

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS**

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS  
CENTRO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS

**Diseño y síntesis de  $\gamma$ -lactamas  $\alpha,\gamma$ -disustituidas: potenciales  
agentes inhibidores de la enzima GABA-AT**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

***Q.F.B. Hugo Casas Morales***

**DIRECTOR DE TESIS**

***Dr. Ivan Omar Romero Estudillo***

CUERNAVACA, MORELOS

ABRIL 2021



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



Instituto de  
Investigaciones en  
Ciencias  
Básicas y  
Aplicadas



**DR. JEAN MICHEL GRÉVY MACQUART  
COORDINADOR DEL POSGRADO EN CIENCIAS  
PRESENTE**

Atendiendo a la solicitud para emitir DICTAMEN sobre la revisión de la TESIS titulada “**Diseño y síntesis de  $\gamma$ -lactamas  $\alpha,\gamma$ -disustituidas: potenciales agentes inhibidores de la enzima GABA-AT**” que presenta el alumno **Hugo Casas Morales (10024364)** para obtener el título de **Maestro en Ciencias**.

Nos permitimos informarle que nuestro voto es:

NOMBRE	DICTAMEN	FIRMA
Dr. Mario Fernández Zertuche CIQ-UAEM	APROBADO	
Dra. Irma Linzaga Elizalde CIQ-UAEM	APROBADO	
Dr. Oscar García Barradas Fac. de QFB-UV	APROBADO	
Dr. José Luis Viveros Ceballos CIQ-UAEM	APROBADO	
Dr. Ivan Omar Romero Estudillo Cátedra CONACYT CIQ-UAEM	APROBADO	

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**JOSE LUIS VIVEROS CEBALLOS** | Fecha: 2021-03-24 17:35:58 | Firmante

0s1ruuZc7rc+fw9h9NvUocV322QoJ7eKzKaVY20d7MT03agn2EY2HOF9dHfY18mESzz1v1eAwM0gt66+pk4gldCBx/TXyoh66V3kCeiH0waUpc+d00W0A043grwflhYhDo6zERhuKVP2MTakvM5NucAqeqbk6zhrUSpnWdkYCvbmwRnf4kjdjOCXCMMqBF2TlWboB8QSWnqK3Z3YfbiVOWhFuIsiyMPikdsEdkhyqJALGPdIE9yruJ9VQLka2FPknbQZE9S2acALsgrv7qazR0y18falsbelVai50nYfn+ukd9Gz:OPe485rFDpdFS3omXKYOHZiQuHQ==

**MARIO FERNANDEZ ZERTUCHE** | Fecha: 2021-03-24 15:15:54 | Firmante

pjs2mVdFCEcZe72+VpdxfUAzIEVkbA9DKYv74FYUEMHQNKABnzVkrpDe3za19Udnocakrtqz6BphidsSw5Mm6SxKfh+uGgn++B8Uz6gbqQ9WyyIVTQ7uATfnRbc0ToLFigBzXSJyogukvbk81cU5oUdovzNWPWIK4/S3A3/v+J62V05TVKs77iCk8c9LFmoBNP6kxzzfH8OPWlsItmMrumakjL1GaxZExj4qy2iQZRWenaCnGpZyCoKbv7h1w2N2wUhhesAzgft51U8zlrOycPK9WBFZWep+7ehZhojZMXSp5yUw+FuIgoniyAGd25dsKKBmPveqKw==

**IVAN OMAR ROMERO ESTUDILLO** | Fecha: 2021-03-24 23:28:58 | Firmante

TF0JBu19vtnRtoG1fyyczFFqs7T4YjDXCYwHd476y2V1zst0yMY1XalissloqQ4mvsTijq7RX2GA6a41Gqzj6PxxwTasyrtgMiDEYwNKX81s2nwEBDbvRqLN2yzm6rBM3RtdEVqYBZhjdVXxCap4Q288KadYjcz1RzLe7a00Aw8jF/ewYogY32VXxRxaUQZJ8x7Mn7TU1nyQDF1pQOkmQoVwAyBgP5J8dLmJRv6FTgkzmiW5USp697k7iHmX7FMbv0NLGH5mCIStdbyad5JrDrqmX69MlyK1KMDNmYLxPikOyY0TbZ53TGoUdXMjg2FmP7g==

**OSCAR GARCÍA BARRADAS** | Fecha: 2021-03-24 23:46:53 | Firmante

IGHv+nwAK2bM8xK7DKuYlucDRvAMG8GU7a8/vlgVjKX0D+hQGyVlsNRXP9MLUyYbbArp1Zws1ndWolqps4K00BvmXPYZo7xe/fYX2TxzTNX8yEdLWl2p6BpnZfqSDahrZTzbdMeBknP4PtaY9yBh8phXyG2pUpMc8+2eBtbKB4/4YEYm8qywbq6lpBSOLceTjhd2MV0nn0q4mdRywnTkbNjwGW5N2Mygf/vOSDHCYn1v8VGLzef7MD+AEPFgGDAb05UyTduGshajqY0wm/sKRnU+ct8StGmyBJ6ZOV1d80jZmkY3fnZd+HGgZlpw8jjs2w==

**IRMA LINZAGA ELIZALDE** | Fecha: 2021-03-25 06:01:50 | Firmante

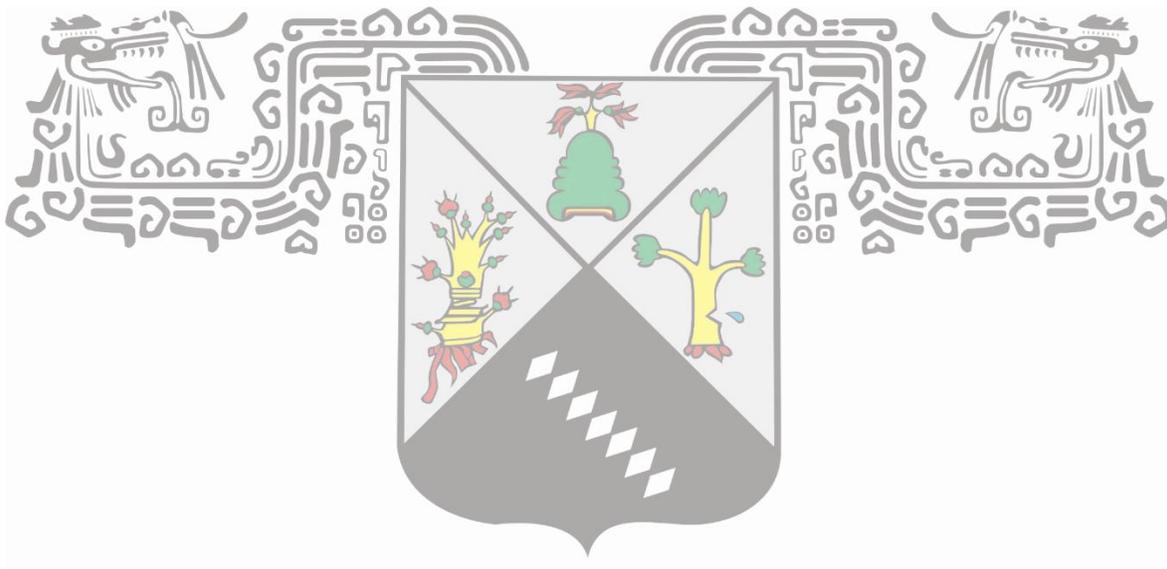
CUzRGLeuthCJS+RkUxd0M5h8LniA9U7bnpDS+5FJw063kgqm2n+aQ76BLNxsUYYTnxdf0PO++edzrdty3gEPb/aiOMhu6ksXFwV6rDTPG3HnsZzYX1TBwWfZJsrRoPDFe+/RC8aY/xYYXie2ausrMy7biVCC+mZzU+LNbMmqeD1AylegVf93VEhAtgC+K9rICg4VovhIRVms1dpT+rJGCOvFVHMkusJfT3qdvhbQa6sWM507VFxNIQD0dDGOeDgPm9X6XQIBHq0o7k7fMAZj1A9dfIGU8ocKQRE7eR7o1y6Y9ORKH8h6wAhNq3Mss5AjmMaQL8xJw==

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



lmzPaE

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/D3uFnpa77050jSMlyMl9r1eQlkvabbt>



El presente trabajo se realizó en el laboratorio 205 del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (CIQ-UAEM), bajo la dirección del Dr. Ivan Omar Romero Estudillo, y con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) a través de la beca **734872**, el proyecto de Desarrollo Científico para Atender Problemas Nacionales **2015-807** y el proyecto de cátedra **942**.

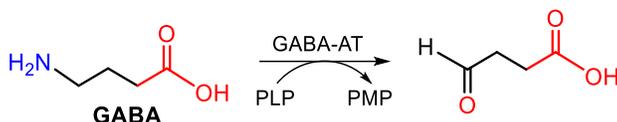
## Contenido

Resumen .....	1
Índice de compuesto sintetizados .....	4
Lista de abreviaturas.....	5
<b>1. Introducción</b> .....	<b>7</b>
<b>2. Antecedentes</b> .....	<b>12</b>
2.1 Síntesis del ácido $\gamma$ -aminobutírico (GABA). .....	12
2.2 Síntesis de $\gamma$ -aminoácidos $\alpha$ -sustituidos .....	14
2.3 Síntesis de $\gamma$ -aminoácidos $\beta$ -sustituidos .....	16
2.4 Síntesis de $\gamma$ -aminoácidos $\gamma$ -sustituidos.....	17
2.5 Síntesis de $\gamma$ -aminoácido $\alpha,\gamma$ -disustituidos.....	20
2.6 Síntesis de $\gamma$ -lactamas sustituidas .....	24
<b>3. Justificación</b> .....	<b>29</b>
<b>4. Objetivos</b> .....	<b>30</b>
4.1 Objetivo General .....	30
4.2. Objetivos Específicos .....	30
<b>5. Resultados y Discusión</b> .....	<b>31</b>
5.1 Diseño molecular.....	31
5.2 Procedimiento general para los acoplamientos moleculares (Docking) .....	33
5.2.1 Resultados y discusión del docking molecular .....	36
5.3 Síntesis de las lactamas 87a-d.....	41
5.3.1 Síntesis del ácido carboxílico (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> )-86.....	41
5.3.2. Reacción de descarboxilación radicalaria–adición de nucleófilos.....	43
<b>6. Conclusiones</b> .....	<b>49</b>
<b>7. Parte experimental</b> .....	<b>51</b>
7.1 Generalidades.....	51
7.2 Preparación de los compuestos .....	52
7.2.1 Síntesis de Metil-( <i>S</i> )-5-oxopirrolidina-2-carboxilato. ....	52
7.2.2 Síntesis de 1-bencil-2 metil-( <i>S</i> )-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilato .....	52
7.2.3. Síntesis de 1-bencil-2-metil-(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> )-4-bencil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilato. ....	53
7.2.4. Síntesis de Metil (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> )-4-bencil-5-oxopirrolidina-2-carboxilato .....	54
7.2.5. Síntesis de ácido (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> )-4-bencil-5-oxopirrolidinona-2-carboxílico.....	55

7.3. Método general para la reacción de descarboxilación radicalaria-adición de nucleófilos. ....	55
7.3.1. Síntesis del (3 <i>R</i> )-2-oxo-3-bencilpirrolidina.....	56
7.3.2. Síntesis de (3 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-3-bencil-5-(2-oxopropil)-pirrolidin-2-ona.....	57
7.3.3. Síntesis de (3 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-3-bencil-5-(3,3-dimetil-2-oxobutil)-pirrolidin-2-ona .....	57
7.3.4. Síntesis de (3 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-3-bencil-5-(2-oxo-2-feniletíl)pirrolidin-2-ona .....	58
7.3.5. Síntesis de (2 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-3-bencil-5-(2-oxo-2-( <i>p</i> -tolil)etil)pirrolidin-2-ona.....	58
<b>8. Anexos</b> .....	<b>60</b>

## Resumen

El ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) es el principal neurotransmisor inhibitorio del Sistema Nervioso Central y es sintetizado en las terminales GABAérgicas, en donde es transformado a semialdehído succínico por la enzima GABA aminotransaminasa (GABA-AT).

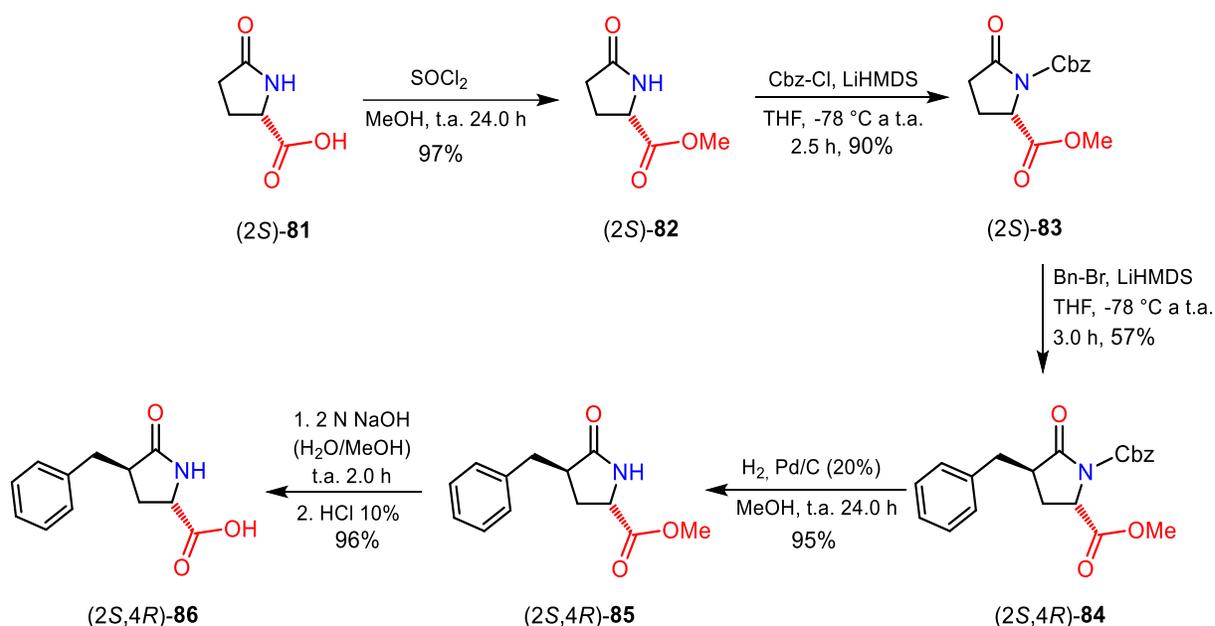


Las bajas concentraciones de GABA en el cerebro están asociadas a padecimientos como la epilepsia, Parkinson, Alzheimer, ansiedad, depresión, entre otros. La administración directa de GABA no es considerada una terapia eficaz debido a su baja lipofilidad y a su pobre capacidad para cruzar la barrera hematoencefálica. Para lograr lo anterior, se han diseñado distintos compuestos que conservan la estructura de GABA (farmacóforo) con distintas modificaciones, consiguiendo compuestos con mejores características farmacológicas, tal es el caso de los fármacos Baclofen, Tiagabina, Vigabatrina y las  $\gamma$ -lactamas Rolipram y Levetiracetam.

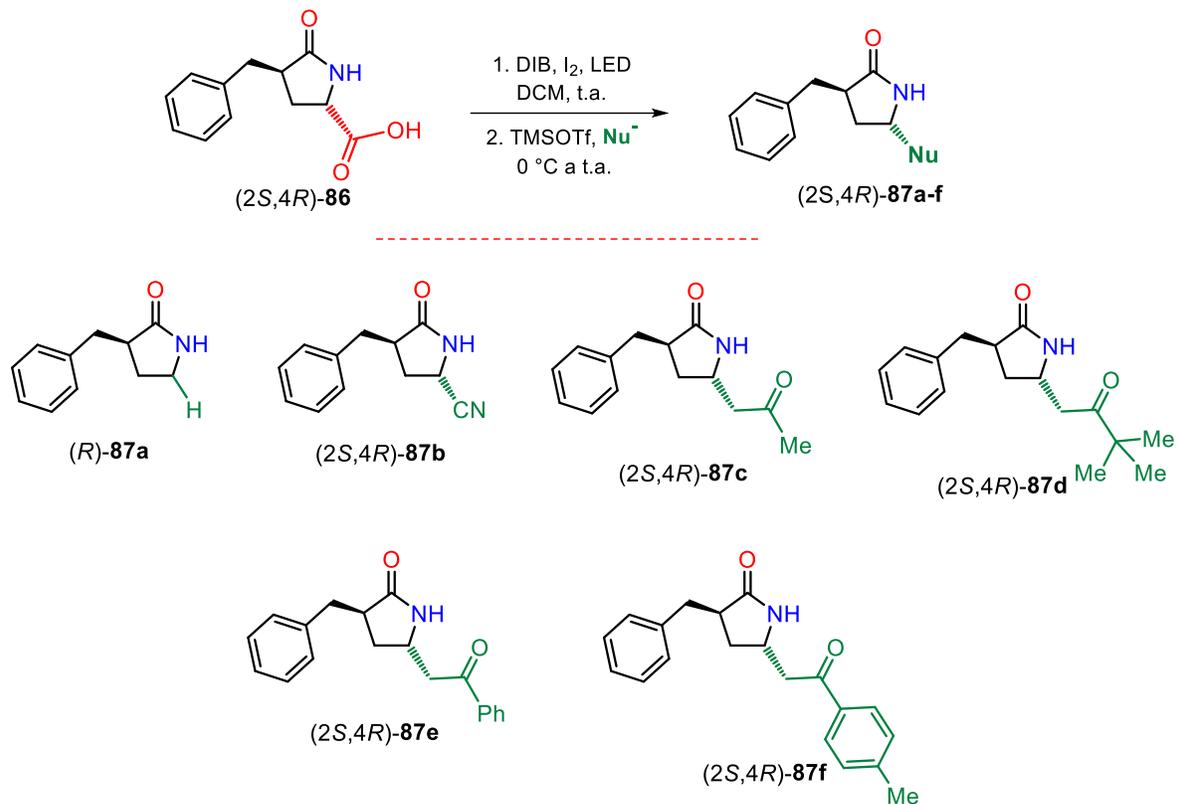
En este proyecto, se abordó el diseño y síntesis de una nueva serie de  $\gamma$ -lactamas  $\alpha,\gamma$ -disustituidas más lipofílicas (en comparación con los derivados no bencilados) como potenciales agentes inhibidores de la enzima GABA-AT. Para el diseño de las moléculas se conservó el esqueleto de un  $\gamma$ -aminoácido de manera cíclica (farmacóforo), y como auxóforo en posición  $\alpha$  se propuso la utilización de un grupo bencilo que provee de mayor lipofilidad, mientras que los sustituyentes en la posición  $\gamma$  fueron seleccionados a través del programa PASS online.

En primer lugar, para el diseño se analizaron sus valores de Lipinski, su capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica y se realizó un estudio de acoplamiento molecular (Docking). Los resultados en conjunto, permitieron confirmar la alta probabilidad de las nuevas lactamas  $\alpha,\gamma$ -disustituidas propuestas **87a-f** como potenciales inhibidores de la enzima GABA-AT.

Para la síntesis de las moléculas seleccionadas **87a-f**, inicialmente el ácido piroglutámico **81** comercialmente disponible, se hizo reaccionar con cloruro de tionilo en metanol proporcionando el éster metílico **82** con un 97% de rendimiento. A continuación, el tratamiento de **82** con LiHMDS y cloruro de Cbz dio lugar al compuesto *N*-Cbz protegido **83** con un 90% de rendimiento. La reacción de **83** con LiHMDS y bromuro de bencilo generó el compuesto  $\alpha$ -bencilado **84** con un 57% de rendimiento. La subsecuente hidrogenólisis catalítica de **84** usando Pd/C proporcionó el compuesto **85** con un 95% de rendimiento. Finalmente, la hidrólisis básica de **85** usando una disolución de NaOH y el posterior tratamiento con HCl dio lugar al ácido **86** con un 96% de rendimiento químico.

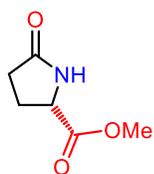


Una vez obtenido el ácido en común **86**, se estudió el proceso secuencial de escisión radicalaria oxidativa-adición de nucleófilos para la preparación de las  $\gamma$ -lactamas  $\alpha,\gamma$ -disustituidas **87a-f**. En general, el proceso secuencial transcurrió con buenos rendimientos globales, en condiciones suaves de reacción y con alta diastereoselectividad.

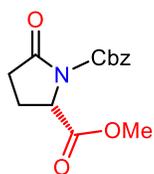


Las  $\gamma$ -lactamas sintetizadas abren el camino al desarrollo de fármacos para el tratamiento de enfermedades relacionadas con bajos niveles de GABA en el cerebro. Se espera en un futuro continuar con los estudios de evaluación *in vitro*.

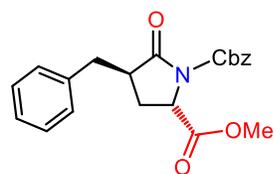
## Índice de compuesto sintetizados



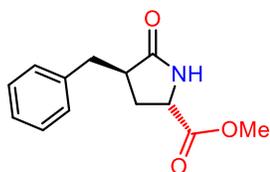
(2S)-82



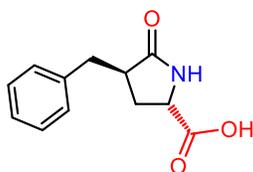
(2S)-83



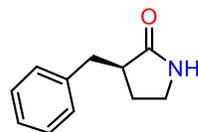
(2S,4R)-84



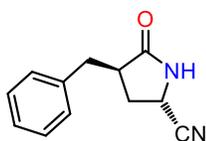
(2S,4R)-85



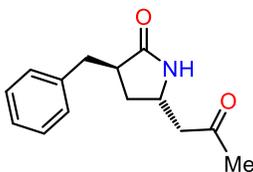
(2S,4R)-86



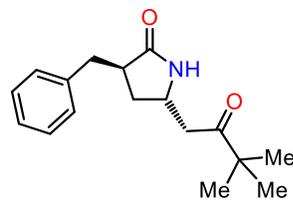
(R)-87a



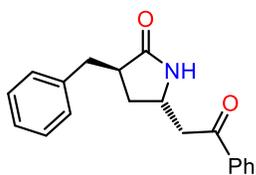
(2S,4R)-87b



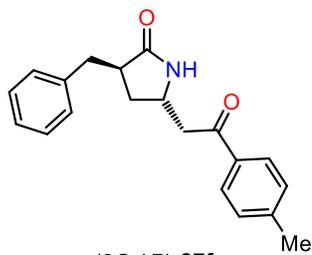
(2S,4R)-87c



(2S,4R)-87d



(2S,4R)-87e



(2S,4R)-87f

## Lista de abreviaturas

AcCl*	Cloruro de acilo
BHE	Barrera hematoencefálica
BSA*	<i>N,O</i> -Bis(trimetilsilil)acetamida
(Boc) <sub>2</sub> O	Dicarbonato de di-terc-butilo
Bn-Br*	Bromuro de bencilo
CAN*	Nitrato de amonio cérico
Cbz-Cl*	Cloroformiato de bencilo
CCP	Cromatografía en capa fina
MeCN	Acetonitrilo
DIB*	(diacetoxiyodo)benceno
DIPA	Diisopropilamina
DIPEA*	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
DMP	Dess Martin Periodinano
GABA	Ácido $\gamma$ -aminobutírico
GABA-AT	GABA aminotransaminasa
GAT*	Transportador de GABA
KHMDS*	Bis(trimetilsilil)amiduro de potasio
LiHMDS*	Bis(trimetilsilil) amiduro de litio
PASS*	Prediction of Activity Spectra for Substances
PDC*	Dicromato de piridinio
PLP*	Piridoxal-5-fosfato
PMP*	Piridoxamina-5-fosfato
SN	Sistema Nervioso
SNC	Sistema Nervioso Central
SNP	Sistema Nervioso Periférico
SOCl <sub>2</sub>	Cloruro de tionilo
SSA*	Semialdehído succínico
t.a.	Temperatura ambiente
TBAB*	Bromuro de tetrabutilamonio
TBAF*	Fluoruro de <i>n</i> -tetrabutilamonio
TBSOTf*	Trifluorometanosulfonato de terc-butildimetilsililo

TFA*	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
TMSCl*	Clorotrimetilsilano
TMSCN*	Cianotrimetilsilano
TMSOTf*	Trifluorometanosulfonato de trimetilsililo
TPAP*	Perrutenato de tetrapropilamonio

\* Por sus siglas en inglés

## 1. Introducción

El Sistema Nervioso (SN) está constituido por un conjunto de estructuras centrales y periféricas interconectadas, que constituyen una unidad indivisible, y que a través de los nervios periféricos se extiende por todo el organismo e influye de manera directa sobre los demás sistemas controlando, dirigiendo y supervisando todas las funciones de los órganos y del organismo en general. Para estudiar el SN, se ha dividido anatómicamente el cuerpo humano en dos partes: el Sistema Nervioso Periférico (SNP) y el Sistema Nervioso Central (SNC).<sup>1</sup>

El SNP se encuentra constituido por nervios craneales y espinales que conectan al SNC con el resto del cuerpo, los nervios se encargan de transmitir información sensorial al SNC. A su vez, poseen la función de transferir información del SNC a las glándulas y músculos del cuerpo.<sup>2</sup> Por otro lado, el SNC está formado por cerebro y espina dorsal, su función principal es integrar, coordinar, iniciar e interpretar los mensajes provenientes de los nervios.<sup>3</sup>

Las células del SNC son las neuronas, y su función principal es comunicar a través de pulsos eléctricos en un proceso conocido como sinapsis.<sup>4</sup> En el SNC existen moduladores encargados de promover, amplificar, bloquear, inhibir o atenuar dichos impulsos eléctricos conocidos como neurotransmisores,<sup>5</sup> destacando el ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) por ser el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC. El GABA es sintetizado en las terminales GABAérgicas (Esquema 1), y se obtiene a partir de la descarboxilación del glutamato (Paso 1), que al no ser degradado enzimáticamente por el SNC es trasladado hasta los astrocitos por los transportadores específicos (GAT 1)<sup>6</sup> permitiendo que el GABA reaccione con la enzima ácido glutámico descarboxilasa (GAD) y el cofactor piridoxal-5-fosfato

---

<sup>1</sup> Rea, P. Introduction to the Nervous System. En *Essential Clinical Anatomy of the Nervous System*. Academic Press: Boston, **2015**; 1, 1-50.

<sup>2</sup> Carlson, N. Structure of the Nervous System. En *Foundations of Physiological Psychology*; Allyn & Bacon: Boston, **2007**; 1, 63-95.

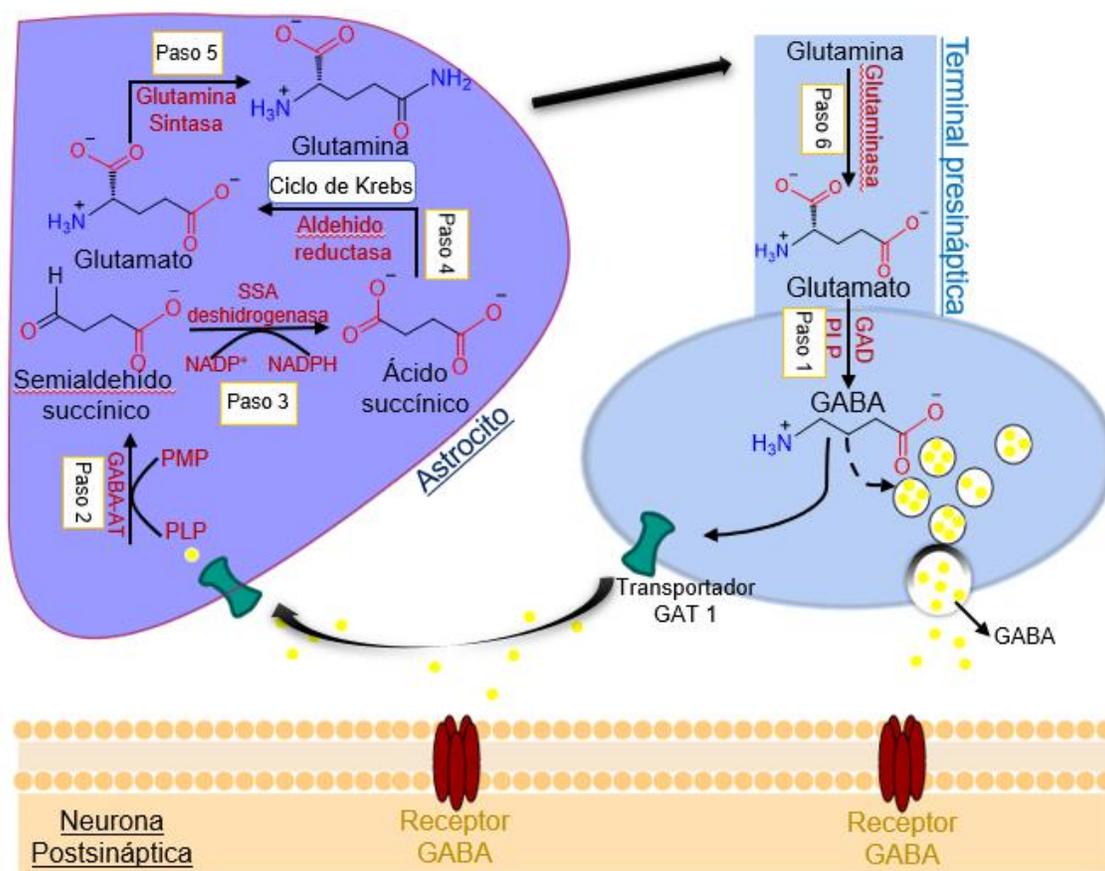
<sup>3</sup> Bloom, F. Neurotransmisión y Sistema Nervioso Central. En *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. Mc Graw-Hill: Colombia, **2007**; 1, 317-341.

<sup>4</sup> Fröhlich F. Neuronal Communication Beyond Synapses. En *Network Neuroscience*. Academic Press: California, **2016**, 1, 73-84.

<sup>5</sup> Herlenius, E.; Lagercrantz, H. *Early Hum. Dev.* **2001**, 65, 21-37.

<sup>6</sup> Scimemi, A. *Front. Cell. Neurosci.* **2014**, 8, 1-14.

