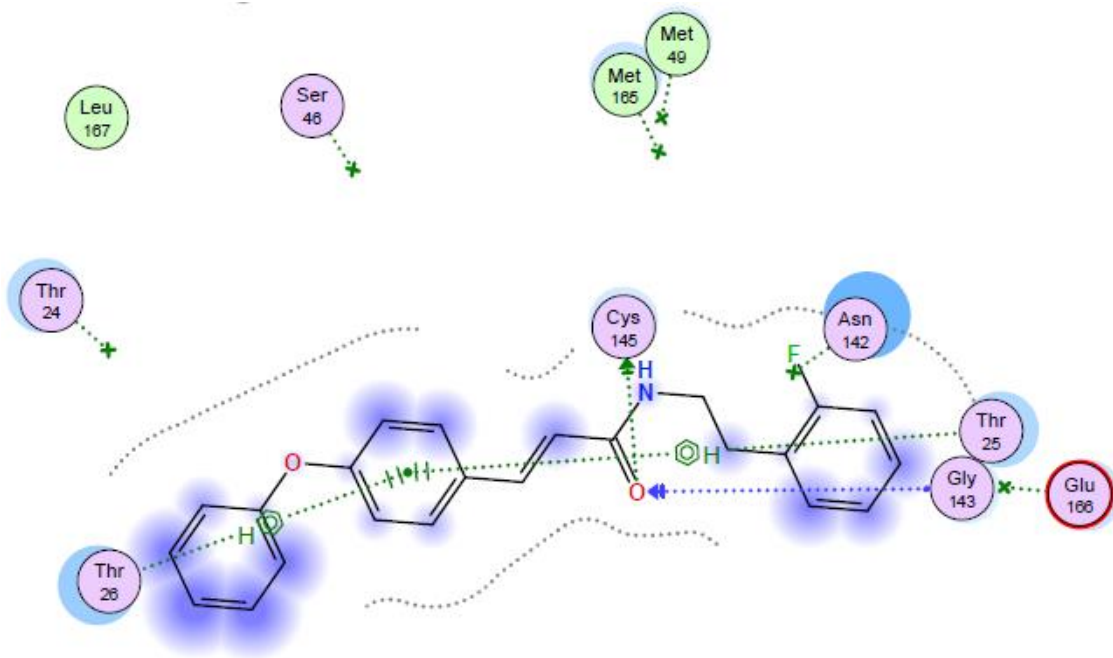
Interacciones del LQM 795 con los aminoácidos de la M^{pro} 7ALH.



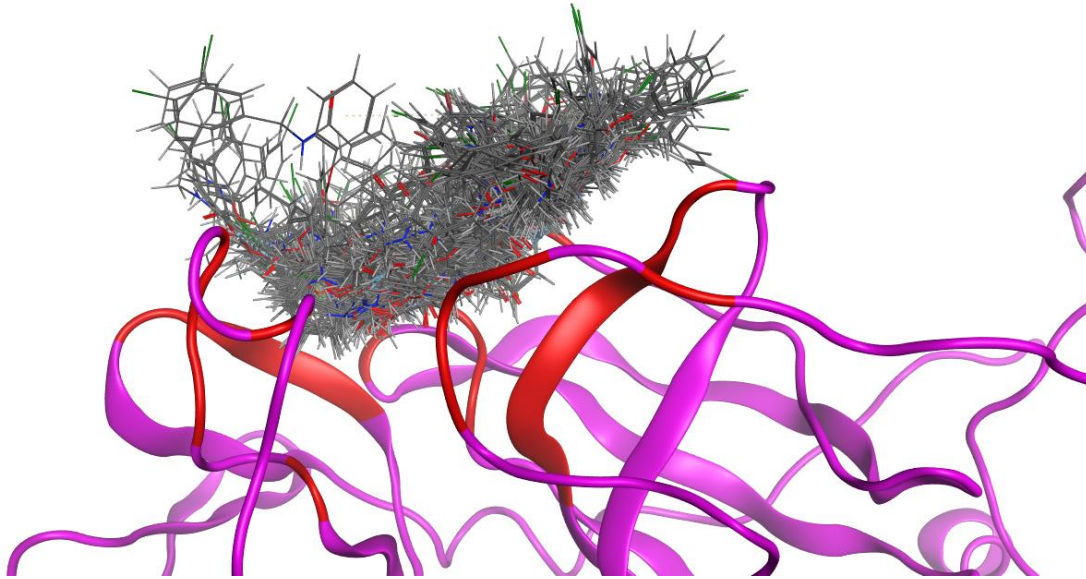
Clúster de interacciones del LQM 796 con el sitio receptor.



