



**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 de α -metilen- γ -lactamas β -mono- y β,γ -
disustituidas, y su resolución con (S)-Naproxeno**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

Alexis Hernández Guadarrama

**DIRECTORA DE TESIS
Dra. Irma Linzaga Elizalde**

CUERNAVACA, MORELOS

Marzo, 2023

El presente trabajo se realizó en el Centro de Investigaciones Químicas-IICBA de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la dirección de la Dra. Irma Linzaga Elizalde, contando con el apoyo de una beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), número 305283.

Los resultados obtenidos en este trabajo de tesis doctoral se publicaron y presentaron en diferentes congresos.

Publicación:

Alexis Hernandez-Guadarrama, Fernando Cuevas, Iris J. Montoya-Balbás, Perla Róman-Bravo, Irma Linzaga-Elizalde, Synthesis de β -mono- and β,γ -di-substituted α -methylene- γ -lactams. *Tetrahedron Letters* **2022**, *107*, 154105-154107.

Presentación en Congresos Nacionales:

Alexis Hernández Guadarrama, Irma Linzaga Elizalde, Eunice Emanuela Gonzales Herrera. Síntesis de α -metilen- γ -lactamas utilizadas como intermediarios sintéticos para la preparación de γ -aminoácidos. XV reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica (AMQO), realizada los días 11 y 12 de abril 2019, en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM) en la cd. de Cuernavaca, Morelos en modalidad presencial.

Alexis Hernández Guadarrama, Irma Linzaga Elizalde, Angelica Berenice Aguilar Guadarrama, Gabriela María Ávila Villareal. Síntesis y evaluación de la actividad biológica de α -metilen- γ -lactamas. XVI Reunión de la Academia Mexica de Química Orgánica (AMQO), realizada los días 19 al 23 de abril 2021, en modalidad virtual.

Alexis Hernández Guadarrama, Irma Linzaga Elizalde, Angelica Berenice Aguilar Guadarrama, Mónica Aidée Díaz Román. Síntesis de α -metilen- γ -lactamas y estudios de actividad antiinflamatoria. XVII reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica (AMQO), realizada los días 25 y 26 de agosto del 2022, en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) en la Cd. de Puebla, Puebla en modalidad presencial.

Jurado Revisor

Dr. José Mario Ordoñez Palacios

Dr. José Luis Viveros Ceballos

Dr. Iván Omar Romero Estudillo

Dra. Gabriela María Ávila Villarreal

Dr. Oscar García Barradas

Dr. Rubén Oswaldo Argüello Velasco

Dra. Irma Linzaga Elizalde

Agradecimientos

Al personal de área analítica: Dra. Blanca Eda Domínguez Mendoza, Dr. Raúl Villamil Ramos, M. Cristina Margarita Rodríguez Narváez, Dra. Gabriela Vargas Pineda, M. Victoria Labastida Galván, T. L. María G. Medina Pintor, Dra. Iris Janet Montoya Balbas, Dra. Perla Román Bravo; por su apoyo en la realización de los estudios correspondientes.

Al comité tutorial: Dr. José R. Hugo Tlahuext Romero, Dr. José Luis Viveros Ceballos y Dra. Irma Linzaga Elizalde por sus importantes sugerencias y aportaciones al trabajo de investigación.

Al jurado revisor: Dr. José Mario Ordoñez Palacios, Dr. José Luis Viveros Ceballos, Dr. Iván Omar Romero Estudillo, Dra. Gabriela María Ávila Villarreal, Dr. Oscar García Barradas, Dr. Rubén Oswaldo Argüello Velasco y Dra. Irma Linzaga Elizalde; por sus valiosos comentarios y observaciones que ayudaron a mejorar este trabajo.

A mi asesora: Dra. Irma Linzaga Elizalde, por brindarme la oportunidad de trabajar en su laboratorio y confiarme en mí.

A mi Familia: Por brindarme el apoyo y compartir conmigo este logro tan importante en mi vida. Muchas gracias.

A mis compañeros y amigos: Dr. Fernando Cuevas Remigio, Dr. Oscar Salgado Escobar y Dra. Iris Janet Montoya Balbas.

Índice general

	Pag.
Índice de compuestos.	i
Lista de abreviaturas.	v
1. Introducción.	1
2. Antecedentes.	6
Síntesis de α -metilen- γ -lactamas.	6
3. Hipótesis.	19
4. Objetivo general.	20
4.1 Objetivos específicos.	20
5. Discusión de resultados.	21
5.1 Estudios de actividad biológica de α -metilen- γ -lactamas.	43
6. Conclusiones.	65
7. Parte experimental.	68
7.1 Procedimiento general para la preparación de arilidenmalonatos.	67
7.1.1 <i>Preparación del 2-bencilidenmalonato de dimetilo</i>	69
7.1.2 <i>Preparación del 2-(4-Clorobenciliden)malonato de dimetilo.</i>	69
7.1.3 <i>Preparación del 2-(4-metilbenciliden)malonato de dimetilo</i>	70
7.1.4 <i>Preparación del 2-(2-clorobenciliden)malonato de dimetilo.</i>	70
7.2 Procedimiento general para la preparación de γ -nitroderivados.	71
7.2.1 <i>Preparación del 2-(2-nitro-1-feniletil)malonato de dimetilo</i>	72
7.2.2 <i>Preparación del 2-(2-nitro-1-(4-clorofenil)etil)malonato de dimetilo.</i>	72
7.2.3 <i>Preparación del 2-(2-nitro-1-(p-tolil)etil)malonato de dimetilo</i>	73
7.2.4 <i>Preparación del 2-(2-nitro-1-(2-clorofenil)etil)malonato de dimetilo.</i>	73
7.2.5 <i>Preparación del 2-(2-nitro-1-fenilbutil)malonato de dimetilo.</i>	74

7.2.6 Preparación del 2-(1-(4-clorofenil)-2-nitrobutil malonato de dimetilo.	74
7.2.7 Preparación del 2-(2-nitro-1-(p-tolil)butil)malonato de dimetilo.	75
7.3 Procedimiento general para la preparación de γ -lactamas.	76
7.3.1 Preparación del 2-oxo-4-fenilpirrolidina-3-carboxilato de metilo.	76
7.3.2 Preparación del 2-oxo-(4-clorofenil)-pirrolidina-3-carboxilato de metilo.	77
7.3.3 Preparación del 2-oxo-4-(p-tolil)-pirrolidina-3-carboxilato de metilo.	77
7.3.4 Preparación del 2-oxo-4-(2-clorofenil)-pirrolidina-3-carboxilato de metilo.	78
7.3.5 Preparación del 5-etil-2-oxo-4-fenilpirrolidina-3-carboxilato de metilo.	78
7.3.6 Preparación del 4-(4-clorofenil)-5-etil-2-oxopirrolidina-3-carboxilato de metilo.	79
7.3.7 Preparación del 5-etil-2-oxo-4-(p-tolil)pirrolidina-3-carboxilato de metilo.	79
7.4 Procedimiento general para la preparación de α -hidroximetil- γ -lactamas.	80
7.4.1 Preparación de la 3-(hidroximetil)-4-fenilpirrolidin-2-ona.	80
7.4.2 Preparación de la 3-(hidroximetil)-4-(4-clorofenil)pirrolidin-2-ona.	81
7.4.3 Preparación de la 3-(hidroximetil)-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona.	81
7.4.4 Preparación de la 3-(hidroximetil)-4-(2-clorofenil)pirrolidin-2-ona.	82
7.4.5 Preparación de la 5-etil-3-(hidroximetil)-4-fenilpirrolidin-2-ona.	83
7.4.6 Preparación de la 5-etil-3-(hidroximetil)-4-(4-clorofenil)pirrolidin-2-ona.	84

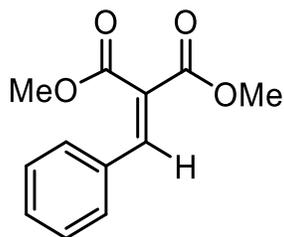
7.4.7 Preparación de la 5-etil-3-(hidroximetil)-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona.	84
7.5 Procedimiento general para la preparación de α -metilen- γ -lactamas.	84
7.5.1 Preparación de la 3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona,	85
7.5.2 Preparación de la 3-metilen-4-(4-clorofenil)pirrolidin-2-ona.	85
7.5.3 Preparación de la 3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona.	86
7.5.4 Preparación de la 3-metilen-4-(2-clorofenil)pirrolidin-2-ona.	86
7.5.5 Preparación de la 5-etil-3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona.	87
7.5.6 Preparación de la 5-etil-3-metilen-4-(4-clorofenil)pirrolidin-2-ona.	88
7.5.7 Preparación de la 5-etil-3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona.	88
7.6 Preparación del ácido (S)-2-(1,3-dioxoisindolin-2-il) propanoico.	89
7.7 Procedimiento general para resolución diastereoisomérica de las α -metilen- γ -lactamas con (S)-Naproxeno.	90
7.7.1 Preparación del (R)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona.	90
7.7.2 Preparación del (S)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona.	91
7.7.3 Preparación del (R)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona.	92
7.7.4 Preparación del (S)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona.	93
7.8 Procedimiento general para la remoción del agente quiral del (S)-Naproxeno.	94
7.8.1 Preparación de la 3-metilen-4-(p-tolyl)pyrrolidin-2-ona	94
7.8.2 Preparación de la 3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona.	94
7.9 Procedimiento general para la evaluación in vitro de la actividad inhibitoria de las α -metilen- γ -lactamas sobre las enzimas de α -	95

glucosidasas.

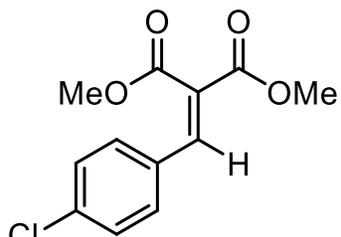
7.10 Procedimiento general para la evaluación de la actividad antiinflamatoria de las α -metilen- γ -lactamas. 96

8. Anexos. 98

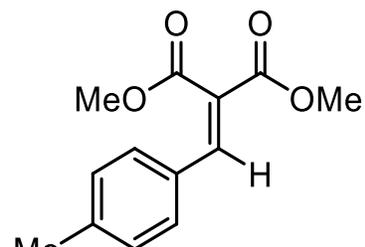
Índice de compuestos



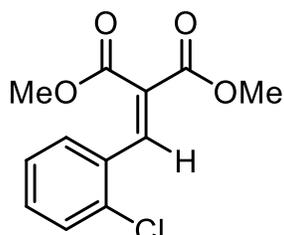
63a



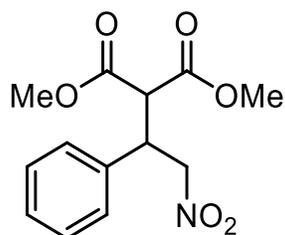
63b



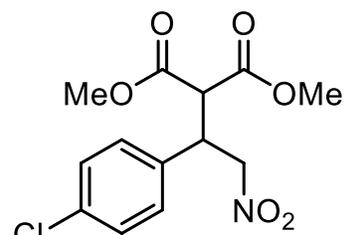
63c



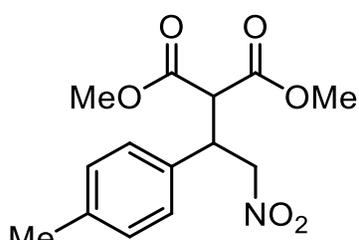
63d



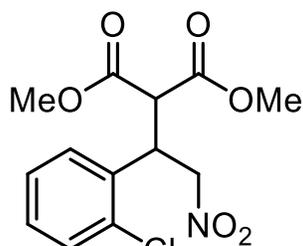
64a



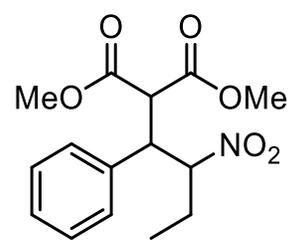
64b



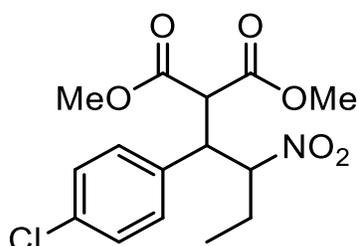
64c



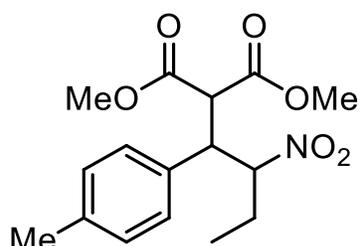
64d



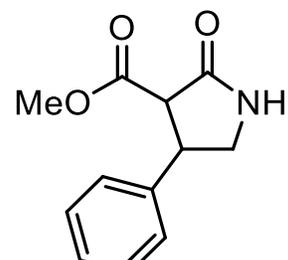
64e



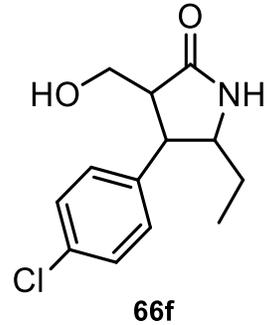
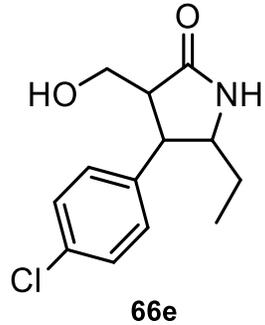
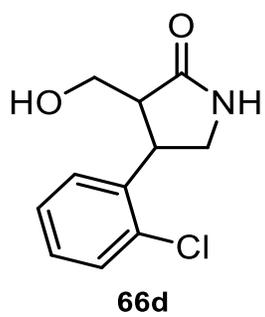
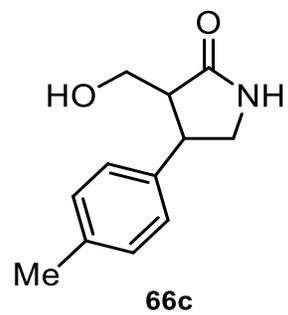
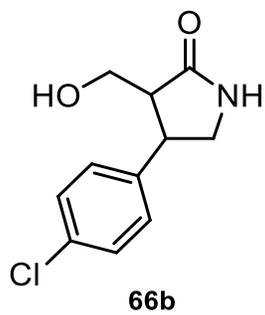
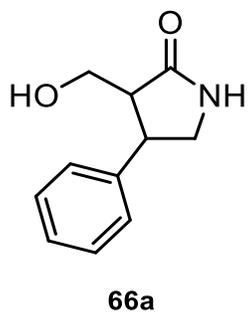
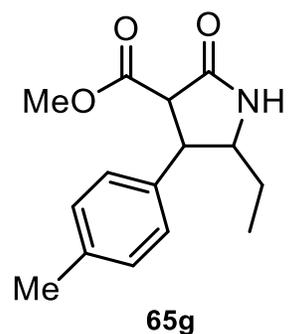
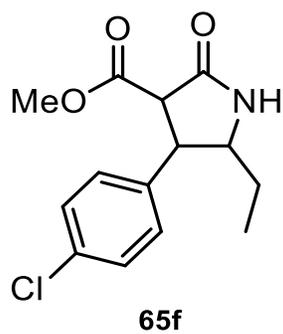
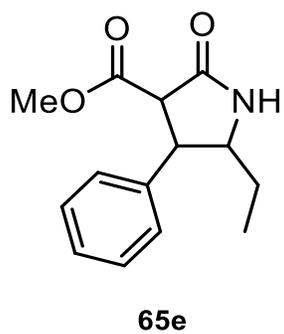
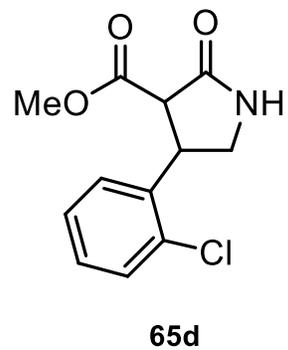
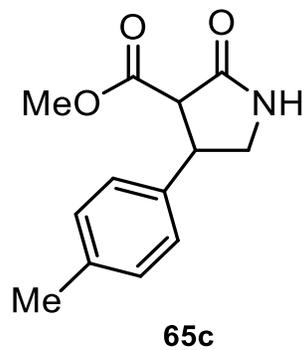
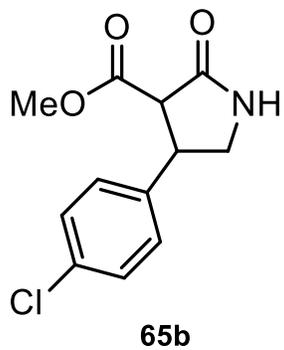
64f

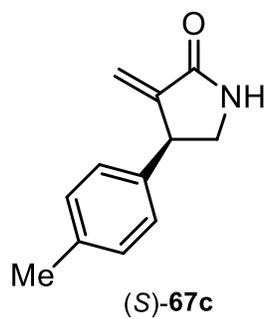
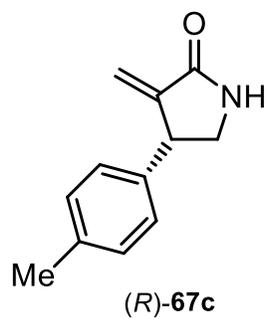
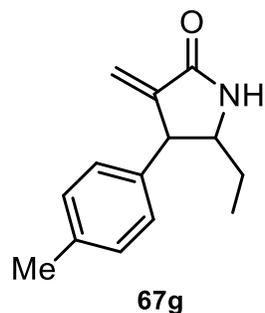
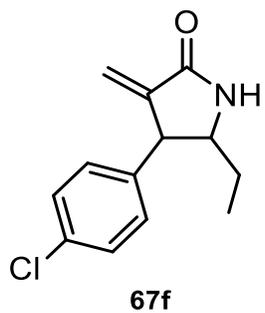
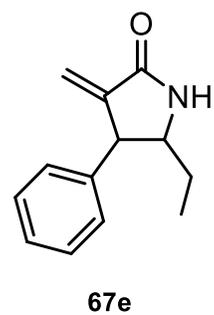
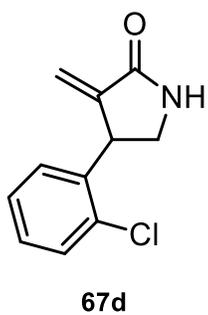
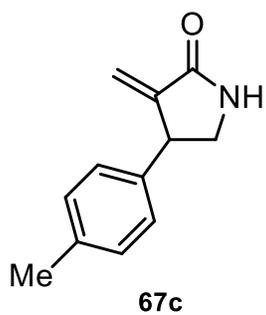
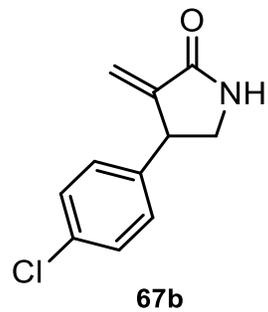
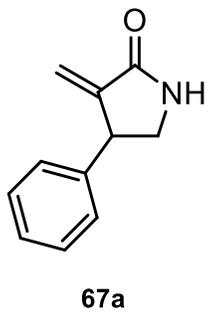
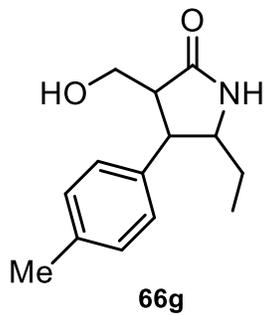


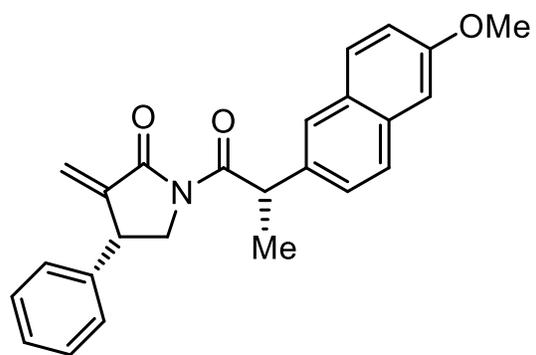
64g



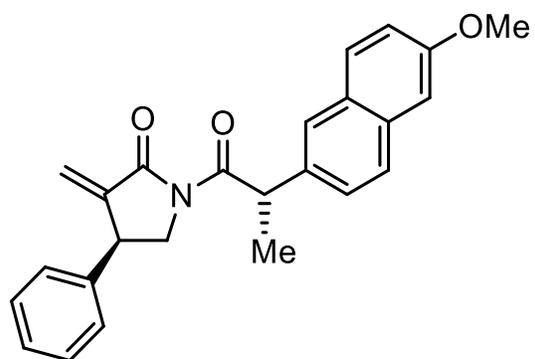
65a



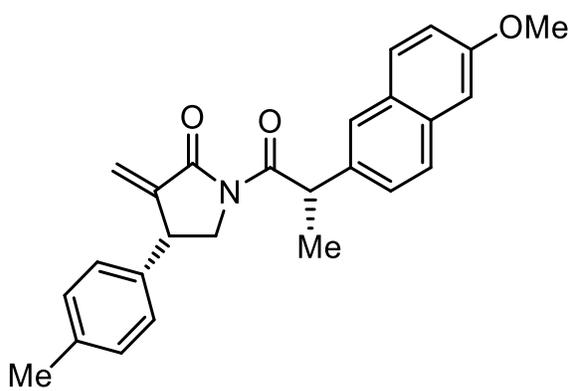




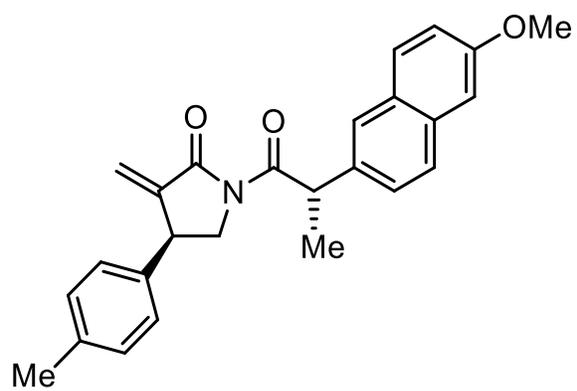
(R,S)-67a



(S,S)-67a



(R,S)-67c



(S,S)-67c

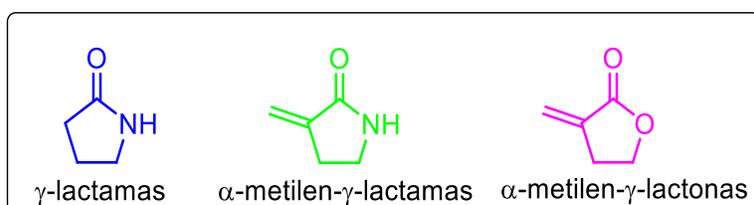
Abreviaturas

$[\alpha]_D$	Rotación específica
β -ICDP	β -isocupreidina
Å	Angströms
ACA	Acarbosa
Boc	<i>t</i> -butoxicarbonilo
Cat.	Catalizador
CCF	Cromatografía en capa fina
d	Doblete
DABCO	1,4-diazabicyclo-[2.2.2]octano
DBU	1,8-diazabicyclo-[5.4.0]undec-7-eno
DCM	Diclorometano
dd	Señal doble de dobles
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
e.e.	Exceso enantiómero
Et	Etilo
Et ₃ N	Trietilamina
Eq.	Equivalentes
FT-IR	Infrarrojo
HRMS	High-resolution mass spectrometry
HWE	Horner-Wadsworth-Emmons
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
LDA	<i>Di</i> -isopropilamido de litio
Log P	Coefficiente de partición octanol/agua
M	Molaridad
m	Multiplete
<i>m</i>	Posición <i>meta</i>
MBH	Morita-Baylis-Hillman

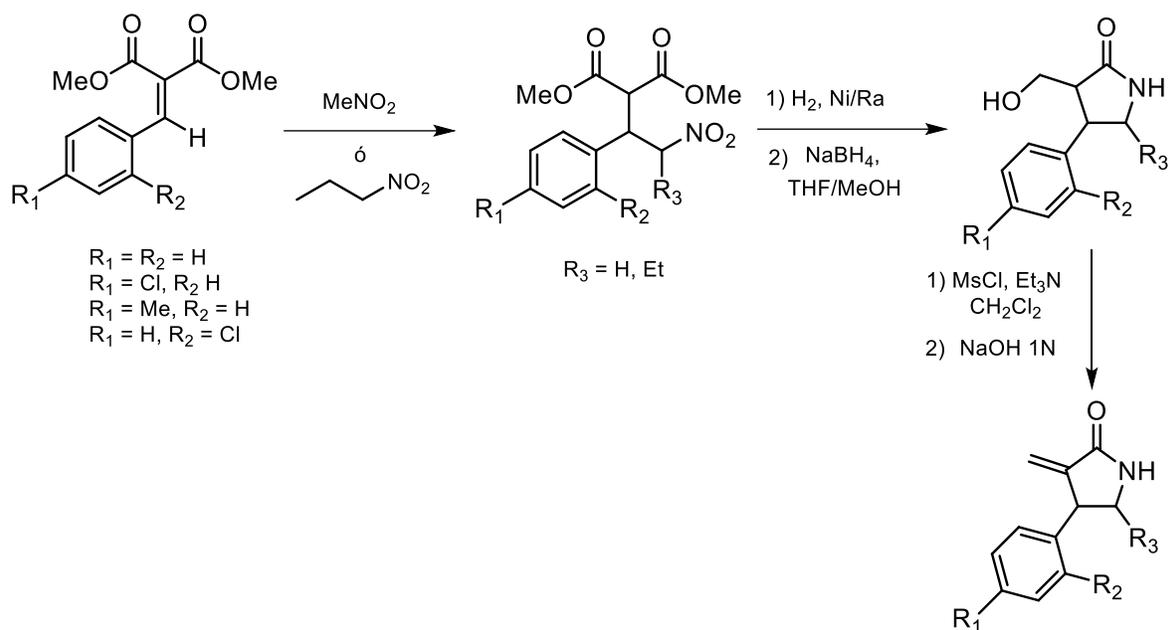
m.c.	Mezcla compleja
MGAM	Maltasa- glucoamilasa
Me	Metilo
Min	Minutos
mL	Mililitros
MW	Microondas
Mm	Milímetros
Mmol	Milimol
Ms	Mesilato
N	Normalidad
NOESY	Espectroscopía Nuclear de Efecto Overhauser
<i>o</i>	Posición <i>orto</i>
<i>p</i>	Posición <i>para</i>
Pa	Probabilidad de actividad
PDB	Protein Data Bank
p.f.	Punto de fusión
Ph	Grupo fenilo
Pi	Probabilidad de inactividad
Piv	Pivaloilo
ppm	Partes por millón
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono
s	Singulete
SARS	Síndrome respiratorio agudo grave
t.a.	Temperatura ambiente
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
TMG	1,1,3,3-tetrametil-guanidina
TPA	Acetato de 12-O-tetraecanoil-forbol
W	Watts
WH	Wittig-Horner

Resumen

Las γ -lactamas representan uno de los heterociclos más importantes tanto en Química Orgánica como en química medicinal, debido a que poseen un amplio espectro de actividades biológicas. Particularmente, las α -metilen- γ -lactamas se encuentran formando parte de productos naturales biológicamente activos. Estos compuestos presentan propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, antitumorales, antifúngicas y además son consideradas análogos bioisostéricos de las α -metilen- γ -lactonas por las propiedades biológicas similares que presentan.

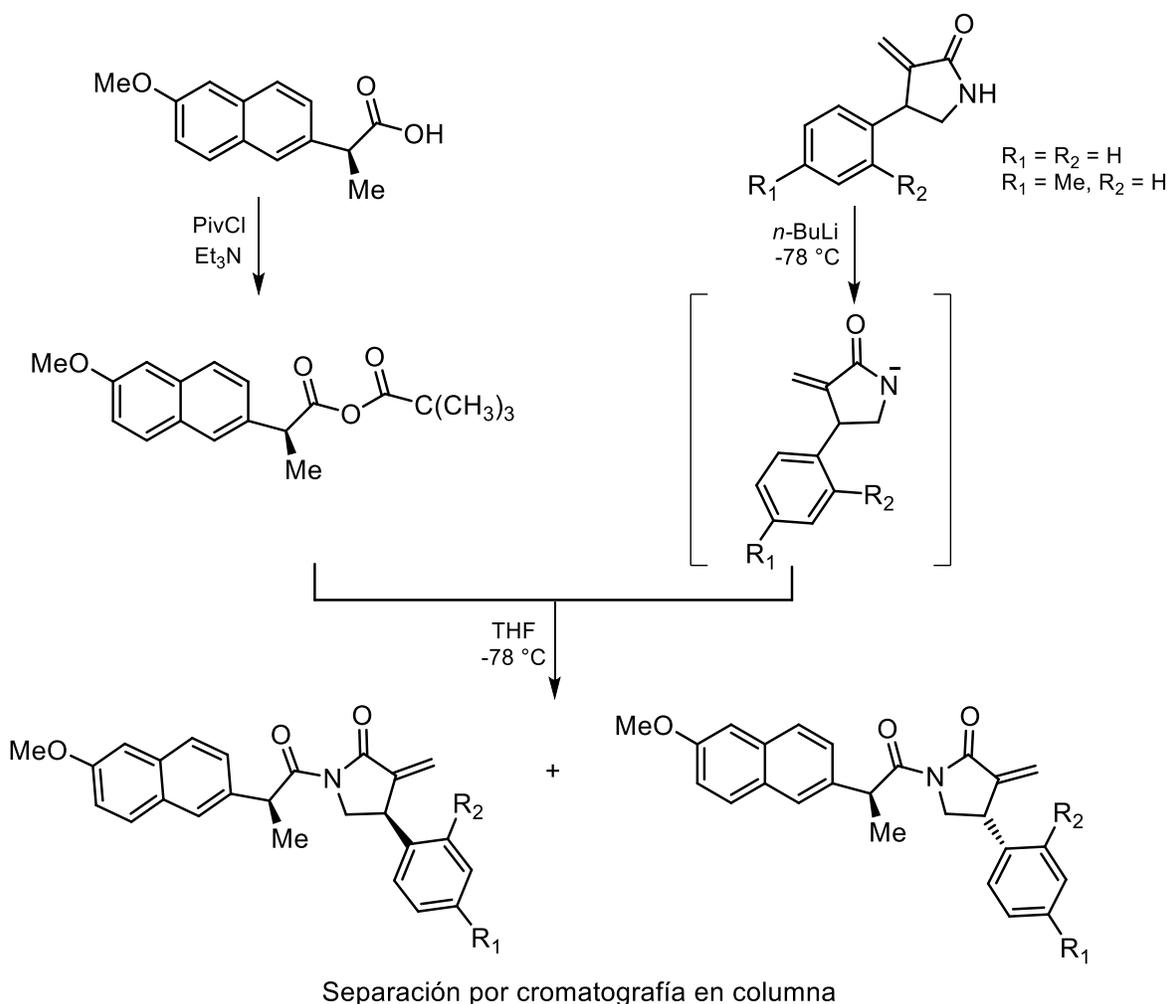


En este sentido, es necesario desarrollar nuevas metodologías para la obtención de α -metilen- γ -lactamas, así como también, realizar estudios para conocer más acerca de su actividad biológica. Por lo tanto, se planteó llevar a cabo la síntesis de este tipo de compuestos de una manera sencilla, utilizando materiales fácilmente accesibles. Este método involucra la adición-1,4 de nitroalcanos a alquilidenmalonatos para obtener nitro derivados tanto de una manera convencional, así como mediante irradiación por microondas. Posteriormente, la reducción del grupo nitro proporcionó la α -carbometoxi- γ -lactama, una molécula muy versátil que se utilizó para obtener el alcohol. Después, a partir del alcohol se obtuvo el mesilato, el cual se eliminó para proporcionar las β -mono y β - γ -disustituidas α -metilen- γ -lactamas (Esquema 1).



Esquema 1. Ruta de síntesis para obtención de las α -metileno- γ -lactamas.

Una vez obtenidas las β -mono- α -metileno- γ -lactamas racémicas, se estableció una metodología para llevar a cabo la resolución diastereoisomérica. Para llevar a cabo lo anterior, se utilizó como agente de resolución, el ácido (S)-(+)-2-(6-metoxi-2-naftil) propiónico [(S)-Naproxeno] a través de un anhídrido. Por un lado, se preparó el anhídrido mixto con el (S)-Naproxeno, cloruro de trimetilacetilo (PivCl) y trietilamina (Et₃N) obteniendo el anhídrido deseado. Alternativamente se preparó el anión de la α -metileno- γ -lactama correspondiente con *n*-BuLi. Posteriormente, ambos se hicieron reaccionar obteniendo los productos deseados, enseguida se realizó una separación mediante cromatografía en columna, Esquema 2. Finalmente, se realizaron estudios de NOESY para asignar la configuración de las nuevas lactamas sintetizadas.



Esquema 2. Separación diastereoisomérica de las α -metilen- γ -lactamas.

En una segunda etapa, se llevaron a cabo estudios *in silico* con el fin de predecir alguna actividad biológica importante de las α -metilen- γ -lactamas. Los programas utilizados fueron PASS Online y Molinspiration. Los resultados obtenidos predijeron que las α -metilen- γ -lactamas podrían presentar aplicaciones como compuestos antibacterianos, antiinflamatorios, inhibición de enzimas α -glucosidasas y problemas con trastornos fóbicos entre otros. Debido a los resultados obtenidos sobre la inhibición de enzimas α -glucosidasas, también se utilizó el programa DIA-DB el cual particularmente sirve para realizar acoplamiento molecular (docking) a proteínas y ligandos relacionados con la enfermedad de la diabetes. Por lo cual, se realizó un docking de las α -metilen- γ -

lactamas comparándolas con la Acarbosa (ACA), presentando una buena afinidad de unión.

En una tercera etapa, se realizó una evaluación *in vitro* de las α -metilen- γ -lactamas, iniciando con los experimentos de la actividad inhibitoria de las enzimas α -glucosidasas intestinales de ratón utilizando como fármaco de referencia la Acarbosa. Los derivados con el sustituyente *p*-MeC₆H₄, *p*-ClC₆H₄, C₆H₅ y con el grupo etilo en posición gama arrojaron los mejores resultados. También se realizaron bioensayos de susceptibilidad antimicrobiana contra las cepas de bacterias *Pseudomona aeruginosa* derivada de ATCC 10145TM, *Eschericha coli* derivada de ATCC 8739TM y *Staphylococcus aureus* derivada de ATCC BAA-1026TM, el método que se utilizó fue difusión en disco y se evaluaron en concentraciones conocidas de 0.25, 0.5, 1.0 mg/mL, utilizando como referencia el Ciprofloxacino como control positivo, los compuestos estudiados no obtuvieron buenos resultados como agentes antibacterianos. Finalmente, los resultados de los experimentos de la actividad antiinflamatoria realizadas mediante un modelo murino de inducción de edema auricular con TPA (acetato de 12-O-tetraecanoil-forbol) en oreja de ratón y utilizando como fármaco de referencia la Indometacina arrojó resultados muy buenos en tres α -metilen- γ -lactamas al tener un efecto mayor al fármaco de referencia que es la Indometacina (Esquema 3).



Inhibición de α -glucosidasas

Actividad antiinflamatoria

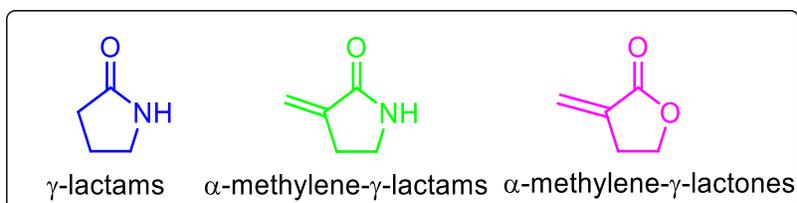
Actividad antibacteriana

- a: Ar = C₆H₅, R = H
- b: Ar = *p*-ClC₆H₄, R = H
- c: Ar = *p*-MeC₆H₄, R = H
- d: Ar = *o*-ClC₆H₄, R = H
- e: Ar = C₆H₅, R = Et
- f: Ar = *p*-ClC₆H₄, R = Et
- g: Ar = *p*-MeC₆H₄, R = Et

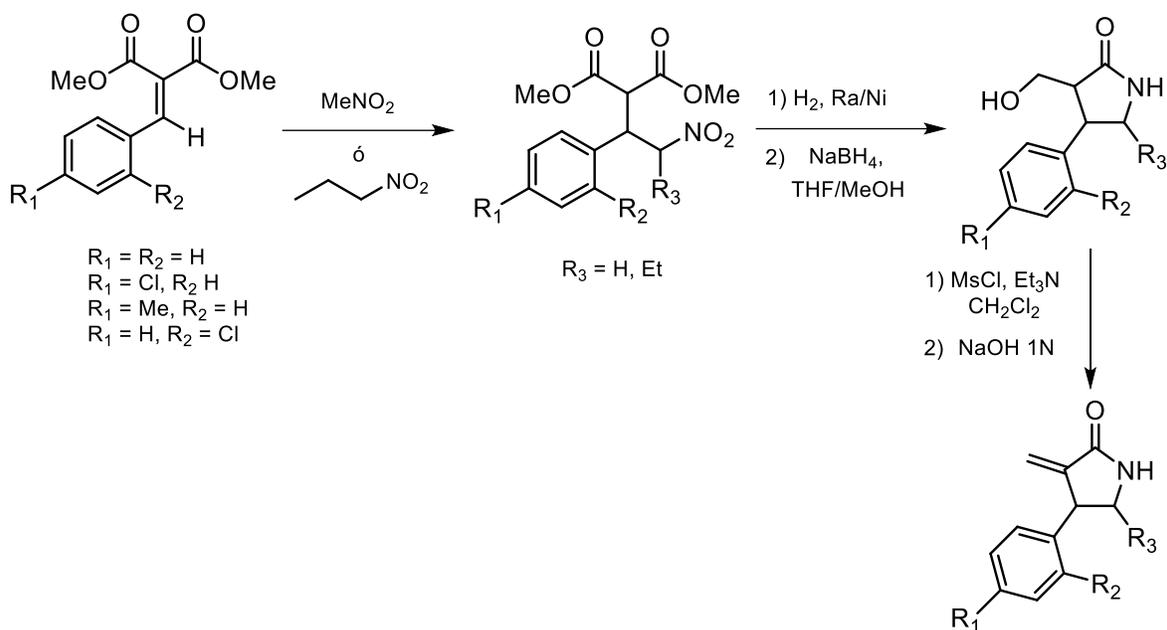
Esquema 3. Actividad biológica de las α -metilen- γ -lactamas.

Abstract

The γ -lactams represent one of the most important heterocycles in both Organic Chemistry and medicinal chemistry, because they possess a wide spectrum of biological activities. In particular, α -methylene- γ -lactams are found to be part of biologically active natural products. These compounds have antiinflammatory, antibacterial, antitumor, antifungal properties and are also considered isosteric analogues of α -methylene- γ -lactones due to the similar biological properties they present.

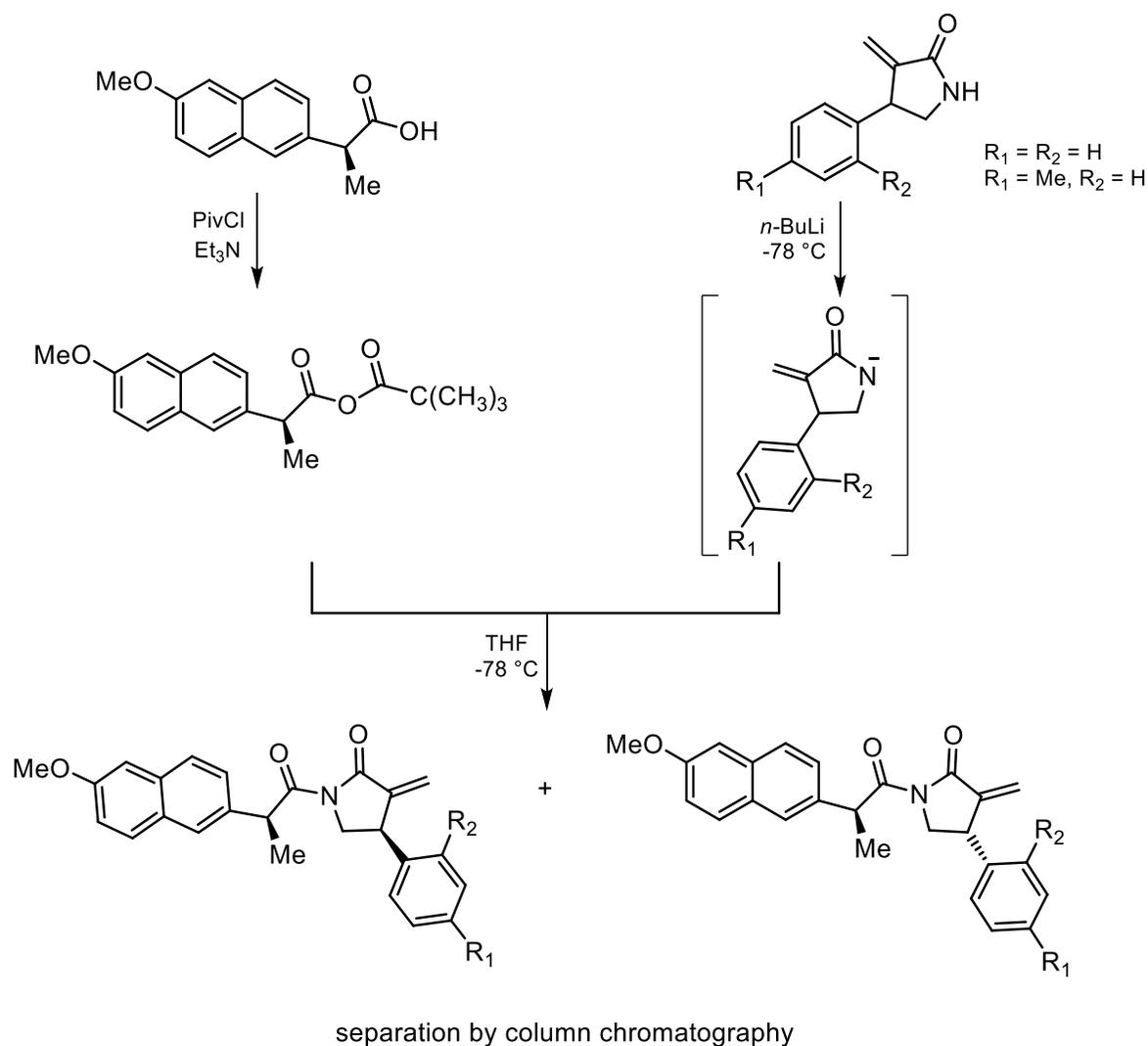


In this sense, it is necessary to develop new methodologies to obtaining α -methylene- γ -lactams, as well as to carry out studies to learn more about their biological activity. Therefore, it was proposed to carry out the synthesis of this type of compounds in a simple way, using easily accessible materials. This method involves the 1,4-addition of nitroalkanes to alkylidenmalonates to obtain nitroderivatives in a conventional way and microwave irradiation. Subsequently the reduction of the nitro group provided the α -carbomethoxy- γ -lactam, very versatile molecule that was used to obtain alcohol. Then, from the alcohol, mesylate was obtained, which was eliminated to provide the β -mono and β,γ -disubstituted α -methylene- γ -lactams (Scheme 1).



Scheme 1. Synthesis to obtain α -methylene- γ -lactams.

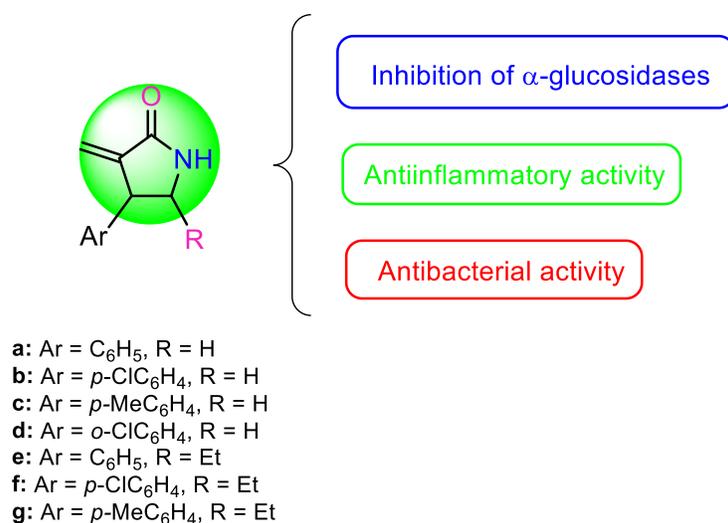
Once the β -mono- α -methylene- γ -lactams racemic were obtained, a methodology was established to carry out the diastereomeric resolution. To carry out the above, propionic acid (*S*)-(+)-2-(6-methoxy-2-naphthyl) propionic acid [(*S*)-Naproxen] was used as a resolution agent through a mixed anhydride. On the one hand, (*S*)-Naproxen acid chloride was prepared with trimethylacyl chloride (PivCl) and triethylamine (Et_3N). Alternatively, the anion of the corresponding α -methylene- γ -lactam was prepared with *n*-BuLi. Subsequently, both reacted obtaining the desired anhydride; purification was by column chromatography, Scheme 2. NOESY studies were conducted to assign lactam settings.



Scheme 2. Diastereoisomeric separation of α -methylene- γ -lactams.

In a second stage, *in silico* studies were carried out in order to predict some important biological activity of α -methylene- γ -lactams. The software used were PASS Online and Molinspiration. The results obtained predicted that α -methylene- γ -lactams may have antibacterial, antiinflammator, α -glucosidases inhibitory activity, and treat phobia disorders. The inhibition of α -glucosidases enzymes was predicted, the DIA-DB program particularly is used to predict diseases related to diabetes. Therefore, a docking of the α -methylene- γ -lactamas was carried out comparing with the Acarbose (ACA), presenting a good binding affinity.

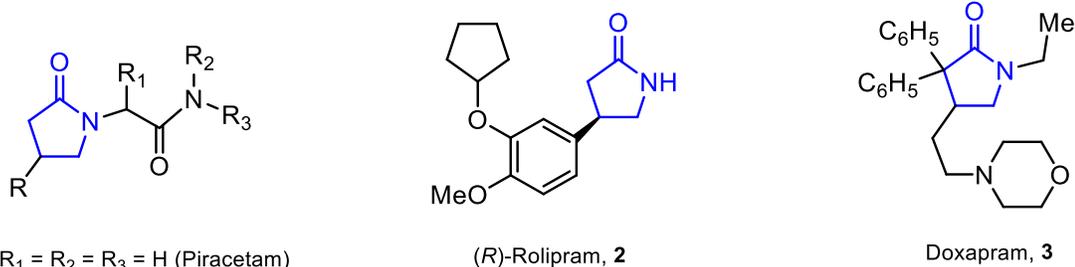
In a third stage, the α -methylene- γ -lactams was *in vitro* evaluated, the experiment started with the inhibitory activity of mouse intestinal α -glucosidases enzymes using Acarbose as a reference. The compounds *p*-MeC₆H₄, *p*-ClC₆H₄, C₆H₅ with ethyl group position γ presented the best results. The bioassays antimicrobial susceptibility were tested on *Pseudomona aeruginosa* derived from ATCC 10145TM, *Escherichia coli* derived from ATCC 8739TM and *Staphylococcus aureus* derived from ATCC BAA-1026TM. The method used was disc diffusion with concentrations of 0.25, 0.5, 1.0 mg/mL, using Ciprofloxacin drug as positive control, which were not obtained favorable result. Finally, the results of the experiments of the anti-inflammatory activity was using a murine model of induction of atrial edema with TPA (12-O-tetraecanoyl-phorbol acetate) in mouse ear using Indomethacin drug as a referenced, obtained very good results in three α -methylene- γ -lactams obtained greater effect than the reference drug Indomethacin (Scheme 3).



Scheme 3. Biological activity of α -methylene- γ -lactams.

1. Introducción.

Las γ -lactamas son consideradas uno de los heterociclos más importantes en química medicinal, porque se encuentran ampliamente distribuidas en un gran número de productos naturales y poseen un amplio espectro de actividades biológicas.¹ Debido a las aplicaciones farmacológicas que presentan este tipo de compuestos, se han utilizado para el tratamiento de problemas cognitivos, ansiedad y depresión.² Por mencionar algunos ejemplos se encuentran los derivados de Racetam y sus análogos comerciales **1a-e** (Piracetam, Pramiracetam, Levetiracetam, Nefiracetam, Oxiracetam),³ y también el (*R*)-Rolipram **2**⁴ que tienen efectos nootrópicos y es administrado como antidepresivo, además de utilizarse para el tratamiento del dolor neuropático. Otro ejemplo, es el Doxapram **3**⁵ que sirve como estimulante respiratorio en enfermos crónicos pulmonares (Figura 1).



- 1a:** R = R₁ = R₂ = R₃ = H (Piracetam)
1b: R = R₁ = H, R₂ = R₃ = (CH₃)₂CH (Pramiracetam)
1c: R = R₂ = R₃ = H, R₁ = CH₃CH₂ (Levetiracetam)
1d: R = R₁ = R₂ = H, R₃ = 2,6-(Me)₂C₆H₃ (Nefiracetam)
1e: R = OH, R₁ = R₂ = R₃ = H (Oxiracetam)

Figura 1. Ejemplos de γ -lactamas biológicamente activas.

Particularmente, las α -metilen- γ -lactamas **4** son poco comunes en la naturaleza, sin embargo, algunos de estos compuestos encuentran incorporados en productos naturales biológicamente activos. Es importante señalar que son

¹ Montoya-Balbás, I. J.; Valentin-Guevara, B.; López-Mendoza, E.; Linzaga-Elizalde, I.; Ordoñez, Mario, Román-Bravo, P. *Molecules*, **2015**, *20*, 22028-22043.

² Grossman, L.; Stewart, A.; Gaikwad, S.; Utterback, E.; Wu, N.; Dileo, J.; Frank, K.; Hart, P.; Howard, H.; Kalueff, A. V. *Brain Res. Bull.* **2011**, *85*, 58-63.

³ Malykh, A. G.; Sadaie, M. R. *Drugs* **2010**, *70*, 287-312.

⁴ Kim, H. K.; Kwon, J. Y.; Yoo, C.; Abdi, S. *Anesth. Analg.* **2015**, *121*, 822-828.

⁵ Komnatnyy, V.; Taveras, K. M.; Nandurkar, N. S.; Le Qument, S. T. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 3524-3530.

menos tóxicas que sus isómeros las α -metilen- γ -lactonas **5**⁶ las cuales, también se encuentran presentes en una amplia variedad de productos naturales con actividad biológica (Figura 2).

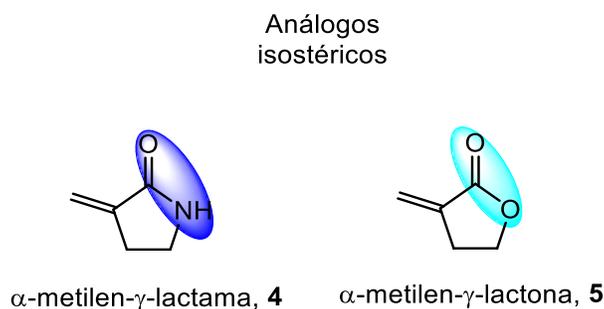


Figura 2. Isómeros de las α -metilen- γ -lactonas.

En este contexto, las α -metilen- γ -lactamas se han encontrado incorporadas en compuestos de origen natural como la Anantina **6** e Isoanantina **7** las cuales han sido aisladas de una planta llamada *Cynometra*, y ha sido utilizada en medicina tradicional africana como remedio para el dolor.⁷ La Pukeleimida E **8** ha sido aislada de un alga marina llamada *Lyngbya Majuscula*, mostrando propiedades citotóxicas y además actividad contra *Mycobacterium Smegmatis* y *Streptococcus Pyogenes*⁸ Figura 3. Adicionalmente, estos compuestos también han mostrado tener actividades antitumorales,^{9,10} antiinflamatorias¹¹ y antifúngicas.¹² Por otra parte, la Heliotropamida A **9**¹³ presenta actividad como

⁶ Janecki, T.; Błaszczak, E.; Studzian, K.; Janecka, A.; Krajewska, U.; Róźalski, M. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3516-3521.

⁷ Naito, T.; Honda, Y.; Miyata, O.; Ninomiya, I. *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, *41*, 217-219.

⁸ Cadellina, J. H.; Moore, R. E. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 2007-2010.

⁹ Kornet, M. J. *J. Pharm. Sci.* **1979**, *68*, 350-353.

¹⁰ Krawczyk, H.; Albrecht, L.; Wojciechowski, J.; Wolf, W. M.; Krajewska, U.; Róźalski, M. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 6307-6363.

¹¹ Ikuta, H.; Shirota, H.; Kobayashi, S.; Yamagishi, Y.; Yamada, K.; Yamatsu, I.; Katayama, K. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1995-1998.

¹² Delong, W.; Lanying, W.; Yongling, W.; Shuang, S.; Juntao, F.; Xing, Z. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *130*, 286-307.

¹³ Guntern, A.; Loset, J.R.; Queiroz, E.F.; Sándor, P.; Foggin, C. M.; Hostettmann, K. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1550-1553.

inhibidor de la acetilcolinesterasa y Bisavenantramida B-6 **10**¹⁴ es utilizada para el tratamiento de trastornos neurodegenerativos esta actividad que presentan las α -metilen- γ -lactamas se debe en gran parte al metileno exo-cíclico que se encuentra conjugado con el carbonilo de la γ -lactama¹⁵ (Figura 3).

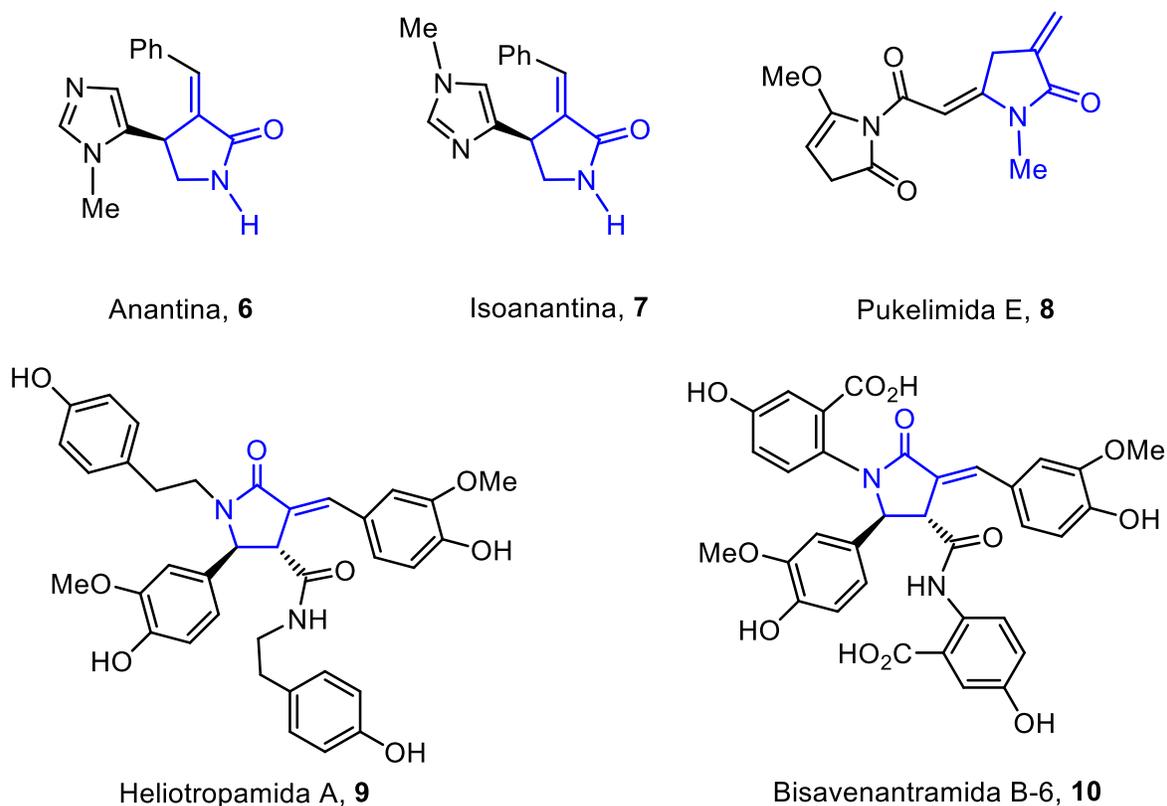


Figura 3. α -metilen- γ -lactamas aisladas de productos naturales.

Cabe señalar que, las α -metilen- γ -lactamas también se han utilizado como bloques de construcción de polímeros, así como en la preparación de lentes de contacto¹⁶ y aplicaciones biomédicas.¹⁷ Actualmente, el conocimiento acerca de la polimerización para obtener materiales poliméricos es muy pobre. Además, otros grupos de investigación buscan descubrir nuevas propiedades como inhibidores

¹⁴ Di maso, M. j.; Nepomuceno, M. G.; St. Peter, M. A.; Gitre, H. H, Martin, K. S.; Shaw, J. T. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 1740-1743.

¹⁵ Albrecht, A.; Albrecht, L.; Janecki, T. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *15*, 2747-2766.

¹⁶ Iskander, G. M.; Ovenell, T. R.; Davis, T. *Macromol. Chem. Phys.* **1996**, *197*, 3123-3133.

¹⁷ Heyns, I.; Pfukwa, R.; Bertossi, L.; Ball, L. E.; Kelland, M. A.; Klumperman, E. *Eur. Polim J.* **2019**, *112*, 714-721.

de hidratos cinéticos en la industria¹⁸ y recientemente, se han realizado estudios para obtener las características de su comportamiento de degradación¹⁹ (Figura 4).



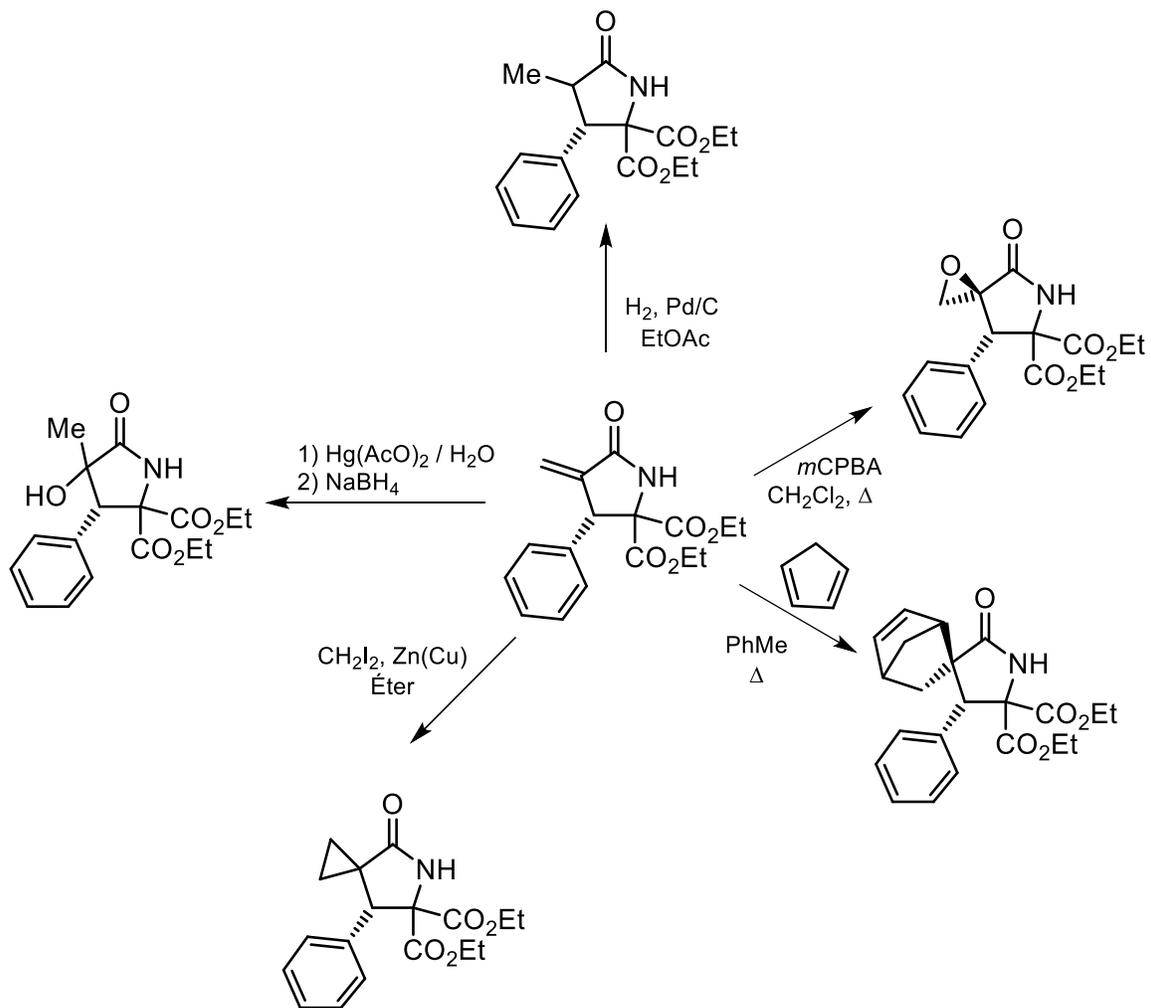
Figura 4. α -metilen- γ -lactamas como bloques de construcción de polímeros.

Debido al sistema α,β -insaturado las α -metilen- γ -lactamas son utilizadas como bloques de construcción y pueden ser consideradas como intermediarios en reacciones de adición-1,4 y reacciones directamente sobre el enlace doble, por ejemplo: reducciones, hidrogenaciones, ciclopropanaciones, epoxidaciones y cicloadiciones 4+2 (Esquema 4).²⁰ Por lo tanto, es importante considerar la síntesis y la modificación estructural de este tipo de compuestos, con la finalidad de ampliar el conocimiento y descubrir nuevas propiedades biológicas.

¹⁸ Abrahamsen, E.; Heyns, I. M.; Solms, N.; Pfukwa, R.; Klumperman, B.; Kelland, M. A. *Energy Fuels* **2017**, *31*, 13572-13577.

¹⁹ Heyns, I. M.; Pfukwa, R.; Klumperman, B. *Biomacromolecules* **2016**, *17*, 1795-1800.

²⁰ Companyo, X.; Geant, P. Y.; Mazzanti, A.; Moyano, A.; Rios, R. *Tetrahedron* **2014**, *70*, 75-82.



Esquema 4. Transformaciones del enlace doble de las α -metilen- γ -lactamas.

2. Antecedentes.

Como se ha mencionado anteriormente las γ -lactamas y las α -metilen- γ -lactamas son muy importantes desde el punto de vista de su actividad biológica. Adicionalmente las α -metilen- γ -lactamas poseen un grupo funcional muy versátil que puede utilizarse ampliamente en síntesis orgánica, así como también en química de polímeros. Por lo anterior y debido a que aún falta mucho por explorar, desde hace algunos años, diferentes grupos de investigación han enfocado su atención en el desarrollo de estrategias sintéticas para su obtención, entre las que podemos citar se encuentran metodologías que involucran las reacciones de: (a) Aza-Barbier,²¹ (b) Morita-Baylis-Hillman²⁰ (MBH), (c) Horner-Wadsworth-Emmons^{22,23} (HWE), y (d) Reformatsky.^{24,25} Adicionalmente, hay otros métodos que involucran la adición de reactivos organometálicos alílicos a iminas y su subsecuente ciclación.²⁶ También, se han utilizado para el mismo fin varios metales tales como Zn,²⁷ In,^{28,29} Pd,^{30,31} Cu³² o Rh^{33,34} los cuales promueven su formación eficientemente. La alilboración de aldiminas y la formación de radicales también representa una ruta para la formación de este tipo de compuestos³⁵ (Esquema 5).

²¹ Shen, A.; Liu, M.; Jia, Z. S.; Xu, M. H.; Lin, G. Q. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 5154-5157.