(PLP)<sup>7</sup> que por acción de la enzima GABA aminotransaminasa (GABA-AT) es transformado en Semialdehído Succínico (SSA) (Paso 2). A continuación, el SSA se oxida a ácido succínico (Paso 3) por la enzima SSA deshidrogenasa. El ácido succínico formado, es metabolizado en el ciclo de Krebs a glutamato por el aldehído reductasa (Paso 4).<sup>8</sup> Enseguida, el glutamato es transformado por la glutamina sintetasa a glutamina (Paso 5) que es transportada a los axones, en donde finalmente es convertido nuevamente a glutamato (Paso 6) por la enzima glutaminasa (Esquema 1).<sup>9</sup>



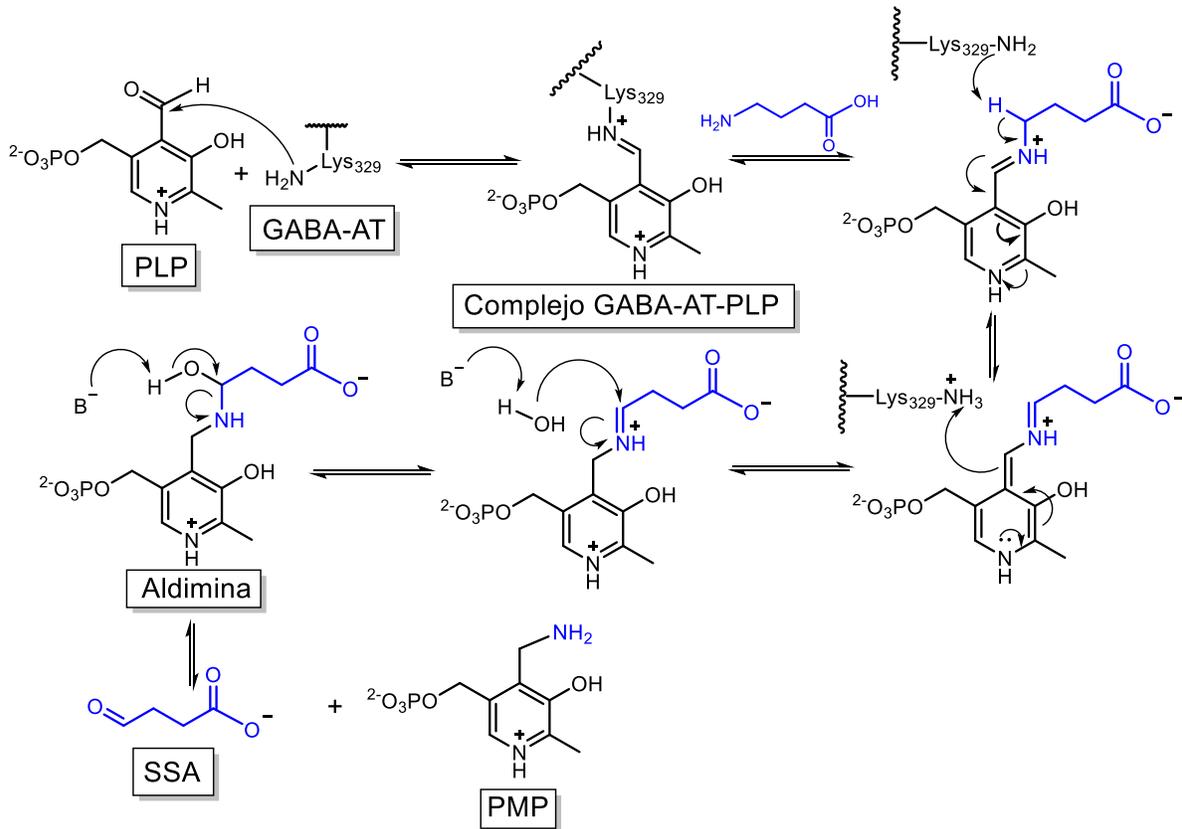
Esquema 1.

<sup>7</sup> Schousboe, A.; Westergaard, N.; Sonnewald, U.; Petersen, S. B.; Huang, R.; Peng, L.; Hertz, L. *Dev. Neurosci.* **1993**, *15*, 359-366.

<sup>8</sup> Brambilla, P.; Perez, J.; Barale, F.; Schettini, G.; Soares, J. C. *Mol. Psychiatr.* **2003**, *8*, 721-737.

<sup>9</sup> Peng, L.; Hertz, L.; Huang, R.; Sonnewald, U.; Petersen, S. B.; Westergaard, N.; Larsson, O.; Schousboe, A. *Dev Neurosci.* **1993**, *15*, 367-377.

Un paso de gran importancia es la degradación de GABA a SSA (Paso 2) (Esquema 1). El proceso inicia (Esquema 2)<sup>10</sup> cuando el piridoxal-5-fosfato (PLP) se acopla con la amina de la lisina de la enzima GABA-AT formando una imina (Complejo GABA-AT-PLP). A continuación, la imina es atacada por el GABA, desplazando la enzima y formando una aldimina, que se oxida a SSA y piridoxiamina-5-fosfato (PMP). En este sentido, la inhibición de la enzima GABA-AT conlleva a un aumento de los niveles de GABA en el cerebro.



**Esquema 2.**

Las bajas concentraciones de GABA en el SNC están relacionadas con distintos padecimientos como la epilepsia, una enfermedad que se caracteriza por una alta predisposición a generar convulsiones y origina consecuencias que repercuten en aspectos sociales, psicológicos y cognitivos.<sup>11</sup> Las convulsiones pueden ser focales (se limita a un hemisferio) o puede ser generalizadas (se propagan rápidamente en

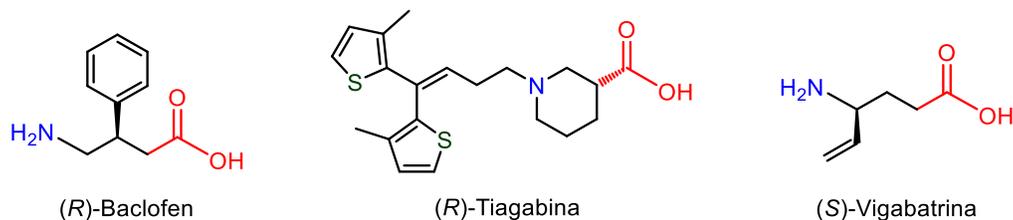
<sup>10</sup> Juncosa, J. I.; Takaya, K.; Le, H. V.; Moschitto, M. J.; Weerawarna, P. M.; Mascarenhas, R.; Liu, D.; Dewey, S. L.; Silverman, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 2151-2164.

<sup>11</sup> García, C. F.; Constantino, C. P.; Castro, R. A.; Nevárez, S. A.; Estrada, C. G.; Carlos, R. F.; Guzmán, C. J.; Torres, A. L.; Contreras, H. I.; Mould, Q. J.; Garduño, E. J. *Arch. Med. Res.* **2006**, *37*, 376-383.

ambos hemisferios) y se caracterizan por desarrollarse en 3 fases conocidas como aura, tónica y clónica.<sup>12</sup>

La epilepsia es una enfermedad común que puede afectar a cualquier persona sin importar edad, género o condición socioeconómica. Mundialmente existen alrededor de 50 millones de personas que la padecen y Estados Unidos concentra entre 2 y 3 millones de personas diagnosticadas, mientras que en Europa existen alrededor de 6 millones de casos.<sup>13</sup> Los datos obtenidos recientemente por la Organización Mundial de la Salud (OMS) mencionan que en México existe una prevalencia de 530-580 casos por cada 100,000 habitantes, cifras mayores en comparación con las estadísticas reportadas por Estados Unidos y Europa.<sup>14</sup>

Debido a la alta prevalencia de casos de epilepsia en el mundo y a la importante tasa de mortalidad y comorbilidad, se han desarrollado distintos fármacos antiepilépticos que actúan sobre el SNC a diferentes niveles con la finalidad de aumentar las concentraciones de GABA: a) El (*R*)-Baclofen se emplea como agonista selectivo del receptor GABA<sub>B</sub>, b) La (*R*)-Tiagabina un potente bloqueador de la recaptación neuronal y glial de GABA y c) la (*S*)-Vigabatrina el único fármaco inhibidor de la enzima GABA-AT (Esquema 3). Siendo estos dos últimos muy buenos anticonvulsivantes.<sup>15</sup>



**Esquema 3.**

De los anteriores, destaca la (*S*)-Vigabatrina<sup>16</sup> comercializada como Sabril®, un fármaco antiepiléptico aprobado por la FDA como un inhibidor selectivo irreversible de la GABA-AT. Su acción inicia a través del acoplamiento de la Vigabatrina y el

<sup>12</sup> Trevelyan, J. A.; Baldeweg, T.; Drongelen, W.; Yuste, R.; Whittington, M. *J. Neurosci.* **2007**, *27*, 13513-13519.

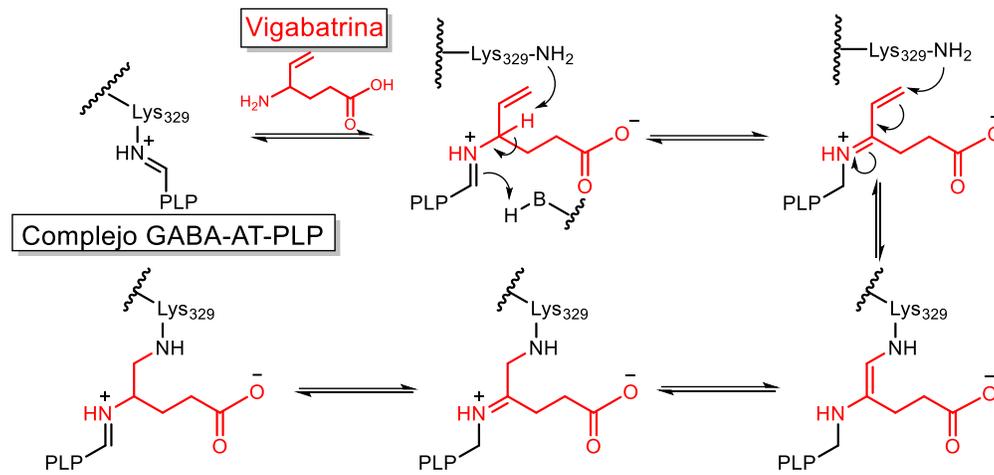
<sup>13</sup> Galanopoulou, S. A.; Buckmaster, S. P.; Staley, J. K.; Moshé, L. S.; Perucca, E.; Engel, J.; Löscher, W.; Noebels L. J.; Pitkänen, A.; Stables, J.; White, S. H.; O' Brien J. T.; Simonato, M. *Epilepsia* **2010**, *53*, 571-582.

<sup>14</sup> Beghi, E. *Neuroepidemiology* **2019**, *54*, 185-191.

<sup>15</sup> Treiman, M, D. *Epilepsia* **2001**, *42*, 8-12.

<sup>16</sup> Menachem, B. *Acta. Neurol. Scand.* **2011**, *124*, 5-15.

complejo GABA-AT-PLP impidiendo que se acople con GABA logrando aumentar su concentración de GABA en el cerebro (Esquema 4).<sup>17</sup>



**Esquema 4.**

La Vigabatrina ha demostrado reducir en un 50% las crisis parciales, simples y complejas a más de un 50% de pacientes con epilepsia. Su uso está asociado a distintos efectos adversos como somnolencia, cefalea, excitación motriz, aumento de peso, depresión y en tratamientos prolongados provoca alteración en el campo visual. Además, su baja permeabilidad de la Barrera Hematoencefálica (BHE) requiere altas dosis del fármaco (1-3 g/día). Con base en lo anterior, es evidente la importancia del desarrollo de nuevos antiepilépticos inhibidores de la enzima GABA-AT con mayor potencia, más selectivos y con menos efectos secundarios.

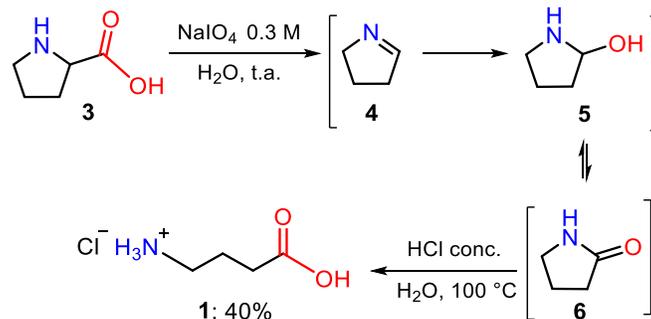
<sup>17</sup> Wang, Z.; Silverman, R. B. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2004**, *19*, 293-301.

## 2. Antecedentes

### 2.1 Síntesis del ácido $\gamma$ -aminobutírico (GABA)

Debido a la gran importancia biológica de GABA como el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC y responsable de distintos procesos de regulación fisiológica en los seres humanos, se han descrito una amplia variedad métodos para la síntesis de análogos de GABA y  $\gamma$ -aminoácidos.<sup>18</sup>

Uno de los primeros métodos desarrollados para la síntesis de GABA **1** fue el descrito por Bragg y Houg.<sup>19</sup> La secuencia de síntesis comenzó al hacer reaccionar la prolina **3** con una disolución 0.3 M de peryodato de sodio (NaIO<sub>4</sub>) generando la 1-pirrolina **4**, la subsecuente oxidación *in situ* proporcionó la 2-pirrolidinona **6**, que a través de una hidrólisis ácida utilizando HCl concentrado a reflujo generó el hidrocloreuro de GABA **1** con un rendimiento químico del 40% (Esquema 5). En otros estudios, Ito y col.<sup>20</sup> describieron que es posible hidrolizar la 2-pirrolidinona **6** a GABA **1** empleando enzimas presentes en el hígado de conejo mediante reacciones de oxidación, estos resultados abren una posibilidad de su uso como profármaco.



Esquema 5.

Otro ejemplo descrito para la síntesis de GABA **1** es el publicado por Mitteilung y Häusler.<sup>21</sup> Para conseguir lo anterior, el éster metílico **7** se trató con una disolución

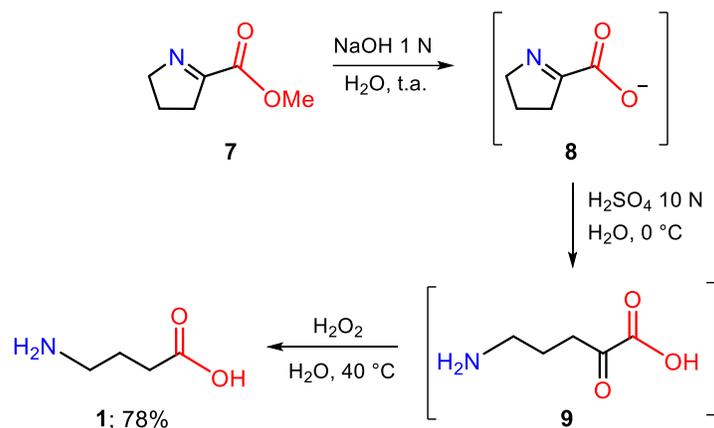
<sup>18</sup> (a) Ordóñez, M.; Cativiela, C. *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 3-99; (b) Ordóñez, M.; Cativiela, C. Romero-Estudillo, I. *Tetrahedron: Asymmetry* **2016**, *27*, 999-1055.

<sup>19</sup> Bragg, P. D.; Hough, L. *J. Chem. Soc.* **1958**, *1*, 4050-4053.

<sup>20</sup> Ito, Y.; Miyata, S.; Nakatsuka, M.; Saegusa, T. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 1045-1046.

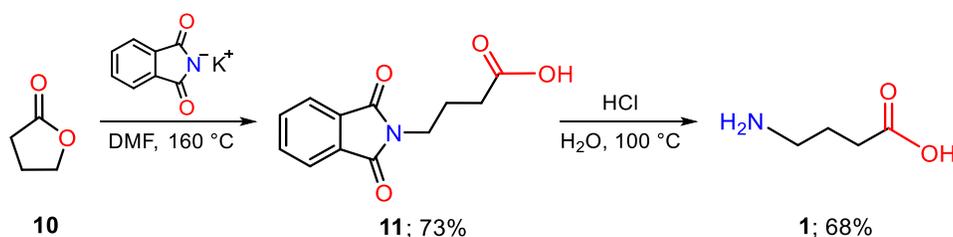
<sup>21</sup> Mitteilung, K.; Häusler, J. *Monatsh. Chem.* **1987**, *118*, 865-869.

acuosa de NaOH 1 N, proporcionando el carboxilato **8** que sin purificación adicional se trató con una disolución de ácido sulfúrico 10 N generando el ácido 5-amino-2-oxopentanoico **9**, el tratamiento del ácido **9** con una mezcla de peróxido de hidrógeno y agua produjo el ácido  $\gamma$ -aminobutírico **1** con un rendimiento del 78% (Esquema 6).



**Esquema 6.**

Adicionalmente, otro método descrito para la síntesis de GABA **1**, es a partir de la  $\gamma$ -butirolactona **10**. Bajo este contexto, la reacción de **10** con la ftalimida de potasio en DMF generó el ácido 4-ftalimidobutírico **11** con un rendimiento del 73% el subsecuente tratamiento con HCl acuoso a reflujo, proporcionó el GABA **1** con un rendimiento químico del 68% (Esquema 7).<sup>22</sup>



**Esquema 7.**

<sup>22</sup> Talbot, G.; Gaudry, R.; Berlinguet, L. *Can. J. Chem.* **1958**, 36, 593-596.

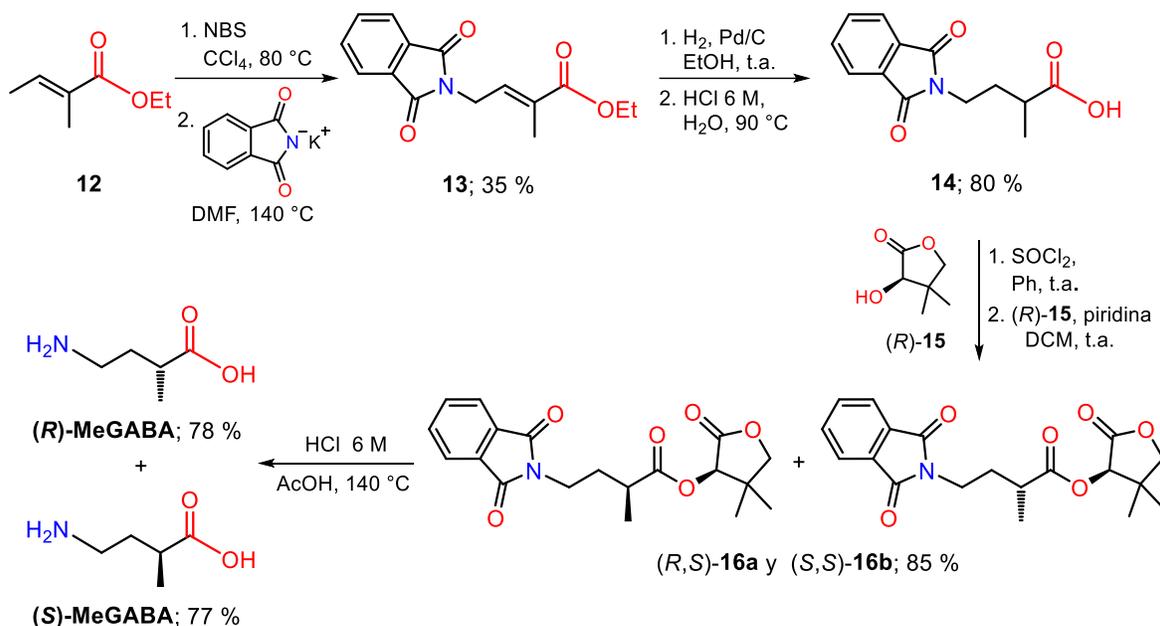
## 2.2 Síntesis de $\gamma$ -aminoácidos $\alpha$ -sustituidos

Uno de los  $\gamma$ -aminoácidos  $\alpha$ -sustituidos más estudiados es el 2-MeGABA. Los estudios farmacológicos demuestran que 2-MeGABA es capaz de actuar sobre los receptores GABA<sub>C</sub>. En particular, el compuesto (*R*)-2-MeGABA resultó ser un buen antagonista para las 3 subunidades ( $\rho_1$ ,  $\rho_2$ ,  $\rho_3$ ) mientras que el derivado (*S*)-2-MeGABA posee funciones como agonista.<sup>23</sup> Por ejemplo, Duke y col.<sup>24</sup> llevaron a cabo la síntesis de (*R*)-2-MeGABA y (*S*)-2-MeGABA, la síntesis comenzó al hacer reaccionar el éster  $\alpha,\beta$ -insaturado **12** con *N*-bromosuccinimida (NBS) en tetracloruro de carbono, el subsecuente tratamiento con ftalimida de potasio en DMF proporcionó el compuesto **13** con un rendimiento químico del 35%. A continuación, el éster etílico **13** se hizo reaccionar con cantidades catalíticas de Pd/C en metanol bajo atmósfera de hidrógeno, el posterior tratamiento con HCl 6 M generó el ácido carboxílico **14** con 80% de rendimiento. Enseguida, el ácido **14** se trató con cloruro de tionilo en benceno y en un segundo paso se hizo reaccionar con el alcohol (*R*)-**15**, produciendo la mezcla de diastereoisómeros (*R,S*)-**16a** y (*S,S*)-**16b** que fueron separados por cromatografía en columna. La hidrólisis ácida de (*R,S*)-**16a** y (*S,S*)-**16b** con una disolución de HCl 6 M produjo (*R*)-MeGABA y (*S*)-MeGABA con rendimientos químicos del 78% y 77% respectivamente (Esquema 8).

---

<sup>23</sup> Crittenden, D. L.; Park, A.; Qiu, J.; Silverman, R. B.; Duke, R. K.; Johnston, G. A. R.; Jordan, M. J. T.; Chebib, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 447-455.

<sup>24</sup> Duke, R. K.; Chebib, M.; Hibbs, D. E.; Mewett, K. N.; Johnston, G. A. R. *Tetrahedron: Asymmetry.* **2004**, *15*, 1745-1751.

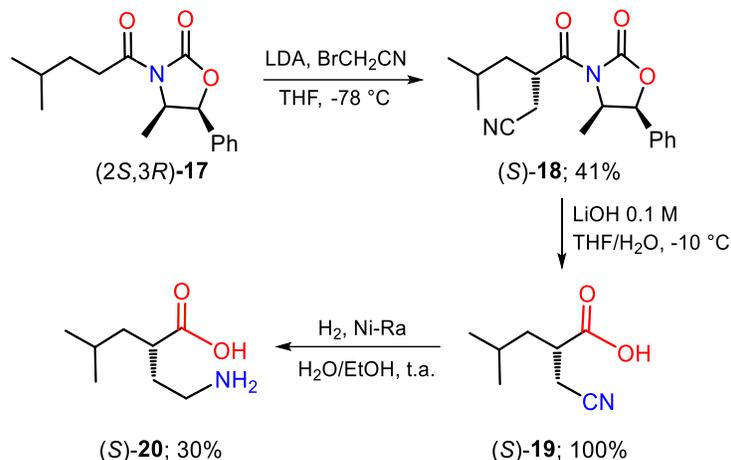


**Esquema 8.**

Un  $\gamma$ -aminoácido  $\alpha$ -sustituido muy estudiado es la (S)-Pregabalina, un fármaco utilizado para el tratamiento de convulsiones parciales a dosis de 150 a 600 mg por día.<sup>25</sup> Un ejemplo de la síntesis del análogo  $\alpha$  sustituido de Pregabalina **20** es la descrita por Wustrow y col.<sup>26</sup> La síntesis comienza al hacer reaccionar la oxazolidinona (2S,3R)-**17** con diisopropilamida de litio (LDA) y bromoacetnitrilo en THF produciendo el compuesto (S)-**18** con un 41% de rendimiento. La hidrólisis básica de (S)-**18** utilizando una disolución de LiOH 0.1 M en una mezcla de THF/ $\text{H}_2\text{O}$ , generó el ácido (S)-**19** con un rendimiento cuantitativo. Finalmente, el tratamiento de (S)-**19** con cantidades catalíticas de Niquel-Raney bajo atmósfera de hidrógeno dio lugar al  $\gamma$ -aminoácido  $\alpha$ -sustituido (S)-**20** con un rendimiento químico del 30% (Esquema 9). Adicionalmente, los autores sintetizaron una gran variedad de análogos de Pregabalina con diferentes sustituyentes en las posiciones  $\alpha$  y  $\gamma$ , los estudios de estructura-actividad revelaron que los derivados con sustituyentes en la posición  $\gamma$  mantienen su actividad *in vivo* para ansiedad, epilepsia y dolor neuropático con respecto al fármaco de referencia la (S)-Pregabalina.

<sup>25</sup> Ryvlin, P.; Perucca, E.; Rheims, S. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* **2008**, *4*, 1211-1224.

<sup>26</sup> Belliotti, T. R.; Capiris, T.; Ekhato, V.; Kinsora, J. J.; Field, M. J.; Heffner, T. G.; Meltzer, L. T.; Schwarz, J. B.; Taylor, C. P.; Thorpe, A. J.; Vartanian, M. G.; Wise, L. D.; Zhi-Si, T.; Weber, M. L. Wustrow, D. J. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 2294-2307.

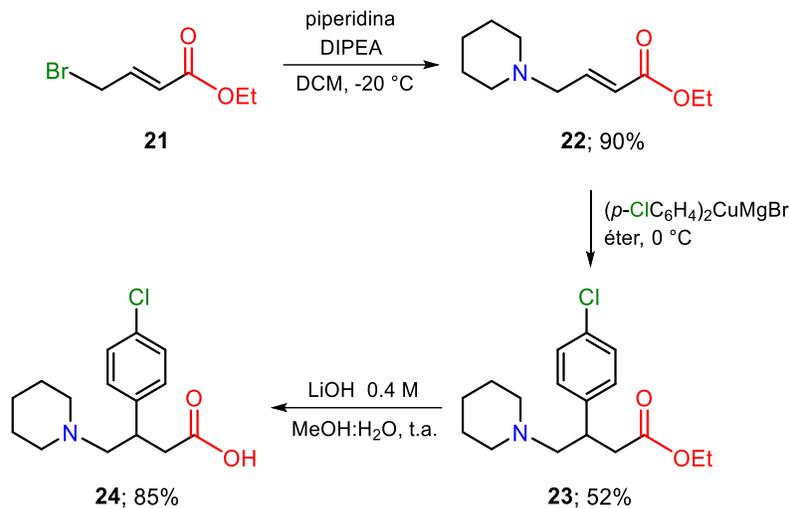


**Esquema 9.**

### 2.3 Síntesis de $\gamma$ -aminoácidos $\beta$ -sustituidos

Recientemente, Fernández-Zertuche y col.<sup>27</sup> llevaron a cabo la síntesis del  $\gamma$ -aminoácido  $\beta$ -sustituido **24** (Esquema 10). La síntesis comenzó al tratar el éster  $\alpha,\beta$ -insaturado **21** con piperidina y *N,N*-diisopropiletilamina (DMPA) en diclorometano generando la amina **22** con un 90% de rendimiento químico. Enseguida, la adición 1,4 tipo Michael del cuprato de *p*-bromoclorobenceno al éster  $\alpha,\beta$ -insaturado **22**, proporcionó el producto de adición **23** con un rendimiento del 52%. Finalmente, el  $\gamma$ -aminoéster  $\beta$ -sustituido **23** se trató con una disolución de hidróxido de litio 0.4 M en una mezcla de MeOH:H<sub>2</sub>O produciendo el  $\gamma$ -aminoácido  $\beta$ -sustituido **24** con un rendimiento químico del 85%. Estudios demostraron que el  $\gamma$ -aminoácido **25** es un buen inhibidor de la actividad enzimática de GABA-AT, mostrando una alta inhibición (73%) en la cepa *Pseudomona fluorescence* comparado con los controles Vigabatrina (52%) y Valproato de sodio (19%).

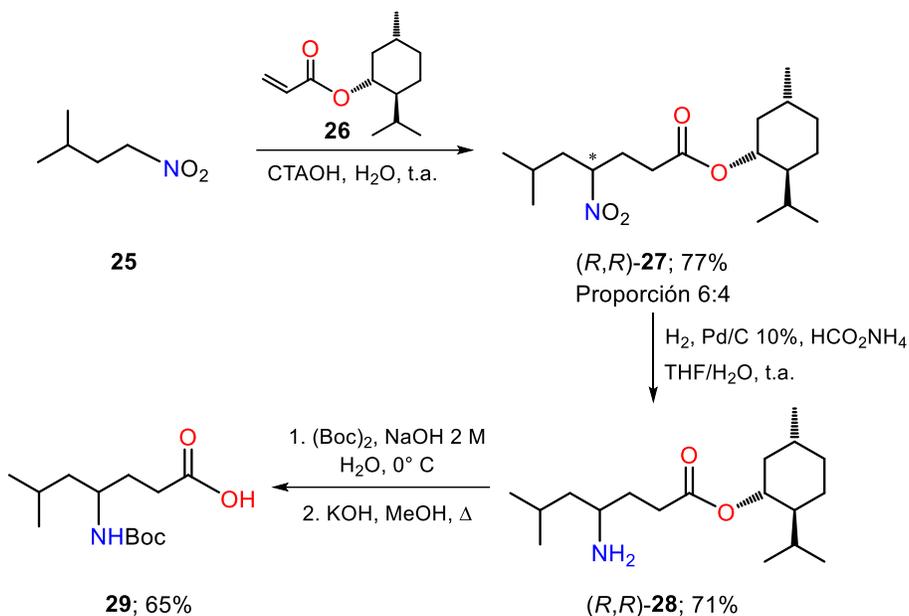
<sup>27</sup> Rodríguez-Lozada, J.; Tovar-Gudiño, E.; Guevara-Salazar, J. A.; Razo-Hernández, R. S.; Santiago, A.; Pastor, N.; Fernández-Zertuche, M. *Molecules* **2018**, *23*, 2984-3015.



## 2.4 Síntesis de $\gamma$ -aminoácidos $\gamma$ -sustituidos

Un ejemplo de un  $\gamma$ -aminoácido  $\gamma$ -sustituido es el reportado por Ballini y col.<sup>28</sup> la síntesis del compuesto inicia al hacer reaccionar el nitroalcano **25** mediante una adición tipo Michael con el éster  $\alpha,\beta$  insaturado **26** en presencia de hidróxido de hexadeciltrimetilamonio (CTAOH) proporcionando el compuesto (*R,R*)-**27** con un rendimiento químico del 77%. Enseguida, el nitrocompuesto (*R,R*)-**27** se trató con cantidades catalíticas de Pd/C y formiato de amonio bajo atmósfera de hidrógeno, generando el amino derivado (*R,R*)-**28** con un rendimiento químico del 71%. En la última etapa, el éster (*R,R*)-**28** se trató con dicarbonato de di-terc-butilo (Boc)<sub>2</sub>O en presencia de una disolución de NaOH 2 M, seguido por el tratamiento con hidróxido de potasio en metanol proporcionando el  $\gamma$ -aminoácido  $\gamma$ -sustituido **29** con un rendimiento químico del 65% (Esquema 11).