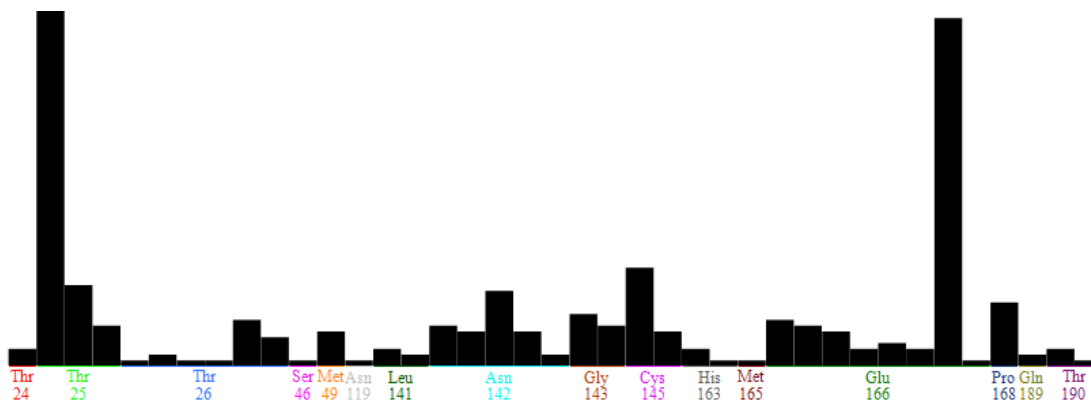
PLIF de la M^{pro} 7ALH frente al LQM 796.



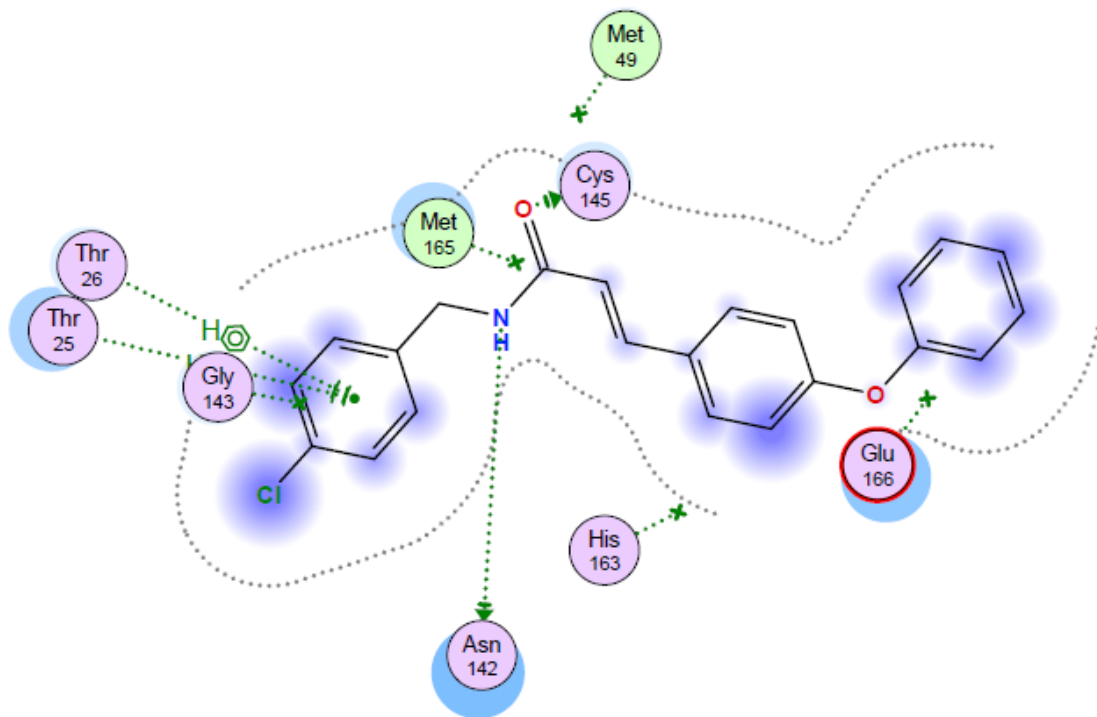
Interacciones del LQM 796 con los aminoácidos de la M^{pro} 7ALH.



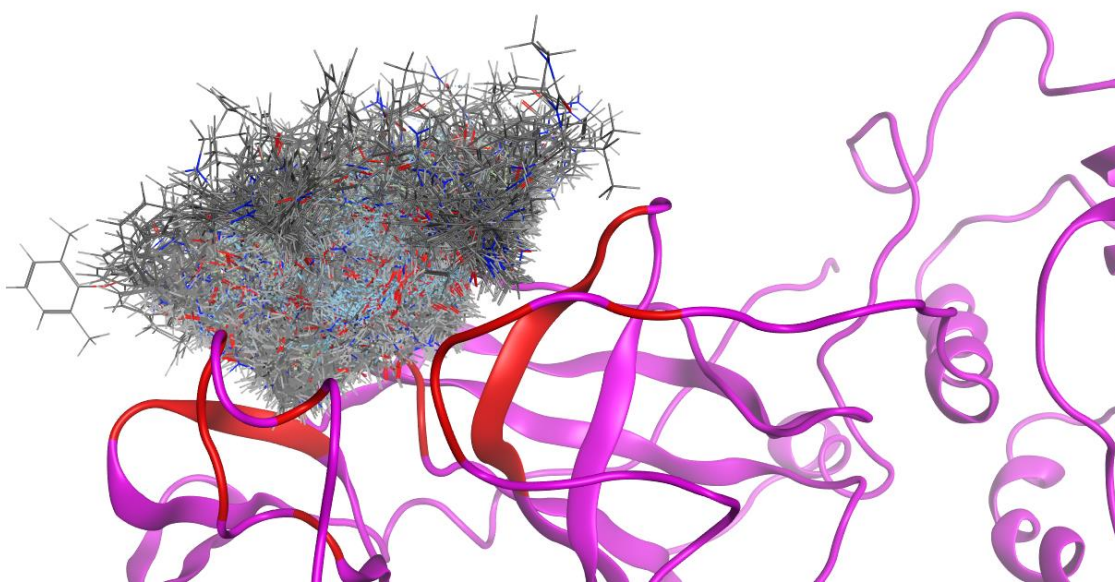
Clúster de interacciones del LQM 798 con el sitio receptor.



