



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS

CENTRO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS

“SÍNTESIS ESTEREOSELECTIVA DE ANÁLOGOS DE GABA”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN DISEÑO MOLECULAR Y NANOQUÍMICA

PRESENTA:

Javier Ulises Sánchez Morales.

DIRECTOR DE TESIS

DR. Mario Fernández Zertuche

CUERNAVACA, MORELOS

DICIEMBRE, 2020

Cuernavaca, Morelos diciembre 07 de 2020

Dra. Carolina Godoy Alcantar
Presente

Asunto: Revisión documento de tesis

Estimada Dra. Godoy.

Por este medio, manifiesto que una vez revisado el documento de la tesis presentado por el estudiante JAVIER ULISES SÁNCHEZ MORALES, considero que cumple con los objetivos planteados al inicio del proyecto, de igual forma la estructura del documento se adecúa a los requerimientos contemplados para la presentación de una tesis a nivel licenciatura.

Por último, los resultados y discusión fueron bien interpretados por el estudiante.

Por tal motivo, doy mi consentimiento aprobatorio al documento presentado.

Atentamente

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'm Fernández', is placed on a light gray rectangular background.

Mario Fernández Zertuche
Director de tesis

Dedicatoria

A mi familia

En especial a mi madre Imelda Morales Fajardo y a mi Padre Sergio Ulises Sánchez Buelna.

A mis hermanos, Kassandra y Sahir

Agradecimientos

A mis padres

Por todo su apoyo incondicional y consejos en todo momento.

A mis hermanos

Por darme el empujón para seguir trabajando, pero también a distraerme de vez en cuando. Gracias por ser una parte muy importante de mi vida, por siempre estar juntos y brindarnos apoyo en cada momento. Gracias Cassandra y Sahir.

A mis amigos, compañeros del laboratorio y personas especiales

Gracias a todas y cada una de las personas que formaron parte de mi mundo personal y académico, por ayudarnos en los momentos difíciles y disfrutar los alegres, por todas las anécdotas y logros que realizamos juntos y sobre todo por compartir esta etapa y hacerla única. Deseo el éxito de todos y cada uno de ustedes.

A los miembros del comité

Por todos sus comentarios, sugerencias, observaciones y tiempo.

Dra. María Luisa del Carmen Garduño Ramírez.

Dr. José Luis Viveros Ceballos.

Dr. Mario Fernández Zertuche.

De Manera especial

A la M. en C. Lucero Díaz Peraltapor toda la paciencia infinita, su guía, apoyo y consejo a lo largo de todo este proyecto de investigación.

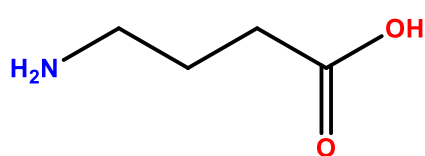
Al Dr. Mario Fernández Zertuche por brindarme la oportunidad de trabajar en este proyecto de investigación y todo el apoyo brindados a lo largo de este proyecto.

Al Centro de Investigaciones Químicas

Por las instalaciones y el equipo, que si ellos hubiera sido imposibles realizar este trabajo.

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio 203 de Síntesis Orgánica del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la dirección del Dr. Mario Fernández Zertuche

Resumen



GABA
1

Para que se lleven a cabo las funciones normales del sistema nervioso central y la actividad neuronal es necesario un equilibrio de excitación e inhibición de las neuronas. El ácido γ -aminobutírico (GABA) **1**, es el neurotransmisor inhibitorio más importante del sistema nervioso central de los seres vivos. Debido a esto este proyecto de investigación desarrollo una

síntesis diastereoselectiva de análogos de GABA previamente preparados en el grupo de investigación y que, además, permita la asignación de la estereoquímica absoluta de estos análogos. En el laboratorio se logró obtener los compuestos enantioméricamente puros, gracias al auxiliar quiral que permitió la formación de los diastereoisómeros **10a** y **10b**, facilitando su separación por técnicas de columna de cromatografía, y posteriormente la asignación de la estereoquímica absoluta de estos compuestos por medio de correlación química de la rotación óptica.

ÍNDICE

1 Introducción	1
2 Antecedentes	3
2.1. Ácido γ -aminobutírico (GABA).	3
2.1.1. Funciones del GABA en el sistema nervioso central (Ciclo del GABA)	3
2.1.3. Biosíntesis y metabolismo de GABA.	4
2.2 Receptores de GABA (GABA _A , GABA _B y GABA _C).	5
2.2.1 Receptor GABA _A	5
2.2.2 Receptor GABA _B	6
2.2.3 Receptor GABA _C	6
2.3. Ácido γ -aminobutírico aminotransferasa (GABA-AT).	7
2.3.1 Mecanismo Catalítico de Ácido γ -aminobutírico aminotransferasa (GABA-AT).	7
2.4 Inhibición del GABA-AT.....	8
2.5 Enfermedades relacionadas con alteraciones en los niveles de GABA.....	10
2.5.1 Epilepsia.	10
2.6 Síntesis y evaluación de análogos en el grupo de investigación.....	10
2.7 Quiralidad.....	11
3 Objetivos	12
3.1 Objetivos Generales.....	12
3.2 Objetivos específicos.....	12
4 Justificación	15
5 Resultados y Discusión	16
5.1 Diseño de análogos de GABA y Baclofen.....	16
5.2 Análisis retrosintético.....	16
5.3 Síntesis de análogos de Baclofen.....	17
5.4 Síntesis del auxiliar quiral.	18
5.5 Acoplamiento del auxiliar quiral.	19
5.6 Formación y separación de diastereoisómero.....	21
5.7 Reducción del grupo nitro y asignación de la estereoquímica.....	24
5.8 Síntesis del mesilato.....	25
5.8.1 Reacción de remoción de Auxiliar.....	26
5.8.2 Esterificación.....	26
6.8.3 Reacción de Nef oxidativa.....	27

5.9 Rendimientos obtenidos.....	27
6 Conclusiones	29
7 Perspectiva	31
8 Parte experimental	32
8.1 Información General.....	32
8.2 Procedimiento para la síntesis de análogos del Baclofen.	33
8.2 Procedimiento general para la Síntesis del auxiliar quiral 8	33
8.3 Acoplamiento del auxiliar quiral.	33
8.4 Formación y separación de diastereoisómeros 10a y 10b	34
8.5 Reducción del grupo Nitro y asignación de la estereoquímica.	35
8.6 Síntesis del mesilato 17	35
8.6.1 Remoción del auxiliar quiral / Hidrólisis	36
8.6.2 Reacción de esterificación	36
8.6.3 Reaccion de Nef	37
8.7 Formación de análogos de GABA 22 y 23	37
9 Bibliografía	39
10 Anexos	43
Auxiliar quiral.	43
Acoplamiento del auxiliar quiral.	44
Formación de Diastereoisómeros.....	47

ÍNDICE DE CONTENIDO

Figura 1 ácido γ -aminobutírico (GABA) y L-glutamato.	1
Figura 2 GABA 1, (S)-Pregabalina 2, (R)-Baclofén 3 y Vigabatrina 4.	2
Figura 3 GABA.	3
Figura 4 Ciclo de GABA. GAD es glutámico descarboxilasa, GAT es un transportador de GABA, GAT-AT es GABA aminotransferasa.....	4
Figura 5 Degradación del GABA. ⁶	5
Figura 6 Reacciones de transaminación acopladas de GABA-AT: A) Conversión de GABA y PLP a Semialdehido succinico y PMP, B) Conversión de PMP y α -cetoglutarato a PLP y L-glutamato. ²¹	7
Figura 7 Conversión de GABA y PLP a Semialdehido succínico y PMP.....	8
Figura 8 Conversión de PMP y α -cetoglutarato a PLP y L-glutamato.	8
Figura 9 Análogos de 1 al 4 sintetizados en el grupo de investigación con su porcentaje de inhibición enzimática sobre GABA-AT.....	11
Figura 10 Carbón estereogénico posición $\square\square$	15
Figura 11 Análogos sintetizados en el grupo de investigación con su % inhibición Enzimático sobre GABA-AT.	16
Figura 12 Grupo farmacofórico. Grupo amino (NH ₂) en posición y con respecto al grupo carboxilo.....	16
Figura 13 Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de 8	19
Figura 14 Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de 9	20
Figura 15 Espectro de RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de 9	21
Figura 16 En la placa de cromatografía se puede observar como los diastereoisómeros se separan.	22
Figura 17 Rotación a conformación más estable B del auxiliar quiral.	23
Figura 18 Adición conjugada 1, 4 de Nitro metano favorece ligeramente la formación del diastereoisómeros 10b (S,R).....	23
Figura 19 Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de 10	24
Esquema 1 Mecanismo de reacción de la inhibición irreversible de la Vigabatrina con la Lys329 de sitio activo de la enzima aminotransferasa de GABA. ⁴	9
Esquema 2	12
Esquema 3	12
Esquema 4	13
Esquema 5	13
Esquema 6	13
Esquema 7	14
Esquema 8	14
Esquema 9	14
Esquema 10 Análisis retrosintético.	17
Esquema 11 Se obtuvo un rendimiento del 78% en la síntesis del análogo de Baclofen.	18
Esquema 12 Rendimientos de reacción de síntesis del auxiliar quiral.	18
Esquema 13 Rendimientos de reacción del acoplamiento del auxiliar quiral.	20

Esquema 14 Se obtuvo un rendimiento de reacción de 74% en la formación de los diastereoisómeros, con una proporción diastereomérica 65:35, siendo el compuesto 10b el más abundante.	21
Esquema 15 Reducción del grupo nitro y asignación de la estereoquímica.	25
Esquema 16 Rendimiento de reacción de la Hidrólisis del diastereoisómero.	26
Esquema 17 Rendimiento de reacción de esterificación.	27
Esquema 18 Reacción de Nef Oxidativa.	27
Esquema 19 Reducción del grupo Nitro y asignación de la estereoquímica.	35
Esquema 20 Síntesis del mesilato.	36
Esquema 21 Formación de análogos de GABA.	37

Tabla 1 Asignación de configuración de las lactamas por correlación de rotación óptica.	25
Tabla 2 Rendimientos de reacción.	28

1 Introducción

Una convulsión es la manifestación clínica de una descarga anormal, excesiva e hipersincrónica de una población de neuronas corticales. La epilepsia es un desorden del sistema nervioso central caracterizado por convulsiones recurrentes inducidas por el mal funcionamiento de dos neurotransmisores que regulan la actividad neuronal, el L-glutamato como neurotransmisor excitatorio y el ácido γ -aminobutírico (GABA) como neurotransmisor inhibitorio (**Figura 1**), provocando un exceso de actividad neuronal en el sistema nervioso central.¹

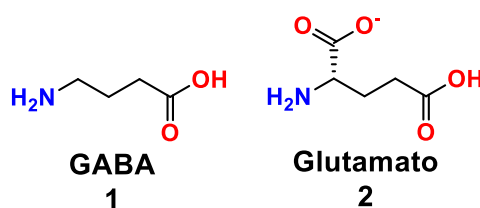


Figura 1 ácido γ -aminobutírico (GABA) y L-glutamato.

La epilepsia es una enfermedad que afecta aproximadamente al 1%² de la población mundial con una incidencia de 1000 a 100,000 nuevos casos por año; en México, representa un problema de salud pública, ya que el 1.8% de la población sufre de ella.³ Para tratar y controlar esta enfermedad existen diferentes estrategias, una de ellas es utilizar fármacos con acción antiepiléptica, que puedan regular la concentración de los dos neurotransmisores mencionados anteriormente.⁴

El principal neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central, GABA, interactúa con tres receptores específicos de GABA denominados: GABA_A, GABA_B y GABA_C. Los receptores ionotrópicos denominados GABA_A y GABA_C son canales iónicos, que como su nombre lo indica, son activados por ligandos permeables a los aniones que permiten la transmisión sináptica rápida, mientras que el receptor GABA_B es un receptor acoplado a la proteína G, este modula la transmisión sináptica lenta y prolongada a través de sistemas efectores intracelulares,⁵ es decir, estos receptores pueden modular la liberación sináptica.

En el cerebro adulto, los receptores GABA_A son permeables a los iones Cl⁻; por lo que, tras la activación, la entrada de Cl⁻ hiperpolariza a la membrana e inhibe los potenciales de acción. Por lo tanto, las sustancias que son agonistas del receptor GABA_A, como los barbitúricos y las benzodiazepinas, son bien conocidas por suprimir la actividad convulsiva.

Los receptores GABA_B están asociados con los sistemas de segundo mensajero, y conducen a la disminución de la liberación del neurotransmisor. Los sistemas de segundo mensajero a menudo resultan en la apertura de canales de K⁺, lo que conduce a una corriente hiperpolarizante. Hasta ahora el único ligando agonista del

receptor GABA_B es el Baclofen, el cual es un fármaco utilizado en la clínica para tratar espasticidad muscular y lesiones en la medula espinal.¹

Las bajas concentraciones de GABA en el cerebro se han asociado con la epilepsia, y además con algunas otras enfermedades y desórdenes neurológicos como; Parkinson, Alzheimer, la enfermedad de Huntington e inclusive con la adicción a la cocaína. Razón por la cual, una de las estrategias que se ha utilizado para contrarrestar todas estas enfermedades, es el aumento de las concentraciones de este neurotransmisor. Desafortunadamente GABA no puede ser administrado directamente debido a su carácter hidrofílico que lo hace incapaz de cruzar la barrera hematoencefálica (BHE). Uno de los principales métodos para aumentar los niveles de GABA en el cerebro es usar pequeñas moléculas con una mayor lipofilia que puedan cruzar dicha barrera e inhibir la actividad de la GABA-aminotransferasa (GABA-AT), enzima responsable de degradar el GABA.^{6;5}

Hoy en día se dispone ya de algunos fármacos aprobados por la FDA (Food and Drug Administration), lo cuales son análogos lipofílicos del GABA, como es el caso de la (S)-Pregabalina **2**, (R)-Baclofén **3** y Vigabatrina **4**.

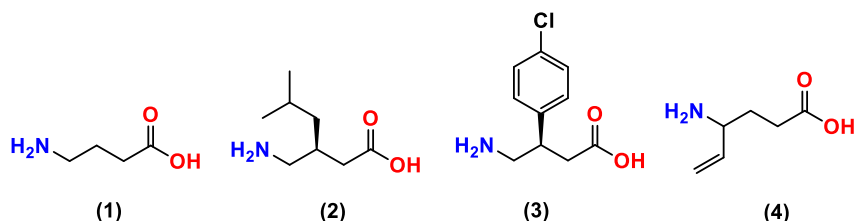


Figura 2 GABA 1, (S)-Pregabalina 2, (R)-Baclofén 3 y Vigabatrina 4.

La presencia de estos sustituyentes incrementa el carácter lipofílico de estas moléculas lo que les permite cruzar la barrera hematoencefálica y llegar al sitio de acción en el sistema nervioso central.⁷

Otra parte importante en el diseño de estas moléculas es la asignación de su estereoquímica absoluta, que nos permite definir la orientación de los átomos en el espacio y como esta orientación puede favorecer una mejor interacción con los sitios activos de la enzima GABA-AT.

En este contexto, la síntesis de análogos del neurotransmisor GABA, así como de algunos fármacos representativos que son análogos estructurales, ha sido tema de investigación por su promisorio potencial terapéutico. De aquí la gran importancia de desarrollar síntesis estereoselectivas de análogos de GABA que permitan la asignación de la estereoquímica absoluta y el desarrollo de nuevas moléculas enfocadas principalmente en la modificación estructural del grupo amino para determinar el potencial inhibitorio sobre la enzima GABA-AT.

2 Antecedentes

2.1. Ácido γ -aminobutírico (GABA).

El ácido γ -aminobutírico (GABA) es el neurotransmisor inhibitorio más importante del sistema nervioso central. Es una pequeña molécula aquiral, con un peso molecular de 103 g/mol, con alta solubilidad en agua, cuyo coeficiente de partición (clogP) es 2.13 y que interactúa con tres receptores GABA_A, GABA_B y GABA_C. Fue sintetizado por primera vez en 1883, pero solo fue descubierto en el tejido cerebral hasta 1950 por tres grupos de investigación independientes.⁸

Cuando un paciente experimenta un alto grado de excitación provocada por un incremento en la concentración del *L*-glutamato el cerebro libera al GABA para neutralizar los efectos del *L*-glutamato actuando como un "freno" en momentos de estrés desbocado.⁹ (**Figura 3**)

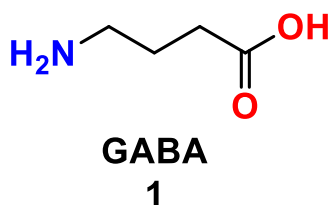


Figura 3 GABA.

Desafortunadamente un buen número de alteraciones del sistema nervioso central pueden terminar en un desequilibrio entre excitación e inhibición, provocando enfermedades neuronales, para tratar dichos casos los fármacos utilizados en su tratamiento actúan para restaurar el equilibrio entre estos neurotransmisores, una de estas estrategias se verá más adelante.

2.1.1. Funciones del GABA en el sistema nervioso central (Ciclo del GABA)

Siendo GABA el neurotransmisor inhibitorio principal en el sistema nervioso central de los mamíferos, y *L*-glutamato el neurotransmisor excitatorio,¹⁰ para que se puedan llevar a cabo las funciones normales en el cerebro es necesario un equilibrio en la red neuronal, es decir, un equilibrio de neurotransmisores inhibitorios y excitatorios.

GABA se forma a partir del *L*-glutamato en la neurona presináptica (**Figura 4**), la despolarización de la neurona presináptica estimula la liberación de GABA al espacio sináptico a donde es conducido por transportadores de GABA (GAT). Una vez que entra al espacio sináptico GABA se puede unir a uno de los tres receptores de GABA (GABA_A, GABA_B o GABA_C) que se encuentran en la neurona postsináptica.¹¹ La transmisión sináptica puede guiar a la unión de GABA alostérico a los receptores de GABA_A provocando la apertura de los canales de cloro, creando así un corto aumento

en la conductancia del anión, lo que conduce a la hiperpolarización de una membrana neuronal, estos eventos resultan en una reducción de la excitabilidad celular, es decir, una inhibición neuronal.¹² A diferencia de los receptores GABA_A; que son canales iónicos activados por ligando, los receptores GABA_B son metabotrópicos (acoplados a proteínas G); la activación por GABA resulta en una apertura medida por receptores acoplados a proteínas G de los canales de potasio enlazados, lo que da como resultado una hiperpolarización e inhibición neuronal similar a los receptores GABA_A.¹³ Después de la neurotransmisión en el espacio sináptico, la acción del GABA termina, ya sea por la recuperación por la neurona presináptica, o cuando el GABA es transportado a la célula glial.¹¹

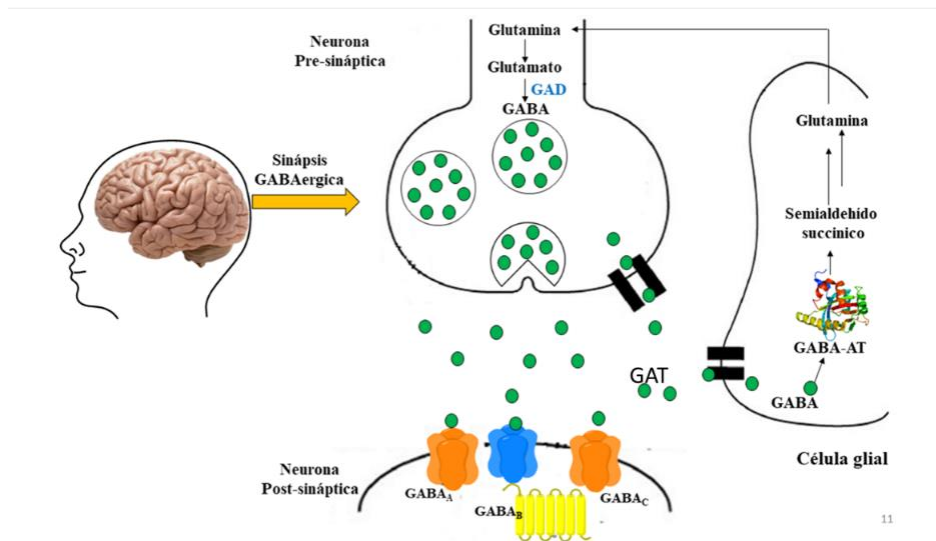


Figura 4 Ciclo de GABA. GAD es glutámico descarboxilasa, GAT es un transportador de GABA, GAT-AT es GABA aminotransferasa.