²² Blaszczyk, E.; Krawczyk, H.; Janecki, T. *Synlett* **2004**, *15*, 2685-2688.

²³ Beji, B. *Org. Chem. Ind. J.* **2015**, *11*, 251-260.

²⁴ Reformatsky, S. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft* **1887**, *20*, 1210-1211.

²⁵ Alami, N. E.; Belaud, C.; Villieras, J. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 59-60.

²⁶ Dutta, S.; Chatterjee, S.; Al-Thabaiti, S. A.; Bawaked, S.; Mokhtar, M.; Maiti, D. *Chem. Catalysis* **2022**, *2*, 1046-1083.

²⁷ Tan, Y.; Yang, X. D.; Liu, W. J.; Sun, X. W. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 6105-6108.

²⁸ Dema, H. K.; Foubelo, F.; Yus, M. *Heterocycles* **2010**, *80*, 125-131.

²⁹ Choudhury, P. K.; Foubelo, F.; Yus, M. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 3376-3378.

³⁰ Xie, X.; Lu, X. *Synlett.* **2000**, *5*, 707-709.

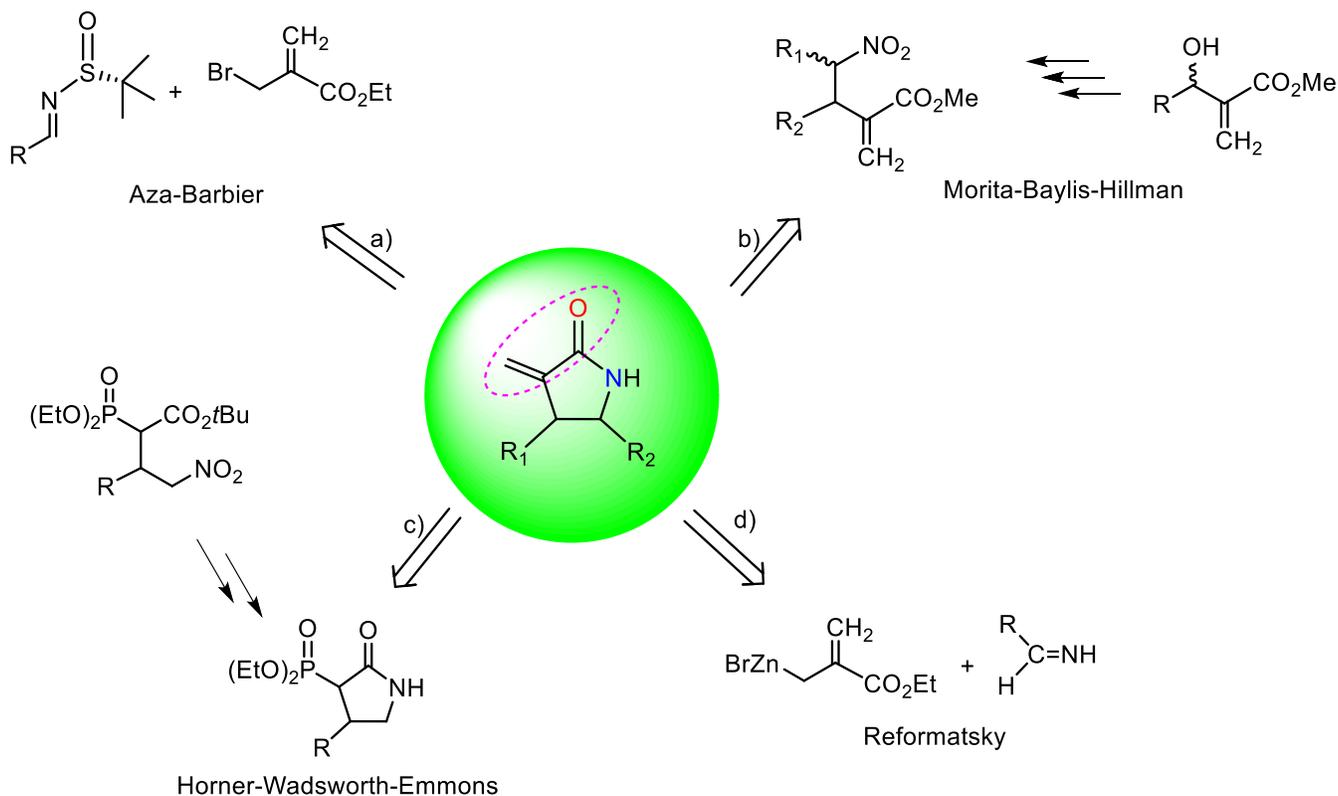
³¹ Zhang, Z.; Zhu, G.; *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 3339-3341.

³² Zhang, F.; Wang, S.; Liu, Z.; Bai, Y.; Zhu, G. *Tetrahedron Lett.* **2017**, *58*, 1448-1452.

³³ Wang, J.; Xie, X.; Ma, F.; Peng, Z.; Zhang, L.; Zhang, Z. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 4212-4217.

³⁴ Jackowski, O.; Wang, J.; Xie, X.; Ayad, T.; Zhang, Z.; Ratovelomanana-Vidal, V. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 4006-4009.

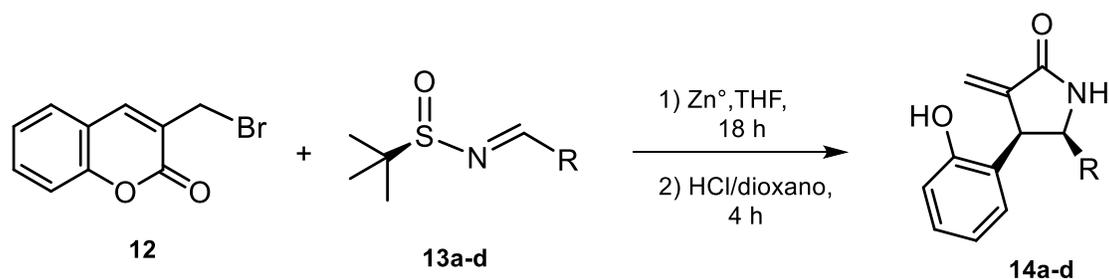
³⁵ Chataigner, I.; Zammattio, F.; Lebreton, J.; Villieras, J. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 2441-2455.



Esquema 5. Métodos de obtención de las α -metileno- γ -lactamas.

En este contexto, Sun y colaboradores²⁷ obtuvieron α -metileno- γ -lactamas diastereoméricamente puras, mediante la reacción de Aza-Barbier. A partir de la 3-(bromo-metil)-cumarina **12** y las sulfinil-iminas quirales **13a-d** en presencia de zinc metálico en THF durante 18 horas, formando el reactivo organometálico. El subsecuente tratamiento del compuesto organometálico con una solución de ácido clorhídrico (2.5 M) en dioxano a temperatura ambiente durante 4 h, permitió la obtención de las *cis*- β -diaril- α -metileno- γ -lactamas **14a-d** con el grupo fenólico en la posición γ con buenos rendimientos y excelentes diastereoselectividades (Tabla 1).

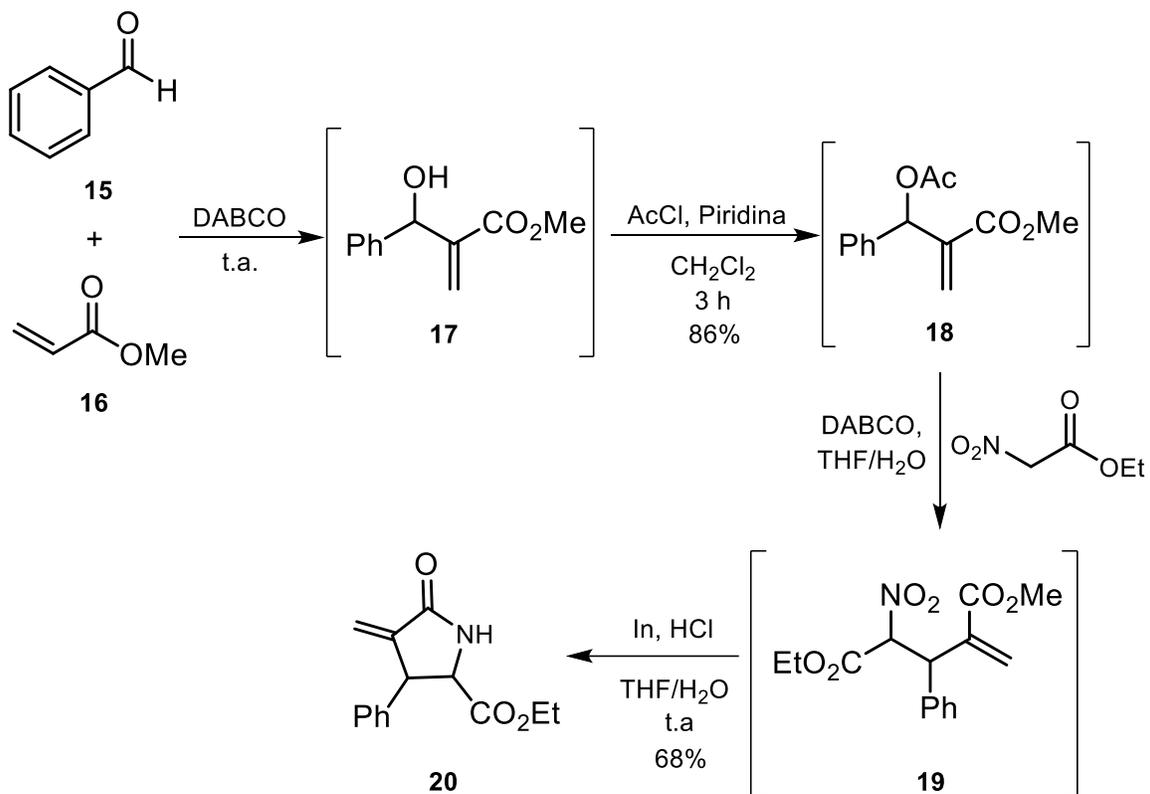
Tabla 1. Obtención de las α -metilen- γ -lactamas **14a-d** a través de la reacción de Aza-Barbier.



Sustrato	R	Producto	Rendimiento (%)	<i>cis/trans</i>	e.e. (%)
13a	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	14a	80	99:1	86
13b	C ₆ H ₅	14b	80	99:1	84
13c	<i>p</i> -FC ₆ H ₄	14c	75	99:1	84
13d	<i>p</i> -BrC ₆ H ₄	14d	86	98:2	84

Otra ruta de síntesis importante es la propuesta por Batra y colaboradores³⁶ quienes llevaron a cabo una reacción de Morita-Baylis-Hillman (MBH). Este grupo de investigación partió de la reacción de benzaldehído **15** y acrilato de metilo **16** en presencia de 1,4-diazabicyclo-[2.2.2]octano (DABCO), generando el compuesto α,β -insaturado **17** que, al tratarlo con cloruro de acetilo y piridina, generó el derivado acetilado **18**. El posterior tratamiento con nitroacetato de etilo en presencia de DABCO, utilizando una mezcla de THF/H₂O generó el nitroéster **19**. La reducción del grupo nitro utilizando indio metálico y ácido clorhídrico generó la α -metilen- γ -lactama **20** como mezcla de los productos *cis* y *trans* 1:1 (Esquema 6).

³⁶ Singh, V.; Kanojiya, S.; Batra, S. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 10100-10110.

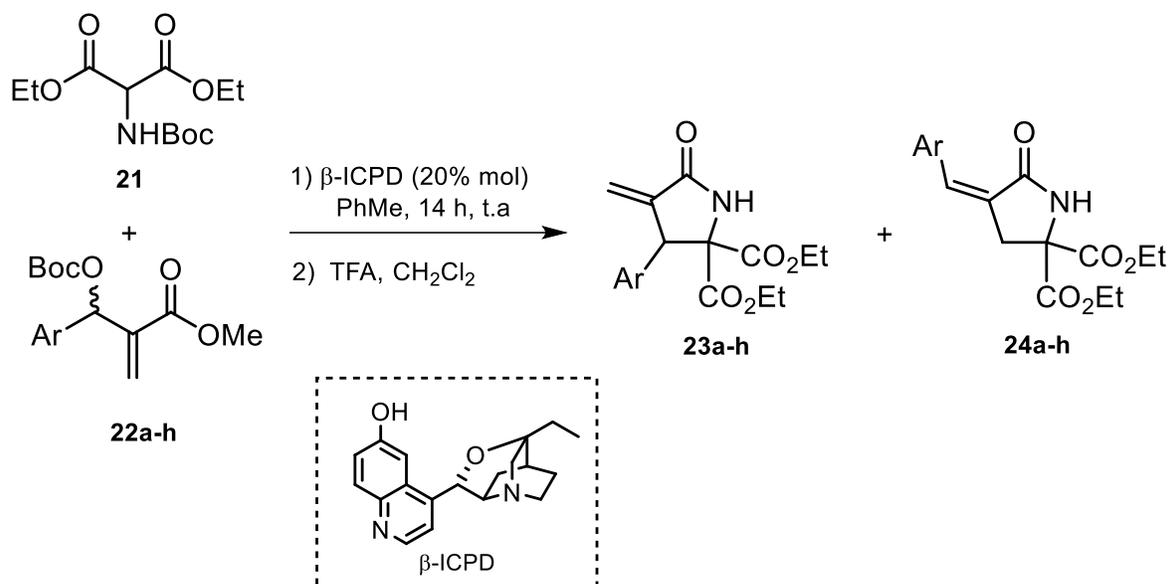


Esquema 6. Síntesis de la α -metilen- γ -lactama **20** mediante la reacción de MBH.

Por otra parte, para ampliar las investigaciones en la obtención de derivados de α -metilen- γ -lactamas, Ríos R.³⁷ reportó la síntesis asimétrica de α -metilen- γ -lactamas utilizando derivados de carbonatos de MBH. Este grupo de investigación empleó bases de Lewis quirales y realizó la síntesis mediante una sustitución nucleofílica de 2-aminomalonato de etilo *N*-Boc (*N*-di-*ter*-butil dicarbonato) **21** protegido con los carbonatos de MBH **22a-h**, seguido de una lactamización intramolecular, utilizando como catalizador una β -isocupreidina (β -ICDP) 20% mol en tolueno como disolvente a temperatura ambiente (t.a.) durante 14 h, el posterior tratamiento con ácido trifluoroacético (TFA) generó las α -metilen- γ -lactamas **23a-h** y **24a-h** con buenos rendimientos (Tabla 2).

³⁷ Ríos, R. *Catal. Sci. Technol.* **2012**, 2, 267-278.

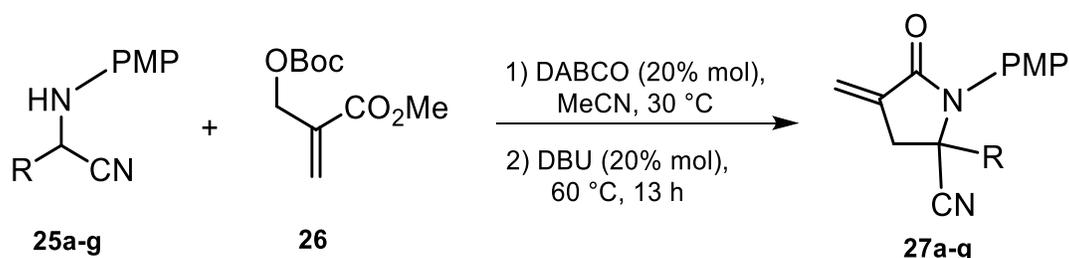
Tabla 2. Síntesis de α -metileno- γ -lactamas empleando la reacción de MBH.



Sustrato	Ar	Rendimiento (%)	
		23	e.e.
22a		79	73%
22b		76	83%
22c		97	---
22d		90	53%
22e		83	74%
22f		87	61%
22g		95	58%
22h		90	78%

Otro ejemplo que se puede citar donde se utiliza la reacción de MBH, es el del grupo de Pan y colaboradores³⁸ quienes reportaron la síntesis racémica de α -metileno- γ -lactamas, la reacción inició con los α -aminonitrilos *N*-PMP (*p*-metoxifenil) **25a-g** y el aducto BMH **26**, usando como catalizador DABCO (20% mol) en acetonitrilo, a una temperatura de 30 °C, el subsecuente tratamiento con cantidades catalíticas de DBU a 60 °C durante 13 h, proporcionó las α -metileno- γ -lactamas **27a-g** (Tabla 3).

Tabla 3. Obtención de α -metileno- γ -lactamas mediante la reacción de MBH.



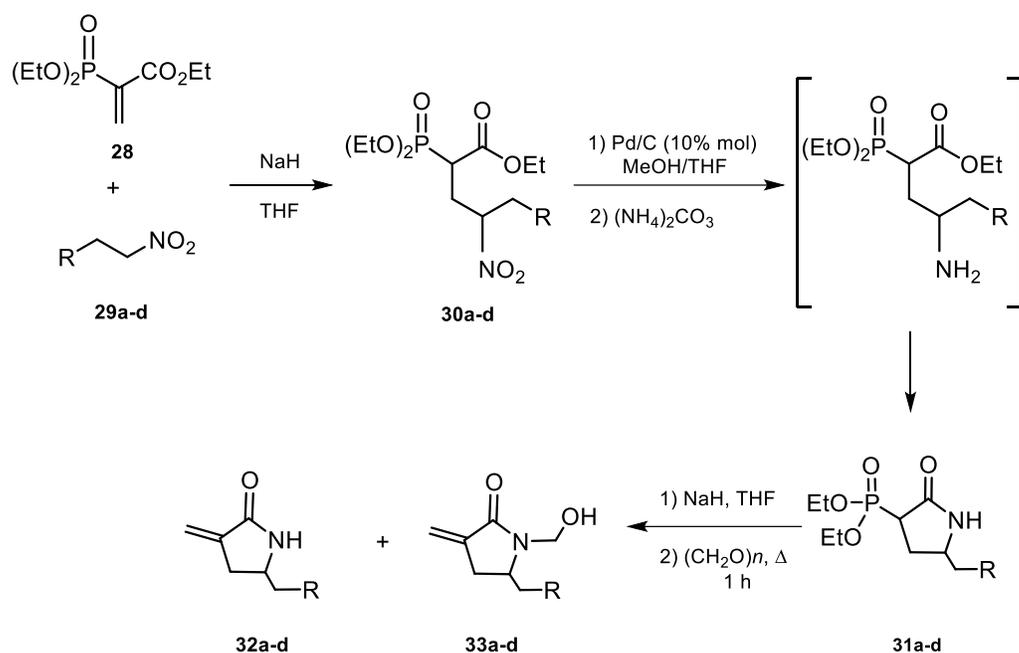
sustrato	R	Rendimiento (%) 27
25a	Ph	89
25b	<i>p</i> -MeC ₆ H ₄	74
25c	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	91
25d	<i>p</i> -MeOC ₆ H ₄	85
25e	<i>o</i> -BrC ₆ H ₄	35
25f	2-naftilo	77
25g	2-furil	41

Otra metodología diferente empleada para la preparación de este tipo de compuestos es la que reportaron Janecki y su grupo,²¹ quienes utilizaron la reacción de olefinación de Horner-Wadsworth-Emmons (HWE). Inicialmente, la reacción 1,4 de Michael entre el (2-dietoxifosforil) acrilato de etilo **28** y los nitroalcanos **29a-d** utilizando hidruro de sodio (NaH) como base y THF dio lugar a

³⁸ Pan, F.; Chen, J. M.; Qin, T. Y.; Sean, S. X.; Wei-Wei, L. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 27, 5324-5334.

los 4-nitroalcanoatos **30a-d**. La posterior reducción catalítica con Pd/C produjo la reducción del grupo nitro seguido de la lactamización *in situ* proporcionando los compuestos 3-(dietoxifosforil)-pirrolidin-2-onas **31a-d**, como una mezcla diastereoisomérica de 3:2. Finalmente, bajo condiciones de HWE se llevó a cabo la olefinación de los fosfonatos **31a-d** con formaldehído usando NaH y THF como disolvente, dando lugar a una mezcla de α -metileno- γ -lactamas **32a-d** y 1-hidroximetil-3-metilidenpirrolidin-2-onas **33a-d**, con buenos rendimientos (Tabla 4).

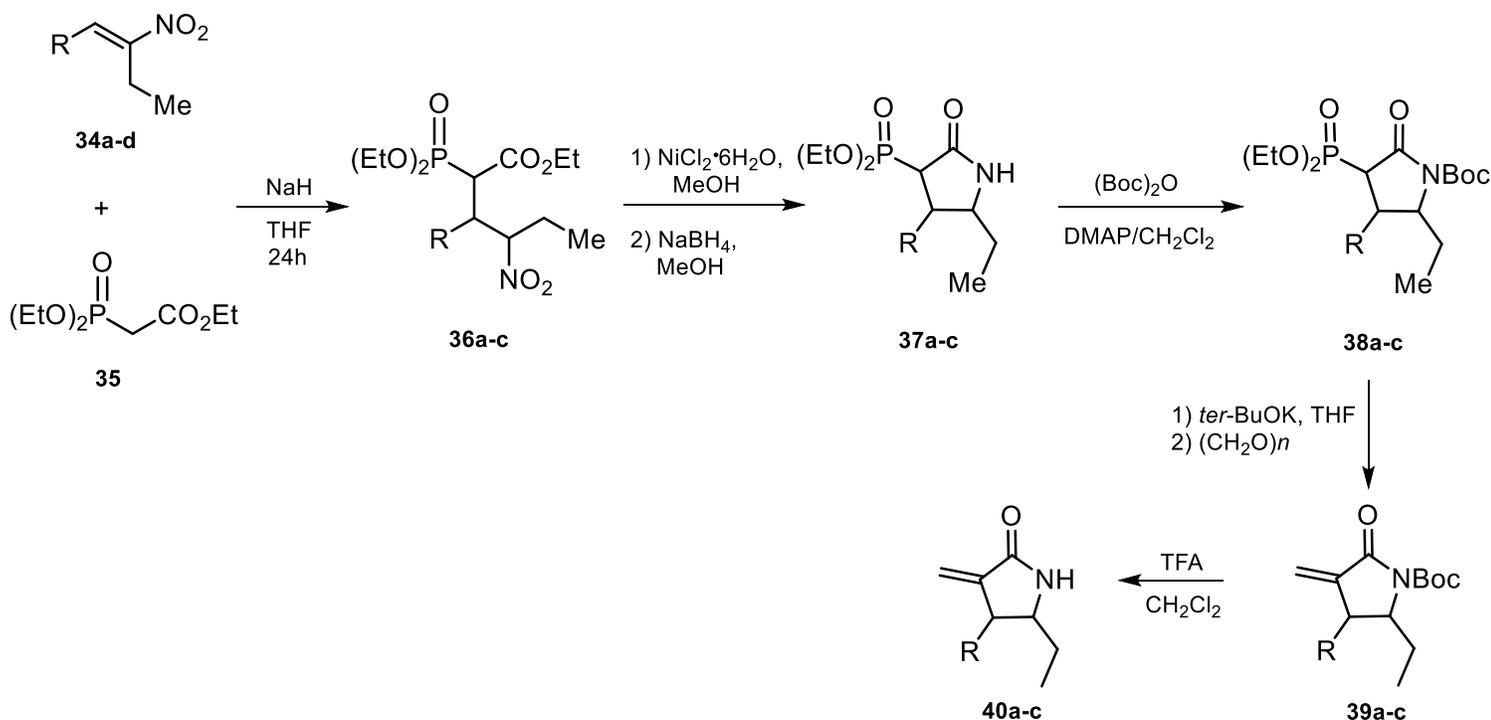
Tabla 4. Reacción de Horner-Wadsworth-Emmons para la obtención de α -metileno- γ -lactamas.



Sustrato	R	Rendimiento (%)				Selectividad
		30	31	32	33	
a	H	95	88	58	42	97:3
b	Me	95	84	63	37	74:26
c	<i>n</i> -Bu	98	69	60	40	86:14
d	Ph	68	60	76	24	82:18

El mismo grupo de investigación,³⁹ publicó otra variante para la síntesis de α -metilen- γ -lactamas, en esta ocasión utilizaron los compuestos (*E*)-1-aryl-2-nitro-1-butenos **34a-d** mediante una condensación nitroaldólica con dietoxifosforil acetato de etilo **35** utilizando NaH en THF, durante 24 h, obteniendo los nitroderivados **36a-c**. Posteriormente, la reducción quimioselectiva del grupo nitro con borohidruro de sodio (NaBH₄) en presencia de cloruro de níquel hexahidratado, proporcionó *in situ* las α -dietoxifosforil- γ -lactamas **37a-c**. Finalmente, la protección del nitrógeno de las lactamas generó **38a-c** con anhídrido de Boc, dimetilaminopiridina (DMAP) en diclorometano. A continuación, la olefinación con *ter*-butóxido de potasio y paraformaldehído, generó las α -metilen- γ -lactamas **39a-c** *N*-Boc protegidas. Finalmente, la desprotección de grupo amino utilizando TFA proporcionó las α -metilen- γ -lactamas **40a-c** con buenos rendimientos (Tabla 5).

Tabla 5. Aplicación de la reacción de HWE para la síntesis de las α -metilen- γ -lactamas **40a-c**.



³⁹ Albrecht, A.; Albrecht, L.; Rozalski, M.; Krajewska, U.; Janecka, A.; Studzian, K.; Janecki, T. *New J. Chem.* **2010**, *34*, 750-761.

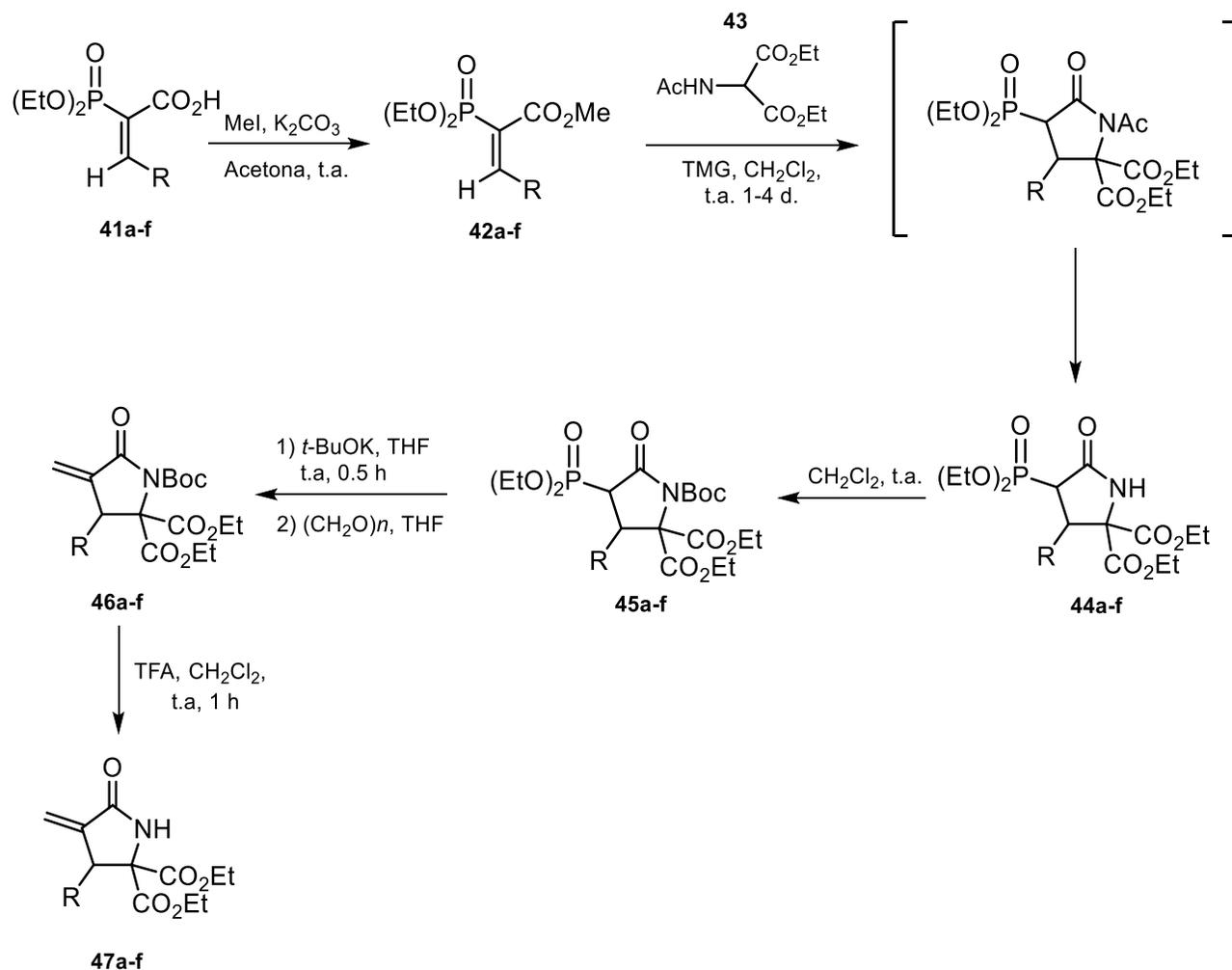
Sustrato	R	Rendimiento (%)		
		38	39	40
a	C ₆ H ₅	92	69	59
b	4-BrC ₆ H ₄	79	72	52
c	4-MeC ₆ H ₄	85	82	80

Una ruta sintética similar fue propuesta por Krawczyk y colaboradores,⁴⁰ ellos partieron de los ácidos (*E*)-3-aril-2-(dietoxifosforil)acrilatos **41a-f** previamente preparados,⁴¹ a los cuales bajo condiciones de esterificación con yoduro de metilo y carbonato de potasio en acetona generó los ésteres **42a-f**. Enseguida, los compuestos se hicieron reaccionar con acetamidomalonato de dietilo *N*-acetilado **43** utilizado como donador de Michael en presencia de 1,1,3,3-tetrametilguanidina (TMG) como base en DCM a temperatura ambiente, para obtener *in situ* las lactamas protegidas **44a-f** en donde la misma TMG sirvió para la *N*-desprotección. Posteriormente, las lactamas fosónicas **44a-f** se protegieron utilizando di-*ter*-butil dicarbonato en presencia de DMAP y DCM generando las lactamas **45a-f**. A continuación, realizaron la reacción Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) con *ter*-butóxido de potasio y un exceso de formaldehído para generar el enlace doble conjugado de α -metilen- γ -lactamas **46a-f**. Finalmente, la remoción del grupo protector del nitrógeno utilizando TFA en DCM durante 1 hora a temperatura ambiente dio lugar a las α -metilen- γ -lactamas **47a-f** con rendimientos superiores a 78 % (Tabla 6).

⁴⁰ Krawczyk, H.; Deredas, D.; Albrecht, L. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 3088-3090.

⁴¹ Krawczyk, H.; Albrecht, L. *Synthesis*, **2005**, *17*, 2887-2896.

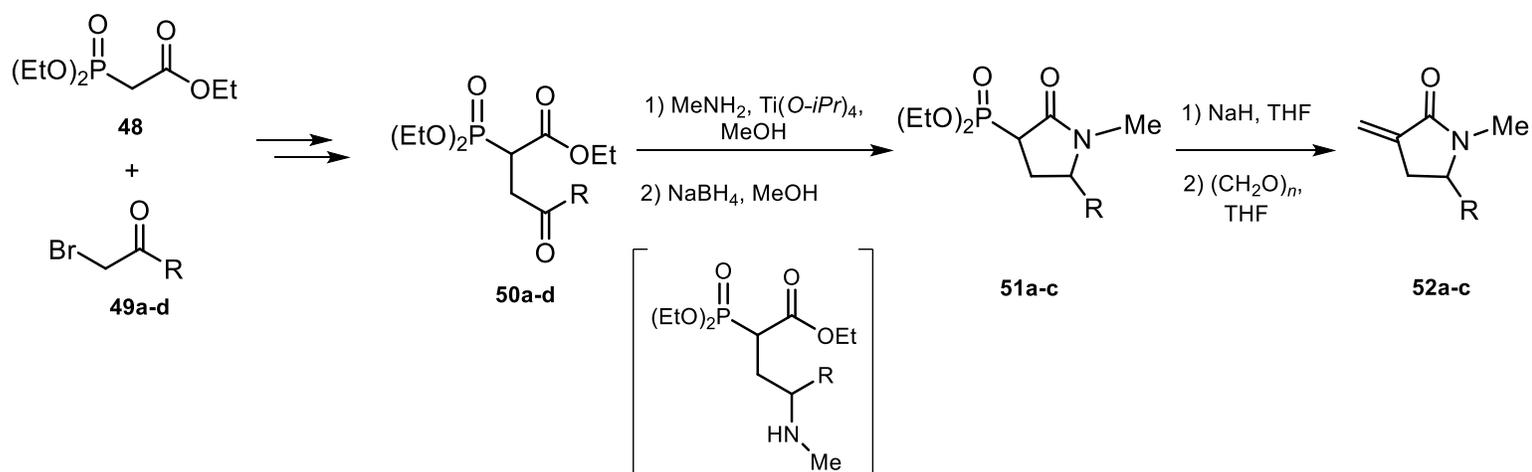
Tabla 6. Preparación de α -metileno- γ -lactamas **47a-f** mediante la reacción de HWE.



Sustrato	R	Tiempo (días)	Rendimiento (%)				
			43	44	45	46	47
a	4-ClC ₆ H ₄	1	98	82	86	74	78
b	4-MeC ₆ H ₄	2	97	68	96	79	83
c	4-MeOC ₆ H ₄	3	99	87	80	85	83
d	3,4-(OCH ₂ O)-C ₆ H ₃	4	98	74	95	80	81
e	3,4-(MeO) ₂ -C ₆ H ₃	4	97	78	97	86	87
f	4-NO ₂ C ₆ H ₄	1	96	82	87	69	91

El grupo de investigación de Albrecht y colaboradores,⁴² sintetizó una serie de α -metilen- γ -lactamas, partiendo de los compuestos 4-aryl-2-dietoxifosforil-4-oxobutanoatos **50a-d**, que fueron preparados previamente a partir de 1-aryl-2-bromoalcan-1-onas **49a-d** y dietoxifosforilacetato de etilo **48**.⁴³ Es importante mencionar, que los oxobutanoatos **50a-d** fueron usados como mezcla diastereoisomérica. La síntesis inició con una aminación reductiva de los oxobutanoatos **50a-c**, usando metilamina e isopropóxido de titanio (IV), seguida de la adición de NaBH₄, para obtener las 5-aryl-3-dietoxifosforil-1-metilpirrolidin-2-onas **51a-c** con buenos rendimientos. Posteriormente, bajo condiciones de olefinación de HWE, con hidruro de sodio y formaldehído, se generaron el enlace doble exocíclico de las α -metilen- γ -lactamas **52a-c** (Tabla 7).

Tabla 7. Aplicación de la reacción de HWE para la preparación de las α -metilen- γ -lactamas **52a-c**.



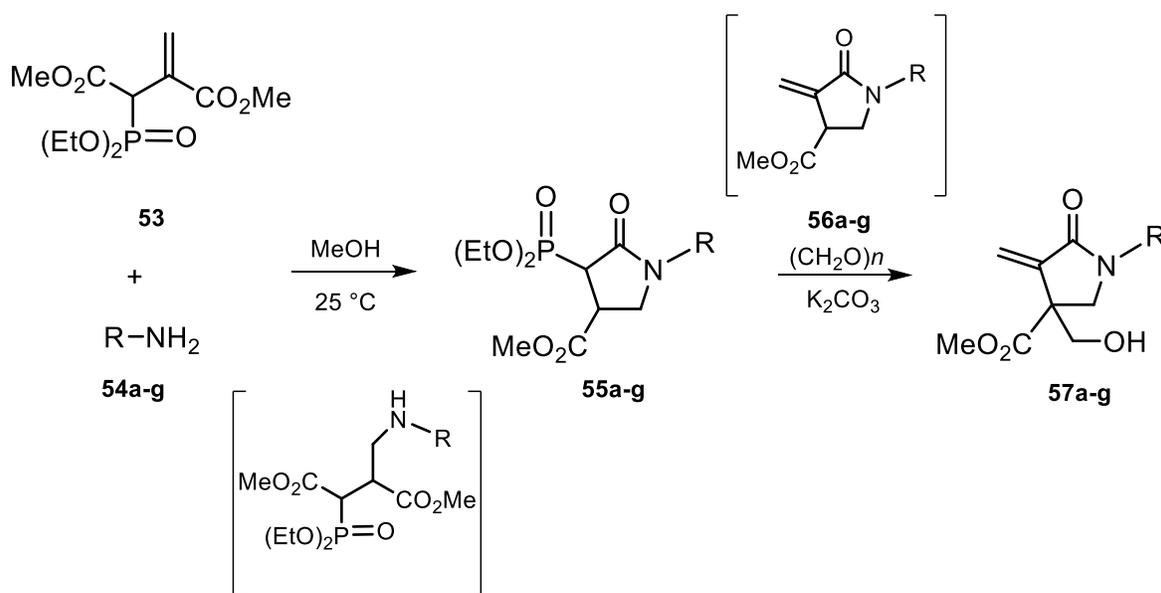
Sustrato	R	Rendimiento (%)		
		50	51	52
a	C ₆ H ₅	75	77	79
b	4-BrC ₆ H ₄	70	92	65
c	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	80	58	59
d	1-naftil	85	---	---

⁴² Albrecht, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 4872-4882.

⁴³ Janecki, T.; Koszuc, J. F.; Albrecht, A. *Synthesis* **2007**, *11*, 1671-1676.

Béji,⁴⁴ utilizó el 2-(dietoxifosforil)-3-metilidensuccinato de dimetilo **53**, para generar α -metilen- γ -lactamas. Inicialmente el succinato **53** se hizo reaccionar con las aminas primarias **54a-g**, en presencia de metanol como disolvente polar prótico, obteniendo el γ -aminoéster como intermediario sintético la ciclación *in situ* proporcionó las α -fosfono- γ -lactamas **55a-g**. Enseguida al tratarse con carbonato de potasio y paraformaldehído, generaron los derivados **57a-g**, con el grupo hidroximetil en la posición 4 (Tabla 8).

Tabla 8. Preparación de α -metilen- γ -lactamas **56a-g** a través de una reacción de WH.



Sustrato	R	Rendimiento (%)	
		55	57
a	<i>n</i> -Pr	78	51
b	<i>i</i> -Pr	79	44
c	<i>n</i> -Bu	77	47
d	Bn	85	49
e	4-MeOC ₆ H ₄ CH ₂	75	54
f	4-ClC ₆ H ₄ CH ₂	77	49
g	PhCH(Me)	85	57

⁴⁴ Béji, F.; Lebreton, J.; Villiéras, J.; Amri, H. *Synth. Commun.* **2002**, *32*, 3273-3278.

3. Hipótesis.

Considerando la importancia biológica y química de las α -metilen- γ -lactamas antes mencionada, en este proyecto se desarrollará un método de síntesis sencillo para la obtención de estos compuestos, tratando de utilizar para esta estrategia, reactivos fácilmente accesibles y de bajo costo. Las α -metilen- γ -lactamas, tienen un amplio potencial terapéutico, además de su utilidad desde el punto de vista sintético, por lo cual, se contribuirá al desarrollo de nuevas metodologías para la síntesis y resolución, ya que han sido poco explorados. Aunado a esto, se realizarán algunos estudios biológicos como antiinflamación, inhibición enzimática y antibacterial, contribuyendo al conocimiento sobre su actividad biológica.

4. Objetivo General.

Sintetizar α -metilen- γ -lactamas β -mono- y β,γ -disustituidas, así como llevar a cabo estudios para conocer su actividad biológica.

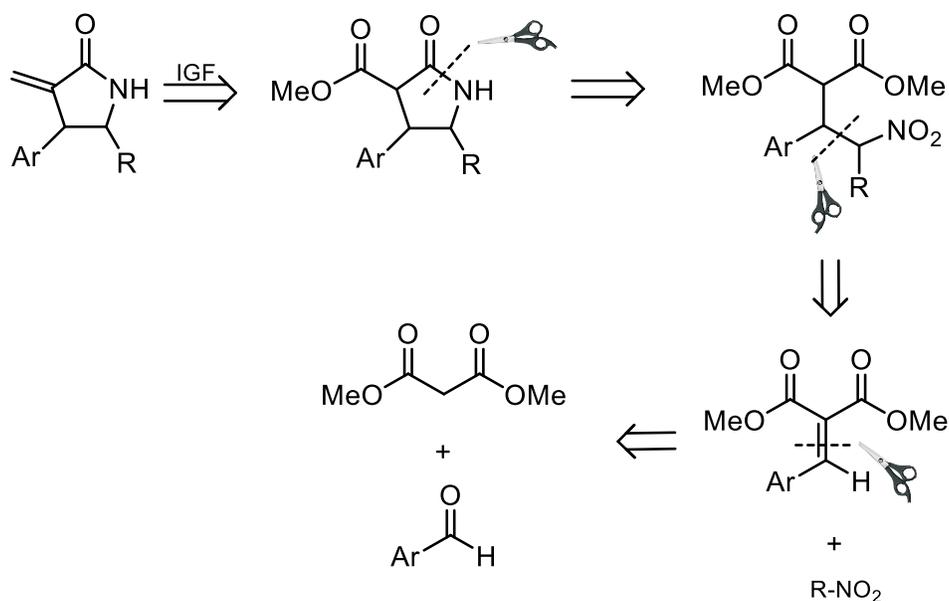
Para el cumplimiento del objetivo general de esta tesis se plantearon los siguientes objetivos específicos:

4.1 Objetivos específicos.

- Preparar una serie de arilidenmalonatos mediante una reacción de Knoevenagel.
- Obtener nitroderivados mediante una adición-1,4 de nitroalcanos a arilidenmalonatos.
- Obtener α -carbometoxi- γ -lactamas β -mono- y β,γ -disustituidas a través de la reducción de los nitroderivados.
- Sintetizar α -metilen- γ -lactamas β -aril y β,γ -disustituidas, mediante la reducción del grupo carbometoxi con la posterior protección del alcohol correspondiente y eliminación del grupo protector.
- Llevar a cabo su resolución para obtener las α -metilen- γ -lactamas de forma enantioméricamente pura.
- Realizar algunos estudios de interés biológico de las α -metilen- γ -lactamas.

5. Discusión y resultados.

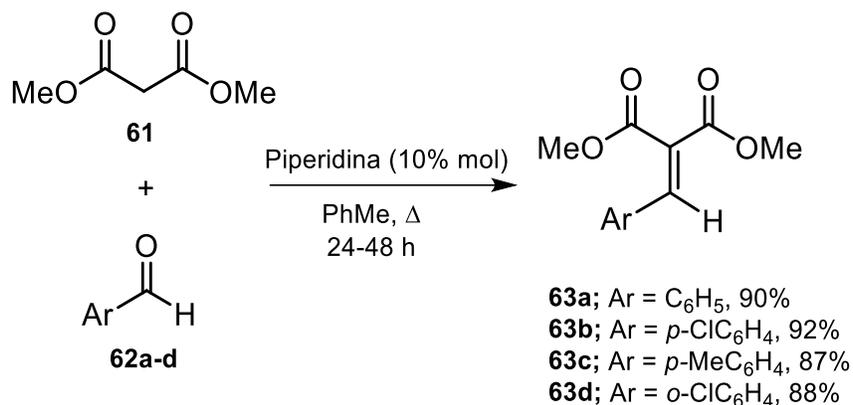
Para llevar a cabo la preparación de las α -metilen- γ -lactamas, se propuso el siguiente análisis retrosintético (Esquema 7). El metileno exocíclico de las α -metilen- γ -lactamas puede obtenerse a partir de la deshidratación de un alcohol mediante un intercambio de grupo funcional, a su vez este alcohol puede provenir de la reducción de un grupo éster, mientras que la formación del enlace C-N de la γ -lactama puede venir de un γ -aminoéster de cadena lineal y este a su vez mediante un intercambio del grupo funcional amino por un grupo nitro, y la ruptura del enlace C-C, podría obtenerse de la adición de nitroderivados a un sistemas α,β insaturados a su vez, los sistemas α,β insaturados se pueden formar mediante una reacción de condensación de Knoevenagel entre malonatos y aldehídos que son comerciales y de bajo costo.



Esquema 7. Análisis retrosintético de las α -metilen- γ -lactamas.

Para cumplir con los objetivos de este trabajo y con base al análisis retrosintético propuesto, se inició la reacción con malonato de dimetilo **61** y diferentes aldehídos aromáticos **62a-d**, en presencia de cantidades catalíticas de piperidina (10% mol) y tolueno como disolvente logrando obtener los compuestos **63a-d** con rendimientos que oscilaron entre 87 al 92%. El rendimiento de los arilidenmalonatos se calculó después de la purificación por cromatografía en

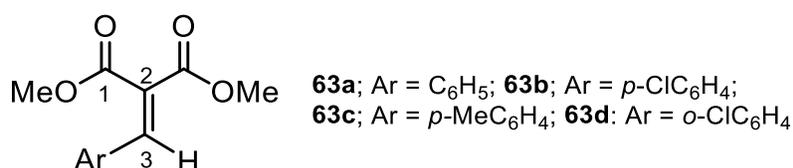
columna, los compuestos puros se caracterizaron por espectroscopía de infrarrojo (FT-IR), Resonancia Magnética Nuclear de hidrógeno y carbono (Esquema 8).



Esquema 8. Reacción de condensación de Knoevenagel para obtener los arilidenmalonatos **63a-d**.

A continuación, se muestra una Tabla de desplazamientos químicos de RMN de ^1H y ^{13}C de los arilidenmalonatos **63a-d** sintetizados. Como se observa, los datos obtenidos de los compuestos **63a-c** concordaron con los reportados en la literatura.¹ Cabe mencionar que **63d** no está reportado, observando señales similares a los compuestos descritos (Tabla 10).

Tabla 10. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y RMN ^{13}C de los arilidenmalonatos **63a-d**.



Sustrato	RMN ^1H ppm			RMN ^{13}C ppm				
	-OCH ₃	H3	-CH ₃	C1	C2	C3	-OCH ₃	-CH ₃
a	3.85 (s, 6H)	7.78 (s, 1H)	---	164.4 167.0	128.8	142.9	52.6 (2C)	---
b	3.85 (s, 6H)	7.72 (s, 1H)	---	164.2, 166.8.	125.9	141.4	52.7 (2C)	---
c	3.85 (s, 6H)	7.75 (s, 1H)	2.37 (s, 3H)	164.6, 167.3.	124.3	142.9	52.6 (2C)	21.4
d	3.85 (s, 6H)	7.72 (s, 1H)	---	164.2, 166.8.	125.9	141.4	52.7 (2C)	---

Una vez obtenidos los arilidenmalonatos **63a-d**, se estudió la reacción de adición de Michael.^{46,47} Para la obtención de los nitroderivados **64e-g** mediante tres métodos diferentes utilizados en nuestro grupo de investigación. En los primeros ensayos se utilizó el método A, y se hicieron reaccionar los arilidenmalonatos **63a-d**, nitrometano y carbonato de potasio en tolueno como disolvente con agitación magnética a temperatura ambiente, para obtener los correspondientes γ -nitroésteres **64a-d** con rendimientos del 65-81%.

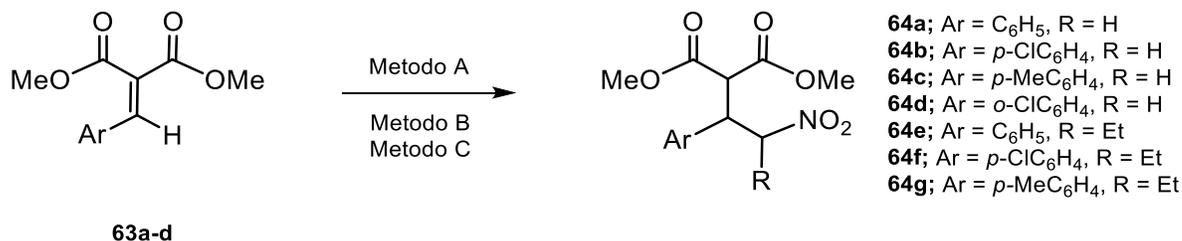
Es importante mencionar que, cuando se hicieron reaccionar los arilidenmalonatos **63a-c** con 1-nitropropano bajo las mismas condiciones del método A, los compuestos **64e-g** no se lograron obtener. Posteriormente, se decidió cambiar la metodología, utilizando las condiciones del método B, en este caso, los arilidenmalonatos **63a-c** se hicieron reaccionar con 1-nitropropano y DBU (10%) bajo condiciones de irradiación con microondas (MW) a 50 watts y 80 °C, de esta manera los nitroésteres **64e-g** fueron obtenidos con rendimientos moderados de 54-59%. Con el fin de optimizar el tiempo de reacción de **63a-d**, el arilidenmalonato **63b** se hizo reaccionar utilizando el método B pero ahora con nitrometano, sin embargo, solo se obtuvieron trazas del compuesto **64b**.

Posteriormente se realizaron otros ensayos utilizando el método C, el cual los arilidenmalonatos **63a-d** se hicieron reaccionar con DBU (5% mol) bajo irradiación de MW (50 watts, 30 °C) durante 5 minutos. De esta manera, se obtuvieron los compuestos **64a-d** con rendimientos de 30-73%. De esta manera se logró reducir el tiempo de reacción en comparación con el método A y los datos espectroscópicos obtenidos son similares a los reportados en la literatura¹ (Tabla 11).

⁴⁶ Poon, T.; Mundy, B.; Shattuck, T. *J. Chem. Educ.* **2002**, *79*, 264-267.

⁴⁷ Ballini, R.; Palmieri, A. *Adv. Synth. Catal.* **2018**, *360*, 2240-2266.

Tabla 11. Síntesis de γ -nitroésteres **64a-g**.



Sustrato	Ar	R	Metodo, Tiempo	Rendimiento (%) 64
64a	C ₆ H ₅	H	A, 48 h	65
			C, 5 min	30
64b	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	H	A, 48 h	81
			B, 30 min	trazas
64c	<i>p</i> -MeC ₆ H ₄	H	C, 5 min	56
			A, 24 h	71
64d	<i>o</i> -ClC ₆ H ₄	H	C, 5 min	31
			A, 48 h	69
64e	C ₆ H ₅	Et	B, 5 min	73
64f	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	Et	B, 5 min	55
64g	<i>p</i> -MeC ₆ H ₄	Et	B, 5 min	59

Método A: MeNO₂, K₂CO₃, Tolueno, 26 °C.

Método B: MeNO₂ ó CH₃(CH₂)₂NO₂, DBU (10% mol), MW (50 W), 80 °C.

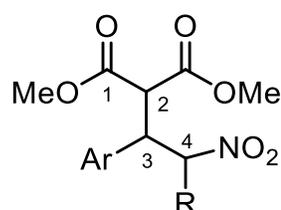
Método C: MeNO₂, DBU (5% mol), MW (50 W), 30 °C.

Sintetizados los γ -nitroésteres **64a-g** se llevó a cabo su caracterización por RMN ¹H, de manera general se observa una señal doble que corresponde al hidrógeno del metino H2, además, una señal doble de doble de dobles para el metino H3, debido al acoplamiento de los hidrógenos diastereotópicos del metileno H4a, H4b y el metino H2. Adicionalmente, una señal doble de dobles para cada uno de los hidrógenos diastereotópicos de H4a y H4b. Mientras que para los compuestos **64e-g**, se observa una señal triple correspondiente al metilo del grupo

etilo y una señal múltiple del metileno para ese mismo grupo. En RMN de ^{13}C se observan como características generales las señales de los carbonos de C1 que corresponden a los carbonos carbonílicos, además de C2 que es del carbono del metino, así como también C3 que es el carbono base del arilo y C4 que corresponde al carbono en posición α al grupo nitro.

A continuación, se muestra una tabla de desplazamientos químicos de RMN de ^1H y ^{13}C de los γ -nitroésteres **64a-g** (Tabla 12).

Tabla 12. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y RMN ^{13}C de los γ -nitroésteres **64a-g**.



64a; Ar = C_6H_5 , R = H

64b; Ar = $p\text{-ClC}_6\text{H}_4$, R = H

64c; Ar = $p\text{-MeC}_6\text{H}_4$, R = H

64d; Ar = $o\text{-ClC}_6\text{H}_4$, R = H

64e; Ar = C_6H_5 , R = Et

64f; Ar = $p\text{-ClC}_6\text{H}_4$, R = Et

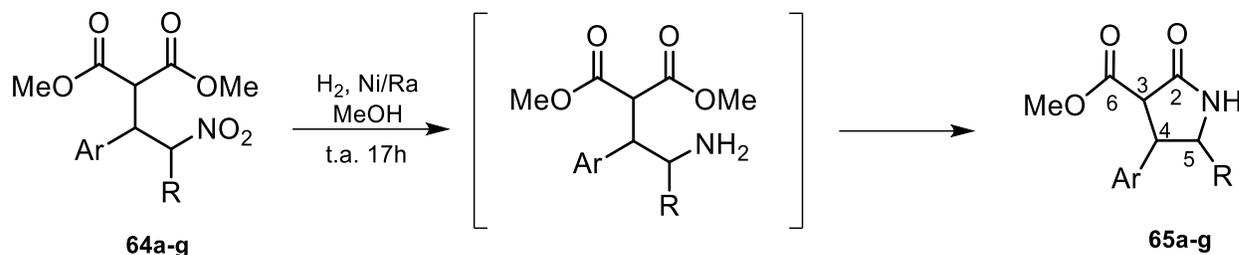
64g; Ar = $p\text{-MeC}_6\text{H}_4$, R = Et

64	RMN ^1H ppm					RMN ^{13}C ppm					
	$-\text{OCH}_3$	H2	H3	H4	$-\text{CH}_3$	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	OCH_3	$-\text{CH}_3$
a	3.56 (s, 3H), 3.76 (s, 3H)	3.87 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H)	4.25 (m, 1H)	4.88 (dd, $J = 13.2$ y 8.8 Hz, 1H), 4.93 (dd, $J = 13.2$ y 5.3 Hz, 1H)	---	167.2, 167.8	54.7	42.9	77.3	52.8, 52.9	---
b	3.59 (s, 3H), 3.77 (s, 3H)	3.83 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H)	4.23 (m, 1H)	4.84 (dd, $J = 13.3$ y 9.1 Hz, 1H), 4.91 (dd, $J = 13.3$ y 5.0 Hz, 1H)	---	167.0, 167.5	54.4	42.9	77.1	52.9 (2C)	---
c	3.57 (s, 3H), 3.76 (s, 3H)	3.84 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H)	4.20 (ddd, $J = 14, 8.8$ y 5.2 Hz, 1H)	4.85 (dd, $J = 13.1$ y 8.8 Hz, 1H), 4.90 (dd, $J = 13.1$ y 5.3 Hz, 1H)	2.30 (s, 3H)	167.2, 167.8	54.7	42.5	77.5	52.9 (2C)	21.0
d	3.64 (s, 3H), 3.73 (s, 3H)	4.11 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H)	4.75 (ddd, $J = 12.8, 8.4$ y 4.4 Hz, 1H)	4.95 (dd, $J = 13.6$ y 4.5 Hz, 1H), 5.12 (dd, $J = 13.7$ y 8.6 Hz, 1H)	---	167.8, 168.3	53.7	39.4	76.1	53.0 (2C)	---
e	3.43 (s, 3H), 3.82 (s, 3H)	4.15 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H)	3.89 (t, $J = 2.9$ Hz, 1H)	4.91-5.01 (m, 1H)	---	167.2, 168.2	54.3	47.7	90.0	52.9	---
f	3.49 (s, 3H), 3.82 (s, 3H)	4.09 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H)	3.88 (dd, $J = 10.5$ y 5.1 Hz, 1H)	4.93-4.98 (m, 1H)	---	167.3, 167.9	53.5	47.0	89.8	52.8	---
g	3.45 (s, 3H), 3.82 (s, 3H)	4.13 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H)	3.86 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H)	4.91-5.03 (m, 1H)	2.30 (s, 3H)	167.7, 168.5	54.5	47.5	90.3	53.1	21.2

Continuando con la ruta sintética, los γ -nitroésteres **64a-g**, fueron sometidos a una hidrogenación catalítica, empleando cantidades catalíticas de Niquel-Raney (10% mol) en metanol a presión atmosférica y temperatura ambiente para generar los γ -aminoésteres intermediarios que a través de una lactamización intramolecular proporcio las γ -lactamas **65a-g** con buenos rendimientos que

varían entre 75-88% (Tabla 13). Los compuestos obtenidos fueron caracterizados FT-IR, RMN de ^1H , ^{13}C y HMRS.

Tabla 13. Tabla de rendimientos de las γ -lactamas **65a-g**.



Sustrato	Ar	R	Tiempo	Rendimiento (%)
65a	C ₆ H ₅	H	17 h	85
65b	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	H	18 h	83
65c	<i>p</i> -MeC ₆ H ₄	H	22 h	85
65d	<i>o</i> -ClC ₆ H ₄	H	23 h	88
65e	C ₆ H ₅	Et	22 h	75
65f	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	Et	19 h	80
65g	<i>p</i> -MeC ₆ H ₄	Et	20 h	82

Lo anterior, puede ser explicado con las reglas de ciclación propuestas por Baldwin,⁴⁸ estas reglas mencionan los favoritismos relativos de las reacciones de cierre de anillos. Baldwin clasificó el cierre de anillos de tres formas: a) el número de átomos en nuevos anillos formados, b) los cierres de anillos *exo* y *endo* dependiendo si el enlace roto durante el cierre del anillo se encuentra adentro (*endo*) o afuera (*exo*) del anillo que se forma, y c) y su clasificación en *tet*, *trig* y *dig* dependiendo si el carbono electrofílico es tetraédrico- sp^3 , trigonal- sp^2 o digonal- sp . debido a esto, nuestros compuestos tienen una denominación *5-exo-trig* y la reacción del cierre de anillo es favorable (Figura 5).

⁴⁸ Baldwin, J. E. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1976**, 1, 734-736.

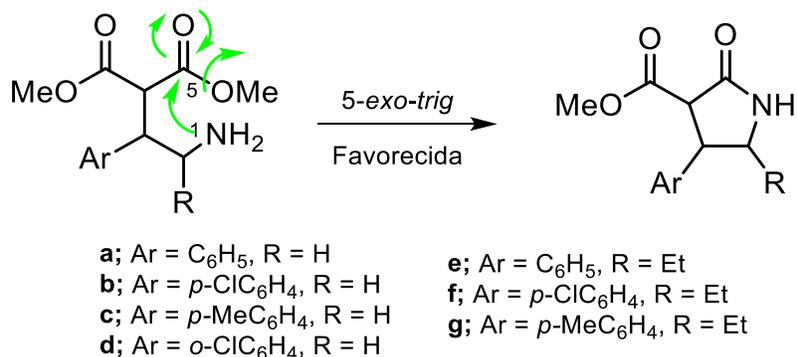
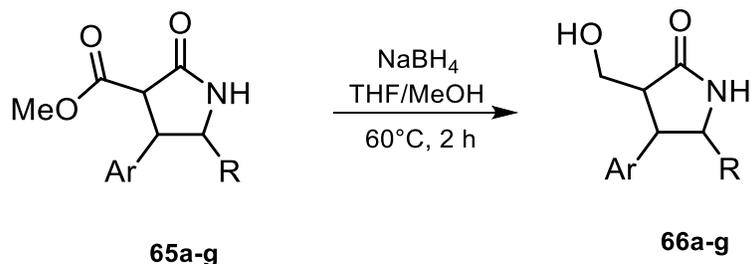


Figura 5. Formación favorable de cierre de anillos propuesto por Baldwin.

Continuando con la propuesta de síntesis, se llevó a cabo la preparación de los alcoholes **66a-g**. Para conseguir lo anterior los ésteres **65a-g** disueltos en una mezcla de THF/MeOH se trataron con 6 equivalentes de borohidruro de sodio (NaBH₄), la mezcla de reacción se calentó 60 °C durante 2 h proporcionando los alcoholes **66a-g** con rendimientos entre 51-75% (Tabla 14).

Tabla 14. Rendimientos obtenidos de los compuestos **66a-g**.



sustrato	Ar	R	Rendimiento (%)
66a	C ₆ H ₅	H	72
66b	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	H	51
66c	<i>p</i> -MeC ₆ H ₄	H	55
66d	<i>o</i> -ClC ₆ H ₄	H	54
66e	C ₆ H ₅	Et	52
66f	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	Et	55
66g	<i>p</i> -MeC ₆ H ₄	Et	75

En la espectroscopia IR (FT-IR), el alcohol **66c** particularmente, presentó una banda ancha en 3335 cm⁻¹, la cual corresponde al grupo hidroxilo -OH del alcohol, mientras que la banda en 3235 cm⁻¹ corresponde al grupo amino -NH de la lactama, además, la banda que corresponde al C=O se puede observar en 1676

cm⁻¹. A continuación, se muestra una tabla con las bandas representativas de los alcoholes restantes. Cabe mencionar, que en los alcoholes **66a-b**, **66d-e**, la banda correspondiente al -OH se fusiona con la banda del grupo -NH observándose una banda de mayor tamaño mientras que en los compuestos **66f-g** se observan dos señales anchas. Todos los compuestos fueron caracterizados por RMN de ¹H, ¹³C y HMRS (Tabla 15).

Tabla 15. Bandas de FT-IR de los alcoholes **66a-g**.

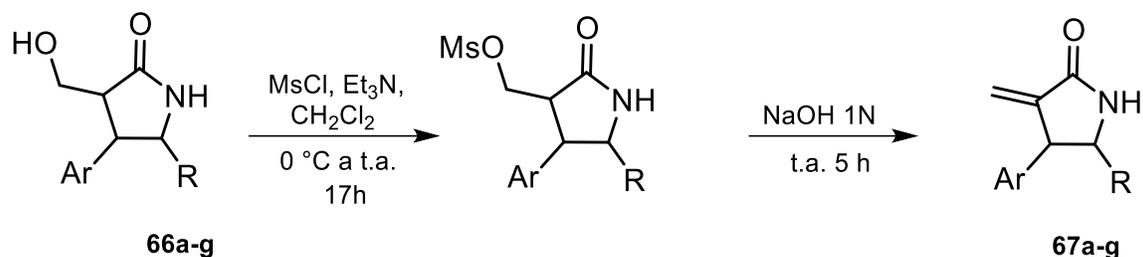
Sustrato	Ar	-OH	-NH	C=O	C-H
66a	C ₆ H ₅	*3246	3246	1693	2955 2867
66b	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	*3236	3236	1681	2951 2917
66c	<i>p</i> -MeC ₆ H ₄	3335	3235	1676	2864 2928
66d	<i>o</i> -ClC ₆ H ₄	*3231	3231	1682	2877 2928
66e	C ₆ H ₅	*3234	3234	1682	2928
66f	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	3360	3221	1704	2928
66g	<i>p</i> -MeC ₆ H ₄	3319	3234	1694	2954 2893

*Se observa una sola banda ancha debido a la traslape de los grupos OH y NH.

Una vez lograda la síntesis de los alcoholes **66a-g** el siguiente paso de reacción fue formar el enlace doble exocíclico. Para lo anterior, se realizó la reacción para transformar el grupo alcohol en un buen grupo saliente para su posterior eliminación. De tal manera, que los alcoholes **66a-g** se hicieron reaccionar con 2 equivalentes de cloruro de mesilo (MsCl), trietilamina (Et₃N) en diclorometano seco como disolvente generando a los mesilatos que sin purificación adicional se trataron con una solución de NaOH 1N en THF, la solución se agito a temperatura ambiente durante 5 h proporcionando las α -metileno- γ -lactamas **67a-g** con buenos rendimientos en el paso de eliminación del 76-90%. Con la finalidad de mejorar los rendimientos obtenidos de la reacción de eliminación, se decidió cambiar el disolvente, tiempo de reacción y temperatura, por lo que en los ensayos 5-6, 10-11 de la Tabla 16, el disolvente utilizado fue acetonitrilo, a una temperatura de 40 °C y un tiempo de 1.5 h, los rendimientos de

reacción fueron similares a los obtenidos, logrando una disminución en el tiempo de reacción (Tabla 16).