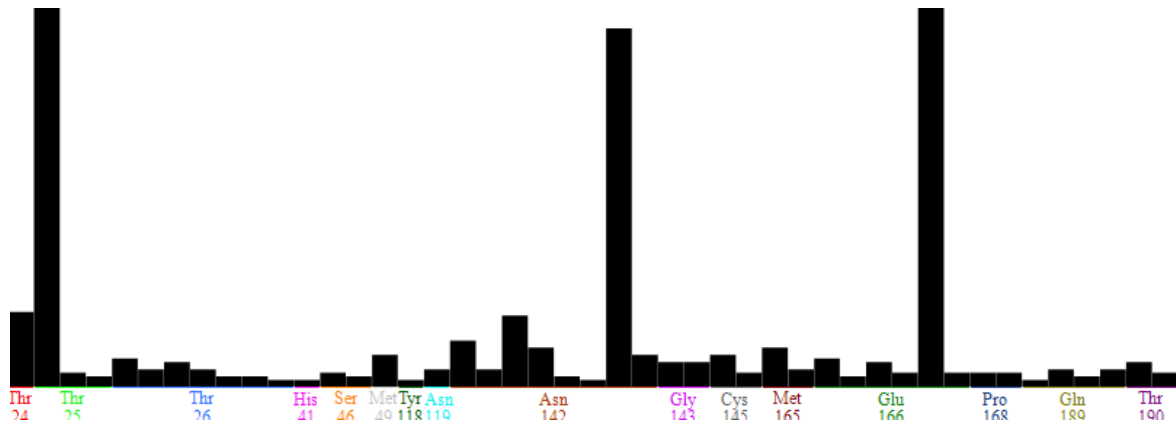
PLIF de la M^{pro} 7ALH frente al LQM 798.



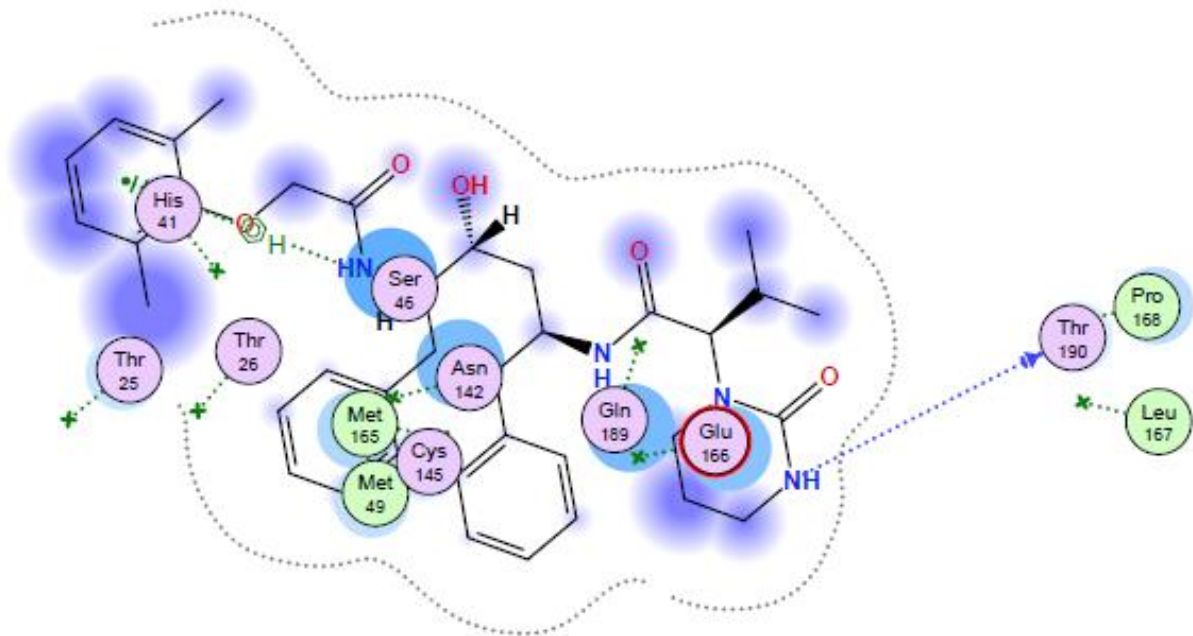
Interacciones del LQM 798 con los aminoácidos de la M^{pro} 7ALH.