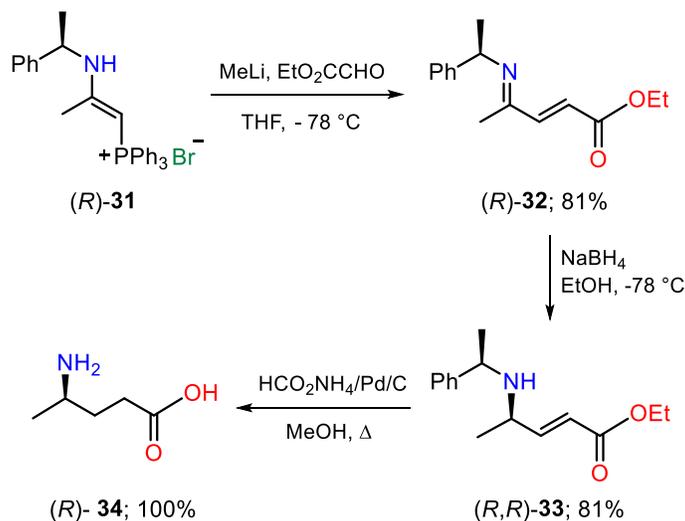
<sup>28</sup> Ballini, R.; Fiorini, D.; Palmieri, A.; Petrini, M. *Lett. Org. Chem.* **2004**, *1*, 335-339.



**Esquema 11.**

Otro ejemplo de un  $\gamma$ -aminoácidos  $\gamma$ -sustituidos es el reportado por Palacios y col.<sup>29</sup> quienes sintetizaron el  $\gamma$ -aminoácido  $\gamma$ -sustituido (*R*)-**34**. Para lograr lo anterior, la sal de fosfonio (*R*)-**31** se hizo reaccionar con el glicolato de etilo y una disolución de metililitio en THF, proporcionando el azadieno (*R*)-**32** con un rendimiento químico del 81%. Enseguida, el compuesto (*R*)-**32** se trató con borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ) en EtOH generando el éster etílico (*R,R*)-**33** con un 81% de rendimiento. El tratamiento del éster (*R,R*)-**33** con formiato de amonio y cantidades catalíticas de Pd/C, proporcionó el  $\gamma$ -aminoácido  $\gamma$ -sustituido (*R*)-**34** con rendimiento cuantitativo (Esquema 12).

<sup>29</sup> Palacios, F.; Aparicio, D.; García, J.; Rodríguez, E.; Fernández-Acebes, A. *Tetrahedron* **2001**, 57, 3131-3141.



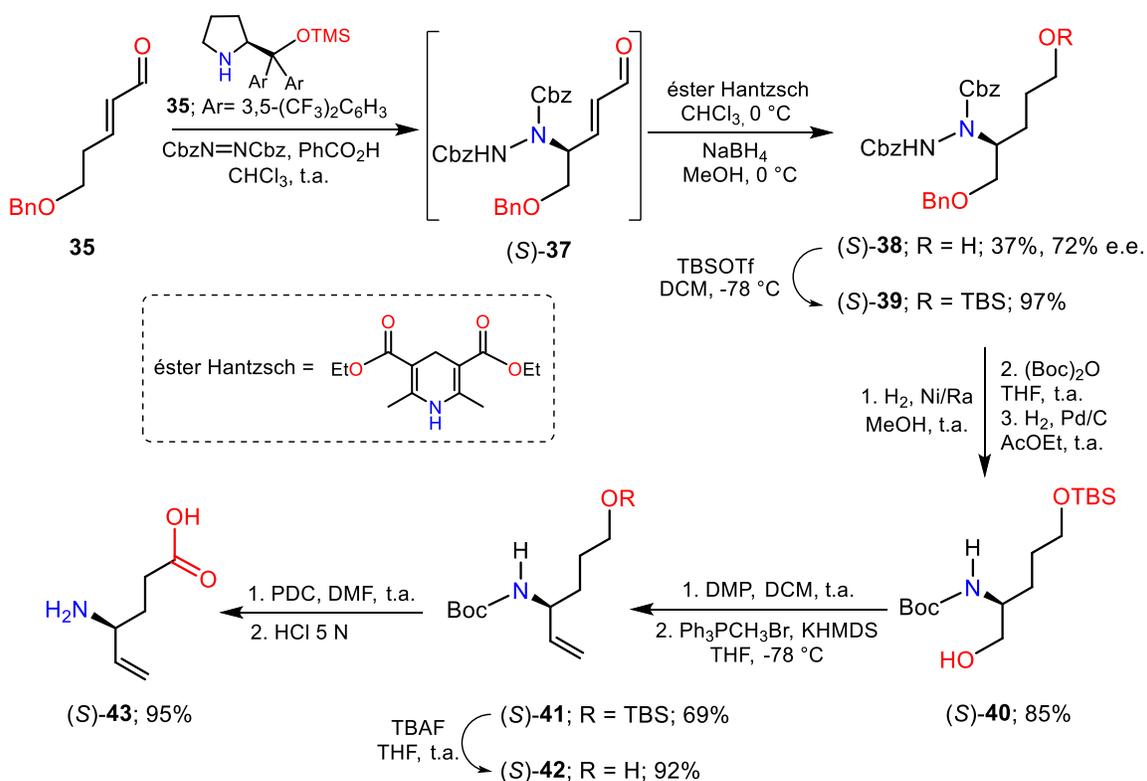
**Esquema 12.**

En otro ejemplo, la (*S*)-Vigabatrina **43** es un  $\gamma$ -aminoácido  $\gamma$ -sustituido, que demostró ser un fármaco eficaz frente a otros anticonvulsivantes aprobados como eslicarbazepina, ezogabina, gabapentina, levetiracetam, tiagabina, entre otros.<sup>30</sup> El uso clínico de la (*S*)-Vigabatrina está limitado debido a su alta probabilidad de causar defectos de los campos visuales. Una estrategia desarrollada para la síntesis de la (*S*)-Vigabatrina **43** es la descrita por Brenner-Moyer y col.<sup>31</sup> el método comienza a través de una reacción one-pot entre el aldehído  $\alpha,\beta$ -insaturado **35**, diarilprolinol (*S*)-**36**, ácido benzoico, azodicarboxilato de dietilo en clorformo proporcionando el producto intermediario (*S*)-**37**, que al tratarse con el éster de Hantzsch y borohidruro de sodio proporcionó el  $\gamma$ -aminoalcohol (*S*)-**38** con un rendimiento del 37% y un 72% de exceso enantiomérico. El tratamiento del alcohol (*S*)-**38** con trifluorometanosulfonato de terbutildimetilsililo (TBSOTf) produjo el alcohol O-TBS protegido (*S*)-**39** con rendimiento del 97%. A continuación, la hidrogenólisis del  $\gamma$ -aminoalcohol (*S*)-**39** usando Ni/Ra bajo atmósfera de hidrógeno y el posterior tratamiento con anhídrido de Boc y la desprotección del grupo hidroxilo al tratar el residuo con Pd/C bajo atmósfera de hidrógeno generó el alcohol (*S*)-**40** con un rendimiento global del 85%. Enseguida, el alcohol (*S*)-**40** se trató con el reactivo de Dess Martin Periodinano (DMP), bromuro de metiltrifenilfosfonio y bis(trimetilsilil)amida de potasio (KHMDS) produciendo el alqueno (*S*)-**41** con

<sup>30</sup> Slater, J.; Chung, S.; Huynh, L.; Duh, M. S.; Gorin, B.; McMicken, C.; Ziemann, A.; Isojarv, J. *Epilepsy Res.* **2018**, *143*, 120-129.

<sup>31</sup> Appayee, C.; Fraboni, A. J.; Brenner-Moyer, S. E. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 8828-88347.

rendimiento del 69%, que por tratamiento con fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF) proporcionó el alcohol (S)-**42** con un 92% de rendimiento. Finalmente, la oxidación del alcohol (S)-**42** usando dicromato de piridinio (PDC) y el subsecuente tratamiento con una disolución de HCl 5 N, dio lugar a la (S)-Vigabatrina **43** con un rendimiento químico del 95% (Esquema 13).



**Esquema 13.**

## 2.5 Síntesis de $\gamma$ -aminoácido $\alpha,\gamma$ -disustituidos

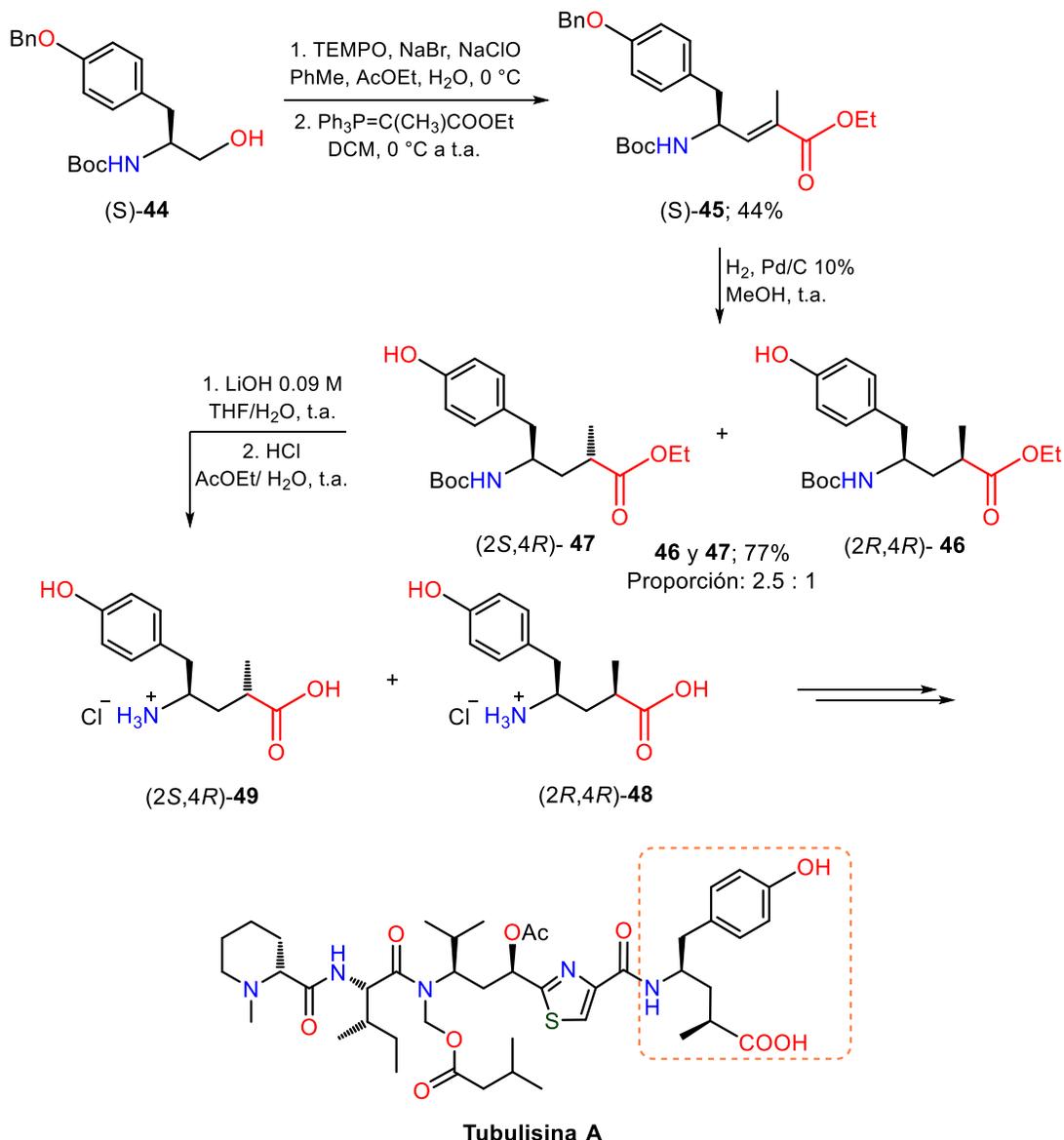
En la actualidad existen muy pocos ejemplos de la síntesis de  $\gamma$ -aminoácidos  $\alpha,\gamma$ -disustituidos. Gran parte de sus estudios se han enfocado en la síntesis de un fragmento de la Tubulisina A, un producto natural aislado de la bacteria *Archangium gephyra*, estudios farmacológicos han demostrado que la Tubulisina A es un potente inhibidor del crecimiento celular de gran interés para el desarrollo de agentes

anticancerígenos.<sup>32</sup> Para la síntesis de los fragmentos (2*R*,4*R*)-**48** y (2*S*,4*R*)-**49** componentes de la Tubulisina A, se hizo reaccionar el alcohol (*S*)-**44** bajo condiciones oxidantes empleando TEMPO, bromuro de sodio e hipoclorito de sodio generando el correspondiente aldehído. Enseguida, el aldehído intermediario fue tratado bajo condiciones de olefinación de Wittig proporcionando el éster  $\alpha,\beta$ -insaturado (*S*)-**45** con un 44% de rendimiento. En el siguiente paso, el éster (*S*)-**45** se trató en condiciones de hidrogenación utilizando una atmósfera de hidrógeno y cantidades catalítica de Pd/C, generando la mezcla de diastereoisómeros **46** y **47** con un rendimiento del 77% y una proporción de 1:2.5. Finalmente, el tratamiento de los ésteres **46** y **47** con una disolución de LiOH 0.09 M y el subsecuente tratamiento con HCl proporcionó los clorhidratos de los  $\gamma$ -aminoácidos  $\alpha,\gamma$ -disustituido (2*R*,4*R*)- **48** y (2*S*,4*R*)-**49** (Esquema 14).<sup>33</sup>

---

<sup>32</sup> Raghavan, B.; Balasubramanian, R.; Steele, J. C.; Sackett, D. L.; Fecik, R. A. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 1530-1533.

<sup>33</sup> Pando, O.; Dörner, S.; Preusentanz, R.; Denkert, A.; Porzel, A.; Richter, W.; Wessjohann, L. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 5567-5569.



**Esquema 14.**

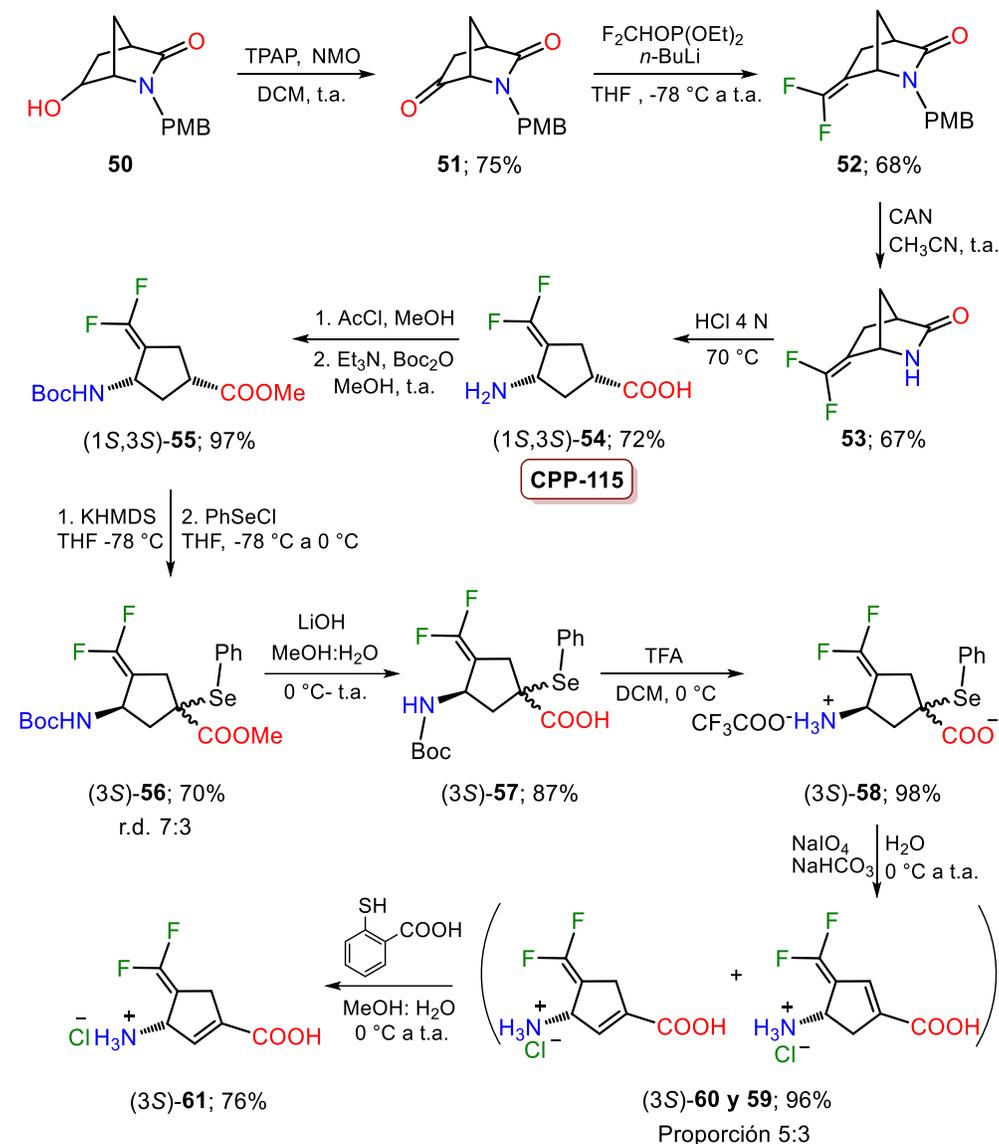
Por otro lado, se han sintetizado  $\gamma$ -aminoácidos  $\alpha,\gamma$ -disustituidos conformacionalmente restringidos inhibidores de la enzima GABA-AT. En este sentido, Silverman y su grupo de investigación, llevaron a cabo la síntesis de los análogos (1S,3S)-**54** y (3S)-**61** (Esquema 15). Su síntesis inicia al hacer reaccionar el alcohol **50** con perrutenato de tetrapropilamonio y *N*-óxido de 4-metilmorfolina generando la cetona **51** con un 75% de rendimiento químico. El tratamiento de **51** con F<sub>2</sub>CHOP(OEt)<sub>2</sub> y *n*-butillitio en THF proporcionó la olefina **52** con un 68% de rendimiento. A continuación, la amida en **52** se hizo reaccionar con nitrato de amonio cérico en acetonitrilo produciendo la amida desprotegida **53** con un

rendimiento del 67%. Enseguida, la amida **53** se trató con una disolución acuosa de HCl 4N dando lugar al  $\gamma$ -aminoácido **CPP-115 (1S,3S)-54** con un rendimiento químico del 72%.<sup>34</sup> Se demostró que el compuesto (1S,3S)-**54** es 186 veces más potente en la inhibición de GABA-AT en comparación con la (S)-Vigabatrina **43** y posee un alto potencial terapéutico para diferentes tipos de epilepsia y actualmente se encuentra en fase 1 de ensayos clínicos.

Continuando con sus estudios, Silverman y su grupo de trabajo diseñaron y sintetizaron el nuevo  $\gamma$ -aminoácido  $\alpha,\gamma$ -disustituido (3S)-**61** partiendo de **CPP-115 54** previamente sintetizado. Para conseguir lo anterior,  $\gamma$ -aminoácido (1S,3S)-**54** se trató con cloruro de acilo en metanol y en un segundo paso con dicarbonato de di-terc-butilo en presencia de Et<sub>3</sub>N en metanol proporcionando el éster metílico (1S,3S)-**55** con un rendimiento del 97%. Enseguida, el compuesto (1S,3S)-**55** se hizo reaccionar con bis(trimetilsilil)amiduro de sodio y cloruro de fenilselenio en THF generando el éster metílico (3S)-**56** con un rendimiento del 70% y una relación diastereoisomérica 7:3. A continuación, la saponificación de (3S)-**56** utilizando una disolución de LiOH 0.5M en una mezcla MeOH:H<sub>2</sub>O produjo el ácido carboxílico (3S)-**57** con un 87% de rendimiento. El tratamiento de (3S)-**57** con ácido trifluoroacético en diclorometano proporcionó la sal de trifluoroacetato (3S)-**58** con un rendimiento químico del 98%. En el siguiente paso, el  $\gamma$ -aminoácido (3S)-**58** se hizo reaccionar con una mezcla acuosa de peryodato de sodio y bicarbonato de sodio generando una mezcla inseparable de los isómeros (3S)-**59** y **60** con un rendimiento del 96% y una proporción 5:3. Finalmente, la reacción con ácido tiosalicílico en una mezcla de MeOH:H<sub>2</sub>O produjo como producto exclusivo el  $\gamma$ -aminoácido  $\alpha,\gamma$ -disustituido (3S)-**61** con un 76% de rendimiento químico (Esquema 15). El  $\gamma$ -aminoácido (3S)-**61** resultó ser 10 veces más potente que el compuesto **CPP-115 54**.<sup>10</sup>

---

<sup>34</sup> Pan, Y.; Qiu, J.; Silverman, R. B. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5292-5293.



**Esquema 15.**

## 2.6 Síntesis de $\gamma$ -lactamas sustituidas

Debido a la gran importancia del desarrollo de nuevos agentes que actúen a nivel del SNC para el tratamiento de distintas enfermedades, se han sintetizado compuestos capaces de detener o atenuar los síntomas por enfermedades neurodegenerativas. Entre ellos, la síntesis de  $\gamma$ -lactamas sustituidas ha resultado ser un área de gran interés.

Un ejemplo de compuestos que presentan lactamas en su estructura es el Rolipram, un fármaco que actúa a nivel de los receptores de la monoamina, inhibiendo la

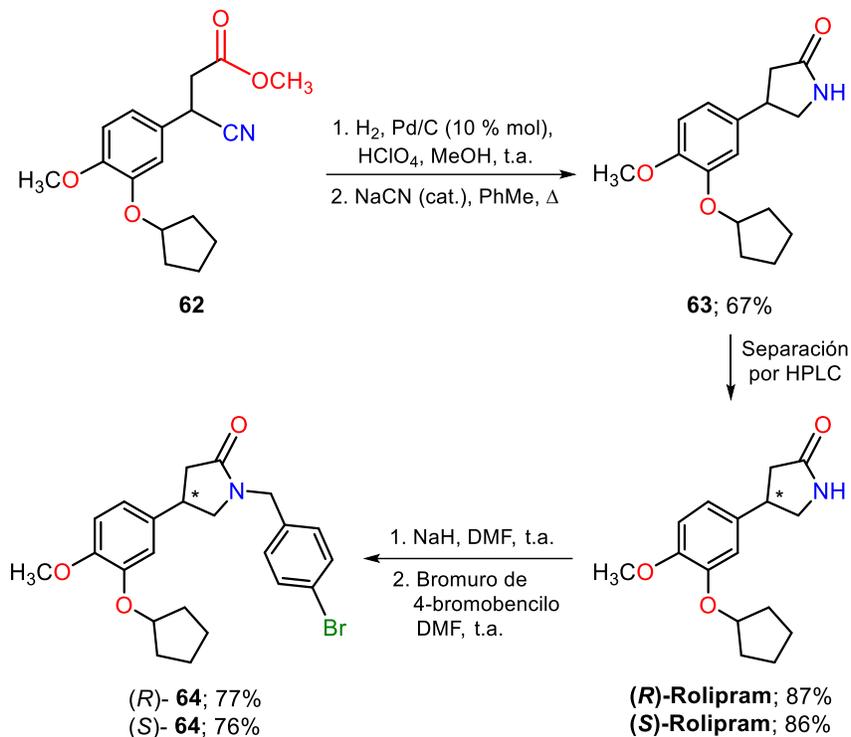
enzima AMPc fosfodiesterasa promoviendo así la liberación de neurotransmisores en el SNC.<sup>35</sup> Este fármaco es utilizado para el tratamiento contra la depresión.<sup>36</sup> Dada la importancia y potencia de este fármaco, se han desarrollado diferentes métodos para la síntesis de análogos de Rolipram. En este contexto, Christensen y col.<sup>37</sup> hicieron reaccionar el ciano-éster **62** bajo condiciones de hidrogenación catalítica empleando H<sub>2</sub> y Pd/C en presencia de ácido perclórico y utilizando como disolvente MeOH, en un segundo paso, el residuo se trató con cianuro de sodio (NaCN) en tolueno a reflujo proporcionando la lactama **63** con un rendimiento del 67%. La mezcla racémica **63** fue separada a través de HPLC generando la separación de los compuestos (*R*)-Rolipram y (*S*)-Rolipram con rendimientos del 87 y 86% respectivamente. El tratamiento de (*R*)- y (*S*)-Rolipram con hidruro de sodio (NaH) en DMF y la posterior adición de bromuro de 4-bromobencilo generó los compuestos (*R*)-**64** y (*S*)-**64** con rendimientos químicos del 77 y 76% respectivamente (Esquema 16). Las pruebas de evaluación demostraron que el enantiómero (*R*)- **64** resultó ser un pobre inhibidor enzimático (74 μM) en contraste, el enantiómero (*S*)-**64** demostró poseer una inhibición enzimática (0.17 μM) hasta 10 veces mayor a la reportada por ambos enantiómeros de Rolipram.

---

<sup>35</sup> Butt, N. M.; Collier, H. O. J.; Cuthbert, N. J.; Francis, D. L.; Saeed, S. A. *Eur. J. Pharmacol.* **1979**, *53*, 375-378.

<sup>36</sup> Schmiechen, R.; Schneider, H. H.; Wachtel, H. *Psychopharmacology.* **1990**, *102*, 17-20.

<sup>37</sup> Baures, P. W.; Eggleston, D. S.; Erhard, K. F.; Cieslinski, L. B.; Torphy, T. J.; Christensen, S. B. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3274-3277.



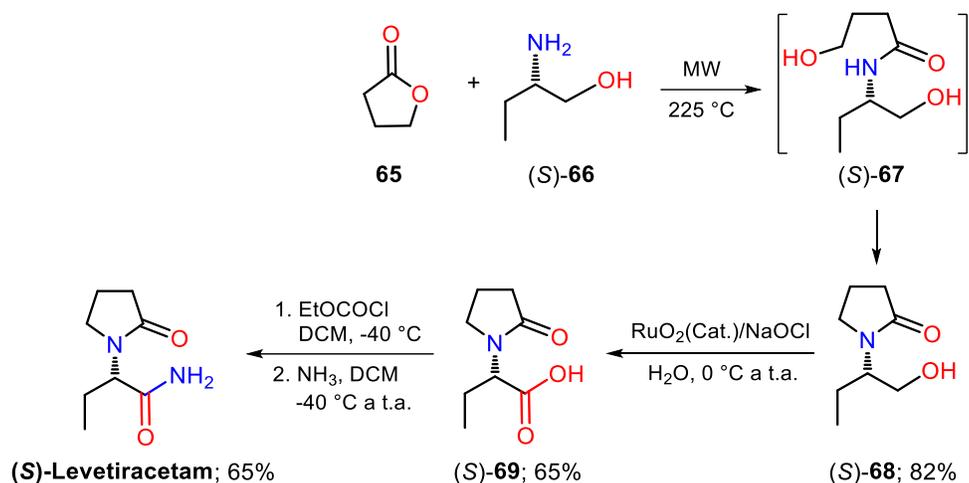
**Esquema 16.**

Otro ejemplo de lactamas, es el fármaco (S)-Levetiracetam aprobado para el tratamiento contra la epilepsia, su mecanismo de acción no se encuentra descrito; sin embargo, se ha demostrado que es capaz de inhibir parcialmente las corrientes de Na<sup>+</sup> en las neuronas del hipocampo, también se conoce que es capaz de antagonizar a GABA<sub>A</sub> y GABA<sub>C</sub> por incremento en el flujo de iones Cl<sup>-</sup>.<sup>38</sup> Una metodología descrita para la síntesis de (S)-Levetiracetam es la reportada por Mylavarapu y col.<sup>39</sup> La síntesis comienza al hacer reaccionar la  $\gamma$ -butirolactona **65** y el 2-aminobutanol **66** en condiciones libres de disolvente e irradiación de microondas a 225 °C proporcionando el intermediario (S)-**67** que en el medio de reacción se transformó en la lactama (S)-**68** con un 82% de rendimiento. Enseguida, la lactama (S)-**68** se trató con cantidades catalíticas de dióxido de rutenio (RuO<sub>2</sub>) e hipoclorito de sodio en agua generando el derivado de ácido carboxílico (S)-**69** con 65% de rendimiento. A continuación, el ácido (S)-**69** se hizo reaccionar con

<sup>38</sup> Gillard, M.; Fuks, B.; Michel, P.; Vertongen, P.; Massingham, R.; Chatelain, P. *Eur. J. Pharmacol.* **2003**, 478, 1-9.

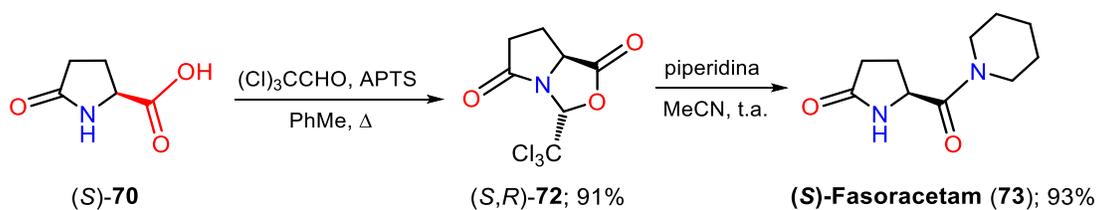
<sup>39</sup> Mylavarapu, R.; Anand, R. V.; Kondaiah, G. C. M.; Reddy, L. A.; Reddy G. S.; Roy, A.; Bhattacharya, A.; Mukkanti, K.; Bandichhor, R. *Green. Chem. Lett. Rev.* **2010**, 3, 225-230.

cloroformiato de etilo y el posterior tratamiento con amoniaco dio lugar a la (S)-Levetiracetam con un rendimiento químico del 65% (Esquema 17).



**Esquema 17.**

Adicionalmente, se encuentra el fármaco (S)-Fasoracetam **73** empleado en el tratamiento contra la demencia. Su mecanismo de acción se basa en estimular la actividad de la enzima adenilato ciclasa a través de la activación del grupo 1 mGluRa. Su alta efectividad le ha permitido completar los estudios correspondientes de ensayos clínicos fase III.<sup>40</sup> Una de la síntesis reportada<sup>41</sup> inicia al hacer reaccionar el (S)-ácido piroglutámico **70** con tricloroetanal en presencia del ácido *p*-toluensulfónico (APTS), proporcionando la oxazolidindiona (S,R)-**72** con un rendimiento del 91%. Finalmente, la adición de piperidina al compuesto (S,R)-**72** disuelto en acetonitrilo, generó el (S)-Fasoracetam **73** con un 93% de rendimiento (Esquema 18).