2.1.3. Biosíntesis y metabolismo de GABA.

Una vez dentro de la célula glial, GABA es catabolizada por GABA-aminotransferasa (GABA-AT) y su cofactor, piridoxal 5 fosfato (PLP), que lo transforma al semialdehído succínico (**Figura 5**), este metabolito puede ser oxidado a γ-hidroxibutirato o reducido a ácido succínico, el ácido succínico entra al ciclo de Krebs y se produce el α-cetoglutarato que posteriormente por acción del GABA-AT y del cofactor piridoxamina-5-fosfato (PMP) produce L-glutamato que a través de la enzima glutamato descarboxilasa (GAD) produce GABA.¹⁴

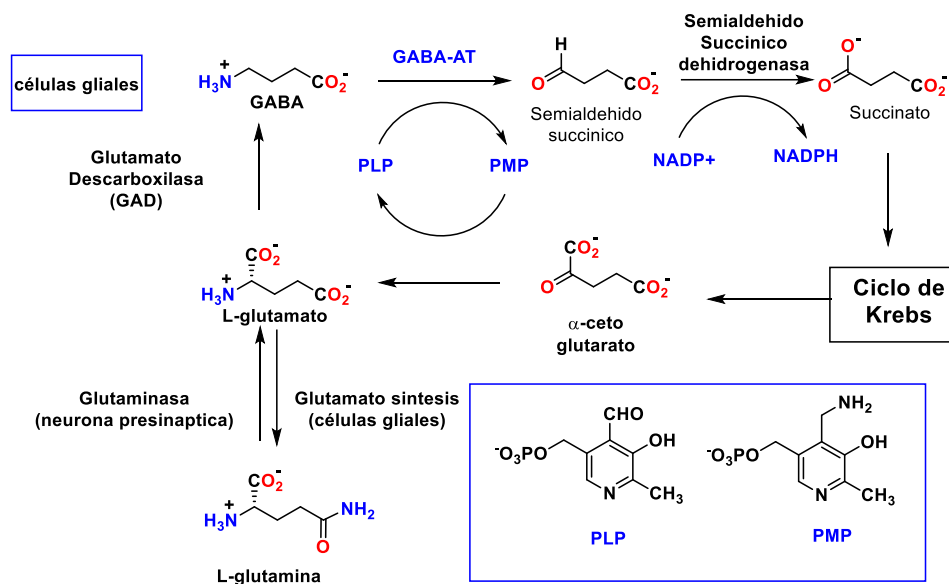


Figura 5 Degradación del GABA. ⁶

2.2 Receptores de GABA (GABA_A, GABA_B y GABA_C).

Como se menciona anteriormente; una vez que el GABA es liberado en el espacio sináptico, se pueden llevar a cabo las funciones fisiológicas mediante la interacción con los receptores de GABA que se encuentran en los sitios pre y postsinápticos.¹⁵ Hasta la fecha se han clasificado tres receptores específicos de GABA: GABA_A, GABA_B y GABA_C.¹⁶ Los receptores GABA_B son definidos como receptores metabotrópicos (acoplados a proteínas G), estos regulan la transmisión sináptica lenta y prolongada a través de sistemas de segundo mensajero que activan a canales de Ca²⁺ y K⁺, en el caso de los receptores GABA_A y GABA_C se definen como receptores ionotrópicos, y estos regulan la respuesta rápida por la apertura de canales iónicos, que permiten la entrada de iones Cl⁻.¹³

2.2.1 Receptor GABA_A.

Los receptores GABA_A se localizan generalmente en la membrana postsináptica. Al igual que otros miembros de la familia de canales iónicos activados por ligando pentamérico, los receptores GABA_A están constituidos por un ensamblaje pseudosimétrico de cinco subunidades (α, β, γ, δ, ε, θ y ρ) idénticas u homólogas que forman un ion conductor de cloruro. El genoma humano comprende genes que codifican 19 subunidades de receptores GABA_A diferentes (α1-6, β1-3, γ1-3, δ, ε, ρ1-3, π y θ) que teóricamente permiten la formación de múltiples subtipos de receptores GABA_A. La composición de la subunidad del receptor determina sus propiedades farmacológicas, incluida la sensibilidad a los agonistas, así como su sensibilidad a los fármacos.¹⁷ El receptor GABA_A puede ser modulado alostéricamente por dos grupos

importantes de fármacos, las benzodiazepinas y los barbitúricos, así como por los alcoholes.

La activación del receptor tras la unión alostérica de su ligando aumenta la permeabilidad de los aniones de Cl^- , dando lugar a una hiperpolarización de la célula receptora, haciendo el potencial de la membrana más negativo, esto determina un potencial postsináptico inhibitorio.¹⁸

2.2.2 Receptor GABA_B.

Los receptores GABA_B pertenecen a la clase C de los receptores acoplados a proteína G (GPCR), junto con los receptores de detección de calcio (CaS), glutamato metabotrópico (mGlu) y gusto 1 (TAS1). A diferencia de los receptores mGlu y CaS (que funcionan en formas homodiméricas), el receptor GABA_B requiere de la asociación de dos subunidades distintas (formar un heterodímero) para que este sea funcional, estas dos subunidades se clasifican como: GB1 y GB2. Los heterodímeros GABA_B utilizan un mecanismo alostérico único para la transducción de señales, en el que la unión de un agonista en la subunidad GB1 conduce a la activación de la proteína G a través de un reordenamiento de la interfaz intracelular del dominio transmembranal de GB2.¹⁹

Cuando estos receptores son activados dan lugar a una inhibición de la adenililciclase, a un aumento de la conductancia de K^+ y a una disminución de Ca_2^+ . Como consecuencia, la estimulación de este receptor conduce a una hiperpolarización de la membrana celular y a un bloqueo de la liberación de neurotransmisores.⁷

2.2.3 Receptor GABA_C.

El tercer tipo de receptor de GABA, denominado GABA_C, también es un canal de iones cloruro, sin embargo, los receptores GABA_C muestran distintas propiedades electrofisiológicas, esto les permite tener una mayor sensibilidad para GABA comparado con los receptores GABA_A. Los receptores GABA_C también difieren en su perfil farmacológico en comparación con los receptores GABA_A y GABA_B, es decir, no es sensible a los ligandos específicos de estos receptores. Son insensibles a los moduladores del receptor GABA_A, como los barbitúricos y las benzodiazepinas, así como a la bicucullina, un antagonista del receptor GABA_A típico, y no son activados por el agonista del receptor GABA_B, como el Baclofen.²⁰

2.3. Ácido γ -aminobutírico aminotransferasa (GABA-AT).

Las aminotransferasas son enzimas esenciales que catalizan dos reacciones de transaminación acopladas entre un aminoácido y un α -cetoácido, por lo que desempeñan un papel de suma importancia en el metabolismo del nitrógeno en las células. Todas las aminotransferasas requieren piridoxal 5'-fosfato (PLP) como cofactor, que está unido a un residuo de lisina básica en la bolsa catalítica a través de una base de Schiff, para convertir un aminoácido en el correspondiente compuesto de carbonilo con la conversión concomitante de PLP en piridoxamina 5'-fosfato (PMP) en la primera reacción reversible. En la segunda reacción reversible, las aminotransferasas catalizan la reacción de PMP con un α -cetoácido aceptor para realizar otra transferencia de un grupo amino, convirtiendo así PMP de nuevo en PLP.²¹ Por lo tanto el ácido γ -aminobutírico aminotransferasa (GABA-AT) es un objetivo de los fármacos neuroactivos debido a que su inhibición altera el equilibrio entre su sustrato GABA y el producto *L* glutamato. Esta encima pertenece a una gran familia de aminotransferasas homólogas, que operan por el mismo mecanismo básico que consta de dos reacciones reversibles de acoplamiento, en las que el cofactor PLP oscila entre sus formas piridoxal y piridoxamina (**Figura 6**).²²

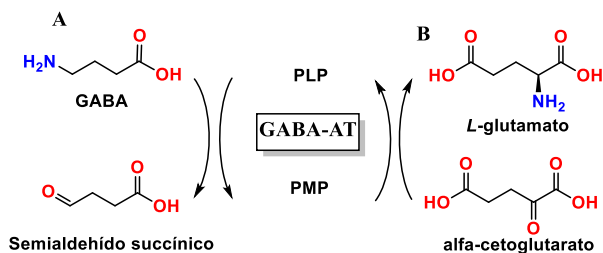


Figura 6 Reacciones de transaminación acopladas de GABA-AT: A) Conversión de GABA y PLP a Semialdehído succínico y PMP, B) Conversión de PMP y α -cetoglutarato a PLP y *L*-glutamato.²¹

Entender las bases estructurales del sustrato ayudara para el desarrollo de nuevos inhibidores, es de suma importancia ya que si se inhibe la GABA-AT, se podrá tratar trastornos neurológicos y psiquiátricos acompañados de niveles alterados de GABA.

2.3.1 Mecanismo Catalítico de Ácido γ -aminobutírico aminotransferasa (GABA-AT).

GABA-AT es una enzima dependiente de piridoxal 5'-fosfato (PLP) que cataliza la degradación del neurotransmisor inhibitor GABA a semialdehído succínico (**Figura 7**). Durante este proceso enzimático, la coenzima PLP unida a Lys329 se convierte en piridoxamina 5'-fosfato (PMP) a través de los intermediarios que se ven en el figura, en consecuencia, cuando PLP se convierte en PMP, la enzima no actúa como

catalizador porque la enzima se ha modificado. Para alcanzar el estado de catalizador, se requiere un segundo paso catalítico (**Figura 8**) en el que la enzima usa un segundo sustrato, α -cetoglutarato, para devolver el PMP a PLP para que se pueda retomar la catálisis. Como resultado de ese proceso, el α -cetoglutarato se convierte en el neurotransmisor excitatorio *L*-glutamato. En este proceso una molécula de neurotransmisor inhibitorio GABA, se convierte a una molécula de neurotransmisor excitatorio *L*-glutamato. Por último el glutamato descarboxilasa (GAD) otra encima dependiente de PLP, cataliza la formación de GABA a partir del *L*-glutamato, por lo tanto ambas encimas (GABA-AT y GAD) son indispensables para equilibrar los niveles de los dos neurotransmisores mencionados.¹¹

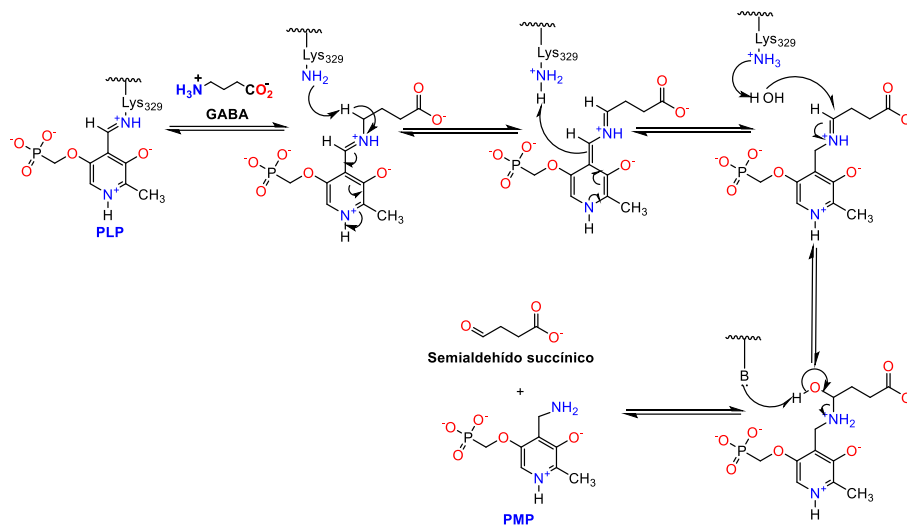


Figura 7 Conversión de GABA y PLP a Semialdehído succínico y PMP.

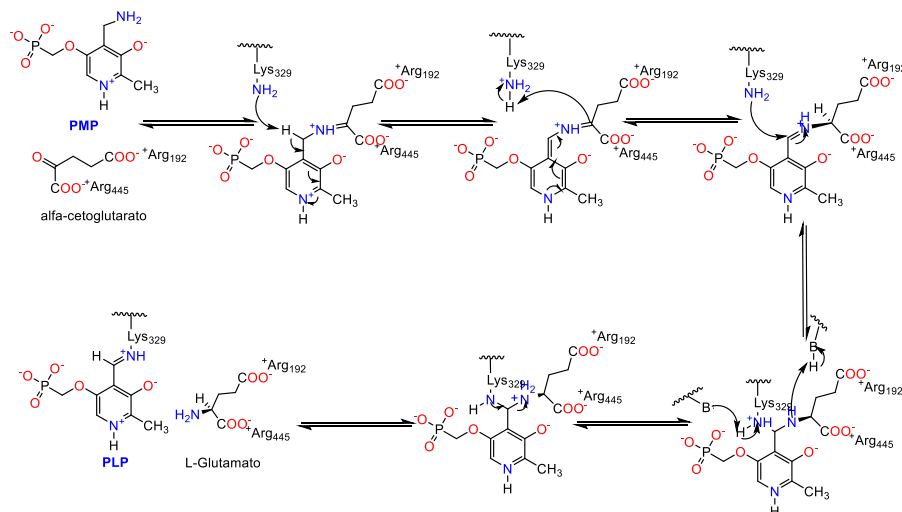


Figura 8 Conversión de PMP y α -cetoglutarato a PLP y *L*-glutamato.

2.4 Inhibición del GABA-AT.

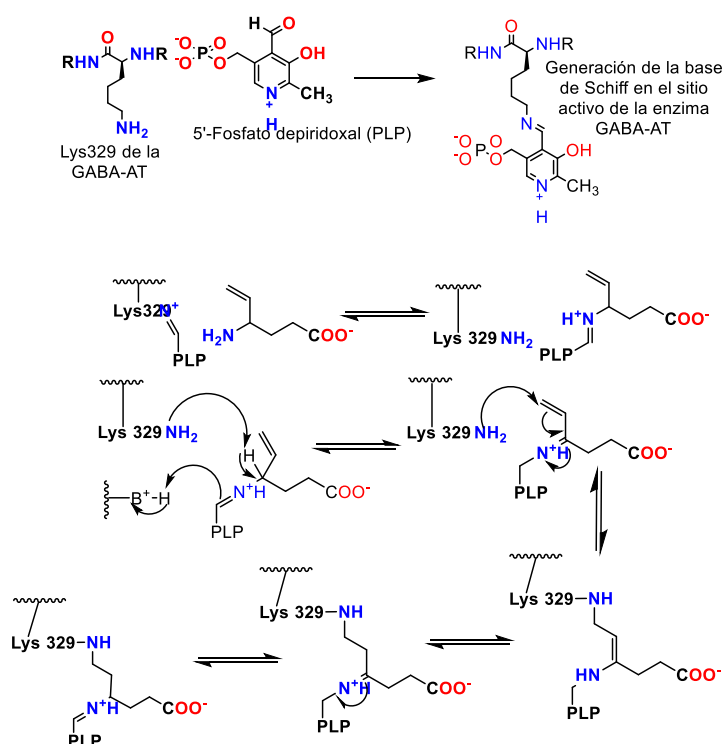
Para elevar las concentraciones de GABA en el sistema nervioso central, Silverman y su grupo de investigación (2015)⁶ se concentraron en el desarrollo de moléculas con capacidad de inactivar la enzima GABA-AT, es decir, se enfocaron en

compuestos no reactivos que requieren catálisis de GABA-AT, para convertirlos en las especies que inactiven a la enzima.

El mecanismo en el que se basa la inactivación enzimática consiste en un compuesto no reactivo cuya estructura se asemeja a la del sustrato (o producto) de la enzima objetivo y actúa inicialmente como un sustrato alternativo, sufriendo una transformación catalítica por la enzima en una especie que, antes de liberarse del sitio activo, inactiva a la enzima objetivo.²³ La ventaja de estos inactivadores es que pueden diseñarse para que se activen mediante una química particular; mediante la identificación de la estructura de la enzima inactivada o la determinación de los metabolitos producidos, se puede racionalizar la química razonable y luego validarla con otras estructuras que pueden o no sufrir esa química, esto con el fin de que el compuesto no reactivo no reaccione indiscriminadamente con otras proteínas o enzimas fuera del objetivo, que conducen a efectos secundarios no deseados.^{11,24}

Actualmente el único inactivador de GABA-AT aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos es Vigabatrina, que fue desarrollada por primera vez por Lippert²⁵ y es usada para tratar la epilepsia. Desafortunadamente este fármaco requiere de dosis diarias de 1-3 g, lo que provoca graves efectos secundarios, como la psicosis y la ceguera. Por ello, se requiere una alternativa a la Vigabatrina para el tratamiento de la epilepsia.

Aun así, el mecanismo de acción de la Vigabatrina para la inactivación del GABA-AT fue estudiado por Silverman y su grupo de investigación para diseñar análogos con menores efectos secundarios. En el estudio realizado por Silverman⁶ se encontró que la vigabatrina inactiva GABA-AT a través de dos vías: un mecanismo de adición de Michael y un mecanismo de enamina, como se muestra en el **Esquema 1**.



Esquema 1 Mecanismo de reacción de la inhibición irreversible de la Vigabatrina con la Lys329 de sitio activo de la enzima aminotransferasa de GABA.⁴

2.5 Enfermedades relacionadas con alteraciones en los niveles de GABA.

Bajas concentraciones de GABA se ha relacionado directamente o indirectamente con la patogénesis de varios desordenes neurológicos y psiquiátricos, tales como el Alzheimer,²⁶ epilepsia,^{27,28} enfermedad de Huntington,²⁹ Parkinson³⁰, discinesia tardía, e incluso con esquizofrenia³¹, depresión, ansiedad, y algunos otros desordenes del comportamiento.³² Para tratar estos desordenes se intenta incrementar la concentración de GABA en el cerebro, sin embargo, lo niveles de GABA en el cerebro no se pueden incrementar por medio de una administración directa de GABA, debido a que su alto carácter hidrofílico le hace incapaz de cruzar la barrera hematoencefálica (BHE). Una estrategia que ha sido efectiva para incrementar la concentración de GABA es el uso de análogos de GABA con mayor lipofilia que el GABA para que estos sean capaces de cruzar la barrera hematoencefálica (BHE) e inhibidores de la enzima GABA-AT (enzima encargada de degradar GABA).³³

2.5.1 Epilepsia.

La epilepsia es un desorden neurológico caracterizado por convulsiones intermitentes que involucran los sistemas motores y sensoriales. Estas convulsiones pueden ser provocadas por varios factores, pero uno que es la preocupación para este escrito, involucra el neurotransmisor inhibitor y ácido aminobutírico (GABA). Se ha sugerido que una reducción de esta sustancia inhibidora podría ser responsable de la actividad convulsiva porque los resultados de estudios bioquímicos han mostrado disminuciones tanto en GABA como en su enzima sintetizadora, ácido glutámico descarboxilasa (GAD), en los focos convulsivos.²⁸ Por lo que los mecanismos de la mayoría de los fármacos antiepilépticos provocan un incremento directo o indirecto de los niveles de GABA; mediante la inhibición GABAérgica (benzodiazepinas, Fenobarbital, Valproato), la inhibición de la recapitulación de GABA (Tiagabina), aumentando la concentración de GABA a través de la inhibición de la GABA-AT (Vigabatrina) o mediante la inhibición de los canales de sodio y calcio ³⁴

2.6 Síntesis y evaluación de análogos en el grupo de investigación.

Los trabajos realizados en nuestro grupo de investigación son parte esencial para el desarrollo de los análogos a desarrollar en este proyecto de investigación. Siguiendo la misma línea de análisis, se consideró importante aumentar el carácter lipofílico de las moléculas diseñadas y para ello se planteó una serie de análogos que además de tener al grupo amino en posición β y formando parte de un heterociclo y presentaran sustituyentes en la posición β en analogía a los sustituyentes de Pregabalina (*i*-butilo) y Baclofen (*p*-clorofenilo), sintetizando una serie de compuestos en forma racémica. De esta manera se llevó a cabo la síntesis y evaluación de la actividad biológica de análogos de GABA, (S)-Pregabalina y (R)-Baclofén, en los cuales el átomo de

nitrógeno estaba englobado dentro de un sistema heterocíclico para formar los análogos.^{7,18,35,36}

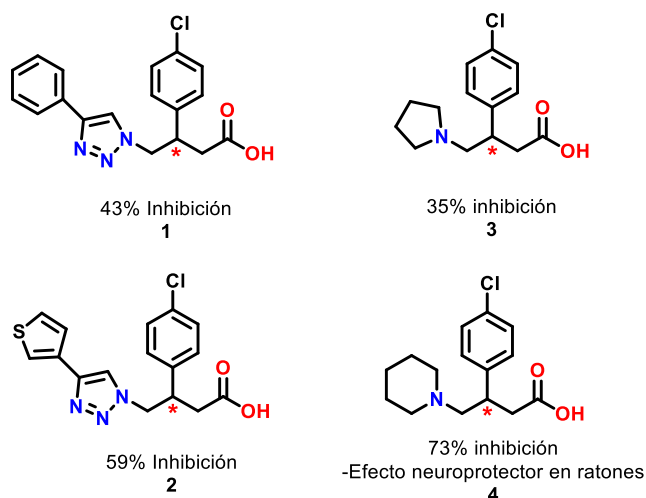


Figura 9 Análogos de 1 al 4 sintetizados en el grupo de investigación con su porcentaje de inhibición enzimática sobre GABA-AT.