Tabla 16. Rendimientos de las α -metilen- γ -lactamas **67a-g**.



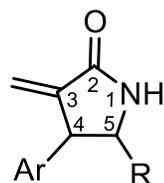
Ensayo	Sustrato	Tiempo	Temperatura	Rendimiento (%)
1	67a , Ar = C ₆ H ₅ , R = H	5 h	t.a.	76
2	67b , Ar = <i>p</i> -ClC ₆ H ₄ , R = H	5 h	t.a	86
3	67c , Ar = <i>p</i> -MeC ₆ H ₄ , R = H	5 h	t.a	89
4	67d , Ar = <i>o</i> -ClC ₆ H ₄ , R = H	5 h	t.a	90
*5	67a , Ar = C ₆ H ₅ , R = H	1.5 h	40 °C	75
*6	67b , Ar = <i>p</i> -ClC ₆ H ₄ , R = H	1.5 h	40 °C	88
7	67e , Ar = C ₆ H ₅ , R = Et	5 h	t.a	70
8	67f , Ar = <i>p</i> -ClC ₆ H ₄ , R = Et	5 h	t.a	65
9	67g , Ar = <i>p</i> -MeC ₆ H ₄ , R = Et	5 h	t.a	80
*10	67e , Ar = C ₆ H ₅ , R = Et	1.5 h	40 °C	66
*11	67f , Ar = <i>p</i> -ClC ₆ H ₄ , R = Et	1.5 h	40 °C	67

*disolvente: Acetonitrilo

Las señales más características de las α -metilen- γ -lactamas, son los hidrógenos vinílicos del enlace doble exocíclico. Por lo tanto, las señales de estos hidrógenos en RMN de ¹H se encuentran desplazados en 5.11-5.44 ppm, y se observa una señal doble que corresponde a un hidrógeno vinílico acoplado con su hidrógeno geminal, mientras que entre 6.10-6.44 ppm se observa otra señal doble que corresponde al otro hidrógeno con la misma constante de acoplamiento. La señal múltiple del hidrógeno H4 se encuentra desplazada entre 3.51-4.11 ppm, mientras que el hidrógeno H5 tienen un desplazamiento entre 3.36-4.75 ppm. Cabe mencionar que únicamente el compuesto **67e** se logró separar en los pares

enantioméricos *anti* y *syn* (**67e_{anti}** y **67e_{syn}**) mediante cromatografía en columna usando éter como fase móvil y los datos espectroscópicos son similares a los datos descritos en la literatura.⁴⁹ A continuación, en la Tabla 17 se muestran los desplazamientos químicos de RMN de hidrógeno de las α -metilen- γ -lactamas **67a-g**. Las α -metilen- γ -lactamas también fueron caracterizados por FT-IR, RMN ¹H, RMN ¹³C y HRMS, y todos los datos fueron recolectados en la parte experimental (Tabla 17).

Tabla 17. Desplazamientos químicos de las α -metilen- γ -lactamas **67a-g**.



a: Ar = C₆H₅, R = H
b: Ar = *p*-ClC₆H₄, R = H
c: Ar = *p*-MeC₆H₄, R = H
d: Ar = *o*-ClC₆H₄, R = H

e: Ar = C₆H₅, R = Et
f: Ar = *p*-ClC₆H₄, R = Et
g: Ar = *p*-MeC₆H₄, R = Et

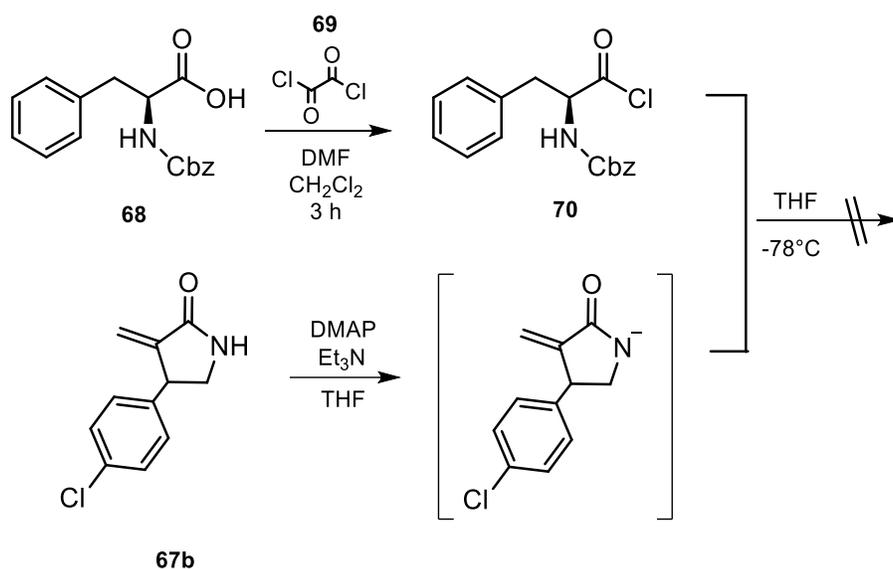
67	H _{Vinilicos}	-CH ₃	H4	H5
a*	5.17 (d, <i>J</i> = 3.8 Hz, 1H) 6.10(d, <i>J</i> = 3.5 Hz, 1H)	---	3.84 (t, <i>J</i> = 10 Hz, 1H)	3.41 (dd, <i>J</i> = 10.4 y 5.9 Hz, 1H _a) 4.15 (m, <i>J</i> = 12.3, 6.1 y 3.0 Hz, 1H _b)
b**	5.18 (d, <i>J</i> = 3.4 Hz, 1H) 6.14(d, <i>J</i> = 3.1 Hz, 1H)	---	3.85 (t, <i>J</i> = 9.4, 1H)	3.36 (dd, <i>J</i> = 9.9 y 5.7 Hz, 1H,) 4.16 (m, 1H)
c***	5.44 (d, <i>J</i> = 2.9 Hz, 1H) 6.44(d, <i>J</i> = 3.2 Hz, 1H)	2.35 (s, 3H)	4.11 (dd, <i>J</i> = 12.8, 6.3, 1H)	3.61 (dd, <i>J</i> = 11.4 y 6.3 Hz, 1H,) 4.20 (m, 1H)
d*	5.36 (d, <i>J</i> = 3.8 Hz, 1H) 6.23(d, <i>J</i> = 3.4 Hz, 1H)	---	3.96 (t, <i>J</i> = 10.2 Hz, 1H)	3.39 (dd, <i>J</i> = 11.0 y 3.4 Hz, 1H,) 4.64-4.75 (m, 1H)
e*	5.11(<i>anti</i>) (d, <i>J</i> = 3.9 Hz, 1H) 6.09 (<i>anti</i>) (d, <i>J</i> = 3.4 Hz, 1H). 5.30 (<i>syn</i>) (d, <i>J</i> = 3.7 Hz, 1H), 6.20 (<i>syn</i>) (d, <i>J</i> = 3.4 Hz, 1H)	---	3.5 (<i>anti</i>) (m, 1H) 3.65 (<i>syn</i>) (m 1H)	3.75 (<i>anti</i>) (m, 1H), 4.33 (<i>syn</i>) (m, 1H)
f***	5.11 (d, <i>J</i> = 1.7 Hz, 1H), 6.11 (d, <i>J</i> = 3.0 Hz, 1H). 5.29 (d, <i>J</i> = 4.0 Hz, 1H), 6.21 (d, <i>J</i> = 2.9 Hz, 1H)	---	3.51 (dd, <i>J</i> = 11.9 y 5.6 Hz, 1H, 3.75 (dd, <i>J</i> = 13.7 y 7.0 HZ, 1H)	3.60 (m, 1H). 4.27-4.40 (m, 1H)
g*	5.28 (d, <i>J</i> = 3.3 Hz, 1H) 6.17(d, <i>J</i> = 3.5Hz, 1H)	2.33 (s, 3H)	3.71 (dd, <i>J</i> = 16.1 Y 7.3 Hz, 1H)	4.25-4.33 (m, 1H)

*RMN 600 MHz; ** RMN 500 MHz; *** RMN 400 MHz.

La ruta sintética propuesta fue exitosa para las α -metilen- γ -lactamas **67a-g**, sin embargo, nuestros compuestos se encontraban de forma racémica, posteriormente, fue tratar de realizar la separación las α -metilen- γ -lactamas para obtenerlas de forma enantioméricamente puras. Por lo que en un primer ensayo

⁴⁹ Lee, K. Y.; Lee, Y. J.; Kim, J. N. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2007**, *28*, 143-146.

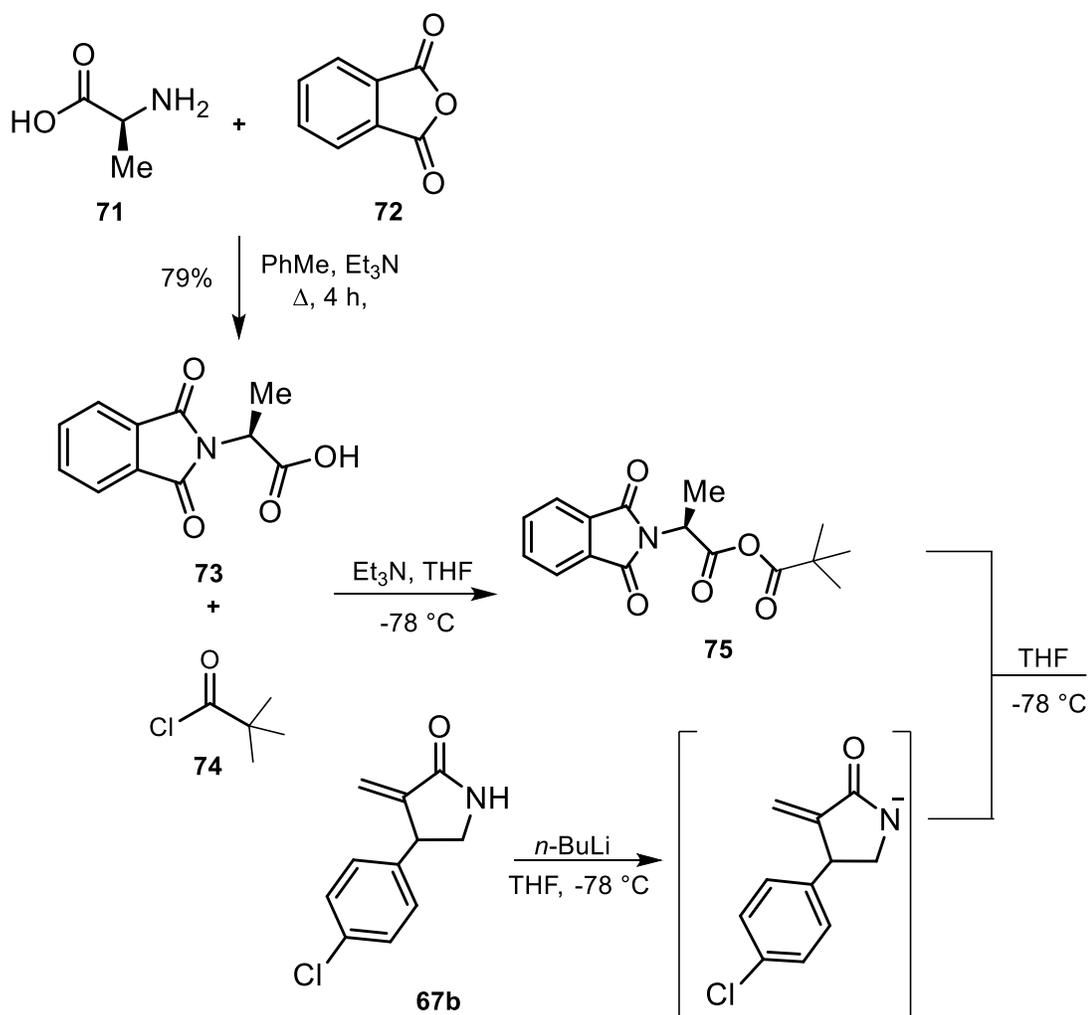
decidimos utilizar como agente de resolución el aminoácido *N*-protegido (Z-Phe-OH) **68**. La reacción se inició con la formación del cloruro de ácido del derivado Z-Phe-OH **70** utilizando cloruro de oxalilo **69** en DCM seco y una gota de *N,N*-dimetilformamida (DMF) durante 3 h y enseguida haciéndolo reaccionar con el anión de la α -metileno- γ -lactama **67b** preparado con DMAP (1.1 eq) y trietilamina (1.1 eq). En este caso la reacción no procedió. A continuación, se realizaron 3 ensayos más variando el número de equivalentes de cloruro de oxalilo de 1.3, 1.5 y 1.7 eq; Sin embargo, observamos por CCF que la materia prima seguía sin reaccionar (Esquema 9).



Esquema 9. Resolución quiral del compuesto **67b**.

Debido a los resultados no favorables del experimento realizado anteriormente para la separación, se consideró que la amina derivada de fenilalanina podría estar impidiendo que la reacción tuviera lugar. Por lo que se decidió utilizar un derivado de amina completamente protegida. Para lo anterior se utilizó el aminoácido L-alanina **71** y se hizo reaccionar con anhídrido ftálico **72** y trietilamina, para obtener el aminoácido *N*-protegido **73** obteniéndolo con un rendimiento del 79%, enseguida, se siguió con la preparación del anhídrido mixto utilizando cloruro de pivaloilo **74** (PivCl) y trietilamina a una temperatura de -78 °C, utilizando como disolvente THF anhidro, de esta manera se formó el anhídrido mixto del aminoácido *N*-protegido **75**. Posteriormente se hizo reaccionar con el anión de la α -metileno- γ -lactama, pero en esta ocasión formado con *n*-Buli a una

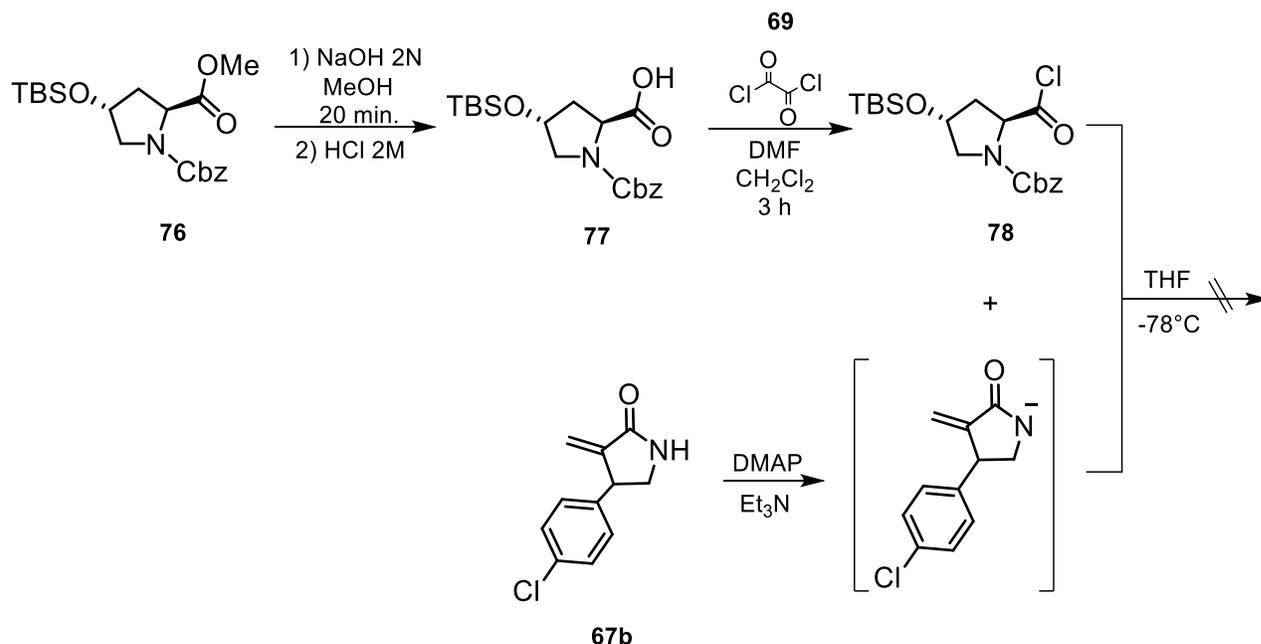
temperatura de $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos. Después de reaccionar durante toda la noche se realizó CCF, y se observó que se había formado una mezcla compleja (m.c) que no fue posible separar (Esquema 10).



Esquema 10. Resolución quiral del compuesto **67b**.

Debido a los resultados anteriores decidimos cambiar de agente de resolución y en este otro caso empleamos un derivado de hidroxiprolina, el (2*S*,4*R*)-1-benzil-2-metil-4-(*ter*-butildimetilsiloxi) pirrolidina-1,2-dicarboxilato **76** que contiene dos centros estereogénicos. Esta reacción inició como una la saponificación con NaOH 2 N en metanol durante 20 min y posterior acidificación a pH 2, para obtener el correspondiente ácido carboxílico **77**. Posteriormente, procedió a formar el cloruro de ácido usando el ácido **77** para formar el cloruro de ácido **78**, utilizando como reactivos cloruro de oxalilo **69**, DCM seco y una gota de

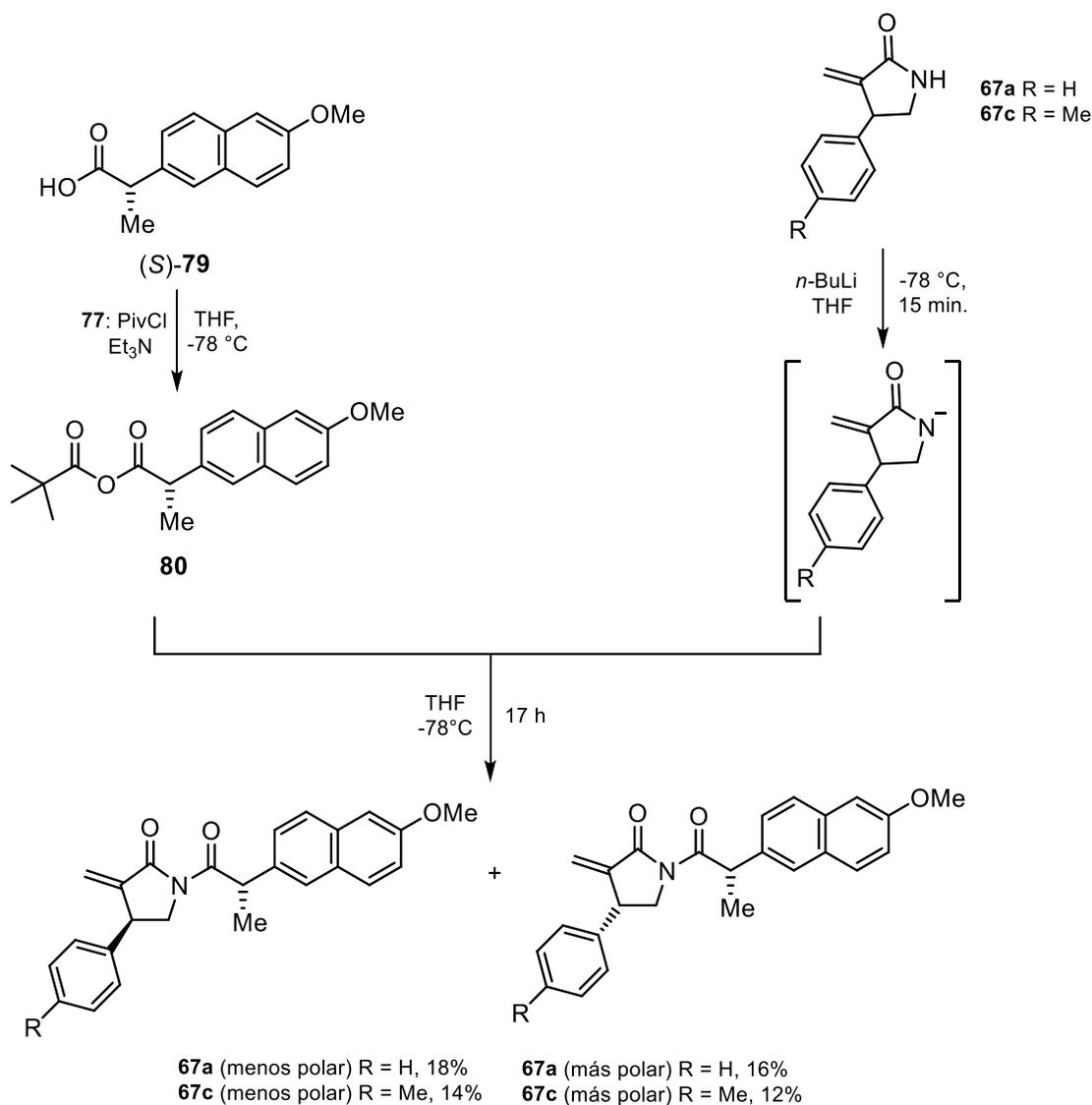
N,N-dimetilformamida (DMF) como catalizador durante 3 h. En una reacción alterna, se formó el anión de la α -metilen- γ -lactama **67b**, utilizando DMAP (1.1 eq) y trietilamina (1.1 eq). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Por CCF no se observó la transformación de la materia prima (Esquema 11).



Esquema 11. Resolución quiral del compuesto **67b**.

En nuestro grupo de investigación ya teníamos el antecedente de la resolución de γ -lactamas utilizando el cloruro de ácido del (*S*)-Naproxeno, para resolver mezclas racémicas de lactamas que posteriormente sirvieron como intermediarios sintéticos para obtener γ -aminoácidos como el Baclofeno, Fenibut y Tolibut enantioméricamente puros.¹ Por consiguiente realizamos otro experimento utilizando como agente de resolución el anhídrido mixto del (*S*)-Naproxeno **80**. La reacción inicio utilizando el ácido de (*S*)-Naproxeno (*S*)-**79** y se hizo reaccionar con el cloruro de pivaloilo (PivCl) **74** y Et₃N en THF como disolvente, a una temperatura de -78 °C y posteriormente a 0 °C, durante 45 min. Por otro lado, se preparó el anión de la α -metilen- γ -lactama **67a** con *n*-BuLi en THF a -78 °C durante 15 min, y se hizo reaccionar con el anhídrido mixto del (*S*)-Naproxeno **80** en THF a -78 °C durante 17 h. Después de este tiempo se analizó la reacción por

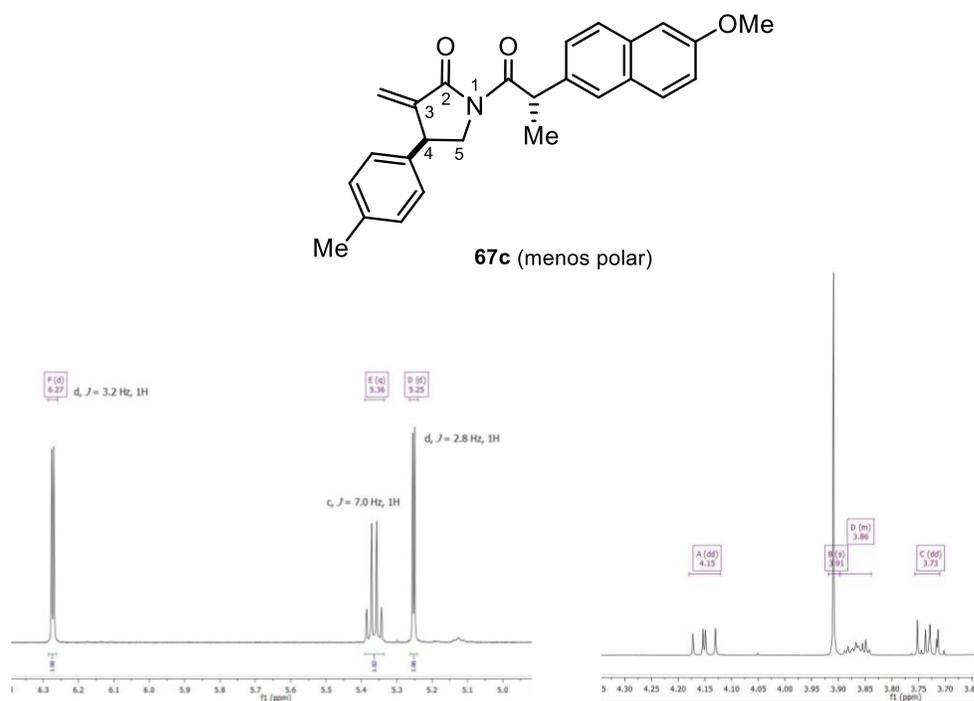
CCF, y se observó la formación de 2 productos menos polares. Estos compuestos se pudieron separar por cromatografía en columna en un sistema 98:2 Hexano-AcOEt (Esquema 12).



Esquema 12. Resolución quiral de los compuestos **67a** y **67c**.

Después de verificar que se había realizado el acoplamiento entre las α -metileno- γ -lactamas y (*S*)-Naproxeno a los productos obtenidos los llamamos **67c** menos polar y **67c** más polar y fueron caracterizadas por diferentes técnicas espectroscópicas como FT-IR, RMN de ¹H y ¹³C y espectrometría de masas de alta resolución. A continuación, se describe el espectro de RMN de ¹H de **67c** menos polar. A campo alto en 1.58 ppm, se observó una señal doble ($J = 7.0$ Hz),

correspondiente a los hidrógenos del metilo del agente de resolución, mientras que el metilo de base aromática perteneciente a la lactama se observó en 2.34 ppm como una señal simple. La señal correspondiente al hidrógeno H4 (unido directamente al carbono asimétrico) fue observada en 3.87 ppm como un multiplete. En 3.73 ppm y 4.15 ppm se observaron dos señales dobles de dobles asignadas a los hidrógenos diastereotópicos H5a ($J_{gem} = 11.7$ Hz, $J_{anti} = 7.5$ Hz) y H5b ($J_{gem} = 11.7$ Hz, $J_{syn} = 9.3$ Hz). La señal correspondiente a los hidrógenos del metoxilo del agente quirál fue observada en 3.91 ppm como una señal simple. A campo más bajo en 5.36 ppm se observó una señal cuádruple con una $J = 7.0$ Hz, asignada al hidrógeno del metino también del agente quirál. Los hidrógenos vinílicos del enlace doble exocíclico de la γ -lactama, se desplazó para uno a 5.25 ppm y se observa como una señal doble con una constante de acoplamiento de 2.8 Hz y para el otro en 6.27 ppm como otra señal doble con una constante de acoplamiento de 3.2 Hz (figura 6).



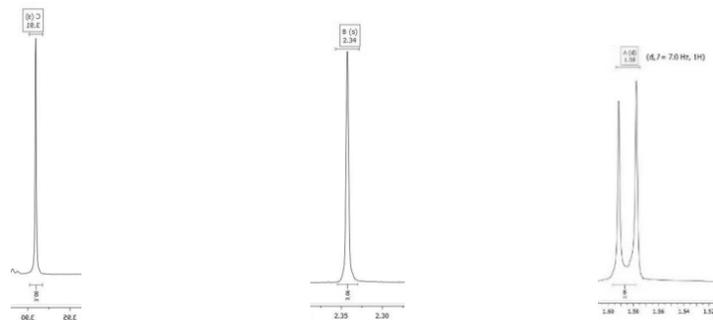
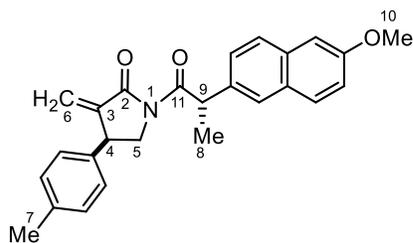


Figura 6. Expansión del espectro de RMN de ^1H , (500 MHz, CDCl_3 , TMS) de **67c** (menos polar).

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **67c** menos polar, observamos una señal 19.5 ppm correspondiente al metilo del agente de resolución y en 21.2 ppm la señal asignada al metilo del anillo aromático de la lactama. A campo más bajo en 41.2 ppm se desplazó la señal asignada a C4, en 45.0 ppm se observó la señal del metino del agente de resolución y fue hasta 51.4 ppm se observó la señal perteneciente al carbono C5. En 55.4 ppm se encontró la señal perteneciente en metoxilo del (S)-Naproxeno. Los carbonos vinílicos se desplazaron a 122.5 y 137.5 ppm, y finalmente las señales de los carbonos carbonílicos se desplazaron hasta 166.5 y 176.2 ppm (Figura 7).



67c (menos polar)

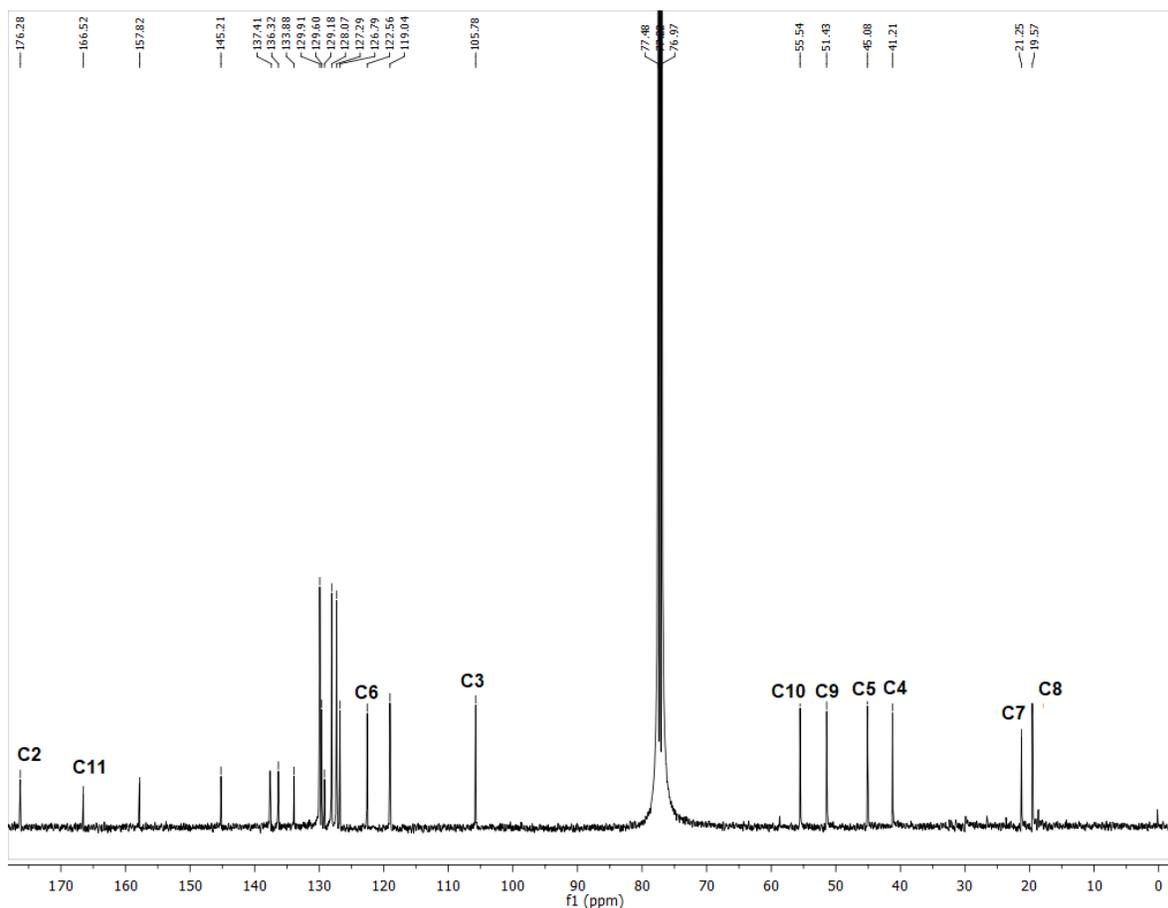


Figura 7. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 , TMS) de **67c** menos polar.

El espectro de RMN ^{13}C del isómero más polar de **67c** presento características similares al compuesto **67c** menos polar. El siguiente paso fue asignar la configuración absoluta, para esto fue necesario la implementación de la técnica de RMN de 2D, NOESY (Espectroscopía Nuclear de Efecto Overhauser), con la finalidad de conocer las interacciones de los hidrógenos y se observó en el espectro la existencia de interacciones entre los hidrógenos del heterociclo del anillo de la α -metileno- γ -lactama con el agente de resolución. Específicamente, una de las interacciones espaciales fuertes que presentan es H4 con uno de los hidrógenos diastereotópicos de la posición 5, que es el H5b, lo que proporciona evidencia de que están del mismo lado. Otra interacción espacial que se encontró fue la del metilo del (S)-Naproxeno con H5b, esto quiere decir que de igual forma estos hidrógenos están espacialmente del mismo lado. En el caso de H5a se observó una interacción muy fuerte con H4 debido a la distancia espacial que se encuentra entre ellos. También fue observada otra interacción importante de H4

con los hidrógenos vinílicos del enlace doble exocíclico. De acuerdo con el análisis de RMN ^1H y NOESY, el centro estereogénico de la lactama **67c** que corresponde al compuesto menos polar se asignó como (4*S*), quedando como (*S,S*)-**67c**. (Figura 8). Con la finalidad de verificar la configuración asignada a C4 se realizó un estudio para obtener la conformación más estable mediante el programa $^{\text{®}}$ MarvinSketch. Estos cálculos proponen un modelo tridimensional para cada diastereoisómero y que además muestran una relación congruente con los datos experimentales de RMN (Figura 9).

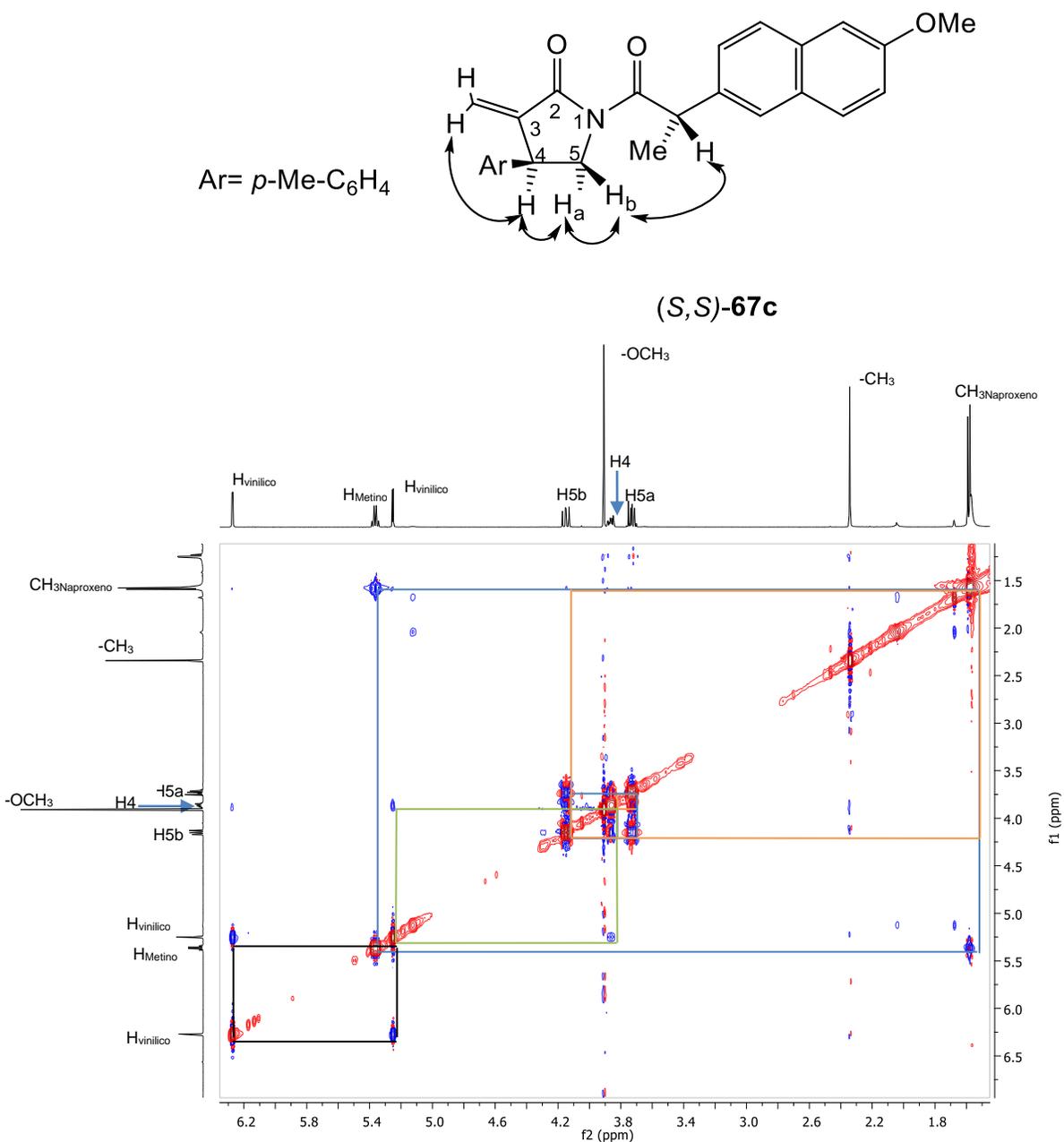


Figura 8. Espectro de NOESY del compuesto (*S,S*)-**67c** menos polar.

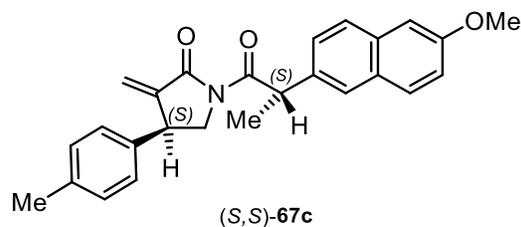
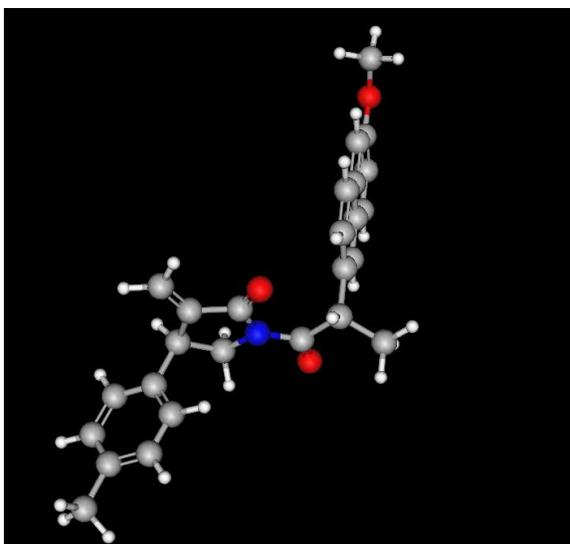


Figura 9. Conformación más estable del diastereoisómero (S,S)-67c.

El espectro de RMN de ^1H del diastereoisómero más polar **67c**, tiene una ligera variación en los desplazamientos con respecto al diastereoisómero menos polar. A campo alto en 1.58 ppm, se observó una señal doble ($J = 7.0$ Hz) que corresponde al metilo del agente de resolución. El metilo del anillo aromático perteneciente a la lactama se observó en 2.26 ppm como una señal simple. A campo más bajo en 3.62 ppm y 4.29 ppm se observaron dos señales dobles de dobles asignadas a los hidrógenos diastereotópicos H5a ($J_{gem} = 11.8$ Hz, $J_{anti} = 6.0$ Hz) y H5b ($J_{gem} = 11.7$ Hz, $J_{syn} = 9.1$ Hz). La señal simple de los hidrógenos del metoxilo del agente quiral se desplazó a 3.92 ppm. La señal del hidrógeno del metino H4 se encuentra como un multiplete en 3.98 ppm. A campo más bajo en 5.31 ppm se observó una señal cuádruple con una constante de acoplamiento de 6.4 Hz, asignada al hidrógeno del metino del (S)-Naproxeno. Los hidrógenos vinílicos se observaron cada uno como una señal doble desplazadas en 5.29 ($J = 2.6$ Hz) ppm y 6.27 ppm ($J = 2.9$ Hz).

Después se analizaron las interacciones por NOESY. En este caso se observó una interacción fuerte entre H5a y H4, mientras que, H5b mostró una interacción débil con H4, además H5b tiene una interacción fuerte con el hidrógeno quiral de (S)-Naproxeno y H4 mostró una interacción con un H vinílico y con los hidrógenos aromáticos de la lactama. (Figura 10). También se obtuvo la conformación más estable mediante el programa [®]MarvinSketch, lo cual confirma

el resultado del estudio de NOESY, debido a estos resultados se asignó el centro estereogénico como (4*R*) quedando entonces (*R,S*)-**67c** (Figura 11).

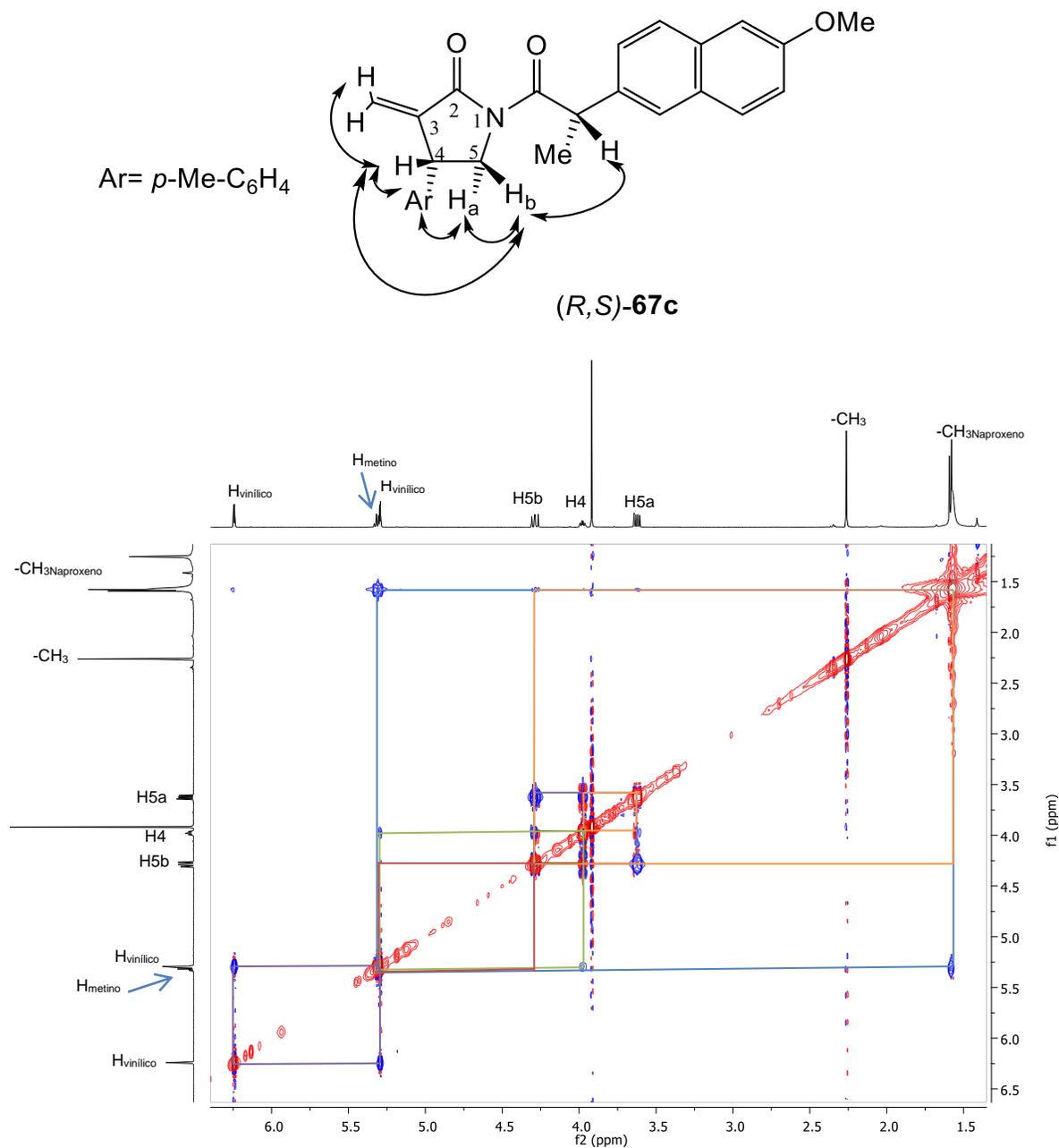


Figura 10. Espectro de NOESY del compuesto (*R,S*)-**67c** más polar.

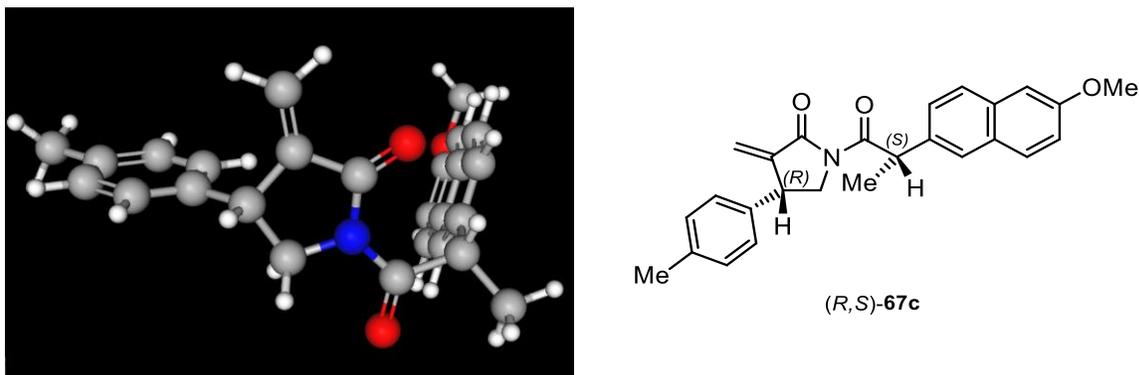


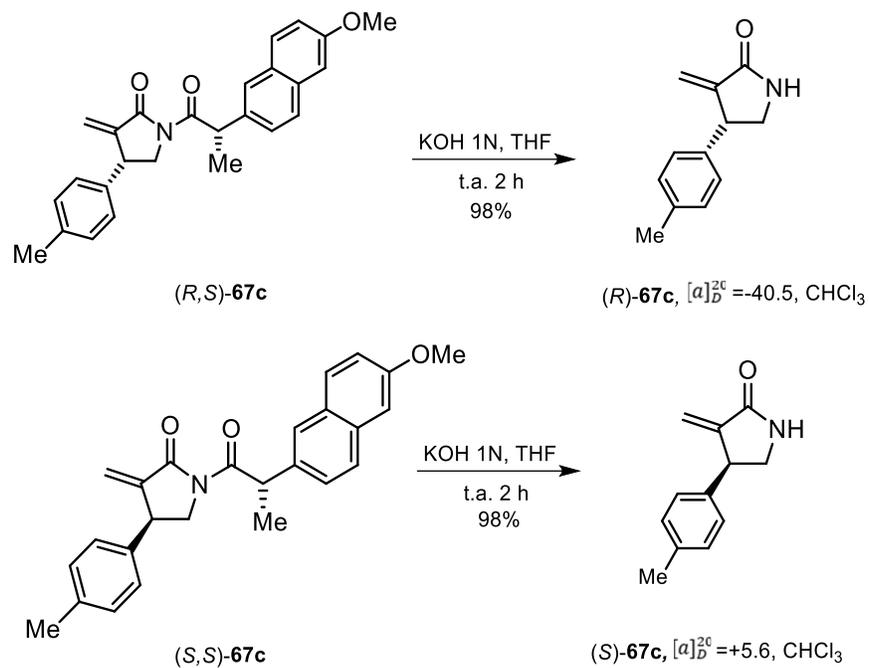
Figura 11. Conformación más estable del diastereoisómero *(R,S)*-**67c**.

A continuación, se muestran los rendimientos de las lactamas acopladas con *(S)*-Naproxeno después de separarlas por cromatografía en columna, además de las rotaciones ópticas de los diastereoisómeros (Tabla 18).

Tabla 18. Rotaciones ópticas de los diastereoisómeros derivados del *(S)*-Naproxeno.

Sustrato	Rendimiento	$[\alpha]_D^{20}$
<i>(R,S)</i> - 67a	18%	-61.1
<i>(S,S)</i> - 67a	16%	+17.7
<i>(R,S)</i> - 67c	14%	-35.4
<i>(S,S)</i> - 67c	12%	+9.0

Ya separadas las α -metilen- γ -lactamas y con el fin de obtener las α -metilen- γ -lactamas enantioméricamente puras, a continuación, fueron tratadas bajo condiciones básicas para lograr la remoción del agente quiral. En esta reacción se empleó una solución de hidróxido de potasio 1 N en THF como disolvente a t.a. durante 2 h. Esta hidrólisis básica nos permitió remover el agente quiral sin abrir el anillo heterocíclico de la γ -lactama obteniendo de esta manera las α -metilen- γ -lactamas enantioméricamente puras con excelentes rendimientos y sin necesidad de purificación (Esquema 13).



Esquema 13. Obtención de las α -metileno- γ -lactamas (*R*)-67c y (*S*)-67c.

5.1 Estudios de actividad biológica de α -metilen- γ -lactamas.

Una vez sintetizadas las α -metilen- γ -lactamas **67a-g**, se decidió investigar su posible aplicación, haciendo uso de programas bioinformáticos que son ampliamente utilizados para predecir actividades biológicas con base a su estructura y sus propiedades fisicoquímicas, por lo que se inició utilizando el programa computacional “Prediction of Activity Spectra for Substances” (PASSOnline).⁵⁰ Este programa es una herramienta para evaluar el potencial biológico general de una molécula, proporciona predicciones simultáneas de muchos tipos de actividades biológicas basadas en la estructura de compuestos orgánicos ya conocidos. Además, tiene una amplia base de datos de más de 250,000 sustancias biológicamente activas la cual se está actualizando constantemente. Por lo tanto, el programa PASSOnline se puede utilizar para estimar los perfiles de actividad biológica de moléculas nuevas.

En nuestro caso, las α -metilen- γ -lactamas **67a-g**, dieron valores de probabilidad (Pa) lo que significa la posibilidad de que el compuesto estudiado pertenezca a la subclase de compuestos activos, es decir, se asemeja a las estructuras de las moléculas que son las más típicas en el programa PASSOnline, y además se obtiene el valor de probabilidad de inactividad (Pi) lo que significa que es un valor donde el compuesto es inactivo en comparación con su base de datos. Cabe mencionar que el valor máximo que se puede obtener de Pa es 1 mientras que para Pi su mejor valor tiende a cero (Figura 12).

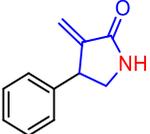
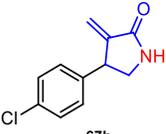
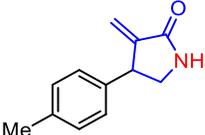
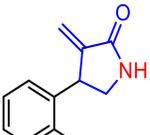
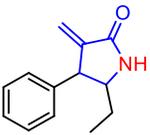
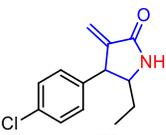
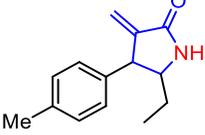
0.418	0.0429	histamine pipecolylglycine transaminase inhibitor
0.418	0.119	Proteasome ATPase inhibitor
0.338	0.041	Clavaminate synthase inhibitor
0.366	0.070	Simian immunodeficiency virus proteinase inhibitor
0.369	0.073	Centromere associated protein inhibitor
0.379	0.035	L-Aldehyde dehydrogenase (NADP+) inhibitor
0.373	0.060	Phenylethanolamine diastase inhibitor
0.440	0.153	Mucosubstances protector
0.360	0.067	Fucoxterol-epoxide lyase inhibitor
0.382	0.088	Antipruritic, allergic
0.311	0.018	Ferredoxinase inhibitor
0.367	0.076	S-formylglutathione hydrolase inhibitor
0.384	0.041	Dihydroorotidyl dehydrogenase (NADP+) inhibitor

Figura 12. Programa computacional PASSOnline.

⁵⁰ <https://www.way2drug.com/PASSOnline/predict.php> (consultado marzo 04, 2018).

Los resultados muestran que las α -metilen- γ -lactamas **67a-g** sintetizadas tienen una posible actividad biológica, para la inhibición de α -glucosidasas, también tienen valores de actividad antiinflamatoria y antibacteriana. A continuación, se muestra la tabla con los valores de Pa y Pi para las α -metilen- γ -lactamas **67a-g** (Tabla 19).

Tabla 19. Probabilidad de actividad biológica encontrada con el programa PASSOnline de las α -metilen- γ -lactamas **67a-g**.

Compuesto	Inhibidor de α -glucosidasas		Antiinflamatorio		Antibacterial	
	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
 67a	0.068	.066	0.25	0.11	0.26	0.74
 67b	0.16	0.11	---	---	0.21	0.10
 67c	0.11	0.07	0.20	0.18	0.26	0.07
 67d	0.13	0.11	0.16	0.13	0.20	0.11
 67e	0.21	0.07	0.31	0.15	0.23	0.09
 67f	0.13	0.12	0.32	0.14	0.18	0.13
 67g	0.17	0.10	0.16	0.13	0.23	0.09

<https://www.PASSOnline/predict.php>. (consultado marzo 04, 2018).

Los valores obtenidos con este programa indican que las α -metilen- γ -lactamas, tienen un Pa bajo para estas actividades. Sin embargo, los valores de Pi son buenos ya que tienden a cero. Sin embargo, no significa que no tengan actividad biológica, sino que no existen estructuras similares en esta base de datos para poderlas comparar. Esto nos indica que estos compuestos han sido poco estudiados. El compuesto **67e** tuvo el valor mayor de Pa (0.21) para usarlo como inhibidor de α -glucosidasas en comparación con las demás α -metilen- γ -lactamas. Mientras que el compuesto **67f** tuvo un valor de Pa de 0.32 para la actividad antiinflamatoria, además **67a** y **67c** tuvieron un valor similar de 0.26 para utilizarlos como antibacterianos.

Para continuar con estos estudios, otro programa utilizado ampliamente en el diseño de sustancias bioactivas es el programa Molinspiration⁵¹ este software hace uso de las reglas de Lipinski, las cuales son un filtro de parámetros fisicoquímicos para el diseño nuevos compuestos, (Figura 13). Estas reglas fueron formuladas por Christopher A. Lipinski en el año 1997⁵², basado en la observación de que la mayoría de los compuestos químicos utilizados en medicamentos y en moléculas que son relativamente pequeñas y lipofílicas. Estas reglas son completamente empíricas y permiten evaluar cualitativamente que tan adecuado podría resultar un compuesto nuevo para cumplir una actividad biológica. Sin embargo, estas reglas no predicen si un compuesto será farmacológicamente activo, por lo que estas reglas deben tener las siguientes consideraciones y no se deben violar más de una:

- No debe contener más de cinco donadores de enlaces por puentes de hidrógeno (átomos de nitrógeno u oxígeno con al menos un átomo de hidrógeno).
- No debe contener más de diez aceptores de enlaces por puentes de hidrógeno (átomos de nitrógeno, oxígeno o flúor).
- Debe poseer un peso molecular inferior a 500 uma.
- Debe poseer un coeficiente de reparto octanol-agua ($\log P$) inferior a 5.

⁵¹ <https://www.molinspiration.com> (consultado marzo 01,2018)

⁵² Lipinski, C.; Lombardo, F. Dominy, B.; Feeney, P. *Adv. Drug Delivery Rev.* **1997**, 23, 3-25.

Molinspiration Cheminformatics Software
Molinspiration offers broad range of cheminformatics software tools supporting molecule manipulation and processing, including SMILES and SDF file conversion, normalization of molecules, generation of tautomers, molecule fragmentation, calculation of various molecular properties needed in QSAR, molecular modelling and drug design, high quality molecule depiction, molecular database tools supporting substructure and similarity searches. Our products support also fragment-based virtual screening, bioactivity prediction and data visualization. Molinspiration tools are written in Java, therefore can be used practically on any computer platform.

Molinspiration now also on 'Touch Devices'
Molinspiration interactive web services are available from now not only on desktop computers, but also on touch devices including iPhone, iPad and Android phones and tablets. Molecule structure input to our property calculation and bioactivity prediction services is powered by the JSME molecule editor written in JavaScript. Also our Galaxy 3D molecule visualizer that allows interactive display of molecules in various modes and visualization of surface molecule lipophilicity potential and polar surface area is written in JavaScript.

Free Web Tools for Cheminformatics Community
Molinspiration supports internet chemistry community by

Molinspiration Molecule Viewer

miSMILES: C=C1C(=O)NCC1c2ccccc2

Molinspiration property engine v2021.10

miLogP	1.93
IPSA	29.10
natoms	13
MW	173.22
nON	2
nOH/H	1
nviolations	0
nrotb	1
volume	165.95

Get data as text (for copy / paste).
Get 3D geometry. BETA

This was request 1 out of 1000 available this month for your site 167.214.48.44
With technology from Molinspiration you can easily setup similar service also directly on your intranet.
Comments or questions ? See our FAQ and do not hesitate to provide feedback or contact us by email !

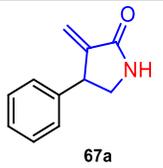
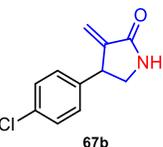
[New molecule](#) [Predict bioactivity](#) [About properties](#) [MyMolecules](#) [Molinspiration home](#)

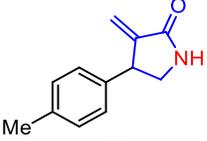
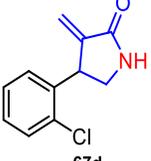
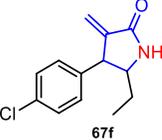
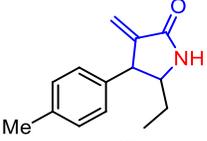
©2022 Molinspiration Cheminformatics [Terms of service](#)

Figura 13. Programa computacional Molinspiration®.

Los resultados obtenidos fueron los valores teóricos de $\log P$, peso molecular, aceptores y donadores de puentes de hidrógeno y el volumen de las α -metilen- γ -lactamas, así como el número de violaciones basados en los criterios de las reglas de Lipinski. Esto significa que los resultados de $\log P$ de las α -metilen- γ -lactamas **67a-g** es menor a 5 por lo que esto significa que pueden tener una buena solubilidad, también tienen menos de 10 aceptores y donadores de puentes de hidrógeno, un peso molecular para todos los compuestos menor a 500 g/mol, el volumen de las moléculas es aceptable y finalmente, no viola ninguna de estas reglas por lo que nos da indicio que posiblemente sean buenos candidatos y que presenten alguna actividad biológica. A continuación, se muestra una tabla con los resultados obtenidos en este programa (Tabla 20).

Tabla 20. Valores de $\log P$ y otros descriptores.

Compuesto	Reglas de Lipinsky					Violaciones
	Log P	Aceptores de puentes de hidrógeno	Donadores de puentes de hidrógeno	Peso molecular (u.m.a)	Volumen	
 67a	1.93	2	1	173.22	165.95	0
 67b	2.61	2	1	207.66	179.48	0

 67c	2.38	2	1	187.24	182.51	0
 67d	2.09	2	1	207.66	179.48	0
 67e	2.80	2	1	201.27	199.34	0
 67f	3.47	2	1	235.71	212.87	0
 67g	3.24	2	1	215.30	215.90	0

<https://www.molinspiration.com>. (consultado marzo 01, 2018).

En un panorama más específico existen los programas computacionales para predecir como interacciona un blanco terapéutico (proteínas) con ligandos (acoplamiento molecular) y además permite calcular la posición tridimensional más favorable de sus interacciones entre ellos, por tanto, este método bioinformático juega un papel importante en el descubrimiento y desarrollo de nuevos principios activos (Figura 14).

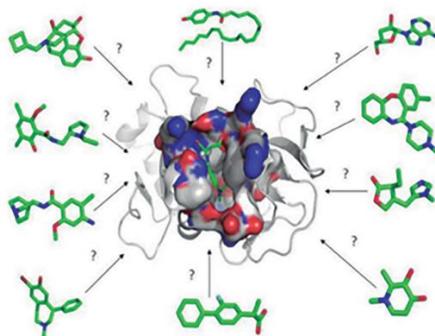


Figura 14. Representación tridimensional de proteínas.

En este contexto, el programa DIA-DB,⁵³ es un servidor web de libre acceso enfocado en la interacción de proteínas y ligandos utilizados para el tratamiento relacionado con la enfermedad de la diabetes, por lo que este software utiliza dos enfoques diferentes:

- Comparación por similitud con una base de datos específica para medicamentos antidiabéticos y compuestos experimentales.
- El cribado virtual inverso de las moléculas de entrada elegidas por los usuarios frente a un conjunto de dianas proteicas identificadas como elementos clave en la diabetes (Figura 15).

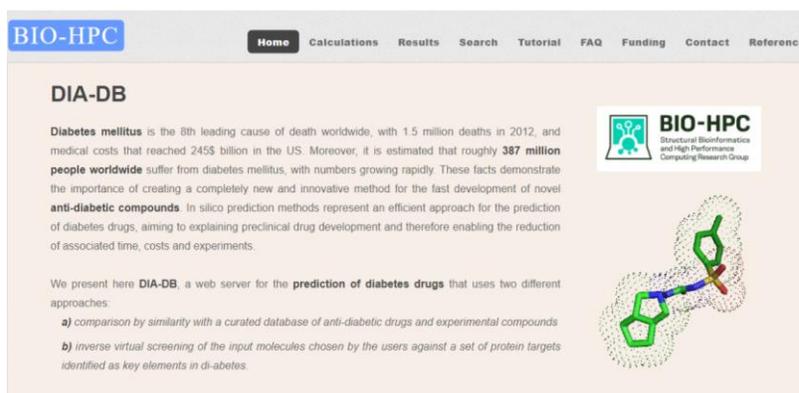


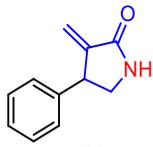
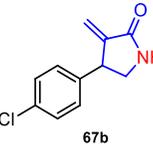
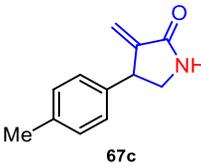
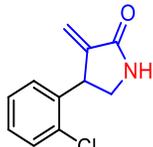
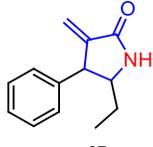
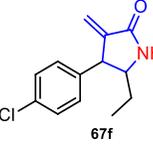
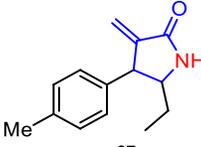
Figura 15. Programa computacional DIA-DB.

Los resultados obtenidos de las α -metilen- γ -lactamas **67a-g** con el programa DIA-DB, nos muestra un diagrama 2D en el cual se observan las interacciones que tiene el blanco terapéutico y la molécula en su conformación con la mejor afinidad de unión pronosticada en la simulación de acoplamiento.

También nos muestra una imagen 3D de la molécula con la proteína co-cristalizada, la cual se obtuvo de un modelo PDB. El código en la parte superior de la imagen corresponde al código PDB, y finalmente el valor de afinidad de unión en kcal/mol obtenido después de la simulación para el compuesto con la proteína co-cristalizada. Dada la importancia y el interés farmacológico, estos estudios *in silico* se centraron en el cribado virtual inverso de las α -metilen- γ -lactamas **67a-g** frente a las proteínas co-cristalizadas ya reportadas del programa, los resultados se muestran en la siguiente (Tabla 21).

⁵³ <https://www.bio-hpc.ucam.edu/dia-db>. (consultado abril 01, 2018).

Tabla 21. Resultados obtenidos con el programa computacional DIA-DB.