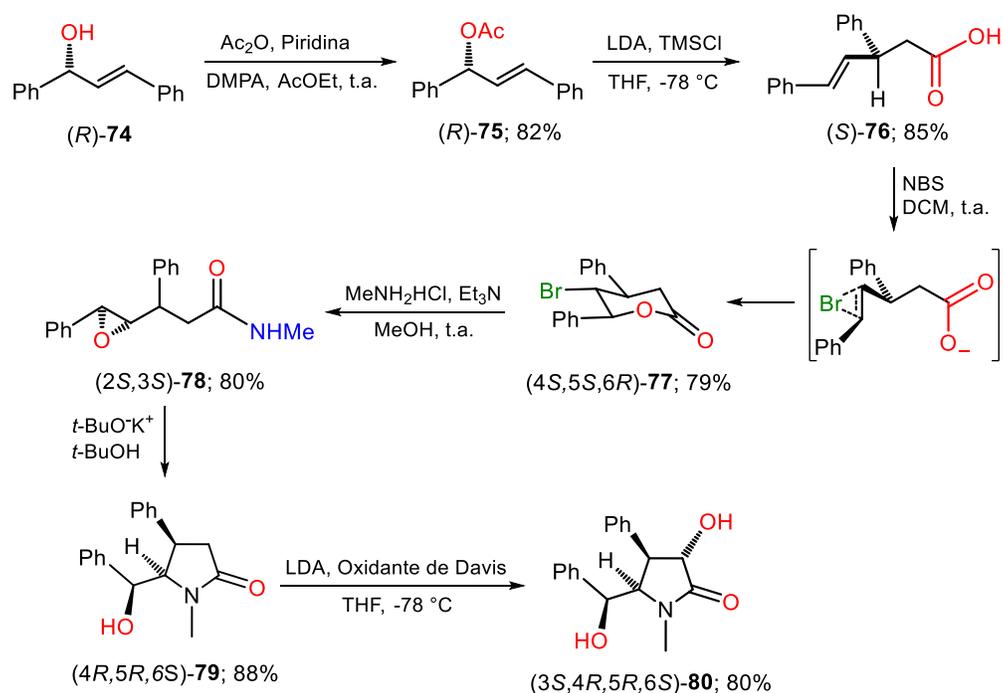


**Esquema 18.**

<sup>40</sup> Hakonarson, H. Methods of diagnosing and treating anxiety disorder. WO 2017/044503 Al. 16/03/2017.

<sup>41</sup> Amedjkouh, M.; Ahlberg, P. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, 13, 2229-2234.

Por otro lado, las  $\gamma$ -lactamas también están presentes en productos naturales, tal es el caso de la Clausemida **80**, aislada de la planta *Clausena lansium*. Estudios han demostrado que el compuesto **80** actúa como agonista del receptor ionotrópico AMPA<sup>42</sup> y se ha analizado como posible agente para tratamiento del Alzheimer. La síntesis de la lactama **80**<sup>43</sup> comienza al hacer reaccionar (*R*)-**74** en presencia de anhídrido acético, piridina y DMAP produciendo el compuesto *O*-acetilado (*R*)-**75**. En el siguiente paso, el éster (*R*)-**75** se trató bajo condiciones de transposición de Ireland-Claisen utilizando diisopropilamido de litio y clorotrimetilsilano generando el ácido carboxílico (*S*)-**76** con un 85% de rendimiento. A continuación, el ácido (*S*)-**76** se trató con *N*-Bromosuccinimida en diclorometano generando la lactona **77** con un rendimiento químico del 79%. La apertura de la lactona **77** en presencia de metilamina y trietilamina generó la amida **78** con un 80% de rendimiento. A continuación, el compuesto **78** disuelto en *tert*-butanol se hizo reaccionar con *tert*-butóxido de potasio proporcionando la  $\gamma$ -lactama **79** con un 88% de rendimiento. Finalmente, la lactama **79** se trató en condiciones de Davis generando la Clausenamida **79** con un 80% de rendimiento químico (Esquema 19).



**Esquema 19.**

<sup>42</sup> Szulc, B. R.; Hilton, S. T.; Ruiz, A. J. *Mol. Cell. Neurosci.* **2018**, *92*, 82-92.

<sup>43</sup> Liu, D.; Yu, X.; Huang, L. *Chin. J. Chem.* **2013**, *31*, 344-348.

### 3. Justificación

Las bajas concentraciones de GABA en el cerebro están asociadas a enfermedades o trastornos tales como: ansiedad,<sup>33</sup> depresión,<sup>44</sup> epilepsia,<sup>45</sup> Parkinson,<sup>46</sup> o Alzheimer.<sup>47</sup> Una terapia tradicional para aumentar la concentración de GABA en el cerebro es su aplicación directa, sin embargo su uso está limitado debido a su baja lipofilidad, y a su baja capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica (BHE).<sup>48</sup> Como ya se mencionó en la introducción, en estudios recientes se ha demostrado que al inhibir la enzima GABA-AT, se logra aumentar eficazmente la concentración de GABA en el cerebro.<sup>27,30,31</sup>

Por lo anterior, en el presente trabajo se desarrollará un proceso secuencial de descarboxilación radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos para la síntesis de lactamas disustituidas como potenciales inhibidores de la enzima GABA-AT.

---

<sup>44</sup> Kalueff, A. V.; Nutt, D. J. *Depress. Anxiety* **2007**, *24*, 495-517.

<sup>45</sup> Petroff, O. A. C.; Behar, K. L.; Mattson, R. H.; Rothman, D. L. *J. Neurochem.* **1996**, *67*, 2399-2404.

<sup>46</sup> Blaszczyk, J. W. *Front. Neurosci.* **2016**, *10*, 1-8.

<sup>47</sup> Bai, X.; Edden, R. A. E.; Gao, F.; Wang, G.; Wu, L.; Zhao, B.; Wang, M.; Chan, Q.; Chen, W.; Barker, P. B. *J. Magn. Reson. Imaging.* **2015**, *41*, 1326-1331.

<sup>48</sup> Dichi, E.; Sghaier, M.; Fraisse, B.; Bonhomme, F. *Chem. Pharm. Bull.* **2011**, *59*, 703-709.

## 4. Objetivos

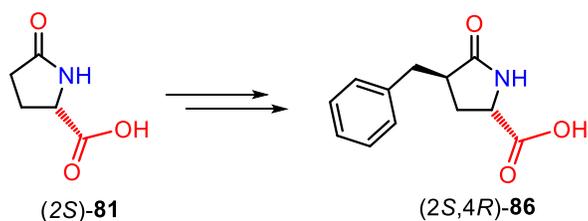
### 4.1 Objetivo General

Diseñar y desarrollar un proceso secuencial para la síntesis de una nueva serie de  $\gamma$ -lactamas  $\alpha,\gamma$ -disustituidas como potenciales inhibidores de la enzima GABA-AT.

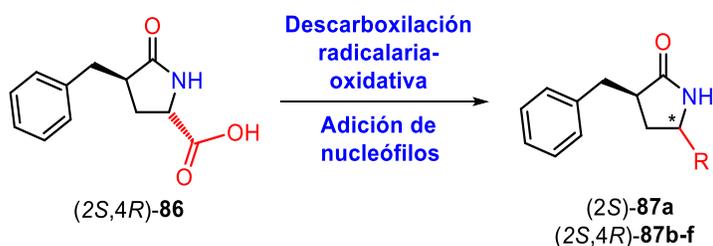
### 4.2. Objetivos Específicos

4.2.3. Diseñar una nueva serie de lactamas  $\alpha,\gamma$ -disustituidas mediante estudios *in silico* (Docking) utilizando el programa AutoDock Vina.

4.2.2. Llevar a cabo la preparación del derivado del ácido piroglutámico (2S,4R)-**86**, precursor clave para el estudio del proceso secuencial.



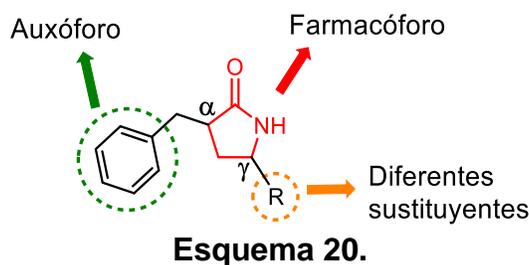
4.2.3. Desarrollar un proceso secuencial de descarboxilación radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos para la obtención de las lactamas  $\alpha,\gamma$ -disustituidas (2S)-**87a** y (2S,4R)-**87b-f**.



## 5. Resultados y Discusión

### 5.1 Diseño molecular.

Las  $\gamma$ -lactamas  $\alpha,\gamma$ -sustituidas (2S)-**87a** y (2S,4R)-**87b-f** se diseñaron tomando como base el esqueleto de la lactama (farmacóforo). Como se observa en el Esquema 20, en la posición  $\alpha$  de la  $\gamma$ -lactama se usará un grupo bencilo como auxóforo, que provee de mayor lipofilidad. Además, se sabe que, los grupos bencilo ayudan a anclarse de mejor manera por interacciones de tipo  $\pi$ - $\pi$  (sándwich, T-shaped y desplazamiento paralelo)<sup>49</sup> con aminoácidos como fenilalanina y tirosina presentes en las proteínas de los receptores. Finalmente, los sustituyentes en la posición  $\gamma$  se eligieron con base a los resultados de probabilidad de actividad obtenidos a través del programa computacional “*Prediction of Activity Spectra for Substances*” (PASS online).<sup>50</sup>

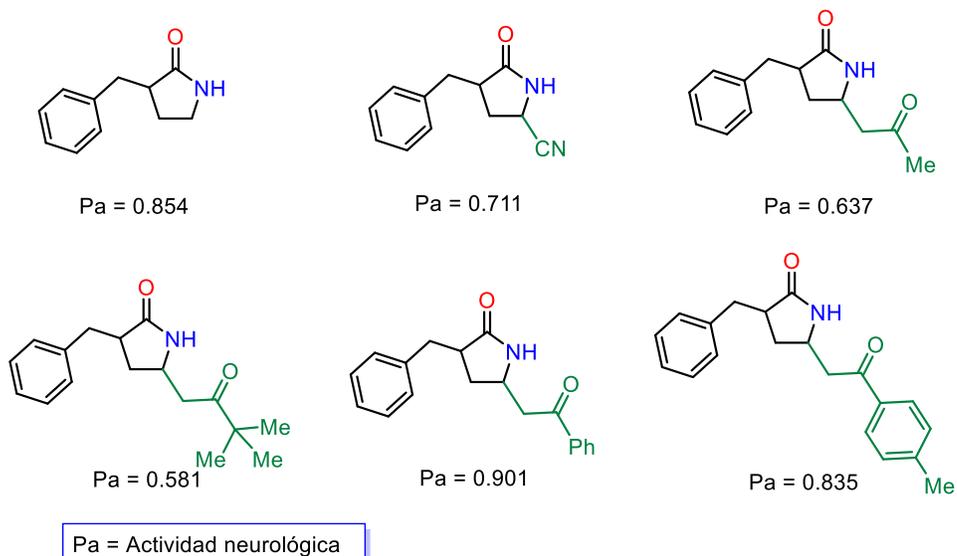


El programa PASS online, predice el espectro de actividad biológica de un compuesto por comparación con las estructuras y subestructuras de más de 250,000 sustancias biológicamente activas, con una exactitud igual o superior al 95%.<sup>51</sup> El análisis de los compuestos objetivo muestran una predicción alentadora como moléculas con actividad neurológica que se detallan en el Esquema 21.

<sup>49</sup> Sinnokrot, M. O.; Sherrill, C. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7690-7697.

<sup>50</sup> Filimonov D. A.; Lagunin A. A.; Glorizova T. A.; Rudik A. V.; Druzhilovskii D. S.; Pogodin P. V.; Poroikov V. V. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **2011**, *50*, 444-457.

<sup>51</sup> (a) Stepanchikova, A. V.; Lagunin, A. A.; Filimonov, D. A.; Poroikov, V. V. *Curr. Med. Chem.* **2003**, *10*, 225-233; (b) Poroikov, V. V.; Filimonov, D. A. *J. Comput. Aided Mol. Des.* **2002**, *16*, 819-824.



### Esquema 21.

Adicionalmente, se procedió a corroborar los valores fisicoquímicos de las moléculas con la finalidad de predecir qué tan conveniente resulta ser un compuesto como probable molécula bioactiva, Lesson y col.,<sup>52</sup> demostraron que los mejores parámetros fisicoquímicos para fármacos que actúan en el SNC son los siguientes:

Peso molecular = 310 g/mol, LogP = 2.50, donadores de enlaces de hidrógeno = 1 y aceptores de enlaces de hidrógeno = 4.

Los valores fisicoquímicos para las lactamas (Tabla 1) se obtuvieron mediante el programa Molinspiration. Los resultados de la predicción son muy interesantes debido a que se cumplen los parámetros propuestos para fármacos que actúan a nivel del SNC, mostrando valores más aptos que los obtenidos para Vigabatrina. Además, los compuestos propuestos (2*S*)-**87a** y (2*S*,4*R*)-**87b-f** muestran una probabilidad de atravesar la barrera hematoencefálica (BHE) superior a la del fármaco de referencia.

<sup>52</sup> Leeson, P. D.; Davis, A. M. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6338-6348.

**Tabla 1.** Parámetros de Lipinski calculados.

Criterios de Lipinski Molécula	Peso molecular (g/mol)	LogP	LogP sin bencilo	Donador de enlace H	Aceptor de enlace H	Probabilidad de atravesar BHE
Vigabatrina	129.16	-0.39		3	3	93.82%
<b>87a</b>	171.82	1.73	-0.18	1	2	99.55%
<b>87b</b>	200.24	2.40	-0.41	1	3	99.30%
<b>87c</b>	231.29	2.43	-0.38	1	3	99.45%
<b>87d</b>	273.38	3.75	0.95	1	3	98.02%
<b>87e</b>	293.37	4.03	1.23	1	3	99.57%
<b>87f</b>	307.39	4.48	1.68	1	3	99.24%

## 5.2 Procedimiento general para los acoplamientos moleculares (Docking).

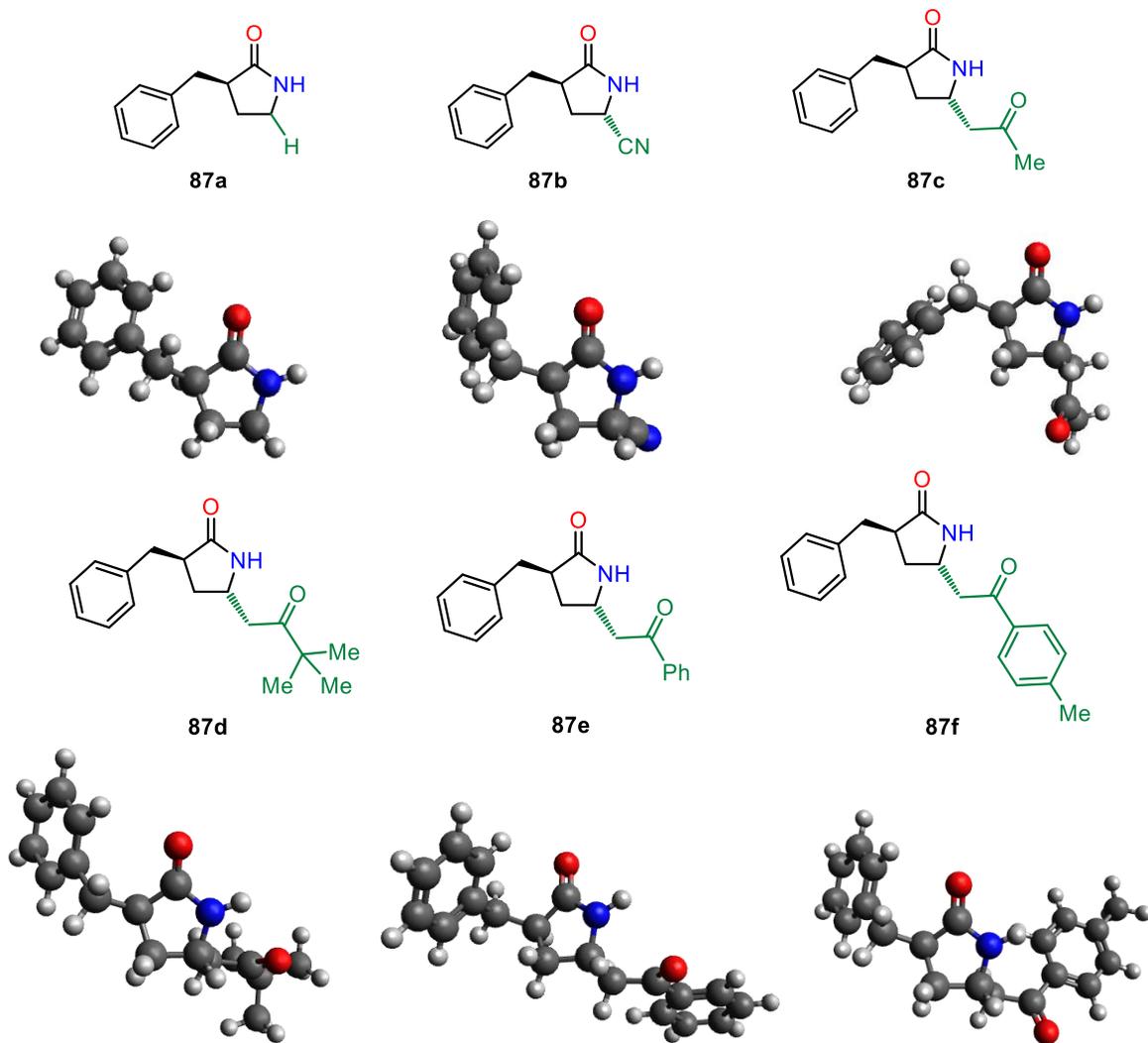
En los últimos años el acoplamiento molecular (docking) ha sido una herramienta de gran utilidad en el diseño racional de candidatos a fármacos. En general, los programas computacionales de docking se basan en el acoplamiento ligando-receptor y proporcionan parámetros para determinar la interacción entre ambos.<sup>53</sup>

Existe una gran variedad de programas con la función de realizar acoplamiento molecular, entre ellos, destaca el software AutoDock Vina, un programa de acceso libre que ha demostrado ser altamente eficiente en el análisis de ligandos pequeños y de mediano tamaño.<sup>54</sup>

En este contexto, y con la finalidad de proponer ligandos con capacidad de funcionar como inhibidores de la enzima GABA-AT. En primer lugar, se obtuvo la estructura de la enzima GABA-AT a través de la base de datos conocida como Protein Data Bank (PDB), el receptor marcado como 1OHW (*Sus scrofa*) se encuentra en complejo con el ligando Vigabatrina. Para observar los archivos descargados del receptor fue utilizado el programa Chimera. Al mismo tiempo, se utilizó el programa Avogadro con la finalidad de diseñar los ligandos *cis*-**87a-f** y encontrar el conformero más estable y por lo tanto el de menor energía (Esquema 22).

<sup>53</sup> Pagadala, N. S.; Syed, K.; Tuszynski, J. *Biophys. Rev.* **2017**, 9, 91-102.

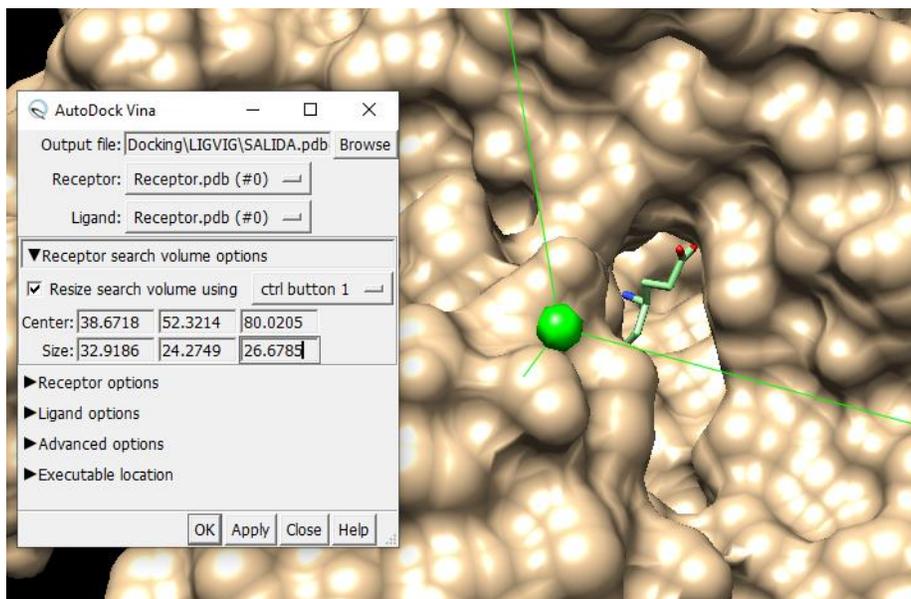
<sup>54</sup> Chang, M. W.; Ayeeni, C.; Breuer, S.; Torbett. *PLoS One.* **2010**, 5, 1-4.



**Esquema 22.**

En la siguiente etapa, se procedió a abrir el archivo <sup>1</sup>OHW con ayuda del visualizador Chimera, en dicho archivo se encuentra unido el complejo ligando-receptor; por lo tanto, se procedió a crear dos archivos con formato .pdb, el primero de ellos, marcado como receptor (retirando la Vigabatrina) y el segundo de ellos, quitando el receptor y quedándonos solamente con el ligando (Vigabatrina).

Conociendo el sitio de unión entre el receptor y el ligando (Esquema 23), fue posible llevar a cabo el acoplamiento molecular dirigido utilizando el software AutoDock Vina a través de Chimera, las coordenadas del docking fueron las siguientes:



**Esquema 23.**

Los 1,000 acoplamientos del ligando y el receptor se llevaron a cabo utilizando la terminal CygWin 64. Con ayuda de la herramienta *vi* se abrió el archivo nombrado como “SALIDA.Conf” para llevar a cabo las correspondientes modificaciones (Esquema 24). Enseguida, se ejecutó la instrucción para correr los 1,000 acoplamientos de la siguiente manera:

```
a=1; while [ $a -le 1000 ]; do sed 's/numero/"$a/' SALIDA.Conf > archivo.inp;
/cygdrive/c/Program Files/(x86)/The Scripps Research Institute/Vina/vina.exe --config
archivo.inp; a=$(( $a+1 )); done
```

```
receptor=SALIDA.receptor.pdbqt
ligand=SALIDA.ligand.pdbqt

center_x = 38.67
center_y = 52.32
center_z = 80.02
size_x = 32.92
size_y = 24.27
size_z = 26.68

out= salidatesismolecula1.docked_numero.pdbqt

energy_range = 3
exhaustiveness = 8
num_modes = 1
```

**Esquema 24.**

A continuación, se procedió a crear un script para identificar las líneas que contenían “HETATOM/ATOM” y una vez realizado se llevó a cabo la conversión de los archivos

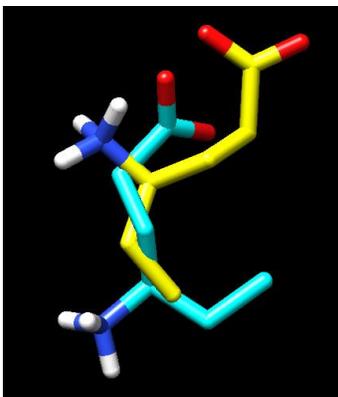
con terminación “pdbqt” a archivos con terminación “pdb” empleando el siguiente comando:

```
#!/bin/bash a=1 while [ $a -le 1000] egrep “HETATM|ATOM”  
salidatesismolecula1.docked_”$a”.pdbqt > salidatesismolecula1.docked_”$a”.pdb a=$((  
$a+1 ))
```

Una vez obtenidos los archivos con terminación “pdb”, se procedió a construir un comando con el objetivo de encontrar los valores de RMSD, el RMSD es un índice de distancia media entre la proteína y el ligando.

```
#!/bin/bash i=1 while [ $i -le 1000] paste -d” “ salidatesismolecula1.docked_1.pdb  
salidatesismolecula1.docked_”$i”.pdb | tr -d “\n” | awk ‘ {s+=$(6-$18)^2 + ($7-$19)^2 + ($8-  
$20)^2 END {print “salida_1 vs ‘$i’ “ sqrt (s/NR)}’ i=$(( $i+1 ))
```

Con los valores de RMSD se procedió a obtener la desviación estándar de las 1,000 salidas de Vigabatrina, obteniendo como resultado  $2.9923 \pm 1.0922$ . Finalmente, para llevar a cabo la validación del protocolo de docking, se procedió a correr el RMSD entre el ligando (amarillo) extraído de <sup>1</sup>OHW y las 1,000 repeticiones corridas con la Vigabatrina construida (azul), nuevamente se procedió a calcular el promedio y la desviación estándar obteniéndose el valor de  $1.2965 \pm 0.7592$ .



Esquema 25.

### 5.2.1 Resultados y discusión del docking molecular.

A continuación, siguiendo el mismo procedimiento previamente reportado se continuó con el análisis del resto de los ligandos, obteniendo los siguientes resultados.

Conociendo que el promedio en RMSD de las repeticiones de Vigabatrina es de 1, es posible confirmar que el docking es válido, por lo tanto, los resultados obtenidos para los ligandos **87a-f** también lo son. Los bajos promedios en los RMSD y en consecuencia mayores energías de unión que la Vigabatrina, permiten aseverar que los ligandos **87a-e** podrían ser potenciales inhibidores de la enzima GABA-AT. En contraste, el compuesto **87f** presenta un alto valor de RMSD (3.9237) por lo que podría descartarse como posible inhibidor de la enzima (Tabla 2).

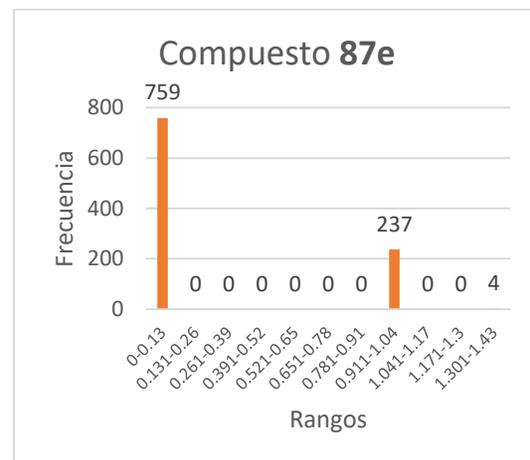
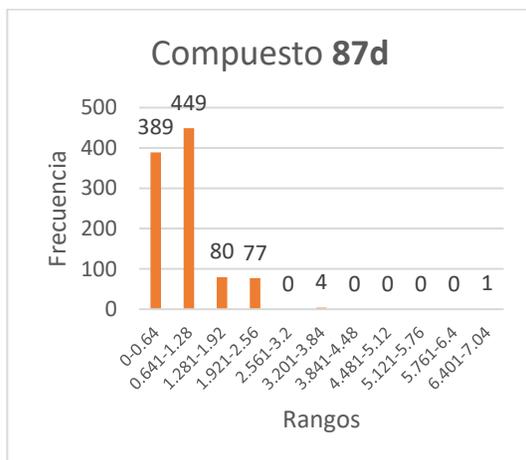
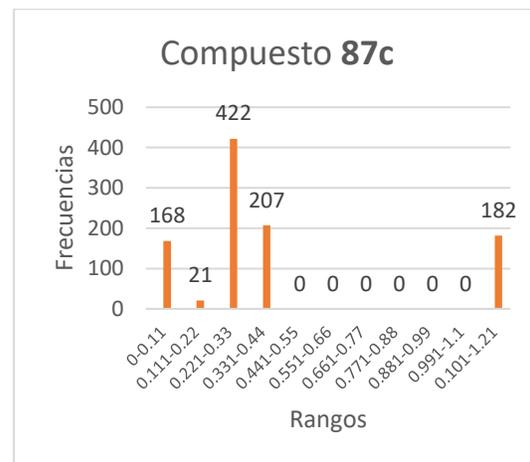
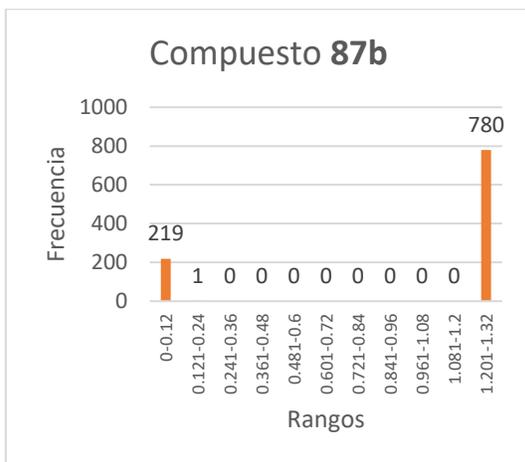
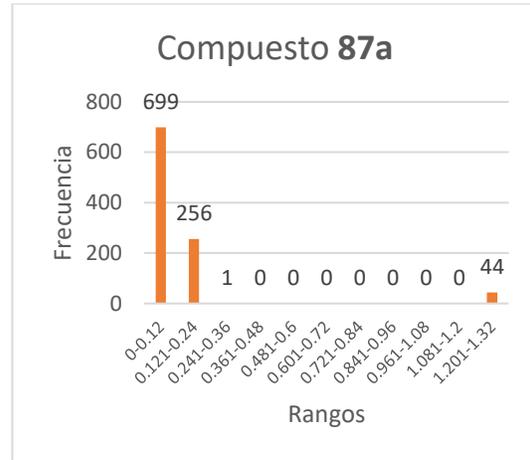
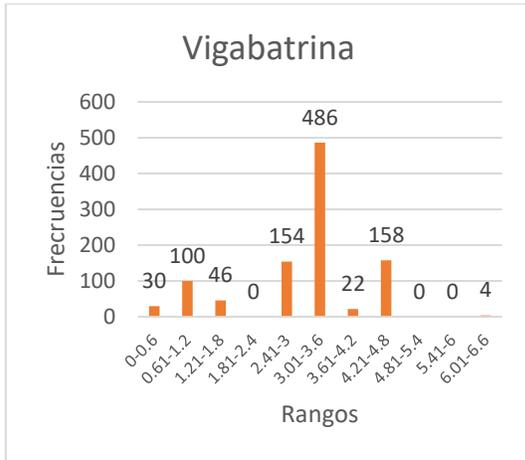
**Tabla 2.** Resultados obtenidos para los ligandos **87a-f** y Vigabatrina.