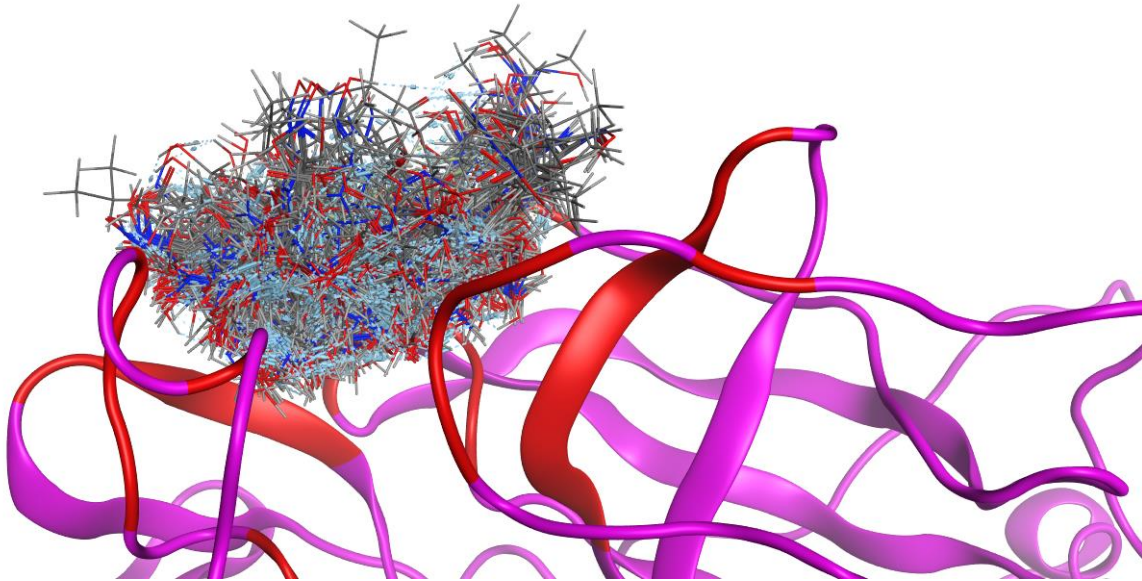
Clúster de interacciones del Lopinavir con el sitio receptor.



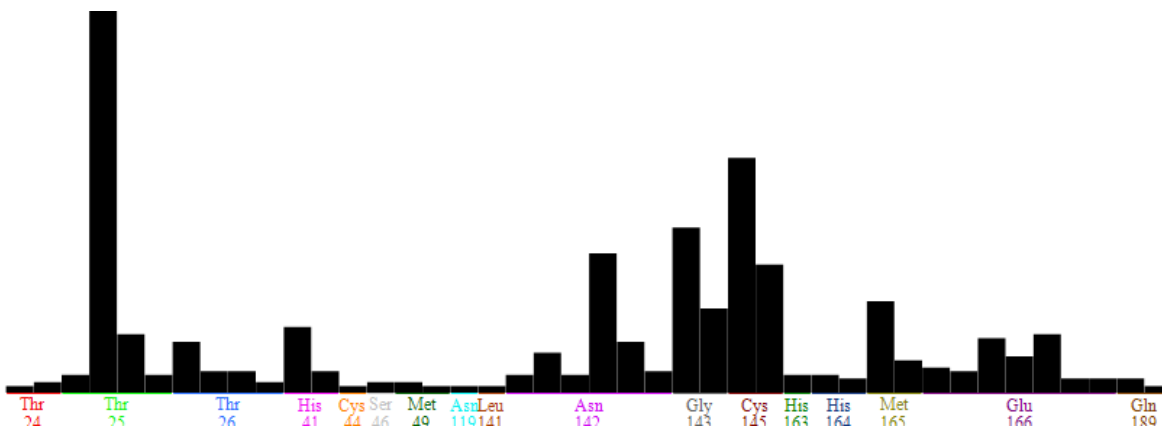
PLIF de la M^{pro} 7ALH frente al Lopinavir.