Compuesto	Proteína	PDB	Energía ligando-proteína (kcal/mol)	
ACA	MGAM	3L4Y	-5.0	
 67a	MGAM	3L4Y	-6.7 (S)	-8.7 (R)
 67b	MGAM	3L4Y	-6.8 (S)	-8.4 (R)
 67c	MGAM	3L4Y	-6.6 (S)	-8.3 (R)
 67d	MGAM	3L4Y	-5.6 (S)	-5.8 (R)
 67e	MGAM	3L4Y	-5.2 (S,S), -5.3 (R,R), -6.1 (S,R), -5.8 (R,S)	
 67f	MGAM	3L4Y	-5.1 (S,S), -6.5 (R,R), -6.5 (S,R), -6.3 (R,S)	
 67g	MGAM	3L4Y	-6.1 (S,S), -6.1 (R,R), -6.1 (S,R), -7.2 (R,S)	

<https://www.bio-hpc.ucam.edu/dia-db> (consultado abril 01, 2018)
Maltasa- glucoamilasa intestinal (MGAM)

La (2R,3R,4R,5R)-4-[[[(2R,3R,4R,5S,6R)-5-[[[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4-dihidroxi-6-metil-5-[[[(1S,4R,5S,6S)-4,5,6-trihidroxi-3-(hidroximetil)ciclohex-2-en-1-il]amino} oxan-2-il]oxi]-3,4-dihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxi]-2,3,5,6-tetrahidroxi]hexanal (ACA) es un inhibidor de las α -glucosidasas que retardan la

digestión y la absorción de carbohidratos en el intestino delgado y por lo tanto reduce el aumento en las concentraciones de glucosa en sangre. Este fármaco oral anti-hiperglucemiante produce una mejoría del control metabólico de la diabetes *mellitus* disminuyendo la respuesta glucémica postprandial. Los resultados que se obtuvieron de las afinidades de unión de la proteína Maltasa-glucoamilasa intestinal (MGAM) con las α -metilen- γ -lactamas **67a-g** tienen valores de -8.7 a -5.1 kcal/mol, donde un valor negativo en el acoplamiento indica que el sistema es estable y que existe una afinidad entre la proteína y el ligando en el sitio activo.

Estos resultados del docking inverso con el programa DiaDB, fueron analizados y comparados con los resultados de la (ACA) y con la proteína 3L4Y que es la proteína MGAM co-cristalizada. Es necesario hacer notar que ya se tenían reportes de estudios *in silico* sobre el acoplamiento molecular de ACA con la MGAM, y fue reportada por el grupo de investigación de Sim y colaboradores.⁵⁴ En este caso particular, los aminoácidos del sitio activo que coinciden con los reportados por difracción de rayos X, tienen una coincidencia del 36% de los aminoácidos del sitio activo, los cuales fueron calculados teóricamente contra el reportado de forma experimental de acuerdo a Saquid y Col.⁵⁵ Uno de los aminoácidos de importancia del sitio activo de la MGAM es la **Asp 203**, que ayuda en la unión del sustrato, y este residuo también se observa en nuestros resultados de acoplamiento molecular, por otro lado, se ha reportado que los residuos de la proteína que cubren la molécula de ACA en el sitio de unión en el análisis experimental, es la **Tyr 605**, mientras que el acoplamiento molecular de este aminoácido es reemplazado por **Arg 202**, **Asp 474** y **Phe 575** (Tabla 22).

⁵⁴ Sim, L.; Quezada-Calvillo, R.; Sterchi, E. E.; Nichols, B. L.; Rose, D. R. *J. Mol. Biol.* **2008**, 375, 782-792.

⁵⁵ Saqib, U.; Siddiqi, M. I. *J. Integr. Biol.* **2009**, 2, 116-121.

Tabla 22. Datos del acoplamiento ente la Acarbosa y la maltasa-glucoamilasa (MGAM) reportado por Saquid y Col.⁵²

Acoplamiento ente la Acarbosa y la maltasa-glucoamilasa (MGAM)	Aminoácidos del sitio activo
Teórico	Arg 202, Asp 203 , Thr 204, Thr 205, Tyr 299 , Asp 474, Lys 480, Trp 406, Asp 542 y Phe 575
Experimental	Asp 203 , Tyr 299 , Asp 327, Trp 441, Asp 443, Arg 526, Asp 542 , Asp 571, Phe 575 , His 600 y Tyr 605

Ya obtenida esta información, a continuación, se muestran a los aminoácidos de importancia del sitio activo de la MGAM con las α -metilen- γ -lactamas **67a-g** comparándola con ACA obtenidos del programa DIA-DB (Tabla 23).

Tabla 23. Datos del acoplamiento ente la Acarbosa y las α -metilen- γ -lactamas **67a-g** obtenidas del programa Dia-DB con la proteína MGAM con código 2QMJ.

Compuesto	Aminoácidos del sitio activo 2QMJ
ACA	Asp 203 , Tyr 299 , Asp 327, Trp 441, Asp 443, Arg 526 , Asp 542 , Asp 571, Phe 575 , His 600, Tyr 605.
67a	(R) Glu 182, Val 184, Pro 206, Leu 213, Leu 540, Trp 552, Pro 570, Asn 543, Asp 549. (S) Val 184, Pro 206, Leu 213, Leu 540, Pro 570, Asn 543.
67b	(R) Tyr 299 , Phe 575 , Trp 406. (S) Val 184, Pro 206, Leu 213, Leu 540, Pro 570, Asn 543, Asp 549.
67c	(R) Tyr 299 , Phe 575 , Trp 406. (S) Glu 182, Val 184, Pro 206, Leu 213, Leu 540, Phe 560, Pro 570, Asn 543, Asp 549.
67d	(R) Tyr 299 , Phe 575 , Trp 406, Asp 203 , Arg 526 . (S) Tyr 299 , Phe 575 , Trp 406, Asp 203 , Asp 327.
67e	(S,S) Tyr 299 , Trp 406, Phe 575 , Arg 526 , Gln 603. (R,R) Tyr 299 , Ile 328, Ile 364, Trp 406, Phe 575 , Asp 327, His 600 . (S,R) Trp 406, Phe 575 , Asp 542 . (R,S) Trp 406, Phe 450, Phe 575 , Asp 203 , Arg 526 .
67f	(S,S) Tyr 299 , Trp 406, Phe 450, Phe 575 . (R,R) Tyr 299 , Trp 406, Phe 450, Phe 575 . (S,R) Val 184, Pro 206, Leu 213, Leu 540, Asn 543, Trp 552, Pro 570, Asp 549. (R,S) Val 184, Pro 206, Leu 213, Leu 540, Asn 543, Trp 552, Pro 570, Asp 549.
67g	(S,S)Trp 406, Phe 450, Lys 480, Arg 202 (R,R) Trp 406, Phe 450, Phe 575 . (S,R) Tyr 299 , Phe 575 , Arg 526 , Asp 542 . (R,S) Trp 406, Phe 450, Phe 575 , Asp 203, Arg 526 .

Los resultados obtenidos del docking inverso de programa DiaDB de las α -metilen- γ -lactamas **67a-g** fueron los siguientes: los compuestos **67a** no presentaron ningún acoplamiento con la proteína 3L4Y, mientras que los compuestos **67b-g**, concordaron con los resultados de acoplamiento molecular del sitio de unión en el análisis experimental ACA antes reportado, por lo que los aminoácidos **Asp 203**, **Tyr 299**, **Arg 526**, **Asp 542** y **Phe 575** presentan interacciones en el sitio activo de la proteína 3L4Y (Figura 16).

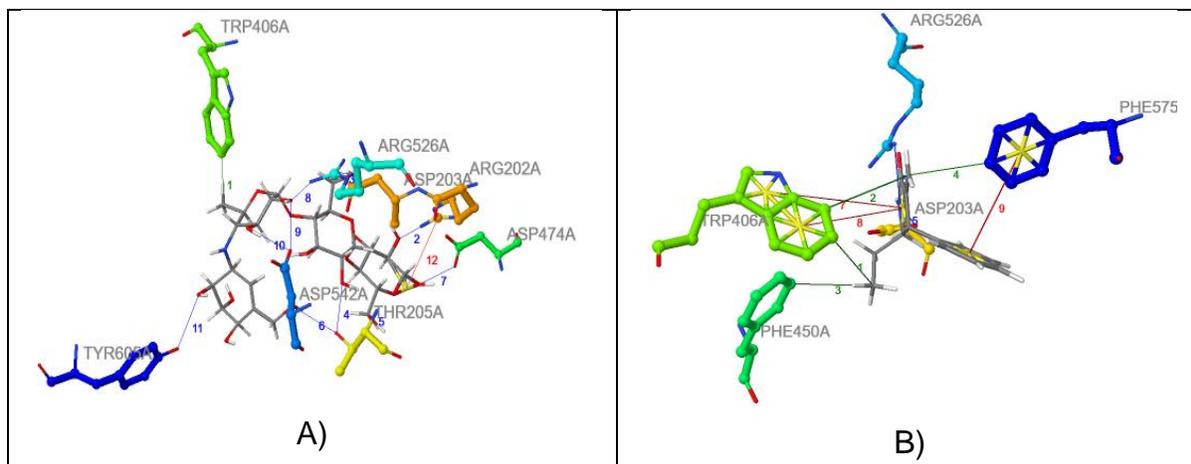


Figura 16. A) Representación 3D de ACA con la proteína 3L4Y. B) Representación 3D de la α -metilen- γ -lactama **67e** con la proteína 3L4Y.

Para complementar los resultados obtenidos anteriormente, se realizó un docking dirigido realizando una búsqueda de la estructura cristalográfica por rayos X del receptor MGAM en la página de Protein Data Bank⁵⁶ se eligió la proteína con código PDB 2QMJ debido a que presentaba una resolución de 1.9 Å, el cual es un valor idóneo para realizar un docking además de traer como ligando co-cristalizado a la ACA (Figura 17).

⁵⁶ <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>. (consultado abril 15, 2020).

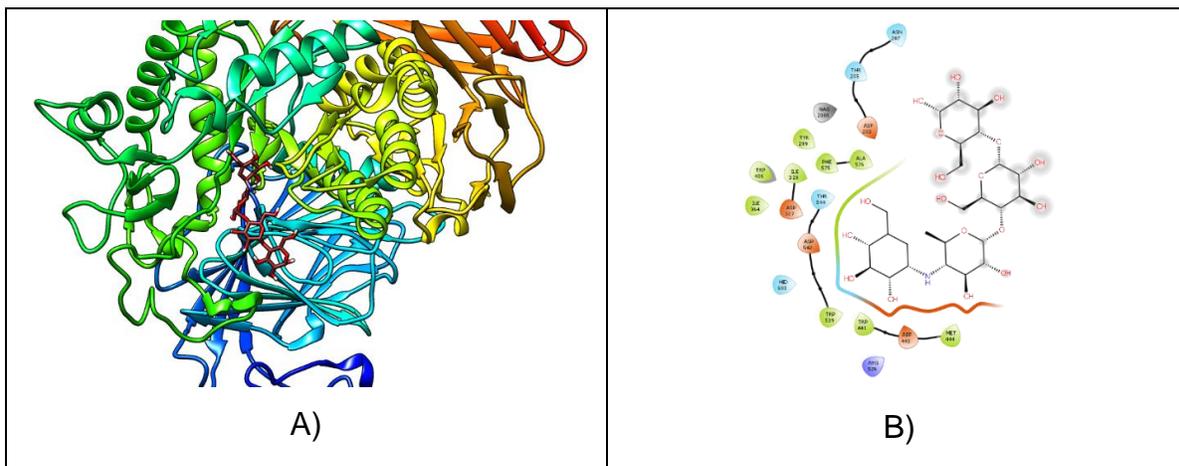


Figura 17. A) representación de la Proteína 2QMJ en 3D. B) Mapa de interacciones 2D de ACA con 2QMJ.

A fin de verificar que la predicción del modo de unión de las α -metileno- γ -lactamas **67a-g** sea lo más verdadera posible, se llevó a cabo la validación del proceso, el cual consiste en el re-acoplamiento del ligando co-cristalizado que corresponda a cada archivo PDB, es decir que el ligando de ACA, se reacopla a la proteína MGAM con código PDB 2QMJ, la validación es correcta para ACA cuando los confórmeros obtenidos no presentan un RMSD mayor a 2 Å con el ligando co-cristalizado. Para los cálculos del docking molecular se utilizaron los programas Autodock Vina como software y Chimera como visualizador, y las moléculas **67a-g** se construyeron en el programa Avogadro, en cuanto a la optimización de las moléculas estas fueron analizadas a un pH = 7.4 (Figura 18).

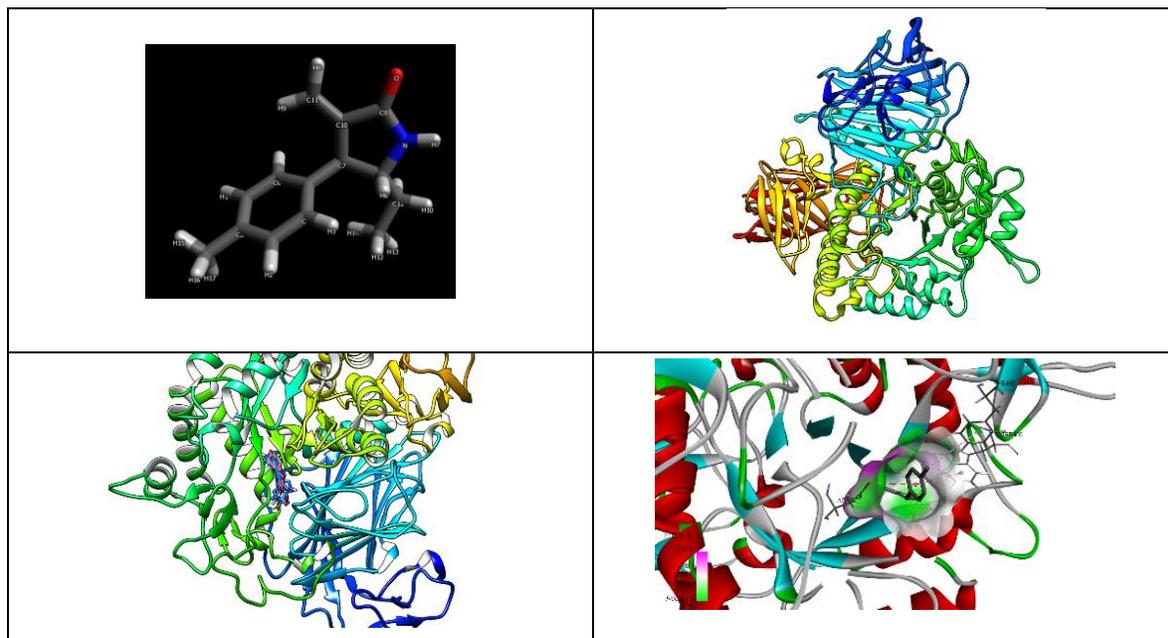


Figura 18. Docking molecular en Autodock Vina.

Una vez analizadas las cavidades en el sitio de unión de ACA y de las α -metileno- γ -lactamas. A continuación, se muestran los resultados obtenidos del docking molecular de **67a-g**. Para los cálculos de los compuestos **67a-g** solo se emplearon los confórmers de mínima energía, y finalmente para el análisis de los resultados se seleccionaron las poses de interés y sus respectivas energías de interacción (Tabla 24).

Tabla 24. Datos de score del docking realizado a los compuestos **67a-g**.

Compuesto	Score	
ACA	-5.1	
67a	-6.6 (<i>R</i>)	-6.7 (<i>S</i>)
67b	-5.7 (<i>R</i>)	-6.5 (<i>S</i>)
67c	-5.8 (<i>R</i>)	-6.0 (<i>S</i>)
67d	-6.2 (<i>R</i>)	-6.2 (<i>S</i>)
67e	-5.7 (<i>R,R</i>)	-5.3 (<i>R,S</i>)
	-5.7 (<i>S,S</i>)	-5.4 (<i>S,R</i>)
67f	-5.7 (<i>R,R</i>)	-6.0 (<i>R,S</i>)
	-5.7 (<i>S,S</i>)	-6.2 (<i>S,R</i>)
67g	-5.6 (<i>R,R</i>)	-5.7 (<i>R,S</i>)
	-5.9 (<i>S,S</i>)	-6.2 (<i>S,R</i>)

A continuación, en la Figura 19, se observa el compuesto **67c**, en el sitio de unión de la proteína 2QMJ, a) se observa el diagrama 3D de las interacciones del docking realizado al compuesto **67c**, mientras que en la parte b) se observan las interacciones en 2D.

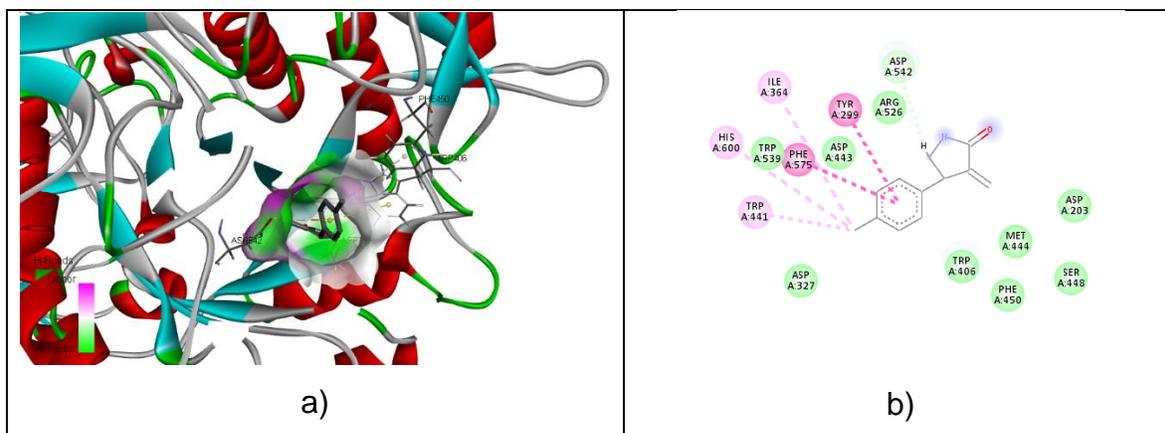


Figura 19. a) Diagrama 3D de las interacciones del docking realizado al compuesto **67c**. b) Diagrama 2D de las interacciones del docking realizado al compuesto **67c**.

Los resultados de los compuestos **67a-g** se observan en la siguiente tabla, con todas las interacciones relevantes en el sitio de unión (Tabla 25).

Tabla 25. Interacciones en el sitio de unión de los compuestos **67a-g**.

Compuesto	Aminoácidos del sitio activo 2QMJ
ACA	Asp 203, Tyr 299, Asp 327, Trp 441, Asp 443, Arg 526, Asp 542, Asp 571, Phe 575, His 600, Tyr 605.
67a	(R) Asp 203, Asp 542, Asp 443, Phe 575, Trp 539, His 600, Arg 526, Met 444, Trp 406. (S) Phe 575, Asp 443, Tyr 299, Met 444, Arg 526, Asp 542, Trp 406, Trp 441, His 600.
67b	(R) Asp 203, Met 444, Arg 526, Asp 542, His 600, Phe 575, Tyr 299, Trp 539, Trp 441, Asp 443, Ile 364, Asp 327, Ile 328, Trp 406. (S) Ile 364, Trp 441, Asp 443, His 600, Phe 575, Trp 539, Asp 542, Arg 526, Asp 203, Met 444, Tyr 299, Trp 406, Ile 328, Asp 327.
67c	(R) Met 444, Trp 406, Arg 526, Phe 575, Asp 542, Trp 539, Asp 443, His 600, Trp 441, Ile 364, Asp 327, Ile 328, Tyr 299, Asp 203. (S) His 600, Trp 539, Ile 364, Phe 575, Asp 443, Tyr 299, Arg 526, Asp 542, Asp 327, Trp 406, Met 444, Asp 203, Phe 450, Ser 448.
67d	(R) Asp 203, Asp 542, Trp 406, Arg 526, Met 444, Ile 328, Asp 327, Trp 539, Ile 364, Asp 443, Tyr 299, Phe 575, His 600, Trp 441. (S) Trp 406, Asp 203, Arg 526, Met 444, Ile 328, Asp 327, Ile 364, His 600, Asp 443, Tyr 299, Phe 575, Asp 542, Trp 539, Trp 441.
67e	(R,R) Gly 602, Gln 603, Phe 575, Tyr 299, Asp 542, Trp 539, His 600, Trp 441, Ile

	<p>364, Asp 327, Ile 328, Asp 203, Trp 406, Arg 526, Phe 450, Met 444. (S,S) Gln 603, Gly 602, Phe 575, Trp 539, Tyr 299, Trp 441, His 600, Ile 364, Asp 327, Asp 542, Asp 203, Trp 406, Arg 526, Phe 450, Met 444. (R,S) Ser 448, Asp 203, Phe 450, Met 444, Tyr 229, Phe 575, Asp 443, Trp 406, Arg 526, Asp 542. (S,R) Asp 203, Ser 448, Met 444, Trp 406, Tyr 299, Phe 575, Asp 443, Arg526, Asp 542.</p>
67f	<p>(R,R) Gln 603, Tyr 299, Phe 575, His 600, Ile 364, Ile 328, Trp 441, Asp327, Asp 443, Asp 542, Arg 526, Asp203, Met 444, Trp406, Phe 450. (S,S)Gln 603, Phe 575, Tyr 299, His 600, Ile 364, Trp 441, Asp 327, Asp 443, Asp 542, Arg 526, Asp 203, Met 444, Trp 406, Phe 450. (R,S) Ser 448, Phe 450, Asp 203, Asp 542, Ala 576, Ile 364, Met 444, Trp 406, Trp 441, Tyr 299, Asp 327, Asp 443, His 600, Arg 526, Phe 575, Trp 539. (S,R) Phe 450, Ser 448, Met 444, Asp 203, Tyr 299, Trp 406, His 600, Arg 526, Ile 364, Ile 328, Trp 441, Asp 443, Asp 327, Trp 539, Asp 542, Gln 603.</p>
67g	<p>(R,R) Asp 542, Phe 575, Tyr 299, Ile 328, Asp 327, Ile 364, His 600, Trp 406, Arg 526, Asp 443, Met 444, Asp 203, , Ser 448, Phe 450. (S,S) Ala 576, Asp 542, Asp 203, Phe 450, Met 444, Ser 448, Trp 441, Trp 406, Tyr 299, Ile 364. His 600, Asp 443, Trp 539, Asp 327, Arg 526, Phe 575. (R,S) Ser 448, Phe 450, Asp 203, Met 444, Asp 542, Trp 406, Arg 526, Tyr 299, Asp 443, His 600, Ile 364, Trp 539, Trp 441, Asp 327, Phe 575, Gln 603. (S,R) Ser 448, Phe 450, Asp 203, Met, 444, Asp 542, Trp 406, Arg 526, Tyr 299, Asp 443, Ile 364, Trp 539, His 600, Trp 327, Phe 575, Gln 603.</p>

Los resultados obtenidos del docking de las α -metilen- γ -lactamas **67a-g** fueron los siguientes, el compuestos **67a** presentó interacción con **Asp 203**, **Tyr 299**, **Trp 441**, **Asp 443**, **Arg 526**, **Asp 542**, **Phe 575**, **His 600**, con un 72% de similitud en comparación con ACA, el compuesto **67b** presentó interacción con **Asp 203**, **Arg 526**, **Asp 542**, **His 600**, **Phe 575**, **Tyr 299**, **Trp 441**, **Asp 443**, **Asp 327** (81%), el compuestos **67c** presentó interacción con **Arg 526**, **Phe 575**, **Asp 542**, **Asp 443**, **His 600**, **Trp 441**, **Asp 327**, **Tyr 299**, **Asp 203** (81%), el compuesto **67d** presentó interacción con **Asp 203**, **Asp 542**, **Arg 526**, **Asp, 327**, **Asp 443**, **Tyr 299**, **Phe 575**, **His 600**, **Trp 441** (81%), el compuesto **67e** presentó interacción con **Phe 575**, **Tyr 299**, **Asp 542**, **His 600**, **Trp 441**, **Asp 327**, **Asp 203**, **Arg 526**. el compuesto **67f** presentó interacción con **Tyr 299**, **Phe 575**, **His 600**, **Trp 441**, **Asp327**, **Asp 443**, **Asp 542**, **Arg 526**, **Asp203** (81%) y el compuesto **67g** presentó interacción con **Asp 203**, **Asp 542**, **Arg 526**, **Tyr 299**, **Asp 443**, **His 600**, **Trp 441**, **Asp 327**, **Phe 575** (81%), resultados se obtuvieron con los ligandos **67a-g**, son de gran utilidad para realizar ensayos *in vitro* de carácter exploratorio sobre este tipo de inhibidores enzimáticos (Figura 20).

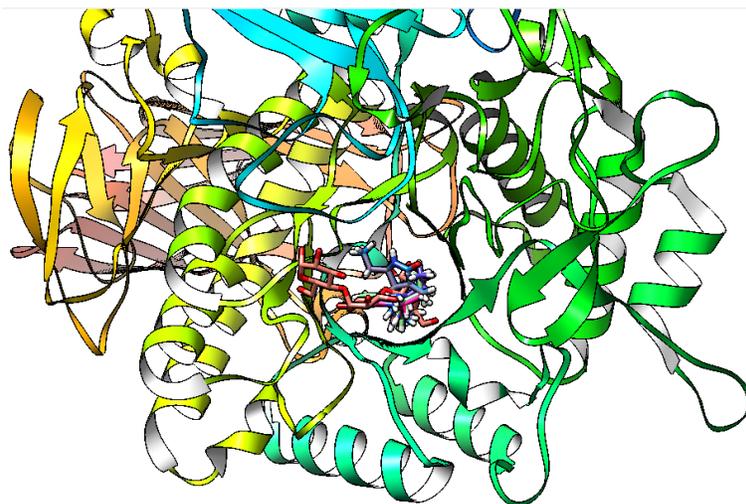


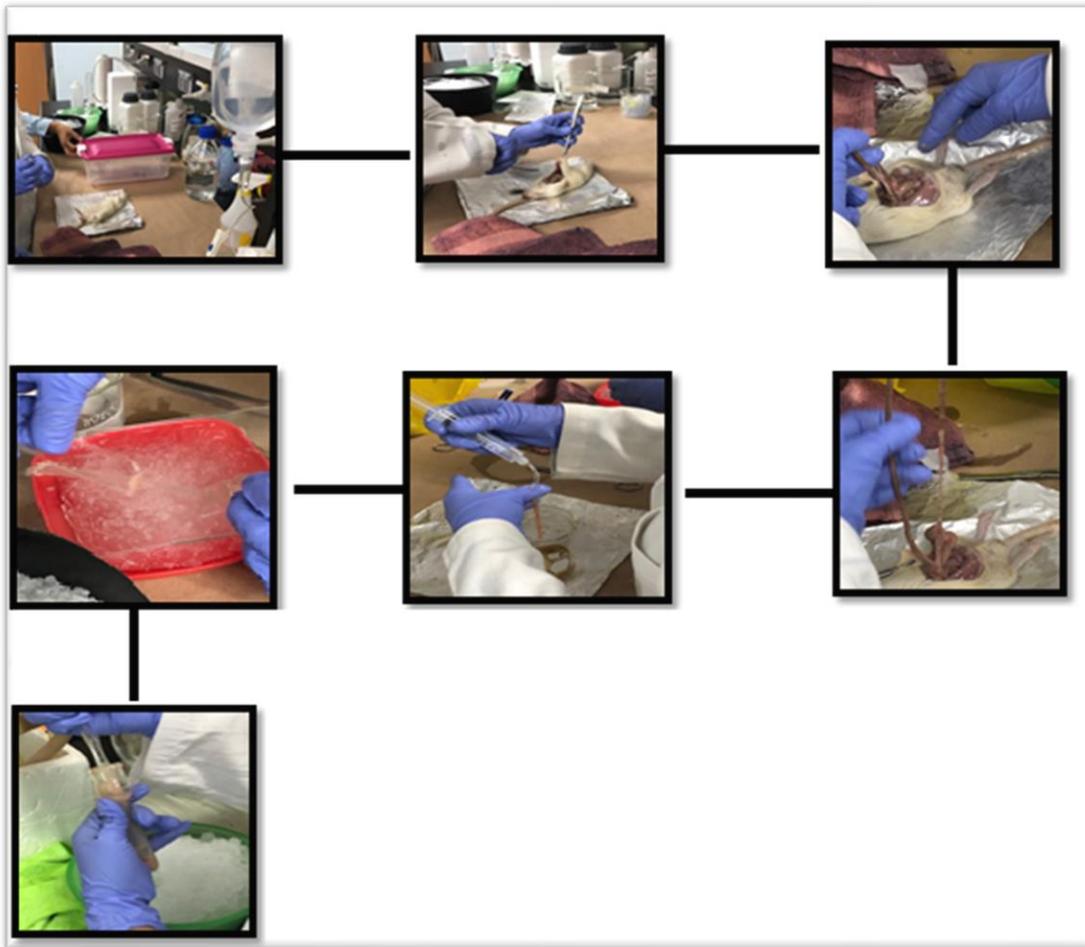
Figura 20. Proteína 2QMJ con las α -metilen- γ -lactamas **67a-g**.

Debido a los resultados obtenidos anteriormente, se decidió realizar algunos experimentos *in vitro* sobre la inhibición α -glucosidasas, estos resultados se realizaron en colaboración con la Dra. Angelica Berenice Aguilar del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ), tomando en cuenta que las α -glucosidasas actúan inhibiendo maltasas, sacarosas, dextrinasas, glucoamilasas, presentes en las vellosidades intestinales, que son las enzimas que actúan en el desdoblamiento de la sacarosa, maltosa y otros oligosacáridos en monosacáridos como la glucosa, fructosa, galactosa. El resultado de la inhibición de estas enzimas es una demora en la digestión de los hidratos de carbono con reducción de los picos glucémicos.

Por lo que en este experimento se decidió evaluar la actividad inhibitoria sobre las enzimas α -glucosidasas intestinales de ratón de los compuestos **67a-g** a una concentración exploratoria, utilizando Acarbosa (1000 μ M) como referencia que es un inhibidor de la α -glucosidasas, una enzima entérica que libera la glucosa a partir de hidratos de carbono complejos.

Para este experimento se utilizaron ratones, los cuales fueron sacrificados por dislocación cervical y posteriormente se realizó una incisión abdominal. Se removió cuidadosamente el intestino delgado y se lavó varias veces con una solución de NaCl al 0.9% en una solución tampón de fosfato de sodio 10 mM (pH 7.0) y Ampicilina (1 mg/mL). Posteriormente, se aisló el tejido adiposo, y al tejido libre de grasa se le realizó un corte longitudinal. A continuación, sobre una

superficie de cristal, en un baño de hielo, se raspó el intestino para lograr obtener la mucosa intestinal (Esquema 14).

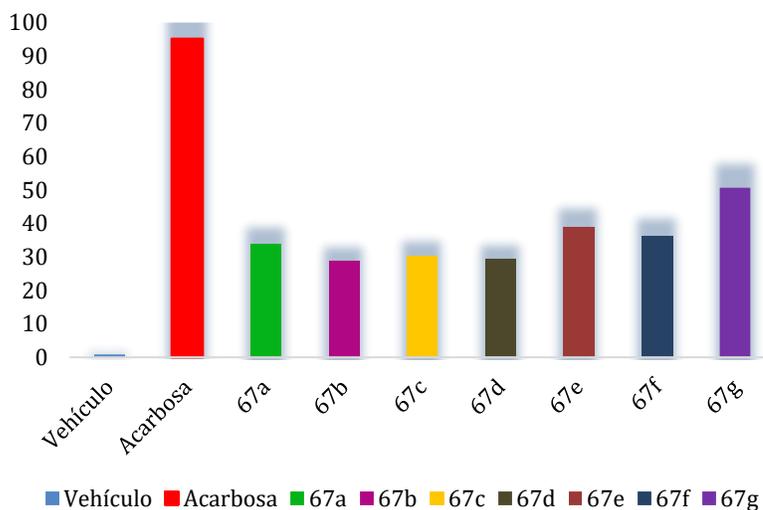


Esquema 14. Representación gráfica para la obtención de las α -glucosidasas intestinales de ratón.

Para medir la actividad enzimática se utilizó almidón de maíz como sustrato (12.5 mg/mL) en una solución tampón de fosfatos 10 μ M (pH 7.0). De este modo, se efectuaron reacciones por cuadruplicado, adicionando 100 μ L de sustrato, 60 μ L de la solución tampón y 25 μ L de las muestras de prueba; las reacciones fueron iniciadas con la adición de 50 μ L de enzima, incubando cada tubo en un termoblock a 37 °C durante 10 minutos a 450 rpm. La determinación de glucosa liberada fue cuantificada mediante un kit comercial de glucosa oxidasa (GOD-POD, SpinReact). Los datos obtenidos fueron analizados y se muestran en la Gráfica 1, observando que todos los compuestos evaluados, ejercen un efecto inhibitorio sobre las enzimas al ser comparados con el vehículo, siendo

estadísticamente significativo el efecto mostrado por los compuestos **67a** ($33.909 \pm 0.731\%$), **67b** ($28.797 \pm 2.411\%$), **67c** ($30.309 \pm 1.130\%$), **67d** ($29.373 \pm 2.878\%$), **67e** ($38.876 \pm 1.608\%$), **67g** ($36.357 \pm 1.210\%$), **67f** ($50.684 \pm 1.667\%$) y **67g** ($50.684 \pm 1.667\%$), sin embargo, presentan una potencia regular al ser comparados con el fármaco de referencia ($95.203 \pm 2.786\%$).

Actividad inhibitoria de las α -metilen- γ -lactamas sobre α -glucosidasas.



Grafica 1. Actividad inhibitoria **67a** ($33.909 \pm 0.731\%$), **67b** ($28.797 \pm 2.411\%$), **67c** ($30.309 \pm 1.130\%$), **67d** ($29.373 \pm 2.878\%$), **67e** ($38.876 \pm 1.608\%$), **67f** ($36.357 \pm 1.210\%$), **67g** ($50.684 \pm 1.667\%$), **Acarbosa** ($95.203 \pm 2.786\%$) [1 mM] sobre las α -glucosidasas. Cada grupo representa el promedio \pm SEM de n=6, ***p<0.05 vs vehículo.

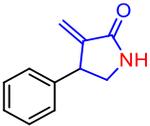
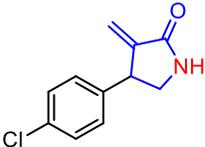
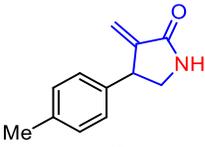
En colaboración con la Dra. Gabriela María Ávila Villarreal de la Universidad de Nayarit (UAN), se realizó otro experimento sobre el estudio de la actividad antimicrobiana, estos resultados *in vitro* mejor conocidos como bioensayos de susceptibilidad antimicrobiana, son técnicas esenciales en la búsqueda de actividades biológicas de nuevos compuestos. Dentro de los principales métodos de evaluación preliminar de la actividad antimicrobiana se encuentran los métodos de difusión en disco y difusión del pozo en agar, mediante los cuales se determina en forma cualitativa el efecto antimicrobiano de los compuestos sobre los microorganismos de interés, los resultados obtenidos se expresan midiendo el diámetro de los halos de inhibición producido por los extractos. Por otro lado, los métodos de dilución son apropiados para la determinación cuantitativa de la actividad antimicrobiana, la técnica más utilizada es la denominada concentración mínima inhibitoria (CMI), con la cual se define la concentración mínima capaz de

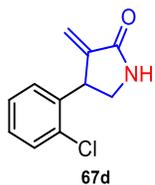
inhibir el crecimiento visible del microorganismo. Esta técnica puede ser mejorada con la ayuda de indicadores REDOX, que son utilizados generalmente para la determinación del crecimiento/viabilidad microbiana. Una vez que se ha establecido de forma cualitativa y cuantitativa el efecto antimicrobiano de los compuestos, es conveniente determinar al compuesto responsable de dicha actividad.

En este caso se estudiaron las α -metilen- γ -lactamas por difusión en disco y se evaluaron en concentraciones conocidas de 0.25 mg/mL, 0.5 mg/mL y 1.0 mg/mL, de las muestras de **67a**, **67b**, **67c**, **67d**, frente a las cepas *Pseudomona aeruginosa* derivada de ATCC 10145TM, *Eschericha coli* ATCC 8739TM y *Staphylococcus aureus* derivada de ATCC BAA-1026TM marca Microbiologics®. A continuación, se muestran las tablas de los resultados obtenidos.

En la Tabla 26, Se muestran la evaluación antimicrobiana utilizando las bacterias *Staphylococcus aureus* derivada de ATCC BAA-1026TM utilizando las α -metilen- γ -lactamas y observamos que a las concentraciones de 0.25 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL las bacterias logran tener resistencia, utilizando como referencia el Ciprofloxacino como control positivo.

Tabla 26. Resultados obtenidos por el método de difusión en disco frente a *Staphylococcus aureus* derivada de ATCC BAA-1026TM.

Compuesto	Conc. 0.25 mg/mL	Conc. 0.5 mg/mL	Conc. 1.0 mg/mL	Ciprofloxacino Control positivo
 67a	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible
 67b	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible
 67c	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible



Resistente

Resistente

Resistente

Sensible

Nota. El experimento se realizó por triplicado para cada muestra y se utilizaron como control negativo DMSO y agua.

Debido a los resultados anteriores, se decidió evaluar las α -metilen- γ -lactamas concentraciones más altas 1.0 mg/mL, 2.0 mg/mL, 4.0 mg/mL y 8.0 mg/mL para lograr obtener algún efecto inhibitorio en la siguiente Tabla 27, se muestra la evaluación antimicrobiana utilizando las bacterias *Pseudomona aeruginosa* derivada de ATCC 10145TM, y observamos que las bacterias lograron tener resistencia (Figura 21).

Tabla 27. Resultados obtenidos de actividad antibacteriana frente a *Pseudomona aeruginosa* derivada de ATCC 10145TM.

Compuesto	Conc. 8 mg/mL	Conc. 4 mg/mL	Conc. 2 mg/mL	Conc. 1mg/mL	Ciprofloxacino control +
<p>67a</p>	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible
	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible
	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible
	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	Sensible

Nota. El experimento se realizó por triplicado para cada muestra y se utilizaron como control negativo DMSO y agua.

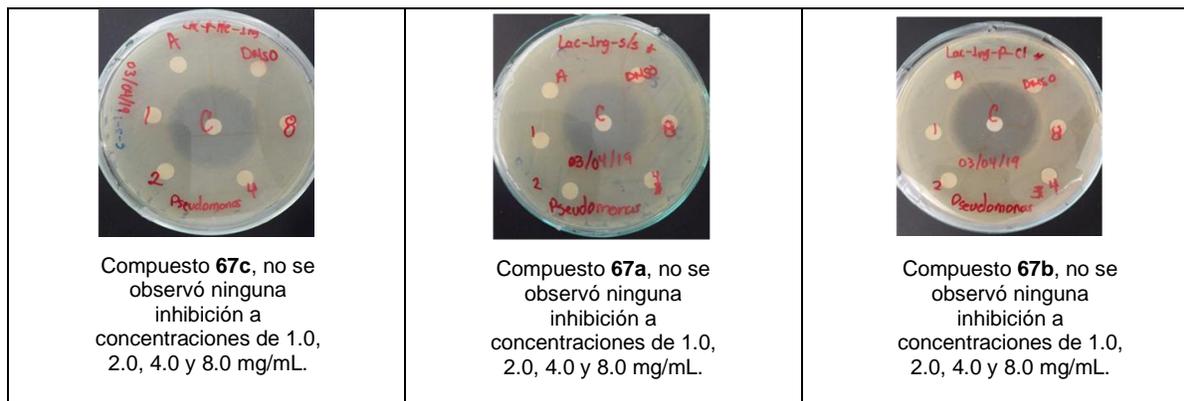


Figura 21. Imágenes de aros de inhibición de las α -metilen- γ -lactamas.

Los resultados en general de la actividad antimicrobiana de las α -metilen- γ -lactamas **67a-d**, indicaron que ninguna presentó efecto inhibitorio para este tipo de bacterias, sin embargo, queda como precedente para el estudio de nuevas actividades biológicas para este tipo de compuestos.

En colaboración con la Dra. Angelica Berenice Aguilar Guadarrama del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ), se evaluó la actividad antiinflamatoria de las α -metilen- γ -lactamas mediante un modelo murino de inducción de edema auricular con TPA (acetato de 12-O-tetraecanoil-forbol), a una dosis de 10 μ g/oreja, utilizando Indometacina como control positivo. Se utilizaron ratones macho de la cepa CD-1 (20-25 g, 8-12 semanas de edad), obtenidos de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Previo al inicio del experimento, los animales fueron separados aleatoriamente en 5 grupos de experimentación, con 5 ratones cada uno (Grupo 1: *Vehículo*; Grupo 2: *Indometacina*; Grupo 3: **67c**; Grupo 4: **67f**; Grupo 5: **67b**). Todos fueron anestesiados con 3.0 μ L de pentobarbital. Para la inducción del edema se empleó una solución de TPA (2.5 mg) disuelto en etanol (10 mL), el cual induce una respuesta inflamatoria caracterizada por edema e hiperplasia epidérmica, signos asociados a un incremento de eicosanoides (PGE2 y LTB4) mediante diferentes mecanismos, como la activación de la proteína cinasa C, la fosfolipasa A2, la inducción de la ciclooxigenasa y la traslocación o activación de la lipoxigenasa.

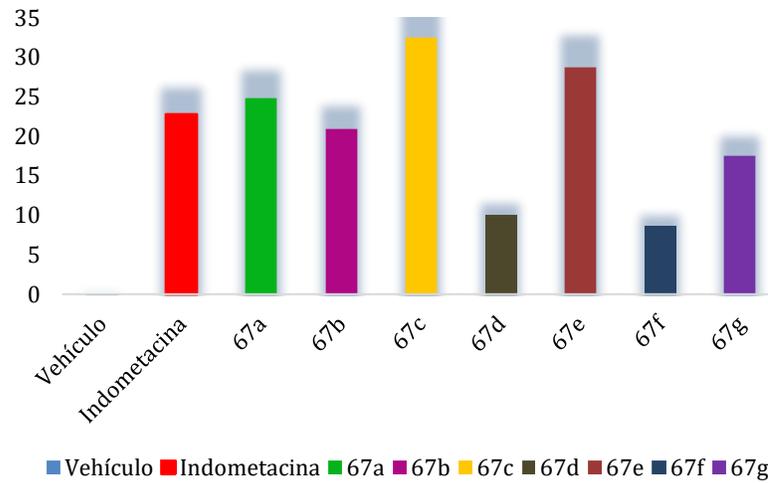
A todos los grupos se les administró tópicamente 10 μ L de TPA en ambos lados de la oreja derecha (5 μ L/lado). Transcurridos 10 min, se administraron las muestras de prueba, disueltas en una solución 9:1 H₂O:DMSO. El grupo 1 fue administrado con la solución H₂O/DMSO, mientras que al grupo 2 se le administró indometacina (10 μ g/oreja). En todos los casos, la oreja izquierda fue tratada con vehículo. Finalmente, 4 h después del tratamiento, los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical, removiendo círculos de 6 mm de diámetro de cada una de las orejas. Se determinó el peso de cada uno de los cortes auriculares para determinar el porcentaje de inhibición de edema, mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición de edema} = \frac{\Delta W_c - \Delta W_e}{\Delta W_c} \times 100$$

El análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó mediante un ANOVA de una vía, seguido de una prueba de Dunnett para determinar diferencias estadísticamente significativas al comparar todos los grupos con el vehículo; utilizando el programa GraphPad Prism, Versión 5.0.

Los resultados obtenidos se muestran en la Gráfica 2, en donde las α -metilen- γ -lactamas tuvieron una actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa al compararlo con el vehículo los compuestos **67a** (24.81%), **67c** (32.42%), **67e** (28.73) mostraron una eficacia mayor que la mostrada por la Indometacina (22.81%), evaluada a la misma dosis. Por otro lado, **67b** (20.89%) y **67g** (17.45%) mostraron una eficacia similar a la Indometacina.

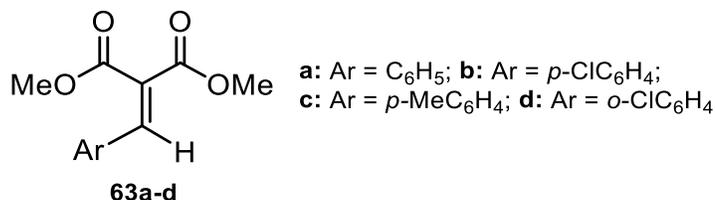
Actividad antiinflamatoria de las α -metilen- γ -lactamas.



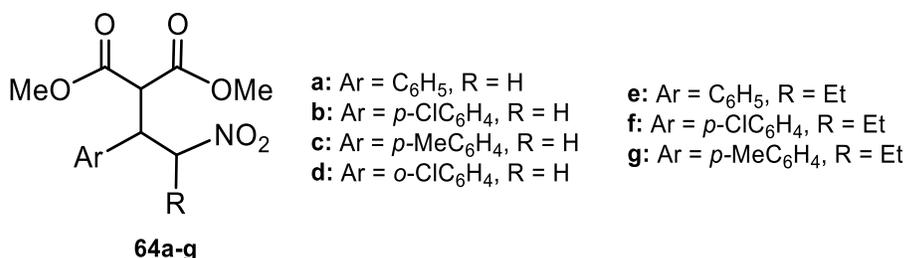
Grafica 2. Porcentaje de inhibición en edema **67a** ($24.81 \pm 1.11\%$), **67b** (20.89 ± 7.56), **67c** ($32.42 \pm 5.97\%$), **67d** ($10.05 \pm 1.06\%$), **67e** ($28.73 \pm 1.71\%$), **67f** ($8.67 \pm 0.79\%$), **67g** ($17.45 \pm 5.21\%$), Indometacina ($22.81 \pm 5.29\%$). Dosis: 10 mg/oreja. Cada grupo representa el promedio \pm SEM de $n=5$, $*p<0.05$ vs vehículo.

6. Conclusiones

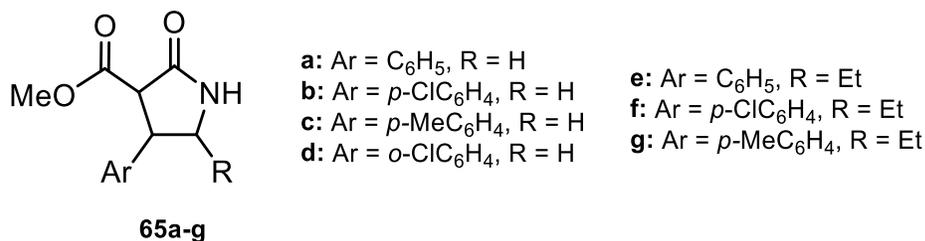
- Se logró preparar los arilidenmalonatos **63a-d** a través de la reacción de condensación de Knoevenagel.



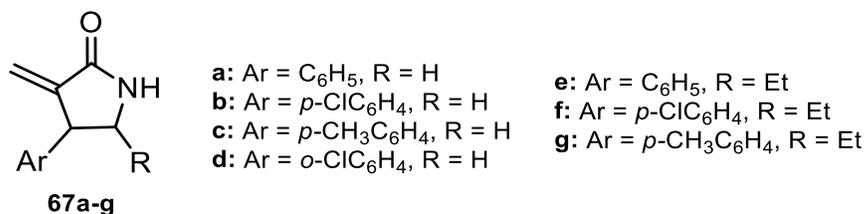
- Se logró obtener los nitroderivados **64a-g** mediante una adición 1,4 a arilidenmalonatos.



- Se logró sintetizar las α -carbometoxi- γ -lactamas β -aril y β - γ -disustituidas **65a-g**.

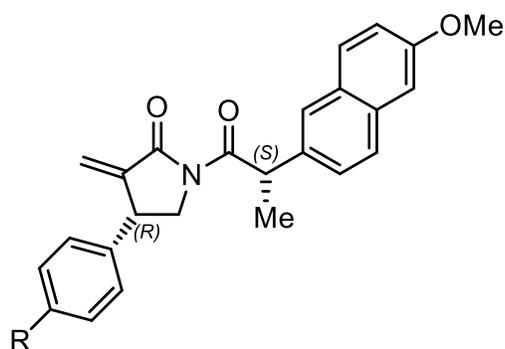


- Se logró preparar las α -metileno- γ -lactamas β -aril y β - γ -disustituidas **67a-g**, mediante la reducción del grupo carbometoxi y la posterior activación del alcohol correspondiente y su reacción de eliminación.

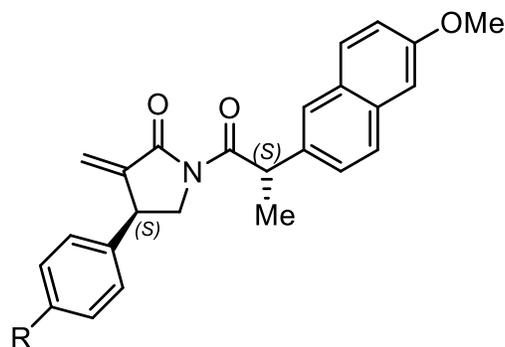


- Se logró la separación diastereoisomérica de dos α -metileno- γ -lactamas **67a** y **67c** utilizando el (S)-(+)-2-(6-metoxi-2-naftil) propiónico [(S)-

naproxeno], como agente de resolución.

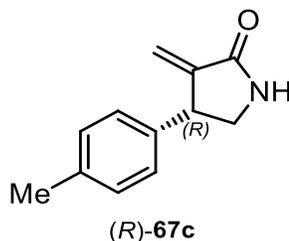


(*R,S*)-**67a**, R = H
(*R,S*)-**67c**, R = Me

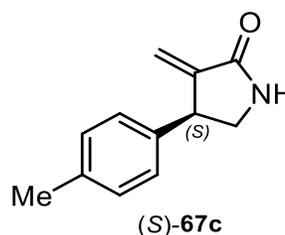


(*S,S*)-**67a**, R = H
(*S,S*)-**67c**, R = Me

- Se logró obtener las α -metilen- γ -lactamas (*R*)-**67c** y (*S*)-**67c**.



(*R*)-**67c**



(*S*)-**67c**

- El docking molecular de las α -metilen- γ -lactamas **67a-g** con el programa computacional DIA-DB, indicó que los aminoácidos **Asp 203**, **Tyr 299**, **Arg 526**, **Asp 542** y **Phe 575** presentan interacciones en el sitio activo de la proteína Maltasa- glucoamilasa intestinal (MGAM) teniendo una similitud del 33 al 50% con Acarbosa para la inhibición de α -glucosidasas.
- El docking molecular de las α -metilen- γ -lactamas **67a-g** con el programa computacional Auto Dock Vina, indicó que los aminoácidos **Asp 203**, **Asp 542**, **Arg 526**, **Tyr 299**, **Asp 443**, **His 600**, **Trp 441**, **Asp 327**, **Phe 575** tienen una similitud del 72 al 81% con Acarbosa para la inhibición de α -glucosidasas.
- Los resultados de los ensayos para la inhibición de α -glucosidasas para los compuestos fueron, **67a** (33.9%), **67b** (28.7%), **67c** (30.3%), **67d** (29.3%), **67e** (38.8%), **67g** (36.3%), **67f** (50.6%) y **67g** (50.6%) teniendo una potencia regular con Acarbosa (95%).
- Los ensayos realizados de actividad antimicrobiana dieron como resultado que los compuestos **67a-d** no tuvieron actividad contra las cepas *Pseudomona*

aeruginosa, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

- Los resultados de los ensayos de actividad antiinflamatoria realizado a las α -metilen- γ -lactamas **67a**, **67c** y **67e** tuvieron una actividad de 24.81%, 32.42% y 28.73% mostrando una eficacia mayor que la Indometacina con 22.81%.
- Las α -metilen- γ -lactamas **67b** y **67g**, tuvieron una eficacia similar de 20.89% y 17.45% a la Indometacina 22.81%.

7. Parte experimental

Información general.

En este trabajo para la preparación y purificación de los compuestos sintetizados se utilizaron reactivos y materiales del proveedor Sigma-Aldrich sin purificación. Los productos obtenidos se determinaron por cromatografía de capa fina (CCF) en placas recubiertas con sílice gel 60 (Merck-F₂₅₄), la visualización de los compuestos se observó con una lámpara ultravioleta a longitudes de onda de 254/365 nm, la purificación de estos compuestos se realizó por cromatografía en columna utilizando sílice gel Merk 60 (0.063-0.200 mm), utilizando como eluyente mezcla de disolventes hexano-AcOEt ó DCM-MeOH dependiendo la polaridad de los compuestos, además se utilizó un equipo de microondas marca CEM modelo Discover para algunas reacciones.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN ¹H) y carbono (RMN ¹³C) se determinaron de los equipos de la marca Bruker Avance II Ultrashield Plus 600 (600 MHz para ¹H, 151 MHz para ¹³C), Bruker Avance III HD 500 (500 MHz para ¹H y 125 para ¹³C), Varian Mercury Plus 400 (400 MHz para ¹H y 100 MHz para ¹³C) y Varian Gemini 200 (200 MHz para ¹H, 50 MHz para ¹³C), usando como referencia interna tetrametilsilano (TMS) y diferentes disolventes como cloroformo deuterado (CDCl₃), metanol deuterado (CD₃OD) ó dimetil sulfóxido deuterado (DMSO-d₆).

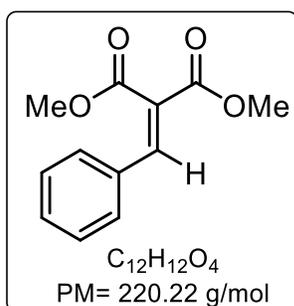
La espectrometría de masas (EM) fue adquirida en el espectrómetro de masas de alta resolución JMS-700-JEOL con las técnicas de Ionización Electrónica (EI), y Bombardeo Rápido con Átomos (FAB⁺).

La adquisición de los espectros de espectroscopía de absorción infrarroja (FT-IR) se utilizó un equipo de espectrómetro FT-IR de la marca Perkin Elmer, modelo spectrum one, y las frecuencias de las vibraciones se reportan en cm⁻¹. Los puntos de fusión (p.f.) fueron determinados por un aparato marca Fisher Johns y han sido descritos sin corrección.

7.1 Procedimiento general para la preparación de los arilidenmalonatos **63a-d**.

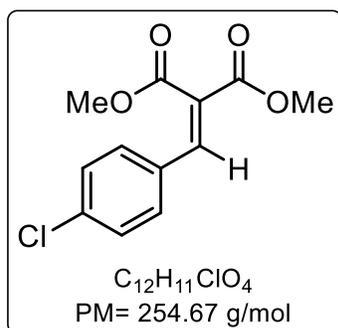
En un matraz redondo de 50 mL, equipado con un agitador magnético y una trampa de Dean-Stark en posición de reflujo, se colocó (1.0 mmol) el malonato de dimetilo, 25 mL de tolueno, (1.0 mmol) aldehído, y (0.22 mmol) piperidina. Posteriormente, la mezcla de reacción se calentó a reflujo de 24-48 h. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina (CCF). Al finalizar el tiempo de reacción, el disolvente se evaporó en un rotaevaporador a presión reducida hasta sequedad. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna empleando como eluyente una mezcla de hexano-AcOEt (90:10).

7.1.1 Preparación del 2-bencilidenmalonato de dimetilo. (**63a**)



Siguiendo el procedimiento general, se hicieron reaccionar durante 24 h, 3.0 g, 2.78 mL (22.7 mmol) de malonato de dimetilo, 2.41 g, 2.31 mL (22.7 mmol) de benzaldehído y 0.22 mL (2.27 mmol) de piperidina en 25 mL de tolueno. El crudo de la reacción se purificó por cromatografía en columna, obteniendo (4.5 g, 90%) del compuesto **63a** como un líquido amarillo. **IR** ν_{max} : 2949, 1717, 1620, 1432, 1266, 1200, 767, 720 cm^{-1} . **1H RMN** (200 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 3.85 (s, 6H), 7.37- 7.43 (m, 5H), 7.78 (s, 1H). **^{13}C RMN** (50 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 52.6 (2C), 128.8, 129.3 (2C), 130.6 (2C), 132.7, 142.9, 164.4, 167.0. **HRMS** (Cl^+) Calculada para $C_{12}H_{12}O_4$ $[M+H]^+$: 221.0813 Observada $[M+H]^+$: 221.0799.

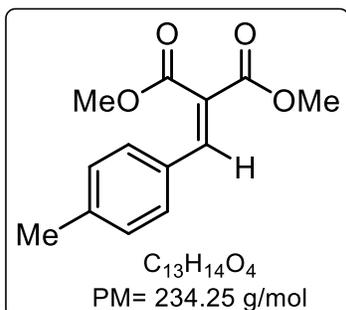
7.1.2 Preparación del 2-(4-Clorobenciliden)malonato de dimetilo. (**63b**)



Siguiendo el procedimiento general, se hicieron reaccionar durante 48 h, 3.0 g, 2.78 mL (22.7 mmol) de malonato de dimetilo, 3.19 g (22.7 mmol) de 4-clorobenzaldehído y 0.22 mL (2.27 mmol) de piperidina en 25 mL de tolueno. El crudo de la reacción se purificó por cromatografía en columna, obteniendo (5.24 g, 92%) del compuesto **63b** como un líquido amarillo. **IR** ν_{max} : 2962, 1730, 1716, 1629, 1493, 1222, 1197, 762, 727 cm^{-1} . **1H RMN** (400 MHz,

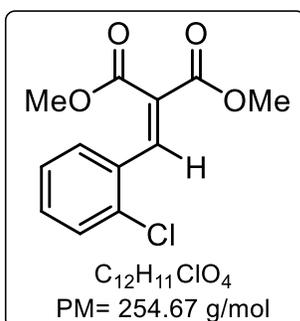
CDCl₃): δ (ppm) 3.85 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 7.36 (s, 4H), 7.72 (s, 1H). ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 52.7 (2C), 125.9, 129.1 (2C), 130.5 (2C), 131.2, 136.9, 141.4, 164.2, 166.8. HRMS (FAB⁺) Calculada para C₁₂H₁₁O₄Cl [M+H]⁺: 255.0424 Observada [M+H]⁺: 255.0409.

7.1.3 Preparación del 2-(4-metilbenciliden)malonato de dimetilo. (63c)



Si siguiendo el procedimiento general, se hicieron reaccionar durante 24 h, 3.0 g, 2.78 mL (22.7 mmol) de malonato de dimetilo, 2.72 g, 2.67 mL (22.7 mmol) del 4-metilbenzaldehído y 0.22 mL (2.27 mmol) de piperidina en 25 mL de tolueno. El crudo de la reacción se purificó por cromatografía en columna, obteniendo (4.62 g, 87%) del compuesto **63c** como un sólido blanco, p.f.= 65-66 °C. IR ν_{\max} : 2964, 1735, 1716, 1626, 1439, 1216, 1204, 712 cm⁻¹. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 2.37 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 7.17 - 7.33 (m, 4H), 7.75 (s, 1H). ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 21.4, 52.6 (2C), 124.3, 129.4 (2C), 129.6 (2C), 141.3, 142.9, 164.6, 167.3. HRMS (CI⁺) Calculada para C₁₃H₁₄O₄ [M+H]⁺: 235.0970 Observada [M+H]⁺: 235.0928.

7.1.4 Preparación del 2-(2-clorobenciliden)malonato de dimetilo. (63d)



Si siguiendo el procedimiento general, se hicieron reaccionar durante 48 h, 3.0 g, 2.78 mL (22.7 mmol) de malonato de dimetilo, 3.19 g, (22.7 mmol) del 2-clorobenzaldehído y 0.22 mL (2.27 mmol) de piperidina en 25 mL de tolueno. El crudo de la reacción se purificó por cromatografía en columna, obteniendo (5.01 g, 88%) del compuesto **63d** como un líquido amarillo. IR ν_{\max} : 2962, 1730, 1716, 1629, 1493, 1222, 1197, 762, 727 cm⁻¹. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 3.85 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 7.36 (s, 4H), 7.72 (s, 1H). ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 52.7 (2C), 125.9, 129.1(2C), 130.5 (2C), 131.2, 136.9, 141.4, 164.2, 166.8. HRMS (FAB⁺) Calculada para C₁₂H₁₁O₄Cl [M+H]⁺: 255.0424 Observada [M+H]⁺: 255.0437.

7.2 Procedimiento general para la preparación de los γ -nitroésteres

64a-g.

Procedimiento A.

En un matraz redondo de 50 ml, provisto con un agitador magnético, se pesó (1.0 mmol) del arilidenmalonato, luego se adicionó 25 mL de tolueno como disolvente, seguido de (5 mmol) de nitroalcano y (1.7 mmol) carbonato de potasio. La mezcla se mantuvo en agitación de 24-48 h, a temperatura ambiente, al finalizar el tiempo de reacción se agregó agua destilada y se procedió a realizar extracciones con acetato de etilo (3 X 30 mL), se extrajo la fase orgánica y se trató con sulfato de sodio anhidro para eliminar la humedad y se filtró. Posteriormente, se eliminó el disolvente en un rotaevaporador con presión reducida, finalmente el crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando hexano-AcOEt (70:33).

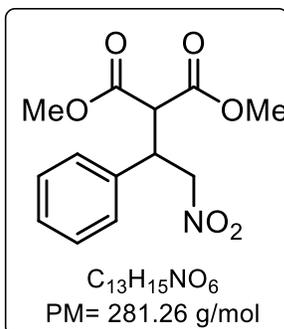
Procedimiento B.

En una ampolleta provista con un agitador magnético, se pesó (1 mmol) del arilidenmalonato, luego se agregó (5 mmol) del 1-nitropropano y la mezcla de reacción se dejó enfriar a 0 °C. Después se adicionó (0.1 mmol) de DBU y continuó la reacción por 5 minutos más. Una vez que la mezcla estuvo homogénea se llevó a temperatura ambiente y se introdujo en el equipo de microondas utilizando unas condiciones de reacción de 80 °C y 50 Watts de potencia durante 5 minutos. Al final de la reacción el crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna hexano-AcOEt (70:30).

Procedimiento C.

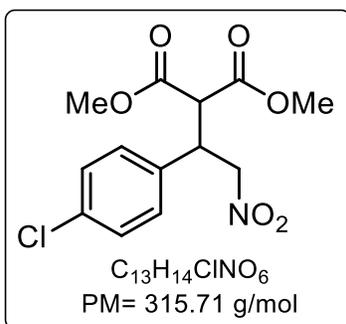
En una ampolleta provista con un agitador magnético, se pesó (1 mmol) del arilidenmalonato, luego se agregó (3 mmol) del nitrometano y la mezcla de reacción se dejó enfriar a 0 °C. Después se adicionó (0.05 mmol) de DBU y continuó la reacción por 5 minutos más. Una vez que la mezcla estuvo homogénea se llevó a temperatura ambiente y se introdujo en el equipo de microondas utilizando unas condiciones de reacción de 30 °C y 50 Watts de potencia durante 5 minutos. Al final de la reacción el crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna hexano-AcOEt (70:30).

7.2.1 Preparación del 2-(2-nitro-1-feniletil)malonato de dimetilo. (64a)



Siguiendo el procedimiento A, se pesó (3.0 g, 13.62 mmol) del 2-bencilidenmalonato de dimetilo **63a**, enseguida se adicionaron 25 mL de tolueno, luego se agregó (4.20 mL, 68.11 mmol) del nitrometano y finalmente se incorporó (3.19 g, 23.12 mmol) del carbonato de potasio la mezcla de reacción se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 48 h. Después de purificar por cromatografía en columna utilizando un sistema de elución hexano-AcOEt (70:30), se obtuvo el compuesto **64a** como un sólido amarillo con un rendimiento del 65% (2.48 g) y p.f.= 47-49 °C. **IR** ν_{max} : 2953, 1731, 1549, 1241, 1174, 706 cm^{-1} . **¹H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 3.56 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.87 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 4.25 (m, 1H), 4.88 (dd, $J = 13.2$ y 8.8 Hz, 1H), 4.93 (dd, $J = 13.2$ y 5.3 Hz, 1H) 7.30-7.50 (m, 5H). **¹³C RMN** (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 42.9, 52.8, 52.9, 54.7, 77.3, 127.8, 128.4 (2C), 129.0 (2C), 136.1, 167.2, 167.8. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $C_{13}H_{15}O_6N$ [M+H]⁺: 282.0977 Observada [M+H]⁺: 282.1022.