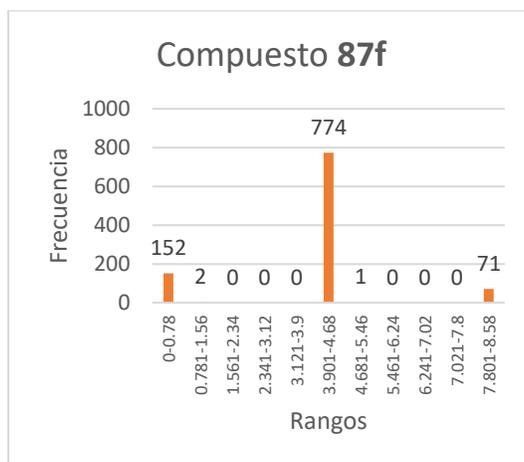
Compuesto	Promedio RMSD	Desviación estándar	Resultado
<b>Vigabatrina</b>	2.9923	1.0922	(2.9923±1.0922)
<b>87a</b>	0.1117	0.262	(0.1117±0.262)
<b>87b</b>	0.9504	0.4858	(0.9504±0.4858)
<b>87c</b>	0.4145	0.3721	(0.4145±0.3721)
<b>87d</b>	0.783	0.6858	(0.783±0.6858)
<b>87e</b>	0.2715	0.4199	(0.2715±0.4199)
<b>87f</b>	3.9237	1.9234	(3.9237±1.9234)

Enseguida, se obtuvieron los histogramas de frecuencias de los valores de RMSD de los ligandos para los 1,000 acoplamiento, dichos diagramas de población permitieron observar que las posiciones que adoptan los ligandos **87a-f** dentro del receptor son muy similares entre si.<sup>55</sup> Con lo anterior, es posible determinar que en general los ligandos **87a-f**, poseen limitadas formas de acomodarse en la proteína, es decir que existen pocos enlaces rotables en los ligandos haciéndolos compuestos más selectivos. Un ejemplo de esto, es el compuesto **87a** el cual agrupa 699 valores de RMSD en un solo rango, es decir; que existen 699 acoplamiento con una distribución en el espacio sumamente similar, en contraste, la Vigabatrina tiene una gran variedad de valores de RMSD agrupado en diferentes

<sup>55</sup> Carugo, O. J. *Appl. Crystallogr.* **2002**, 1,125-128

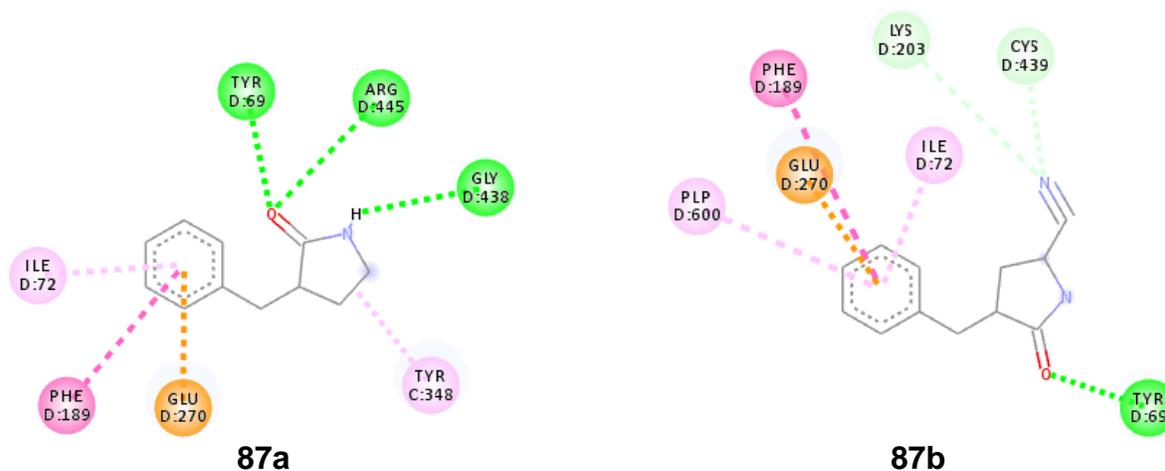
rangos, mostrando una diversidad de formas de acomodarse dentro del receptor, los gráficos se muestran a continuación (Esquema 26).

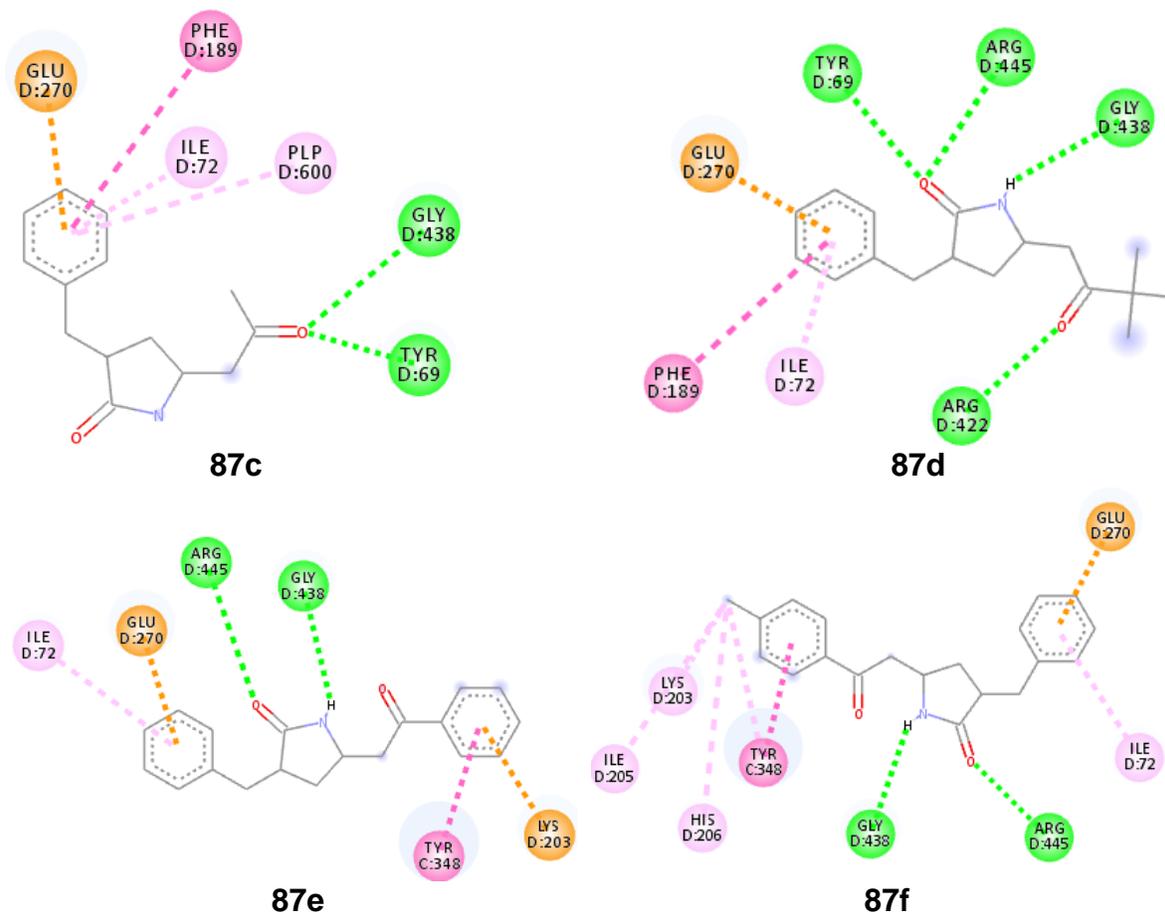




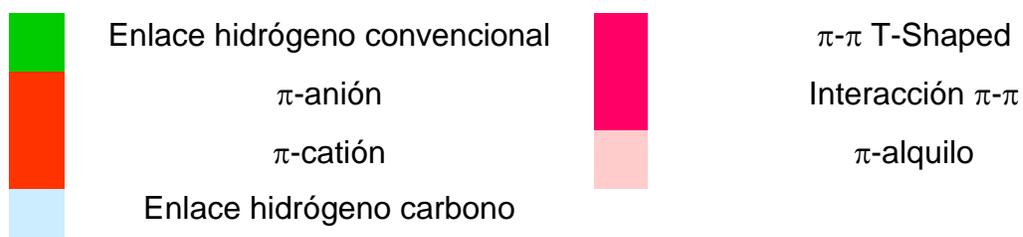
**Esquema 26.**

A continuación, se presentan modelos en 2D de las interacciones existentes entre los ligandos y el receptor. Los modelos nos permiten observar las interacciones que existen entre los átomos del ligando y los aminoácidos presentes en las proteínas del receptor. Dichos gráficos permitieron saber cuáles son las interacciones más relevantes, entre ellos, destacan los aminoácidos como fenilalanina con interacciones  $\pi$ - $\pi$ , el aminoácido glutamato con interacciones de tipo  $\pi$ -ión y los aminoácidos tirosina, glicina y arginina por interacciones de tipo enlace hidrógeno.





Interacciones:

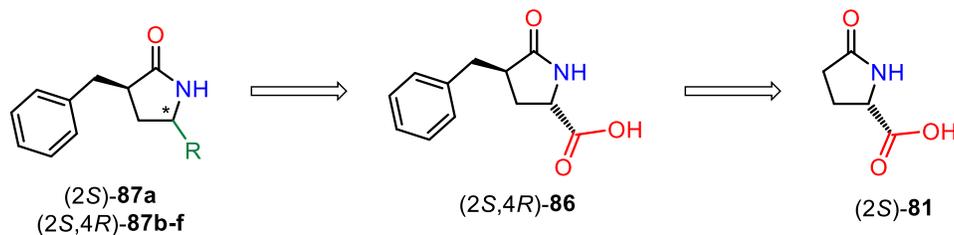


La buena afinidad de los ligandos **87a-e** podrían deberse a que los compuestos son lo suficientemente pequeños para acomodarse de la forma más correcta dentro de la enzima, tal es el caso, de los compuestos **87a-d**. Asimismo, la buena afinidad del compuesto **87e** podría ser atribuido a la presencia de los grupos aromáticos que le confieren a la molécula una mayor energía de unión por interacciones del tipo lipofílicas tales como interacciones de tipo  $\pi$ - $\pi$  (sándwich, T-shaped y

desplazamiento paralelo)<sup>56</sup> e interacciones del tipo  $\pi$ -ion con aminoácidos tales como fenilalanina, glutamina e isoleucina entre otros. En contraste, la molécula **87f** al ser la de mayor volumen, no es capaz de acercarse de forma eficiente al receptor generando valores de RMSD altos a pesar de poseer un nucleófilo lipofílico, conociendo al alto potencial de las lactamas **87a-d** como potenciales inhibidores de la enzima GABA-AT se decidió llevar a cabo su síntesis.

### 5.3 Síntesis de las lactamas 87a-f.

Para llevar a cabo la síntesis de los  $\gamma$ -lactamas  $\alpha,\gamma$ -sustituidas (2S)-**87a** y (2S,4R)-**87b-f**, se planteó el siguiente análisis retrosintético. Las  $\gamma$ -lactamas **87a-f** se podrían obtener a partir del proceso secuencial de descarboxilación radicalaria-oxidativa adición de nucleófilos a partir del ácido (2S,4R)-**86**, mismo que se generaría por reacciones de protección y desprotección de los grupos amino y ácido del ácido piroglutámico (2S)-**81** comercialmente disponible (Esquema 27).



Esquema 27.

#### 5.3.1 Síntesis del ácido carboxílico (2S,4R)-86.

De acuerdo con el análisis retrosintético, la síntesis comenzó al hacer reaccionar el ácido piroglutámico (2S)-**81** con cloruro de tionilo ( $\text{SOCl}_2$ ) en metanol, la mezcla se agitó durante 24 horas bajo atmósfera de nitrógeno<sup>57</sup> generando el éster metílico (2S)-**82** con un 97% de rendimiento químico (Esquema 28). A continuación, y con base a la metodología descrita por Brenneman y col.<sup>58</sup> la lactama (2S)-**82** disuelta

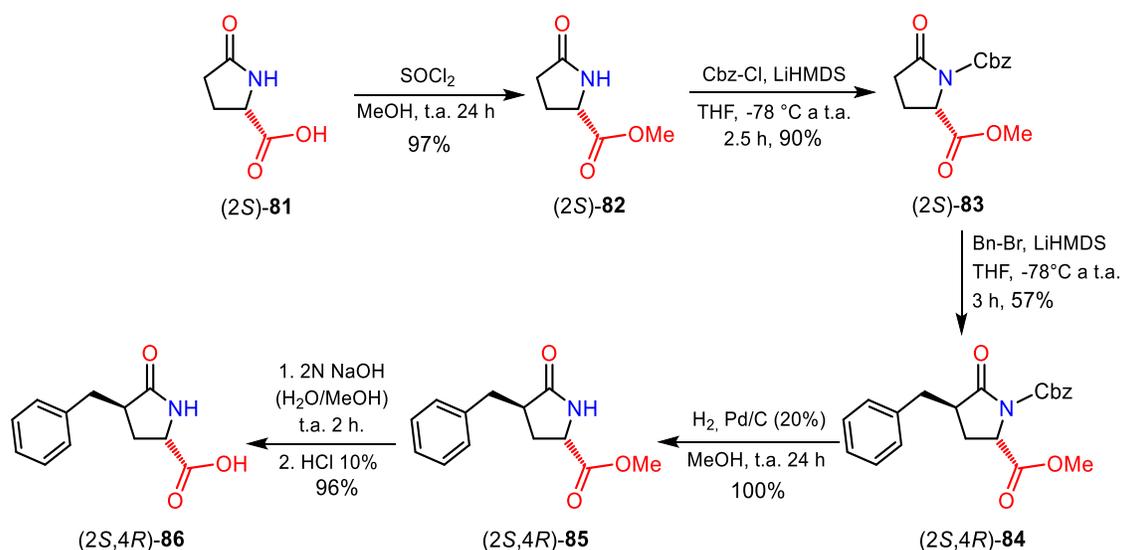
<sup>56</sup> Sinnokrot, M. O.; Sherrill, C. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7690-7697.

<sup>57</sup> Buckman, B.; Nicholas, J. B.; Serebryany, V.; Selwert, S. *Preparation of bisarylenes, bis fused heterocyclines and carbocyclines end-capped with amino acid and peptide derivatives as inhibitors of hepatitis C, virus replication for treating hepatitis C infection and liver fibrosis*. U.S. Patent 2011-61454438. Mar 18, 2011.

<sup>58</sup> Brenneman, J. B.; Machauer, R.; Martin, S. F. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7301-7314.

en THF anhidro a  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  se trató con bis (trimetilsilil) amiduro de litio (LiHDMS) y cloroformiato de bencilo (Cbz-Cl), proporcionando la lactama *N*-Cbz protegida (2*S*)-**83** con un rendimiento del 90%. Después de purificar la lactama *N*-Cbz protegida (2*S*)-**83**, se trató con LiHDMS y bromuro de bencilo (Bn-Br) en THF anhidro a  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 3 horas dando lugar a la lactama  $\alpha$ -bencilada (2*S*,4*R*)-**84**<sup>59</sup> con un rendimiento del 57%. En estudios previos, se determinó que cuando se utilizaba bromuro de bencilo como electrófilo se obtenía como único producto la adición tipo *trans*, sin embargo, fue hasta la obtención del compuesto (2*S*,4*R*)-**86** que fue posible corroborar la estereoquímica de la adición al obtener los valores de rotación óptica idénticos a los previamente reportados por Baldwin y col.<sup>60</sup>

Enseguida, la lactama (2*S*,4*R*)-**84** disuelta en metanol se hizo reaccionar en condiciones de hidrogenólisis catalítica usando 20% de Pd/C bajo atmósfera de hidrógeno, que tras agitar a temperatura ambiente durante 24 horas proporcionó el producto de desprotección (2*S*,4*R*)-**85** con un 100% de rendimiento, que sin purificación adicional se trató con una disolución 2 N de NaOH en una mezcla H<sub>2</sub>O/MeOH a  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 2 horas, el residuo se acidificó con una solución de HCl al 10%, generando el ácido (2*S*,4*R*)-**86** con un rendimiento del 96% (Esquema 28).



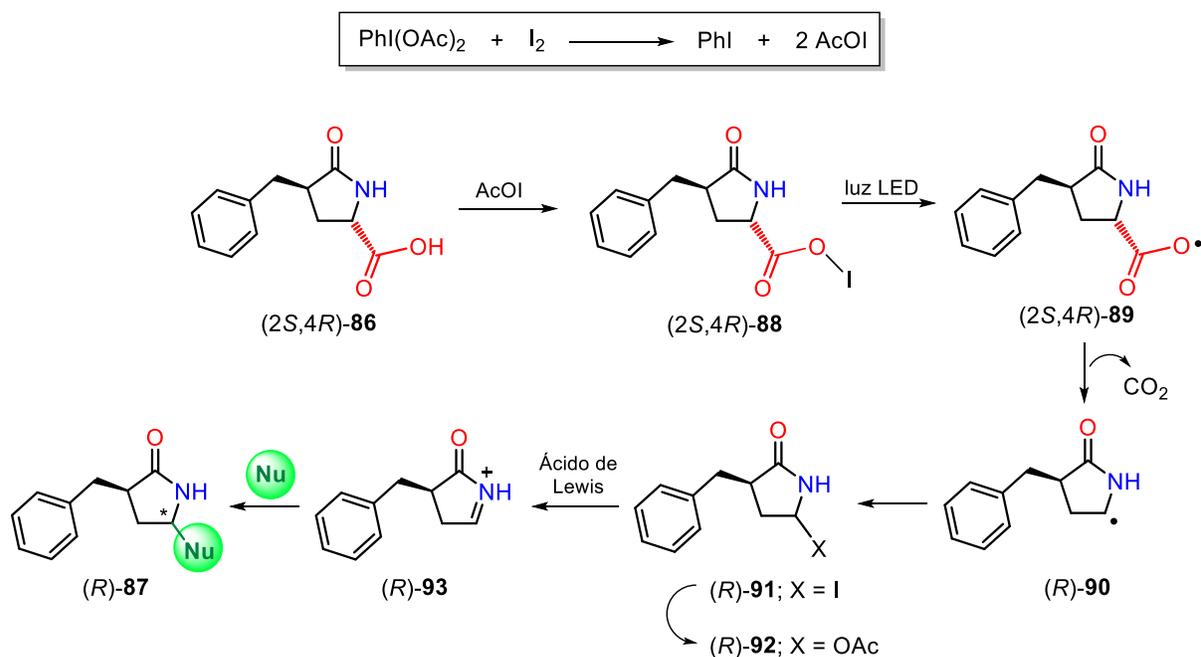
**Esquema 28.**

<sup>59</sup> Dikshit, D. K.; Panday, S. K. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1920-1924.

<sup>60</sup> Baldwin, J. E.; Miranda, T.; Moloney, M.; Hokelek, T. *Tetrahedron* **1989**, *23*, 7459-7468.

### 5.3.2. Reacción de descarboxilación radicalaria–adición de nucleófilos.

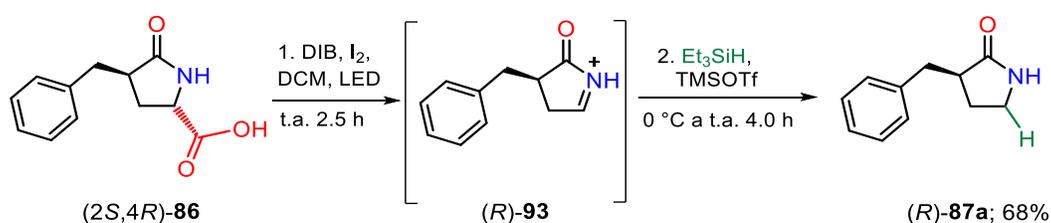
Con base a los trabajos previos descritos por Boto y col.<sup>61</sup> se estudió el proceso secuencial de descarboxilación radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos. El proceso inicia al hacer reaccionar DIB y yodo elemental formando hipoyodito de acetilo que reacciona con el enlace O-H del ácido carboxílico (2*S*,4*R*)-**86** para convertirlo en el hipoyodito de alquilo (2*S*,4*R*)-**88**, bajo irradiación de luz LED se genera el correspondiente O-radical que por descarboxilación radicalaria da lugar al C-radical (*R*)-**90**, mismo que reacciona con yodo radicales para proporcionar a la  $\alpha$ -yodamida (*R*)-**91** que por extrusión de yodo en forma de yoduro proporcionaría al ion aciliminio (*R*)-**93** que puede ser atacado por iones acetatos del medio generando el *N,O*-acetal (*R*)-**92**. En una segunda etapa, la presencia del ácido de Lewis regenera al ion aciliminio (*R*)-**93** que puede ser atrapado por distintos nucleófilos para dar lugar a las correspondientes lactamas (*R*)-**87** (Esquema 29).



Esquema 29.

<sup>61</sup> (a) Saavedra, C. J.; Carro, C.; Hernández, D.; Boto, A. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 8392-8410; (b) Hernández, D.; Boto, A.; Guzmán, D.; Álvarez, E. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 7736-7742; (c) Batchu, V. R.; Romero-Estudillo, I.; Boto, A.; Miguélez, J. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 9547-9556; (d) Boto, A.; Romero-Estudillo, I. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3426-3429.

En primer lugar, se estudió la preparación de la lactama (*R*)-**87a**. Para ello, se analizó la influencia de los equivalentes de DIB y I<sub>2</sub> presentes en la reacción de descarboxilación, en estos ensayos (Tabla 3) se encontró que la reacción ocurría de manera eficiente cuando se empleaban 2 equivalentes de DIB y 1 equivalente de I<sub>2</sub> (ensayo 3) proporcionando un rendimiento químico del 68%. Para esta reacción, el ácido (*2S,4R*)-**86** se disolvió en DCM anhidro y se hizo reaccionar con una mezcla de DIB y I<sub>2</sub>. La mezcla de reacción se dejó reaccionar por 2.5 horas bajo irradiación de luz LED. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se enfrió a 0 °C y se adicionó lentamente hidruro de trietilsilano (Et<sub>3</sub>SiH) y trifluorometanosulfonato de trimetilsililo (TMSOTf), posteriormente, la mezcla de reacción se dejó alcanzar temperatura ambiente durante 4 horas produciendo la lactama (*R*)-**87a** con un 68% de rendimiento químico (Esquema 30).



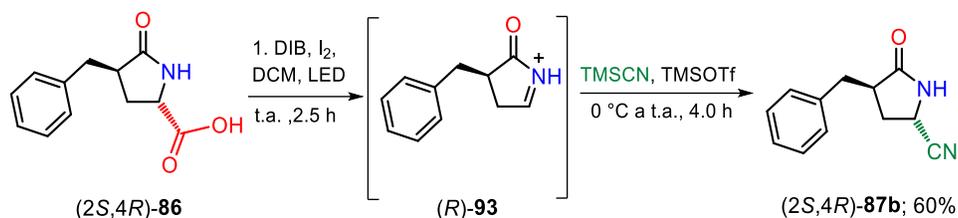
**Esquema 30.**

**Tabla 3.** Ensayos para la obtención de (*R*)-**87a**

Ensayo	DIB	I <sub>2</sub>	Rend.
1	1.5	0.5	42%
2	2.0	0.5	47%
3	2.0	1.0	68%

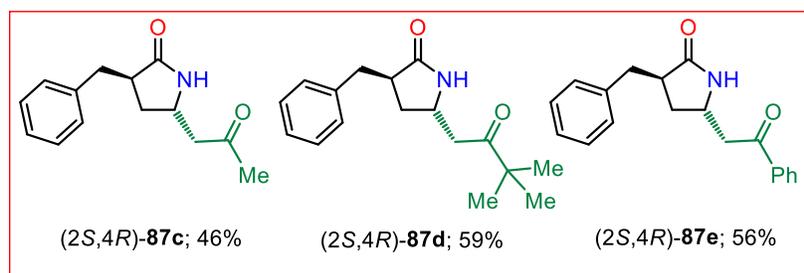
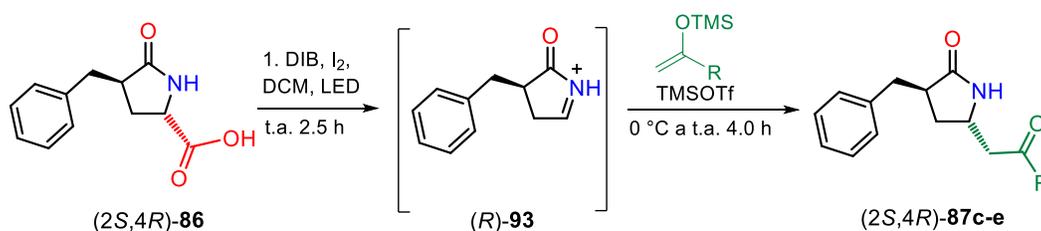
A continuación, se estudió el uso de cianotrimetilsilano (TMSCN) como nucleófilo. En este contexto, usando las condiciones de descarboxilación radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilo descritas anteriormente, el ácido (*2S,4R*)-**86** disuelto en diclorometano anhidro se trató con una mezcla de DIB/yodo bajo irradiación de luz LED durante 2.5 horas. Transcurrido el tiempo, la mezcla se enfrió a 0 °C y se le añadió lentamente TMSCN seguido por el tratamiento con TMSOTf, la mezcla de

reacción se dejó agitando hasta alcanzar temperatura ambiente durante 4.0 horas, proporcionando la lactama  $\alpha,\gamma$ -sustituida (2*S*,4*R*)-**87b** con un 60% de rendimiento químico (Esquema 31).



**Esquema 31.**

Por otro lado, se decidió estudiar derivados de silil enol éteres como nucleófilos. Bajo las condiciones de escisión radicalaria-oxidativa descritas anteriormente se generó el intermediario ion iminio (R)-**93**, que tras adicionar el 2-(trimetilsililo)-propeno, terc-butil-trimetilsiloxieteno y 1-fenil-1-trimetilsililoetileno se lograron obtener los correspondientes productos de descarboxilación oxidativa-adición (2*S*,4*R*)-**87c-e** con rendimientos del 46, 59 y 56% respectivamente (Esquema 32).



**Esquema 32.**

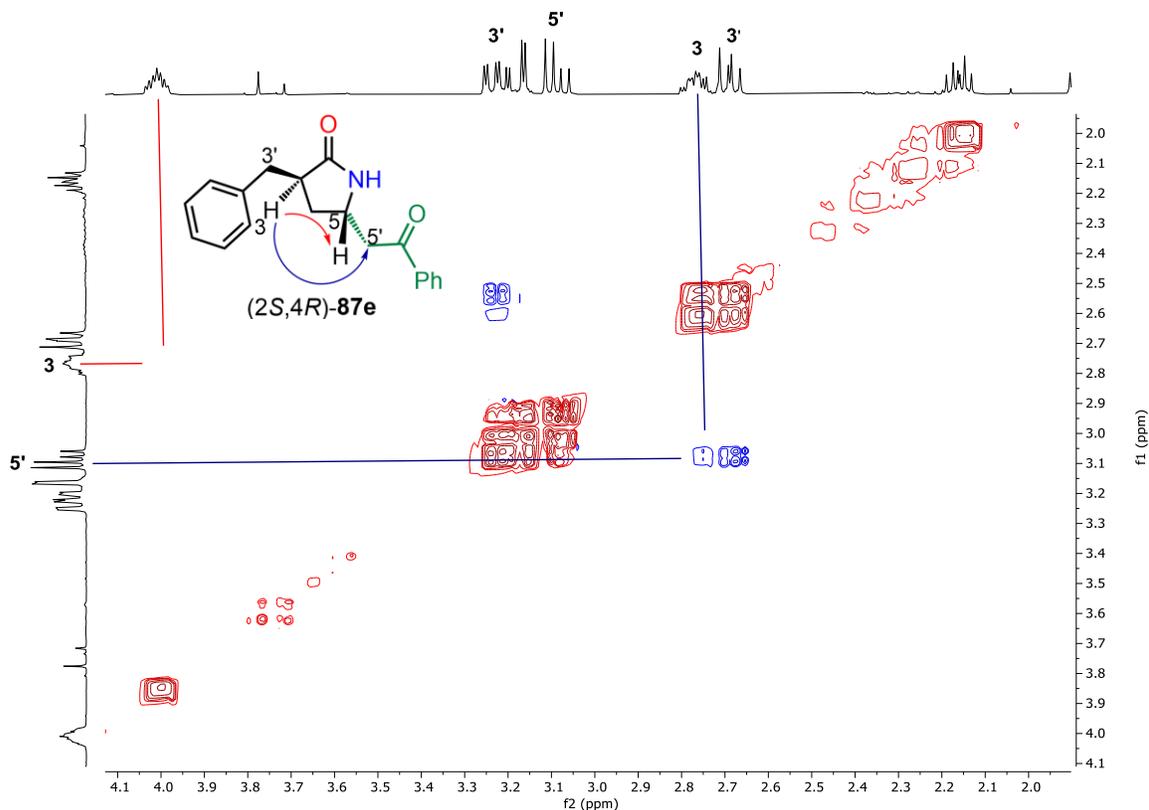
En la transformación de (2*S*,4*R*)-**86**  $\rightarrow$  (2*S*,4*R*)-**87c** al utilizar 5 equivalentes del nucleófilo se logró aislar el producto (2*S*,4*R*)-**87c** con un 28% de rendimiento, al usar 7 equivalentes del 2-(trimetilsililo)-propeno se obtuvo el producto deseado con un 46% de rendimiento. Un comportamiento similar se observó en la síntesis de (2*S*,4*R*)-**87d**, al usar 5 equivalentes de terc-butil-trimetilsiloxieteno como nucleófilo

se obtuvo la lactama  $\alpha,\gamma$ -sustituida (2*S*,4*R*)-**87d** en 41% y al aumentar a 7 equivalentes el rendimiento se elevó a un 59% (Tabla 4).