Donde **1**, **2**, **3** y **4** presentaron 43%, **59%**, 35% y **73%** respectivamente, de porcentaje de inhibición (**Figura 8**),^{7,37} comparados con el control positivo Vigabatrina (48%) (VGB, principal inhibidor de la enzima GABA-AT).³⁶

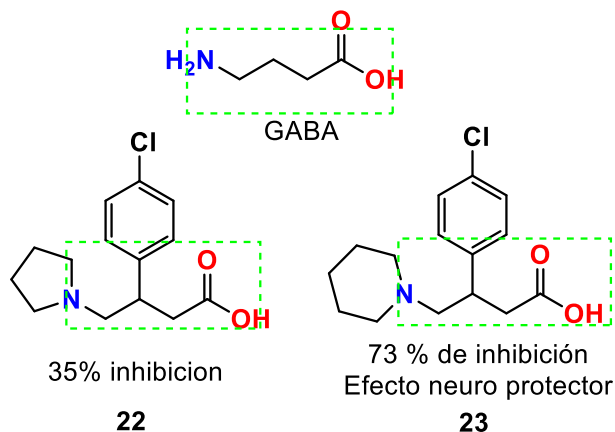
2.7 Quiralidad.

Quiralidad (del griego Kheir, que significa “mano”) se define como la propiedad de un objeto de no ser superponible con su imagen especular. Los objetos quirales son parte importante de nuestra vida y abundan en la naturaleza y juegan un papel de suma importancia en diversos procesos biológicos. Las moléculas quirales son parte importante de nuestra vida, a nivel molecular, los seres vivos estamos compuestos por moléculas quirales tales como: aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos o hidratos de carbono, las funciones biológicas de las que depende el curso de la vida se basan en el reconocimiento entre estas moléculas.³⁸

3 Objetivos

3.1 Objetivos Generales.

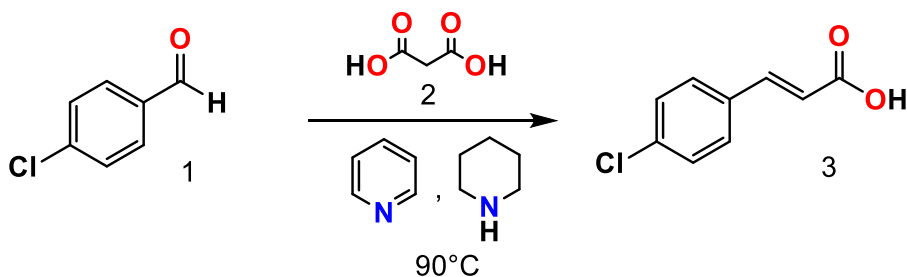
Desarrollar una síntesis diastereoselectiva de análogos de GABA previamente preparados en el grupo de investigación y que, además, permita la asignación de la estereoquímica absoluta de estos análogos. (**Esquema 2**)



Esquema 2

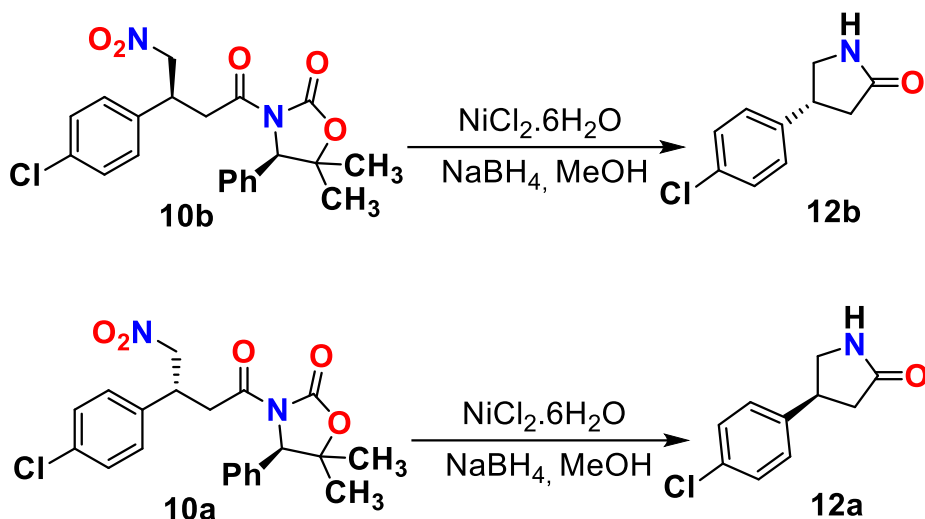
3.2 Objetivos específicos.

- Sintetizar ácido α,β -insaturado **3** partiendo del aldehído **1**. (**Esquema 3**)



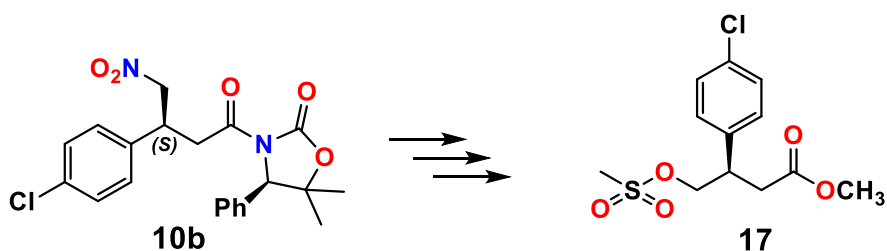
Esquema 3

- Sintetizar el auxiliar quiral **8** a partir del compuesto **4**, siguiendo una ruta de síntesis reportada en la literatura. (**Esquema 4**)



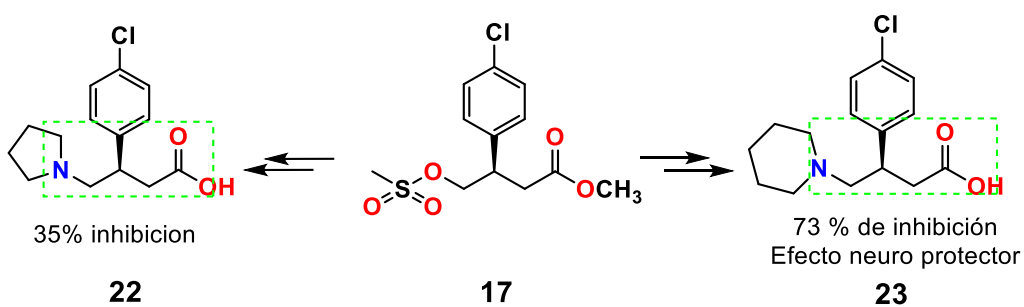
Esquema 7

- Efectuar la síntesis de Mesilato para poder proseguir a formar los análogos de GABA. (**Esquema 8**)



Esquema 8

- Formación de los análogos de GABA, con estereoquímica previamente determinada. (**Esquema 9**)



Esquema 9

4 Justificación

La información anterior nos muestra que la actividad biológica de los análogos de GABA pueden estar determinados en gran medida por la configuración absoluta del átomo de carbono estereogénico (**Figura 6**) y la creciente importancia de estos compuestos en los últimos años, nos lleva a desarrollar un método para la síntesis estereoselectiva de estos análogos de GABA, debido a que la asignación de la estereoquímica absoluta de un compuesto es indispensable para identificar sus propiedades químicas y físicas, así como el efecto que tendrán en el organismo.

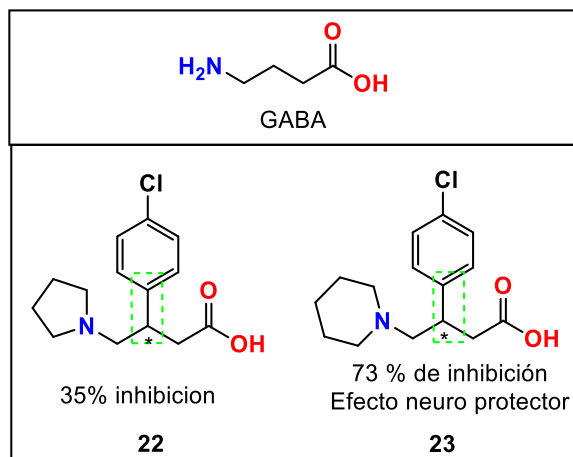


Figura 10 Carbón estereogénico posición β .

En el grupo de investigación se han sintetizado previamente análogos racémicos con estructura de GABA con distintas modificaciones en el grupo amino de este compuesto y se han evaluado como inhibidores de la GABA-AT como se puede ver en la **Figura 11**. El presente proyecto de investigación busca desarrollar un método de síntesis estereoselectivo de análogos de GABA que, a la vez, permita la asignación de la estereoquímica absoluta de análogos previamente sintetizados en este laboratorio. Esto permitirá la obtención de compuestos enantioméricamente puros dando pie a estudios *in vivo* más certeros y específicos.

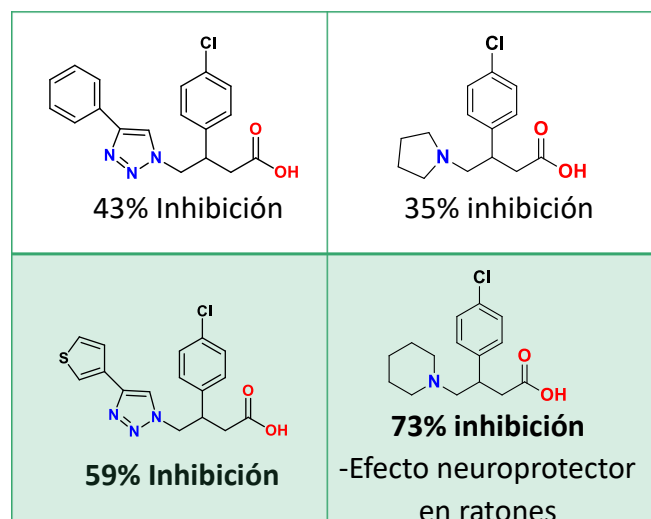


Figura 11 Análogos sintetizados en el grupo de investigación con su % inhibición Enzimático sobre GABA-AT.

5 Resultados y Discusión.

5.1 Diseño de análogos de GABA y Baclofen.

Para el diseño de análogos de GABA y (*R*)-baclofen se decidió conservar el grupo farmacóforo (grupo amino NH₂) en la estructura.

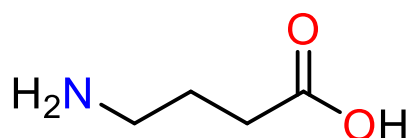


Figura 12 Grupo farmacofórico. Grupo amino (NH₂) en posición β con respecto al grupo carboxilo.

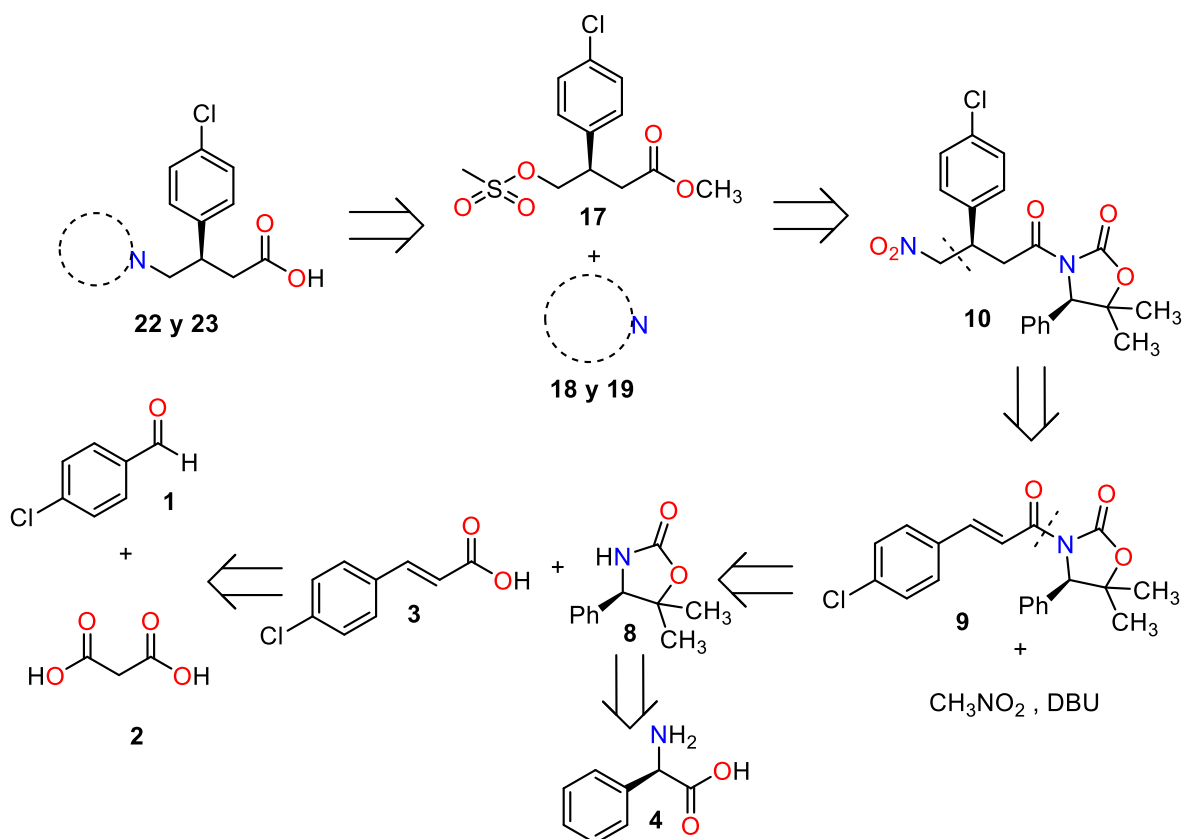
Para incrementar la lipofilia de los análogos, se establece que el átomo de nitrógeno se encuentra ligado a un sistema heterocíclico y se hace una sustitución en la posición β , esto en referencia a lo que se ha desarrollado previamente dentro del grupo de investigación.^{7 35 18}

El sistema heterocíclico y la sustitución en la posición β con respecto al grupo carboxilo añade una característica importante a la síntesis y a la asignación de la estereoquímica de estos análogos.

5.2 Análisis retrosintético.

La ruta de síntesis de los análogos de Baclofen está basada en el análisis retrosintético mostrado en el **Esquema 10**. La síntesis de los compuestos **22** y **23** inician a partir de los heterociclos **18** y **19** y el mesilato **17**, que a su vez proviene de

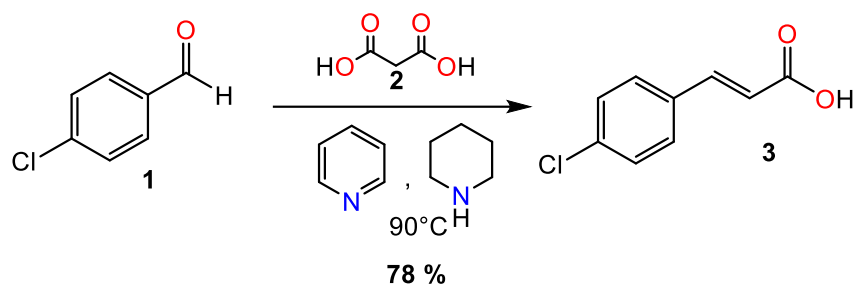
los diastereoisómeros **10a** y **10b**, Posteriormente se propone una desconexión carbono-carbono (C-C), para generar el sistema α,β -insaturado **9** y nitrometano. La siguiente desconexión propuesta es la del enlace C-N del auxiliar quiral generando así el ácido α,β -insaturado **3** y el auxiliar quiral **8**. Finalmente, el ácido α,β -insaturado **3** proviene del 4-clorobenzaldehído **1** y el ácido malónico **2**. El auxiliar quiral **8** puede obtenerse a partir de la (*R*)-Fenilglicina **4**, de acuerdo a protocolos reportados previamente en la literatura.^{39,40}



Esquema 10 Análisis retrosintético.

5.3 Síntesis de análogos de Baclofen.

El primer paso para la ruta de síntesis de los análogos **22** y **23** inicia con la reacción de Knoevenagel del 4-clorobenzaldehído **1** para obtener el ácido α,β -insaturado **3**.

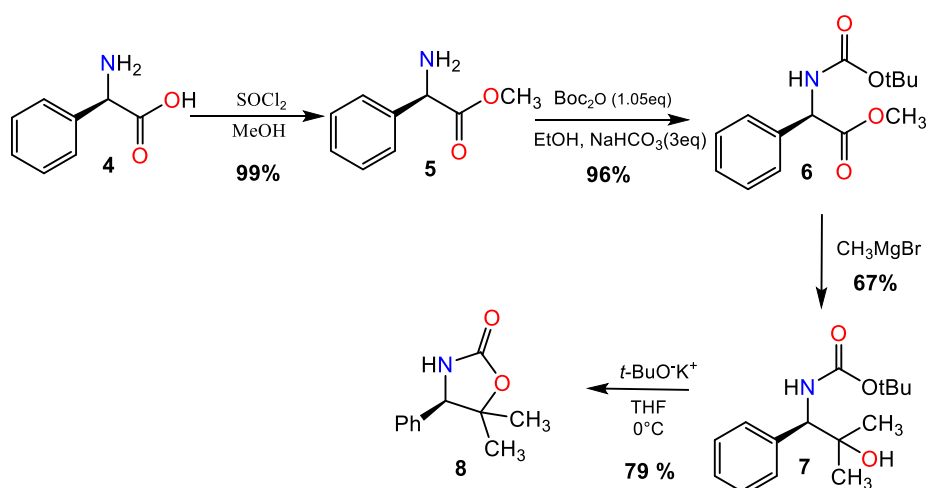


Esquema 11 Se obtuvo un rendimiento del 78% en la síntesis del análogo de Baclofen.

Esta reacción de Knoevenagel^{39;41} consiste en someter al aldehído **1** con el ácido malónico **2**, en piridina y piperidina con calentamiento a reflujo durante 2 h. Para este primer paso en la síntesis de los análogos de GABA se obtuvo el ácido α,β -insaturado **3** en un rendimiento del 78% (**Esquema 11**).

5.4 Síntesis del auxiliar quiral.

El segundo paso de la ruta de síntesis consistió en sintetizar el auxiliar quiral **8** siguiendo las metodologías descritas por Peter B. Wyatt⁴² y por Stephen G. Davies⁴³. Se parte del (*R*)-fenilglicina **4**, el cual se esterifica con cloruro de tionilo (SOCl_2) en metanol para la obtención del éster **5**, el cual se obtuvo con un rendimiento de 99%. Una vez obtenido el éster **5**, se realiza una protección del grupo amino con carbonato de di-*tert*-butilo (Boc_2O) generando el compuesto **6**, con un rendimiento de 96%. Después de obtener **6** se lleva a cabo una reacción de Grignard para obtener el alcohol **7**, el cual se obtuvo con un rendimiento del 67%. Por último, el alcohol **7** se trató con *tert*-butoxido de potasio para ciclar el alcohol **7** y obtener el auxiliar quiral **8**, esta reacción tuvo un rendimiento de 79%. (**Esquema 12**)



Esquema 12 Rendimientos de reacción de síntesis del auxiliar quiral.

El compuesto **8** es un sólido blanco brillante, semejante a una nube o algodón de azúcar. Se caracterizó por RMN de ^1H (ver anexo). En la **Figura 13** se muestra el espectro de ^1H de **8**, en él se observan dos señales en 0.93 y 1.61 ppm que integran para tres hidrógenos y ambas son señales simples, que corresponden a los dos $-\text{CH}_3$ (A) de la molécula, la siguiente señal que se puede observar es en 4.66 ppm que integra para un hidrógeno y corresponde al $-\text{CH}$ (B). Las señales alrededor de 7.48 y 7.18 integran para 5 hidrógenos y es una señal múltiple, que corresponde al anillo aromático que se encuentra en la molécula.