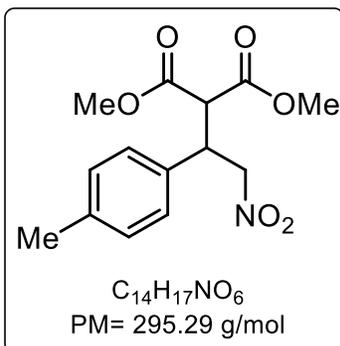
7.2.2 Preparación del 2-(2-nitro-1-(4-clorofenil)etil)malonato de dimetilo. (64b)



Siguiendo el procedimiento A, se pesó (3.0 g, 11.8 mmol) del 2-(4-clorobenciliden)malonato de dimetilo **63b**, enseguida se le adicionaron 25 mL de tolueno como disolvente, luego se agregó (3.15 mL, 59.0 mmol) del nitrometano y finalmente (2.77 g, 20.0 mmol) del carbonato de potasio la mezcla de reacción se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 48 h. Después de purificar por cromatografía en columna utilizando un sistema de elución hexano-AcOEt (70:30) se obtuvo, el compuesto **64b** como un sólido amarillo con un rendimiento del 85% (3.15 g) y p.f.= 56-58 °C. **IR** ν_{max} : 2957, 1746, 1551, 1258, 1109, 704 cm^{-1} . **¹H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 3.59 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.83 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 4.23 (m, 1H), 4.84 (dd, $J = 13.3$ y 9.1 Hz, 1H), 4.91 (dd, $J = 13.3$ y 5.0 Hz, 1H), 7.17-7.31 (m, 4H). **¹³C RMN** (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 42.9, 52.9 (2C), 53.1, 54.4, 77.1, 129.2 (2C), 134.3 (2C), 134.6, 167.0, 167.5. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $C_{13}H_{14}O_6NCl$ [M+H]⁺: 316.0588 Observada

[M+H]⁺: 316.0583.

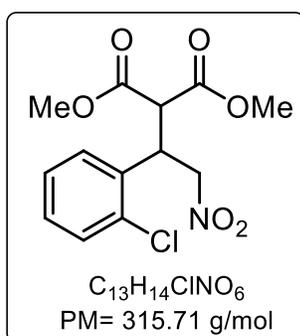
7.2.3 Preparación del 2-(2-nitro-1-(*p*-tolil)etil)malonato de dimetilo. (64c)



Siguiendo el procedimiento A, se pesó (3.0 g, 12.80 mmol) del 2-(4-metilbenciliden)malonato de dimetilo **63c**, enseguida adicionaron 25 mL de tolueno como disolvente, luego se agregó (3.42 mL, 64.0 mmol) del nitrometano y finalmente (3.0 g, 21.76 mmol) del carbonato de potasio la mezcla de reacción se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 24 h.

Después de purificar por cromatografía en columna utilizando un sistema de elución hexano-AcOEt (70:30) se obtuvo, el compuesto **64c** como un sólido amarillo con un rendimiento del 71% (2.68 g) y p.f.= 63-65 °C. **IR** ν_{max} : 2954, 1737, 1717, 1555, 1518, 1294, 1181, 824, 646 cm^{-1} . **¹H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 2.30 (s, 3H) 3.57 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.84 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 4.20 (ddd, $J = 14$, 8.8 y 5.2 Hz 1H), 4.85 (dd, $J = 13.1$ y 8.8 Hz, 1H), 4.90 (dd, $J = 13.1$ y 5.3 Hz, 1H), 7.17-7.31 (m, 4H). **¹³C RMN** (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 21.0, 42.5, 52.8, 52.9, 54.7, 77.5, 127.6, 129.6 (2C), 132.9 (2C), 138.1, 167.2, 167.8. **HRMS** (CI⁺) Calculada para $C_{14}H_{17}O_6N$ [M+H]⁺: 296.1134 Observada [M+H]⁺: 296.1145.

7.2.4 Preparación del 2-(2-nitro-1-(2-clorofenil)etil)malonato de dimetilo. (64d)

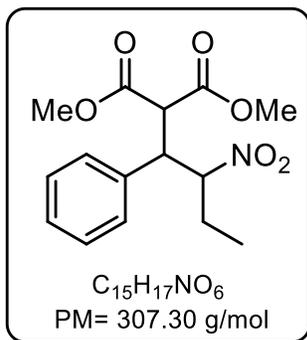


Siguiendo el procedimiento A, se pesó (3.0 g, 11.8 mmol) del 2-(2-clorobenciliden)malonato de dimetilo **63d**, enseguida adicionaron 25 mL de tolueno como disolvente, luego se agregó (3.15 mL, 59.0 mmol) del nitrometano y finalmente (2.77 g, 20.0 mmol) del carbonato de potasio la mezcla de reacción se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 48 h. Después de purificar por

cromatografía en columna utilizando un sistema de elución hexano-AcOEt (70:30) se obtuvo, el compuesto **64d** como un líquido amarillo con un rendimiento del 69% (2.55 g). **IR** ν_{max} : 2956, 1732, 1552, 1434, 1232, 1196, 754 cm^{-1} . **¹H RMN** (200 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 3.64 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 4.11 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.75 (ddd, $J = 12.8$, 8.4 y 4.4 Hz 1H), 4.95 (dd, $J = 13.6$ y 4.5 Hz, 1H), 5.12 (dd, $J = 13.7$

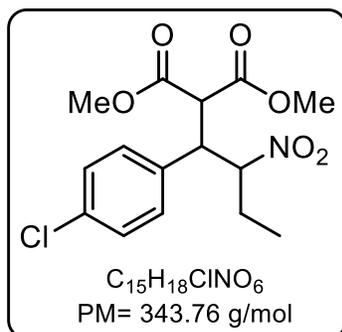
y 8.6 Hz, 1H), 7.22 – 7.44 (m, 4H). $^{13}\text{C RMN}$ (50 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 39.4, 53.0, 76.1, 127.9, 129.2 (2C), 130.1 (2C), 131.1, 134.2, 134.6, 167.8, 168.3. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_6\text{NCl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 316.0588 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$:316.0614.

7.2.5 Preparación del 2-(2-nitro-1-fenilbutil)malonato de dimetilo. (64e)



Seguendo con el procedimiento B, en una ampollita para microondas, se pesó (1.0 g, 4.54 mmol) del 2-bencilidenmalonato de dimetilo **63a** y se adicionó (1.21g, 1.22 mL, 13.62 mmol) del 1-nitropropano, posteriormente se enfrió en baño de hielo de 0 °C, para adicionar gota a gota (0.069 g, 0.067 mL, 0.45 mmol) de DBU, una vez que la mezcla estuvo homogénea se llevó a temperatura ambiente y se introdujo en el equipo de microondas durante un tiempo de 5 min. Después de purificar por cromatografía en columna utilizando un sistema de elución hexano-AcOEt (70:30), se obtuvo el compuesto **64e** como un sólido blanco con un rendimiento del 55% (0.76 g) y p.f.= 57-59 °C. **IR** ν_{max} : 2955, 1735, 1547, 1455, 1434, 1259, 1199, 701 cm^{-1} . $^1\text{H RMN}$ (200 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0.97 (t, J = 7.3 Hz, 3H), 1.48-1.97 (m, 2H), 3.43 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.89 (t, J = 2.9 Hz, 1H), 4.15 (d, J = 10.6 Hz, 1H), 4.91-5.01 (m, 1H), 7.08-7.30 (m, 5H). $^{13}\text{C RMN}$ (50 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 10.4, 24.4, 47.7, 52.9, 53.8, 54.3, 90.0, 127.1, 128.4, 128.8. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{O}_6\text{N}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 310.1285 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$: 310.1300.

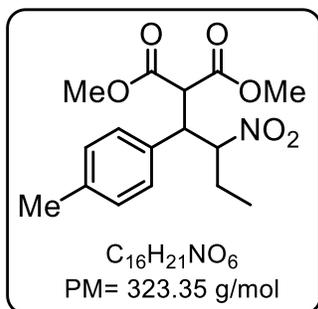
7.2.6 Preparación del 2-(1-(4-clorofenil)-2-nitrobutil malonato de dimetilo. (64f)



Seguendo con el procedimiento B, en una ampollita para microondas, se pesó (1.0 g, 3.92 mmol) del 2-(4-clorobenciliden)malonato de dimetilo **63b** y se adicionó (1.04 g, 1.05 mL, 11.76 mmol) del 1-nitropropano posteriormente se enfrió en baño de hielo de 0 °C, para adicionar gota a gota (0.059 g, 0.057 mL, 0.39 mmol) de DBU, una vez que la mezcla estuvo homogénea se llevó a temperatura ambiente y se introdujo en el equipo de microondas durante un

tiempo de 5 minutos. Después de purificar por cromatografía en columna utilizando un sistema de elución hexano-AcOEt (70:30), se obtuvo el compuesto **64f** como un sólido blanco con un rendimiento del 59% (0.79 g) y p.f.= 43-45 °C. **IR** ν_{\max} : 2979, 1748, 1495, 1286, 1149, 1095, 857 cm^{-1} . **¹H RMN** (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0.98 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), 1.65-1.76 (m, 2H), 3.49 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.88 (dd, $J = 10.5$ y 5.1 Hz, 1H), 4.09 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 4.93-4.98 (m, 1H), 7.04-7.30 (m, 4H). **¹³C RMN** (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 10.4, 24.5, 47.0, 52.8, 53.1, 53.5, 89.8, 128.7, 130.1, 132.7, 134.5, 167.3, 167.9. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_6\text{NCl}$ [M+H]⁺: 344.0901 Observada [M+H]⁺: 344.0948.

7.2.7 Preparación del 2-(2-nitro-1-(*p*-tolil)butil)malonato de dimetilo. (**64g**)



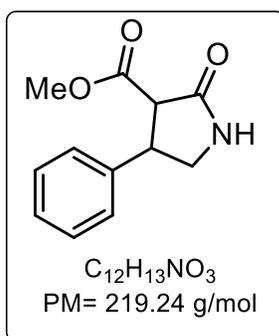
Siguiendo con el procedimiento B, en una ampolleta para microondas, se pesó (1.0 g, 4.26 mmol) del 2-(4-metilbenciliden)malonato de dimetilo **63c** y se adicionó (1.14 g, 1.15 mL, 12.78 mmol) del 1-nitropropano, posteriormente se enfrió en baño de hielo de 0 °C, para adicionar gota a gota (0.064 g, 0.063 mL, 0.42 mmol) de

DBU, una vez que la mezcla estuvo homogénea se llevó a temperatura ambiente y se introdujo en el equipo de microondas durante un tiempo de 5 minutos. Después de purificar por cromatografía en columna utilizando un sistema de elución hexano-AcOEt (70:30), se obtuvo el compuesto **64g** como un sólido blanco con un rendimiento del 54% (0.74 g) y p.f.= 59-62 °C. **IR** ν_{\max} : 2983, 2959, 1745, 1723, 1547, 1461, 1281, 1145, 799 cm^{-1} . **¹H RMN** (200 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0.84 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H), 1.47-1.90 (m, 2H), 2.30 (s, 3H), 3.45 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.86 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 4.13 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H), 4.91-5.03 (m, 1H), 6.94 - 7.12 (m, 4H). **¹³C RMN** (50 MHz, CDCl_3): δ (ppm): 10.6, 21.2, 24.6, 47.5, 53.1, 54.0, 54.5, 90.3, 128.8, 129.4 (2C), 131.2 (2C), 138.3, 167.7, 168.5. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{O}_6\text{N}$ [M+H]⁺: 324.1447 Observada [M+H]⁺: 324.1435.

7.3 Procedimiento general para la preparación de las γ -lactamas **65a-g**.

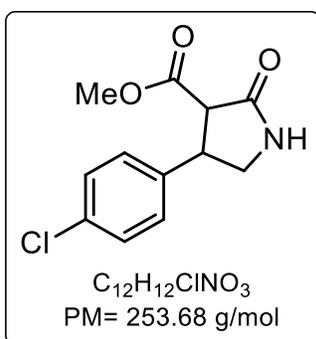
En un matraz redondo, provisto con barra de agitación magnética, se pesó el γ -nitroester correspondiente, enseguida se le adicionó metanol como disolvente. Posteriormente se colocó el Ni/Ra previamente activado, se selló y se purgó el aire con hidrógeno, la mezcla se dejó reaccionar toda la noche. Al finalizar la reacción, se removió el exceso de Ni/Ra utilizando otro magneto y enseguida se procedió a filtrarlo sobre celita utilizando metanol como disolvente, para quitar las trazas de Ni/Ra remanente. Por último, se evaporó y se purificó en cromatografía en columna utilizando un sistema 98:2 DCM-Metanol.

7.3.1 Preparación del 2-oxo-4-fenilpirrolidina-3-carboxilato de metilo. (**65a**)



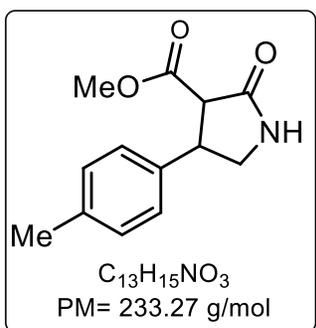
Siguiendo con el procedimiento general, se pesó (0.90 g, 3.19 mmol) del 2-(2-nitro-1-feniletíl)malonato de dimetilo **64a** enseguida se le adicionó 10 mL metanol y posteriormente se adicionó (0.31mmol) de Ni/Ra. Después de monitorear la reacción por CCF se filtró y purificó mediante cromatografía en columna utilizando un sistema DCM-metanol 98:2. De esta manera se obtuvo el compuesto **65a** como un sólido blanco con 85% (0.59 g) y p.f.= 129-133 °C. **IR** ν_{max} : 3206, 3105, 2953, 1728, 1694, 1437, 755, 695 cm^{-1} . **1H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 3.43 (dd, $J = 9.5, 8.6$ Hz, 1H), 3.60 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.80 (dd, $J = 18.1$ y 9.1 Hz, 1H), 4.1 (dd, $J = 17.9$ y 8.6 Hz, 1H) 7.24 - 7.36 (m, 5H), 7.41 (señal ancha, 1H). **^{13}C RMN** (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 44.3, 47.8, 52.9, 55.2, 127.0, 127.6, 129.0, 139.7, 169.6, 172.8. **HRMS** (Cl^+) Calculada para $C_{12}H_{13}O_3N$ $[M+H]^+$: 220.0974 Observada $[M+H]^+$: 220.1000.

7.3.2 Preparación del 2-oxo-(4-clorofenil)-pirrolidina-3-carboxilato de metilo. (65b)



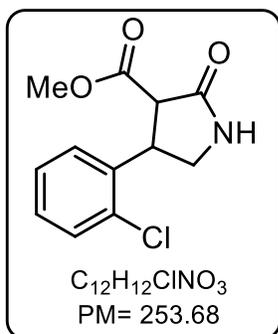
Siguiendo con el procedimiento general, se pesó (0.85 g, 2.87 mmol) del 2-(2-nitro-1-(4-clorofenil)etil)malonato de dimetilo **64b** enseguida se le adicionó 10 mL metanol, posteriormente se colocó (0.28 mmol) de Ni/Ra. Después de monitorear la reacción por CCF, se filtró y purificó mediante cromatografía en columna utilizando un sistema DCM-metanol 98:2. De esta manera se obtuvo el compuesto **65b** como un sólido blanco con 83% (0.56 g) y p.f.= 133-136 °C. **IR** ν_{max} : 3221, 2951, 1736, 1716, 1697, 1432, 1268, 609 cm^{-1} . **¹H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 3.41 (dd, $J = 9.7$ y 8.4 Hz, 1H), 3.53 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.81 (dd, $J = 9.7$ y 0.9 Hz, 1H), 4.09 (dd, $J = 17.9$ y 8.4 Hz, 1H), 6.90 (señal ancha, 1H), 7.18 - 7.33 (m, 4H). **¹³C RMN** (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 43.7, 47.5, 53.0, 55.0, 128.4, 129.2, 133.5, 138.1, 169.3, 172.2. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $C_{12}H_{12}O_3NCl$ [M+H]⁺: 254.5425 Observada [M+H]⁺:254.0574.

7.3.3 Preparación del 2-oxo-4-(p-tolil)-pirrolidina-3-carboxilato de metilo. (65c)



Siguiendo con el procedimiento general, se pesó (0.90 g, 3.04 mmol) del 2-(2-nitro-1-(p-tolil)etil)malonato de dimetilo **64c** enseguida se le adicionó 10 mL metanol, posteriormente se colocó (0.30 mmol) de Ni/Ra. Después de monitorear la reacción por CCF se filtró y purificó mediante cromatografía en columna utilizando un sistema DCM-metanol 98:2. De esta manera se obtuvo el compuesto **65c** como un sólido blanco con 85% (0.60 g) y p.f.= 126-130 °C. **IR** ν_{max} : 3187, 3094, 2953, 1741, 1701, 1519, 1288, 1196, 822 cm^{-1} . **¹H RMN** (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 2.18 (s, 3H), 3.25 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H), 3.42 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.64 (m, 1H), 3.92 (dd, $J = 17.6, 8.6$ Hz, 1H), 7.0 (m, 4H). **¹³C RMN** (125 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 21.2, 44.2, 48.1, 53.0, 55.5, 127.1, 129.9, 136.8, 137.5, 169.9, 173.1, **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $C_{13}H_{15}O_3N$ [M+H]⁺: 234.1130 Observada [M+H]⁺: 234.1136.

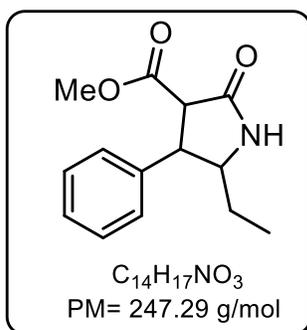
7.3.4 Preparación del 2-oxo-4-(2-clorofenil)-pirrolidina-3-carboxilato de metilo. (65d)



Siguiendo con el procedimiento general, se pesó (0.90 g, 2.85 mmol) del 2-(2-nitro-1-(2-clorofenil)etil)malonato de dimetilo **64d** enseguida se le adicionó 10 mL metanol, posteriormente se colocó (0.28 mmol) de Ni/Ra. Después de monitorear la reacción por CCF se filtró y purificó mediante cromatografía en columna utilizando un sistema DCM-metanol 98:2. De esta manera se obtuvo el compuesto **65d**

como un sólido blanco con 88% (0.63 g) y p.f.= 158-160 °C. **IR** ν_{max} : 3221, 2951, 1736, 1716, 1697, 1432, 1268, 609 cm^{-1} . **¹H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 3.41 (dd, $J = 9.9$ y 7.0 Hz, 1H), 3.71 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.91 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H), 4.52 (dd, $J = 15.3, 8.3$ Hz, 1H), 7.35 (señal ancha, 1H) 7.20-7.40 (m, 4H). **¹³C RMN** (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 41.2, 46.7, 52.9, 53.8, 127.4, 127.9, 128.8, 130.2, 133.9, 137.2, 169.4, 172.5. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $C_{12}H_{12}O_3NCl$ [M+H]⁺: 254.5425 Observada [M+H]⁺: 254.0597.

7.3.5 Preparación del 5-etil-2-oxo-4-fenilpirrolidina-3-carboxilato de metilo. (65e)

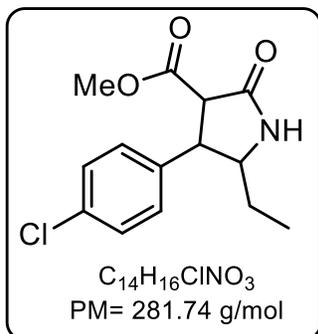


Siguiendo con el procedimiento general, se pesó (0.90 g, 2.85 mmol) del 2-(2-nitro-1-fenilbutil)malonato de dimetilo **64a** enseguida se le adicionó 10 mL metanol, posteriormente se colocó (0.28 mmol) de Ni/Ra. Después de monitorear la reacción por CCF se filtró y purificó mediante cromatografía en columna utilizando un sistema DCM-metanol 97:3. De esta manera se obtuvo el

compuesto **65e** como un sólido blanco con 75% (0.54 g) y p.f.= 131-134 °C. **IR** ν_{max} : 3208, 2966, 1739, 1660, 1454, 1173, 754 cm^{-1} . **¹H RMN** (600 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 0.80 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H), 0.96 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H), 1.04-1.13 (m, 2H), 1.54 (m, H), 1.67-1.75 (m, 1H), 3.57-3.69 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.81 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 3.84-3.90 (m, 1H), 4.17-4.27 (m, 1H), 6.74 (señal ancha, 1H), 6.80 (señal ancha, 1H), 7.19-7.34 (m, 10H). **¹³C RMN** (151 MHz, DCl_3): δ (ppm) 10.5, 10.7, 25.1, 27.6, 48.0, 50.8, 52.1, 52.8, 52.9, 56.8, 58.6, 61.4, 127.6, 127.7, 127.9, 128.8, 129.1, 137.0, 139.5, 169.6, 169.7, 171.2, 172.3. **HRMS** (FAB⁺) Calculada

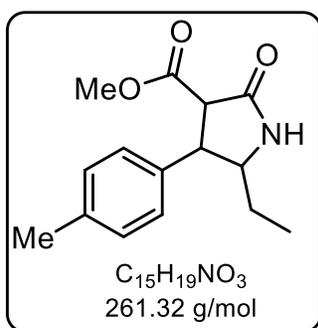
para $C_{14}H_{17}NO_3$ $[M+H]^+$: 248.1286 Observada $[M+H]^+$: 248.1270.

7.3.6 Preparación del 4-(4-clorofenil)-5-etil-2-oxopirrolidina-3-carboxilato de metilo. (65f)



Siguiendo con el procedimiento general, en un matraz redondo de 50 mL, equipado con barra de agitación magnética, se pesó (0.90 g, 2.85 mmol) del 2-(1-(4-clorofenil)-2-(nitrobutil)malonato de dimetilo **64b** enseguida se le adicionó 10 mL metanol, posteriormente se colocó (0.28 mmol) de Ni/Ra. Después de monitorear la reacción por CCF se filtró y purificó mediante cromatografía en columna utilizando un sistema DCM-metanol 97:3. De esta manera se obtuvo el compuesto **65f** un sólido blanco con 80% (0.58 g) y p.f.= 136-138 °C. **IR** ν_{max} : 3173, 2932, 1740, 1660, 1449, 1314, 1090, 718 cm^{-1} . **1H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 0.81 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 1.04-1.11 (m, 2H), 3.74 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.80-3.89 (m, 1H), 4.12-4.20 (m, 1H), 7.13 – 7.3 (m, 4H), 7.37 (señal ancha, 1H). **^{13}C RMN** (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 10.5, 25.0, 47.4, 52.2, 52.8, 58.4, 128.8, 129.2, 133.3, 135.5, 169.4, 172.1. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $C_{14}H_{16}ClNO_3$ $[M+H]^+$: 282.0896 Observada $[M+H]^+$: 282.0905.

7.3.7 Preparación del 5-etil-2-oxo-4-(p-tolil)pirrolidina-3-carboxilato de metilo. (65g)



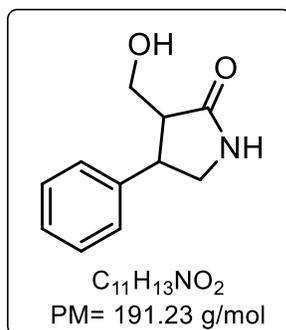
Siguiendo con el procedimiento general, en un matraz redondo de 50 mL, equipado con barra de agitación magnética, se pesó (0.90 g, 2.85 mmol) del 2-(2-nitro-1-(p-tolil)butil)malonato de dimetilo **64c** enseguida se le adicionó 10 mL metanol, posteriormente se colocó (0.28 mmol) de Ni/Ra. Después de monitorear la reacción por CCF se filtró y purificó mediante cromatografía en columna utilizando un sistema DCM-metanol 97:3. De esta manera se obtuvo el compuesto **65g** como un sólido blanco con 82% (0.59 g) y p.f.= 113-115 °C. **IR** ν_{max} : 3173, 2929, 1741, 1697, 1437, 1286, 1186, 807, 730 cm^{-1} . **1H RMN** (200 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 0.79 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 1.00 - 1.17 (m, 2H), 2.33 (s, 3H), 3.74 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.80 - 3.89 (m, 1H), 4.12-4.20 (m, 1H), 7.13 - 7.3 (m,

4H), 7.37 (señal ancha, 1H). ^{13}C RMN (50 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 10.5, 20.9, 25.0, 47.7, 52.3, 52.7, 58.6, 127.7, 129.3, 133.9, 137.1, 169.7, 172.5. HRMS (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 262.1444 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$: 262.1421.

7.4 Procedimiento general para la preparación de los compuestos α -hidroximetil- γ -lactamas **66a-g**.

En un matraz redondo de 100mL, provisto con barra de agitación magnética y un refrigerante en posición de reflujo, se pesó la γ -lactama correspondiente, posteriormente se le adicionó THF anhidro como disolvente, la reacción se calentó hasta 40 °C e inmediatamente se le agregó (6 eq.) de borohidruro de sodio poco a poco, al finalizar la adición, se incrementó la temperatura hasta reflujo y se dejó reacción por 1 hora, al finalizar ese tiempo, se adicionó metanol y se mantuvo 1 hora más en calentamiento, finalmente se concentró el crudo de reacción hasta llevarlo a sequedad y se adicionaron 20 mL de una solución de HCl al 1 M, y se mantuvo en agitación por 2 h más a temperatura ambiente, posteriormente se neutralizo hasta llevar a un pH de 7 con NaOH 2 M y se realizaron extracciones con DCM (3 X 15 mL), la fase orgánica se eliminó la humedad utilizando sulfato de sodio anhidro, se filtró y se llevó hasta sequedad utilizando un rotaevaporador, el crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna en un sistema de elución 98:2 DCM-Metanol.

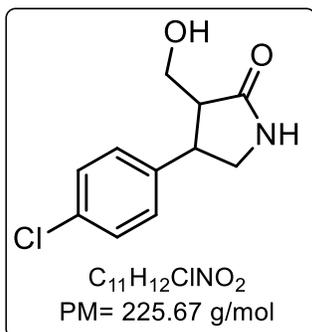
7.4.1 Preparación de la 3-(hidroximetil)-4-fenilpirrolidin-2-ona. (**66a**)



Siguiendo con el procedimiento general, se pesó (0.40 g, 1.86 mmol) de 2-oxo-4-fenilpirrolidina-3-carboxilato de metilo **65a**, posteriormente se le adicionó 10 mL THF anhidro, la reacción se calentó hasta 40 °C e inmediatamente se le agregó (0.42 g, 10.9 mmol.) de borohidruro de sodio poco a poco y se incrementó la temperatura hasta reflujo y se dejó reacción por 1 hora, al finalizar ese tiempo, se adicionaron 8 mL metanol y se mantuvo 1 hora más en calentamiento. Finalmente se obtuvo el compuesto **66a** como un sólido blanco con un rendimiento de 72% (0.24 g) y p.f. = 148-150 °C. IR ν_{max} : 3246, 2955, 2867, 1693, 1656, 1487, 1094, 763 cm^{-1} . ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 2.60 (dq,

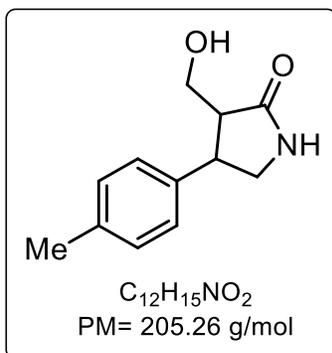
$J = 5.6$ y 3.8 Hz, 1H), 3.37 (m, 1H), 3.60 (dd, $J = 11.2$ y 3.7 Hz, 1H), 3.68 (m, 2H), 3.92 (dd, $J = 11.2$ y 3.8 Hz, 1H), 7.21 – 7.34 (m, 5H). ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 43.7, 49.3, 53.2, 59.8, 128.2, 128.6, 130.0, 143.22, 179.6. HRMS (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 192.1025 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$: 192.1027.

7.4.2 Preparación de la 3-(hidroximetil)-4-(4-clorofenil)pirrolidina-2-ona. (66b)



Siguiendo con el procedimiento general, se pesó (0.40 g, 1.57 mmol) de 2-oxo-4-(4-clorofenil)pirrolidina-3-carboxilato de metilo **65b**, posteriormente se le adicionó 10 mL THF anhidro, la reacción se calentó hasta 40°C e inmediatamente se le agregó (0.35 g, 9.46 mmol.) de borohidruro de sodio poco a poco, se incrementó la temperatura hasta reflujo y se dejó reacción por 1 hora, al finalizar ese tiempo, se adicionaron 8 mL metanol y se mantuvo 1 hora más en calentamiento. Finalmente se obtuvo el compuesto **66b** como un sólido blanco con un rendimiento de 51% (0.15 g) y p.f. = $150\text{-}152^\circ\text{C}$. IR ν_{max} : 3236, 2951, 1681, 1488, 1292, 1012, 820 cm^{-1} . ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 2.60 (m, 1H), 3.36 (m, 1H), 3.61 (dd, $J = 11.3$ y 3.6 Hz, 1H), 3.69 (m, 2H), 3.92 (dd, $J = 11.3$ y 3.9 Hz, 1H), 7.31 (s, 4H), 7.86 (señal ancha, 1H). ^{13}C RMN (125 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 43.0, 48.9, 52.9, 59.7, 128.4, 129.8, 130.1, 133.8, 141.7 179.1. HRMS (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{NCl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 226.0635 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$: 226.0634.

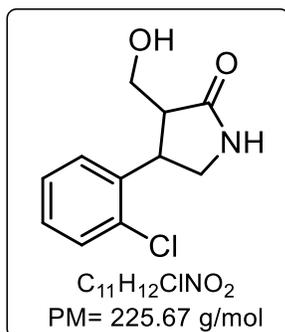
7.4.3 Preparación de la 3-(hidroximetil)-4-(p-tolil)pirrolidina-2-ona. (66c)



Siguiendo con el procedimiento general, se pesó (0.30 g, 1.28 mmol) de 2-oxo-4-(p-tolil)pirrolidina-3-carboxilato de metilo **65c**, posteriormente se le adicionó 10 mL THF anhidro, la reacción se calentó hasta 40°C e inmediatamente se le agregó (0.29 g, 7.68 mmol.) de borohidruro de sodio poco a poco, se incrementó la temperatura hasta reflujo y se dejó reacción por 1 hora, al finalizar ese tiempo, se adicionaron 8 mL metanol y se mantuvo 1 hora más en calentamiento. Finalmente se obtuvo el compuesto **66c** como un sólido blanco con

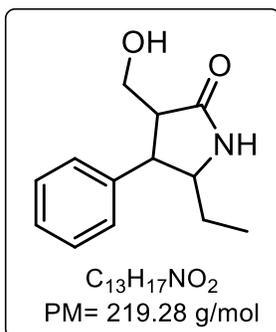
un rendimiento de 55% (0.140 g) y p.f. = 149 – 152 °C. **IR** ν_{\max} : 3236, 2951, 1681, 1488, 1012, 820 cm^{-1} . **$^1\text{H RMN}$** (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 2.34 (s, 3H), 2.67-2.76 (m, 1H), 3.34 (dd, $J = 6.4$ y 5.6 Hz, 1H), 3.60 (dd, $J = 11.2$ y 3.6 Hz, 1H), 3.61 - 3.67 (m, 1H), 3.90 (dd, $J = 11.2$ y 4.0 Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.21(d, $J = 8.0$ Hz, 2H). **$^{13}\text{C RMN}$** (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 21.0, 42.6, 48.2, 50.3, 60.4, 127.3, 129.7, 137.6, 178.8. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 206.1181 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$: 206.1173.

7.4.4 Preparación de la 3-(hidroximetil)-4-(2-clorofenil)pirrolidina-2-ona. (**66d**)



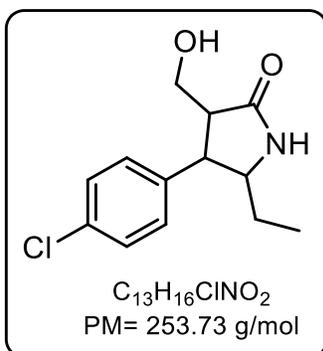
Siguiendo con el procedimiento general, se pesó (0.50 g, 1.86 mmol) de 2-oxo-4-(2-clorofenil)pirrolidina-3-carboxilato de metilo **65d**, posteriormente se le adicionó 10 mL THF anhidro, la reacción se calentó hasta 40 °C e inmediatamente se le agregó (0.42 g, 11.18 mmol.) borohidruro de sodio poco a poco, se incrementó la temperatura hasta reflujo y se dejó reacción por 1 hora, al finalizar ese tiempo, se adicionaron 8 mL metanol y se mantuvo 1 hora más en calentamiento. Finalmente se obtuvo compuesto **66d** como un sólido blanco con un rendimiento de 54% (0.20 g) y p.f. = 115-118 °C. **IR** ν_{\max} : 3231, 2928, 2877, 1682, 1474, 1299, 1034, 753 cm^{-1} . **$^1\text{H RMN}$** (400 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 2.30 (s, 3H), 2.58 (dt, $J = 8.8$ y 3.6 Hz, 1H), 3.34 (dd, $J = 6.4$ y 5.6 Hz, 1H), 3.60 (dd, $J = 11.2$ y 3.6 Hz, 1H), 3.61 - 3.67 (m, 1H), 3.90 (dd, $J = 11.2$ y 4.0 Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.21 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H). **$^{13}\text{C RMN}$** (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 39.5, 46.9, 49.2, 61.0, 127.4, 128.0, 128.5, 128.9, 130.1, 134.2, 137.7, 178.6. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{NCl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 226.0635 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$: 226.0649.

7.4.5 Preparación de la 5-etil-3-(hidroximetil)-4-fenilpirrolidina-2-ona. (66e)



Siguiendo con el procedimiento general, se pesó (0.50 g, 1.86 mmol) de 2-oxo-4-(2-clorofenil)pirrolidina-3-carboxilato de metilo **65a**, posteriormente se le adicionó 10 mL THF anhidro, la reacción se calentó hasta 40 °C e inmediatamente se le agregó (0.42 g, 11.18 mmol.) de borohidruro de sodio poco a poco, se incrementó la temperatura hasta reflujo y se dejó reacción por 1 hora, al finalizar ese tiempo, se adicionó 8 mL metanol y se mantuvo 1 hora más en calentamiento. Finalmente se obtuvo compuesto **66e** como un sólido blanco con p.f. = 81-83 °C y un rendimiento de 52% (0.193 g). **IR** ν_{max} : 3234, 2928, 1682, 1454, 1232, 1029, 757 cm^{-1} . **¹H RMN** (600 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm): 0.79 (t, $J = 7.7$ Hz, 3H), 0.90 (t, $J = 7.7$ Hz, 3H), 0.98-1.07 (m, 1H), 0.98-1.07 (m, 1H), 1.09-1.17 (m, 1H), 1.47 - 1.54 (m, 1H), 1.63-1.69 (m, 1H), 2.76 - 2.83 (m, 1H), 2.97 - 3.09 (m, 1H), 3.59 - 3.69 (m, 1H), 3.69-3.78 (m, 1H), 3.83 - 3.91 (m, 1H), 3.91 - 4.03 (m, 1H), 7.15 - 7.43 (m, 10H). **¹³C RMN** (151 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 10.5, 10.7, 25.2, 27.7, 45.2, 46.3, 50.0, 52.2, 58.7, 60.6, 61.2, 61.8, 127.4, 127.5, 128.1, 128.2, 128.7, 129.0, 137.1, 140.0, 177.9, 179.0. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $C_{13}H_{17}NO_2$ [M+H]⁺: 220.1338 Observada [M+H]⁺: 220.1351.

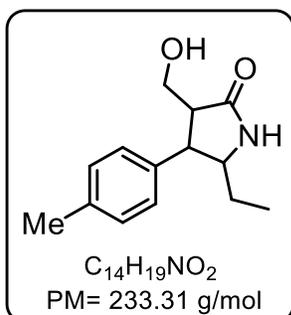
7.4.6 Preparación de la 5-etil-3-(hidroximetil)-4-(4-clorofenil)pirrolidina-2-ona. (66f)



Siguiendo con el procedimiento general, se pesó (0.40 g, 1.57 mmol) de 2-oxo-4-(4-clorofenil)pirrolidina-3-carboxilato de metilo **65b**, posteriormente se le adicionó 10 mL THF anhidro, la reacción se calentó hasta 40 °C e inmediatamente se le agregó (0.35 g, 9.46 mmol.) de borohidruro de sodio poco a poco, se incrementó la temperatura hasta reflujo y se dejó reacción por 1 hora, al finalizar ese tiempo, se adicionaron 8 mL metanol y se mantuvo 1 hora más en calentamiento. Finalmente se obtuvo compuesto **66f** como un sólido blanco con un rendimiento de 55% (0.17 g) y p.f. = 158-160 °C. **IR** ν_{max} :

3319, 3234, 2954, 2893, 1694, 1046, 822 cm^{-1} . **^1H RMN** (400 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 2.60 (dt, $J = 9.6$ y 4.0 Hz, 1H), 3.32 - 3.36 (m, 1H), 3.60 (dd, $J = 11.2$ y 4.0 Hz, 1H), 3.68 (dd, $J = 7.2$ y 6.4 Hz, 1H), 3.64 - 3.70 (m, 1H), 3.92 (dd, $J = 11.2$ y 4.0 Hz, 1H), 7.31 (s, 4H). **^{13}C RMN** (100 MHz, CD_3OD): δ (ppm) 43.2, 49.1, 53.2, 59.9, 128.4, 128.7, 132.3, 140.4, 179.3. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NO}_2\text{Cl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 254.0949 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$: 254.0936.

7.4.7 Preparación de la 5-etil-3-(hidroximetil)-4-(*p*-tolil)pirrolidina-2-ona. (**66g**)



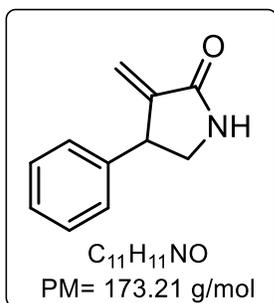
Siguiendo con el procedimiento general, se pesó (0.40 g, 1.57 mmol) de 2-oxo-4-(4-clorofenil)pirrolidina-3-carboxilato de metilo **65c**, posteriormente se le adicionó 10 mL THF anhidro, la reacción se calentó hasta $40\text{ }^\circ\text{C}$ e inmediatamente se le agregó (0.35 g, 9.46 mmol.) de borohidruro de sodio poco a poco, se incrementó la temperatura hasta reflujo y se dejó reacción por 1 hora, al finalizar ese tiempo, se adicionaron 8 mL metanol y se mantuvo 1 hora más en calentamiento. Finalmente se obtuvo compuesto **66g** como un sólido blanco con un rendimiento de 75% (0.232 g) y p.f. = $146\text{-}148\text{ }^\circ\text{C}$. **IR** ν_{max} : 3196, 3091, 2929, 2885, 1741, 1697, 1434, 1160, 845 cm^{-1} . **^1H RMN** (600 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0.77 (t, $J = 7.9$ Hz, 3H), 0.96-1.16 (m, 2H), 2.33 (s, 3H), 3.55-3.75 (m, 2H), 6.85 (señal ancha, 1H), 7.09 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.14 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H). **^{13}C RMN** (151 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 10.7, 21.1, 25.2, 44.9, 46.0, 58.6, 61.5, 128.1, 129.4, 133.8, 137.1, 179.0. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 234.1494 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$:234.1485.

7.5 Procedimiento general para la preparación de las α -metilen- γ -lactamas **67a-g**.

En un matraz redondo se pesó el alcohol correspondiente, se agregó DCM seco, y se le adicionó (2 mmol) trietilamina, la mezcla de reacción se colocó en un baño de hielo, y posteriormente se le agregó (2 mmol) del cloruro de mesilo, gota a gota y se dejó en agitación vigorosa toda la noche (over night). Finalmente, se le agregó más DCM y se realizaron lavados con agua fría (3 X 8 mL), lavados con HCl al 5% (3 X 8 mL), se extrajo la fase orgánica y se concentró el crudo de

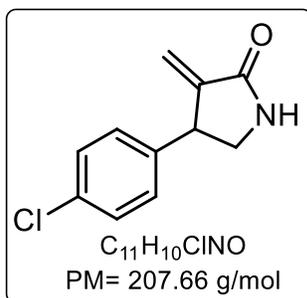
reacción sin mayor purificación, enseguida se le adicionó THF 3 mL e NaOH 1 N (0.33 mmol) y se dejó reaccionar durante 5 h. Posteriormente la mezcla de reacción se acidificó a pH 1 con una solución de HCl 1 N y se realizaron extracciones con AcOEt (3 X 10 mL), y se concentró la fase orgánica, y se purificaron en cromatografía en columna en un sistema 98:2 DCM-metanol.

7.5.1 Preparación de la 3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona. (**67a**)



Siguiendo con el procedimiento general, se pesó (0.20 g, 1.15 mmol) del 3-(hidroximetil)-4-fenilpirrolidin-2-ona **66a** se agregó DCM seco, y se le adicionó (0.21 g, 0.28 mL, 2.30 mmol) de trietilamina, posteriormente se le agregó (0.23 g, 0.16 mL, 2.3 mmol) del cloruro de mesilo y se dejó a temperatura ambiente. Después de la purificación por cromatografía en columna utilizando un sistema 98:2 DCM-metanol, se obtuvo el compuesto **67a** como un sólido blanco con un rendimiento de 76% (0.137 g) y p.f.= 110-112 °C. **IR** ν_{max} : 3194, 3084, 3027, 1686, 1659, 932, 700 cm⁻¹. **¹H RMN** (600 MHz, CDCl₃): δ (ppm) : 3.41 (dd, $J = 10.4, 5.9$ Hz, 1H), 3.84 (t, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.09-4.29 (m, 1H), 5.17 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 6.10 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 7.23-7.37 (m, 5H), 7.69 (señal ancha, 1H). **¹³C RMN** (151 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 20.6, 44.7, 48.9, 110.3, 120.2, 127.6, 127.9, 129.1, 141.2, 143.1, 172.3. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para C₁₁H₁₁NO [M+H]⁺: 174.0919 Observada [M+H]⁺: 174.0910.

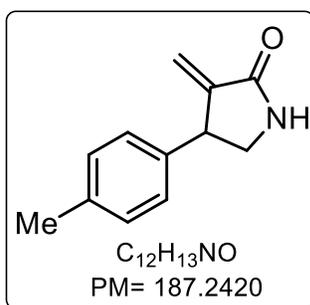
7.5.2 Preparación de la 3-metilen-4-(4-clorofenil)pirrolidin-2-ona. (**67b**)



Siguiendo con el procedimiento general, se pesó (0.3 g, 1.32 mmol) del 3-(hidroximetil)-4-(4-clorofenil)pirrolidin-2-ona **66b** se agregó DCM seco, y se le adicionó (0.26 g, 0.37 mL, 2.64 mmol) de trietilamina, posteriormente se le agregó (0.15 g, 0.10 mL, 2.64 mmol) del cloruro de mesilo, y se dejó a temperatura ambiente. Después de la purificación por cromatografía en columna utilizando un sistema 98:2 DCM-metanol, se obtuvo el compuesto **67b** como un sólido blanco con un rendimiento de 88% (0.24 g) y p.f.= 116-118 °C **IR** ν_{max} : 3194, 3119, 1694, 946, 786 cm⁻¹. **¹H RMN** (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 3.36 (dd, $J = 9.9, 5.7$ Hz, 1H), 3.85 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H),

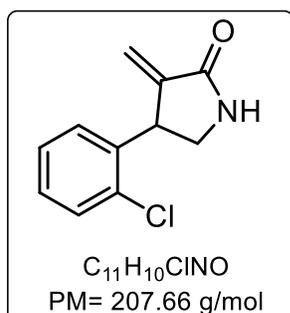
4.12-4.19 (m, 1H), 5.18 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.14 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.81 (señal ancha, 1H), 7.18 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.33 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H). ^{13}C RMN (125 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 20.6, 41.2, 110.0, 120.0, 127.5, 128.8, 130.0, 134.0, 139.1, 141.5, 171.8. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{NOCl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 208.0512 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$: 208.0519.

7.5.3 Preparación de la 3-metilen-4-(*p*-tolil)pirrolidin-2-ona. (**67c**)



Siguiendo con el procedimiento general, se pesó (0.40 g, 1.94 mmol) del 3-(hidroximetil)-4-(*p*-tolil)pirrolidin-2-ona **66c** se agregó DCM seco, y se le adicionó (0.39 g, 0.54 mL, 3.88 mmol) de trietilamina, la mezcla de reacción se colocó en un baño de hielo, posteriormente se le agregó (0.44 g, 0.30 mL, 3.88 mmol) del cloruro de mesilo, y se dejó a temperatura ambiente. Después de la purificación por cromatografía en columna utilizando un sistema 98:2 DCM-metanol, se obtuvo el compuesto **67c** como un sólido blanco con un rendimiento de 89% (0.32 g) p.f.= 113-115 °C. **IR** ν_{max} : 3186, 2892, 1691, 1675, 1351, 1170, 930, 792, 683 cm^{-1} . ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 2.35 (s, 3H), 3.61 (dd, $J = 11.4, 6.3$ Hz, 1H), 4.08-4.14 (m, 1H), 4.16-4.24 (m, 1H), 5.44 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 6.44 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.19 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 9.27 (señal ancha, 1H). ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 21.2, 41.8, 47.9, 123.6, 127.6, 129.8, 137.4, 137.5, 143.5, 160.7, 174.7. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{NO}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 188.1076 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$: 188.1057.

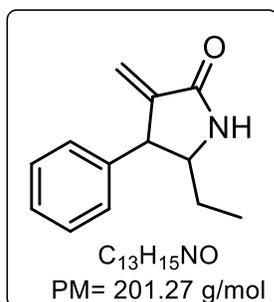
7.5.4 Preparación de la 3-metilen-4-(2-clorofenil)pirrolidin-2-ona. (**67d**)



Siguiendo con el procedimiento general, se pesó (0.35 g, 1.55 mmol) del 3-(hidroximetil)-4-(2-clorofenil)pirrolidin-2-ona **66d** se agregó DCM seco, y se le adicionó (0.31 g, 0.43 mL, 3.1 mmol) de trietilamina, la mezcla de reacción se colocó en un baño de hielo, posteriormente se le agregó (0.35 g, 0.24 mL, 3.1 mmol) del cloruro de mesilo, y se dejó a temperatura ambiente. Después de la purificación por cromatografía en columna utilizando un sistema 98:2 DCM-metanol, se obtuvo el

compuesto **67d** como un líquido blanco con un rendimiento de 90% (0.28 g). **IR** ν_{\max} : 3272, 2887, 1702, 1674, 1474, 1345, 1170, 940, 696, 613 cm^{-1} . **$^1\text{H RMN}$** (600 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 3.39 (dd, $J = 11.0, 3.4$ Hz, 1H), 3.96 (t, $J = 10.2$ Hz, 1H), 4.64 - 4.75 (m, 1H), 5.36 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 6.23 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 7.19 - 7.27 (m, 3H), 7.37 - 7.42 (m, 1H), 10.13 (señal ancha, 1H). **$^{13}\text{C RMN}$** (151.0 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 20.6, 41.2, 47.4, 111.0, 120.0, 127.5, 128.8, 130.0, 134.0, 139.1, 141.5, 171.7. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{NOCl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 208.0512 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$: 208.0523.

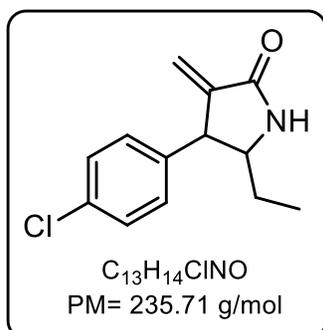
7.5.5 Preparación de la 5-etil-3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona. (**67e**)



Siguiendo con el procedimiento general, en un matraz redondo de 50 mL se pesó (0.30 g, 1.36 mmol) del 5-etil-3-(hidroximetil)-4-fenilpirrolidin-2-ona **66a** se agregó DCM seco, y se le adicionó (0.27 g, 0.38 mL, 2.72 mmol) de trietilamina, la mezcla de reacción se colocó en un baño de hielo, posteriormente se le agregó (0.31 g, 0.21 mL, 2.72 mmol) del cloruro de mesilo, y se dejó a temperatura ambiente. Después de la purificación por cromatografía en columna utilizando un sistema 98:2 DCM-metanol, se obtuvo el compuesto **67e** como un sólido blanco con un rendimiento de 70% (0.19 g), enseguida se purificó con éter para separar los isómero *cis* y *trans* se obtuvo (0.02 g del isómero *anti*) p.f.= 118-120 °C. y (0.03 g del isómero *syn*) p.f.= 110-112 °C **IR** ν_{\max} (*anti*): 3177, 2955, 2923, 1701, 1673, 1448, 1287, 919 cm^{-1} . **IR** ν_{\max} (*syn*): 3171, 2970, 2936, 1694, 1662, 1402, 1315, 924, 919 cm^{-1} . **$^1\text{H RMN}$** (600 MHz, CDCl_3) (*anti*): δ (ppm) 0.95 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H), 1.54 - 1.63 (m, 1H), 1.23 (señal ancha, 1H), 1.64-1.73 (m, 1H), 3.52-3.57 (m, 1H), 3.63-3.68 (m, 1H), 5.11 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 6.09 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 7.17 - 7.37 (m, 5H). **$^1\text{H RMN}$** (600 MHz, CDCl_3) (*syn*): δ (ppm) 0.78 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H), 0.82-1.09 (m, 2H), 3.68 - 3.79 (m, 1H), 4.30-4.38 (m, 1H), 5.30 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 6.20 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.82 (señal ancha, 1H), 7.14-7.37 (m, 5H). **$^{13}\text{C RMN}$** (151 MHz, CDCl_3) (*anti*): δ (ppm) 10.1, 28.9, 51.8, 62.0, 117.9, 127.2, 128.3 (2C), 128.9 (2C), 141.8, 145.0, 169.9. **$^{13}\text{C RMN}$** (151 MHz, CDCl_3) (*syn*): δ (ppm) 10.8, 26.7, 49.2, 57.9, 118.4, 127.3, 128.5 (2C), 129.6 (2C), 138.9, 143.1, 170.5. **HRMS** (FAB⁺) (*anti*) Calculada para $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 202.1232 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$: 202.1226. **HRMS**

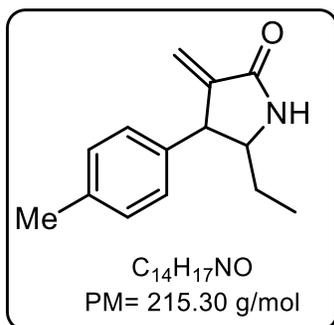
(FAB⁺) (*syn*) Calculada para C₁₃H₁₅NO [M+H]⁺: 202.1232 Observada [M+H]⁺: 202.1226.

7.5.6 Preparación de la 5-etil-3-metilen-4-(4-clorofenil)pirrolidin-2-ona. (67f)



Siguiendo con el procedimiento general, en un matraz redondo de 50 mL se pesó (0.29 g, 1.14 mmol) del 5-etil-3-(hidroximetil)-4-(4-clorofenil)pirrolidin-2-ona **66b** se agregó DCM seco, y se le adicionó (0.23 g, 0.31 mL, 2.28 mmol) de trietilamina, la mezcla de reacción se colocó en un baño de hielo, posteriormente se le agregó (0.26 g, 0.17 mL, 2.28 mmol) del cloruro de mesilo y se dejó a temperatura ambiente. Después de la purificación por cromatografía en columna utilizando un sistema 98:2 DCM-metanol, se obtuvo el compuesto **67f** como un sólido blanco con un rendimiento de 67% (0.18 g) y p.f.= 120 - 122 °C. **IR** ν_{\max} : 3173, 2887, 1701, 1660, 1449, 1314, 1170, 1090, 805, 702 cm⁻¹. **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.81 (t, *J* = 7.9 Hz, 3H), 0.96 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H), 1.50 - 1.81 (m, 4H), 3.48 - 3.57 (m, 1H), 3.62 - 3.66 (m, 1H), 3.71-3.84 (m, 1H), 4.27 - 4.40 (m, 1H), 5.11 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 5.29 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 6.11 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 6.21 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H) 7.04 - 7.41 (m, 8H). **¹³C RMN** (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 10.0, 10.7, 26.6, 28.8, 48.4, 49.1, 51.0, 62.0, 117.8, 118.2, 127.1, 128.5 (2C), 128.9 (2C), 129.5 (2C), 130.5 (2C), 133.01, 137.2, 140.3, 143.4, 144.9, 169.4, 170.6. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para C₁₃H₁₄NOCl [M+H]⁺: 236.0845 Observada [M+H]⁺: 236.0829.

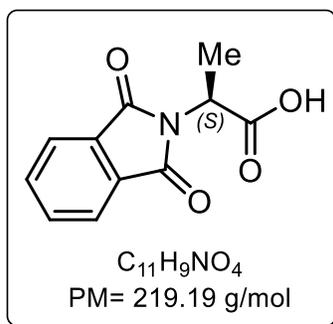
7.5.7 Preparación de la 5-etil-3-metilen-4-(*p*-tolil)pirrolidin-2-ona. (67g)



Siguiendo con el procedimiento general, en un matraz redondo de 50 mL se pesó (0.3 g, 1.28 mmol) del 5-etil-3-(hidroximetil)-4-(*p*-tolil)pirrolidin-2-ona **66c** se agregó DCM seco, y se le adicionó (0.26 g, 0.35 mL, 2.56 mmol) de trietilamina, la mezcla de reacción se colocó en un baño de hielo, posteriormente se le agregó (0.29 g, 0.19 mL, 2.56 mmol) del cloruro de mesilo y se dejó a temperatura ambiente. Después de la purificación por cromatografía en columna

utilizando un sistema 98:2 DCM-metanol, se obtuvo el compuesto **67g** un sólido blanco con un rendimiento de 80% (0.22 g) y p.f.= 125-126 °C. **IR** ν_{\max} : 3172, 2929, 1697, 1663, 1510, 1400, 1114, 807 cm^{-1} . **$^1\text{H RMN}$** (600 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0.78 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 0.99 - 1.11 (m, 2H), 2.33 (s, 3H), 3.67-3.76 (m, 1H), 4.25 - 4.33 (m, 1H), 5.28 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 6.17 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 7.07 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.12 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.21 (señal ancha, 1H). **$^{13}\text{C RMN}$** (151 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 10.8, 21.1, 26.7, 48.8, 58.1, 118.1, 129.1 (2C), 129.5 (2C), 135.5, 136.9, 143.5, 170.8. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 216.2983 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$: 216.1389.

7.6 Preparación del ácido (S)-2-(1,3-dioxoisoindolin-2-il) propanoico. (S)-77

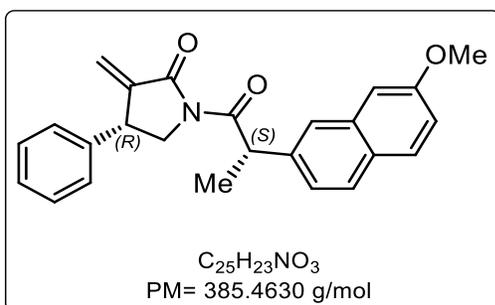


En un matraz redondo de 25 mL provisto con barra de agitación magnética se pesó (0.50 g, 5.61 mmol) del aminoácido *L*-alanina se le adicionó 10 mL de tolueno para disolverla completamente y enseguida se le adicionó (0.76 g, 6.1 mmol) del anhídrido ftálico y (0.052 g, 0.071 mL, 0.51mmol) de trietilamina mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante 4 h. Al finalizar el tiempo de reacción se evaporó el tolueno en el rotaevaporador. Posteriormente se realizaron extracciones con acetato de etilo. Finalmente se evaporó el disolvente al vacío y se purificó por cromatografía en columna, se obtuvo 79% de rendimiento del compuesto (S)-77 como un sólido blanco con p.f. = 119-121 °C. $[\alpha]_D^{20} = -23.3$ (conc.= 0.5 g/ dL, EtOH). **IR** ν_{\max} : 2934, 1734, 1726, 1714, 1456, 1175, 783. **RMN de ^1H** (200 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1.71 (d, 3H) 5.04 (c, 1H), 7.7-8.0 (m, 4H), 10.3 (señal ancha, 1H). **RMN de ^{13}C** (50 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 14.9, 47.2, 123.5, 123.6, 131.7, 134.2, 134.3, 167.3, 175.6. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{NO}_4$, $[\text{M}+\text{H}]^+$: 219.2023 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$: 219.0607.

7.7 Procedimiento general para la separación diastereoisomérica de las α -metilen- γ -lactamas, utilizando (S)-Naproxeno como agente de resolución.

En un matraz redondo de 50 mL, se pesó el (S)-Naproxeno, enseguida se colocó una barra de agitación magnética y se le adicionó THF anhidro como disolvente y se llevó a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, posteriormente se agregaron 1.3 eq. de Et_3N y 3 eq. de PivCl y se dejó la reacción a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 45 min. En otro matraz se pesó (1 eq) de la α -metilen- γ -lactama, y se le adicionó THF anhidro como disolvente y se llevó a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, enseguida se agregó (1.2 eq) de $n\text{-BuLi}$ y se dejó reaccionar 15 min. Al finalizar el tiempo ambas reacciones se llevaron a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ y el matraz con el anhídrido mixto del Naproxeno, fue agregado gota a gota al matraz del anión de la α -metilen- γ -lactama, dejando en agitación y a t.a. toda la noche (15 h aproximadamente). Al término de la reacción se agregaron 10-15 mL de una solución saturada de NH_4Cl , y se procedió a extraer con DCM (3 X 15). Finalmente, se eliminó el disolvente con ayuda de un rotaevaporador y posteriormente se realizó la separación por cromatografía en columna en un sistema 98:2 Hexano-AcOEt.

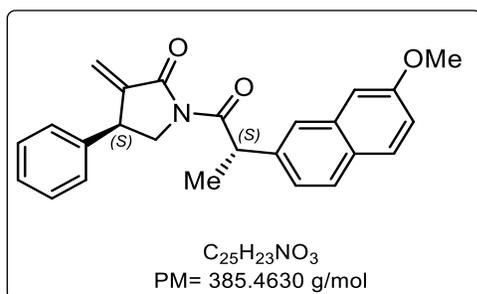
7.7.1 Preparación del (R)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona. (R,S)-67a



En un matraz redondo de 25 mL provisto con barra de agitación magnética se pesó el (S)-Naproxeno (0.073 g, 3.20 mmol), A continuación, se le adicionaron 5 mL de THF, hasta disolverla completamente, enseguida se le adicionó (0.058 mL, 4.16 mmol) de Et_3N y (0.118 mL, 9.60 mmol) de PivCl y la reacción se dejó por 45 min, en el otro matraz de 25 mL se pesó (0.050 g, 2.67 mmol) la α -metilen- γ -lactama y se le adicionaron 5 mL de THF hasta disolverla completamente, posteriormente se adicionó 1.3 eq (0.12 mL, 3.20 mmol) de $n\text{-BuLi}$, después de 15 min de reacción, el matraz con el anhídrido mixto formado del Naproxeno, fue agregado gota a gota al matraz del anión de la α -metilen- γ -lactama, dejándolo en agitación, y fue

monitoreada por CCF. finalmente, se realizó la separación diastereoisomérica por cromatografía en columna hexano-AcOEt (98:2), y se obtuvo un sólido blanco con 18% de rendimiento del compuesto menos polar (*R,S*)-**67a**. $[\alpha]_D^{20} = -61.1$ (conc.= 0.6 g/ dL, CHCl₃). IR ν_{\max} : 2920, 2850, 1726, 1688, 1604, 1346, 1226, 1155, 1029, 806 cm⁻¹. RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.52 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 3.69 (dd, *J* = 11.7 y 7.4 Hz, 1H), 3.81-3.86 (m, 1H), 3.84 (s, 1H), 4.10 (dd, *J* = 11.7 y 9.4 Hz, 1H), 5.19 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 5.30 (c, *J* = 6.9 Hz, 1H), 6.22 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 7.03-7.13 (m, 5H), 7.20-7.31 (m, 3H), 7.43-7.45 (m, 1H), 7.61-7.70 (m, 3H). RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 19.5, 29.2, 41.5, 45.0, 51.3, 55.5, 105.7, 119.0, 122.7, 126.8, 127.3, 127.8, 128.2, 129.2, 129.6, 133.8, 136.3, 140.6, 145.0, 157.8, 166.4. HRMS (FAB⁺) Calculada para C₂₅H₂₃NO₃, [M+H]⁺: 386.1751 Observada [M+H]⁺: 386.1785.

7.7.2 Preparación del (*S*)-1-((*S*)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona. (*S,S*)-**67a**.



En un matraz redondo de 25 mL provisto con barra de agitación magnética se pesó (0.073 g, 3.20 mmol) el (*S*)-Naproxeno, A continuación, se le adicionaron 5 mL de THF, hasta disolverla completamente, enseguida se le adicionó (0.058 mL, 4.16 mmol) de Et₃N y

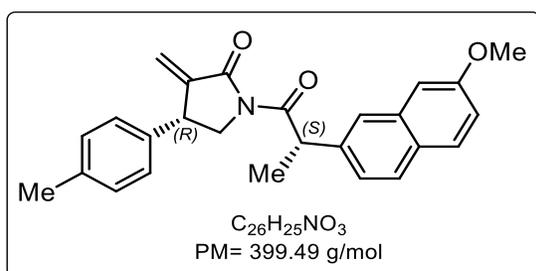
(0.118 mL, 9.60 mmol) de PivCl y la reacción se dejó por 45 min, en el otro matraz de 25 mL se pesó (0.050 g, 2.67 mmol) de la α -metilen- γ -lactama y se le adicionó 5 mL de THF hasta disolverla completamente, posteriormente, se le adicionó 1.3 eq. (0.12 mL, 3.20 mmol) de *n*-BuLi, después de 15 min de reacción, el matraz con el anhídrido mixto formado del Naproxeno, fue agregado gota a gota al matraz del anión de la α -metilen- γ -lactama, dejando en agitación, y fue monitoreada por CCF, finalmente, se realizó la separación diastereoisomérica por cromatografía en columna hexano-AcOEt (98:2), y se obtuvo un sólido blanco con un rendimiento del 16% del compuesto más polar (*S,S*)-**67a**. $[\alpha]_D^{20} = +17.7$ (conc.= 0.5 g/ dL, CHCl₃).

IR ν_{\max} : 2917, 2849, 1727, 1689, 1604, 1347, 1226, 1155, 1030, 807 cm⁻¹. RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.52 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 3.59 (dd, *J* = 11.8 y 5.9 Hz, 1H), 3.85 (s, 1H), 3.94 (m, 1H), 4.23 (dd, *J* = 12.6 y 6.3 Hz, 1H), 5.24 (d, *J* = 2.5

Hz, 1H), 5.24 (c, $J = 6.7$ Hz, 1H), 6.19 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 6.88-6.91 (m, 2H), 7.04-7.14 (m, 5H), 7.43-7.45 (m, 1H), 7.61-7.70 (m, 3H). **RMN de ^{13}C** (125 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 19.7, 29.9, 41.5, 45.1, 51.0, 55.5, 105.7, 119.0, 122.8, 126.6, 127.2, 127.4, 127.6, 129.1, 129.6, 133.8, 136.2, 141.4, 144.8, 157.8, 166.5, 176.2.