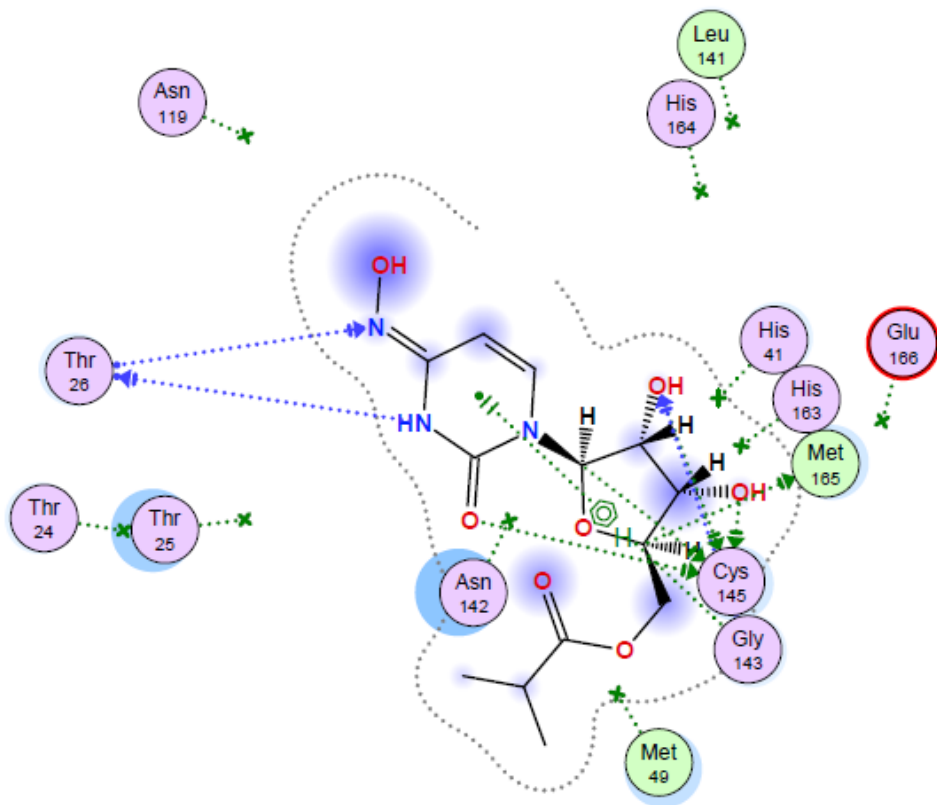
Interacciones del Lopinavir con los aminoácidos de la M^{pro} 7ALH.



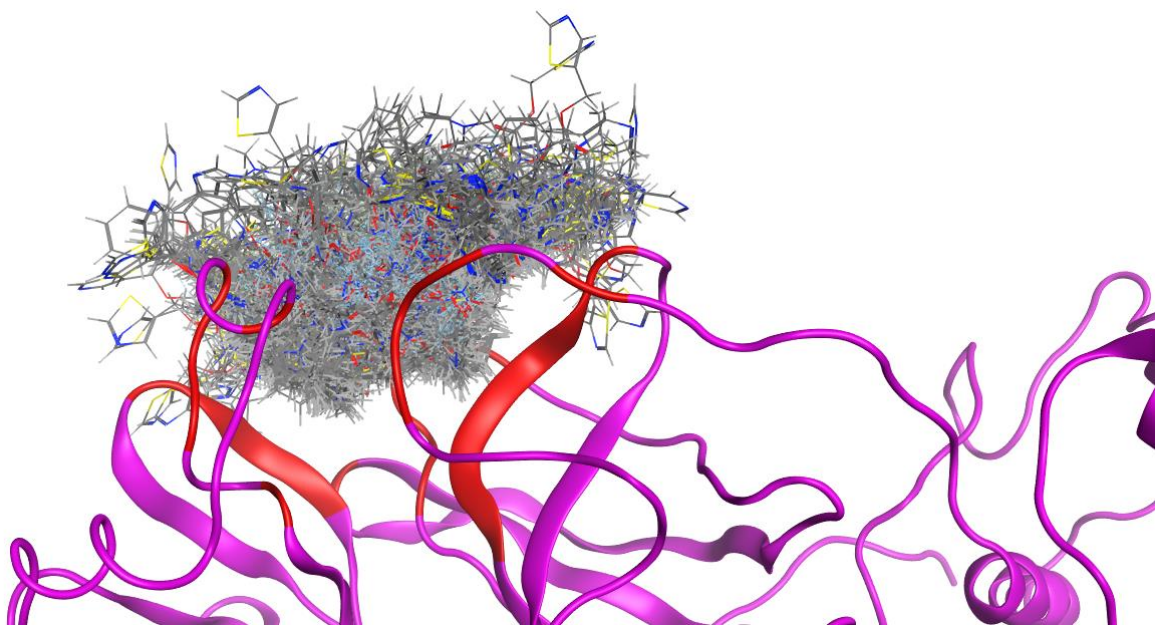
Clúster de interacciones del Molnupiravir con el sitio receptor.