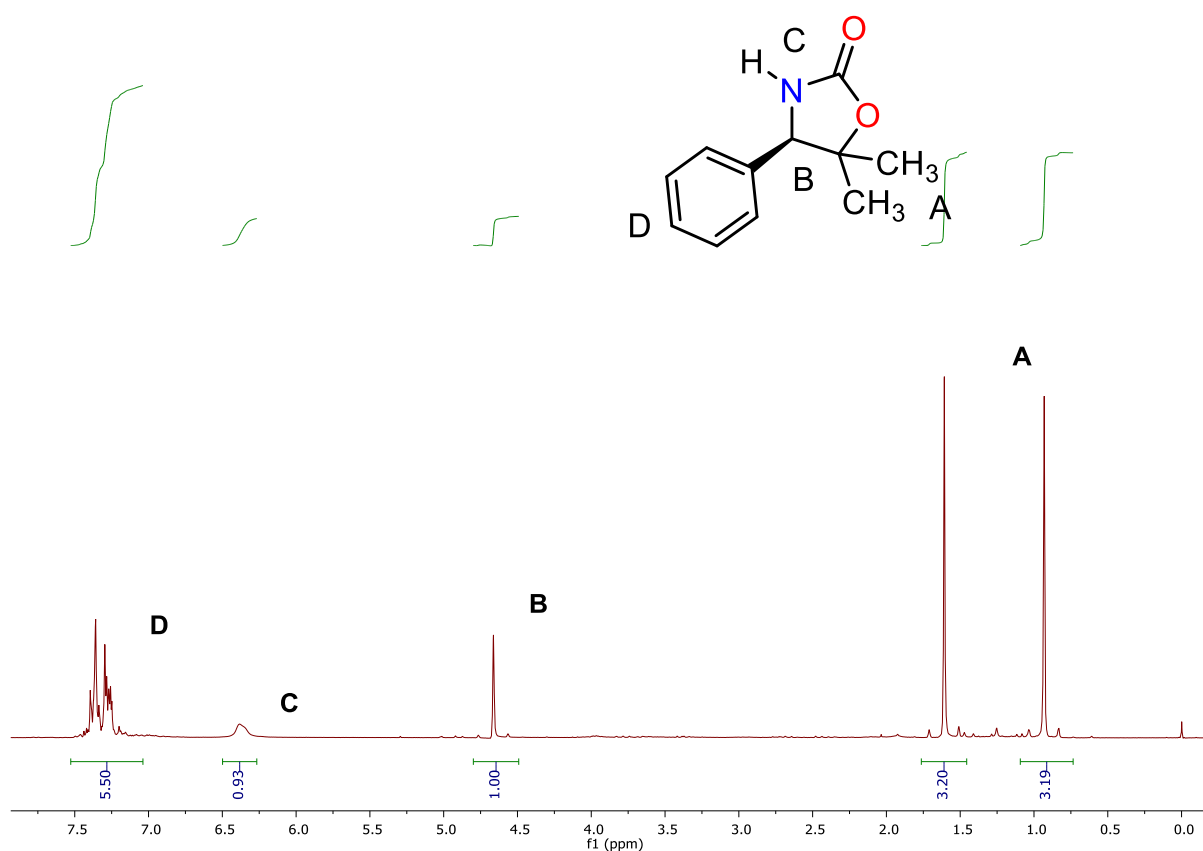
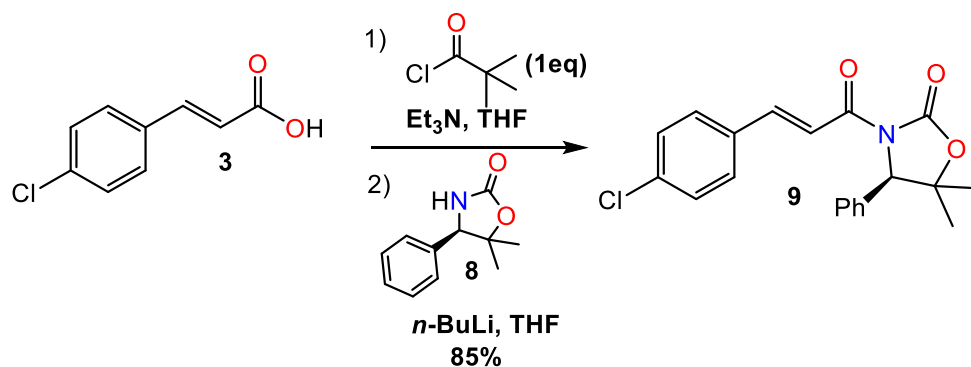


Figura 13 Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **8**.

5.5 Acoplamiento del auxiliar quiral.

Una vez obtenidos el compuesto α,β -insaturado **3** y el auxiliar quiral **8**, se efectuó su acoplamiento vía la formación del anhídrido mixto^{43,44,45}. El anhídrido mixto se obtuvo al tratar el ácido **3** con cloruro de pivaloilo ($(\text{CH}_3)_3\text{CCOCl}$) seguido de la adición de la sal de litio del auxiliar quiral **8** para formar el compuesto **9**, el cual se obtuvo con un rendimiento de 85% (**Esquema 13**).



Esquema 13 Rendimientos de reacción del acoplamiento del auxiliar quiral.

La caracterización de el compuesto **9** se realizó mediante RMN de ^1H y ^{13}C para corroborar la estructura del compuesto (ver anexo). En la **Figura 14** se muestra el espectro de ^1H de **9**. Se observa dos señales en 1.03 y 1.64 ppm que integran para tres hidrógenos y que corresponden a los dos $-\text{CH}_3$ (A) y se ve una señal en 5.20 ppm correspondiente al $-\text{CH}$ (B) que corrobora la presencia del auxiliar quiral en la molécula. Las señales de 7.19(C), 7.52(E) y 7.35(D) ppm corresponden a los anillos aromáticos de la molécula. Alrededor de 7.71(F) y 7.99(G) ppm, se observan las dos últimas señales ambas siendo dobles e integrado para un hidrógeno que corresponden a los $-\text{CH}$ que se encuentran unidos al doble enlace.

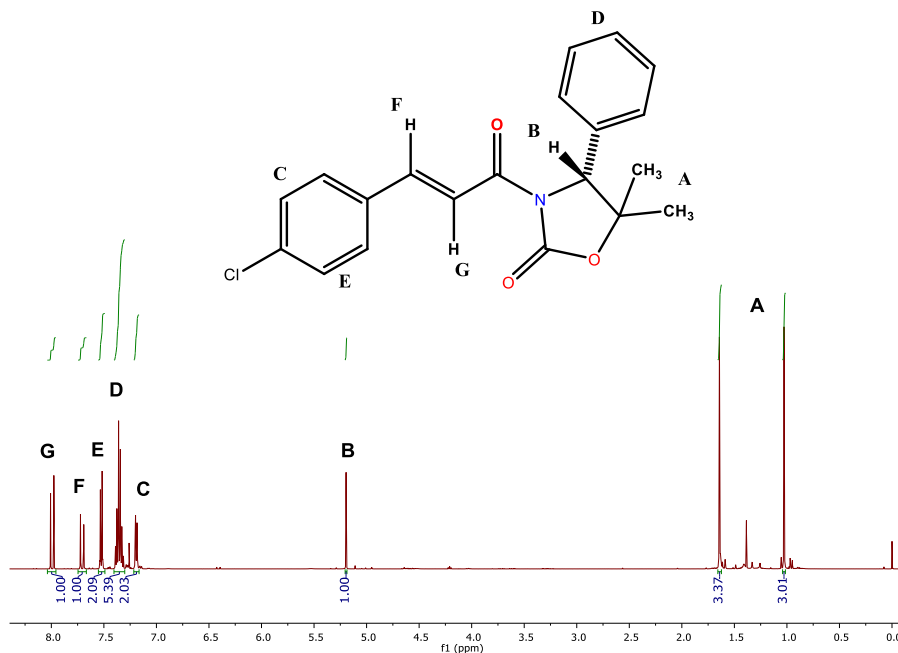


Figura 14 Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **9**.

El espectro de RMN de ^{13}C mostro las 20 señales de carbono esperadas para la estructura del compuesto **9**.

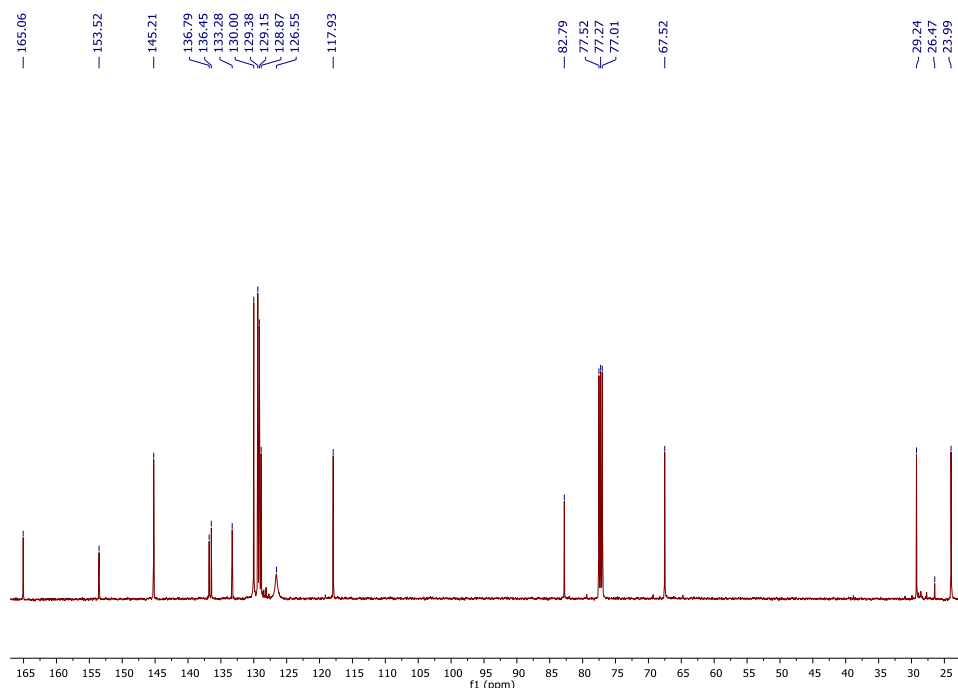
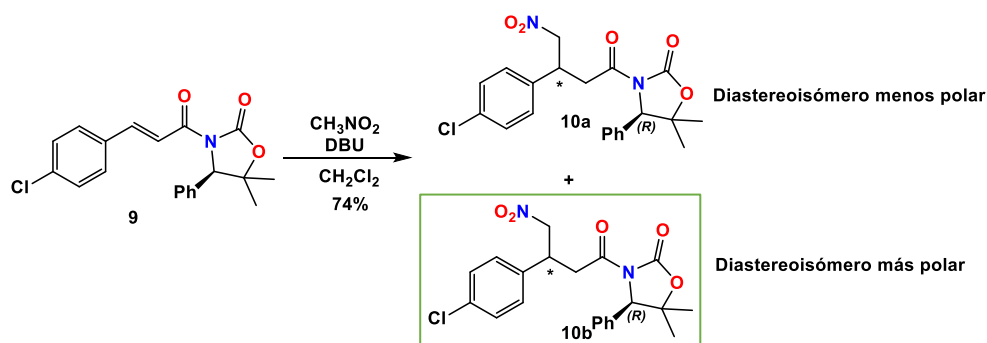


Figura 15 Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **9**.

5.6 Formación y separación de diastereoisómero.

Una vez obtenido el compuesto **9**, se procedió a la síntesis de los diastereoisómeros **10a** y **10b** a través de la adición conjugada del anión del nitrometano (CH_3NO_2) generado con la base DBU en diclorometano por un período de 6 horas. La mezcla diastereoisomérica se obtuvo con un rendimiento de 74% y una proporción de 65:35, siendo el compuesto **10b** el diastereoisómero más abundante (**Esquema 14**).



Esquema 14 Se obtuvo un rendimiento de reacción de 74% en la formación de los diastereoisómeros, con una proporción diastereoisomérica 65:35, siendo el compuesto **10b** el más abundante.

Los diastereoisómeros fueron separados exitosamente utilizando una columna cromatográfica en un sistema 3:1 de Hexano : AcOEt, como se ven en las placas de cromatografía rebeladas con permanganato de potasio (**Figura 16**), en ella, se puede observar la separación de las fracciones; las fracciones 31 a la 33 corresponden al diastereoisómero que salió primero (**10a**) y las fracciones 36 y 37 corresponden al diastereoisómero que salió después (**10b**). También se calculó el factor de retención (R_f) de cada una de las manchas obteniendo los siguientes valores: para las tres primeras manchas que corresponde a **10a** fue de $R_{f(10a)} = 0.387$, en el caso de las dos últimas manchas que corresponden al compuesto **10b** el factor de retención fue de $R_{f(10b)} = 0.205$.

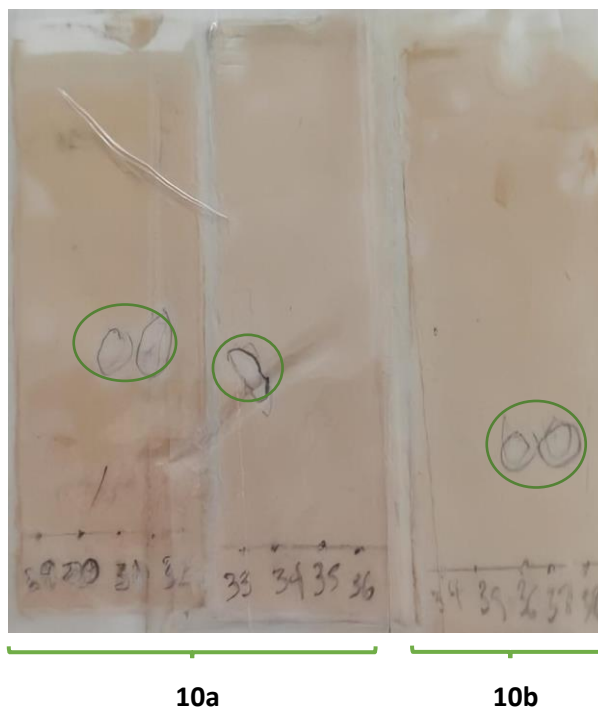


Figura 16 En la placa de cromatografía se puede observar como los diastereoisómeros se separan.

Como se puede observar por el valor de la proporción diastereomérica obtenido, el auxiliar quiral no favorece una adición conjugada del nitrometano diastereoselectiva, sin embargo, permite lograr una separación completa de los diastereoisómeros por técnicas de cromatografía en columna.

En principio, la parte frontal de **9** estaría impedida estéricamente por el sustituyente fenilo del auxiliar quiral, favoreciendo la entrada del anión del nitrometano por la parte posterior de la molécula y el producto favorecido en la reacción sería el diastereoisómero (*R,R*). No obstante, el producto mayoritario es el diastereoisómero (*S,R*), esto se debe a que el auxiliar quiral rota a una conformación más estable (**B**) en la que los pares de electrones de los oxígenos de los grupos carbonilos quedan dispuestos lo más distante, para minimizar repulsiones electrostáticas. Debido a esta conformación el diastereoisómero (*S,R*) es ligeramente favorecido. (**Figura 17**).

Esta especulación es apoyada con el espectro de RMN de ^1H que se muestra en la **Figura 14**, en el que vemos que el protón G experimenta un pequeño desplazamiento a campo bajo.⁴⁶ Una posible explicación del desplazamiento del protón G es; precisamente la conformación más estable (**B**) que puede adoptar esta molécula. Una vez que el auxiliar quiral se acopla al ácido carboxílico, la molécula **9** adopta la conformación más estable anti-*s-cis* (**B**). En esta configuración el protón en cuestión experimenta la proximidad del oxígeno del grupo carbonilo del auxiliar quiral, provocando un efecto de desprotección, induciendo el desplazamiento a campo bajo de la señal del protón G.

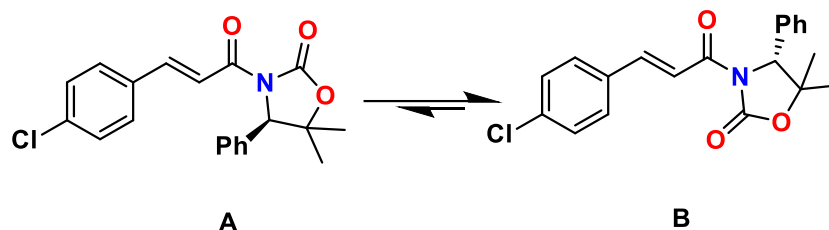


Figura 17 Rotación a conformación más estable B del auxiliar quiral.

En el **Esquema 18** se muestra como se lleva a cabo la adición del nitrometano con la conformación más estable (**B**)

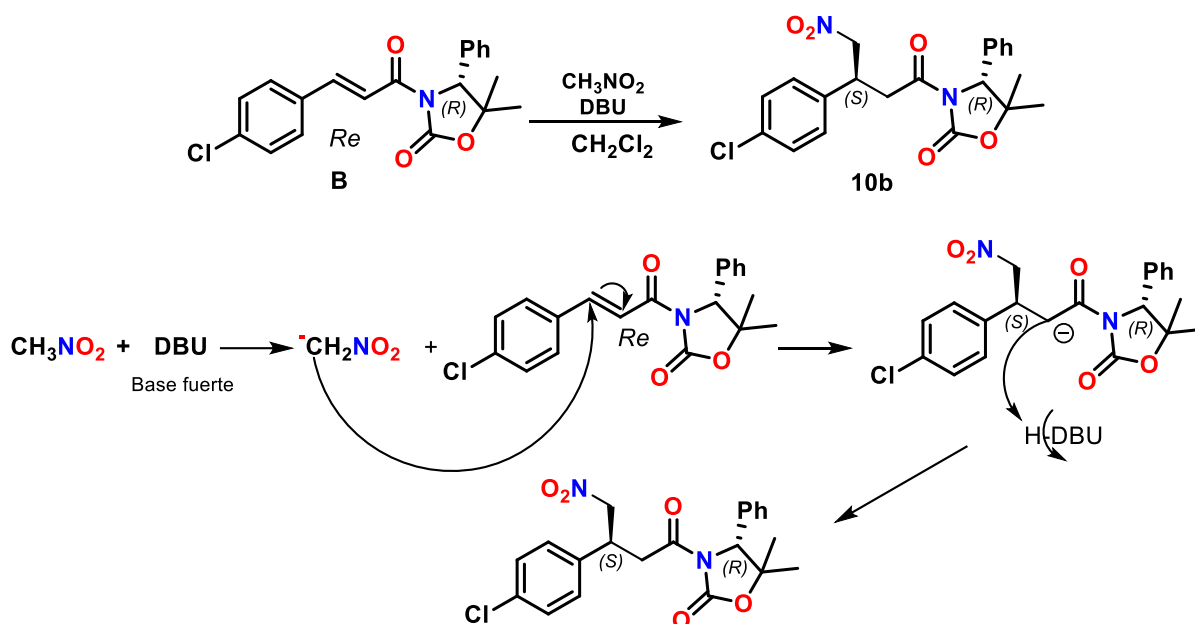


Figura 18 Adición conjugada 1, 4 de Nitro metano favorece ligeramente la formación del diastereoisómeros 10b (S,R)

Los diastereoisómeros se caracterizaron por medio de RMN en una y dos dimensiones (ver anexo). En la **Figura 18** se muestra el espectro de ^1H de **10**, se observan las señales del auxiliar quiral muy parecidas a las que se ven en el espectro anterior, se observan dos señales en 0.97 y 1.49 ppm que corresponden a los hidrógenos de los $-\text{CH}_3$ (A) y la señal en 4.95 ppm que integra para 1 hidrógeno que corresponde al hidrógeno del $-\text{CH}$ (E), estas señales corroboran la presencia del auxiliar quiral. Las señales de 3.30 y 3.61 ppm son dobles de dobles e integran para 1 hidrógeno que corresponden a los protones del $-\text{CH}_2$ (B) que se encuentra adyacentes al grupo carbonilo, una señal quintuple de $-\text{CH}$ en 4.02 ppm (C), seguida de dos señales dobles de dobles que integran para 1 hidrógeno en 4.56 y 4.64 ppm, correspondientes al $-\text{CH}_2$ (D) que se encuentra adyacente al grupo nitro; con esto confirmando la formación del compuesto **10**.