**Tabla 4.** Rendimientos obtenidos para los compuesto **87c,d y f**.

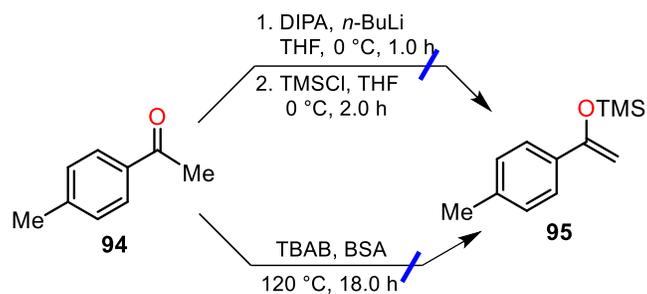
Equivalentes \ Compuesto	5	7
<b>87c</b>	28%	46%
<b>87d</b>	41%	59%
<b>87f</b>	46%	54%

Con la finalidad de conocer la estereoquímica del producto de descarboxilación radicalaria-adición de nucleófilos, se procedió a llevar a cabo un experimento NOESY (Esquema 42) del compuesto (2*S*,4*R*)-**87e**. En dicho experimento, es posible observar una correlación espacial entre los hidrógenos 3-H ( $\delta_H$  2.76) y 5'-H<sub>2</sub> ( $\delta_H$  3.09/3.17) (azul), sin embargo, la correlación entre los hidrógenos 3 y 5 no se encuentra presente (rojo), por lo que se puede inferir que ambos hidrógenos se encuentran en posición *trans* (Esquema 33).



**Esquema 33.**

Siguiendo con los objetivos planteados en el proyecto, se estudió la preparación del 1-*p*-tolil-1-trimetilsilioxietileno **95**. En primer lugar, una solución de la 4-metil acetofenona **94** en THF anhidro a 0 °C se trató con diisopropilamina y *N*-butil litio. A continuación, la mezcla se trató con clorotrimetilsilano<sup>62</sup> y después de agitar durante 2 horas, se observó por cromatografía en capa fina (CCP) una mezcla compleja de productos. Con base en los resultados anteriores, se decidió cambiar la estrategia para su preparación, siguiendo la metodología descrita por Mioskowski y col.<sup>63</sup> (Esquema 34), la cetona **94** se trató con bromuro de tetrabutilamonio y bis(trimetilsilil) acetamida, tras agitar a 120 °C durante 4 horas, se observó por CCP la conversión parcial de la cetona al compuesto **95**. La reacción se continuó agitando otras 14 horas, sin embargo, se observó la regeneración de la cetona **94** (Esquema 34).



**Esquema 34.**

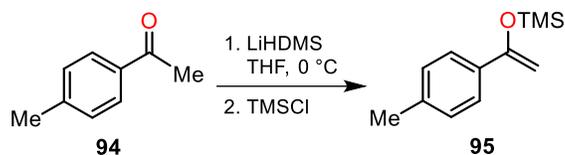
Adicionalmente, se decidió probar las condiciones descritas por Gong y col.,<sup>64</sup> para la preparación de sililenol éteres. Así, la 4-metil acetofenona **94** disuelta en THF anhidro a 0 °C se trató con 1.2 equivalentes de LiHDMS, después de 20 minutos se añadió clorotrimetilsilano y se continuó agitando durante 2 horas observando por CCP la transformación del 50% de la cetona (Experimento 1, Tabla 3). Con base en estos resultados, se decidió variar los equivalentes de LiHDMS y el tiempo de reacción (Experimento 2-4), observando por CCP que al llevar a cabo la reacción con 3.0 equivalentes de LiHMDS durante 30 minutos y la subsecuente adición de TMSCl, el compuesto **95** se transformó completamente en el compuesto **97** (Experimento 4, Tabla 5).

<sup>62</sup> Jia, K.; Zhang, F.; Huang, H.; Chen, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 1514-1517.

<sup>63</sup> Smietana, M.; Mioskowski, C. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1037-1039.

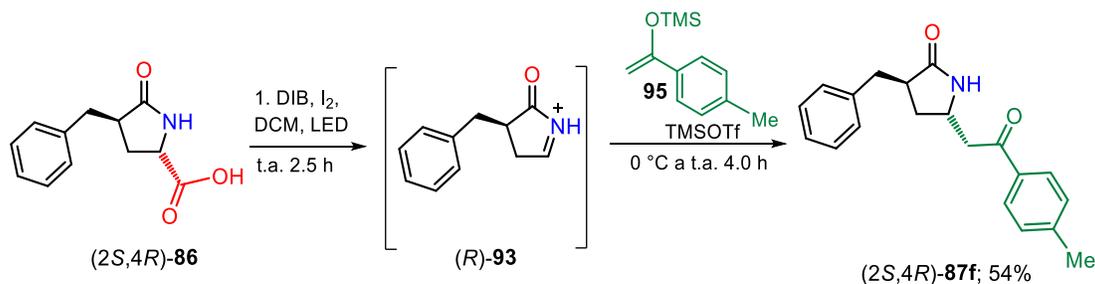
<sup>64</sup> Gong, J.; Wan, Q.; Kang, Q. *Chem. Asian J.* **2018**, *13*, 2484-2488.

**Tabla 5.** Preparación del 1-*p*-tolil-1-trimetilsilioxietileno **95**.



Experimento	LiHMDS	Tiempo
<b>1</b>	1.2 eq	20 min
<b>2</b>	2.3 eq	20 min
<b>3</b>	2.5 eq	30 min
<b>4</b>	3.0 eq	30 min

Una vez obtenido el silienol éter **95** se estudió el proceso secuencial de descarboxilación radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos. En este contexto, el ácido (2*S*,4*R*)-**86** disuelto en DCM seco se trató con una mezcla de DIB/yodo bajo irradiación de luz LED durante 2.5 horas. Enseguida, la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se adicionó el 1-*p*-tolil-1-trimetilsilioxietileno **95** y TMSOTf. La mezcla de reacción se dejó alcanzar la temperatura ambiente durante 4 horas proporcionando la lactama (2*S*,4*R*)-**87f** (Esquema 35). Cuando se usaron 5 equivalentes del nucleófilo **97** se obtuvo el compuesto (2*S*,4*R*)-**87f** con un 46% de rendimiento, y al aumentar la cantidad a 7 equivalentes se generó la lactama  $\alpha,\gamma$ -sustituida (2*S*,4*R*)-**87f** con un rendimiento del 54% (Tabla 4).



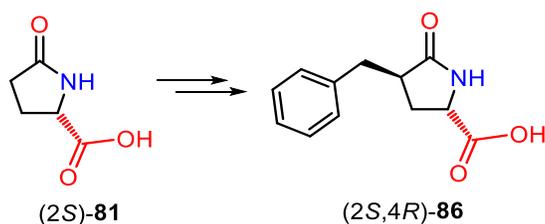
**Esquema 35.**

## 6. Conclusiones

Se utilizó el programa PASS online con la finalidad de elegir los sustituyentes en la posición  $\gamma$  de la  $\gamma$ -lactama encontrando resultados alentadores, adicionalmente se predijeron los parámetros fisicoquímicos de las  $\gamma$ -lactamas  $\alpha,\gamma$ -disustituidas empleando el programa Molinspiration, basándonos en los parámetros reportados para fármacos que actúan a nivel del SNC se comprobó que poseen parámetros fisicoquímicos aptos para actuar en dicho sitio, además, poseen un alto porcentaje de absorción en BHE.

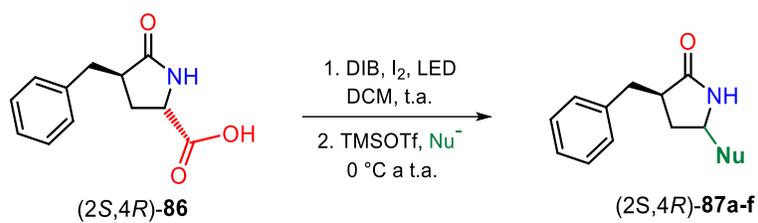
Se logró obtener resultados validados para el proceso de docking de las moléculas (2*S*,4*R*)-**87a-f** utilizando el software AutoDock Vina. Se puede concluir que las  $\gamma$ -lactamas (2*S*,4*R*)-**87a-e** son buenos ligandos y muestran una alta probabilidad de ser inhibidores de la enzima GABA-AT. En contraste, el compuesto (2*S*,4*R*)-**87f** con mayor impedimento estérico posee una menor afinidad con el receptor. Finalmente, se determinó que en la mayoría de los casos la presencia de grupos no polares, contribuyen al aumento de la afinidad del ligando a través de la interacción con el aminoácido PHE-189.

A partir del ácido piroglutámico (2*S*)-**81** comercialmente disponible se logró la obtención de ácido precursor (2*S*,4*R*)-**86**. En general, las reacciones transcurrieron con buenos rendimientos globales y se obtuvieron productos con alta pureza óptica.



Se desarrolló un proceso secuencial orientado a la diversidad, el cual, permitió la transformación de un único precursor a una gran variedad de  $\gamma$ -lactamas con diversidad estructural (2*S*,4*R*)-**87a-f**. El paso clave es la transformación del ácido (2*S*,4*R*)-**86** empleando un proceso secuencial de escisión radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos. Este proceso utiliza reactivos de yodo hipervalente de baja

toxicidad en lugar de promotores metálicos de alta toxicidad. Transcurre con buenos rendimientos globales, condiciones suaves de reacción y proporcionó compuestos enantioméricamente puros.



## 7. Parte experimental

### 7.1 Generalidades

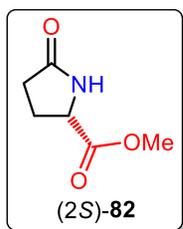
EL material de vidrio empleado en las reacciones, las jeringas, cánulas y barras de agitación magnética fueron secados 12 horas antes de iniciar la reacción a 100 °C utilizando la estufa Binder FD 115 – UL. Todos los reactivos y disolventes fueron adquiridos mediante Sigma-Aldrich. El disolvente THF empleado para las reacciones fue secado con ayuda de sodio metálico en presencia de indicador benzofenona, por otro lado, el DCM fue secado con ayuda de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , ambos disolventes se colectaron por medio de destilación simple en atmósfera de nitrógeno y eran de la marca MEYER

En cuanto a las purificaciones se utilizaron disolventes tales como acetato de etilo, diclorometano, hexano y metanol que fueron secados por destilación simple. Para las columnas cromatográficas se usó gel de sílice 60® de malla 230-400. Adicionalmente, para el seguimiento de las reacciones se utilizó cromatografía en capa fina (CCF) con ayuda de cromatofolios de la marca MERCK (60 F<sub>254</sub>) y como reveladores se emplearon permanganato de potasio, ninhidrina, ácido fosfomolibdico, vapores de yodo, además de luz UV.

La espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de los compuestos se adquirió mediante el equipo Bruker Advance de 500 MHz marca VARIAN DIRECT-DRIVE. Como referencia interna se utilizó tetrametilsilano (TMS) o la señal residual de disolventes deuterados tales como cloroformo ( $\text{CDCl}_3$ ), metanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ). Los desplazamientos químicos  $\delta$  se miden en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento fueron expresadas en Hertzios (Hz). La multiplicidad de las señales del espectro de  $^1\text{H}$  se expresaron mediante las siguientes abreviaciones: **s** (simple), **d** (doble), **dd** (doble de dobles), **ddd** (doble de doble de dobles), **t** (triple), **dt** (doble de triples), **m** (multiple)

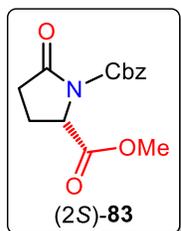
## 7.2 Preparación de los compuestos

### 7.2.1 Síntesis de Metil-(S)-5-oxopirrolidina-2-carboxilato (2S)-82.



En un matraz bola de 100 mL provisto de agitación magnética se colocaron 1.5 g (11.6 mmol) de ácido (S)-piroglutámico (2S)-81 y 25 mL de MeOH. La solución se sumergió a un baño a 0 °C y a esa temperatura se añadieron gota a gota 1.2 mL (16.2 mmol) de cloruro de tionilo. Terminada la adición, la reacción se dejó alcanzar temperatura ambiente y se agitó durante 2.5 horas. Enseguida, la mezcla se trató con 1.9 g (23.2 mmol) de bicarbonato de sodio y se agitó durante 15 minutos. El producto de reacción se filtró por celita y se lavó con MeOH. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna utilizando AcOEt como eluyente, obteniéndose 1.65 g (11.53 mmol, 97%) del éster metílico (2S)-82 como un aceite incoloro.  $[\alpha]_D = +1.0$  (c 0.5, CHCl<sub>3</sub>). Los datos espectroscópicos de RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C para el éster metílico (2S)-82 son similares a los descritos en la literatura.<sup>65</sup> **RMN <sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2.18-2.48 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 3.73 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 4.23 (dd, *J* = 9.1, 5.5 Hz, 1H, CH), 7.25 (s, 1H, NH). **RMN <sup>13</sup>C** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 24.8 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (CH<sub>2</sub>), 52.7 (CH), 59.0 (CH<sub>3</sub>O), 172.6, 178.5 (CO). **HRMS** [FAB<sup>+</sup>]: Calculado para C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>NO<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>, *m/z* 144.0661; encontrado 144.0673 *m/z*.

### 7.2.2 Síntesis de 1-bencil-2 metil-(S)-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilato (2S)-83.

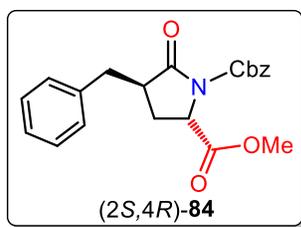


En un matraz bola de 100 mL provisto de agitación magnética se colocaron 0.7 g (4.89 mmol) del éster metílico (5S)-82 y 10 mL de THF anhidro bajo atmósfera de N<sub>2</sub>, y se agitó a -78 °C durante 15 minutos. Posteriormente, se adicionó gota a gota 5.4 mL (5.38 mmol) de bis (trimetilsilil) amida de litio (LiHMDS) y se agitó durante 30 minutos. Enseguida, la disolución se trató con 0.77 mL (5.38 mmol) de cloroformiato de bencilo (Cbz-Cl). La mezcla se retiró del baño y se continuó con la agitación

<sup>65</sup> Gharpure, S. J.; Nanda, L. N.; Kumari, D. *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, 27, 3917-3920.

durante 2 horas a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se trató con una solución de cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) seguido de una extracción  $\text{AcOEt}$  ( $3 \times 10 \text{ mL}$ ). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de  $\text{Hex}:\text{AcOEt}$  (60:40), obteniéndose 1.2 g (4.3 mmol, 90%) de la lactama *N*-Cbz protegida (2*S*)-**83** como un aceite color amarillo.  $[\alpha]_{\text{D}} = -41.5^\circ$  ( $c$  1.0,  $\text{EtOH}$ ).<sup>66</sup> **RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2.08 (dddd,  $J=12.9, 9.5, 3.0, 3.0 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.35 (dddd,  $J=13.2, 9.7, 9.7, 9.7 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2.51 (ddd,  $J=17.6, 9.3, 3.2 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2.65 (ddd,  $J=17.6, 10.0, 10.0 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{CH}_2$ ), 3.68 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ), 4.69 (dd,  $J=9.5, 2.7 \text{ Hz}$ , 1H, CH), 5.21 (d,  $J=12.4 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{CH}_2\text{Bn}$ ), 5.33 (d,  $J=12.4 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{CH}_2\text{Bn}$ ), 7.3-7.4 (m, 5H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 21.8 ( $\text{CH}_2$ ), 31.0 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 52.7 ( $\text{CH}_3\text{O}$ ), 58.7 (CH), 68.4 ( $\text{CH}_2\text{Bn}$ ), 128.2 (x 2), 128.5 (x 2), 128.6, 135 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 150.9, 171.5, 172.9 (C=O). **HRMS** [FAB<sup>+</sup>]: Calculado para  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{NO}_5$  [M+H]<sup>+</sup>,  $m/z$  278.0984; encontrado 278.1011  $m/z$ .

### 7.2.3. Síntesis de 1-bencil-2-metil-(2*S*,4*R*)-4-bencil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilato (2*S*,4*R*)-**84**.

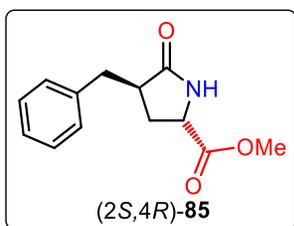


En un matraz bola provisto de agitación magnética se colocaron 2.0 g (7.2 mmol) de la lactama *N*-Cbz protegida (2*S*)-**83** y 50 mL de THF anhidro bajo atmósfera inerte de  $\text{N}_2$ , la mezcla se enfrió a  $-78^\circ\text{C}$  y se agitó durante 5 minutos, enseguida se añadió gota a gota 1.49 mL (7.94 mmol) de bis (trimetilsilil) amida de litio ( $\text{LiHMDS}$ ) y se agitó durante 1 hora. Transcurrido el tiempo, se adicionó 1.03 mL (8.64 mmol) de bromuro de bencilo ( $\text{BnBr}$ ) y se continuó agitando durante 2 horas. Finalmente, la mezcla de reacción se trató con una disolución de cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) al 10% y se extrajo con  $\text{AcOEt}$  ( $3 \times 15 \text{ mL}$ ). La fase orgánica se secó, se filtró y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla

<sup>66</sup> Sajio, S.; Wada, M.; Himizu, J.; Ishida, A. *Chem. Pharm. Bull.* **1980**, *28*, 1449-1458.

Hex:AcOEt (90:10) generando 1.5 g (4.08 mmol, 57%) de la lactama (2*S*,4*R*)-**84** como un sólido blanco.  $[\alpha]_D = -47.7^\circ$  (*c* 0.18, CHCl<sub>3</sub>). **RMN<sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2.0-2.13 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.68 (dd, *J* = 14.0, 9.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 2.94 (dddd, *J* = 11.6, 9.1, 8.9, 4.3 Hz, 1H, CHCO), 3.28 (dd, *J* = 14.0, 4.3 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 3.65 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 4.56 (dd, *J* = 9.2, 1.9 Hz, 1H, CHN), 5.24 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.32 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.15-7.41 (m, 10H, H<sub>arom</sub>). **RMN<sup>13</sup>C** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 27.4 (C<sub>4</sub>), 36.3 (C<sub>3'</sub>), 43.6 (C<sub>3</sub>), 51.7 (CH<sub>3</sub>O), 56.9 (H<sub>5</sub>), 68.6 (CH<sub>2</sub>Ph), 126.9, 128.3 (x 2), 128.6 (x 2), 128.8 (x 2), 128.9, 129.2 (x 2), 135.2, 138.2 (C<sub>arom</sub>), 152.1, 171.5, 174.1 (C=O). **HRMS** [FAB<sup>+</sup>]: Calculado para C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup>, *m/z* 368.1452; encontrado 368.1509 *m/z*.

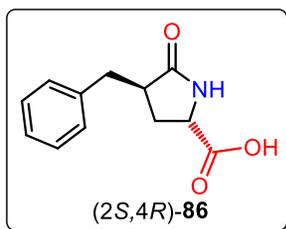
#### 7.2.4. Síntesis de Metil (2*S*,4*R*)-4-bencil-5-oxopirrolidina-2-carboxilato (2*S*,4*R*)-**85**.



En un matraz bola de 50 mL provisto de agitación magnética se colocaron 0.1 g (0.3 mmol) de la lactama *N*-Cbz protegida (2*S*,4*R*)-**84**, se trató con Pd/C 20% (0.2 g) y se disolvió en 25 mL de una mezcla de MeOH:AcOEt (60:40). La mezcla de reacción se dejó en agitación bajo atmósfera de H<sub>2</sub> durante 20 horas a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo, la mezcla se filtró sobre celita y se lavó con metanol. Sin necesidad de purificación adicional se obtuvieron 0.6 g (0.3 mmol, 100%) de la lactama (2*S*,4*R*)-**85** como un sólido blanco. P.f. 145 °C.  $[\alpha]_D = +12.70$  (*c* 0.11, MeOH).<sup>67</sup> **RMN<sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2.0-2.13 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.68 (dd, *J* = 14.0, 9.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 2.94 (dddd, *J* = 11.6, 9.1, 8.9, 4.3 Hz, 1H, CH), 3.28 (dd, *J* = 14.0, 4.3 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 3.65 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 4.56 (dd, *J* = 9.2, 1.9 Hz, 1H, CHN), 7.25 (m, 5H, H<sub>arom</sub>). **RMN<sup>13</sup>C** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 27.4 (CH<sub>2</sub>), 36.3 (CH<sub>2</sub>Ph), 43.6 (CH), 51.7 (CH<sub>3</sub>O), 56.9 (CHN), 128.9 (x 2), 129.2 (x2), 135.2, 138.2 (C<sub>arom</sub>), 171.5, 174.1 (CO). **HRMS** [FAB<sup>+</sup>]: Calculado para C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>, *m/z* 234.1085; encontrado 234.0000 *m/z*.

<sup>67</sup> Goswami, L.N.; Srivastava, S.; Panday, S.K.; Dikshit, D.K. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 7891-7892.

### 7.2.5. Síntesis de ácido (2S,4R)-4-bencil-5-oxopirrolidinona-2-carboxílico (2S,4R)-86.



En un matraz bola de 50 mL provisto de agitación magnética se colocó 0.49 g (2.08 mmol) de la lactama (2S,4R)-85 y se disolvió en 1 mL de MeOH a 0 °C. Enseguida, se hizo reaccionar con 10 mL de una solución 2 N de NaOH en una mezcla MeOH:H<sub>2</sub>O (10:90), la mezcla se agitó por 30 minutos. A continuación, la mezcla a 0 °C se acidificó con solución de HCl al 10% hasta llegar a un pH= 4. El residuo se extrajo con AcOEt (3x15 mL), se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró en el rotavapor, el residuo se lavó con DCM proporcionando 0.44 g (2.01 mmol, 96%) del ácido carboxílico (2S,4R)-86 como un sólido blanco. P.f. 161 °C [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> = -96.3° (c 0.77, MeOH).<sup>68</sup> **RMN<sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2.12-2.25 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.70 (dd, *J* = 13.6, 9.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 2.79 (qd, *J* = 8.8, 4.1 Hz, 1H, CH), 3.12 (dd, *J* = 13.6, 4.1 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 3.33 (s, 1H, NH), 4.0 (dd, *J* = 8.7, 3.6 Hz, 1H, CHN), 7.20-7.33 (m, 5H, H<sub>arom</sub>). **RMN<sup>13</sup>C** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 30.3 (CH<sub>2</sub>), 35.9 (CH<sub>2</sub>Ph), 41.8 (CHN), 53.6 (CH), 126.2, 128.2 (x 2), 128.7 (x 2), 138.8 (C<sub>arom</sub>), 174.4, 180.3 (C=O). **HRMS** [FAB<sup>+</sup>]: Calculado para C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>, *m/z* 220.0929; encontrado 220.0598 *m/z*.

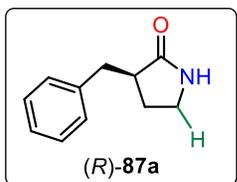
### 7.3. Procedimiento general de descarboxilación radicalaria-adición de nucleófilos.

En un matraz de 2 bocas de 10 mL provisto de agitación magnética se colocaron 0.2 mmol del ácido 86 y 5 mL de DCM anhidro. Manteniendo una atmósfera de nitrógeno, la disolución se trató con 0.13 g (0.4 mmol) de (diacetoxiyodo)benceno (DIB) y 0.05 g (0.2 mmol) de yodo. La mezcla se agitó durante 2.5 horas bajo irradiación de luz LED blanca (30 Watts). Enseguida, la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se adicionó 1.0 mmol del correspondiente nucleófilo, seguido de 0.4 mmol de trifluorometanosulfonato de trimetilsililo (TMSOTf) y se agitó dejó alcanzar temperatura ambiente durante 4 horas. A continuación, la mezcla se vertió sobre

<sup>68</sup> Baldwin, J. E.; Miranda, T.; Moloney, M.; Hokelek, T. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 7459-7468.

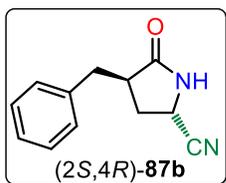
una disolución de tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) al 10% y se extrajo con DCM (2x10 mL). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna utilizando la mezcla de disolventes DCM/AcOEt.

### 7.3.1. Síntesis del (3*R*)-2-oxo-3-bencilpirrolidina (*R*)-87a.



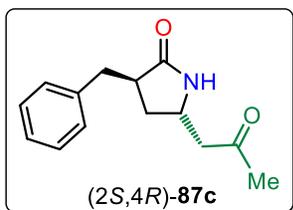
Siguiendo procedimiento general del descarboxilación radicalaria-adición de nucleófilos, utilizando 0.16 mL (1 mmol) de trietilsilano. El residuo se purificó utilizando la mezcla DCM:AcOEt (20:80), produciendo 0.024 g (0.14 mmol, 68%) de la lactama (*R*)-87a como un sólido blanco. **RMN  $^1\text{H}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 1.76-1.98 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 2.03-2.24 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 2.57-2.74 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 2.57-2.74 (m, 1H, CH), 3.17-3.33 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 3.17-3.33 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 6.64 (sa, 1H, NH), 7.17-7.37 (m, 5H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ).

### 7.3.2. Síntesis del (2*S*,4*R*)-4-bencil-5-oxopirrolidin-2-carbonitrilo (2*S*,4*R*)-87b.



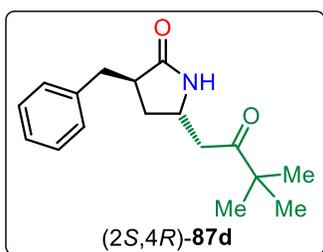
Siguiendo procedimiento general del descarboxilación radicalaria-adición de nucleófilos, utilizando 0.13 mL (1 mmol) de cianotrimetilsilano. El residuo se purificó utilizando la mezcla DCM:AcOEt (80:20), produciendo 0.024 g (0.12 mmol, 60%) de la lactama (2*S*,4*R*)-87b como un sólido blanco. **RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2.22 (ddd,  $J = 13.3, 8.6, 1.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2.44 (ddd,  $J = 13.3, 8.4, 2.1$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ ), 2.75 dd,  $J = 14.3, 8.75$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 2.95 (ddd,  $J = 18.8, 8.9, 2.9, 1.3$  Hz, 1H, CH), 3.21 (dd,  $J = 13.9, 4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.23 (ddd,  $J = 8.6, 2.4, 1$  Hz, 1H, CHN), 6.68 (sa, 1H, NH), 7.17-7.34 (m, 5H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ). **RMN  $^{13}\text{C}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 21.4 ( $\text{CH}_2$ ), 35.7 (CHN), 40.1 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 41.2 (CHCO), 118.5 (CN), 126.9, 128.8 (x 2), 129.9 (x 2), 137.8, ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 178 (C=O). **HRMS [FAB $^+$ ]**: Calculado para  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$  [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ ,  $m/z$  201.0950; encontrado 201.1038  $m/z$ .

### 7.3.2. Síntesis de (2S,4R)-2-(2-oxopropil)-4-bencil-pirrolidin-5-ona (2S,4R)-87c.



Seguendo procedimiento general del descarboxilación radicalaria-adición de nucleófilos, utilizando 0.17 mL (1 mmol) de 2-trimetilsililoxipropeno. El residuo se purificó utilizando la mezcla DCM:AcOEt (20:80), produciendo 0.021 g (0.09 mmol, 46%) de la lactama (2S,4R)-87c como un sólido ligeramente amarillo. **RMN <sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.73 (ddd, *J* = 12.9, 8.6, 4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.06 (ddd, *J* = 12.5, 7.9 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.13 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CO) 2.53-2.74 (m, 1H, CH<sub>2</sub>Ph) 2.53-2.74 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CO), 2.53-2.74 (m, 1H, CHCO), 2.53-2.74 (dd, *J* = 17.8, 9.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CO), 3.2 (dd, *J* = 13.1, 3.2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 3.81 (dddd, *J* = 12.8, 8.6, 4, 1 Hz, 1H, CHN), 6.09 (sa, 1H, NH), 7.18-7.32 (m, 5H, H<sub>arom</sub>). **RMN <sup>13</sup>C** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 30.4 (CH<sub>3</sub>CO), 32.2 (CH<sub>2</sub>) 37 (CH<sub>2</sub>Ph), 41.8 (CHN), 47.7 (CHCO), 50 (CH<sub>2</sub>CO), 126.7, 128.8 (x 2), 129.2 (x 2), 139.4, (C<sub>arom</sub>), 178.4, 206.4 (C=O). **HRMS** [FAB<sup>+</sup>]: Calculado para C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>, *m/z* 232.1259; encontrado 232.1335 *m/z*.

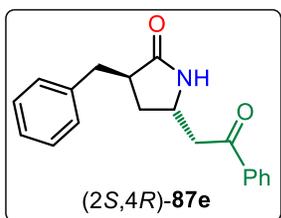
### 7.3.3. Síntesis de (2S,4R)-2-(3,3-dimetil-2-oxobutil)-4-bencil-pirrolidin-5-ona (2S,4R)-87d.



Seguendo procedimiento general del descarboxilación radicalaria-adición de nucleófilos, utilizando 0.22 mL (1.00 mmol) de terc-butil-trimetilsiloxieteno. El residuo se purificó utilizando la mezcla DCM:AcOEt (70:30), produciendo 0.032 g (0.12 mmol, 59%) de la lactama (2S,4R)-87d como un sólido blanco. **RMN <sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.11 (s, 9H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.75 (ddd, *J* = 12.5, 8.2, 3.8 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.01 (ddd, *J* = 12.6, 8, 7.5 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.62-2.72 (m, 1H, CH<sub>2</sub>Ph) 2.62-2.72 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CO), 2.62-2.72 (m, 1H, CHCO), 2.62-2.72 (dd, *J* = 17.8, 9.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CO), 3.21 (dd, *J* = 13.2, 3.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 3.78 (dddd, *J* = 13.4, 9.4, 5.5, 1.1 Hz, 1H, CHN), 6.05 (sa, 1H, NH), 7.19-7.32 (m, 5H, H<sub>arom</sub>). **RMN <sup>13</sup>C** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 26.4 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 31.8 (CH<sub>2</sub>) 32.5

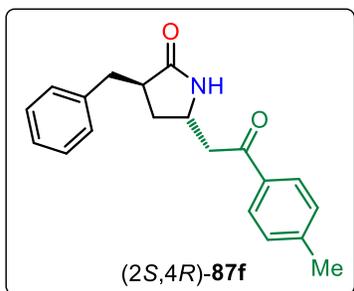
(CH<sub>2</sub>Ph), 38.8 (CHN), 43.3 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 44.1 (CH<sub>2</sub>CO), 47.9 (CHCO), 126.5, 128.6 (x 2), 129 (x 2), 139.3, (C<sub>arom</sub>), 178.2, 215.1 (C=O).