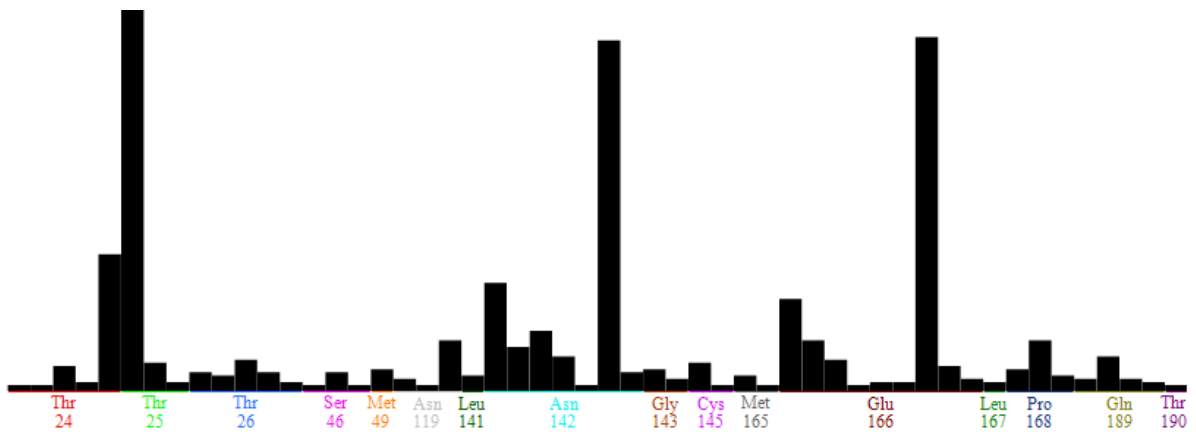
PLIF de la M^{pro} 7ALH frente al Molnupiravir.



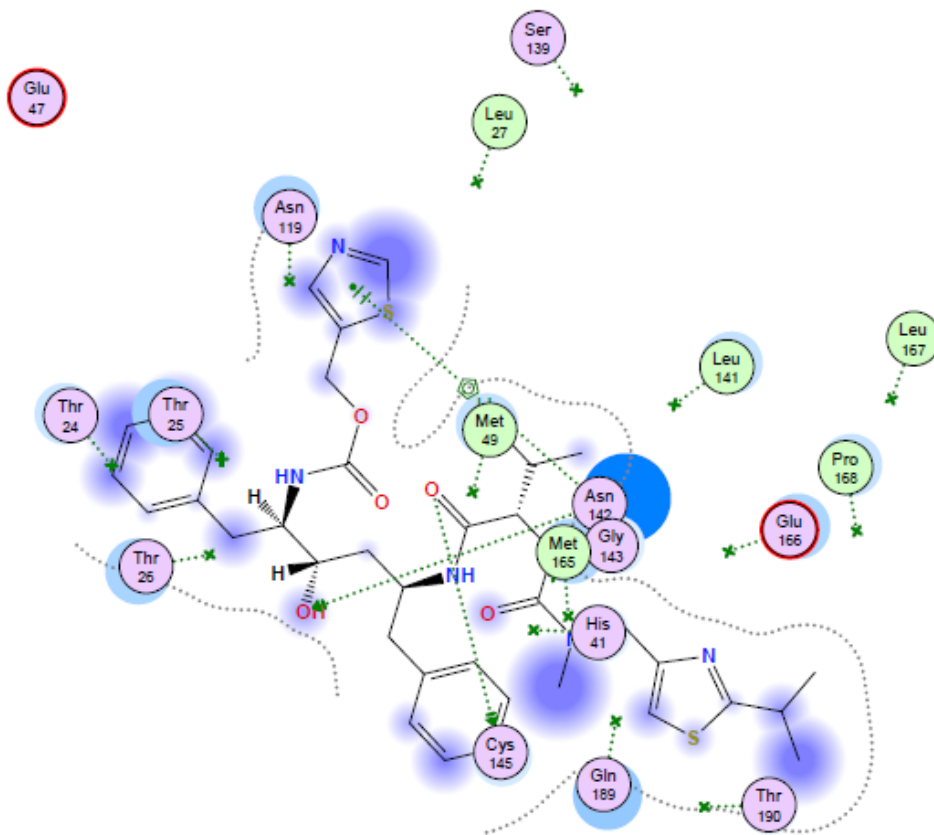
Interacciones del Molnupiravir con los aminoácidos de la M^{pro} 7ALH.



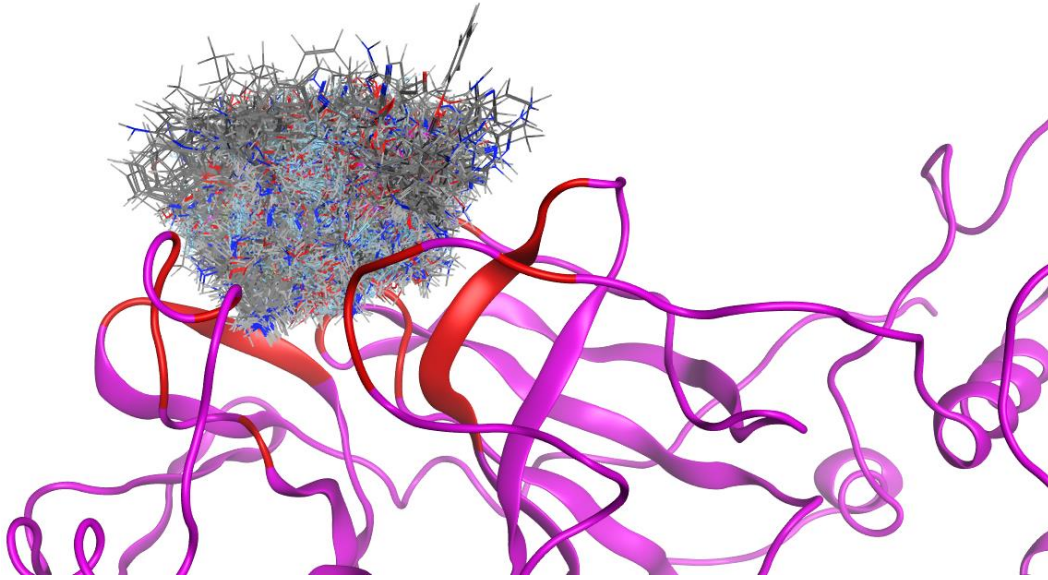
Clúster de interacciones del Ritonavir con el sitio receptor.