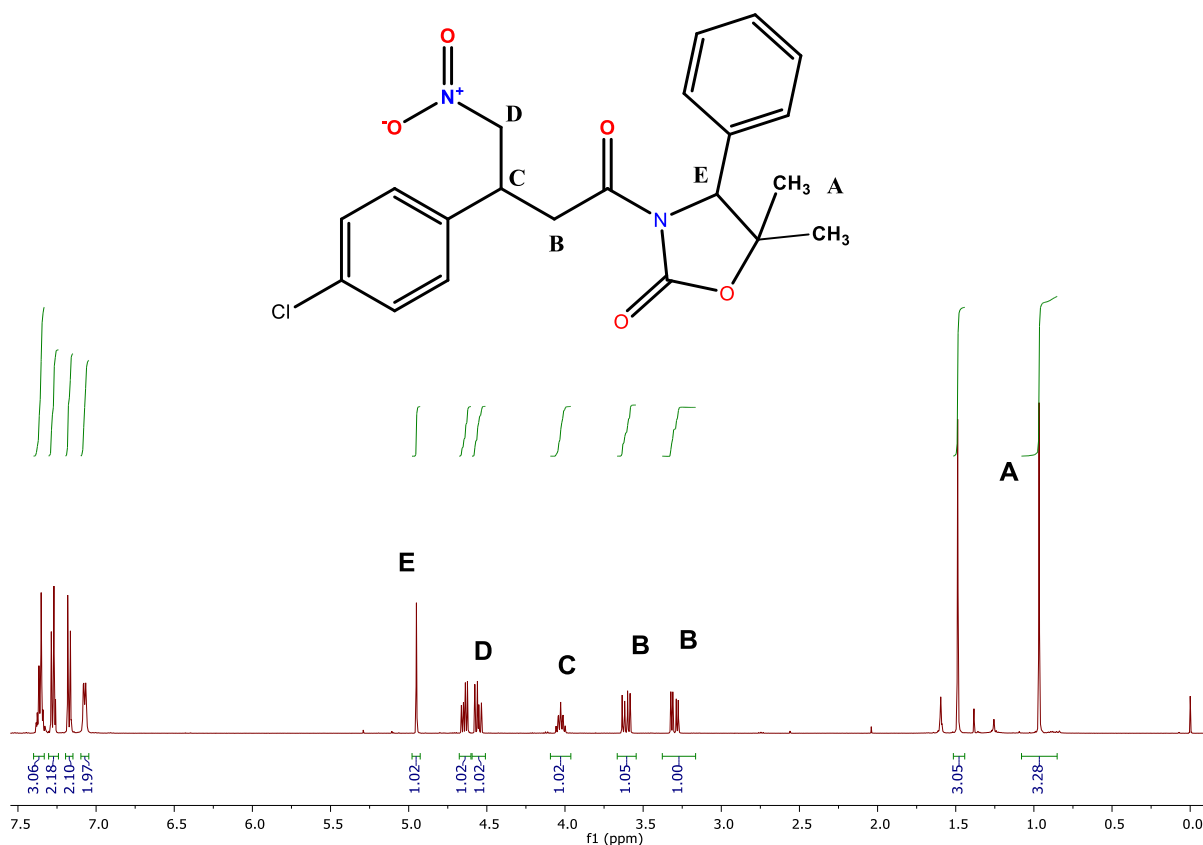
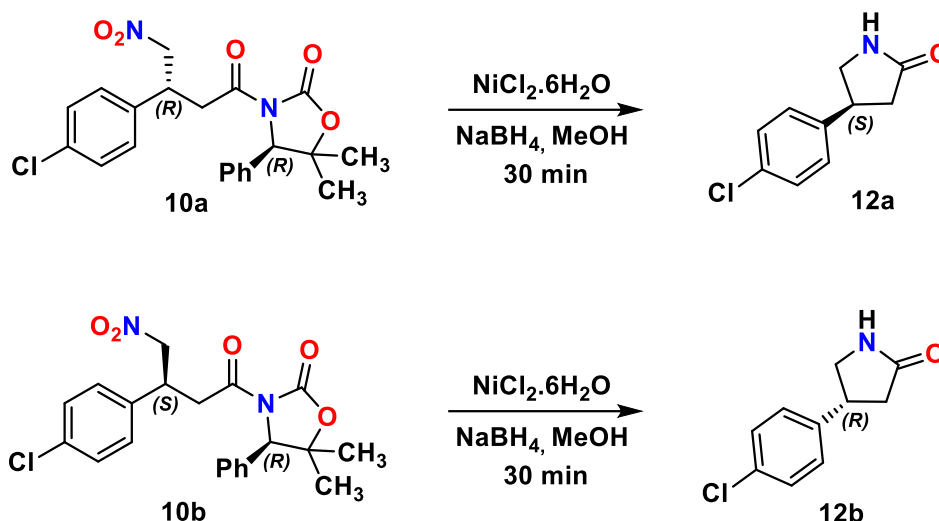


Figura 19 Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **10**.

5.7 Reducción del grupo nitro y asignación de la estereoquímica.

Posteriormente, los diastereoisómeros fueron sometidos a una reacción de reducción con níquel y NaBH_4 para dar las lactamas **12a** y **12b**, la rotación óptica de ambas se encuentran reportadas en la literatura, permitiéndonos de esta manera asignar la estereoquímica absoluta de los diastereoisómeros por correlación química al comparar sus valores de las rotaciones ópticas con las reportadas en la literatura (**Esquema 15**).^{40,47}

Con esta información se logró determinar que el diastereoisómero **10a** genera la lactama **12b** con configuración absoluta (*R*), **Tabla 1**. Por consiguiente, el diastereoisómero **10b** genera la lactama **12a** con configuración absoluta (*S*). Por lo tanto la asignación de la configuración de los diastereoisómeros es la siguiente; (*R,R*)-**10a** y (*S,R*)-**10b**.



Esquema 15 Reducción del grupo nitro y asignación de la estereoquímica.

Compuesto	Rendimiento	Rotación óptica y configuración absoluta (Literatura) $[\alpha]_{\text{Na}/\text{Hal}}^{20}$	Rotación óptica experimental $[\alpha]_{\text{Na}/\text{Hal}}^{20}$	Asignación de configuración
12a	63%	+21.8 (0.5, CH_2Cl_2) (S) ^a	+20.6 (0.5, CH_2Cl_2)	S
12b	60%	-38 (1.02, EtOH) (R) ^b	-36.8 (1.02, EtOH)	R

Tabla 1 Asignación de configuración de las lactamas por correlación de rotación óptica.

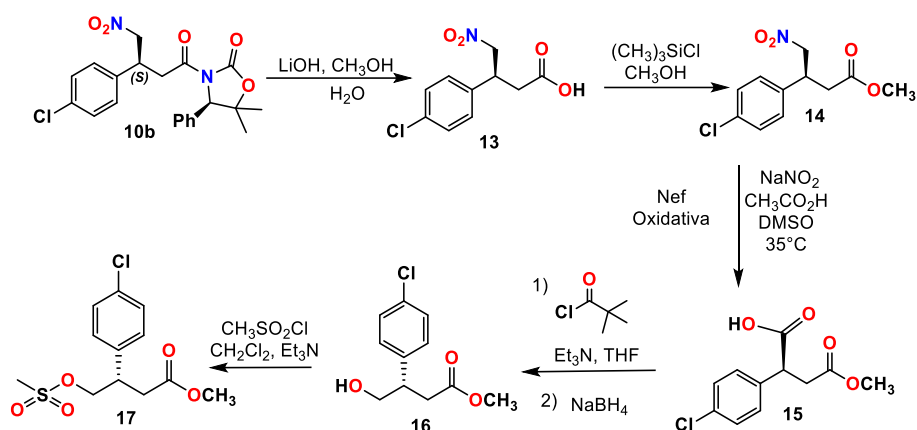
5.8 Síntesis del mesilato.

La síntesis del mesilato **17**, se llevó a cabo con el diastereoisómero **10b** como se muestra en el **Esquema 16**. La misma secuencia de reacciones se realizó con el diastereoisómero **10a**.

El compuesto **10b** se hidrolizo en condiciones suaves para la eliminación del auxiliar quiral, dando lugar a la formación del compuesto **13**. Posteriormente, la esterificación de **13** genero el éster **14**, el cual, bajo las condiciones de la reacción de Nef oxidativa condujo al compuesto **15**.

Desafortunadamente debido a la suspensión de actividades por la contingencia epidemiológica no se pudo realizar el resto de la ruta de síntesis, pero los últimos pasos de la reacción consistían; en la reducción selectiva del grupo ácido en presencia del grupo éster en **15** se lleva a cabo a través del anhídrido mixto que se

genero con cloruro de pivaloilo seguida de la adición de NaBH₄ para generar el alcohol **16**. La reacción del alcohol **16** con CH₃SO₂Cl forma el mesitato **17**.

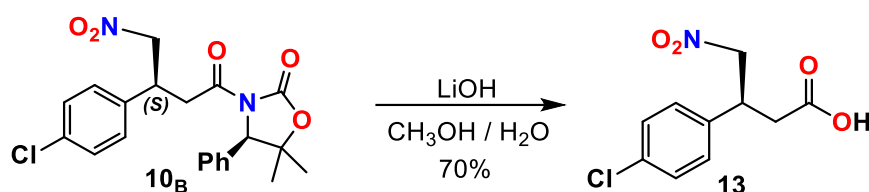


Esquema 16 Síntesis del mesitato.

A continuación, se presentan las secuencias de reacciones realizadas para la obtención de los mesitados

5.8.1 Reacción de remoción de Auxiliar.

La ruta de síntesis de los mesitados **17a** y **17b** inicia con la remoción del auxiliar quiral del diastereoisómero **10b**, el cual se hidrolizó con hidróxido de litio (LiOH) en metanol (CH₃OH) y agua (H₂O) para obtener el ácido carboxílico **13**, con un rendimiento del 70% como se ve en el **Esquema 17**. Los compuestos obtenidos son sólidos blancos/amarillentos.

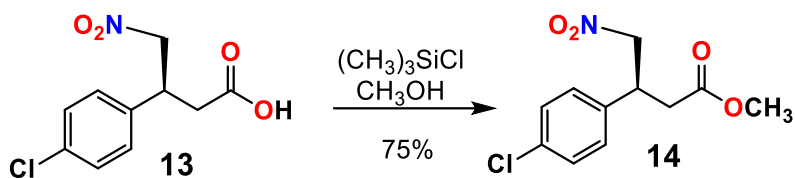


Esquema 17 Rendimiento de reacción de la Hidrólisis del diastereoisómero.

Después de esta reacción de hidrólisis que nos permitió la separación del auxiliar quiral, este se cristalizó y se obtuvo nuevamente en su forma enantioméricamente pura.

5.8.2 Esterificación.

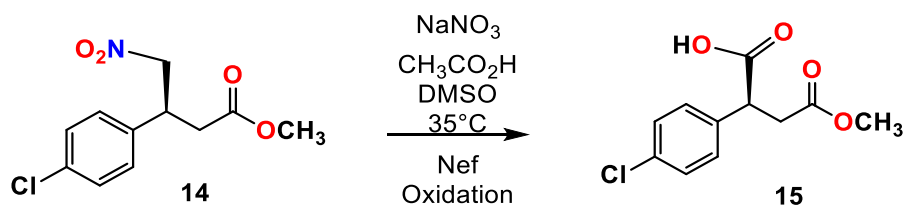
El siguiente paso de esta ruta de síntesis fue la esterificación del ácido carboxílico **13**, lo cual se llevó a cabo con $(\text{CH}_3)_3\text{SiCl}$ ⁴⁸ en metanol para la obtención del éster **14**, obtenido con un rendimiento del 75% como se observa en el **Esquema 18**. El producto obtenido fue un líquido viscoso e incoloro.



Esquema 18 Rendimiento de reacción de esterificación.

6.8.3 Reacción de Nef oxidativa.

Una vez obtenido el éster **14**, se llevó a cabo la reacción de Nef oxidativa, desafortunadamente debido a la suspensión de actividades por la contingencia epidemiológica, ya no fue posible calcular el rendimiento obtenido y la caracterización del mismo por medio de la espectroscopía de RMN.



Esquema 19 Reacción de Nef Oxidativa.

5.9 Rendimientos obtenidos.

En las tablas a continuación se muestran los rendimientos obtenidos en cada reacción a lo largo de todo el proyecto de investigación

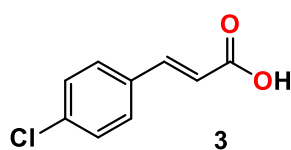
Reacción	Rendimiento
Síntesis de análogos de Baclofen	78 %
Síntesis del auxiliar quiral	79 %
Acoplamiento del Auxiliar quiral	85 %
Formación y separación de los diastereoisómeros	74 %

Hidrólisis	70 %
Esterificación	75 %

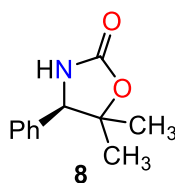
Tabla 2 Rendimientos de reacción.

6 Conclusiones

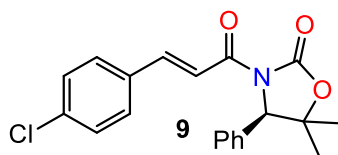
- Los análogos de (*R*) y (*S*) Baclofen se han preparado en formas enantiopuras, a través de una secuencia sintética propuesta en este proyecto, en la cual el auxiliar quiral **8** juega un papel de suma importancia, permitiendo la formación de los diastereoisómeros **10a** y **10b** y la separación de estos, obteniendo así ambos compuestos puros.
- Se logro obtener el ácido α,β -insaturado **3** mediante la reacción de Knoevenagel con buenos rendimientos



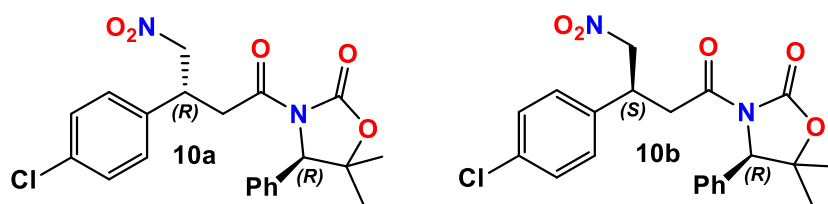
- La síntesis del auxiliar quiral **8** se realizo en cuatro pasos partiendo del *R*-fenilglicina **4**.



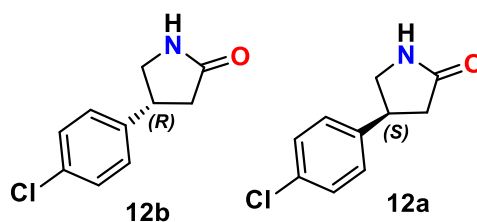
- Se logro la formación del auxiliar quiral **8** y del ácido α,β -insaturado **3**, al igual que el acoplamiento de estos dos compuestos, la caracterización por medio de los espectros de RMN, apoyaron a la confirmación de esto.



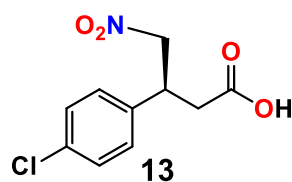
- Mediante la adición conjugada con nitrometano se obtuvieron los diastereoisómeros (*R,R*) y (*S,R*)-**10a** y **10b**, gracias a la presencia del auxiliar quiral **8**, fue posible la separación de los diastereoisómeros por técnica de columna cromatográfica, en lo que se vio una proporción diastereomérica marginal, es decir, el auxiliar quiral no es estereoselectivo.



- La formación de las lactamas **12a** y **12b** permitieron establecer la estereoquímica absoluta de los diastereoisómeros por medio de correlación química de la rotación óptica. De esta manera facilitando los estudios futuros para identificar el compuesto activo.

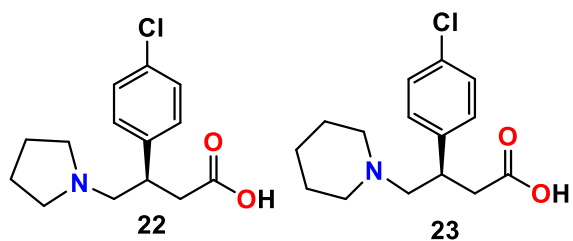


- Se logro recuperar el auxiliar quiral enantioméricamente puro después de la reacción de hidrólisis que nos permito la remoción del auxiliar quiral



7 Perspectiva

- ✓ Finalizar la síntesis de los mesilatos 17 y llevar a cabo la formación de los análogos finales 22 y 23



- ✓ Llevar a cabo la síntesis de distintos precursores del Baclofen y la Pregabalina.
- ✓ Realizar pruebas in vitro a los análogos (*R*)-**22**, (*S*)-**22**, y (*R*)-**23** y (*S*)-**23** para determinar el porcentaje de inhibición de GABA-AT de cada uno de ellos.

8 Parte experimental

8.1 Información General.

Los reactivos son comercialmente disponibles y se utilizaron sin previa purificación.

El material de vidrio las barras de agitación magnética, las cánulas y las jeringas que se ocuparon fueron secadas en una estufa a 100 °C, para realizar las reacciones en condiciones inertes fue secado por un periodo de 12 h previo a su uso.

Los disolventes usados (AcOEt, CH₂Cl₂, Hexano y CH₃OH) se destilaron previamente en un sistema abierto. El éter y THF fue secado con sodio metálico utilizando como indicador benzofenona, bajo atmósfera de nitrógeno hasta que adquirieron un color azul intenso.

El curso de las reacciones fue monitoreado con placas cromatográficas de sílica gel 60 F₂₅₄ empleando como revelador luz UV onda corta, vanillina, vapores de yodo, permanganato de potasio y ninhidrina.

La purificación de los productos se realizó por cromatografía en columna con sílica gel Merk 60 (0.04-0.06 mm), con sistemas de Hexano/AcOEt.

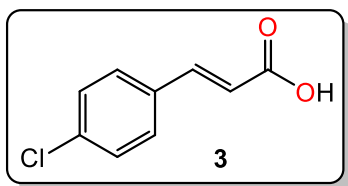
Las reacciones a bajas temperaturas se realizaron en el equipo Thermo Electron Corporation, Neslab CC 100 Immersion Cooler.

Las rotaciones ópticas se establecieron empleando un polarímetro Perkin – Elmer.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de proton (¹H RMN) se obtuvieron en equipos Varían Gemini 200, MHz, Varían Oxford 400 MHz y Bruker 500 MHz. Los espectros de carbono (¹³C RMN) fueron registrados con los mismos equipos a 50, 100, 125 y 150 MHz. Se emplearon distintos disolventes deuterados: cloroformo (CDCl₃), metanol (CD₃OD), dimetilsulfóxido (DMSO-d₆) y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

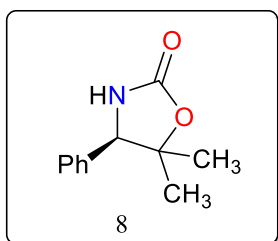
Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en partes por millón (ppm) con respecto a la referencia interna de (TMS) para ¹H; las constantes de acoplamiento (J) están dadas en Hertz, la multiplicidad de las señales está indicado por medio de las siguientes abreviaturas: (a) ancha, (s) simple, (d) doble (dd) doble de doble, (t) triple, (c) cuádruple, (q) quintuple y (m) múltiple.

8.2 Procedimiento para la síntesis de análogos del Baclofen.



En un matraz bola provisto de un agitador magnético, se pesó el ácido malónico **2** (1.25 equiv), se adicióno piperidina (0.1 equiv) y se disolvió en piperidina, se mantuvo en agitación y se calentó a reflujo a 90 °C por 2 h. La solución resultante se vierte a una solución acida de HCl 2M y se enfría a temperatura ambiente, El solido se filtra y se lava con H₂O y recristaliza en EtOH/H₂O. Se obtuvo 4.42 g (78 % rendimiento) de un sólido blanco.

8.2 Procedimiento general para la Síntesis del auxiliar quiral **8**.



La síntesis del auxiliar quiral **8** se llevó acabo siguiendo la metodología descrita por Peter B. Wyatt ⁴². En un matraz bola provisto de un agitador magnético, se pesó el cloruro de tionilo (2equiv) y se disolvió en metanol. Al éster **5** obtenido se le adicióno éter de petróleo para hacer lavados, el producto obtenido después de los lavados fue un sólido blanco.

El siguiente paso fue la protección del grupo amino de **5** de igual manera en un matras bola provisto de un agitador magnético, se pesó el bicarbonato de sodio (3 equiv) y el grupo protector Boc₂O (1.05 equiv) y se disolvió en etanol, se confirmó la formación del producto por medio de placas de cromatografía, una vez confirmada se utilizo celita y un embudo de Kitasato para filtrar el compuesto **6**.

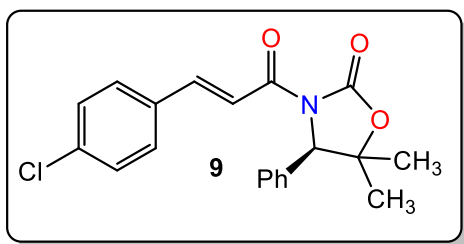
Al matras donde se encuentra el compuesto **6** se le adiciónan bromuro de metilmagnesio (2 equiv), una vez terminada la reacción se le adicióna cloruro de amonio para terminar la reacción, por último se hacen lavados en un embudo de separación con un sistema de acetato y agua, obteniendo el compuesto **7**.

El ultimo paso para la obtención de **8** consiste en adiciónar *tert*-butoxido de potasio (1.1 equiv) al matraz donde ese encuentra **7** y disolverlo en THF anhidro, para así obtener el auxiliar quiral **8**.

Se obtuvo 3.26 g (79 % de rendimiento) del compuesto **8** como un solido blanco brillante. ¹H RMN (CDCl₃, 500 MHz) δ (ppm): 0.93 (3H, s, CH₃), 1.61 (3H, s, CH₃), 4.66 (1H, s, CH), 6.38 (1H, s, NH), 7.32 (5H, m H_{arom}).

8.3 Acoplamiento del auxiliar quiral.

En un Matraz bola 1 provisto con un agitador magnético se coloco el compuesto **1**, cloruro de pivaloilo (1 equiv), trimetilamina (1 equiv) y se disolvió en THF anhidro a -

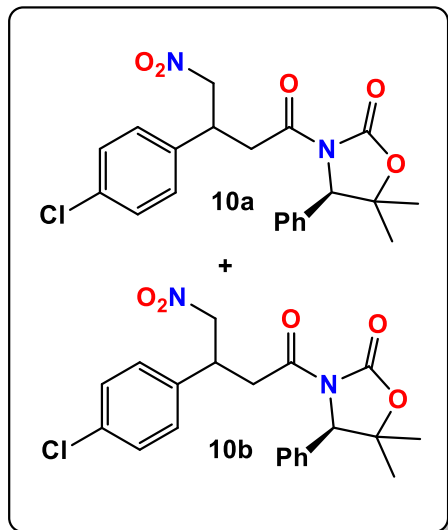


78°C y se dejó reaccionar por 15 min. Elevar la temperatura a 0° C y dejar por 1 h volver a llevar a -78°C.

EN un Matraz bola 2 provisto de agitador magnético colocar el compuesto **8** y disolver en THF anhidro a -78°C por 45 min, adicionar 1 equiv de N-butil-litio y dejar agitando por 15 min. Transferir a Matraz bola 1 y dejar reaccionar por 1h a -78°C y posteriormente 2h a temperatura ambiente.