HRMS (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{NO}_3$, $[\text{M}+\text{H}]^+$: 386.1751 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$: 386.1752.

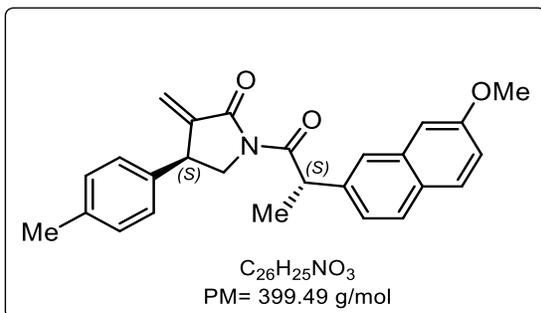
7.7.3 Preparación del (*R*)-1-((*S*)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-(*p*-tolil)pirrolidin-2-ona. (*R,S*)-**67c**



En un matraz redondo de 25 mL provisto con barra de agitación magnética se pesó (0.073 g, 3.20 mmol) del (*S*)-Naproxeno. A continuación, se le adicionaron 5 mL de THF hasta disolverla completamente, enseguida se le adicionó (0.058 mL, 4.16

mmol) de Et_3N y (0.118 mL, 9.60 mmol) PivCl y la reacción se dejó por 45 min, en el otro matraz de 25 mL se pesó (0.050 g, 2.67 mmol) de la α -metilen- γ -lactama y se le adicionó 5 mL de THF hasta disolverla completamente, posteriormente, se le adicionó 1.3 eq de (0.12 mL, 3.20 mmol) *n*-BuLi, después de 15 min de reacción, el matraz con el anhídrido mixto del Naproxeno, fue agregado gota a gota al matraz del anión de la α -metilen- γ -lactama, dejándolo en agitación, y fue monitoreada por CCF, finalmente, se realizó la separación diastereoisomérica por cromatografía en columna hexano-AcOEt (98:2), y se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento de 14% (0.017 g) del compuesto menos polar (*R,S*)-**67c**. $[\alpha]_D^{20} = -35.4$ (conc. = 0.8 g/ dL, CHCl_3). **IR** ν_{max} : 2920, 2851, 1727, 1688, 1604, 1352, 1226, 1030, 805 cm^{-1} . **RMN de ^1H** (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1.58 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 2.34 (s, 3H), 3.73 (dd, $J = 11.7$ y 7.5 Hz, 1H), 3.87 (m, 1H), 3.91 (s, 1H), 4.15 (dd, $J = 11.7$ y 9.3 Hz, 1H), 5.25 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 5.36 (c, $J = 7.0$ Hz, 1H), 6.27 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 7.06-7.16 (m, 3H), 7.49-7.51 (m, 1H). **RMN de ^{13}C** (125 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 19.5, 21.2, 29.8, 41.2, 45.0, 51.4, 55.5, 105.7, 115.0, 119.0, 122.5, 126.7, 127.2, 128.0, 129.1, 129.6, 129.9, 133.8, 136.3, 137.5, 145.2, 157.8. **HRMS** (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{NO}_3$, $[\text{M}+\text{H}]^+$: 400.1907 Observada $[\text{M}+\text{H}]^+$: 400.1952.

7.7.4 Preparación del (S)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (S,S)-67c

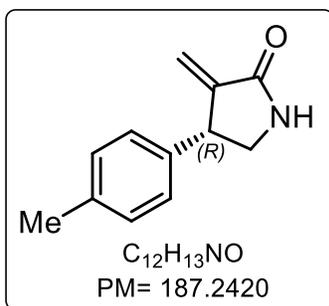


En un matraz redondo de 25 mL provisto con barra de agitación magnética se pesó (0.073 g, 3.20 mmol) del (S)-Naproxeno. A continuación, se le adicionaron 5 mL de THF hasta disolverla completamente, enseguida se le adicionó (0.058 mL, 4.16 mmol) Et_3N y (0.118 mL, 9.60 mmol) de PivCl y la reacción se dejó por 45 min, en el otro matraz de 25 mL se pesó (0.050 g, 2.67 mmol), la α -metilen- γ -lactama y se le adicionó 5 mL de THF hasta disolverla completamente, posteriormente, se le adicionó 1.3 eq. de (0.12 mL, 3.20 mmol) *n*-BuLi, después de 15 min de reacción, el matraz con el anhídrido mixto del Naproxeno, fue agregado gota a gota al matraz del anión de la α -metilen- γ -lactama, dejándolo en agitación, y fue monitoreada por CCF, finalmente, se realizó la separación diastereoisomérica por cromatografía en columna hexano-AcOEt (98:2), y se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 12% (0.015 g) del compuesto más polar (S,S)-67c. $[\alpha]_D^{20} = +9.0$ (conc.= 0.7 g/ dL, $CHCl_3$). IR ν_{max} : 2920, 2851, 1728, 1689, 1604, 1458, 1260, 1029, 643 cm^{-1} . RMN de 1H (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 1.59 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 2.26 (s, 3H), 3.62 (dd, $J = 11.8$ y 6.0 Hz, 1H), 3.92 (s, 1H), 3.98 (m, 1H), 4.29 (dd, $J = 11.7$ y 9.1 Hz, 1H), 5.29 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 5.31 (c, $J = 7.0$ Hz, 1H), 6.24 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 6.08-7.72 (m, 4H). RMN de ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 19.7, 21.1, 29.9, 31.4, 41.2, 45.1, 51.3, 55.5, 105.7, 118.9, 122.6, 126.6, 127.2, 127.4, 129.1, 129.6, 129.8, 133.8, 136.2, 137.2, 138.3, 145.0, 157.7, 166.6, 176.2. HRMS (FAB $^+$) Calculada para $C_{26}H_{25}NO_3$, $[M+H]^+$: 400.1907. Observada $[M+H]^+$: 400.1952.

7.8 Procedimiento general remoción del agente quiral del (S)-Naproxeno

En un matraz redondo de 10 mL se pesaron los diastereoisómero (R,S)-**67c** y (S,S)-**67c**, posteriormente se agregaron 0.5 ml de THF y se inició la agitación, enseguida se le adicionaron 0.3 mL de una solución de KOH 1 N y se dejó reaccionar por 2 h, al término del tiempo de reacción se realizó CCF y el producto fue aislado con extracciones con DCM (4x3), la fase orgánica se llevó a sequedad, obteniendo el producto sin necesidad de purificación.

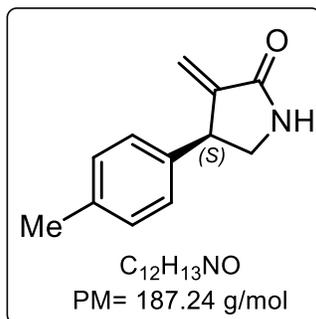
7.8.1 Preparación de la 3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (R)-(**67c**).



Siguiendo con el procedimiento general, se pesó el (R)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (R,S)-**67c**, enseguida se le adicionaron 0.3 mL de una solución de KOH 1 N y se dejó reaccionar por 2 h, obteniéndose un sólido blanco con un rendimiento del 98% (0.008g), p.f.= 115-117 °C. $[\alpha]_D^{20} = -40.5$ (conc.= 0.34 g/dL, CHCl₃). IR ν_{\max} : 2920,

2851, 1660, 1456, 1259, 1092, 798 cm⁻¹. ¹H RMN (600 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 2.33 (s, 3H), 3.36 (dd, *J* = 9.7, 5.9 Hz, 1H), 3.80 (dd, *J* = 9.6, 9.0 Hz, 1H), 4.11-4.16 (m, 1H), 5.17 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.12 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H), 7.11 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.15 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H). ¹³C RMN (151 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 22.7, 44.5, 48.2, 118.0, 127.7, 129.6, 137.0, 138.8, 143.7, 170.3. HRMS (FAB⁺) Calculada para C₁₂H₁₃NO [M+H]⁺: 188.1076. Observada [M+H]⁺: 188.1091.

7.8.2 Preparación de la 3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (S)-(**67c**).



Siguiendo con el procedimiento general, se pesó el (S)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (S,S)-**67c**, enseguida se le adicionaron 0.3 mL de una solución de KOH 1 N y se dejó reaccionar por 2 h, obteniéndose un sólido blanco con un rendimiento del 98% (0.007 g), p.f.= 115-117 °C. $[\alpha]_D^{20} = 5.6$ (conc.= 0.7 g/dL, CHCl₃). IR ν_{\max} : 2920, 2851,

1660, 1456, 1259, 1092, 798 cm⁻¹. ¹H RMN (600 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 2.35 (s,

3H), 3.38 (dd, $J = 9.7, 5.9$ Hz, 1H), 3.80 (dd, $J = 9.6, 9.0$ Hz, 1H), 4.11-4.16 (m, 1H), 5.17 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.12 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.15 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H). ^{13}C RMN (MHz, CDCl_3): δ (ppm) 22.7, 44.5, 48.2, 118.0, 127.7, 129.6, 137.0, 138.8, 143.7, 170.3. HRMS (FAB⁺) Calculada para $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{NO}$ [M+H]⁺: 188.1075. Observada [M+H]⁺: 188.1076.

7.9 Procedimiento general para la evaluación in vitro de la actividad inhibitoria de las α -metilen- γ -lactamas sobre las enzimas de α -glucosidasas.

Se evaluó la actividad inhibitoria sobre las enzimas α -glucosidasas intestinales de las α -metilen- γ -lactamas a una concentración exploratoria de 1000 μM , utilizando Acarbosa (1000 μM) como referencia.

Se utilizaron ratas de la cepa Wistar, las cuales fueron sacrificadas por dislocación cervical; posteriormente se realizó una incisión abdominal, se removió cuidadosamente el intestino delgado y se lavó varias veces con una solución de NaCl al 0.9% en una solución tampón de fosfato de sodio 10 mM (pH 7.0) y ampicilina (1 mg/mL), posteriormente, se aisló el tejido adiposo, y al tejido libre de grasa se le realizó un corte longitudinal. A continuación, sobre una superficie de cristal, en un baño de hielo, se raspó el intestino para lograr obtener la mucosa intestinal. El material obtenido fue homogeneizado y almacenado en criotubos a -80 °C.

Para medir la actividad enzimática se utilizó almidón de maíz como sustrato (12.5 mg/mL) en una solución tampón de fosfatos 10 μM (pH 7.0). De este modo, se efectuaron reacciones por cuadruplicado, adicionando 100 μL de sustrato, 60 μL de la solución tampón y 25 μL de las muestras de prueba; las reacciones fueron iniciadas con la adición de 50 μL de enzima, incubando cada tubo en un termoblock a 37 °C durante 10 minutos a 450 rpm. Las reacciones se detuvieron con la adición de 2 μL de Acarbosa y se colocaron inmediatamente en un baño de hielo. La determinación de glucosa liberada fue cuantificada mediante un kit comercial de glucosa oxidasa (GOD-POD, SpinReact), siguiendo las indicaciones del fabricante (relación 1:100 muestra/reactivo; 250 μL de volumen final), en microplacas de 96 pozos, midiendo su absorbancia a 505 nm en un lector de

microplacas genérico. Los datos obtenidos fueron analizados utilizando el programa GraphPad Prism 6.01 para el cálculo del análisis de varianza (ANOVA) de una vía seguida de la prueba de Dunnett para comparar los tratamientos contra el control.

7.10 Procedimiento general para la evaluación de la actividad antiinflamatoria de las α -metilen- γ -lactamas.

Se evaluó la actividad antiinflamatoria de mediante un modelo murino de inducción de edema auricular con TPA (acetato de 12-O-tetraecanoil-forbol), a una dosis de 10 mg/oreja, utilizando indometacina como control positivo.

El protocolo fue aprobado por el Comité para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Facultad de Medicina (CCUAL-FM-UAEM), con el número de autorización 005/2018. Se utilizaron ratones macho de la cepa CD-1 (20-25 g, 8-12 semanas de edad), obtenidos de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Los animales fueron mantenidos bajo condiciones estándar de laboratorio, a una temperatura constante (22 ± 1 °C), en un ciclo de 12 horas luz/oscuridad y una humedad de 45-65%, de acuerdo con lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.

Previo al inicio del experimento, los animales fueron separados aleatoriamente en 5 grupos de experimentación. Todos fueron anestesiados con 3 UI de pentobarbital. Para la inducción del edema se empleó una solución de TPA (2.5 mg) disuelto en etanol (10 mL), el cual induce una respuesta inflamatoria caracterizada por edema e hiperplasia epidérmica, signos asociados a un incremento de eicosanoides (PGE2 y LTB4) mediante diferentes mecanismos, como la activación de la proteína cinasa C, la fosfolipasa A2, la inducción de la ciclooxigenasa y la traslocación o activación de la lipoxigenasa.

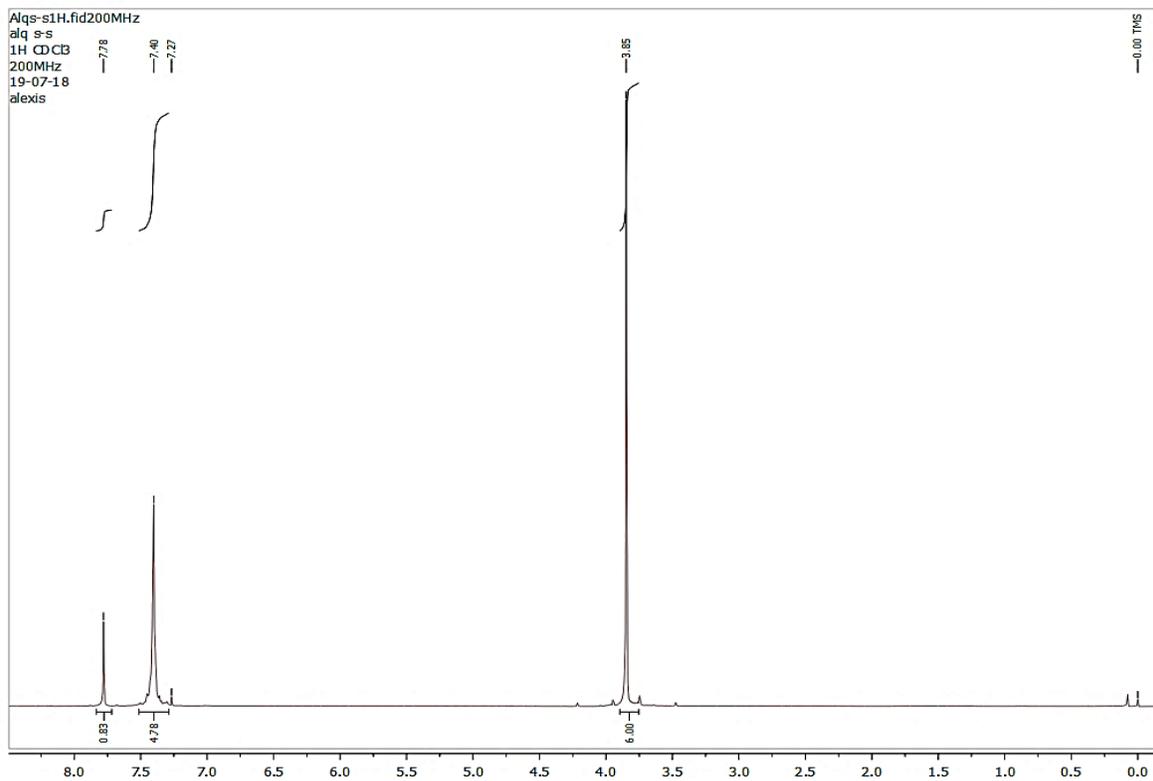
A todos los grupos se les administró tópicamente 10 μ L de TPA en ambos lados de la oreja derecha (5 μ L/lado). Transcurridos 10 minutos, se administraron las muestras de prueba, disueltas en una solución 90:10 Agua:DMSO. El grupo 1 fue administrado con la solución agua:DMSO, mientras que al grupo 2 se le administró indometacina (10 μ g/oreja). En todos los casos, la oreja izquierda fue tratada con vehículo. Finalmente, 4 horas después del tratamiento, los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical, removiendo círculos de 6 mm de

diámetro de cada una de las orejas.

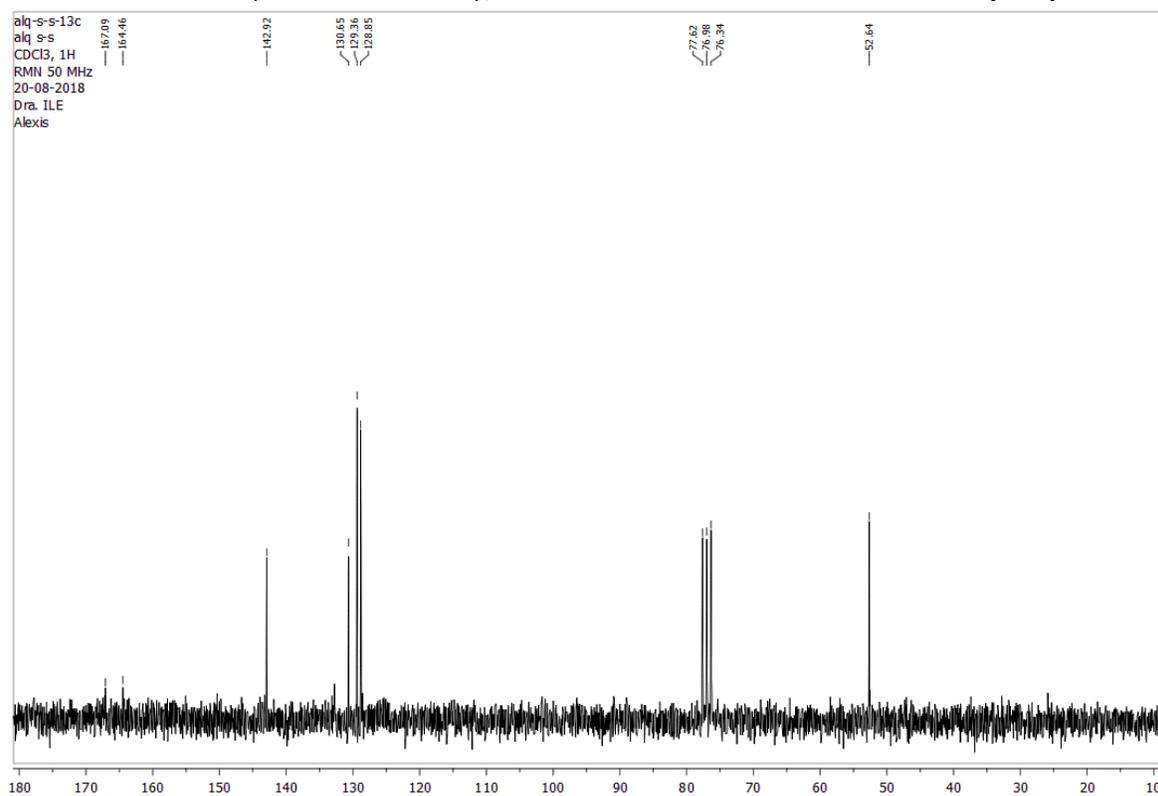
El análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó mediante un ANOVA de una vía, seguido de una prueba de Dunnett para determinar diferencias estadísticamente significativas al comparar todos los grupos con el vehículo; utilizando el programa GraphPad Prism, Versión 5.0.

8. Anexos

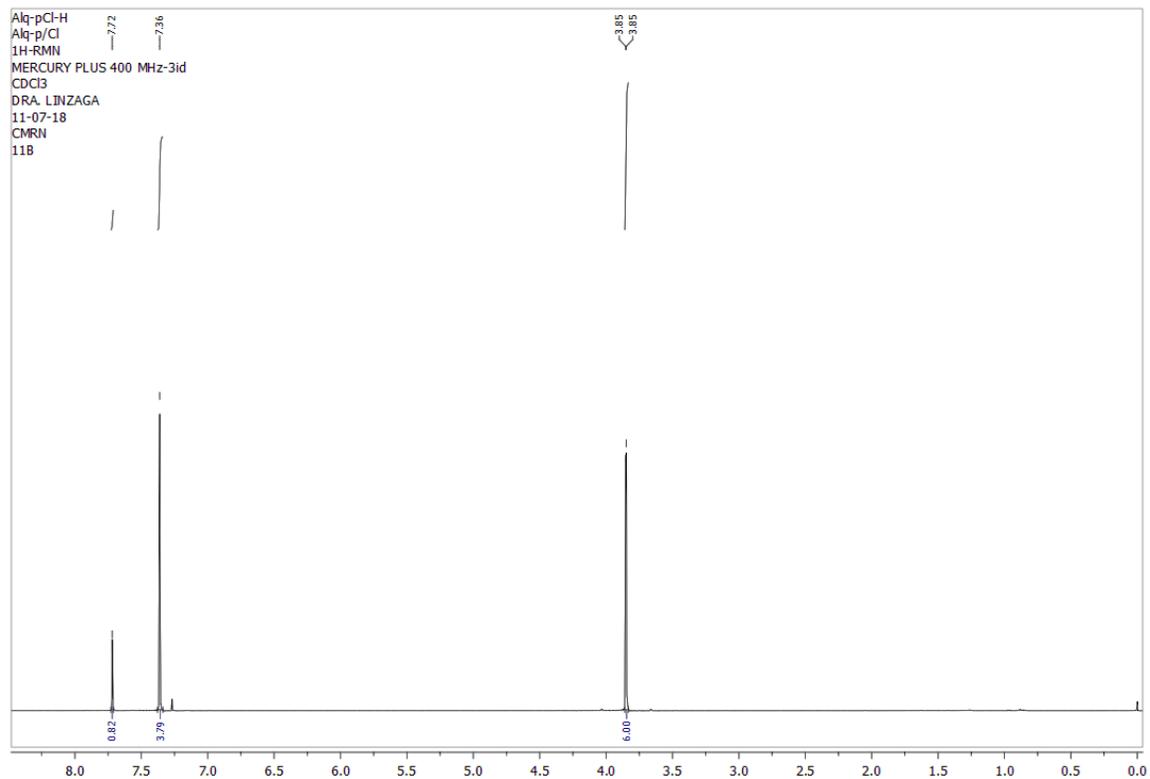
RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3), 2-bencilidenmalonato de dimetilo. (63a).



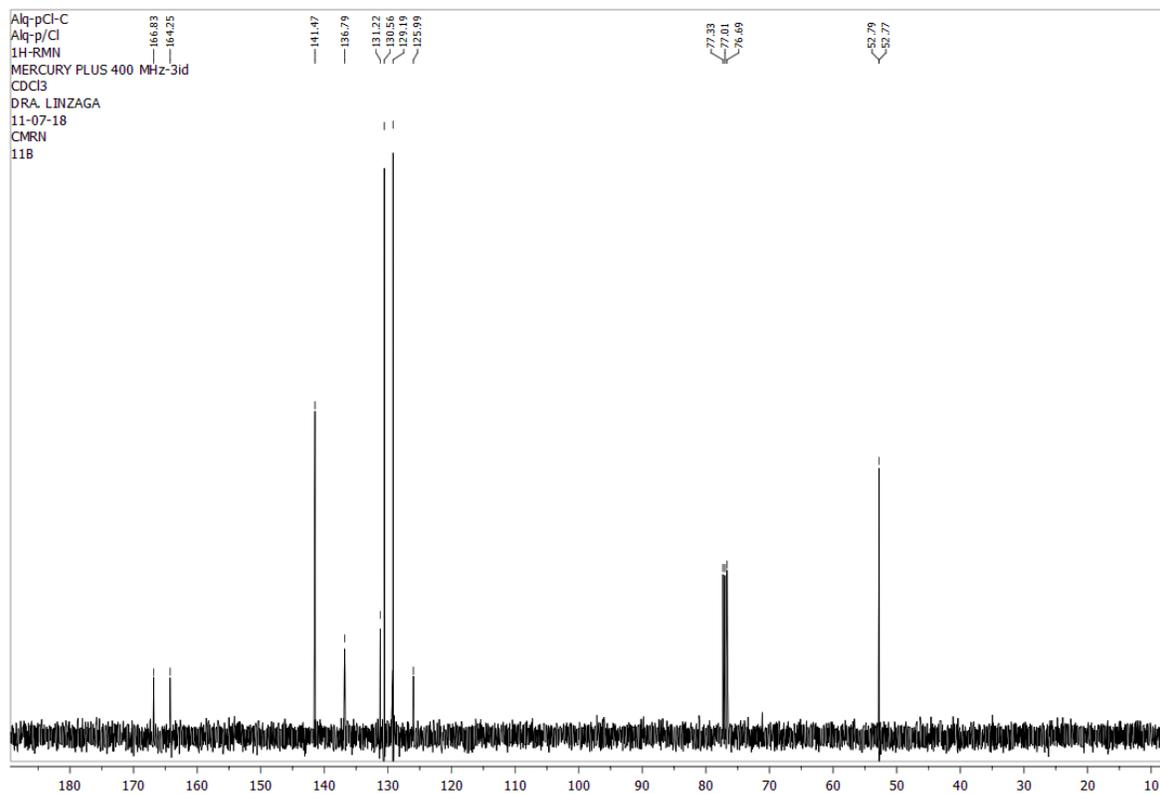
RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3), 2-bencilidenmalonato de dimetilo. (63a).



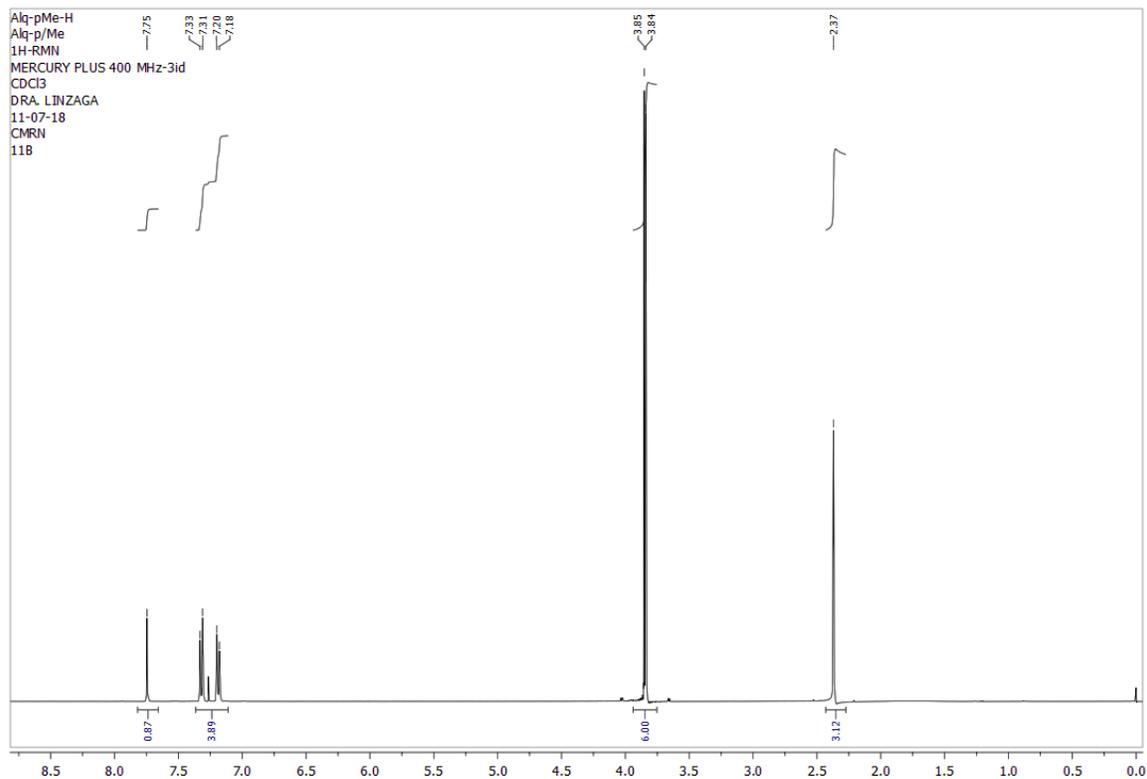
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), 2-(4-clorobenciliden)malonato de dimetilo. (63b).



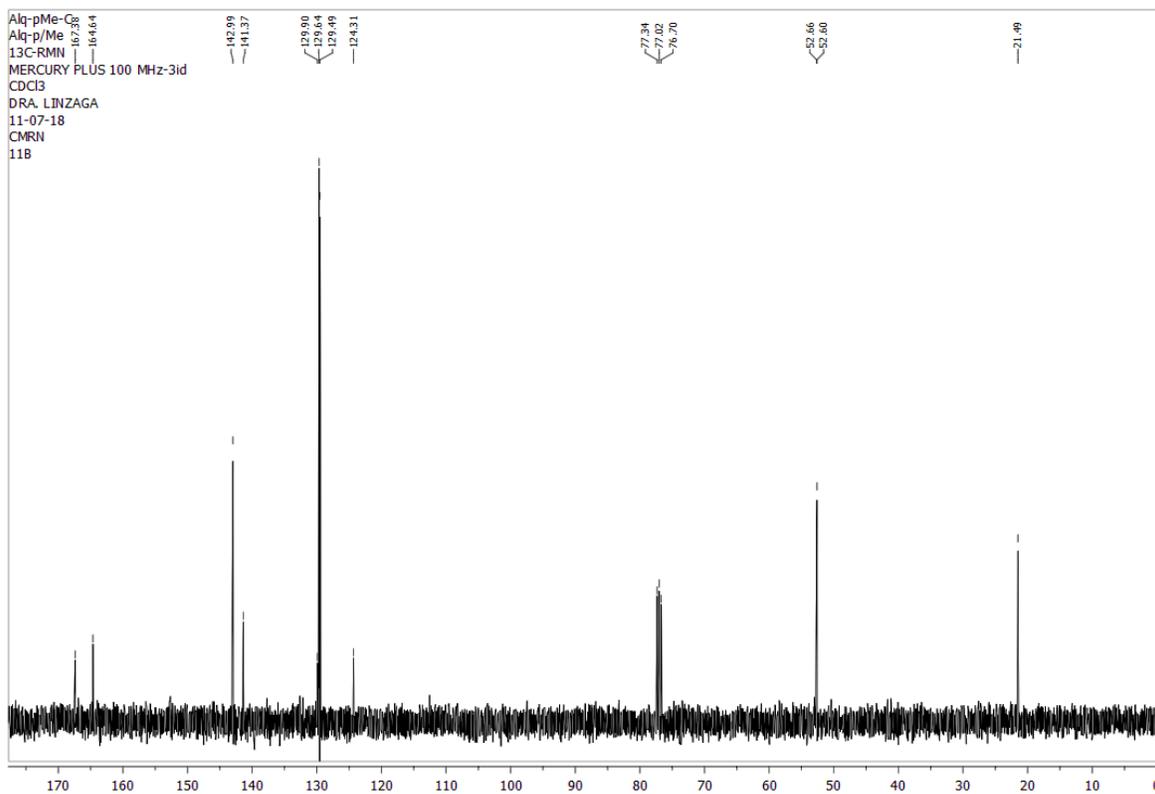
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), 2-(4-clorobenciliden)malonato de dimetilo. (63b).



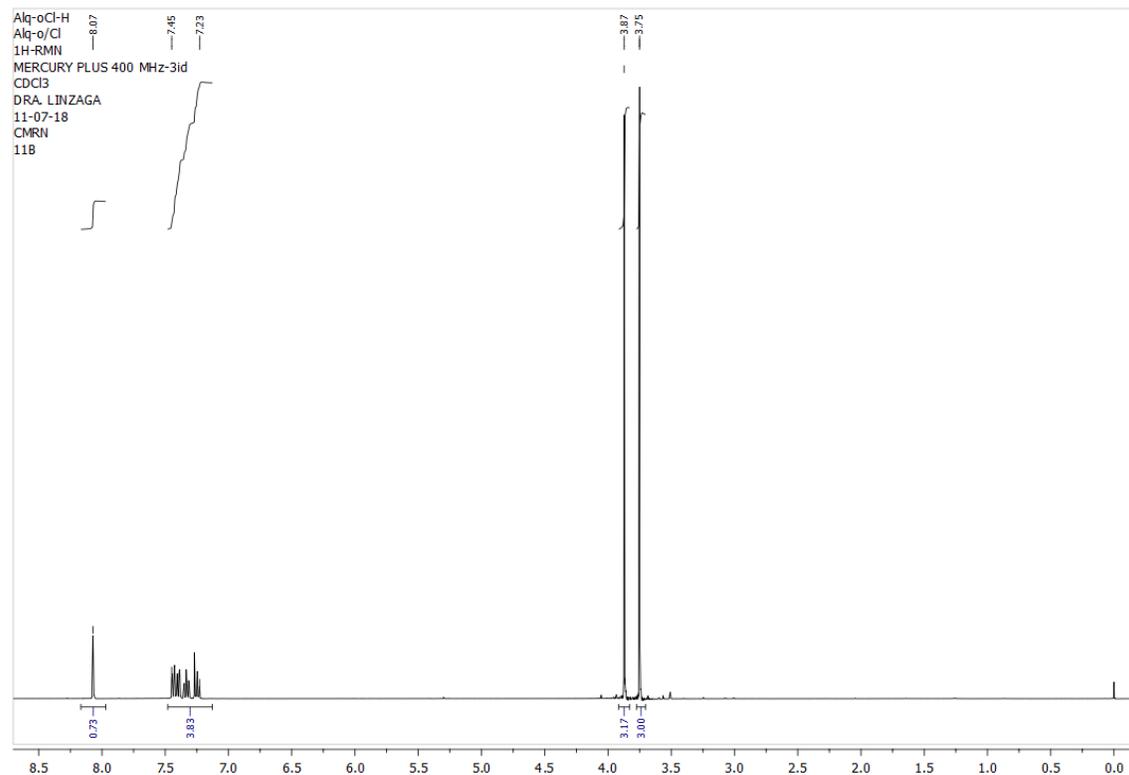
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), 2-(4-metilbenciliden)malonato de dimetilo. (63c).



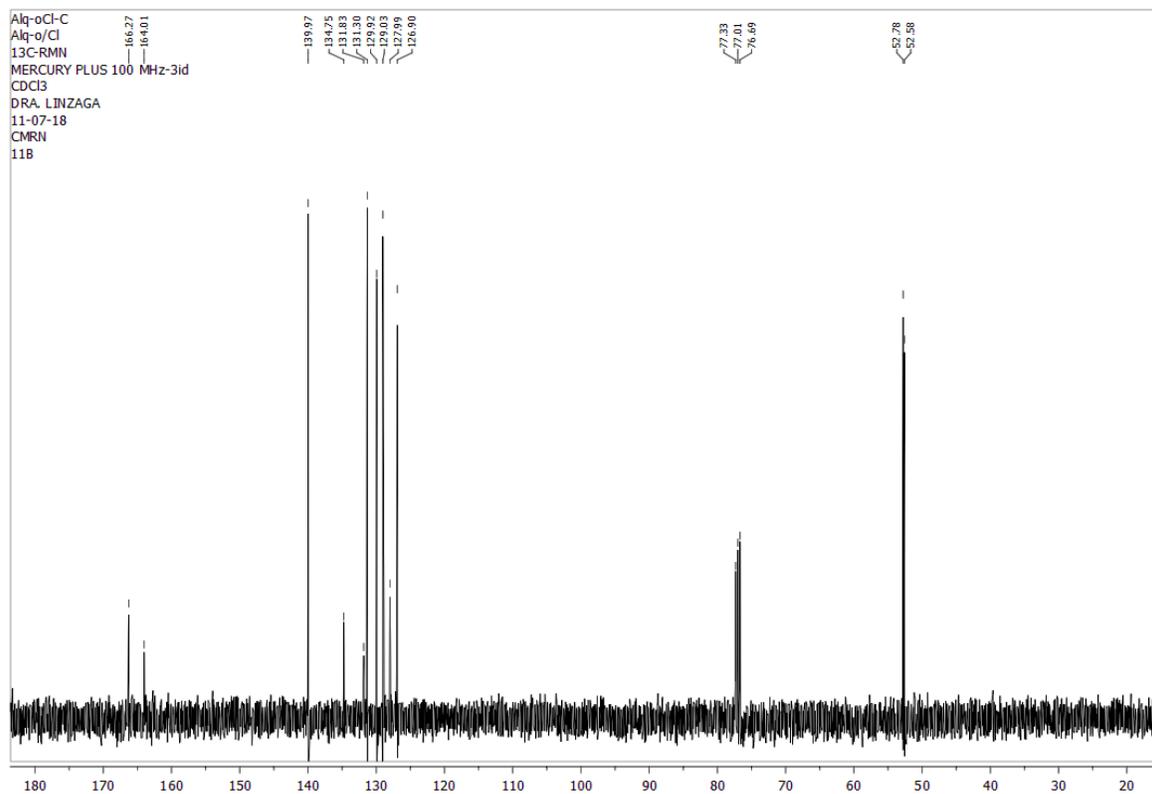
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), 2-(4-metilbenciliden)malonato de dimetilo. (63c).



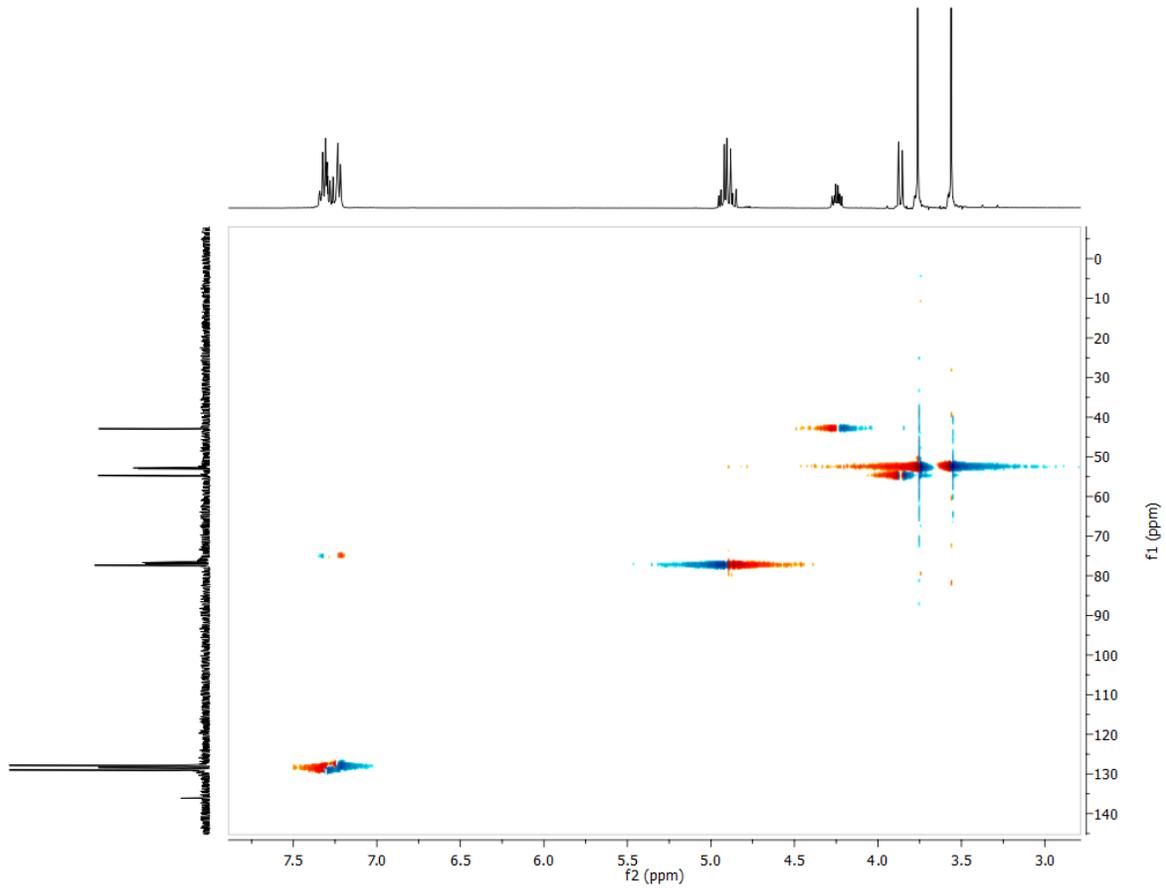
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), 2-(2-clorobenciliden)malonato de dimetilo. (63d).



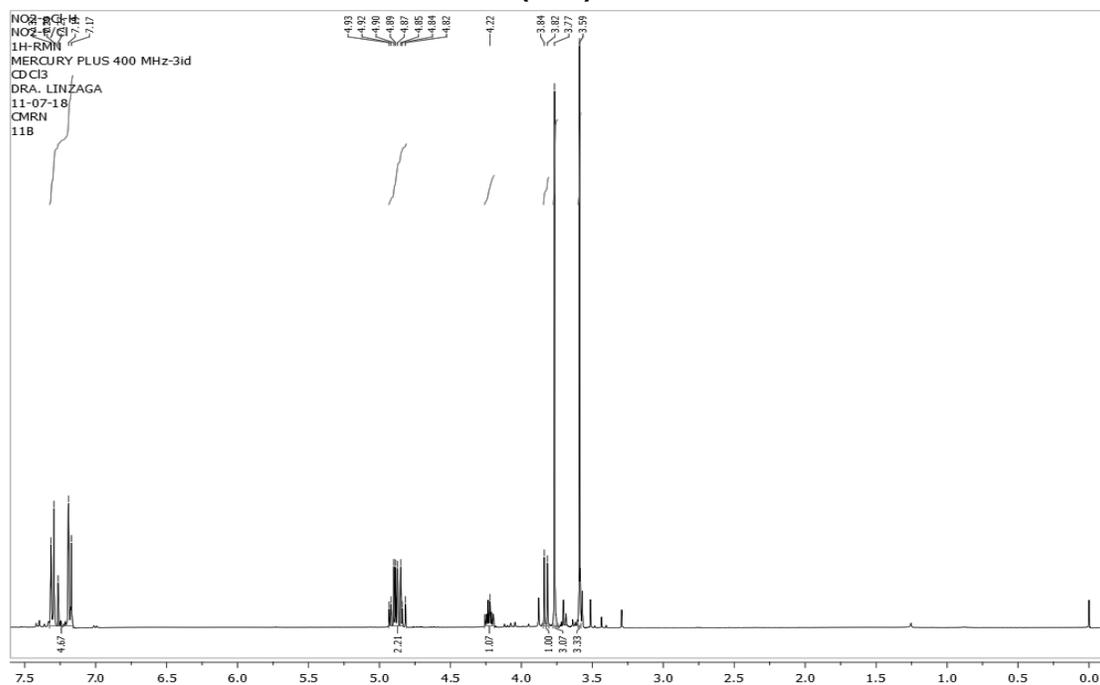
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), 2-(2-clorobenciliden)malonato de dimetilo. (63d).



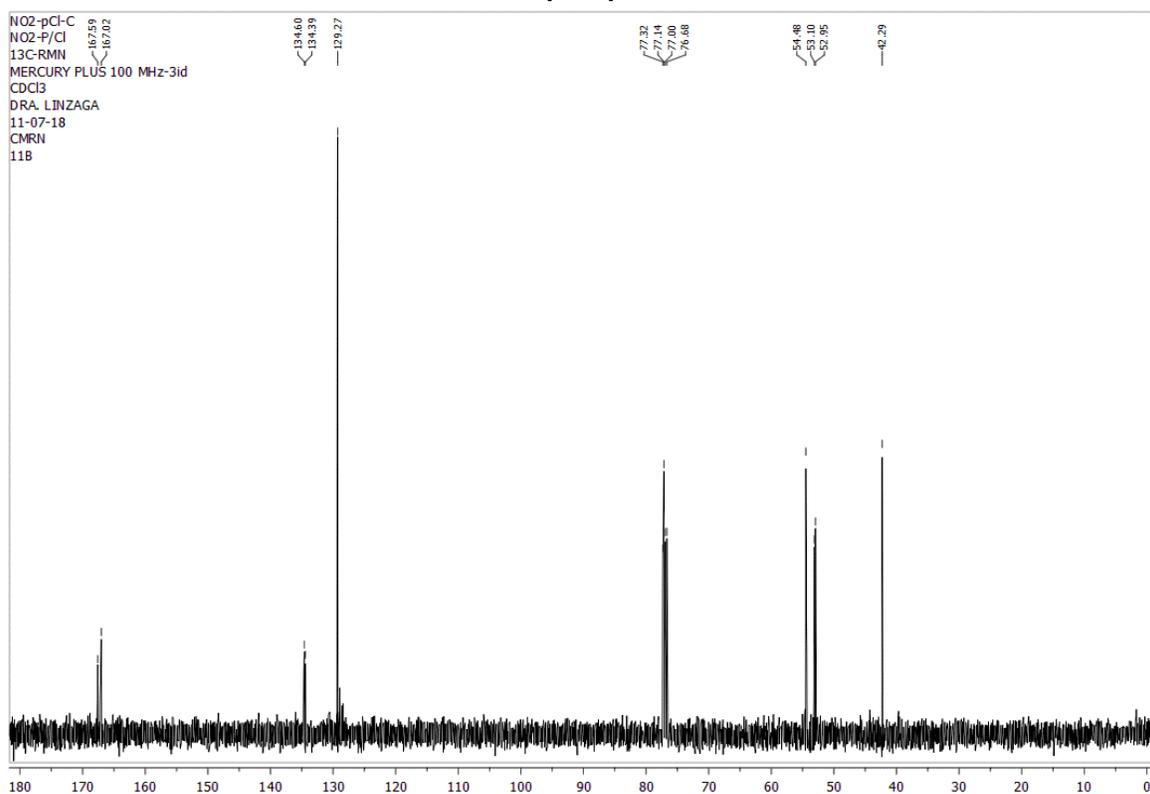
HSQC (100 MHz, CDCl₃), 2-(2-nitro-1-feniletil)malonato de dimetilo. (64a).



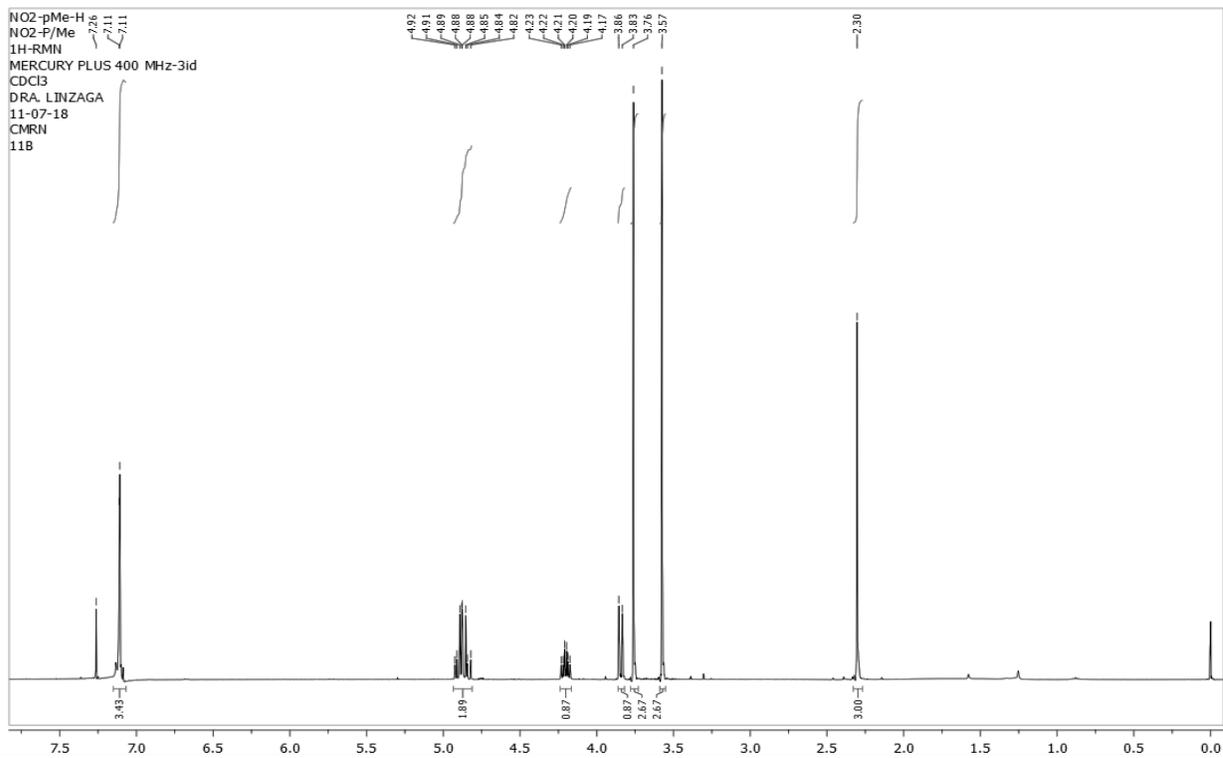
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), 2-(2-nitro-1-(4-clorofenil)etil)malonato de dimetilo.
(64b).



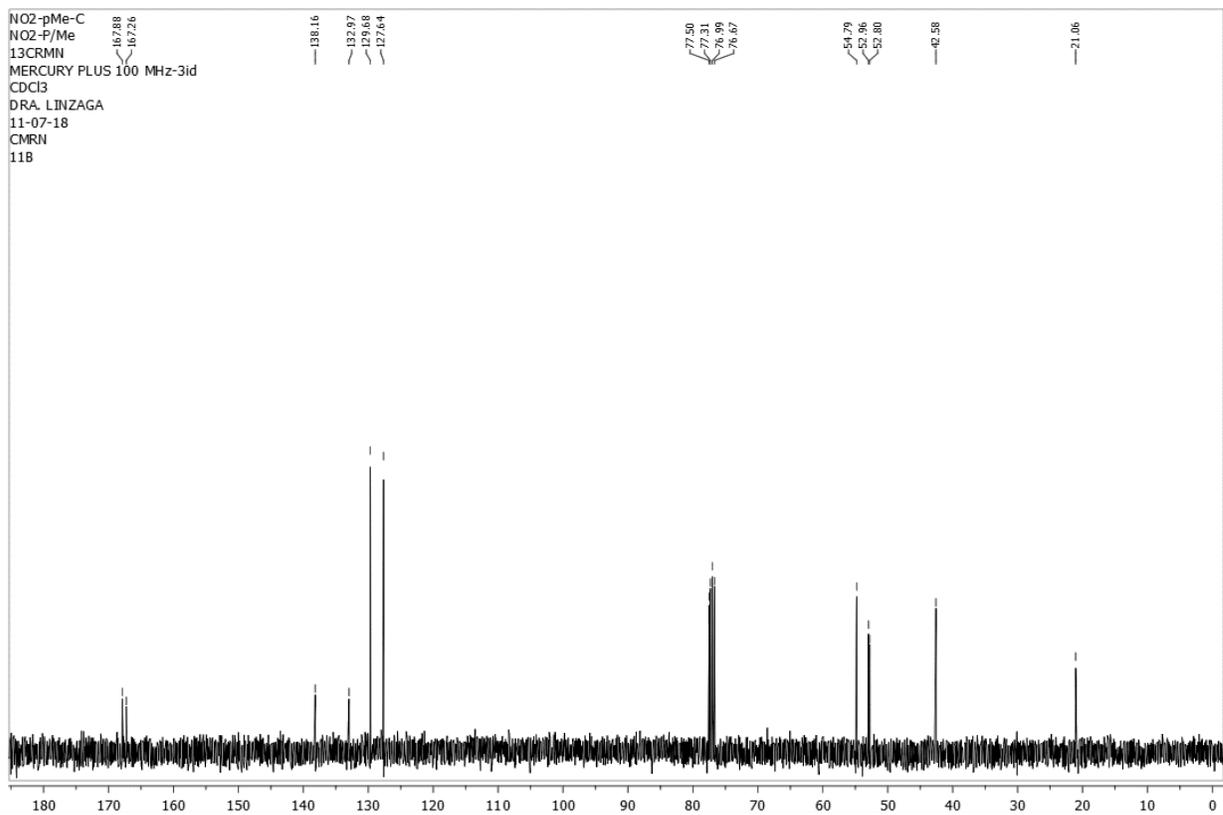
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), 2-(2-nitro-1-(4-clorofenil)etil)malonato de dimetilo.
(64b).



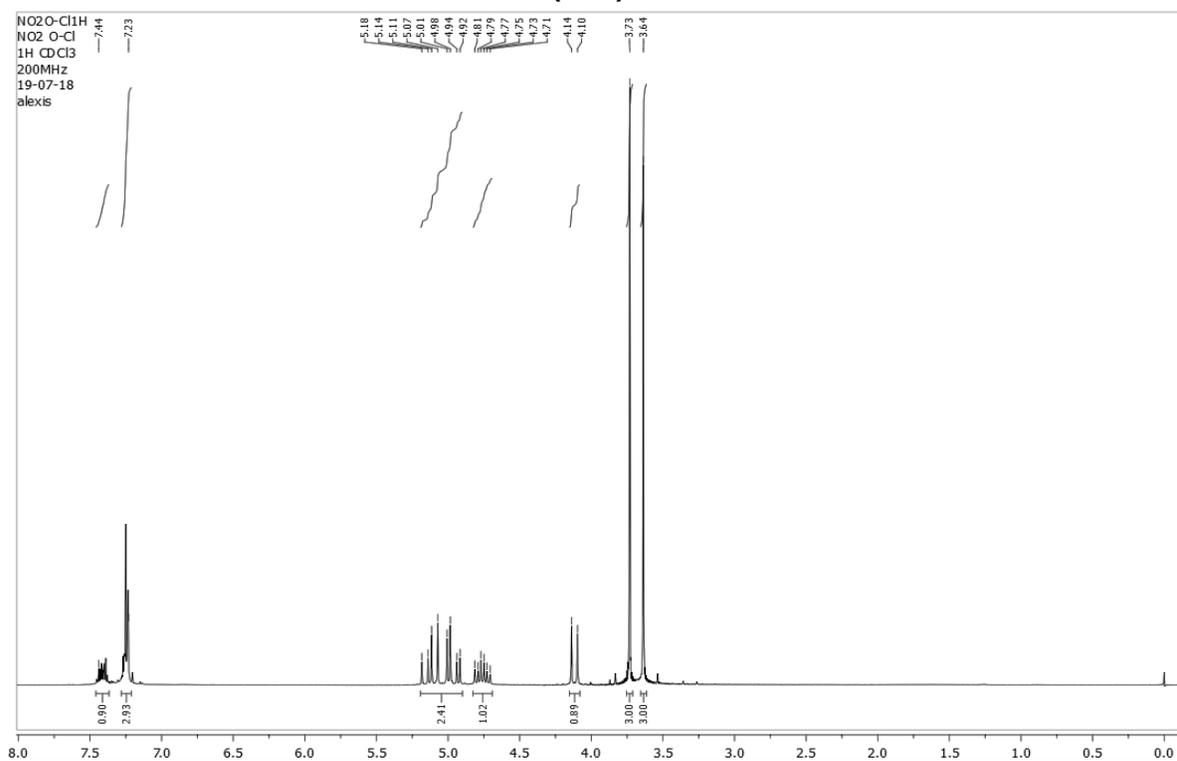
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), 2-(2-nitro-1-(p-tolil)etil)malonato de dimetilo. (64c).



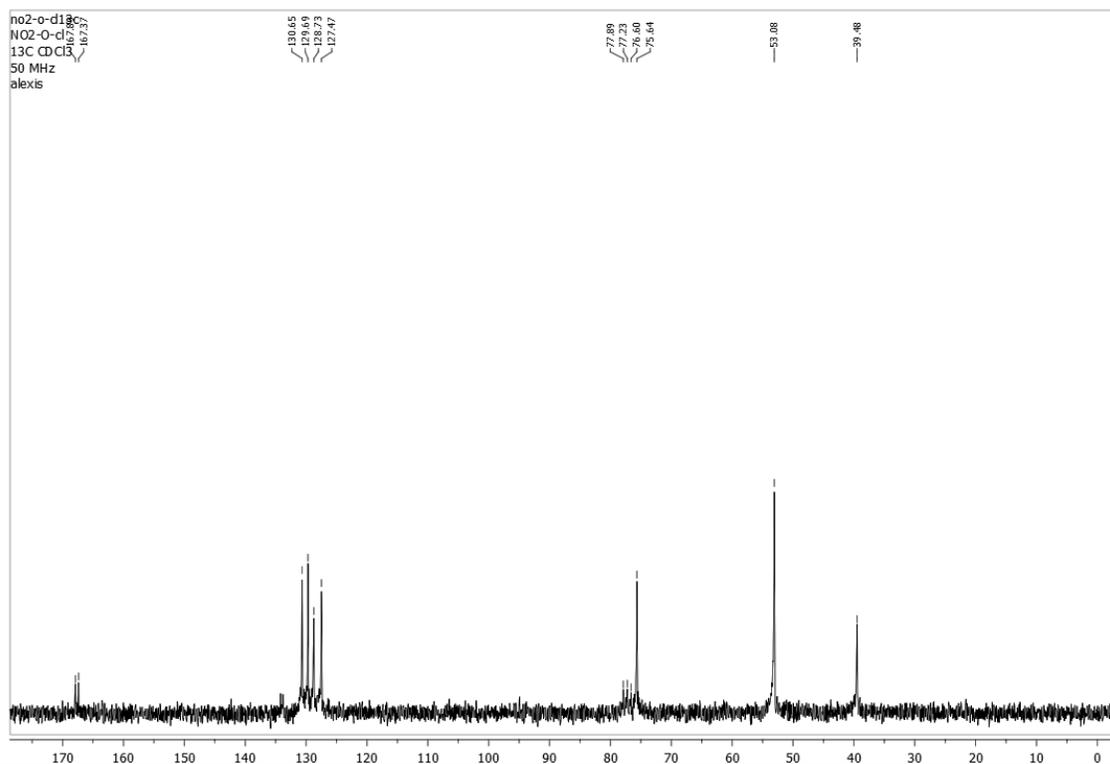
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), 2-(2-nitro-1-(p-tolil)etil)malonato de dimetilo. (64c).



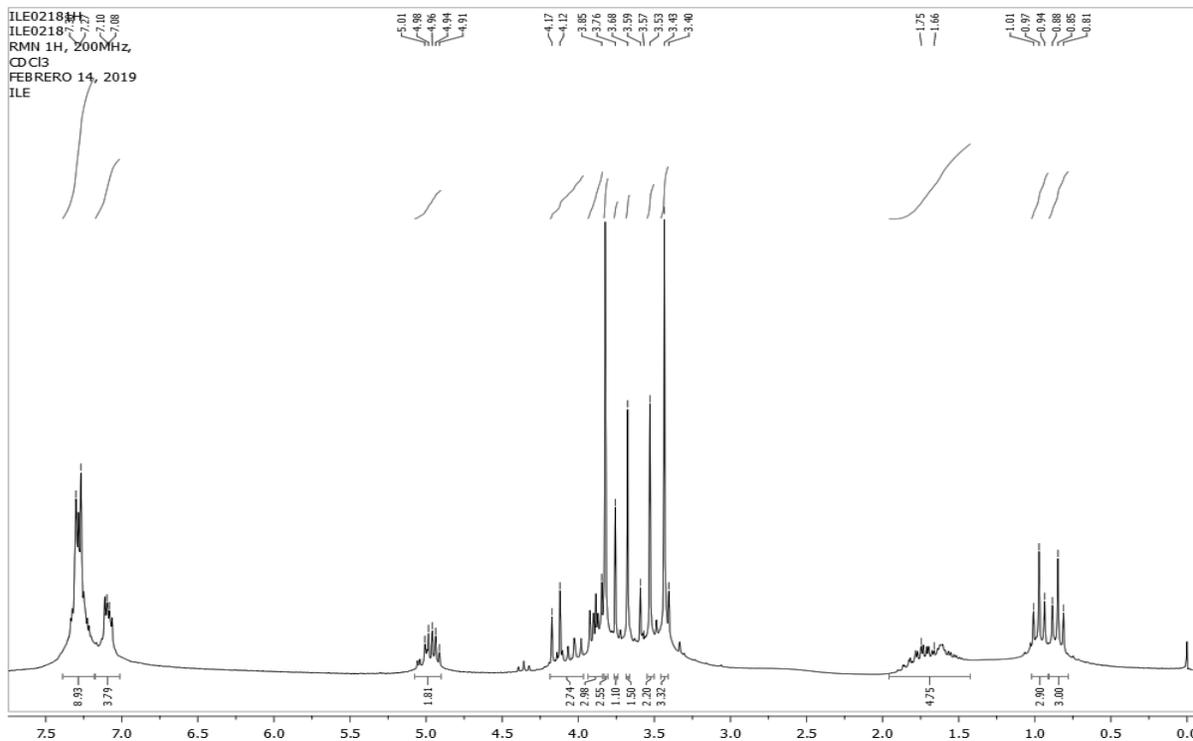
RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3), 2-(2-nitro-1-(2-clorofenil)etil)malonato de dimetilo.
(64d).



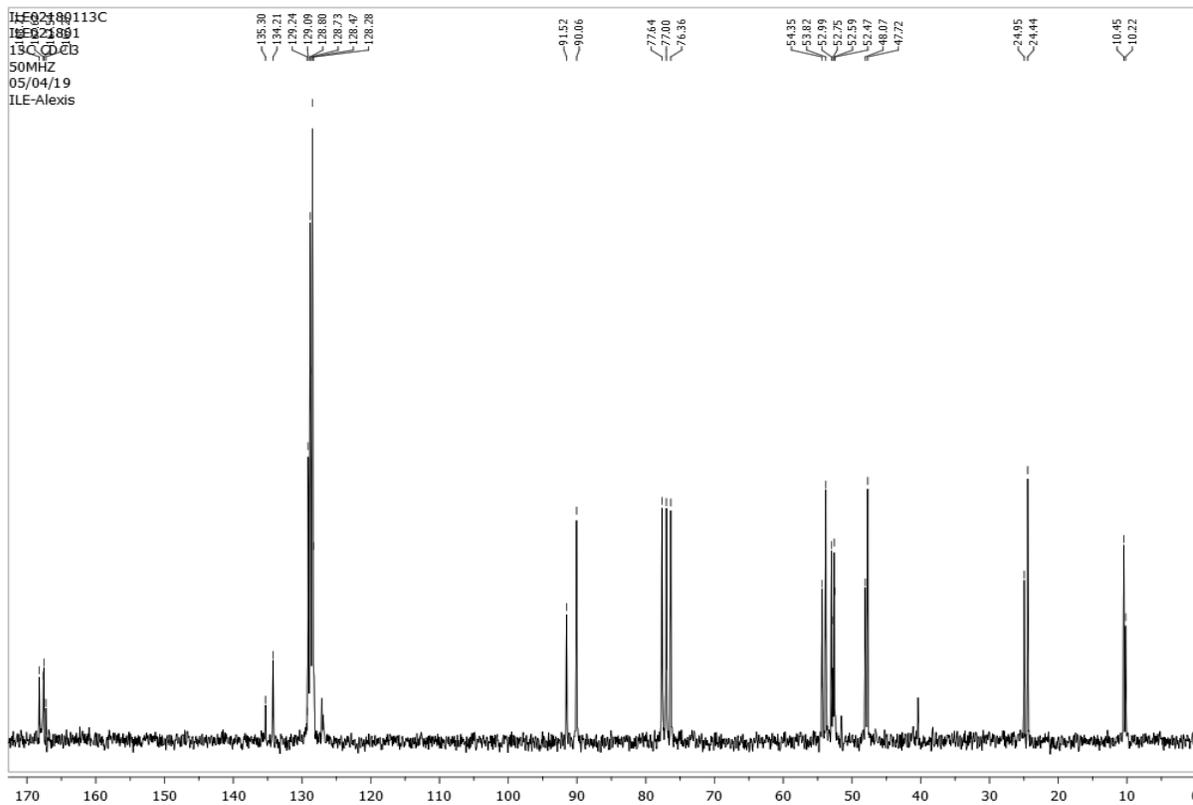
RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3), 2-(2-nitro-1-(2-clorofenil)etil)malonato de dimetilo.
(64d).