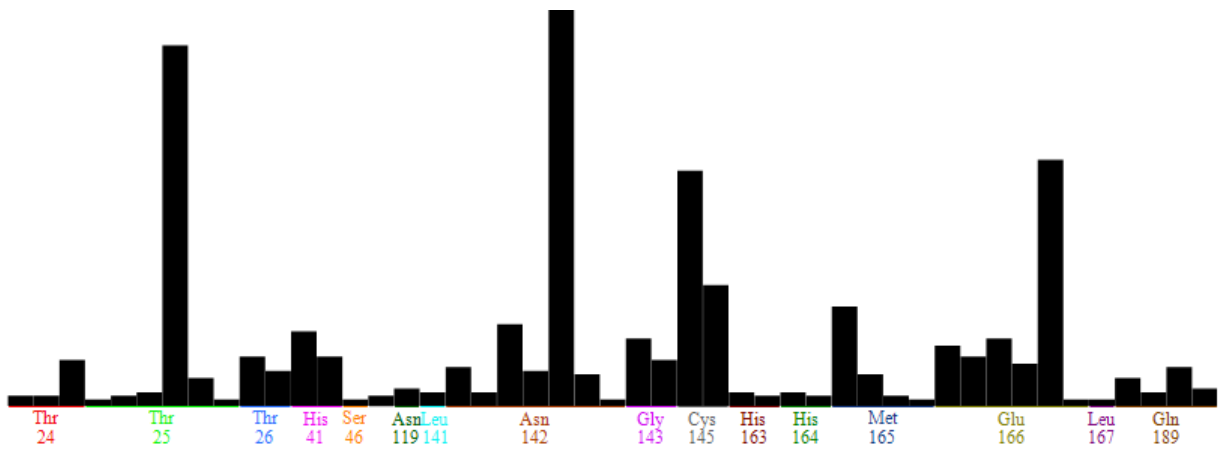
PLIF de la M^{pro} 7ALH frente al Ritonavir.



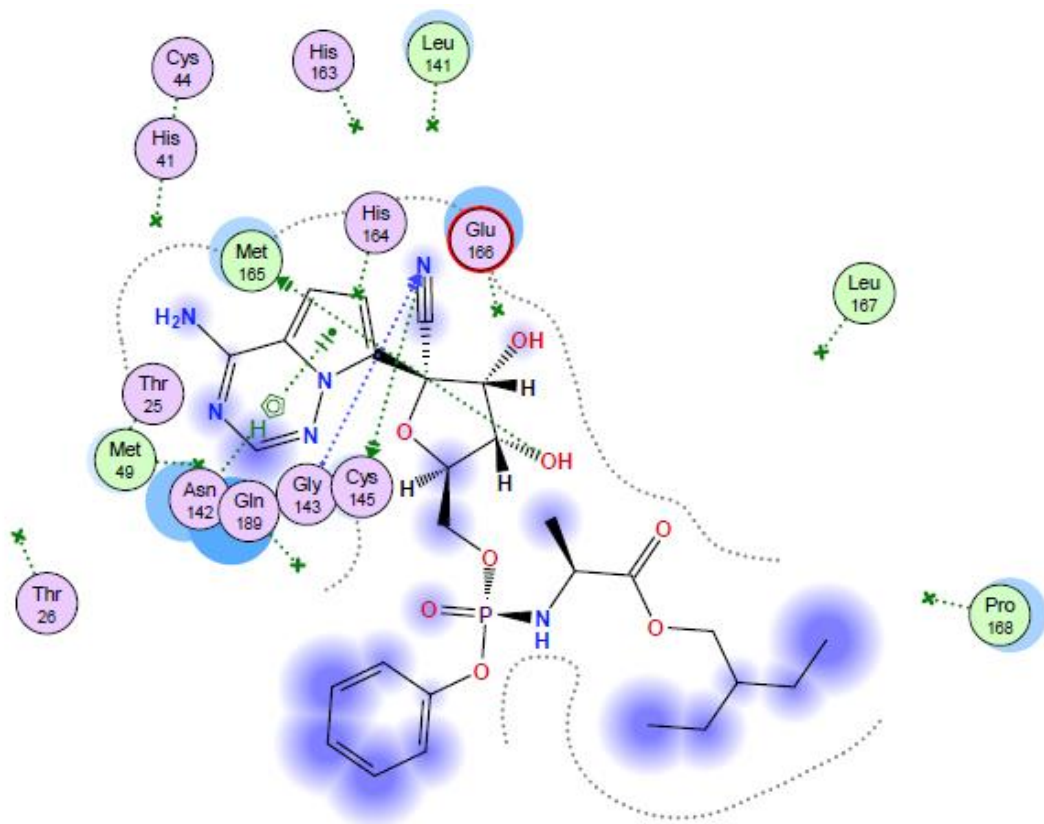
Interacciones del Ritonavir con los aminoácidos de la M^{pro} 7ALH.