Se obtuvo 4.49 g (85% de rendimiento) del compuesto **9** como un sólido blanco. ¹H RMN (CDCl₃, 500 MHz) δ (ppm): 1.03 (3H, s, CH₃), 1.64 (3H, s, CH₃), 5.20 (1H, s, CH), 7.19 (2H, d, J=7.0 Hz, H_{arom}), 7.35 (5H, m, H_{arom}), 7.52 (2H, d, J=8.4 Hz, H_{arom}), 7.71 (1H, d, J=15.7 Hz, CH), 7.99 (1H, d, J=15.7 Hz, CH), ¹³C RMN (CDCl₃, 125 MHz) δ (ppm): 165.06 (CO), 153.52 (CO), 145.21 (CHCH), 136.79(CH), 136.45(CH), 133.28 (CH), 130.00 (CH), 129.38(CH), 129.15 (CH), 128.87 (C), 126.55 (CH), 117.93 (CHCH), 82.79(CCH₃CH₃), 77.52, 77.27, 77.01, 67.52 (CH), 29.24(CH₃), 26.47, 23.99 (CH₃).

8.4 Formación y separación de diastereoisómeros **10a** y **10b**.

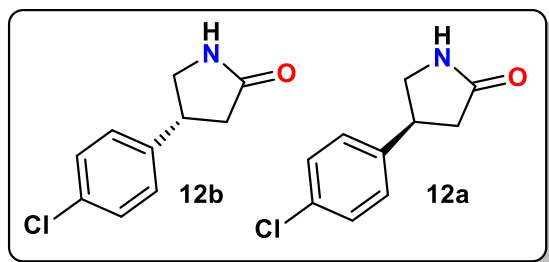


En un matraz bola provisto de un agitador magnético, se colocó el compuesto **9** con el disolvente (diclorometano grado reactivo).

EN un vial separado provisto con un agitador magnético, se coloca el nitrometano (5 equiv) y DBU (0.2 equiv) se deja en agitación por 5 min, después se pasa con una pipeta al matraz donde esta ocurriendo la reacción. Se deja reaccionar 8h y la reacción se termina con ácido clorhídrico 1M.

Se obtiene 4.26 g (74% de rendimiento) del compuesto **10** como un líquido viscoso naranja y se separó por columna de cromatografía, para la separación de los diastereoisómeros y obtener enantioméricamente puros a **10a** y **10b**. ¹H RMN (CDCl₃, 500 MHz) δ (ppm): 0.97 (3H, s, CH₃), 1.49 (3H, s, CH₃), 3.30 (1H, dd, J = 17.4, 6.3 Hz, CH₂), 3.61 (1H, dd, J = 17.4, 8.1 Hz, CH₂), 4.02 (1H, m, CH), 4.56 (1H, dd, J = 12.8, 8.4 Hz, CH₂), 4.64 (1H, dd, J = 12.8, 6.6 Hz, CH₂), 4.95 (1H, s, CH), 7.07 (2H d, J = 7.7 Hz, H_{arom}), 7.17 (2H, d, J = 8.5 Hz, H_{arom}), 7.28 (2H, m, H_{arom}), 7.40 – 7.33 (3H, m, H_{arom}). ¹³C RMN (CDCl₃, 125 MHz) δ (ppm): 169.97 (CO), 153.36 (CO), 137.14 (C), 135.98(C), 134.06 (CH), 129.43 (CH), 129.25 (CH), 129.07 (CH), 126.47 (CH), 83.21 (C), 79.39 (CH₂), 77.52 (CH), 77.27 (CH), 77.01 (CH), 67.22 (CH), 39.29(CH), 38.82 (CH₂), 29.03 (CH₃), 23.85(CH₃).

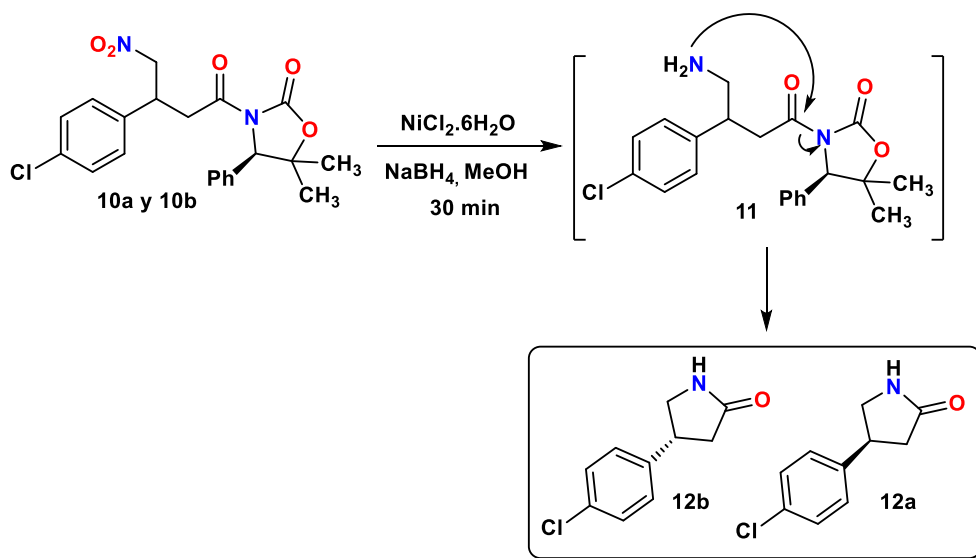
8.5 Reducción del grupo Nitro y asignación de la estereoquímica.



En un matraz bola provisto de un agitador magnético, se pesó $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, se disolvió en metanol y se deja a temperatura ambiente. Después de agitar durante 5 min, se añade NaBH_4 . La mezcla de reacción se agita durante 30 min a temperatura ambiente y se filtra en vacío a través de

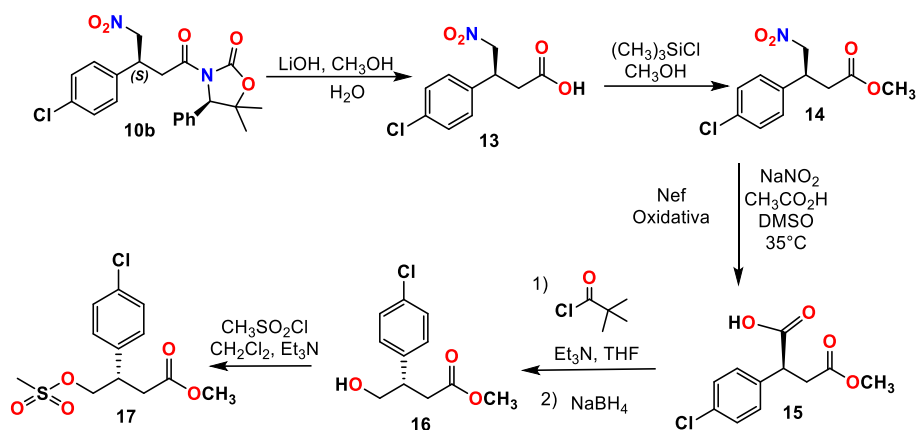
Celita. Se obtuvo un sólido blanco.

Una vez obtenidos y separando los diastereoisómeros, el siguiente paso fue asignar la estereoquímica de cada uno de ellos. La reducción del grupo nitro bajo las condiciones indicadas en el **Esquema 20**, condujo a las lactamas **12**, previamente reportadas en la literatura.^{39,40} La comparación de las rotaciones ópticas de los diastereoisómeros **10a** y **10b** con estas lactamas, permitió asignar las estereoquímicas por correlación química.



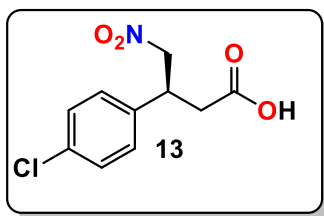
Esquema 20 Reducción del grupo Nitro y asignación de la estereoquímica.

8.6 Síntesis del mesilato 17.



Esquema 21 Síntesis del mesilato.

8.6.1 Remoción del auxiliar quiral / Hidrólisis

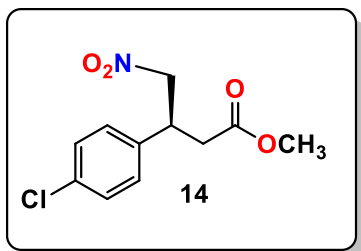


En unos tubos de ensayo provistos con un agitador magnético, se pesó la cantidad de LiOH (2equiv) requerida para cada caso, se colocan en una parrilla de agitación y se disuelve en agua.

En viales distintos se separan los diastereoisómeros previamente separados por columna de cromatografía y se vierte THF hasta que se disuelve por completo el diastereoisómero, una vez disuelto se le añade poco a poco el LiOH+H₂O en el tubo de ensayo. La reacción reacciona durante 12 h, se monitorio la reacción con placas de cromatografía, después de ello se llevó al roto evaporador para evaporar el THF y después adicionar el HCl 1M para poder hacer los lavados en embudo de separación.

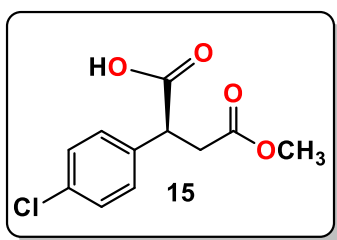
El auxiliar quiral se recupera en la fase orgánica y nuestro compuesto **13** en la fase acuosa. Se obtuvo 0.227 del compuesto **13** (70% de rendimiento) como un sólido blanco.

8.6.2 Reacción de esterificación



En un vial provisto con un agitador magnético, se colocan el clorotrimetilsilano (2equiv) y se disolvió en metanol, la reacción se llevó a cabo en un baño de hielo y se deja reaccionar durante 2 h.

8.6.3 Reaccion de Nef

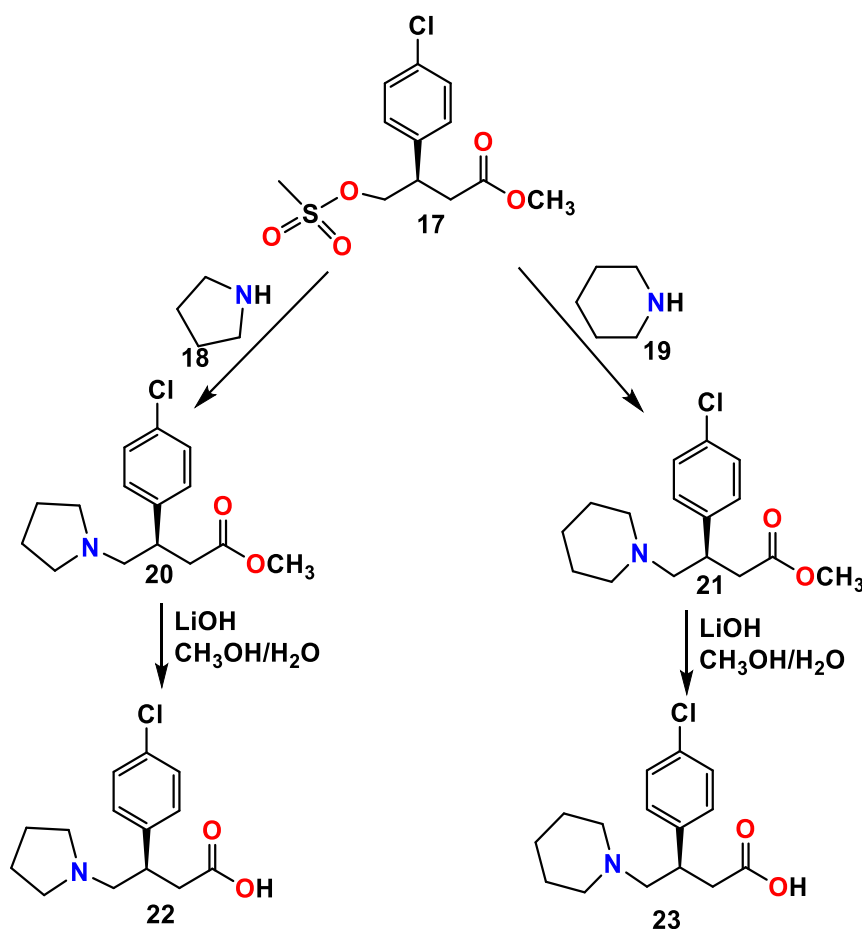


En un matraz bola provisto con un agitador magnético se le adición una solución de nitro alcano (1 equiv), nitrito de sodio (3 equiv), ácido acético (10 equiv) y se disolvió en DMSO se agita a 35° C por 6 h. Después se acidifica con una solución acuosa de HCl 10% y el producto se extrae varias veces con éster y se purifica en columna cromatográfica con sílica gel.

8.7 Formación de análogos de GABA **22** y **23**

La síntesis de análogos de GABA substituidos con heterocíclicos de piperidina y pirrolidina se muestra en el **Esquema 22**. El mesilato **17** se somete a una reacción de sustitución S_N2 con la piperidina y pirrolidina respectivamente, para obtener los ésteres **20** y **21**.

Una vez obtenidos y caracterizados los compuestos **20** y **21** se llevó a cabo la reacción de hidrólisis de los ésteres a ácidos carboxílicos con hidróxido de litio (LiOH) en Metanol y agua, que produjeron los análogos heterocíclicos de GABA **22** y **23**



Esquema 22 Formación de análogos de GABA.

9 Bibliografía

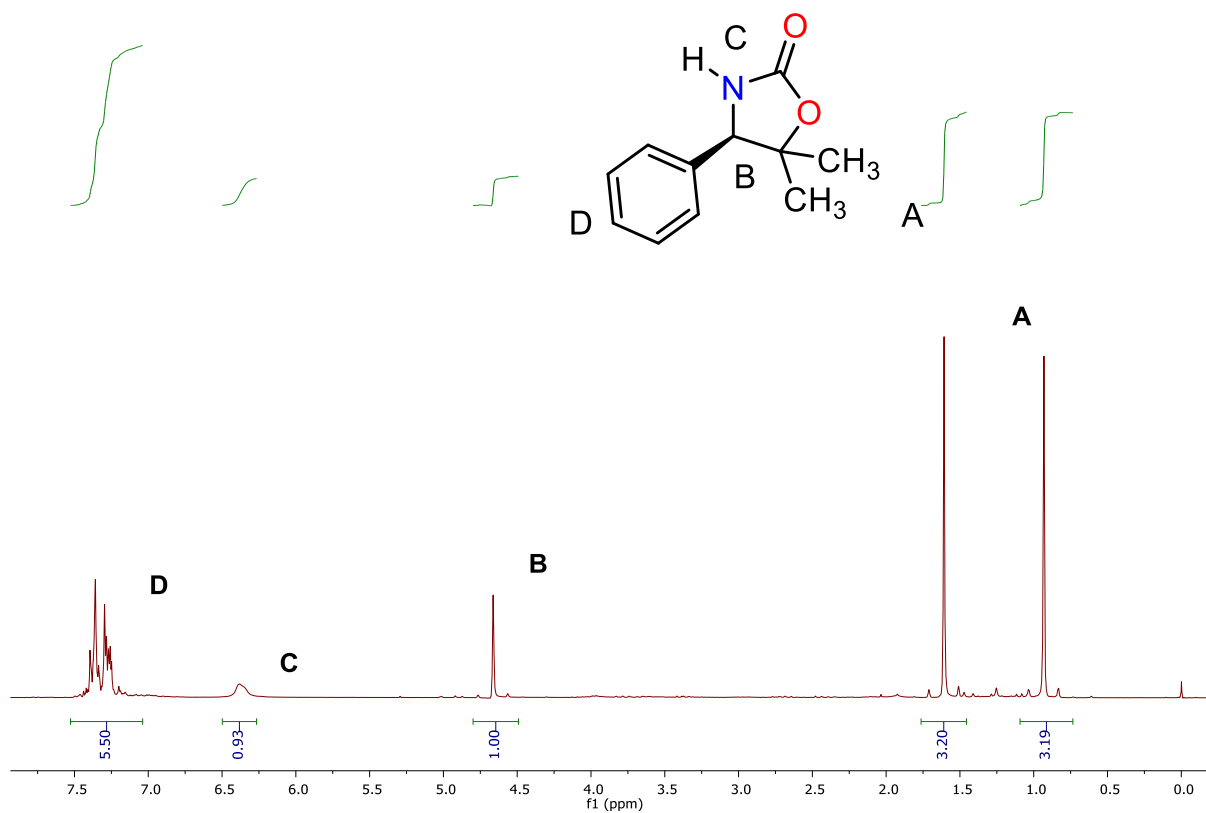
1. Bromfield EB, Cavazos JE, Sirven JI. An Introduction to Epilepsy. University of Texas Health Science Center, San Antonio: West Hartford (CT): American Epilepsy Society. Published 2006. Accessed September 22, **2020**. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2510/>
2. Katzung BG. *Farmacología Básica y Clínica; 9a Edición*. El Manual. (Ignacio de Jesús MB, Trad. T, eds.); **2005**. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2734§ionid=227976080>
3. Valdés-Galván RE, González-Calderón G, Castro-Martínez E. Epidemiología del descontrol de la epilepsia en un servicio de urgencias neurológicas. *Revista de Neurología*. doi:<https://doi.org/10.33588/rn.6808.2018218>
4. Guevara Salazar JA. "Síntesis y estudio teórico de aductos Diels-Alder derivados de los ácidos maleico y fumárico, y su actividad biológica sobre la enzima aminotransferasa del GABA." Published online **2010**.
5. Ordóñez M, Cativiela C. Stereoselective synthesis of γ -amino acids. *Tetrahedron Asymmetry*. **2007**;18(1):3-99. doi:10.1016/j.tetasy.2006.12.001
6. Le H V., Hawker DD, Wu R, et al. Design and Mechanism of Tetrahydrothiophene-Based γ -Aminobutyric Acid Aminotransferase Inactivators. *J Am Chem Soc*. **2015**;137(13):4525-4533. doi:10.1021/jacs.5b01155
7. Díaz Peralta L. "Diseño y Síntesis de Triazoles como Inhibidores de la enzima GABA-Aminotransferasa." Published online **2017**.
8. Froestl W. An historical perspective on GABAergic drugs. *Future Med Chem*. **2011**;3(2):163-175. doi:10.4155/fmc.10.285
9. Ordóñez M, Cativiela C, Romero-Estudillo I. An update on the stereoselective synthesis of γ -amino acids. *Tetrahedron Asymmetry*. **2016**;27(20-21):999-1055. doi:10.1016/j.tetasy.2016.08.011
10. Krnjevic K. Chemical nature of synaptic transmission in vertebrates. *Physiol Rev*. **1974**;54(2):418-540. doi:10.1152/physrev.1974.54.2.418
11. Silverman RB. Design and mechanism of GABA aminotransferase inactivators. Treatments for epilepsies and addictions. *Chem Rev*. **2018**;118(7):4037-4070. doi:10.1021/acs.chemrev.8b00009
12. Sigel E, Steinmann ME. Structure, function, and modulation of GABA(A) receptors. *J Biol Chem*. **2012**;287(48):40224-40231. doi:10.1074/jbc.R112.386664
13. Bowery NG, Bettler B, Froestl W, et al. International Union of Pharmacology . XXXIII . Mammalian gamma -Aminobutyric Acid B Receptors : *Pharmacol Rev*. **2002**;54(2):247-264. doi:<https://doi.org/10.1124/pr.54.2.247>
14. Deruiter J. GABAMINERGIC NEUROTRANSMISSION: INTRODUCTION. *Princ Drug Action*. **2004**;2:1-12.
15. Owens DF, Kriegstein AR. Is there more to GABA than synaptic inhibition? *Nat Rev Neurosci*. **2002**;3(9):715-727. doi:10.1038/nrn919