#### 7.3.4. Síntesis de (2*S*,4*R*)-2-(2-oxo-2-feniletíl)-4-bencil-pirrolidin-5-ona (2*S*,4*R*)-87e.



Siguiendo procedimiento general del descarboxilación radicalaria-adición de nucleófilos, utilizando 0.21 mL (1.00 mmol) de 1-fenil-1-trimetilsililoxietileno. El residuo se purificó utilizando la mezcla DCM:AcOEt (80:20), produciendo 0.033 g (0.11 mmol, 56%) de la lactama (2*S*,4*R*)-87e como un sólido blanco.  $[\alpha]_D = +20$  (c 0.2, MeOH) **RMN <sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.83 (ddd,  $J = 13.1, 8.9, 4.1$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.0 (ddd,  $J = 13.1, 7.6, 7.5$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.11-2.24 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CO), 2.66 (dd,  $J = 13.6, 9.9$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 2.76 (dddd,  $J = 8.9, 8.9, 7.1, 3.9$  Hz, 1H, CH), 3.09 (dd,  $J = 17.9, 9.3$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CO), 3.24 (dd,  $J = 13.5, 3.9$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.0 (dddd,  $J = 7.4, 7.1, 7.1, 4.6$  Hz, 1H, CHN), 6.21 (sa, 1H, NH), 7.20-7.90 (m, 10H, H<sub>arom</sub>). **RMN <sup>13</sup>C** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 32.4 (CH<sub>2</sub>), 37.1 (CH<sub>2</sub>Ph), 42.0 (CH<sub>2</sub>CO), 45.3 (CHN), 48.2 (CH), 126.7, 128.2 (x 2), 128.7 (x 2), 128.9 (x 2), 129.2 (x 2), 133.9, 136.5, 139.4 (C<sub>arom</sub>), 178.5, 198.6 (C=O). **HRMS** [FAB<sup>+</sup>]: Calculado para C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>,  $m/z$  294.1449; encontrado 294.1468  $m/z$ .

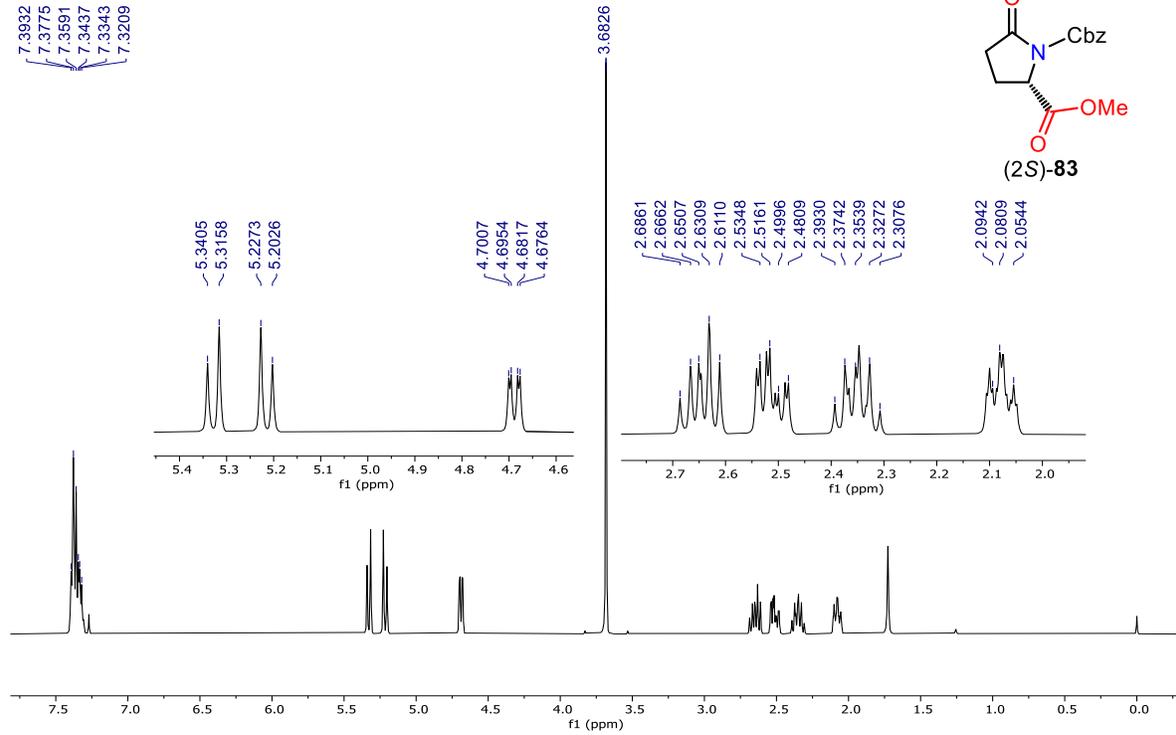
#### 7.3.5. Síntesis de (2*S*,4*R*)-2-(2-oxo-2-(*p*-tolil)etil)-4-bencil-pirrolidin-5-ona (2*S*,4*R*)-87f.



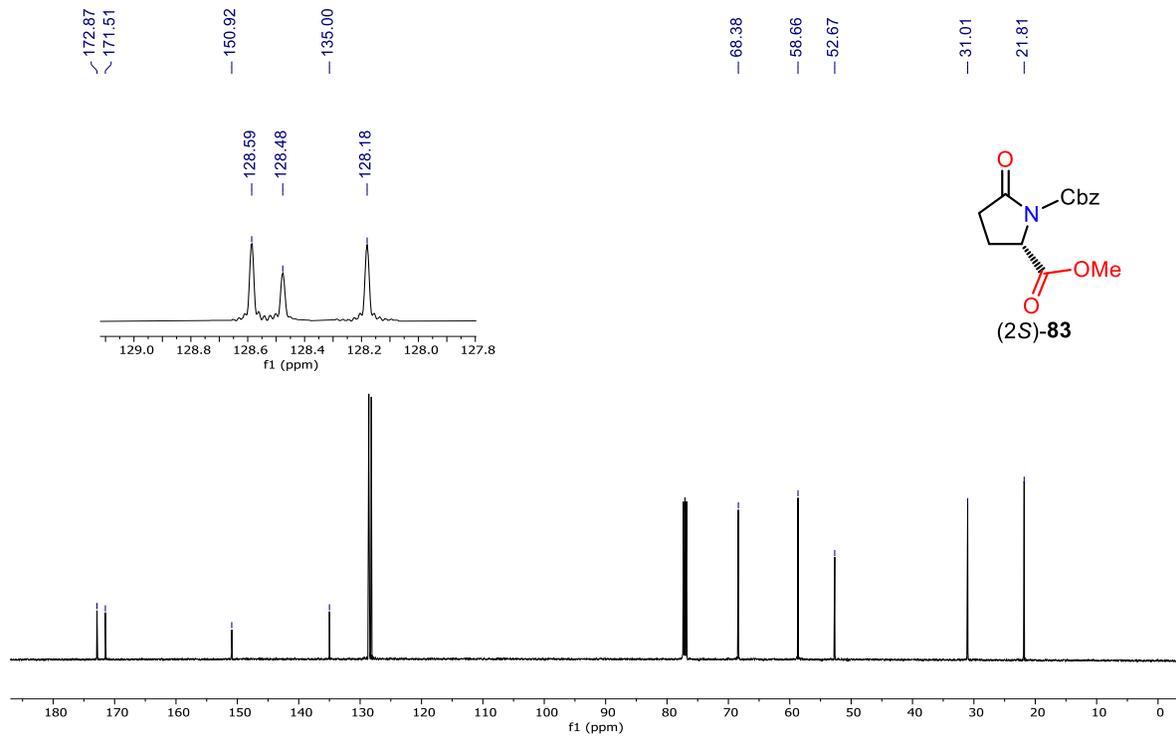
Siguiendo procedimiento general del descarboxilación radicalaria-adición de nucleófilos, utilizando 0.23 mL (1.00 mmol) de 1-*p*-tolil-1-trimetilsililoxietileno. El residuo se purificó utilizando la mezcla DCM:AcOEt (80:20), produciendo 0.033 g (0.11 mmol, 54%) de la lactama (2*S*,4*R*)-87f como un sólido blanco. **RMN <sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1.87 (ddd,  $J = 13.0, 9.1, 4.0$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.0 (ddd,  $J = 13.0, 7.9, 7.9$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>), 2.41 (s, 3H, CH<sub>3</sub>Ph), 2.68 (dd,  $J = 13.5, 10$  Hz 1H, CH<sub>2</sub>CO), 2.73-2.69 (m, 1H, CHCO), 3.05 (dd,  $J = 17.8, 9.4$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CO), 3.15 (dd,  $J = 17.8, 3.9$

Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 3.23 (dd,  $J = 13.5, 3.8$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.0 (dddd,  $J = 13.2, 8.2, 3.9, 1.4$  Hz, 1H, CHN), 6.21 (sa, 1H, NH), 7.19-7.82 (m, 10H, H<sub>arom</sub>). **RMN <sup>13</sup>C** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 21.7 (CH<sub>3</sub>Ph), 32.3 (CH<sub>2</sub>), 36.8 (CH<sub>2</sub>Ph), 41.8 (CH<sub>2</sub>CO), 44.9 (CHN), 48 (CH), 126.5, 128.1 (x 2), 128.6 (x 2), 129 (x 2), 129.4 (x 2), 133.8, 139.3, 144.64 (C<sub>arom</sub>), 178.2, 198 (C=O).

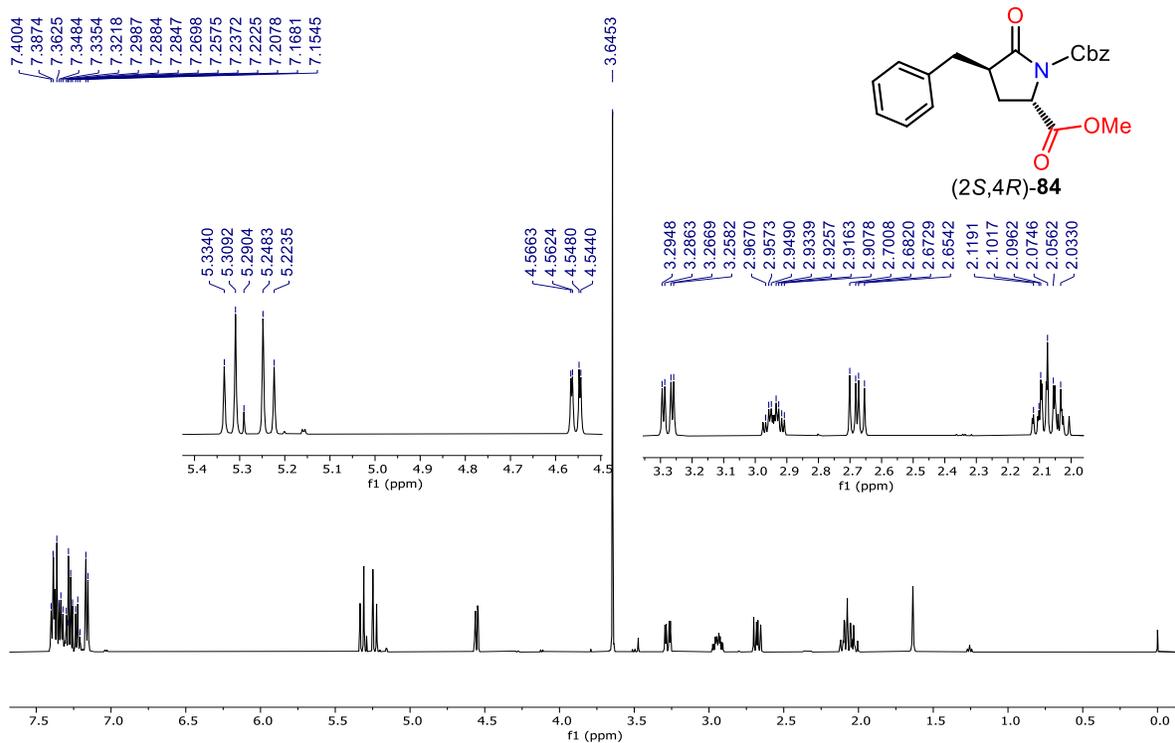
## 8. Anexos



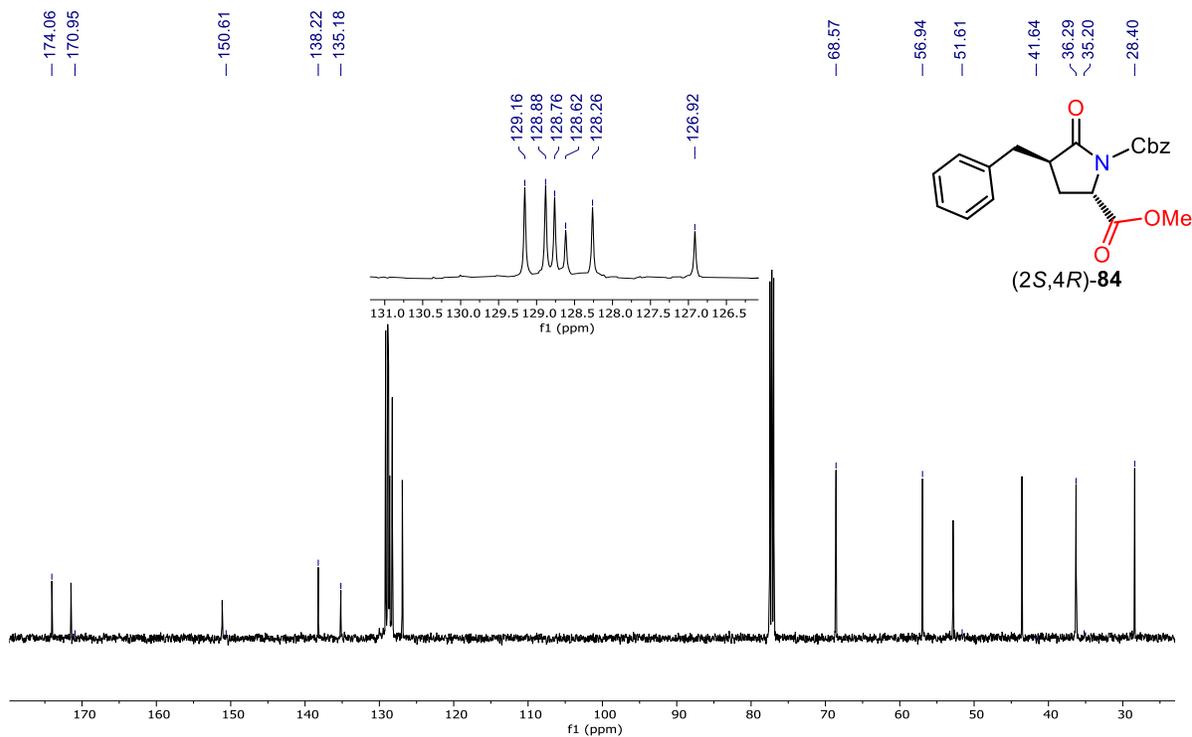
Spectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) de (5S)-83.



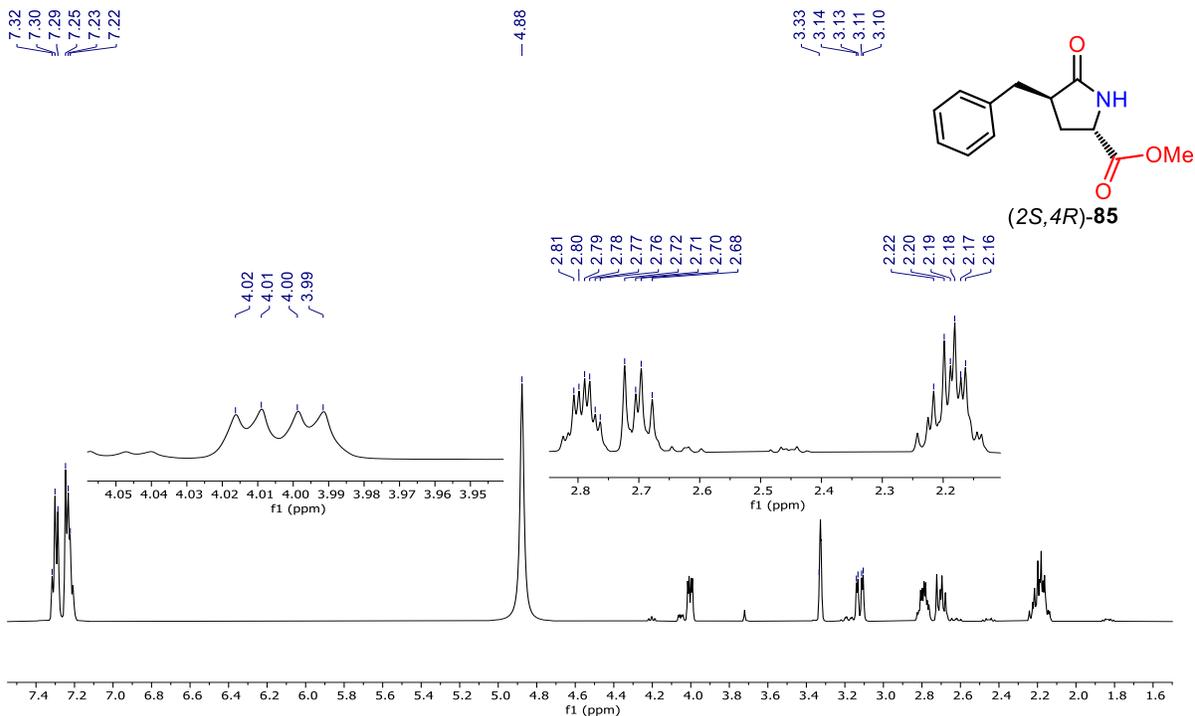
Spectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) de (5S)-83.



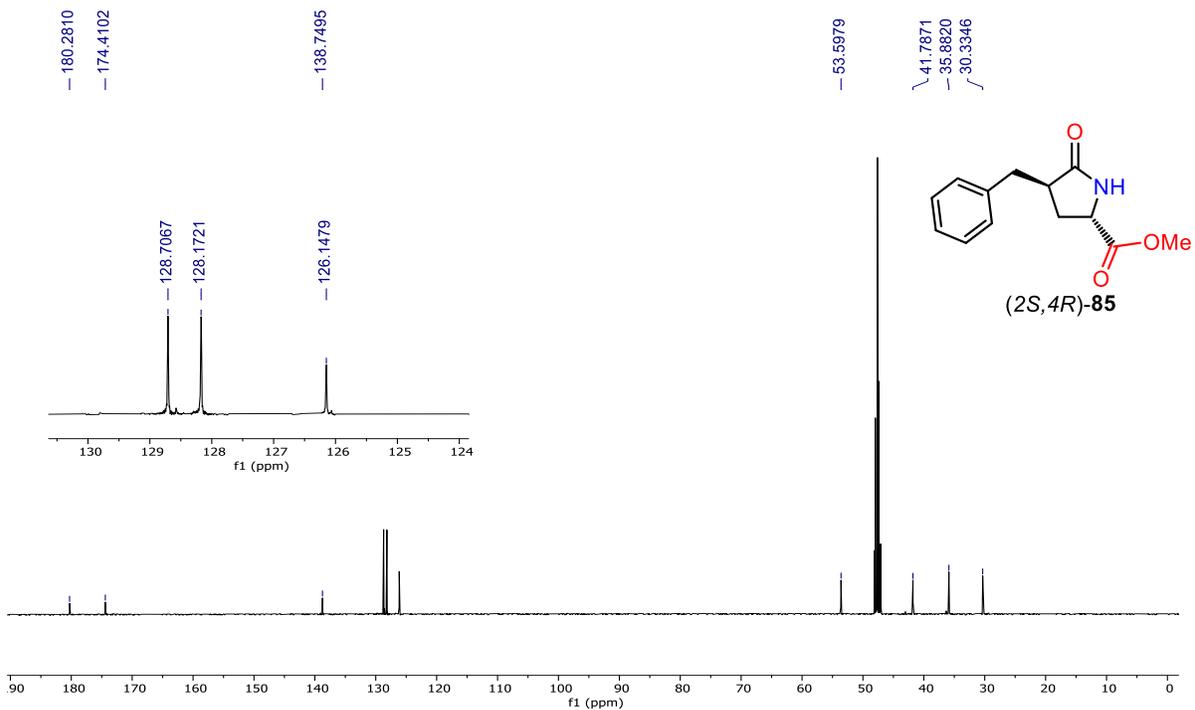
Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz; CDCl<sub>3</sub>) de (2S,4R)-84.



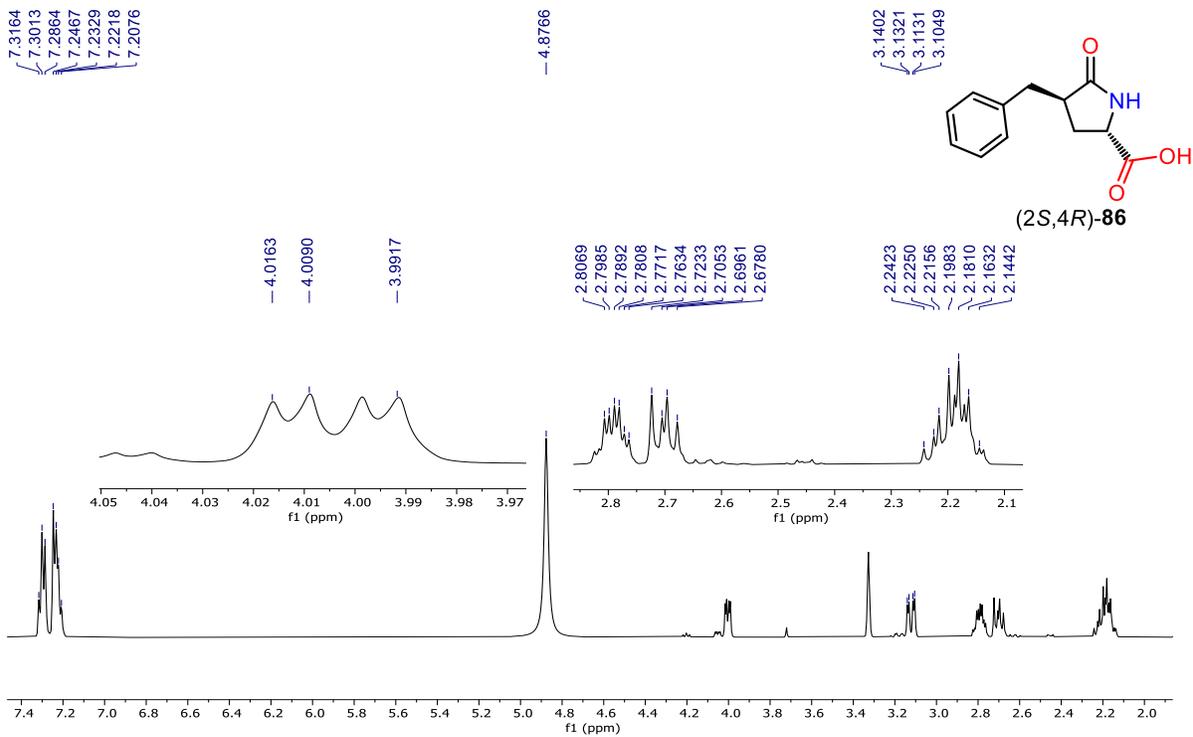
Espectro de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz; CDCl<sub>3</sub>) de (2S,4R)-84.



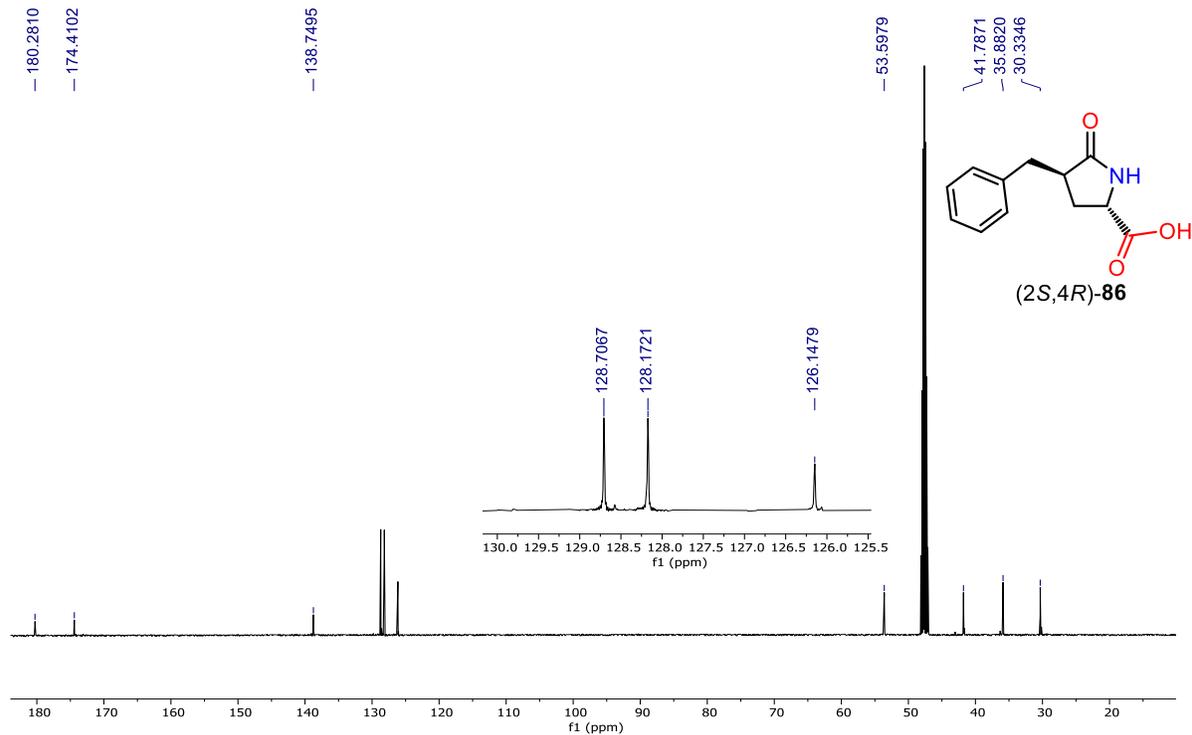
Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz; CDCl<sub>3</sub>) de (2*S*,4*R*)-**85**.



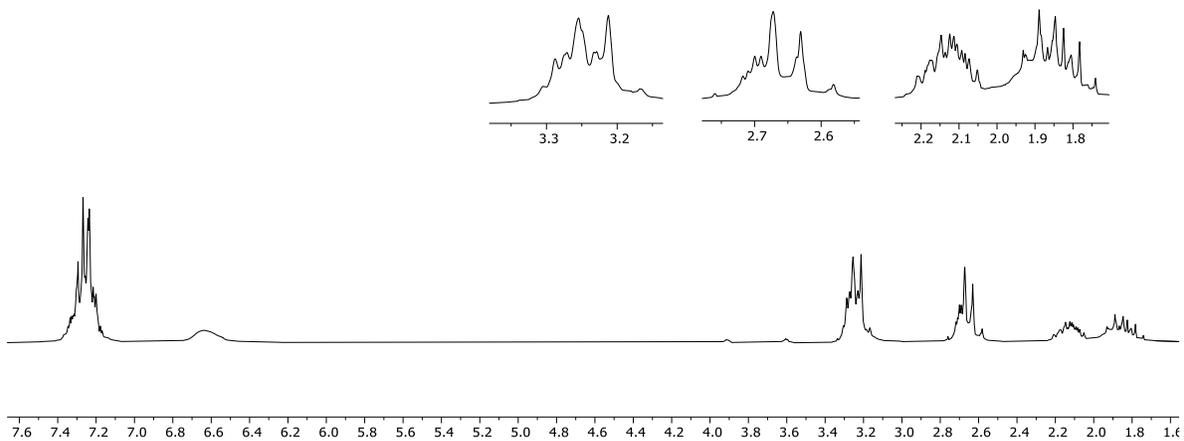
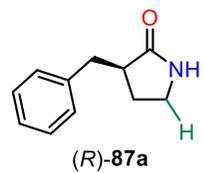
Espectro de RMN <sup>13</sup>C (125MHz; CDCl<sub>3</sub>) de (2*S*,4*R*)-**85**.



Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz; CDCl<sub>3</sub>) de (2S,4R)-86.

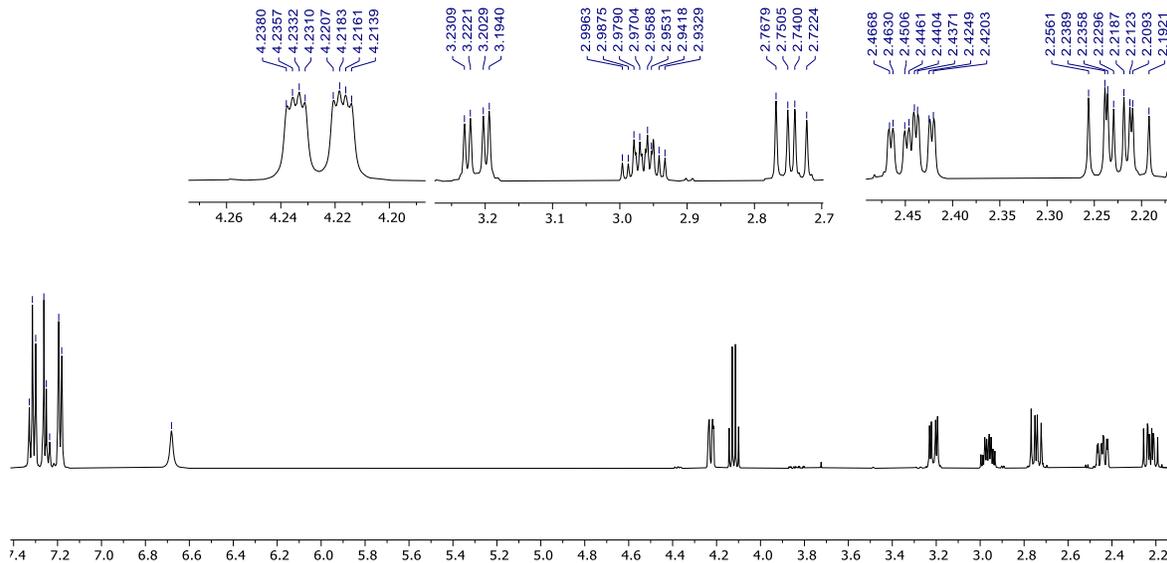
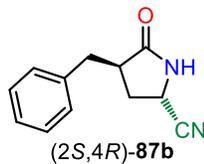


Espectro de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz; CDCl<sub>3</sub>) de (2S,4R)-86.