Clúster de interacciones del Remdesivir con el sitio receptor.

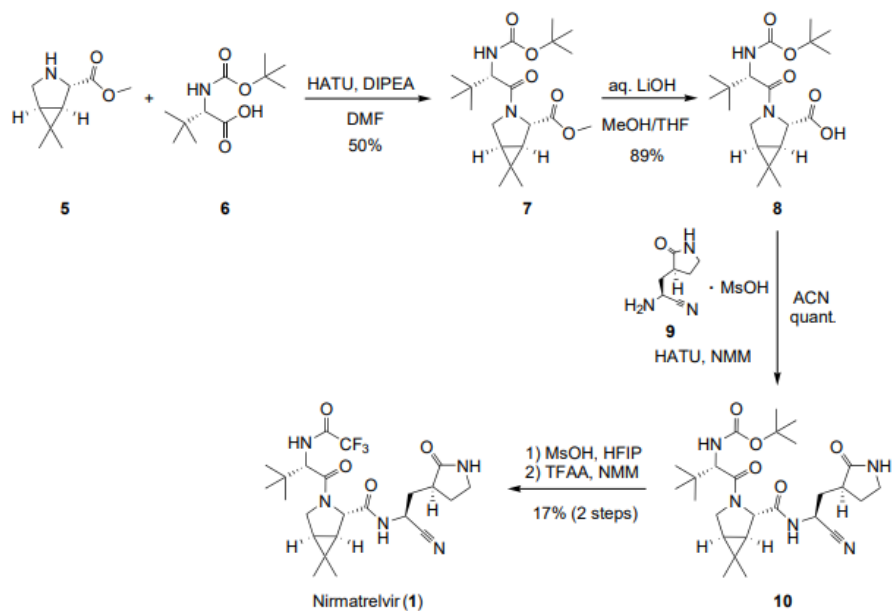


PLIF de la M^{pro} 7ALH frente al Remdesivir.

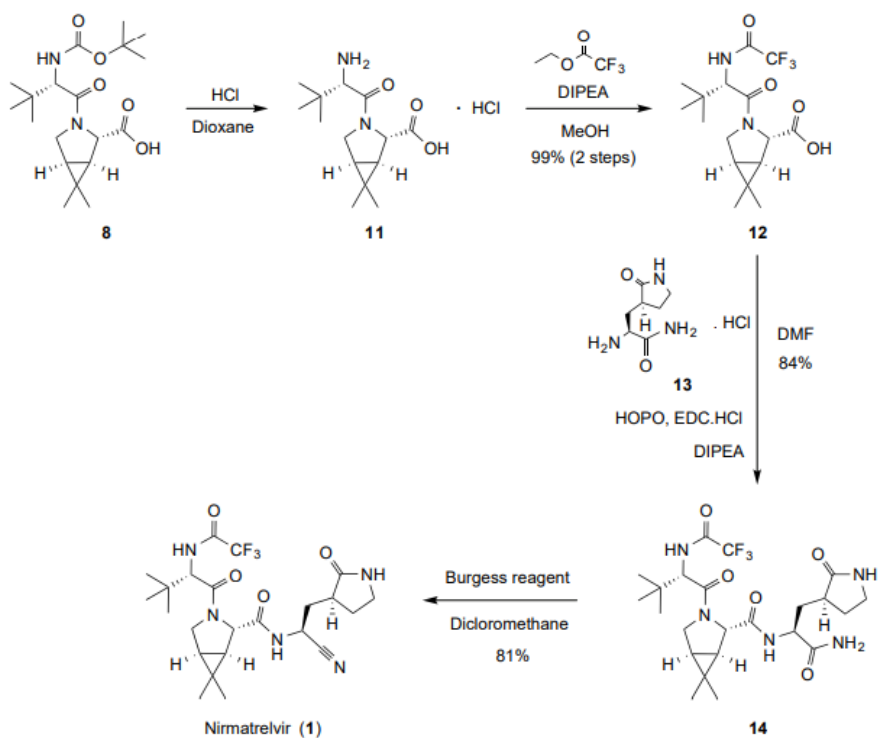


Interacciones del Remdesivir con los aminoácidos de la M^{pro} 7ALH.

Anexo 3. Rutas de Síntesis.



Ruta de síntesis original patentada por Pfizer para la obtención del Nirmatrelvir.⁷³



Ruta de síntesis alterna patentada por Pfizer para la obtención del Nirmatrelvir.⁷³