16. Yomiya K, Matsuo N, Tomiyasu S, et al. Baclofen as an adjuvant analgesic for cancer pain. *Am J Hosp Palliat Med.* **2009**;26(2):112-118. doi:10.1177/1049909108327968
17. Khom S, Hintersteiner J, Luger D, et al. Analysis of β -subunit-dependent GABAA receptor modulation and behavioral effects of valerenic acid derivatives. *J Pharmacol Exp Ther.* **2016**;357(3):580-590. doi:10.1124/jpet.116.232983
18. Barragán Labastida A. Síntesis de análogos de Baclofen con estructura de isoxazol ensamblados mediante cicloadición 1,3-dipolar. Published online **2019**.
19. Shaye H, Ishchenko A, Lam JH, et al. Structural basis of the activation of a metabotropic GABA receptor. *Nature.* **2020**;584(7820):298-303. doi:10.1038/s41586-020-2408-4
20. Enz R, Cutting GR. Molecular composition of GABA C receptors. *Vision Res.* **1998**;38:1431-1441. doi:10.1016/s0042-698
21. Shen S, Doubleday PF, Weerawarna PM, Zhu W, Kelleher NL, Silverman RB. Mechanism-Based Design of 3-Amino-4-Halocyclopentenecarboxylic Acids as Inactivators of GABA Aminotransferase. *ACS Med Chem Lett.* Published online **2020**. doi:10.1021/acsmchemlett.9b00672
22. Storici P, Capitani G, De Biase D, et al. Crystal structure of GABA-aminotransferase, a target for antiepileptic drug therapy. *Biochemistry.* **1999**;38(27):8628-8634. doi:10.1021/bi990478j
23. Silverman RB. Mechanism-based enzyme inactivators. *Methods Enzymol.* **1995**;249(C):240-283. doi:10.1016/0076-6879(95)49038-8
24. Silverman RB. Radical Ideas about Monoamine Oxidase. *Acc Chem Res.* **1995**;28(8):335-342. doi:10.1021/ar00056a003
25. LIPPERT B, METCALF BW, JUNG MJ, CASARA P. 4-Amino-hex-5-enoic Acid, a Selective Catalytic Inhibitor of 4-Aminobutyric-Acid Aminotransferase in Mammalian Brain. *Eur J Biochem.* **1977**;74(3):441-445. doi:10.1111/j.1432-1033.1977.tb11410.x
26. Lowe SL, Francis PT, Procter AW, Palmer AM, Davison AN, Bowen DM. Gamma-aminobutyric acid concentration in brain tissue at two stages of alzheimer's disease. *Brain.* **1988**;111(4):785-799. doi:10.1093/brain/111.4.785
27. Van Gelder NM, Sherwin AL, Rasmussen T. Amino acid content of epileptogenic human brain: Focal versus surrounding regions. *Brain Res.* **1972**;40(2):385-393. doi:10.1016/0006-8993(72)90141-2
28. Ribak C., Harris A., Vaughn J., Robertss E. Inhibitory, GABAergic nerve terminals decrease at sites of focal epilepsy. *Science (80-).* **1979**;205(4402):211-214. doi:10.1126/science.109922
29. Wu JY, Bird ED, Chen MS, Huang WM. Abnormalities of neurotransmitter enzymes in Huntington's chorea. *Neurochem Res.* **1979**;4(5):575-586. doi:10.1007/BF00964435
30. Lloyd KG, Shemen L, Hornykiewicz O. DISTRIBUTION OF HIGH AFFINITY SODIUM-INDEPENDENT [aH]GAMMA- AMINO BUTYRIC ACID ([3H]GABA) BINDING IN THE HUMAN BRAIN: ALTERATIONS IN PARKINSON'S DISEASE. *Brain Res.* **1977**;127(2):269-278. doi:10.1016/0006-8993(77)90540-6
31. Thaker GK. Brain γ -Aminobutyric Acid Abnormality in Tardive Dyskinesia. *Arch Gen Psychiatry.* **1987**;44(6):522. doi:10.1001/archpsyc.1987.01800180032006
32. Sherif FM, Saleem Ahmed S. Basic aspects of GABA-transaminase in neuropsychiatric disorders. *Clin Biochem.* **1995**;28(2):145-154. doi:10.1016/0009-9120(94)00074-6

33. Hawker DD, Silverman RB. Synthesis and evaluation of novel heteroaromatic substrates of GABA aminotransferase. *Bioorganic Med Chem.* **2012**;20(19):5763-5773. doi:10.1016/j.bmc.2012.08.009
34. Landmark CJ. Targets for antiepileptic drugs in the synapse. *Med Sci Monit.* **2007**;13(1):1-7.
35. Martínez Campos Z. DISEÑO Y SÍNTESIS DE ANÁLOGOS HETEROCÍCLICOS DE GABA, PREGABALINA Y BACLOFEN. Published online **2016**.
36. Tovar Gudiño E. Diseño, síntesis y evaluación de la actividad biológica de análogos de GABA, Pregabalina y Baclofen. Published online **2014**.
37. Rodríguez-Lozada J, Tovar-Gudiño E, Guevara-Salazar JA, et al. QSAR and molecular docking studies of the inhibitory activity of novel heterocyclic GABA analogues over GABA-AT. *Molecules.* **2018**;23(11):1-31. doi:10.3390/molecules23112984
38. Cruz JM, Domínguez-Valle I, Fuentes-Beltrán A, Sánchez-Morales JU, Buhse T. El extraño caso de los cristales diestros y siniestros. *Academia de Ciencia de Morelos, A.C.* <http://www.acmor.org.mx/?q=content/el-extraño-caso-de-los-cristales-diestros-y-siniestros>. Published July **2018**.
39. Camps P, Muñoz-Torrero D, Sánchez L. Synthesis of both enantiomers of baclofen using (R)- and (S)-N-phenylpantolactam as chiral auxiliaries. *Tetrahedron Asymmetry.* **2004**;15(13):2039-2044. doi:10.1016/j.tetasy.2004.05.021
40. Langlois N, Dahuron * Nathalie, Hai-Shan W. Enantioselective Syntheses of (R)-3-Phenyl GABA, (R)-Baclofen and 4-Arylpyrrolidin-2-ones. *Tetrahedron.* **1996**;52(48):15117-15126.
41. Kemme ST, Šmejkal T, Breita B. Practical synthesis of (E)- α,β -unsaturated carboxylic acids using a one-pot hydroformylation/decarboxylative Knoevenagel reaction sequence. *Adv Synth Catal.* **2008**;350(7-8):989-994. doi:10.1002/adsc.200700595
42. Azam S, Souza AAD, Wyatt PB. Enantioselective synthesis of 2-substituted 4-aminobutanoic acid (GABA) analogues via cyanomethylation of chiral enolates. *J Chem Soc Perkin Trans 1.* **1996**;7:621-627. doi:10.1039/p19960000621
43. Stephen G D, Hitesh J S, Peter S. The "SuperQuat" (R)-4-Phenyl-5,5-Dimethyl Oxazolidin-2-one as an Effective Chiral Auxiliary for Conjugate additions: Asymmetric Synthesis of (-)-Aplysillamide B. *Tetrahedron.* **1999**;55(11):3337-3354. doi:10.1016/S0040-4020(98)01145-4
44. Bartolo G, Giuseppe S, Donatella B, Mirco C, Gian PC. Synthesis of 2-oxazolidinones by direct palladium-catalyzed oxidative carbonylation of 2-amino-1-alkanols. *Org Lett.* **2000**;2(5):625-626. doi:10.1021/ol9913789
45. Prashad M, Kim HY, Har D, Repic O, Blacklock TJ. A convenient and practical method for N-acylation of 2 oxazolidinone chiral auxiliaries with acids. *Tetrahedron Lett.* **1998**;39(51):9369-9372. doi:10.1016/S0040-4039(98)02112-1
46. Morales-Nava R, Ramírez-Solís A, Fernández-Zertuche M. NMR and theoretical studies on the conformational preferences of some non-metal coordinated N-enoyl systems attached to common chiral auxiliaries. *J Mex Chem Soc.* **2014**;58(2):89-94. doi:10.29356/jmcs.v58i2.162
47. Jensen KL, Poulsen PH, Donslund BS, Morana F, Jørgensen KA. Asymmetric synthesis of γ -nitroesters by an organocatalytic one-pot strategy. *Org Lett.* **2012**;14(6):1516-1519. doi:10.1021/ol3002514
48. Albericio F, Isidro-Ilobet A, Mercedes A. Amino Acid-Protecting Groups. *Chem Rev.*

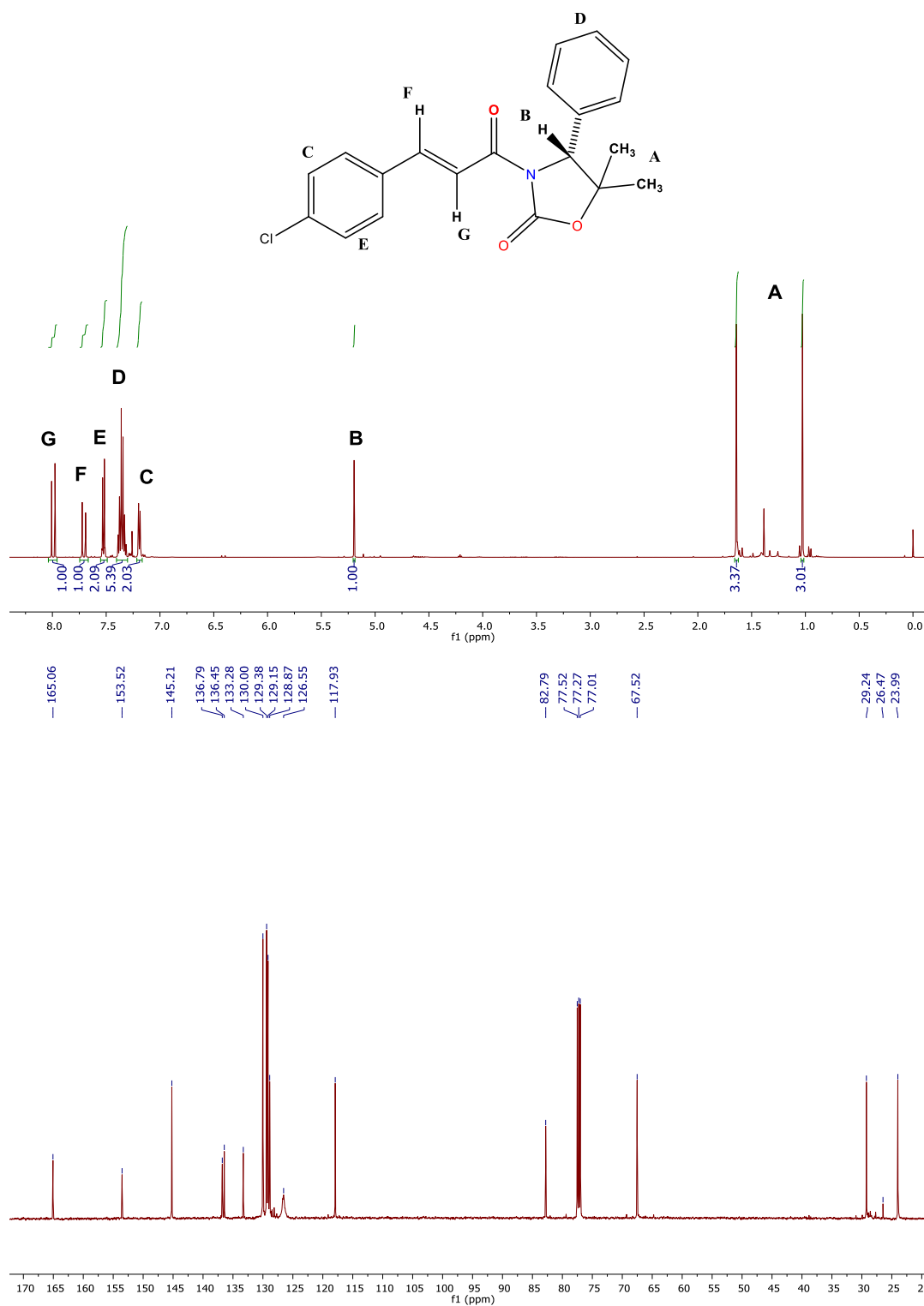
10 Anexos

Auxiliar quiral.

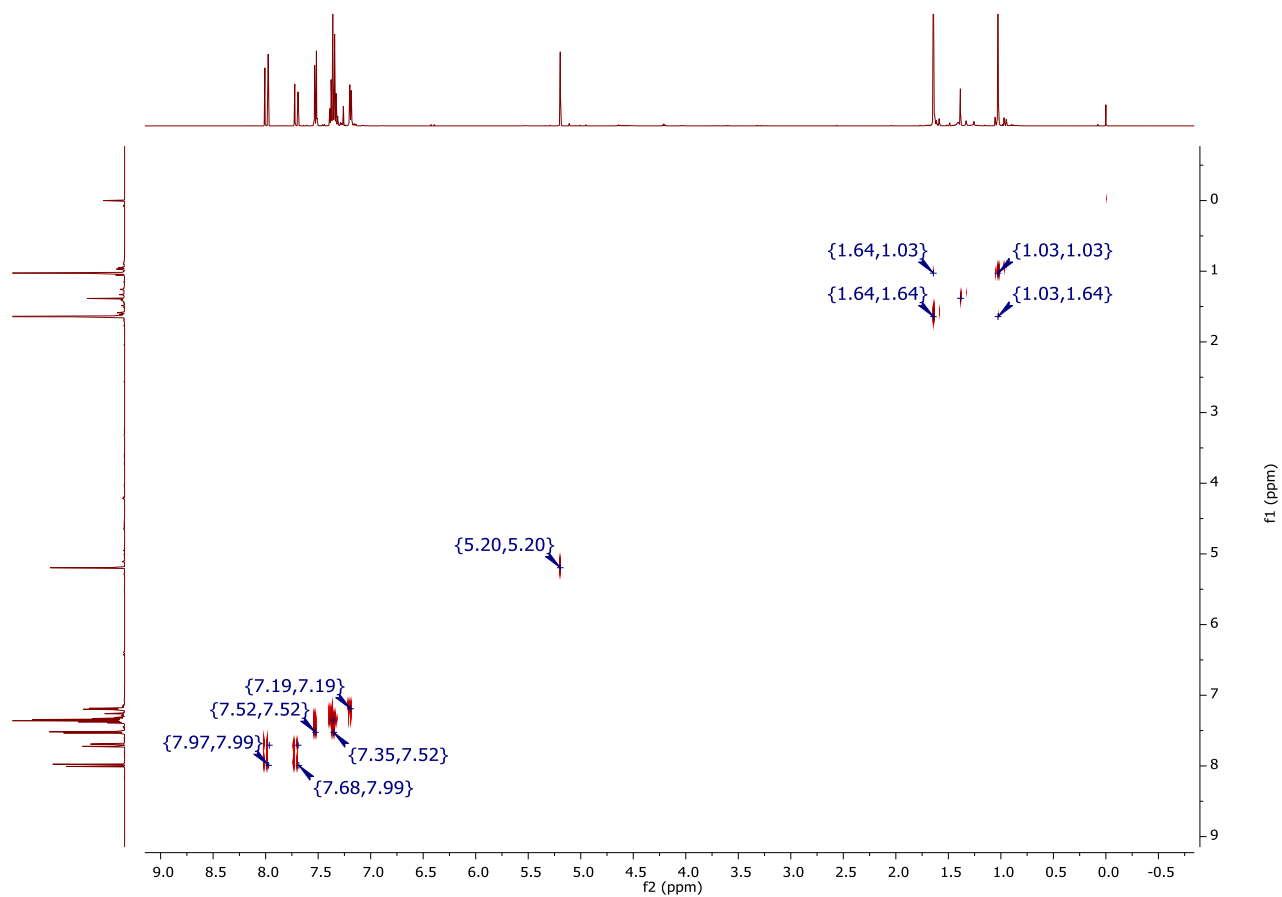
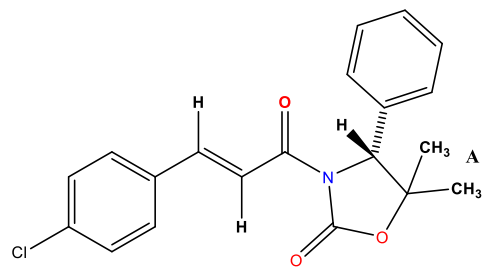


Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **8**.

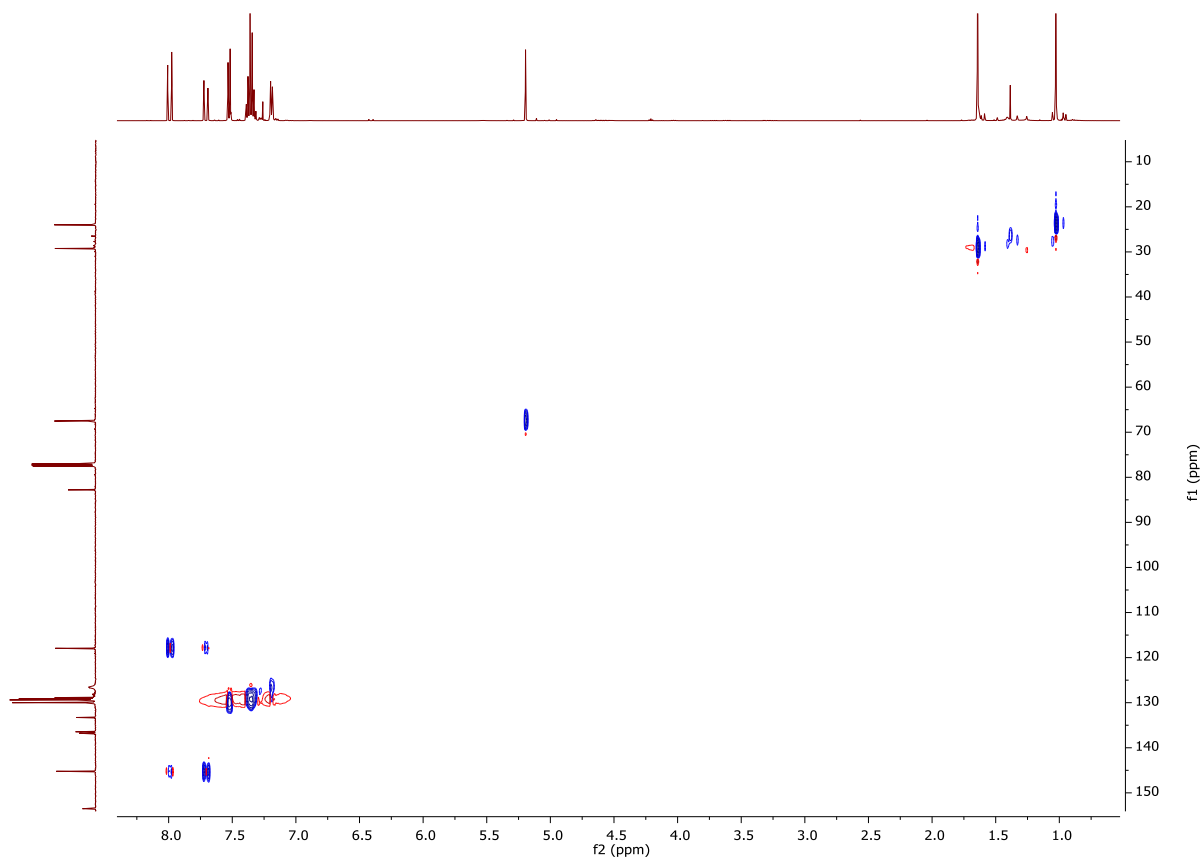
Acoplamiento del auxiliar quiral.



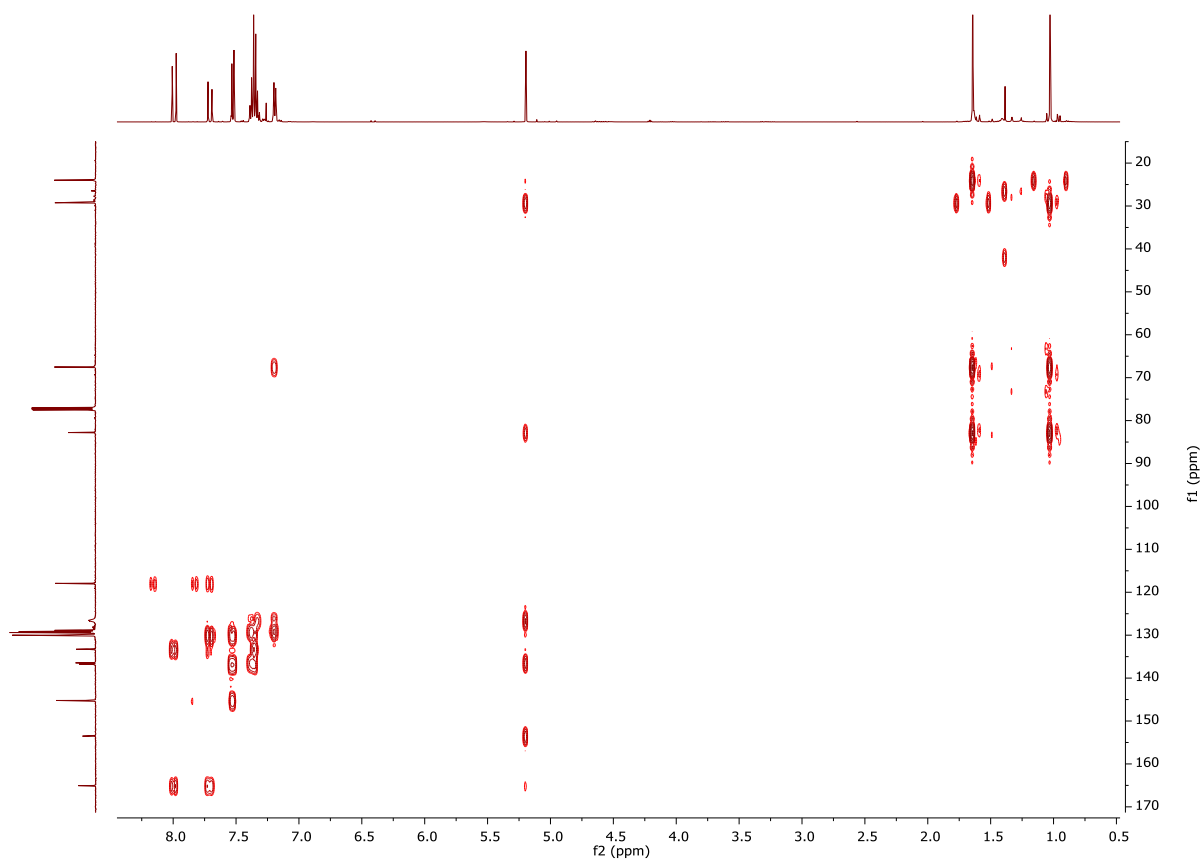
Espectro de RMN de ^1H y ^{13}C (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **9**.