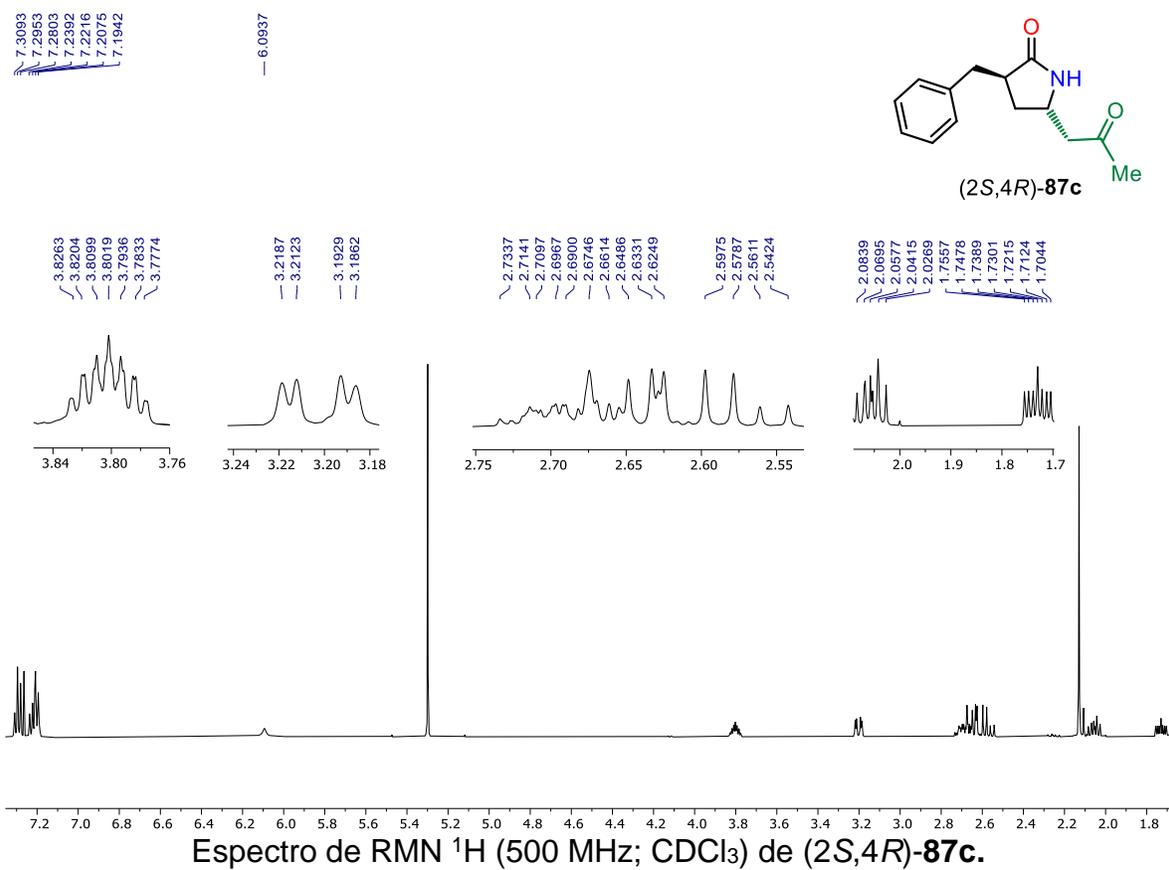
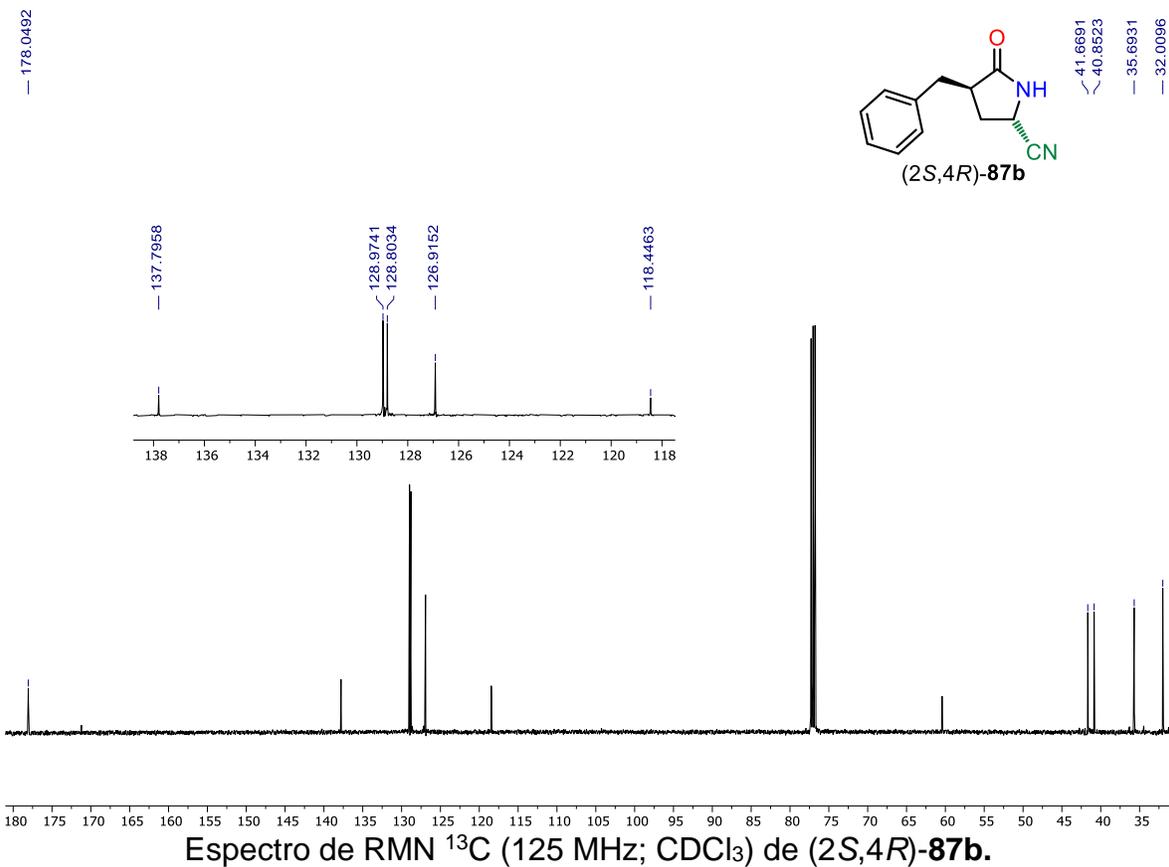


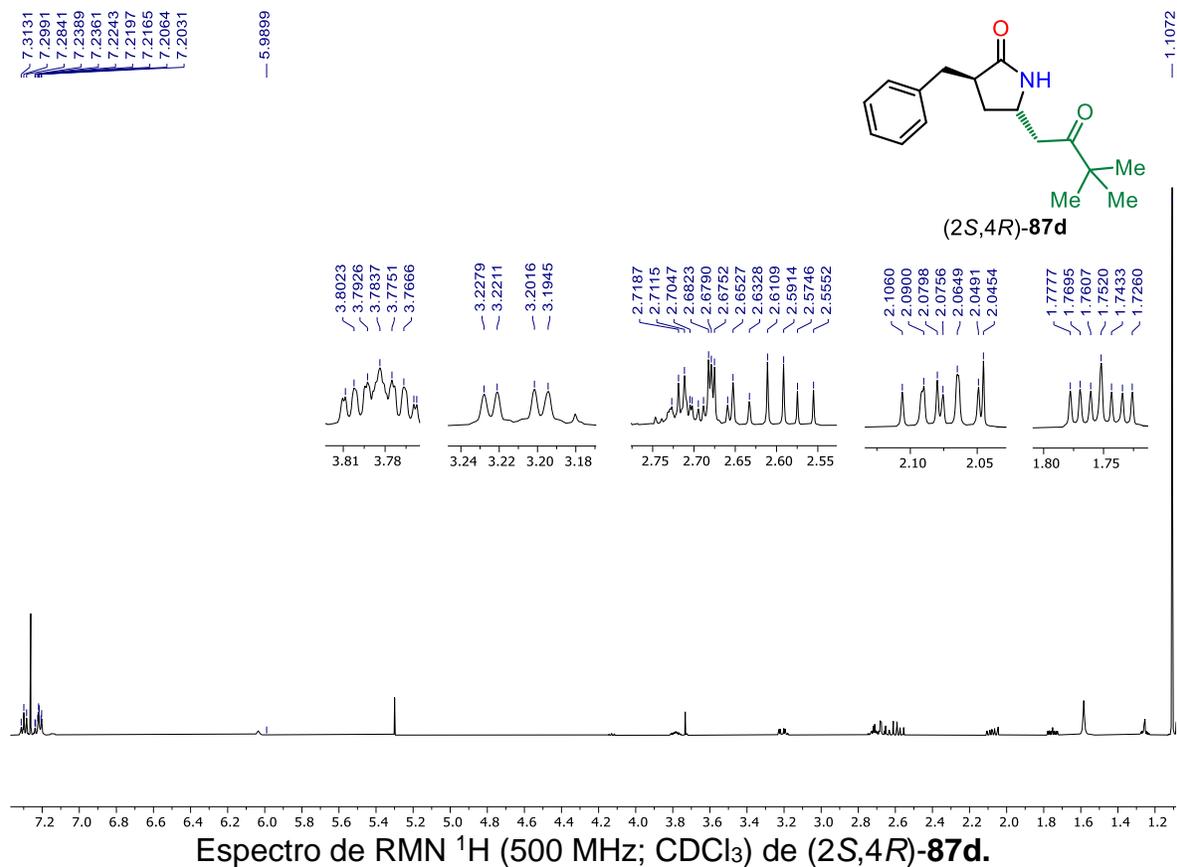
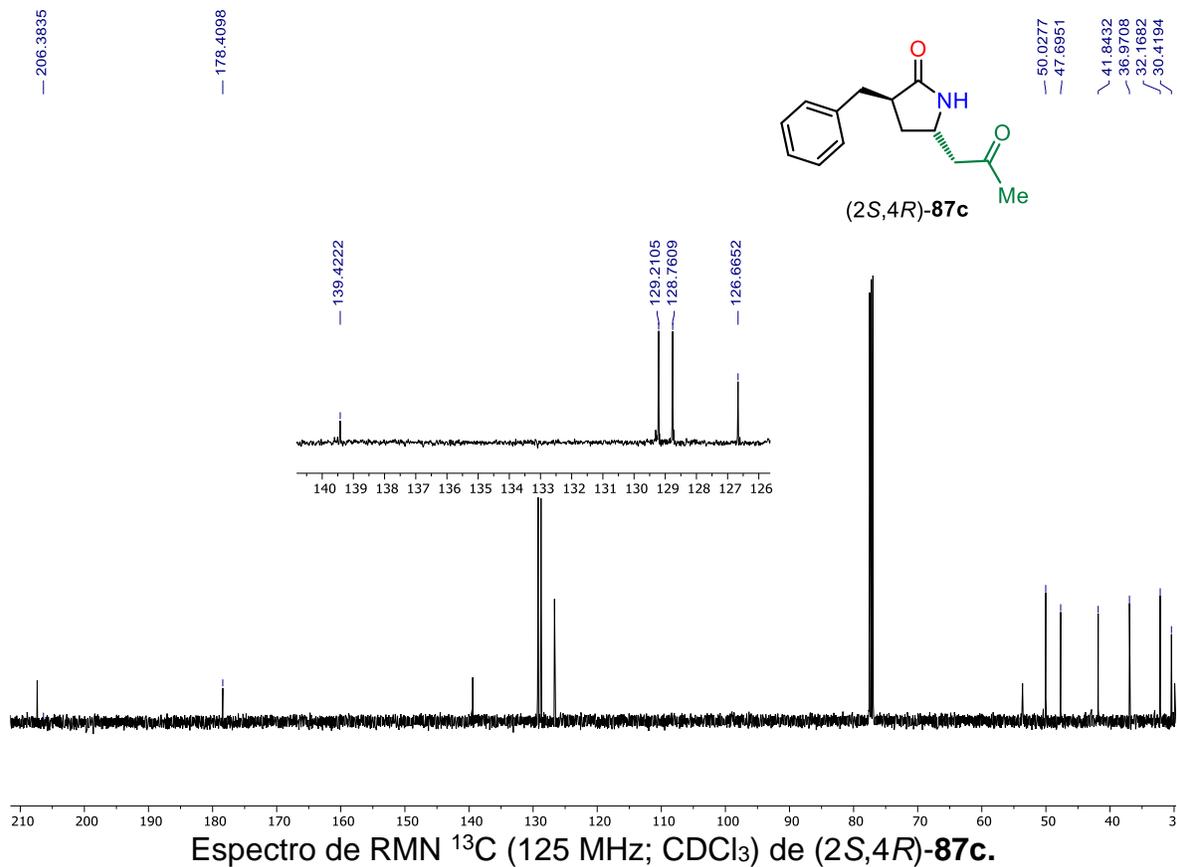
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) de (R)-87a.

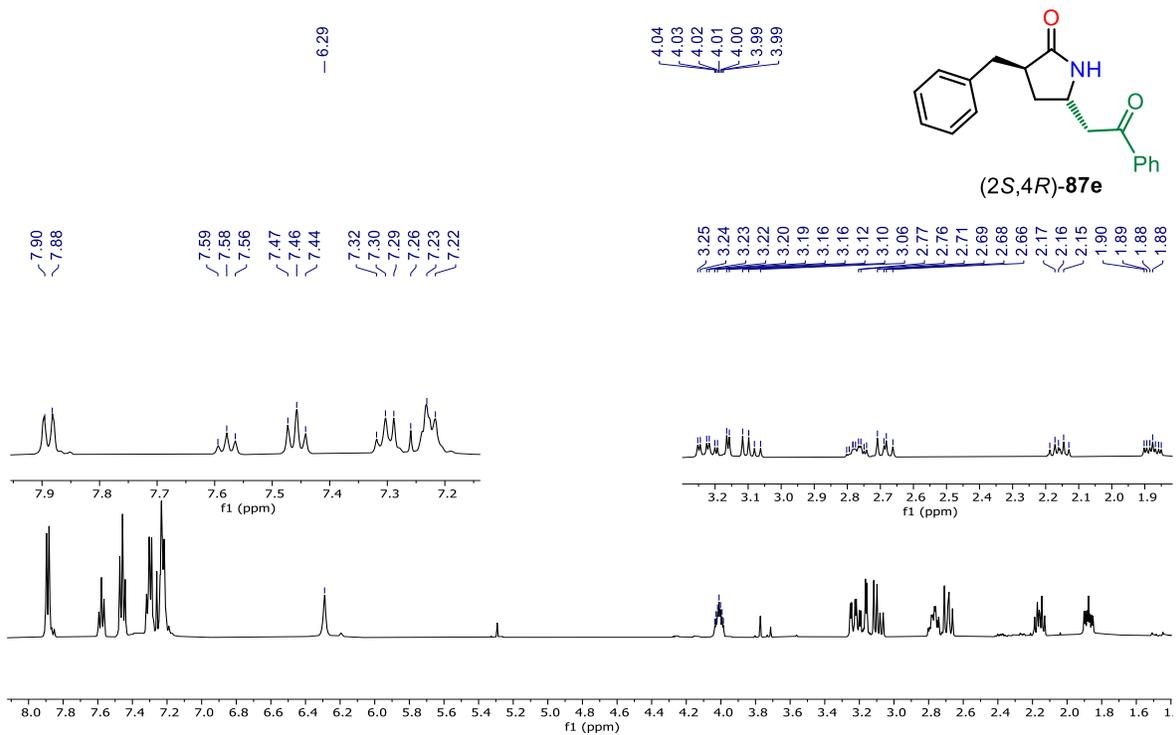
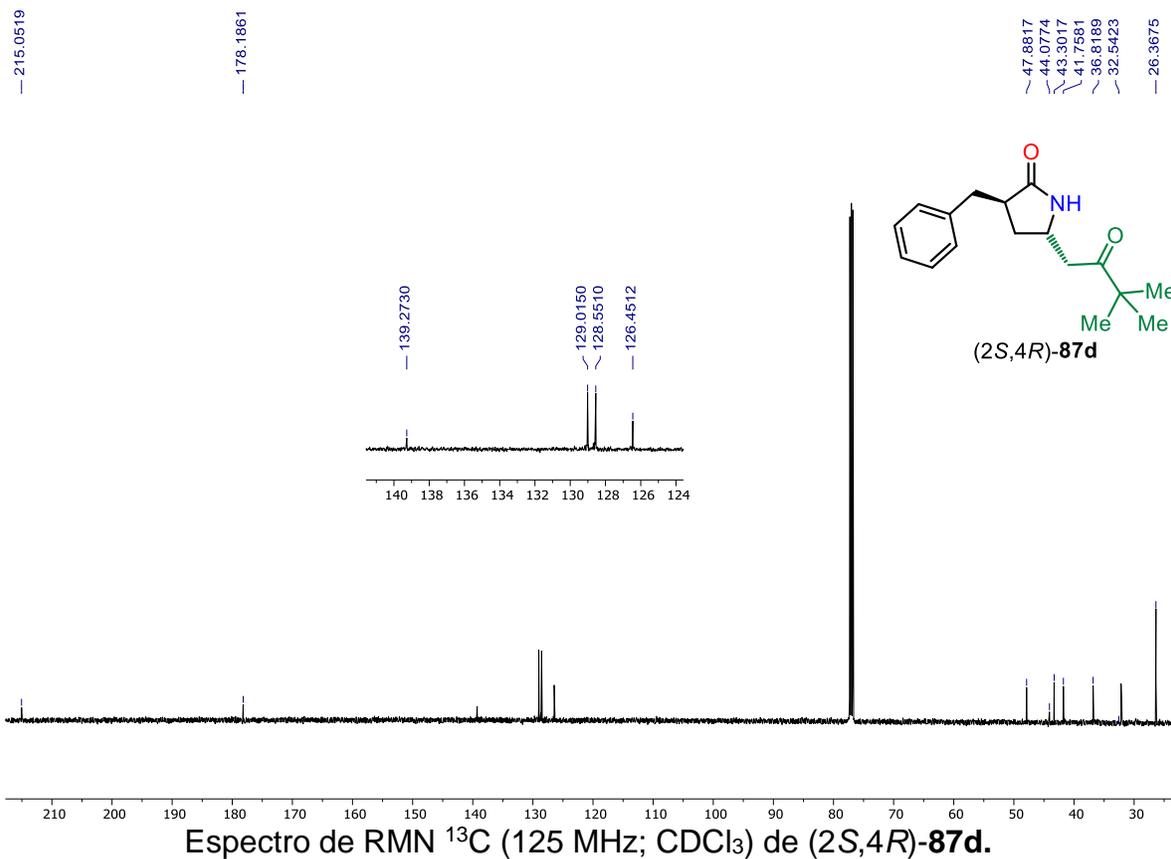
7.3284  
7.3144  
7.2954  
7.2823  
7.2509  
7.2360  
7.1946  
7.1811  
— 6.6813

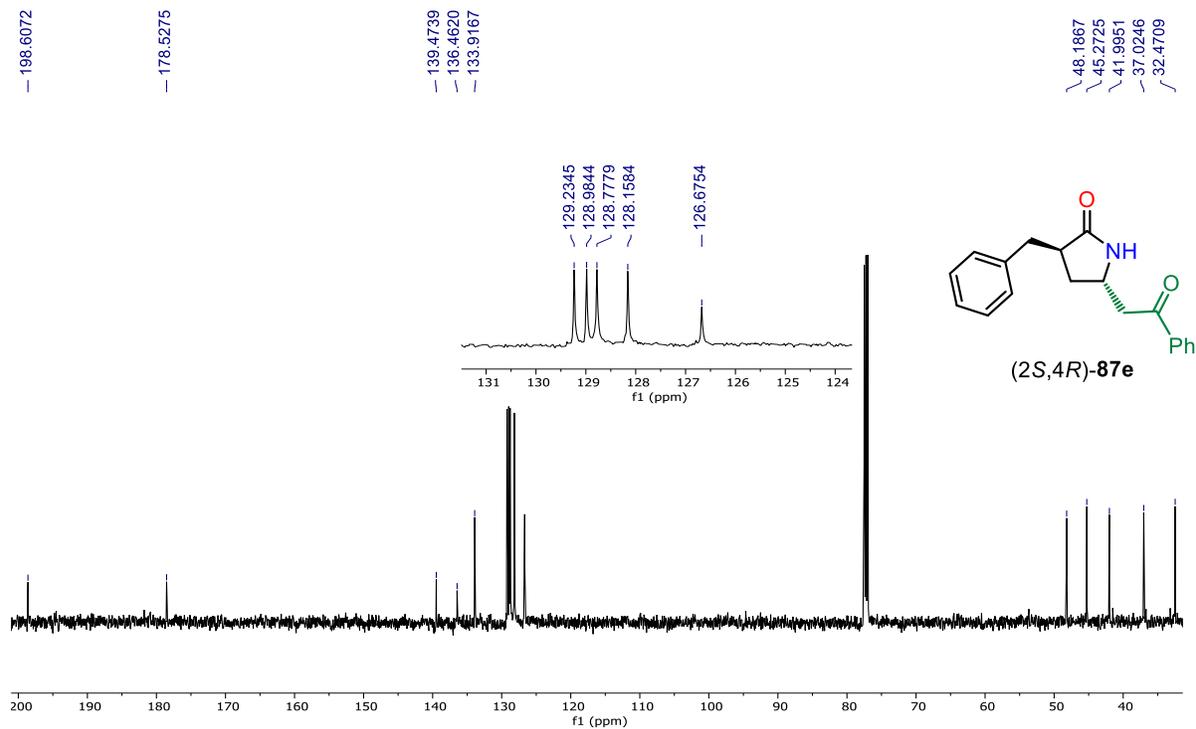


Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) de (2S,4R)-87b.

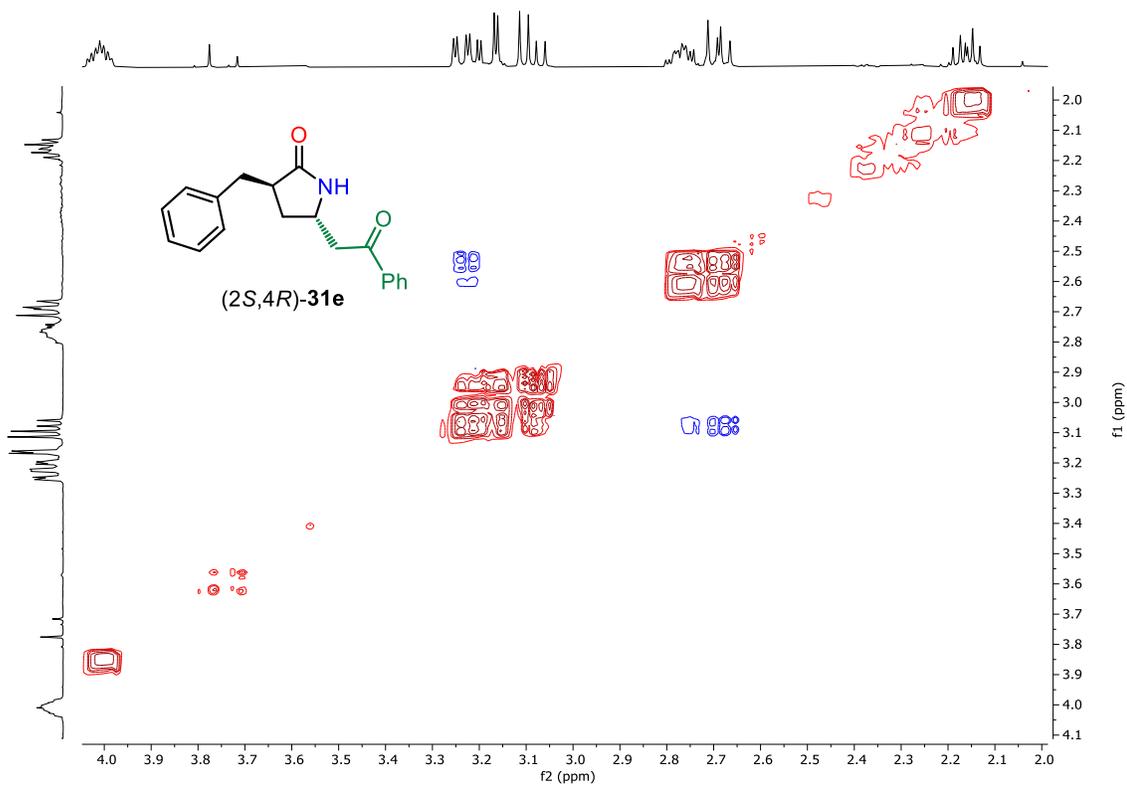




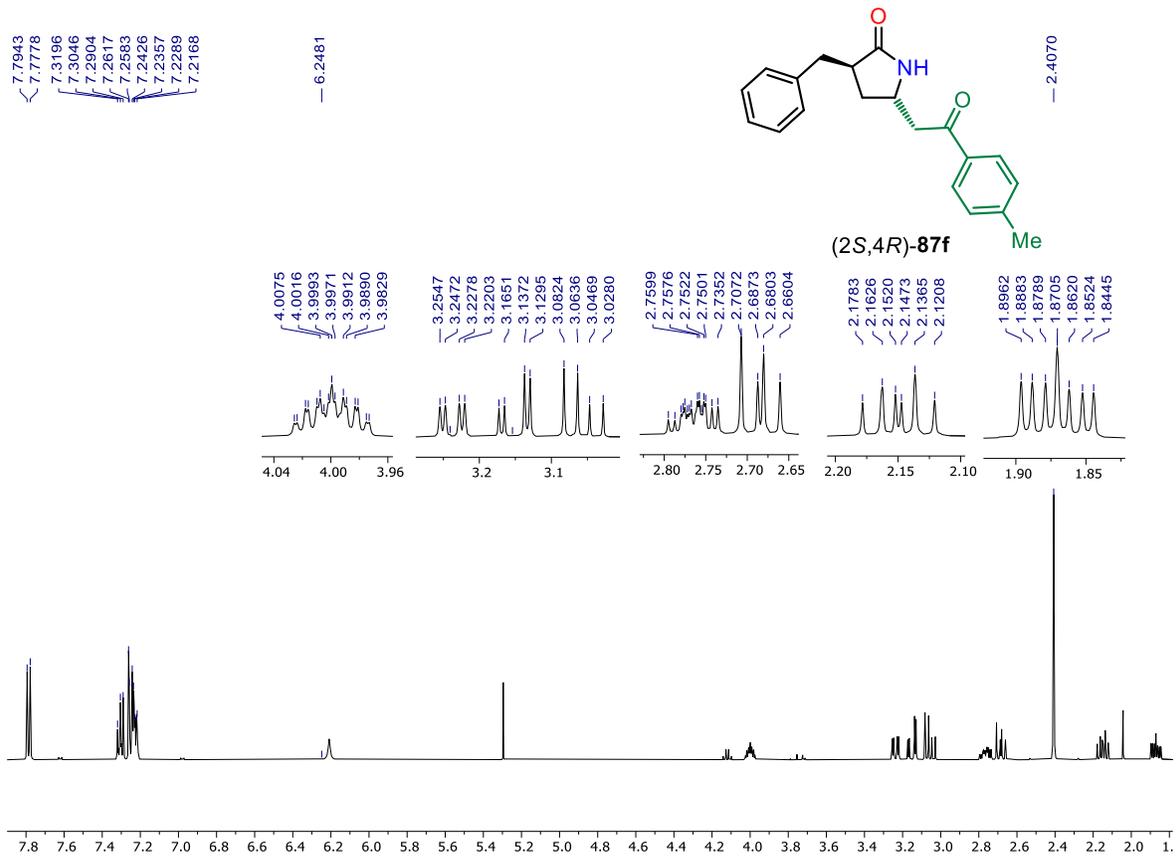




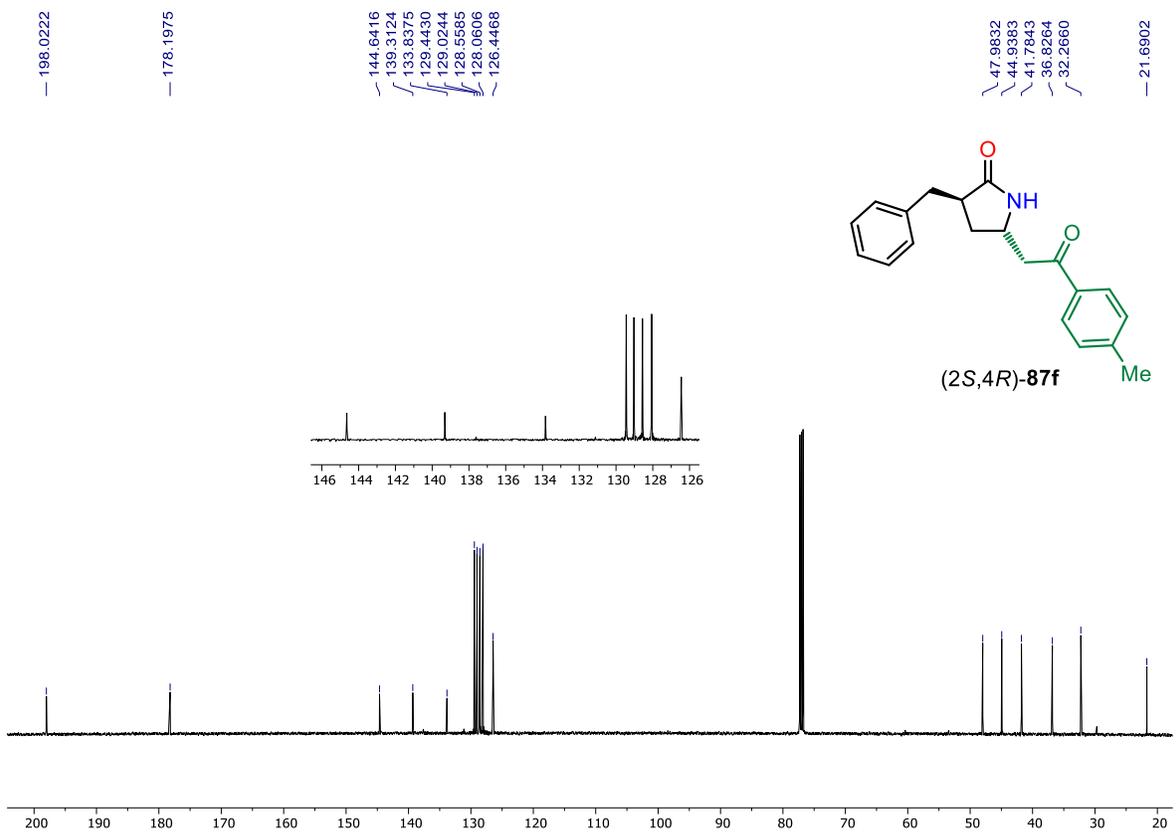
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) de **(2S,4R)-87e**.



Espectro de NOESY (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) de **(2S,4R)-87e**.



Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) de (2S,4R)-87f.



Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ) de (2S,4R)-87f.