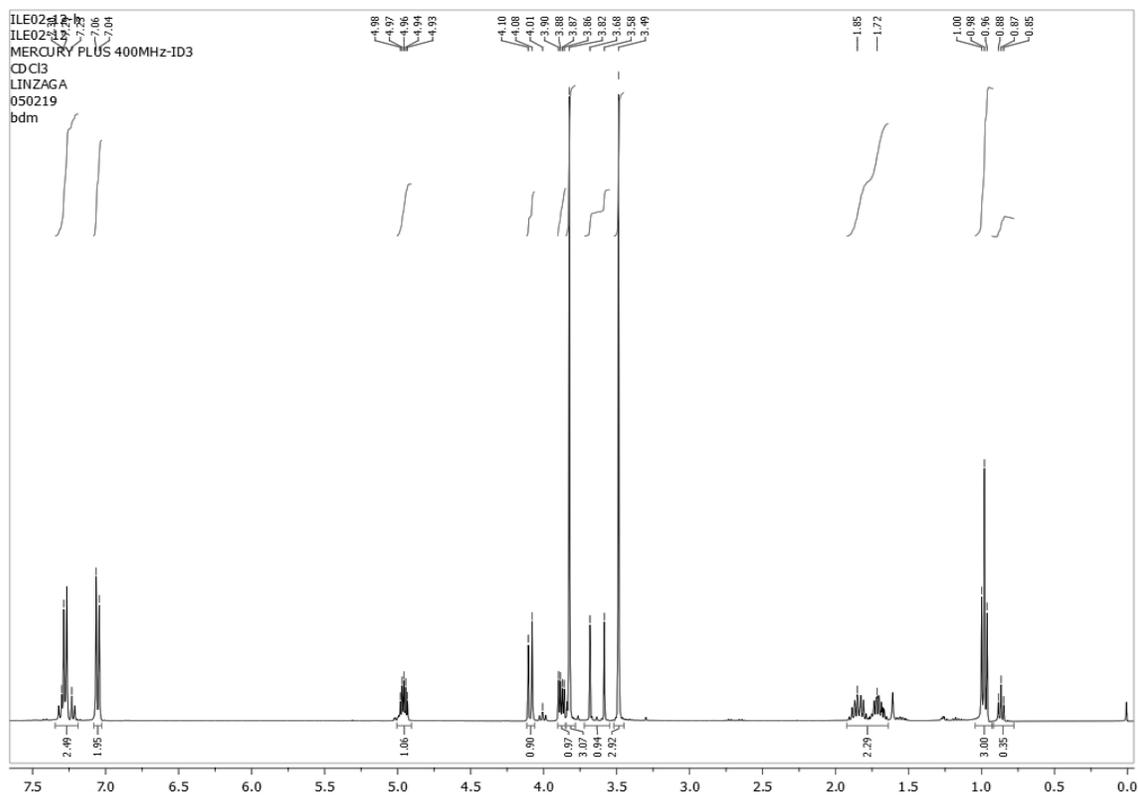
RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃), 2-(2-nitro-1-fenilbutil)malonato de dimetilo. (64e).



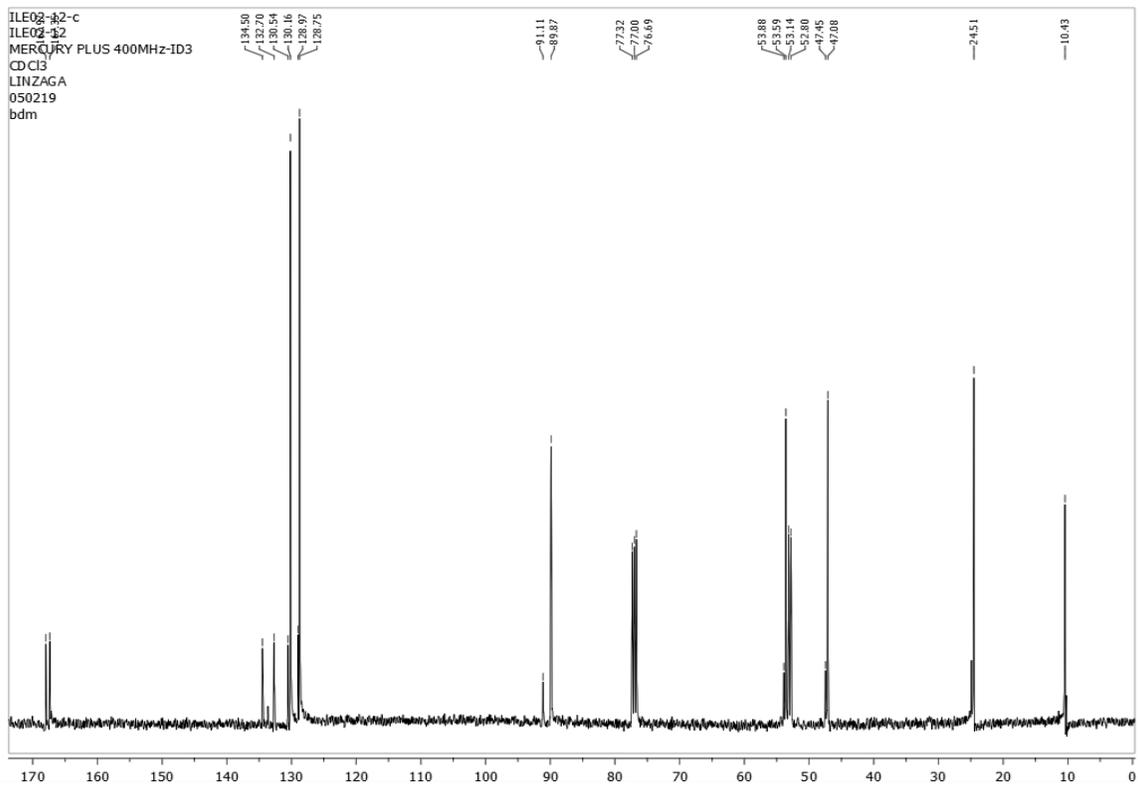
RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃), 2-(2-nitro-1-fenilbutil)malonato de dimetilo. (64e).



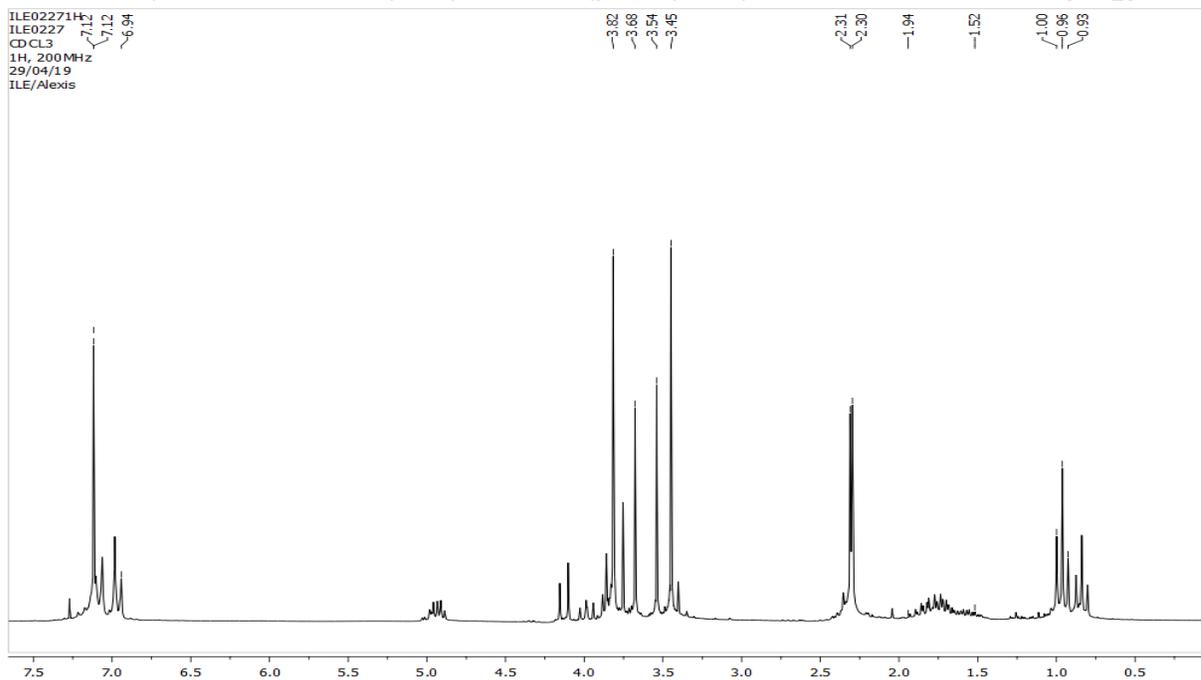
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), 2-(1-(4-clorofenil)-2-(nitrobutil)malonato de dimetilo. (64f).



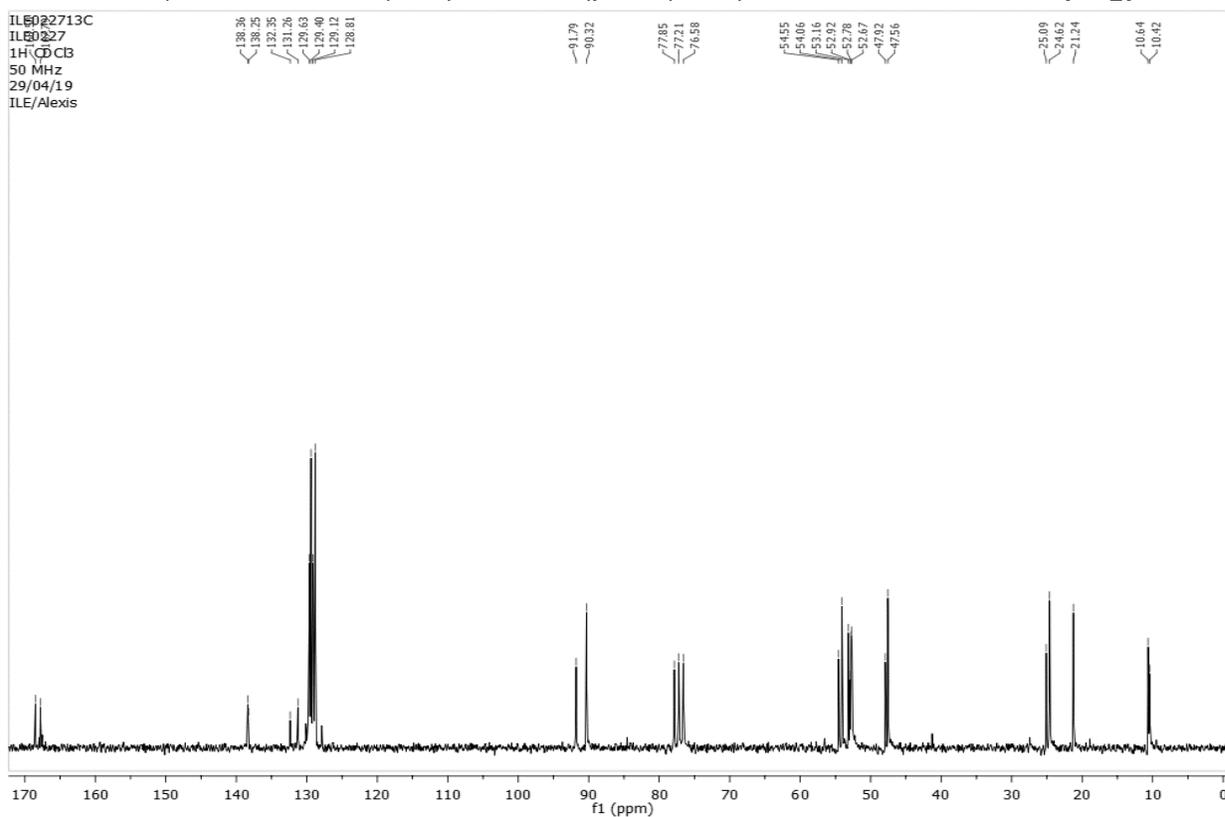
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), 2-(1-(4-clorofenil)-2-(nitrobutil)malonato de dimetilo dimetilo. (64f).



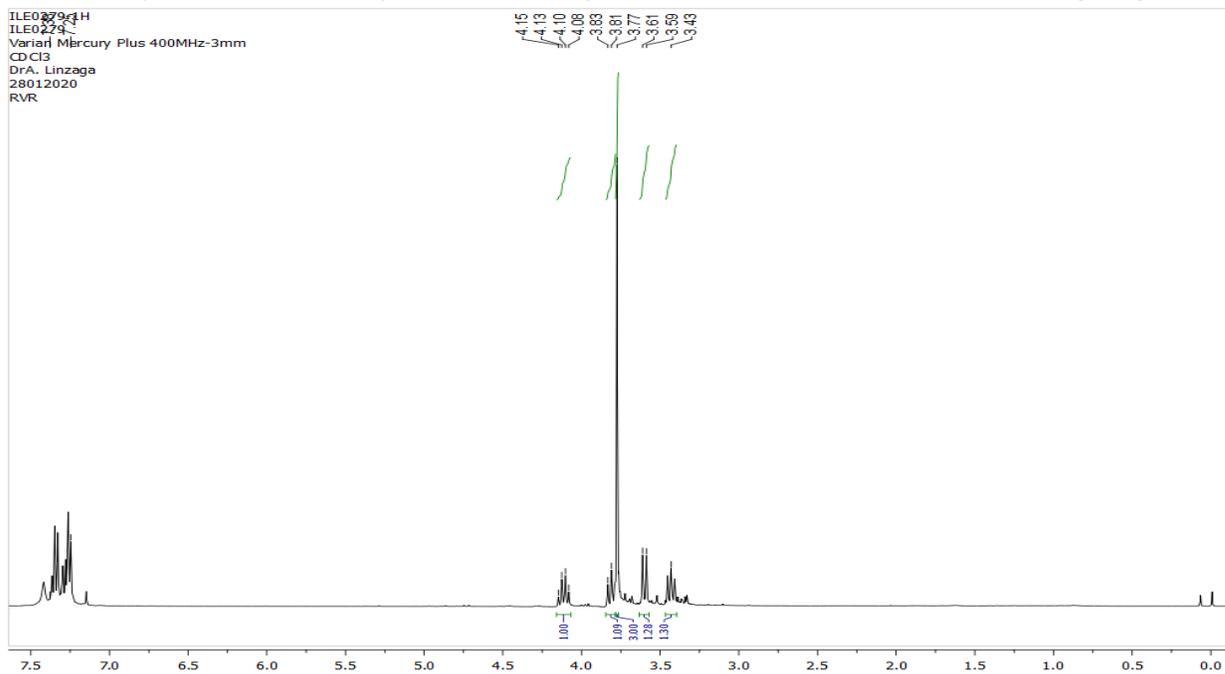
RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃), 2-(2-nitro-1-(p-tolil)butil)malonato de dimetilo. (64g).



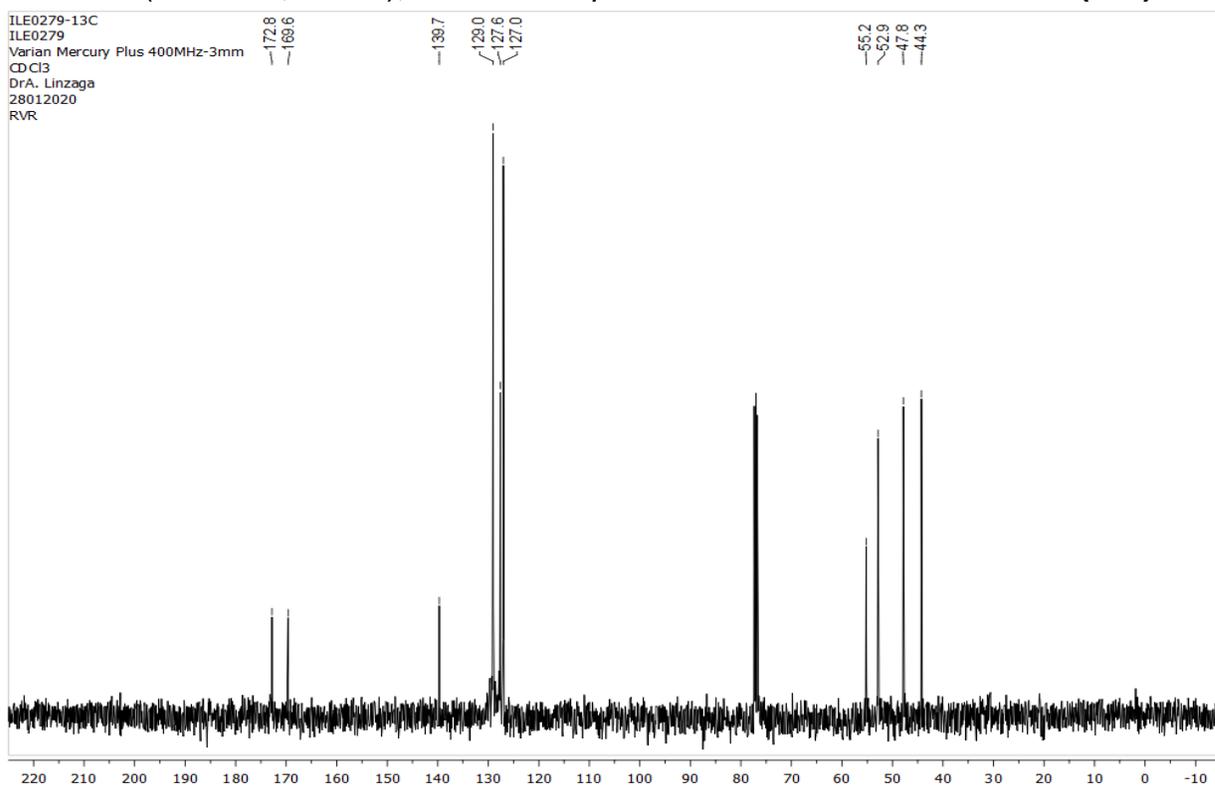
RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃), 2-(2-nitro-1-(p-tolil)butil)malonato de dimetilo. (64g).



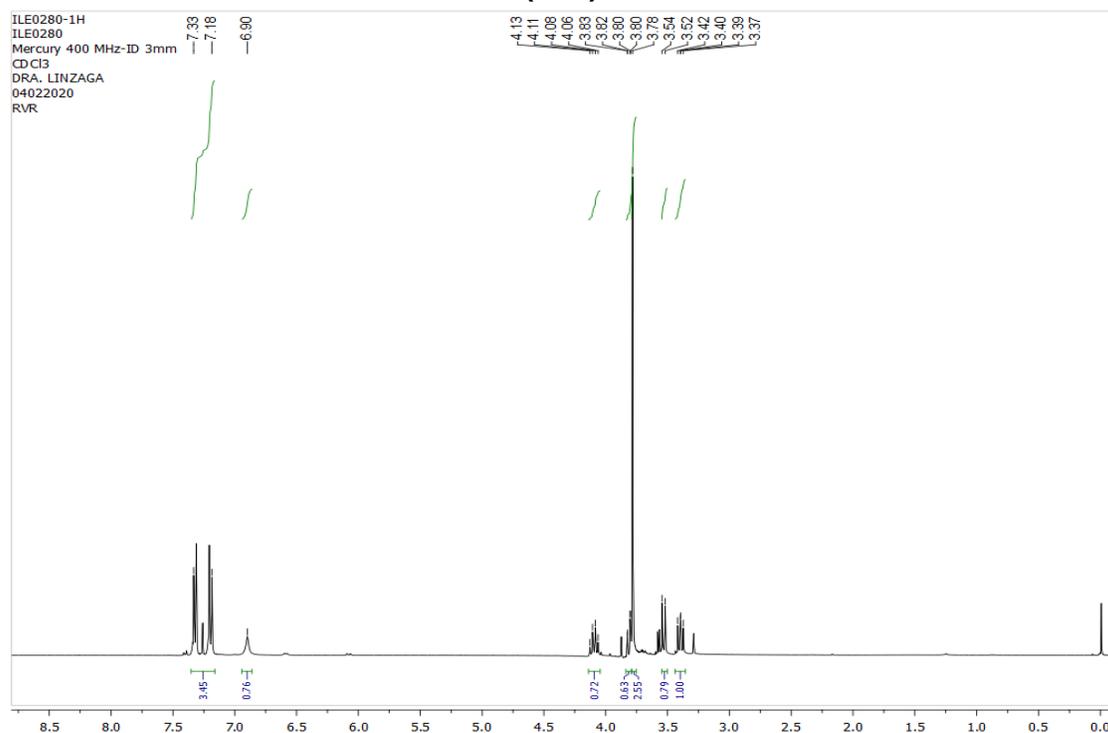
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), 2-oxo-4-fenilpirrolidina-3-carboxilato de metilo. (65a).



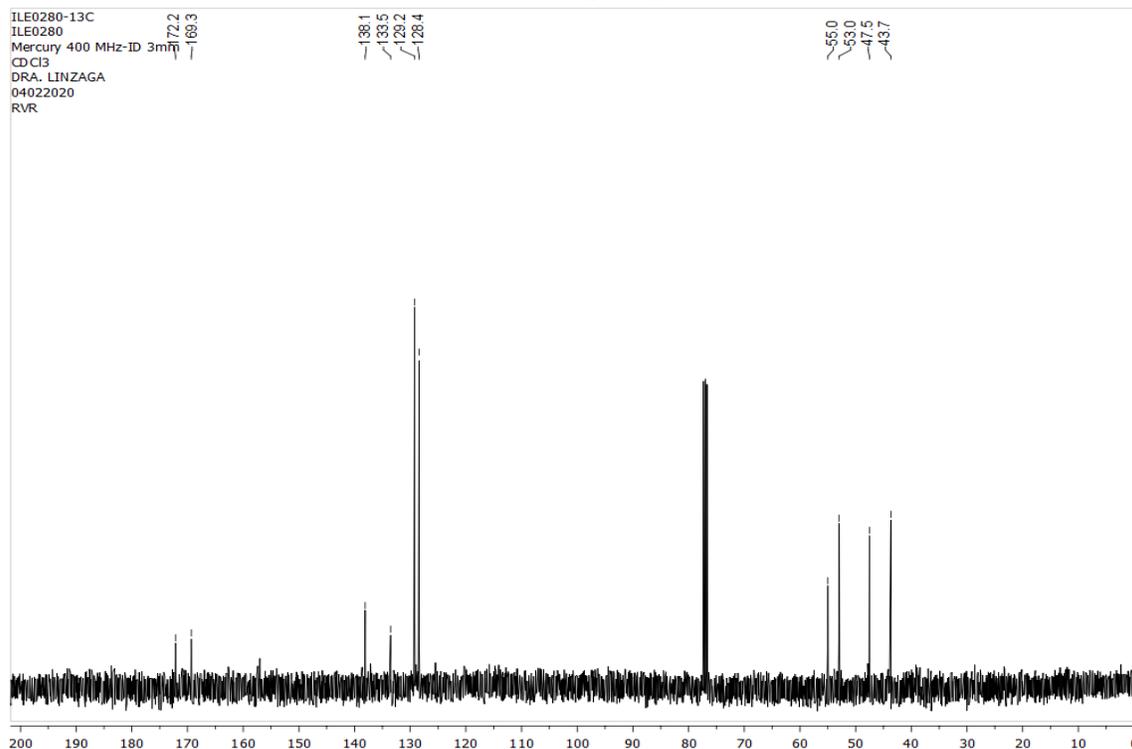
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), 2-oxo-4-fenilpirrolidina-3-carboxilato de metilo. (65a).



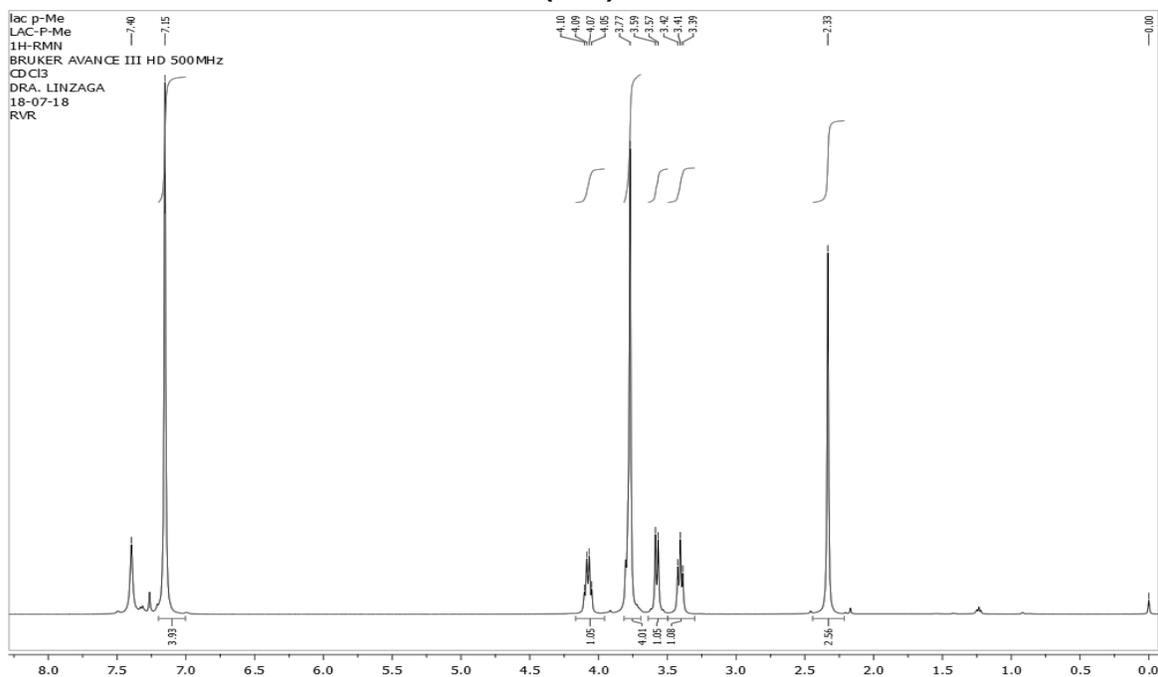
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), 2-oxo-4-(4-clorofenil)pirrolidina-3-carboxilato de metilo. (65b).



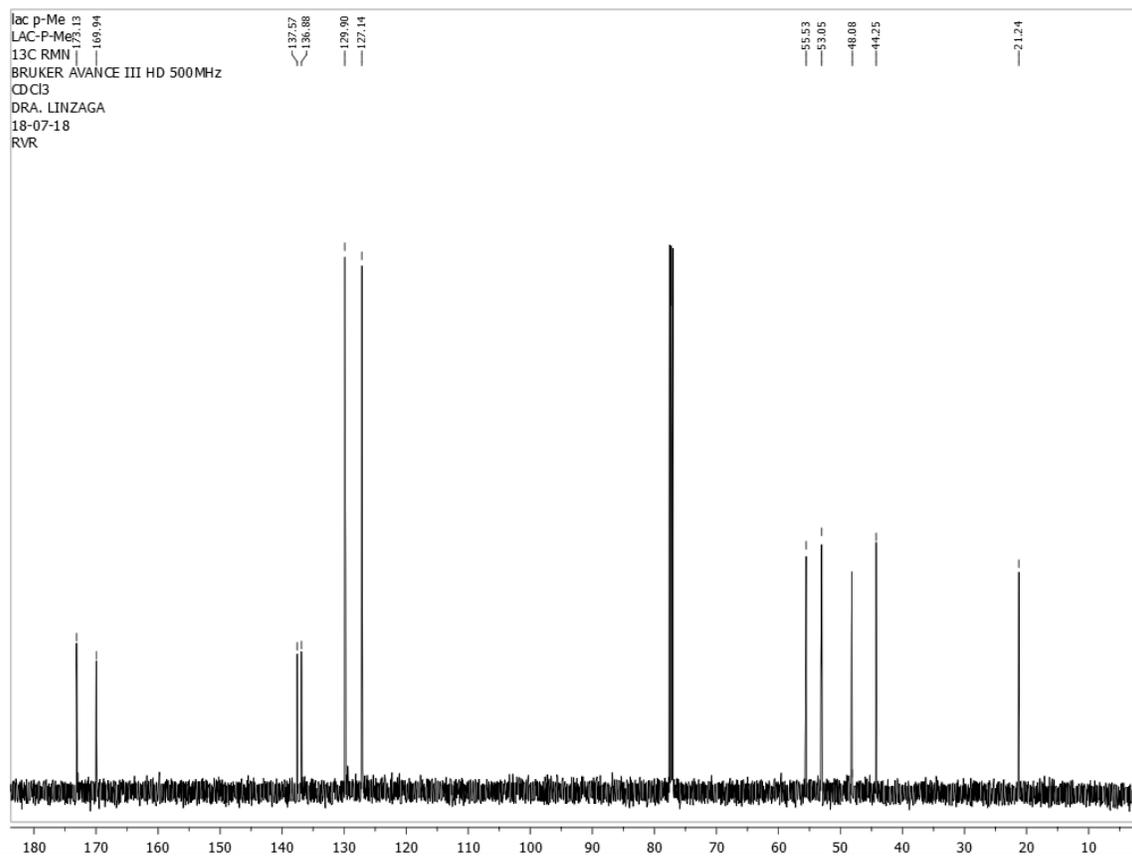
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), 2-oxo-4-(4-clorofenil)pirrolidina-3-carboxilato de metilo. (65b).



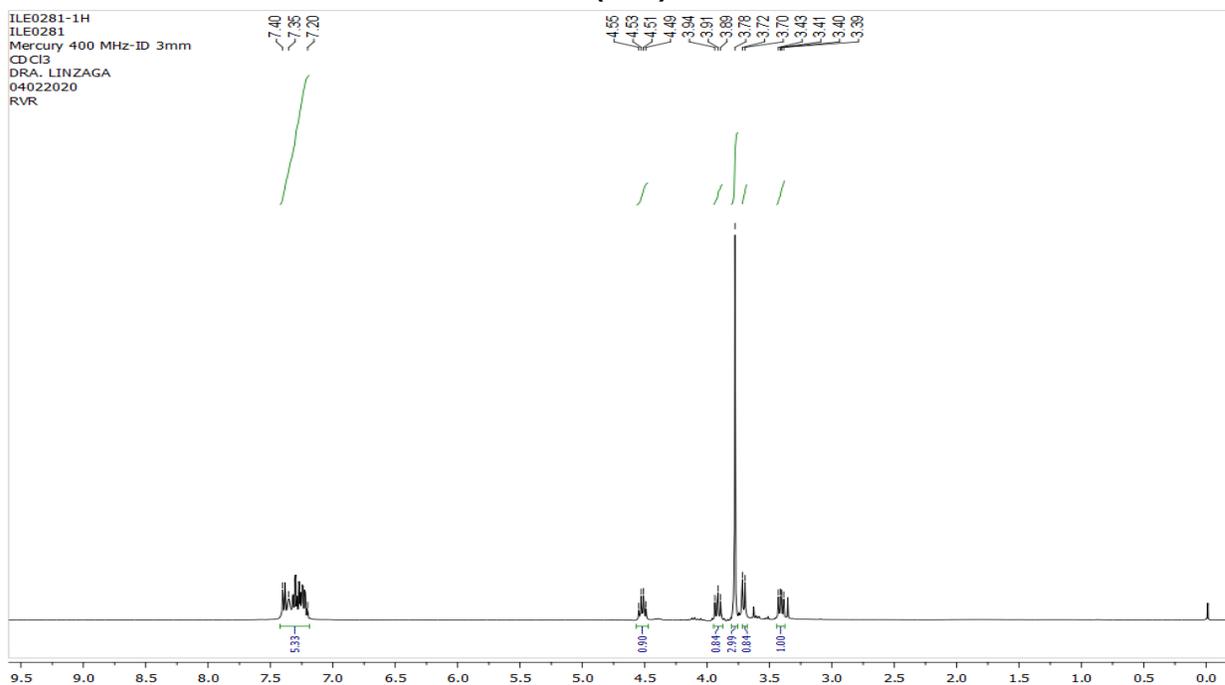
RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃), 2-oxo-4-(p-tolil)pirrolidina-3-carboxilato de metilo.
(65c).



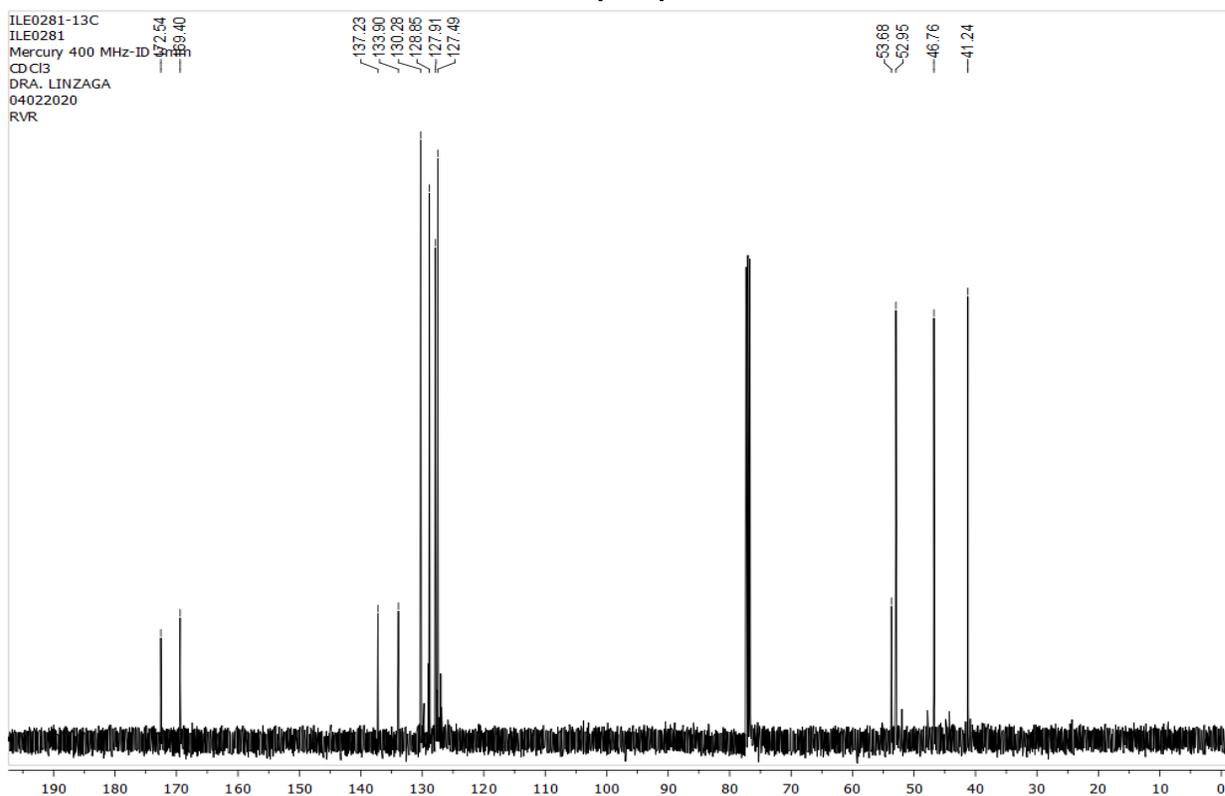
RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃), 2-oxo-4-(p-tolil)pirrolidina-3-carboxilato de metilo.
(65c).



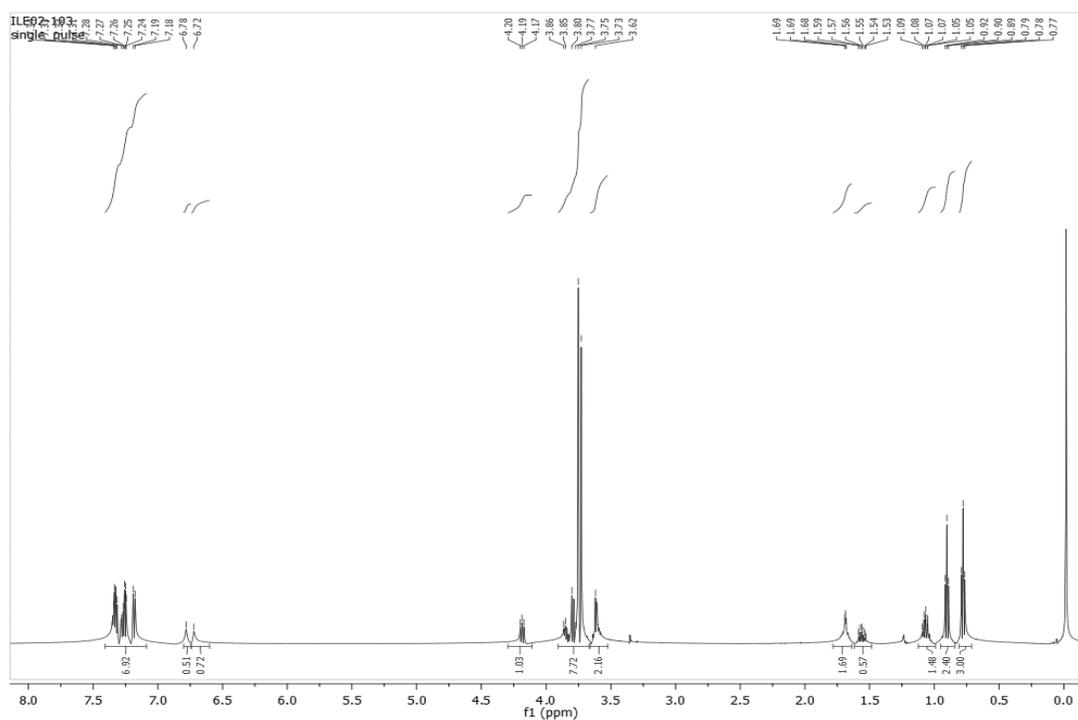
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), 2-oxo-4-(2-clorofenil)-pirrolidina-3-carboxilato de metilo. (65d).



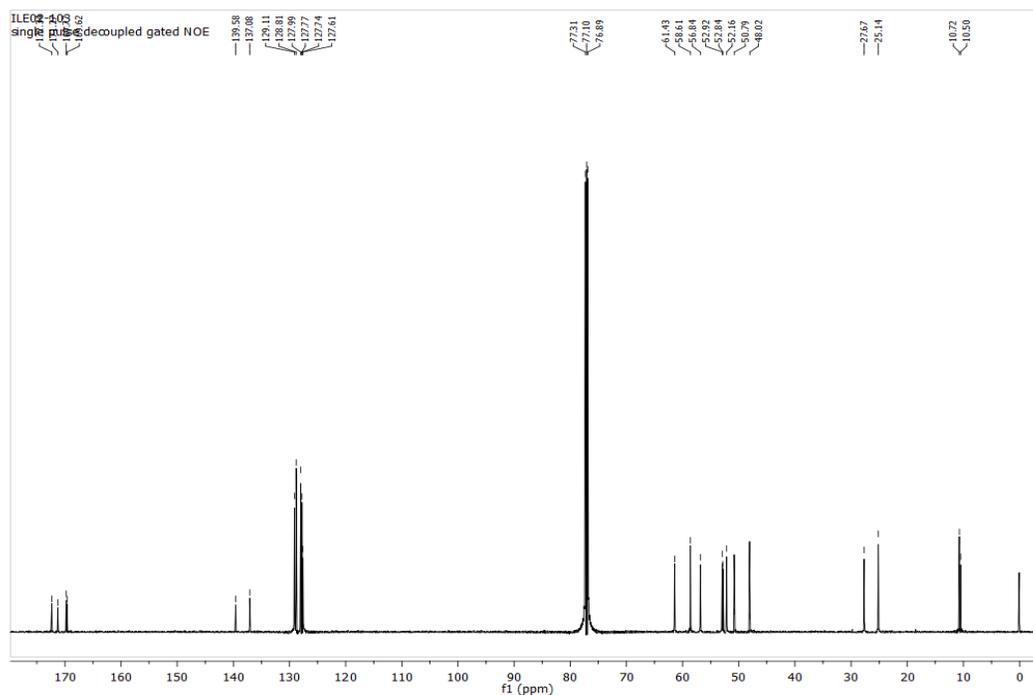
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), 2-oxo-4-(2-clorofenil)-pirrolidina-3-carboxilato de metilo. (65d).



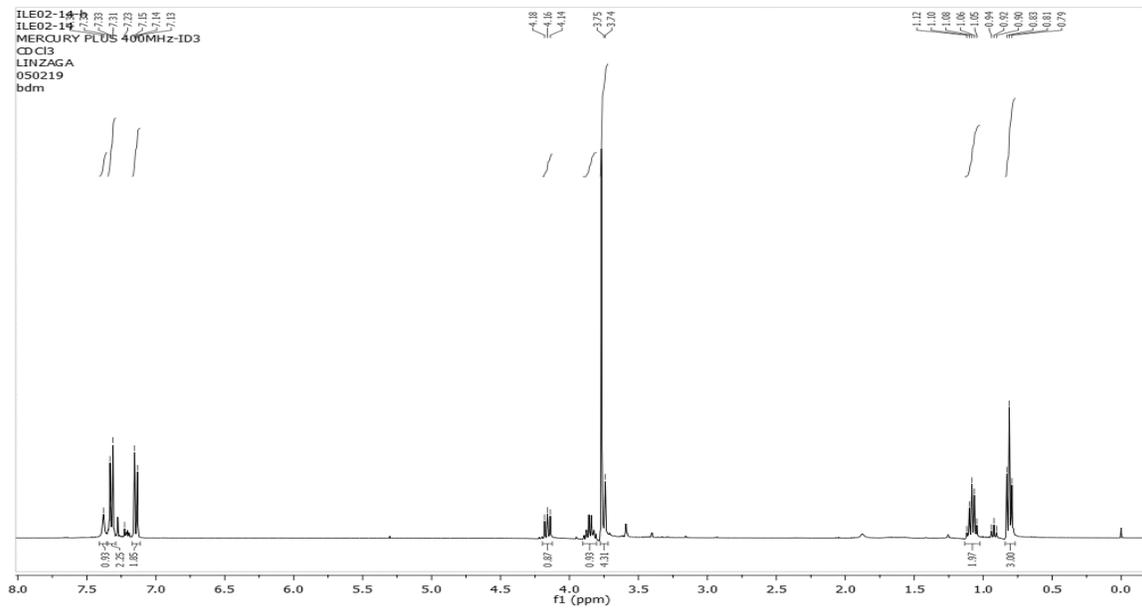
RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃), 5-etil-2-oxo-4-fenilpirrolidina-3-carboxilato de metilo.
(65e).



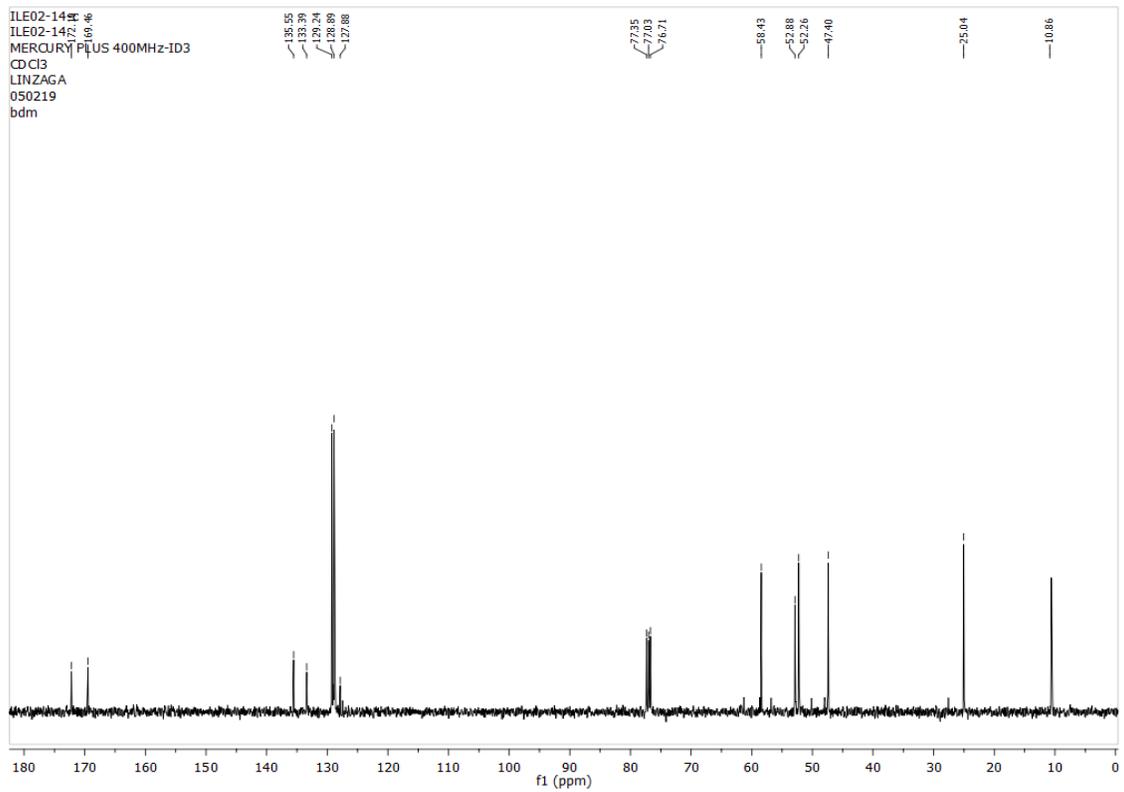
RMN ¹³C (151 MHz, CDCl₃), 5-etil-2-oxo-4-fenilpirrolidina-3-carboxilato de metilo.
(65e).



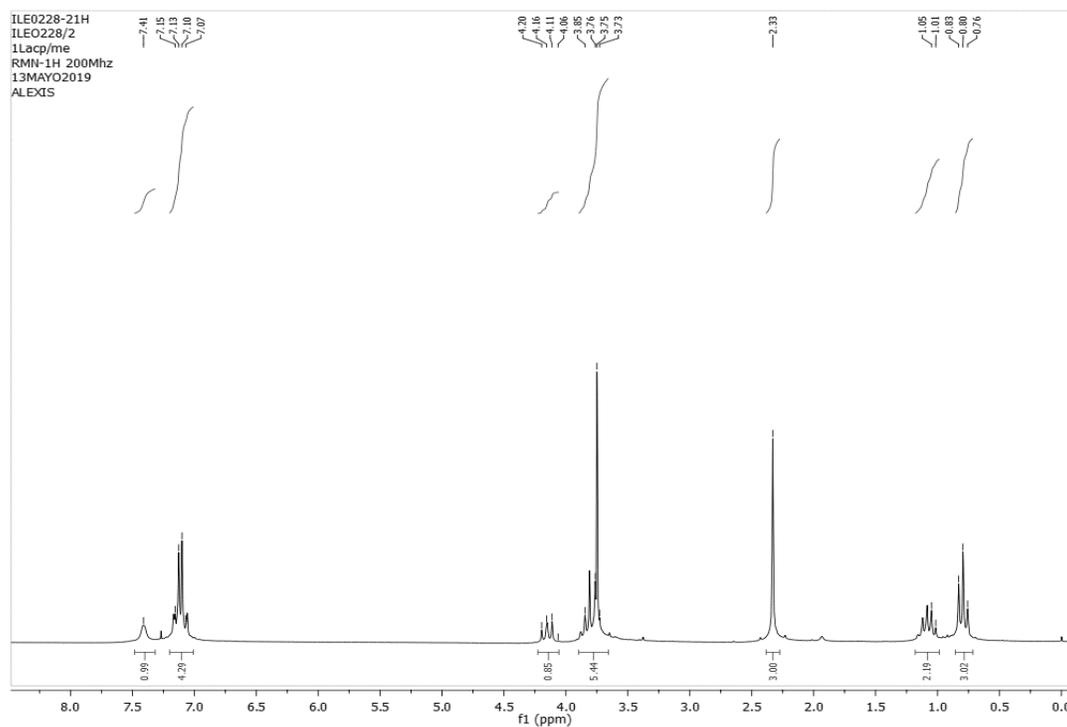
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), 4-(4-clorofenil)-5-etil-2-oxopirrolidina-3-carboxilato de metilo. (65f).



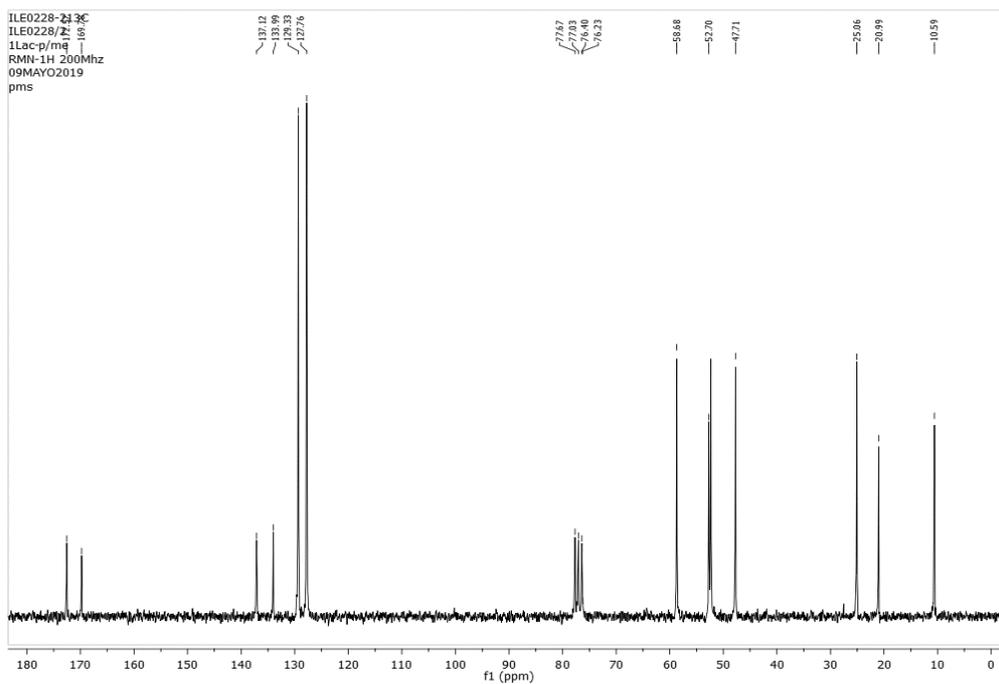
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), 4-(4-clorofenil)-5-etil-2-oxopirrolidina-3-carboxilato de metilo. (65f).



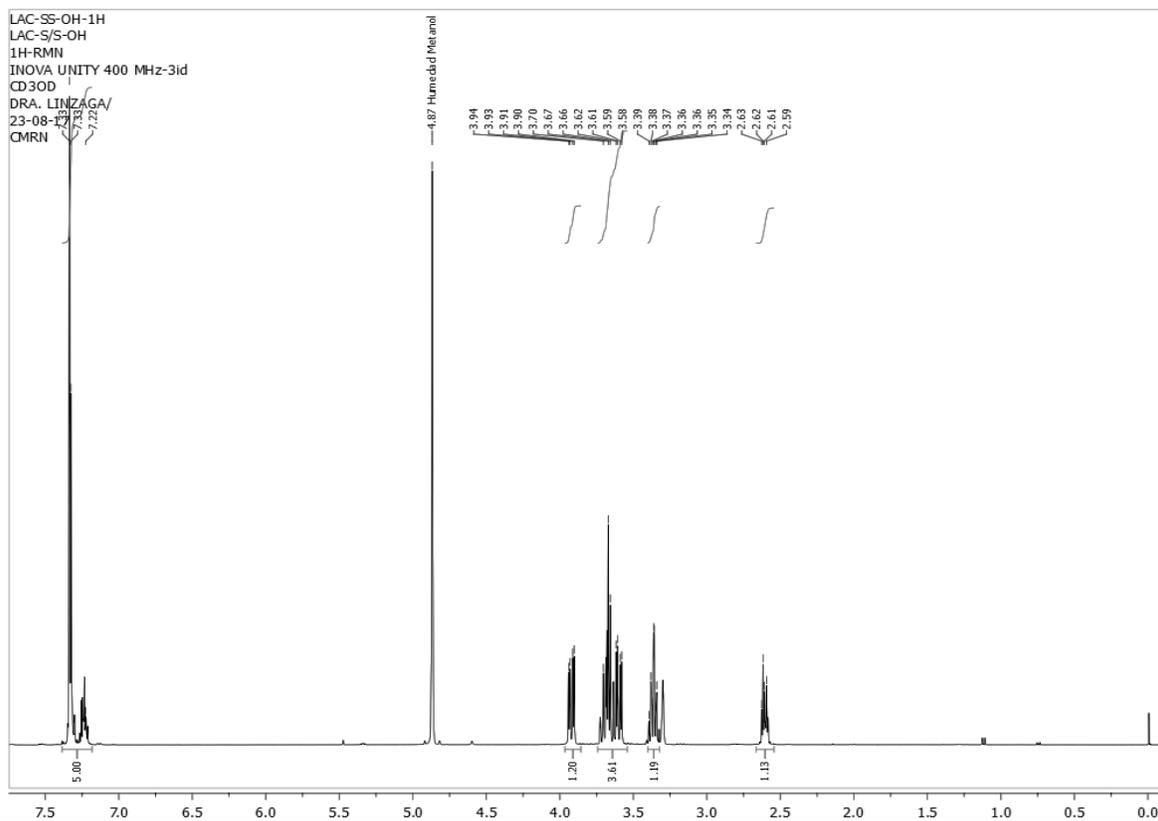
RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃), 5-etil-2-oxo-4-(p-tolil)pirrolidina-3-carboxilato de metilo.
(65g).



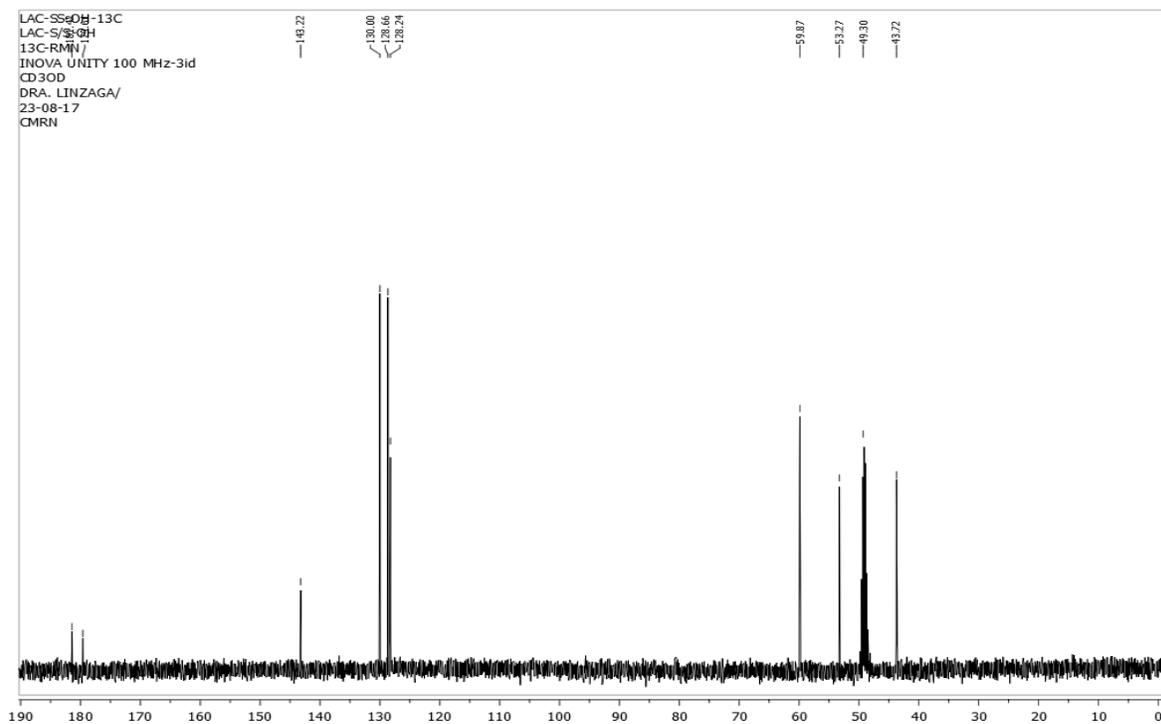
RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃), 5-etil-2-oxo-4-(p-tolil)pirrolidina-3-carboxilato de metilo.
(65g).



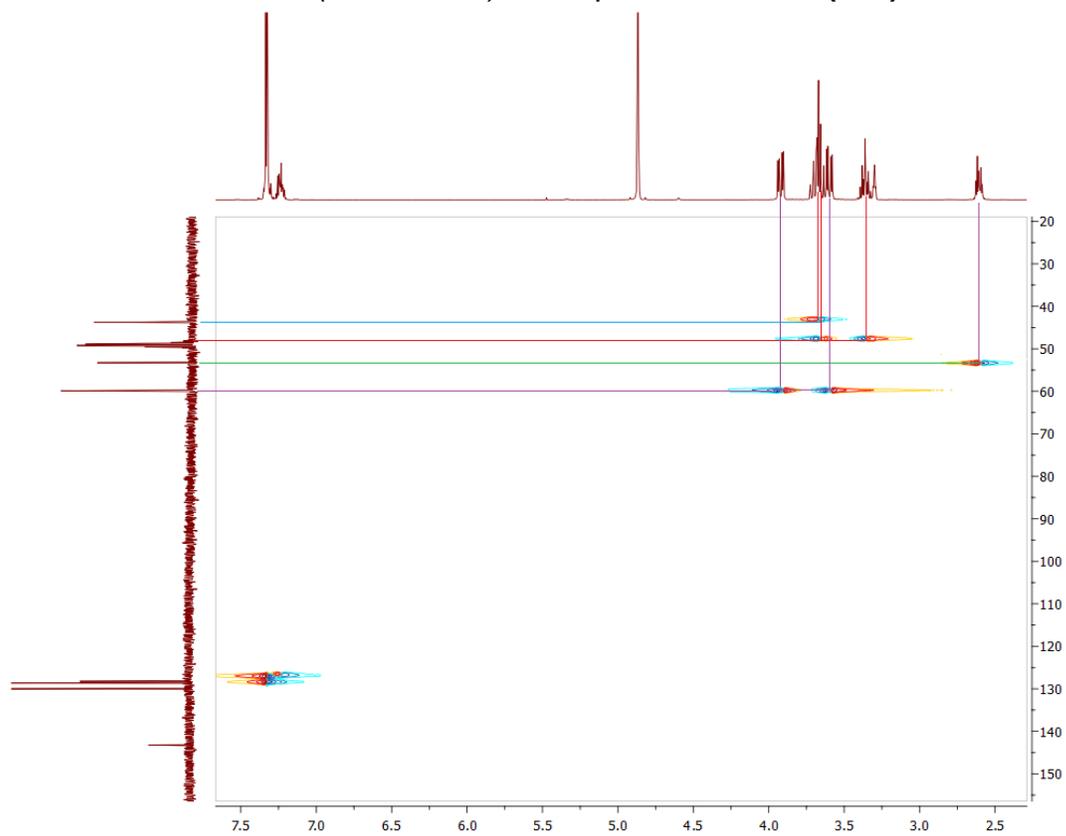
RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD), 3-(hidroximetil)-4-fenilpirrolidin-2-ona. (66a).



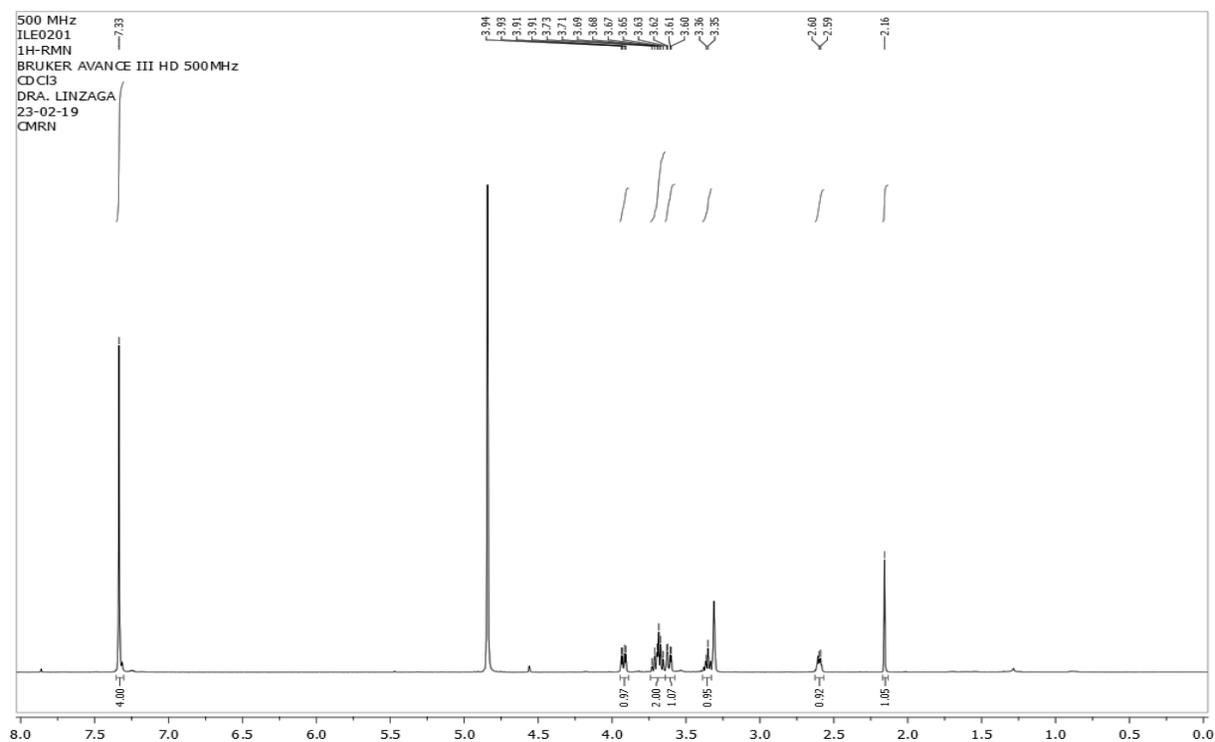
RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD), 3-(hidroximetil)-4-fenilpirrolidin-2-ona. (66a).



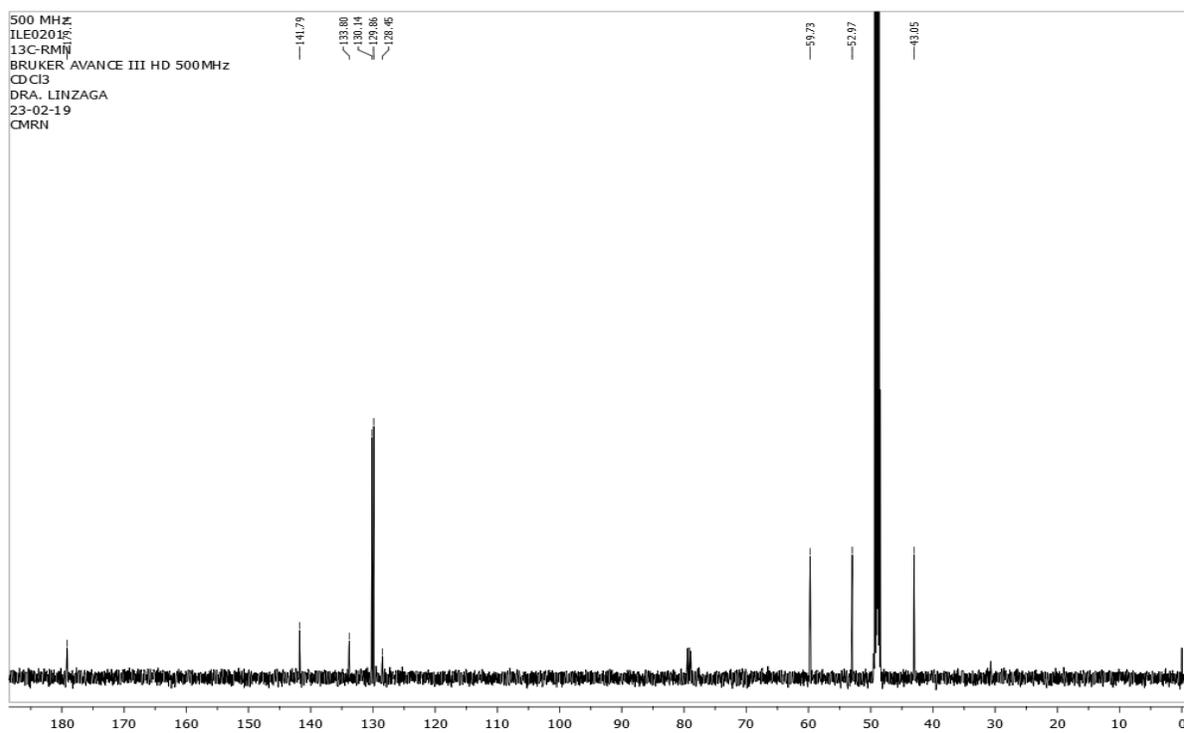
HSQC 3-(hidroximetil)-4-fenilpirrolidin-2-ona. (66a).