RMN 2D (COSY 500 MHz, CDCl_3) de **9**.

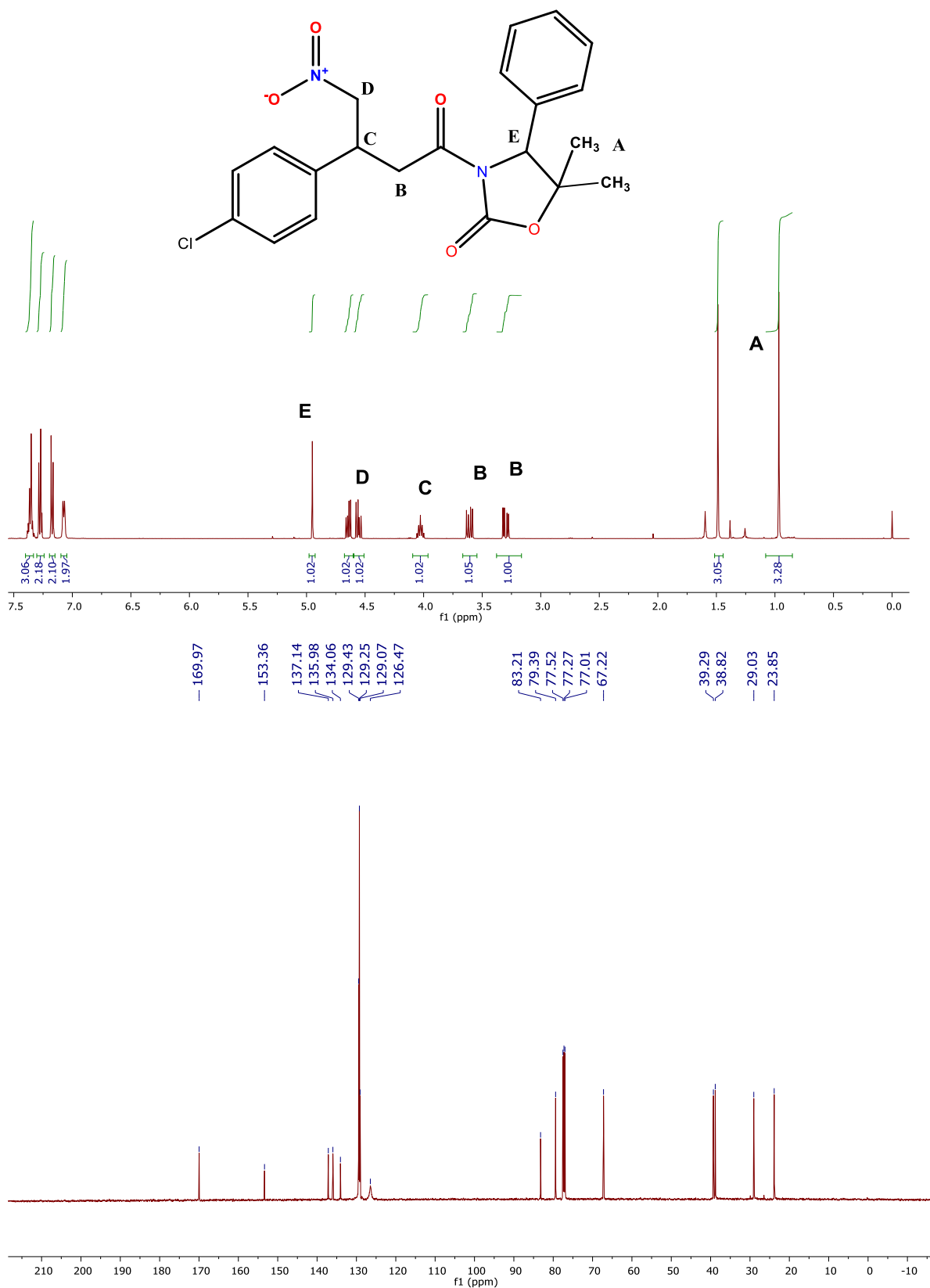


RMN 2D (HSQC 500 MHz, CDCl₃) de **9**.

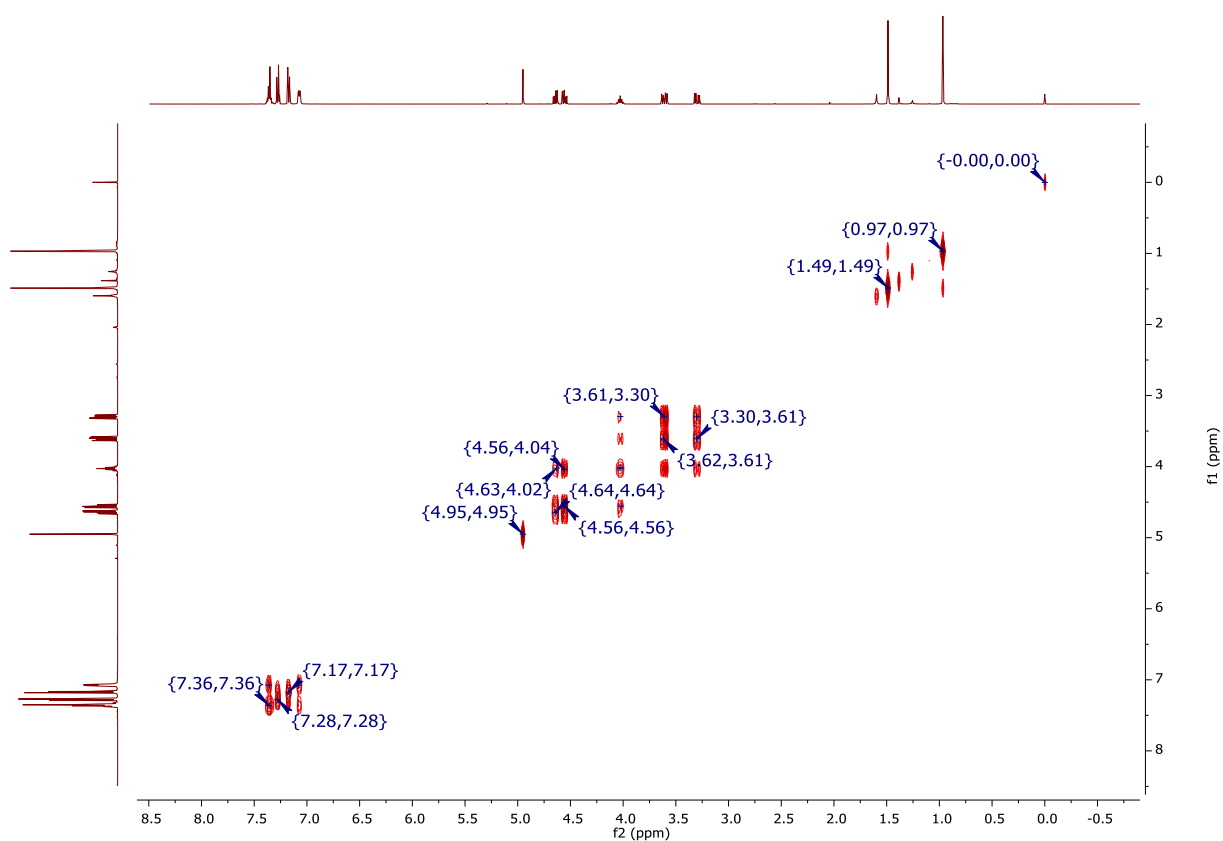
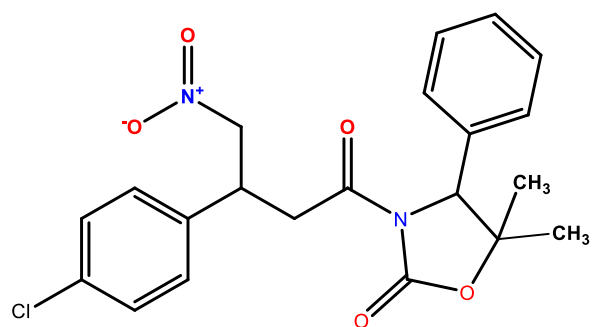


RMN 2D (HMBC 500 MHz, CDCl₃) de **9**.

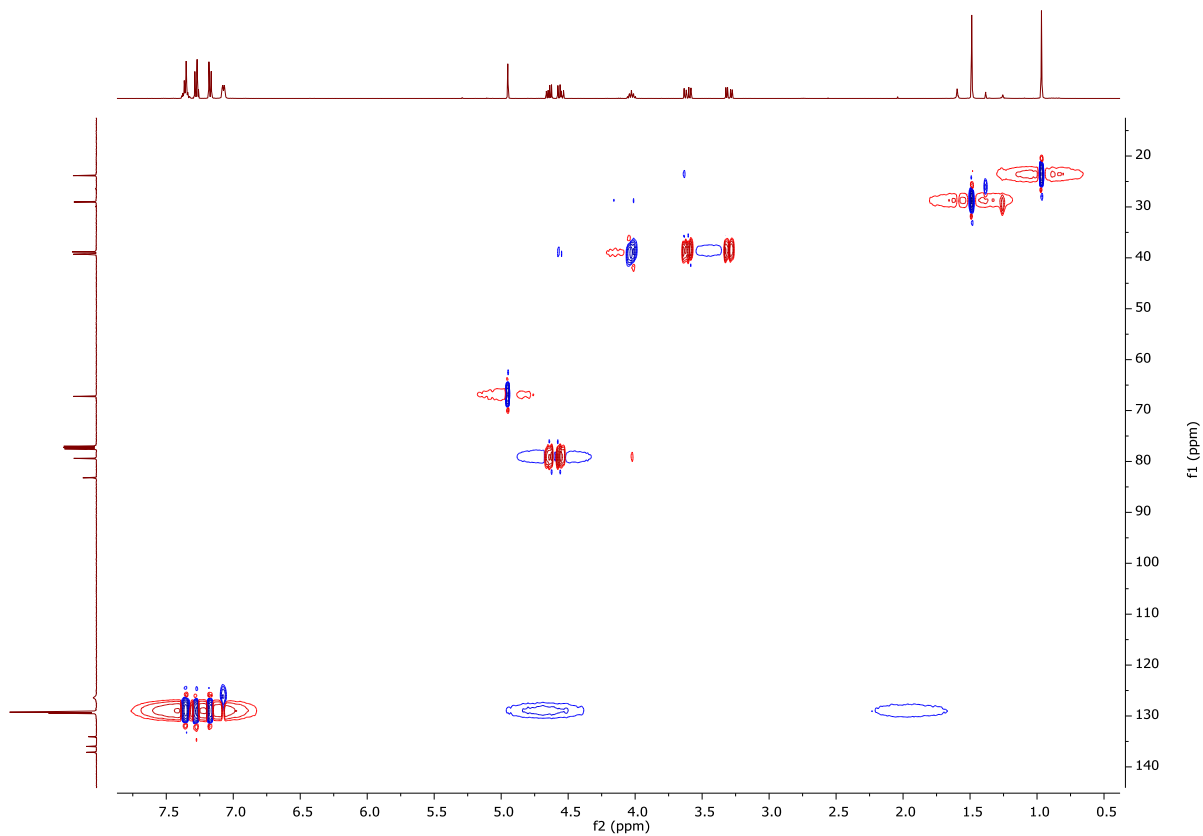
Formación de Diasteroisómeros.



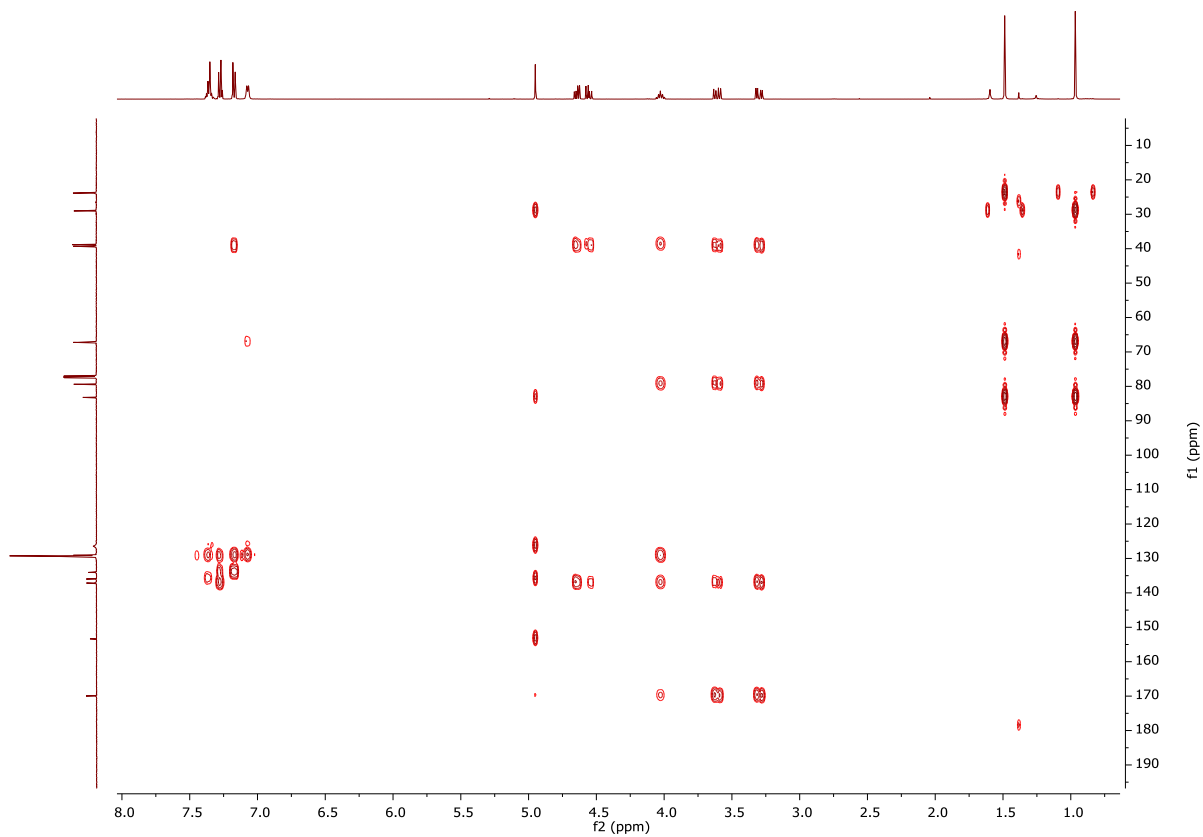
Espectro de RMN de ¹H y ¹³C (500 MHz, CDCl₃) del compuesto 10.



RMN 2D (COSY 500 MHz, CDCl₃) de **10**.



RMN 2D (HSQC 500 MHz, CDCl₃) de **10**.



RMN 2D (HMBC 500 MHz, CDCl₃) de **10**.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS

Control Escolar de Licenciatura



VOTOS DE APROBATORIOS

**Secretaría Ejecutiva del Consejo Directivo del Instituto de Investigación en Ciencias Básicas Aplicadas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
P r e s e n t e.**

Por medio de la presente le informamos que después de revisar la versión escrita de la tesis que realizó el **C. SÁNCHEZ MORALES JAVIER ULISES** con número de matrícula **20164012380** cuyo título es:

“Síntesis estereoselectiva de análogos de Gaba”

Consideramos que SI reúne los méritos que son necesarios para continuar los trámites para obtener el título de Licenciado en Diseño Molecular y Nanoquímica.

Cuernavaca, Mor a 06 de septiembre de 2021

ATENTAMENTE
POR UNA HUMANIDAD CULTA

SE ADICIONA PÁGINA CON LAS EFIRMAS DE LOS SIGUIENTES:

**DRA. LAURA PATRICIA ÁLVAREZ BERBER
DR. JOSÉ LUIS VIVEROS CEBALLOS
DR. MARIO FERNÁNDEZ ZERTUCHE
DRA. IRMA LINZAGA ELIZALDE
DRA. ELIA MARCELA LÓPEZ CARDOSO**

**PRESIDENTE
SECRETARIO
VOCAL
PRIMER SUPLENTE
SEGUNDO SUPLENTE**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

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

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

Sello electrónico

ELIA MARCELA LOPEZ CARDOSO | Fecha:2021-09-06 12:36:23 | Firmante

HGo0uALS8KZ28LiZLqEqh9j2BXEIKqbOZILFlqL7E1DeEULmfgEXtWi1E9ZZU62FFq57q3dE0am9nqQlfg7pBIGdprbBr3Ht0AX1MYVpxwwL+ffqXYyZ+I6quG9o64+bftN6kHBYL52ckNmOmibYKOLMyPDoKTidcMwUU47yKy1/7HbP/uRiVABKpDFRcfHzD5goBsajhxO2tblJS2RSdH/xWUub4TPh93jNoyjqcCJxx/T/Hy7xCl4OEcrETMiXSiqKQzleUKVJKa6TtjmS+zxKwjGjWHPz3Jal2X3bl209vEB39j84AVyucVHR2ngfmXG9w/m7OW519GCYS3ww==

IRMA LINZAGA ELIZALDE | Fecha:2021-09-06 13:26:20 | Firmante

K5FTA8jdmnGjqD73xx2i+rYq3yXimyjZvb0UbbvgvmamODXGtXsJKGR5lq07NFflmC/7BJJYaoZeVcNNd4kgn42N/wL/YDXrB48nZHnSED1gmjlv5e5+dhejvRMrhncMbyAyLFRWjy8dGElo05ASYHmCgcORn6/5NVcarJX5cquj7/429vznG0x9lOhAAGa1FPjI8f0dJifBHjojYoBQmqEeVWJ69tEO+m6mof4BgMWSy48AkZGayPKKWEH1H54LbMdfp1w1uTpMLpcRxdYzP2grtizGWL4Vjpp8BSF9N9lXZG7W8P2+nTJ2PFQjCXejX++Kd8rLp/PKeA==

LAURA PATRICIA ALVAREZ BERBER | Fecha:2021-09-06 13:42:26 | Firmante

NK3QZooFJklrm18ne0mx0Pq0gd+wdEv5cNMAoLPvra2buhZLBoalKACcPHs88pHM3oR9/dvqgwrP+4peEuhD8UIQQEA4KzJ4S1BMY/u6jb6LLLh4+S1OUj3fUglxyFaM/UHxWj/SOxXHqIMzhCmgvii/sxS2DOnhJKrtKmZc2pVsw11NWbUP8eRWwjDOUSN8JCHU17ZPJvAPRI2sflNitHa2M725ms+MXjBT2VvFRlUkeEwQcZYNgSGNj0wsA/S1N7VqOjOAXlqunGUR6qlQnukhME7IDUMEK4FCQ2R4/xoPadgS/uuKSX5AqHKynh4ttlo22nSCNLKKGozXTDF/gw==

JOSE LUIS VIVEROS CEBALLOS | Fecha:2021-09-07 09:44:11 | Firmante

Ynpmsmw4ZqDFuj7v1uBVJfWFZQ8/+vlpf9XoG+nOCAvpcbsfBRirCaqFza2Ehx5UObfVw92F+IVnrdLaH2UBLjRSWaijK8jtWpsC269IceX6Hn4A03YHu+E4w6WBCWCbKDnIIxudlg/yIgiJm/q9xA2dTPKIRxk8wyTwsbxx2f4oiWAZlY++2lg1xthu245RrKeCoE7Bbzu/QRlmlrLgab3/zfuoionmMOog88DbEFZQYtm95D7VM+C2TVPgQswWvJBYwzombdi4lpWGNqAD1X+XEeQHfd1L8OVR7zrv7Hpas9TCZpK/7jwP+j0Ly2IPU0mW/ppvqJecisd+kQ==

MARIO FERNANDEZ ZERTUCHE | Fecha:2021-09-08 11:30:16 | Firmante

jVo3d8z+HavgtJ50b9ql2tGMJfGvNXQTz3/7n5th7afF1//beMHRyWppaC66FzZrIgcChlsqWV+VMUDPmyNdYnNRoDLd+bwZbiP7GhIvZFXNNIhRQ9zAHlgN9xrbmRfbKxkQCxEaAq3o0ms6cZ2m8cS6cfjxSlfijN5tPLp3DLqKofK0aIAfWH8FHO5wiZ3imBiZLR+326pOy9Lqzwh40FLjpygwzbHzK0m7EVerHNdV96XDxxkYQjKAbKDnXbyTDxhAx2njuAJSFYyWINbsGdLmcy2mXCY8QCDDQaPzed1xEkvwtSzkYhvcHtpr+8xFFFIBksjNQuYqnTg==

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



EC0fdt

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/Z95UM9kgd12cqnXDPclgeSU40Dy5lvn0>