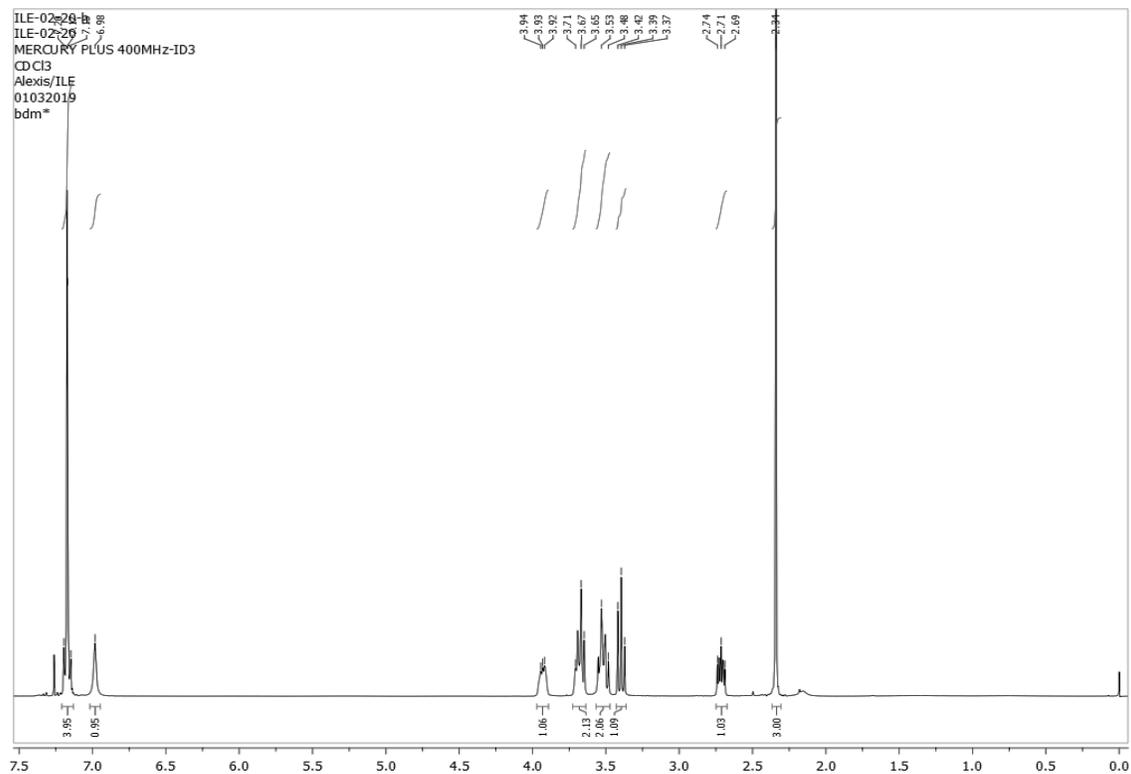
RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD), 3-(hidroximetil)-4-(4-clorofenil)pirrolidin-2-ona. (66b).



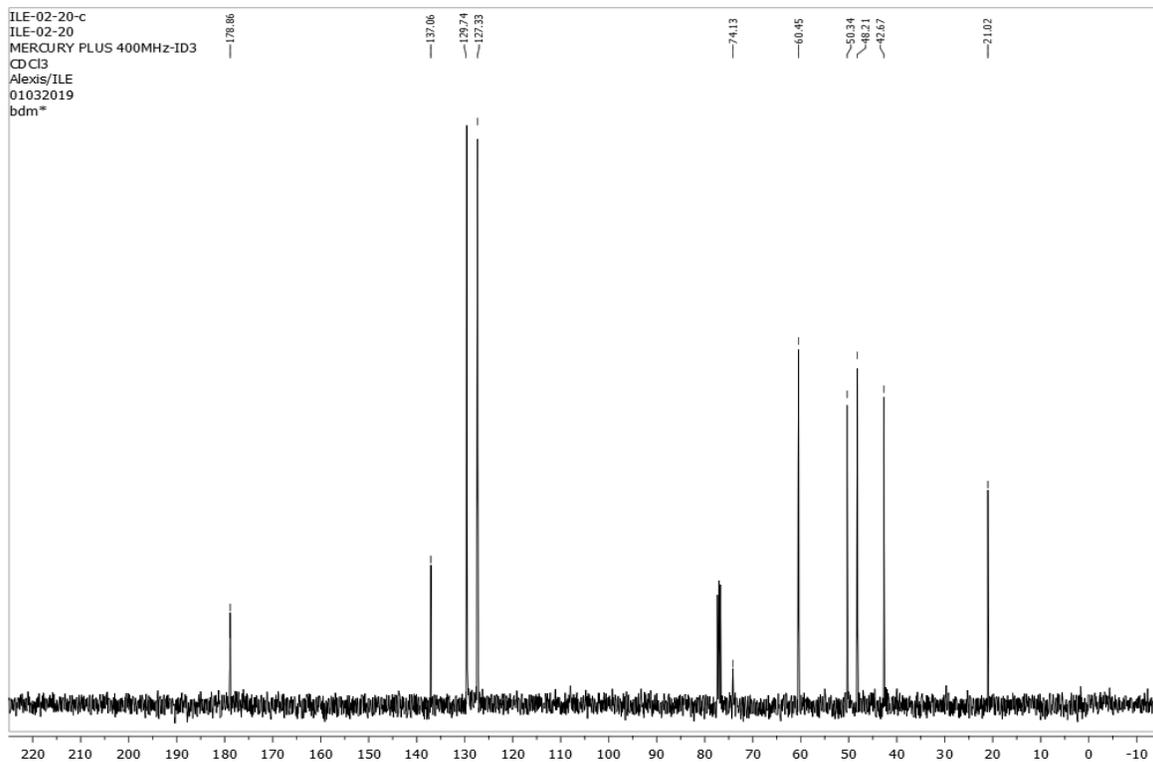
RMN ¹³C (125 MHz, CD₃OD), 3-(hidroximetil)-4-(4-clorofenil)pirrolidin-2-ona. (66b).



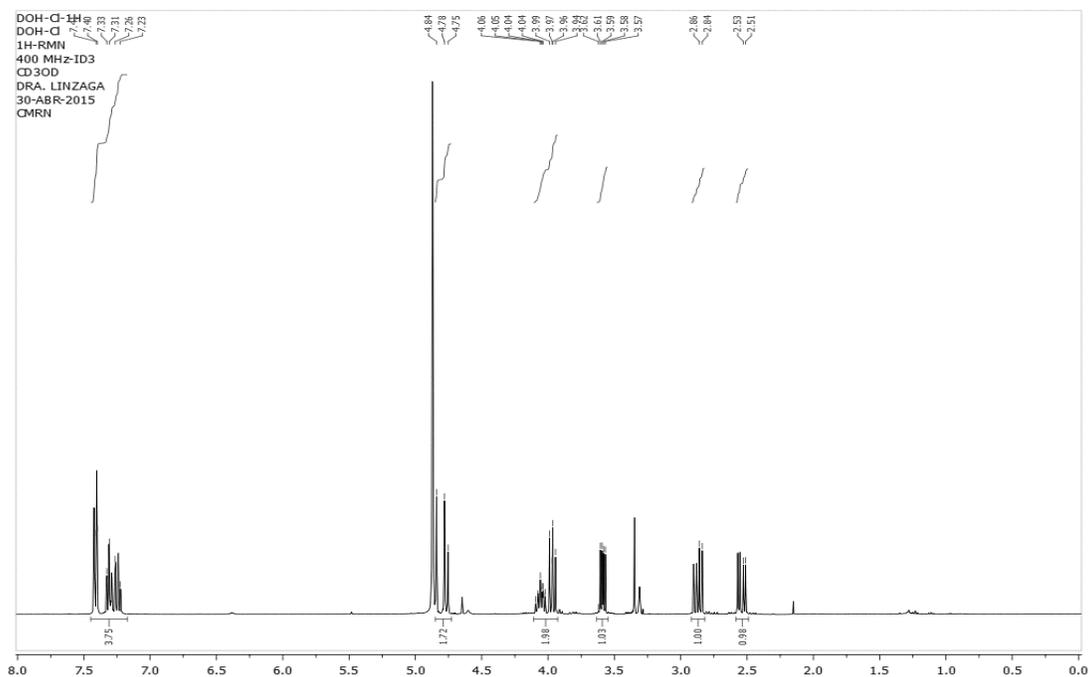
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), 3-(hidroximetil)-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (66c).



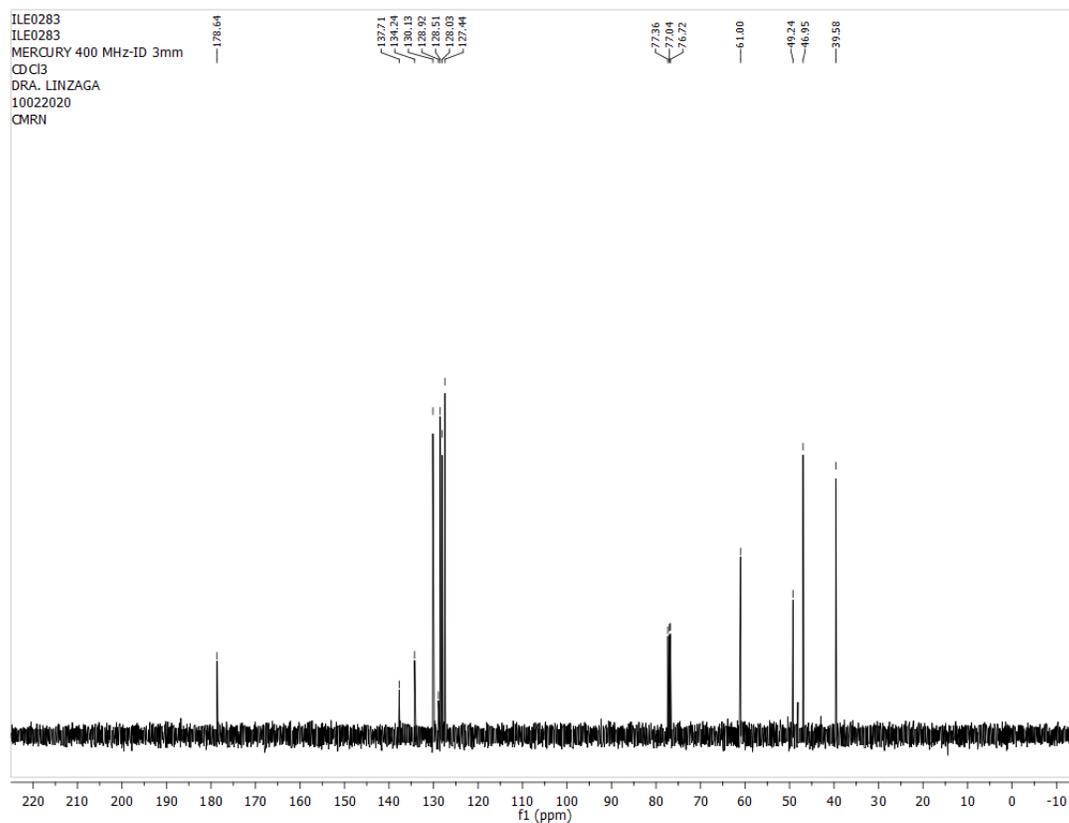
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), 3-(hidroximetil)-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (66c).



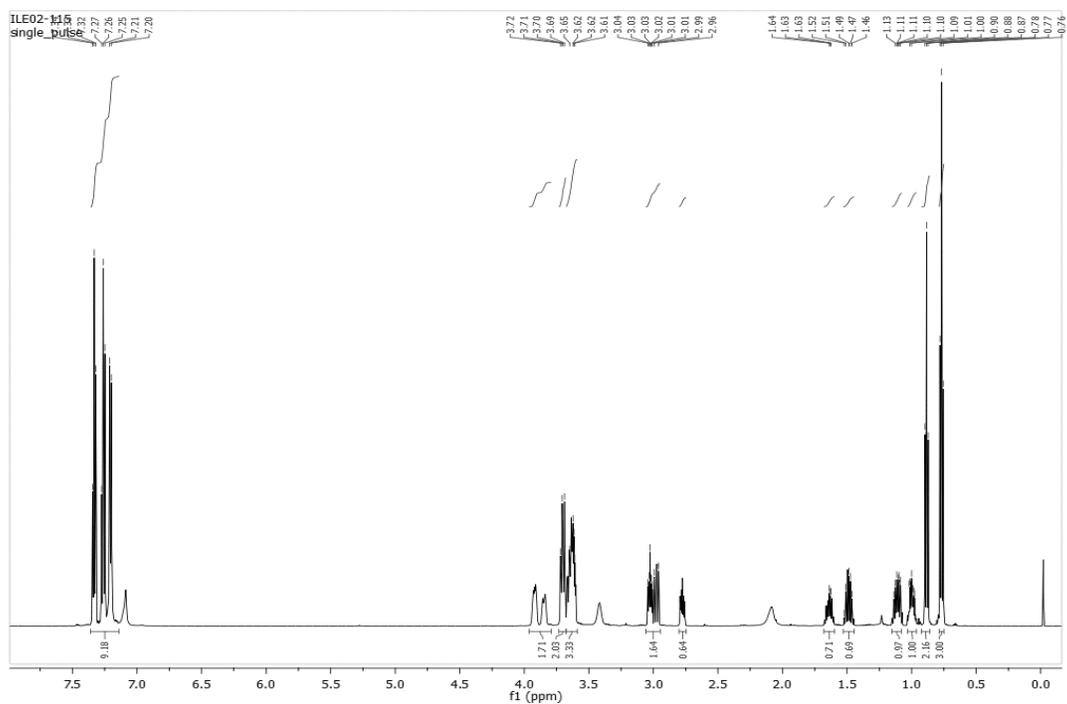
RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD), 3-(hidroximetil)-4-(2-clorofenil)pirrolidin-2-ona. (66d).



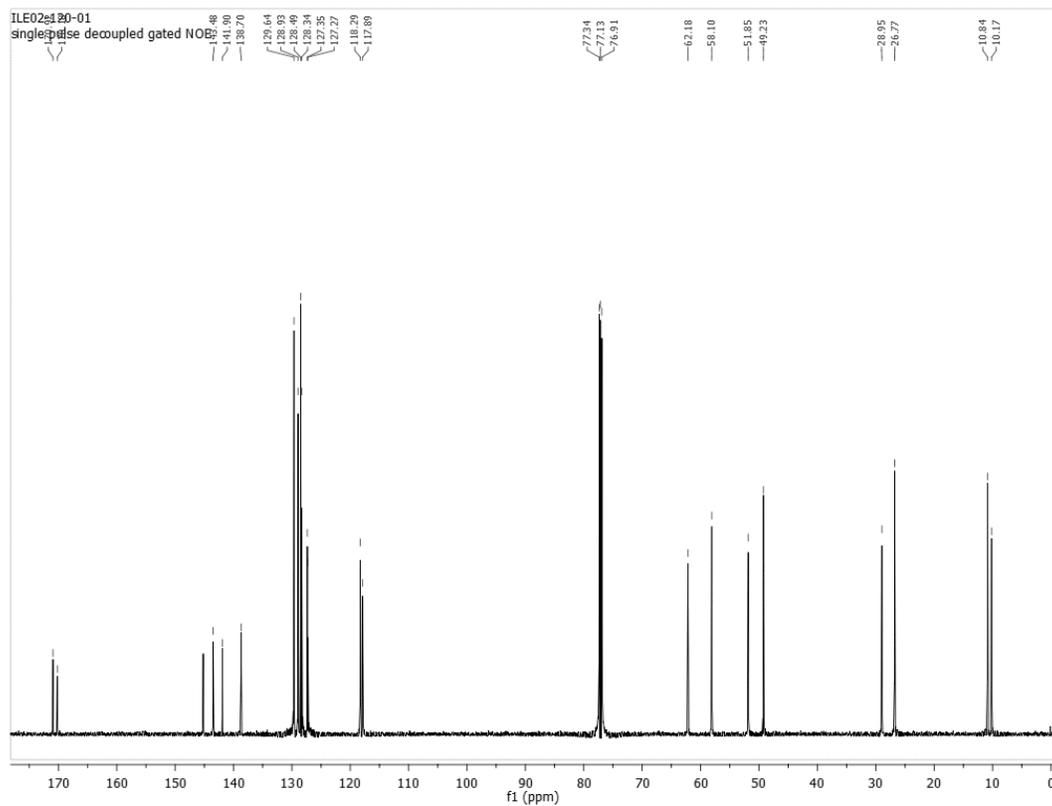
RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD), 3-(hidroximetil)-4-(2-clorofenil)pirrolidin-2-ona. (66d).



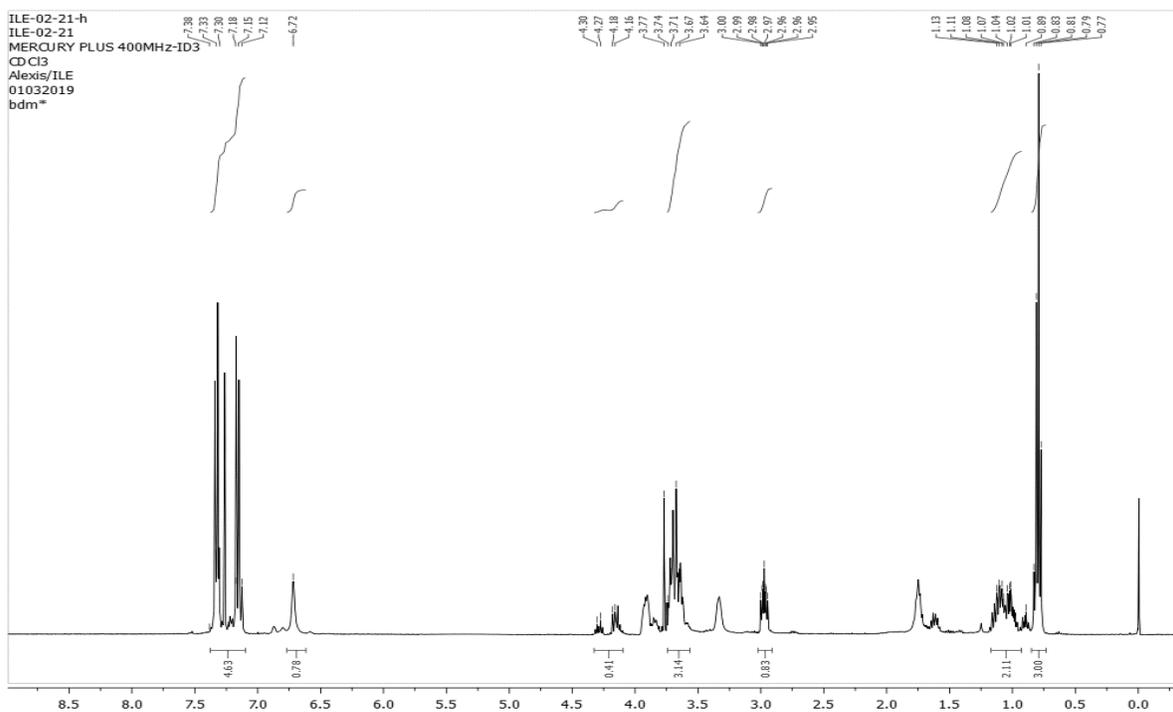
RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃), 5-*etil-3-(hidroximetil)-4-fenilpirrolidin-2-ona*. (66e).



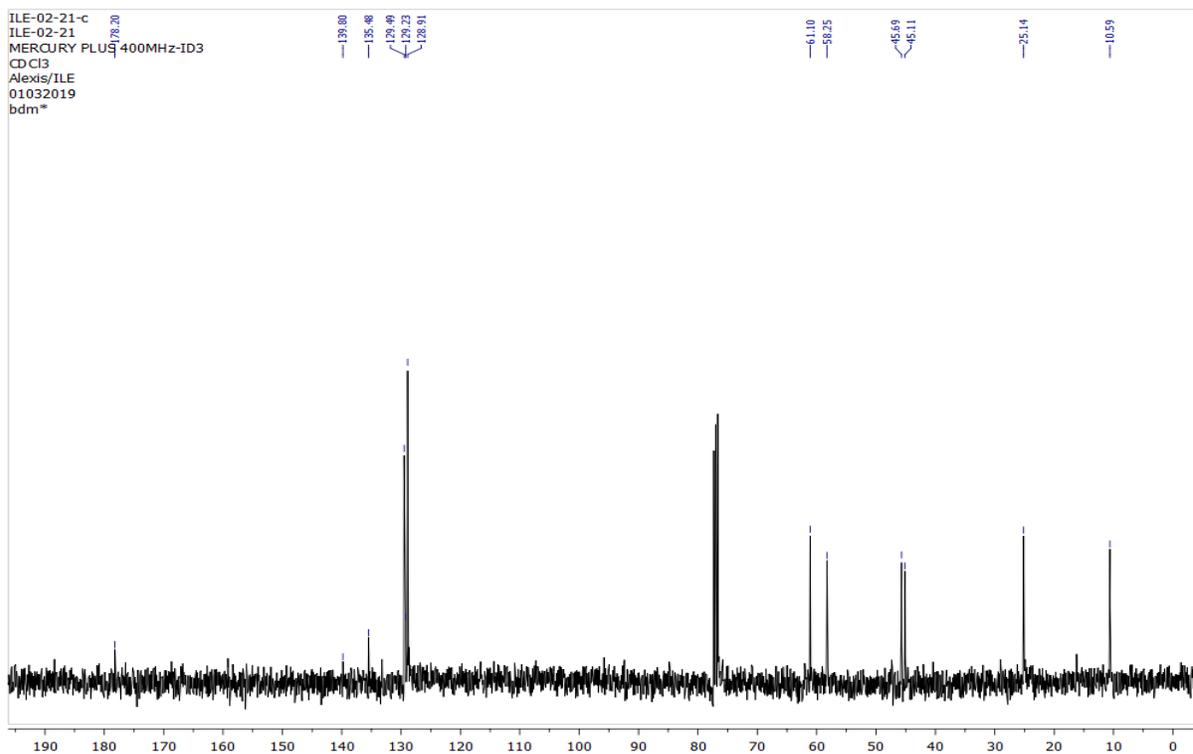
RMN ¹³C (165 MHz, CDCl₃), 5-*etil-3-(hidroximetil)-4-fenilpirrolidin-2-ona*. (66e).



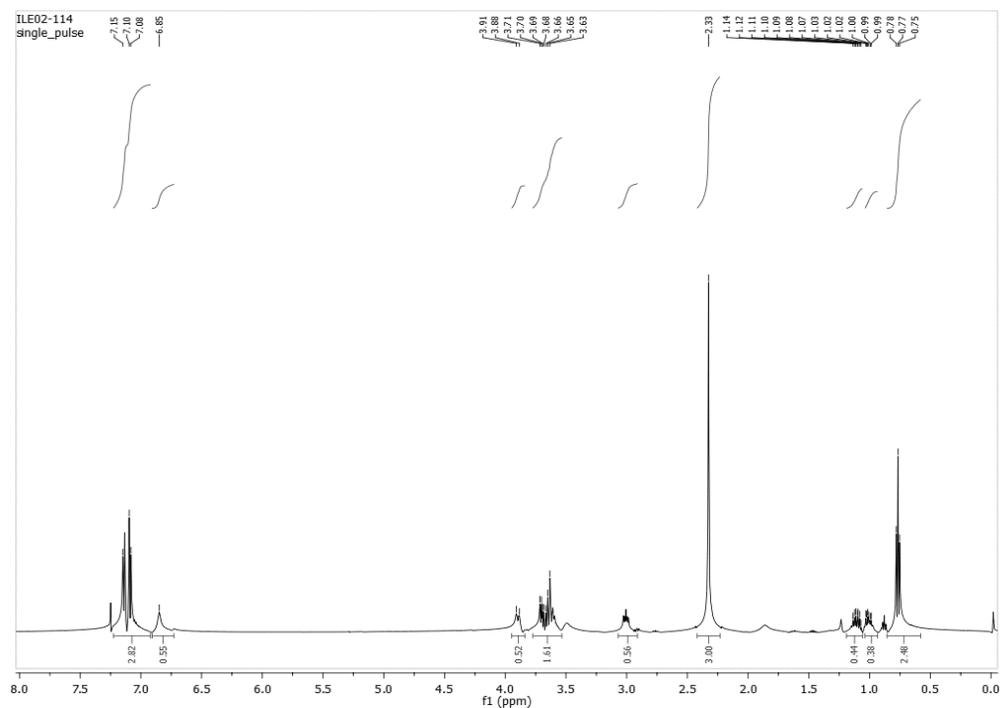
**RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), 5-etil-3-(hidroximetil)-4-(4-clorofenil)pirrolidin-2-ona.
(66f).**



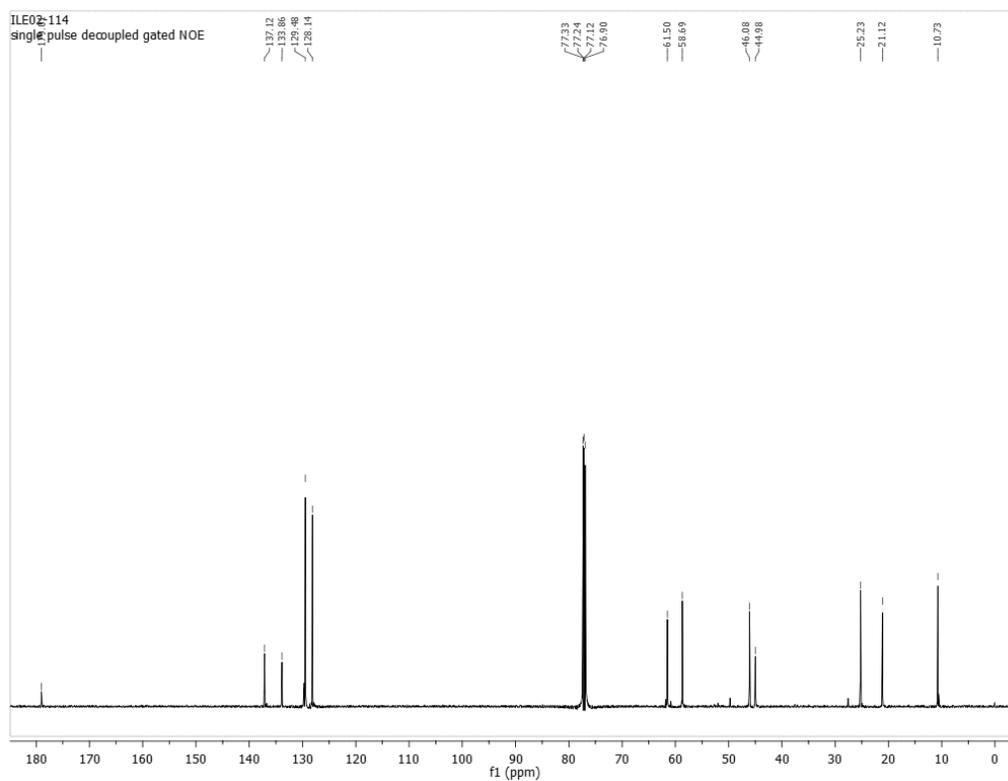
**RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD), 5-etil-3-(hidroximetil)-4-(4-clorofenil)pirrolidin-2-ona.
(66f).**



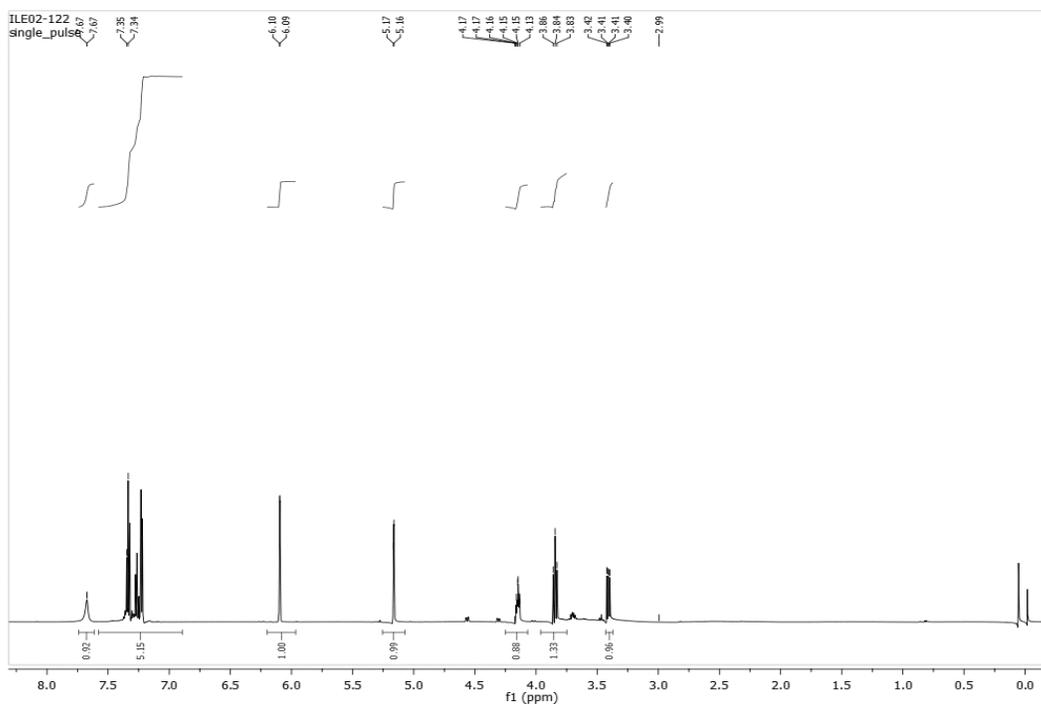
RMN ¹H (600 MHz, CD₃OD), 5-etil-3-(hidroximetil)-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (66g).



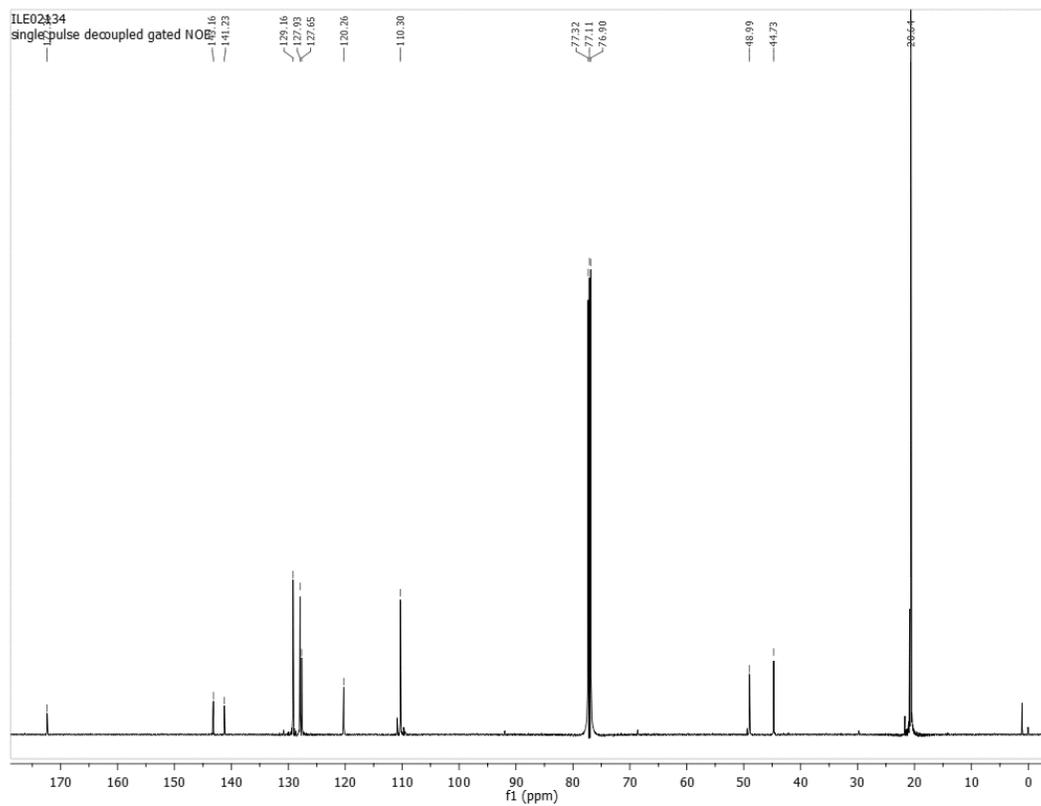
RMN ¹³C (165 MHz, CD₃OD), 5-etil-3-(hidroximetil)-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (66g)



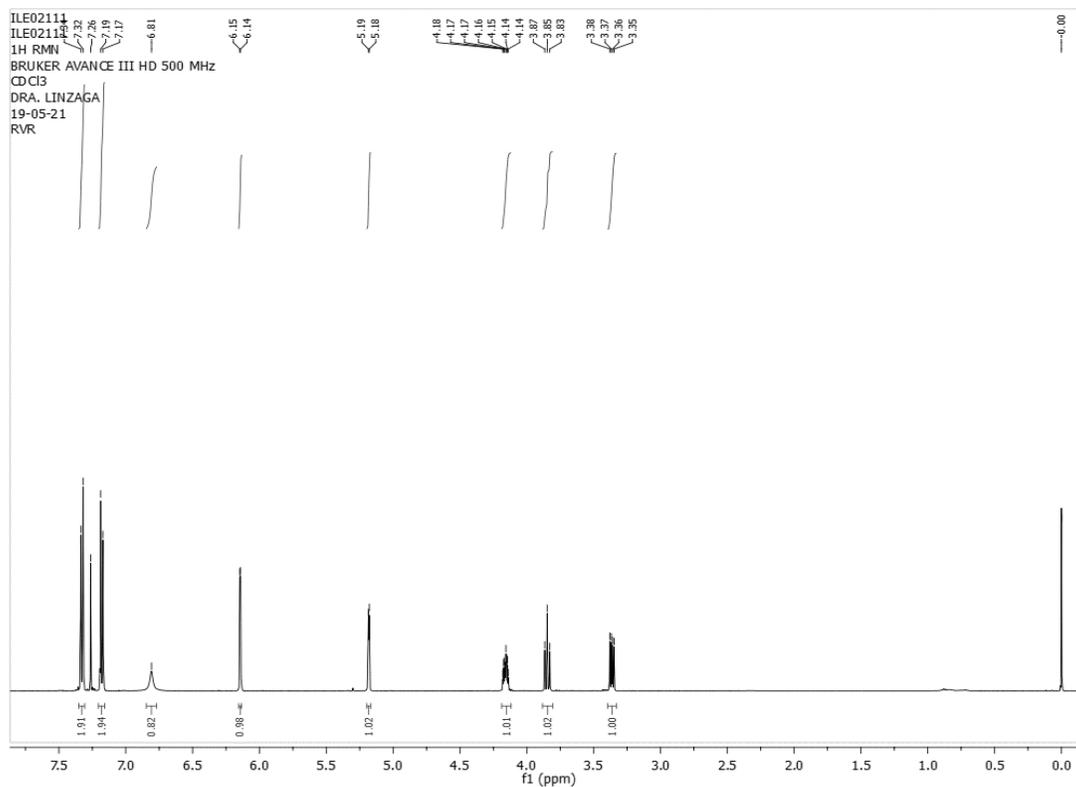
RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃), 3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona. (67a).



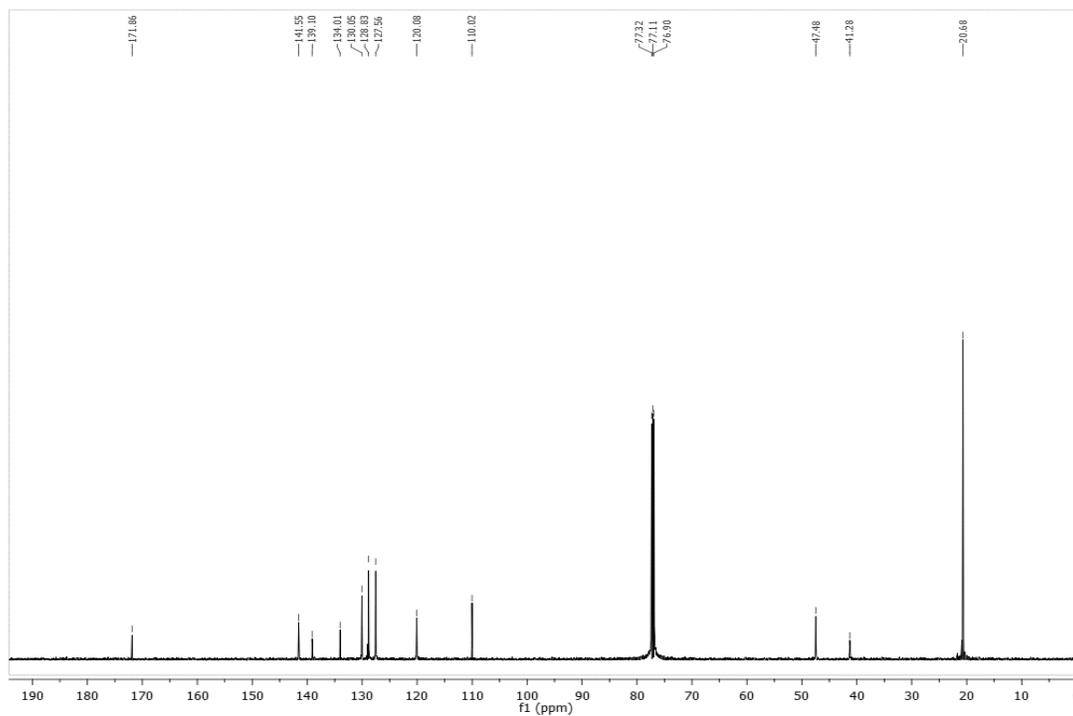
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), 3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona. (67a).



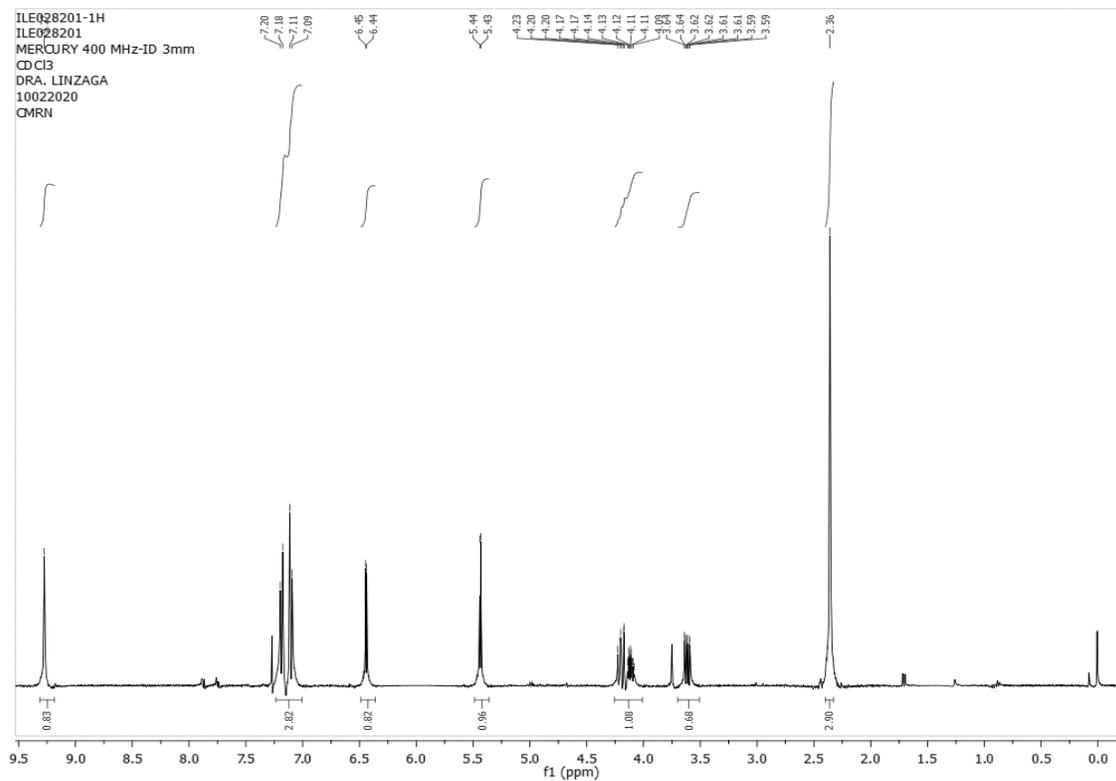
RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃), 3-metilen-4-(4-clorofenil)pirrolidin-2-ona. (67b).



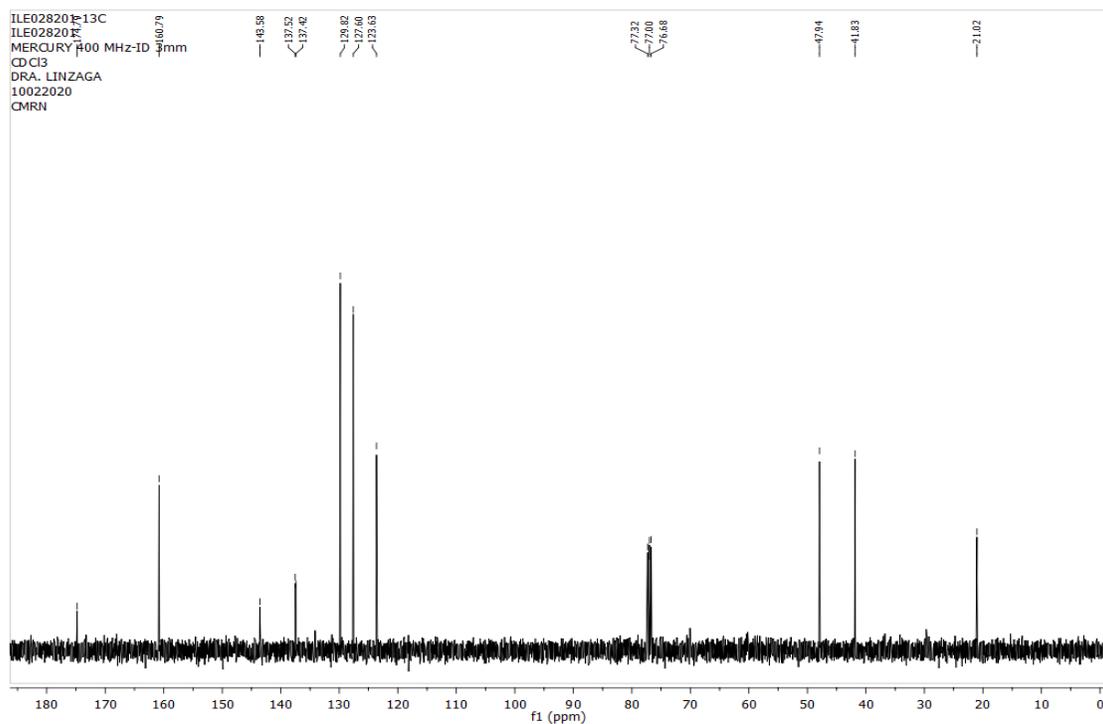
RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃), 3-metilen-4-(4-clorofenil)pirrolidin-2-ona. (67b).



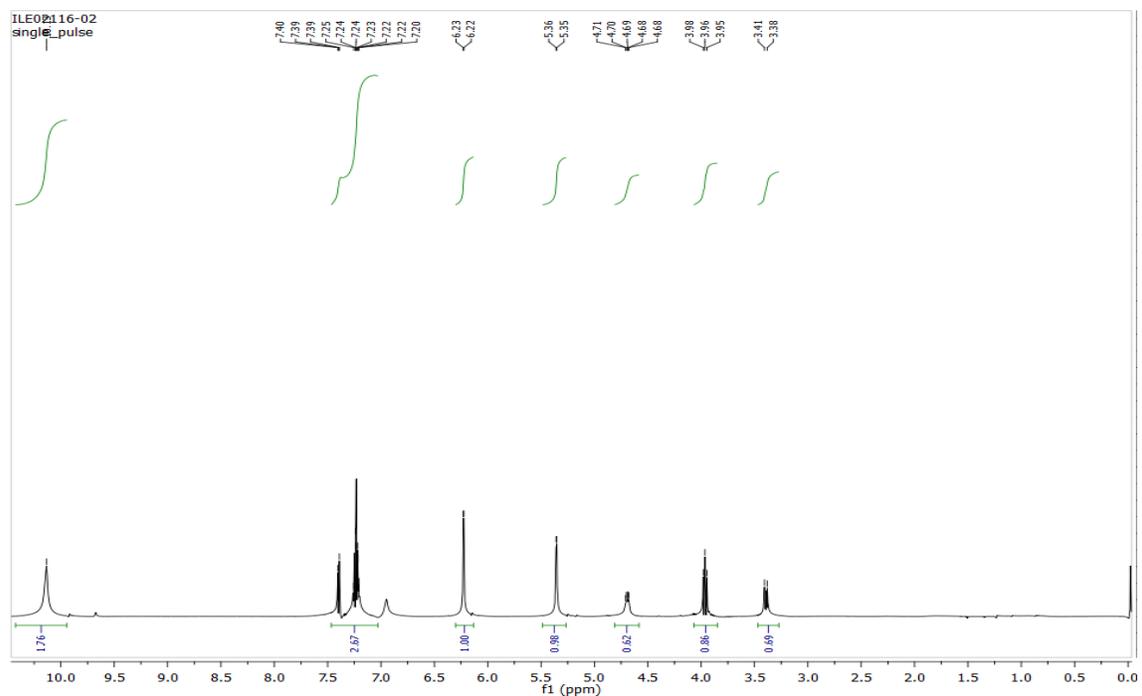
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), 3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (67c).



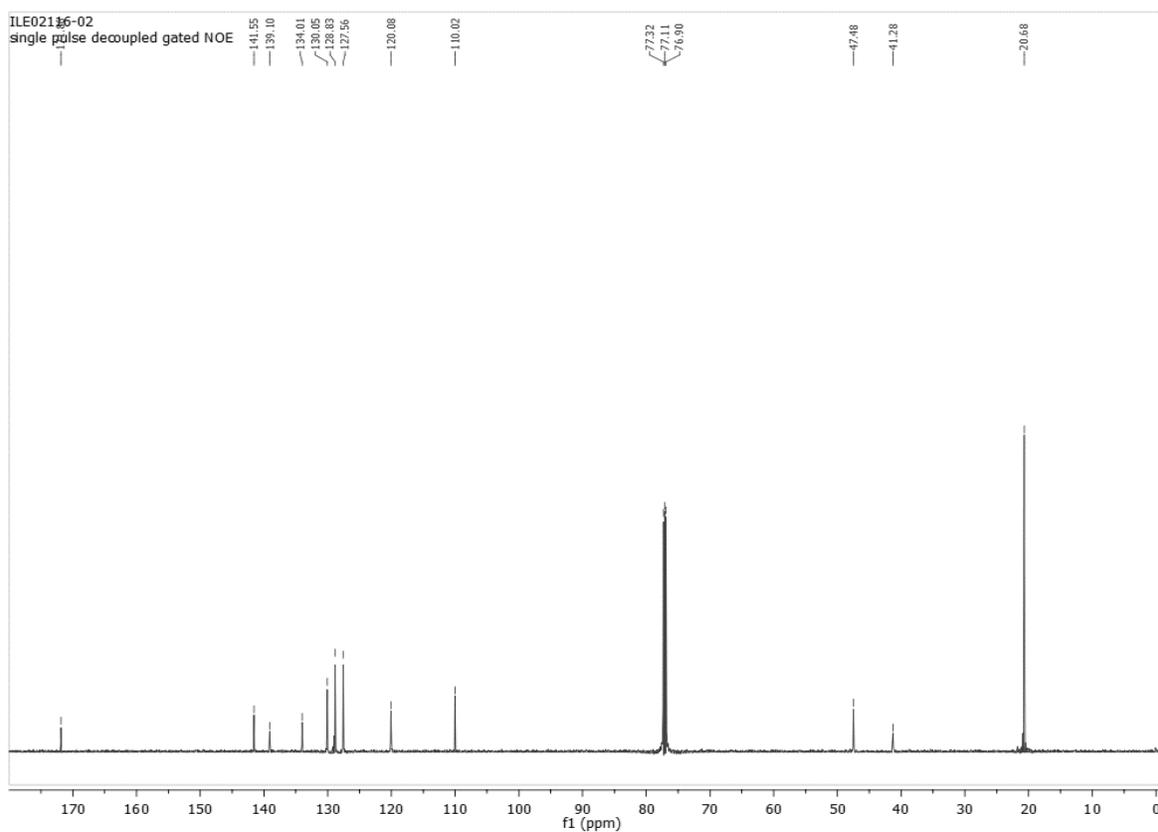
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), 3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (67c).



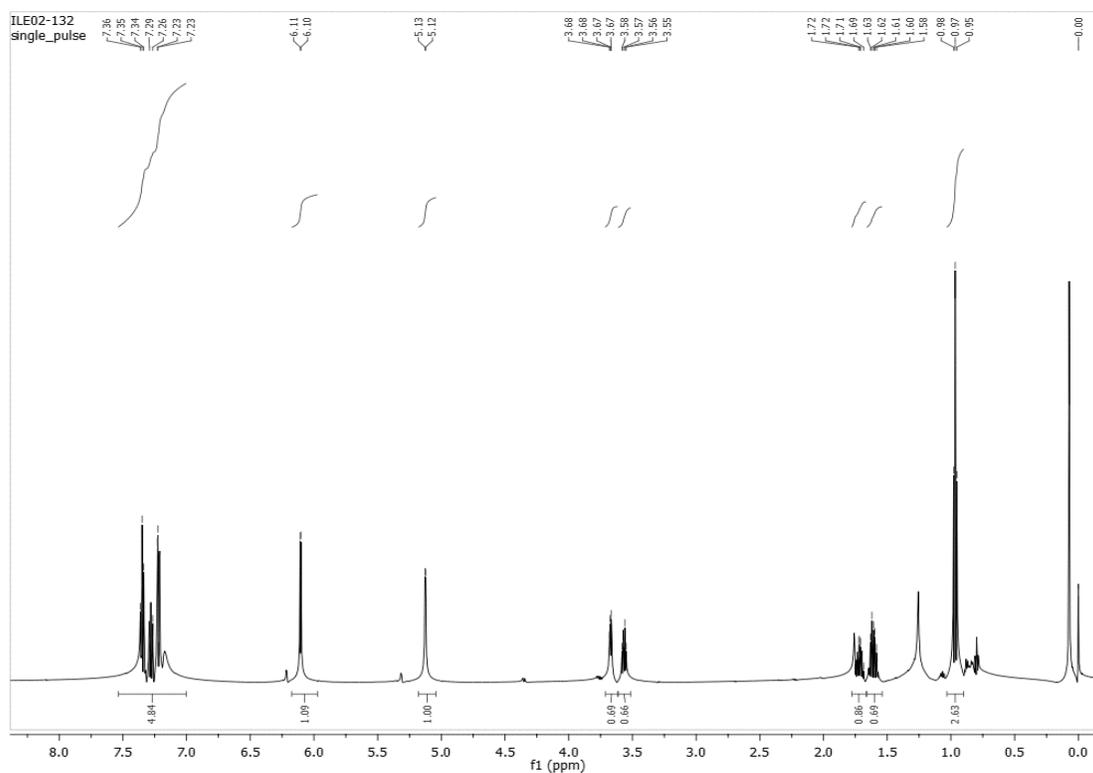
RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃), 3-metilen-4-(2-clorofenil)pirrolidin-2-ona. (67d).



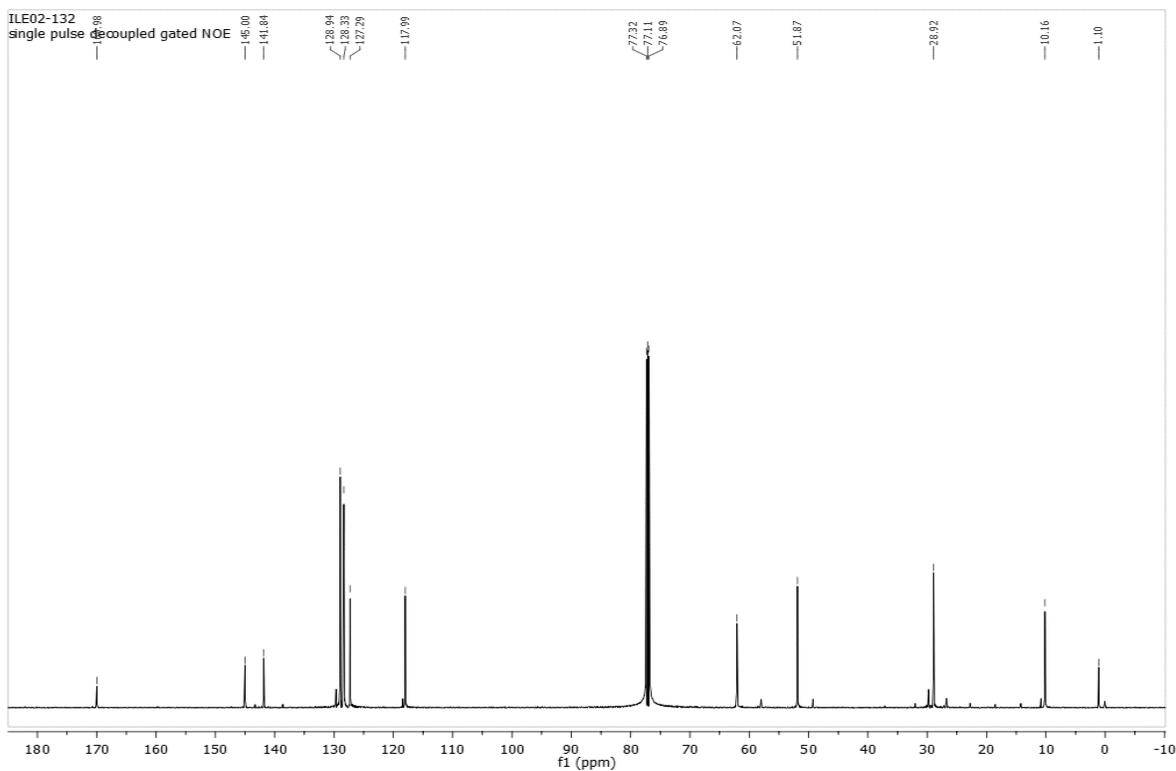
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), 3-metilen-4-(2-clorofenil)pirrolidin-2-ona. (67d)



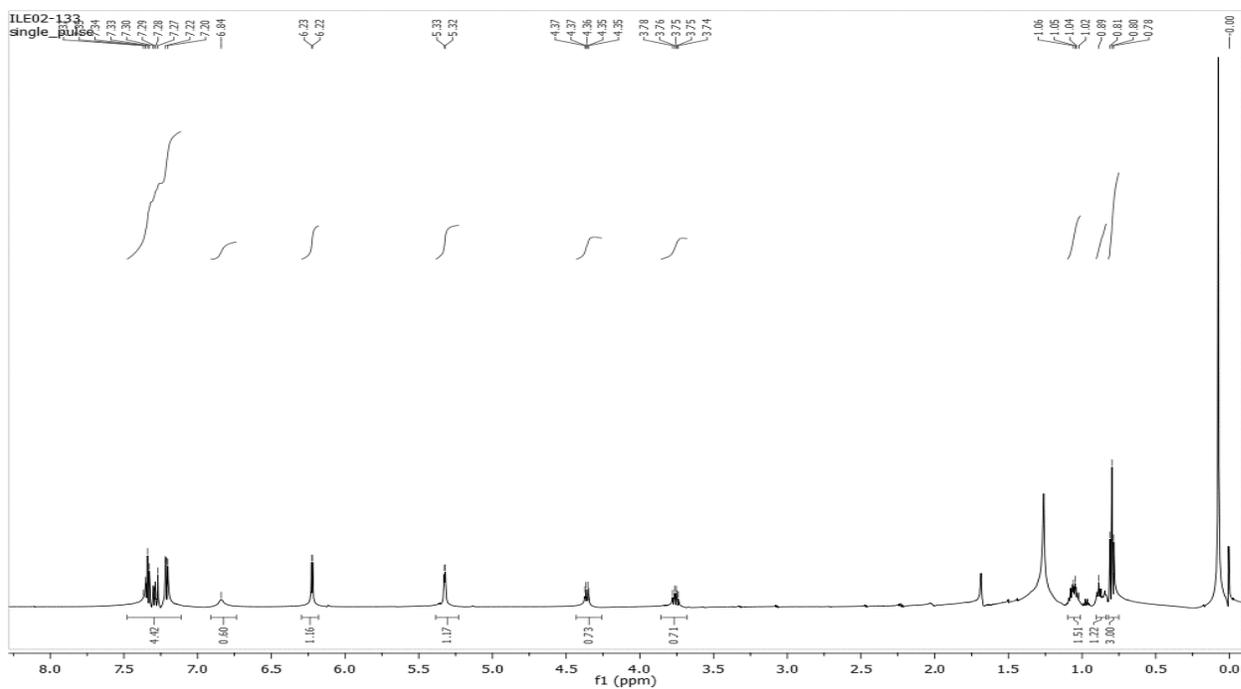
RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃), 5-*etil-3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona. (67e)-anti.*



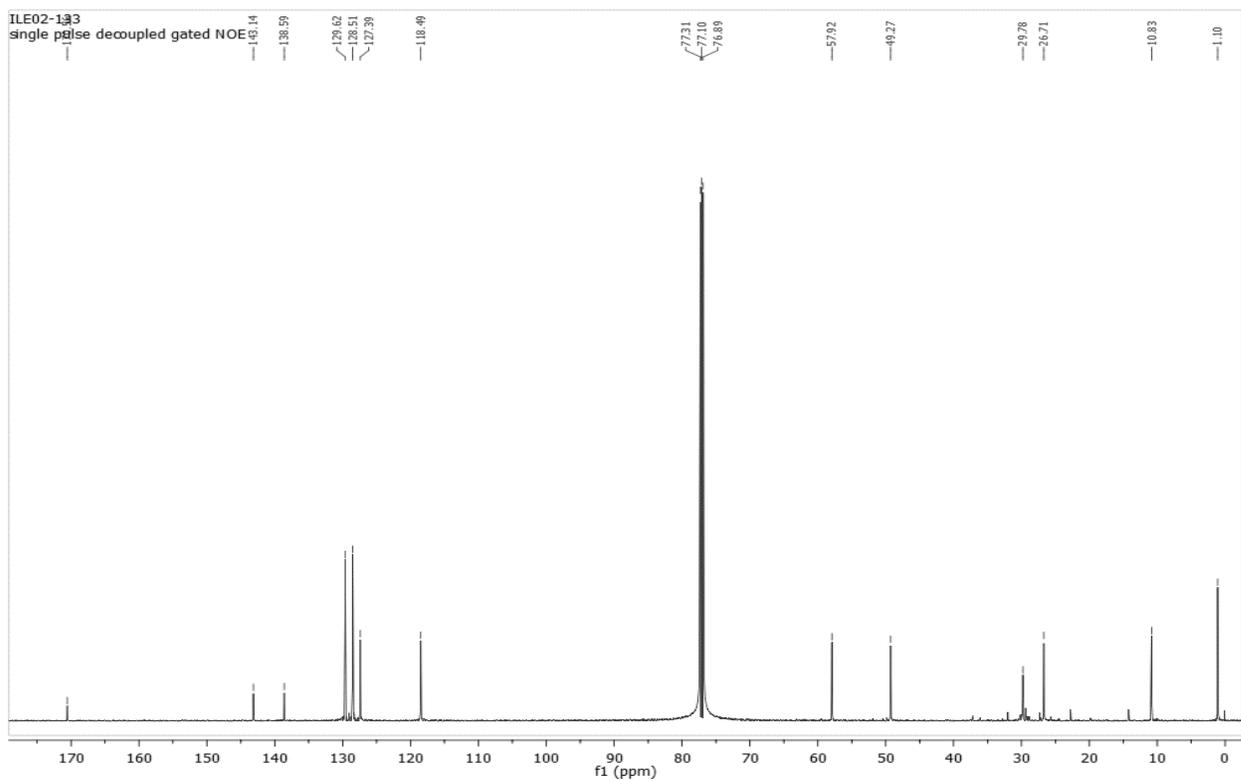
RMN ¹³C (151 MHz, CDCl₃), 5-*etil-3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona. (67e)-anti.*



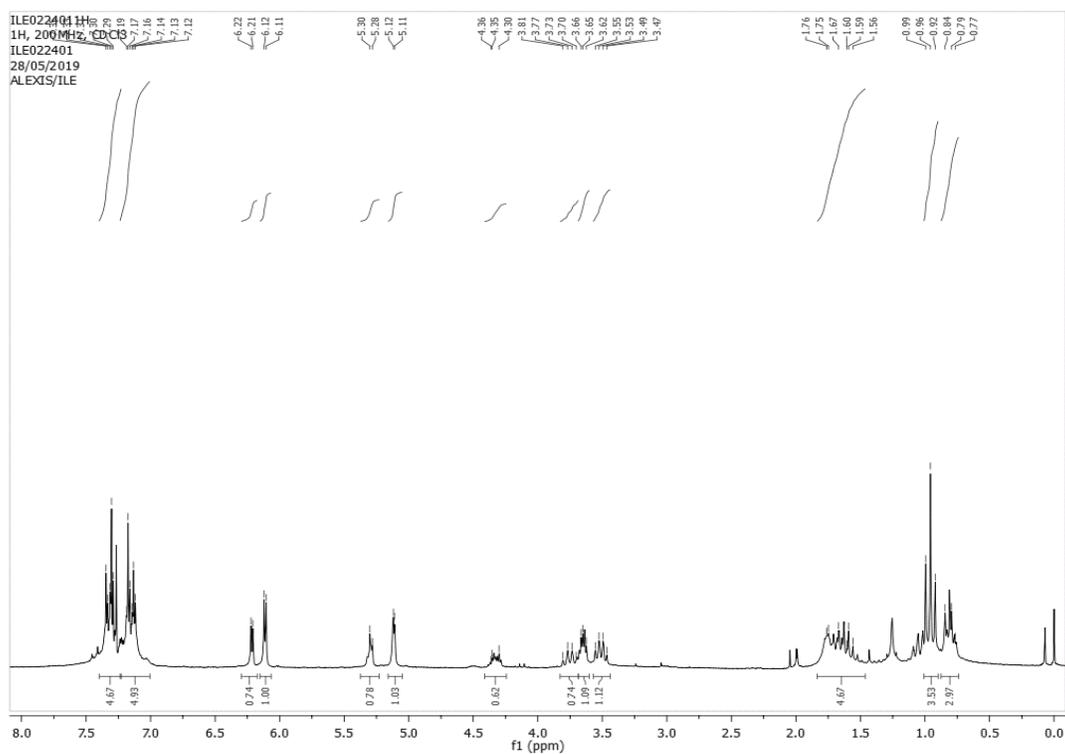
RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3), 5-*etil-3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona*. (67e)-*syn*.



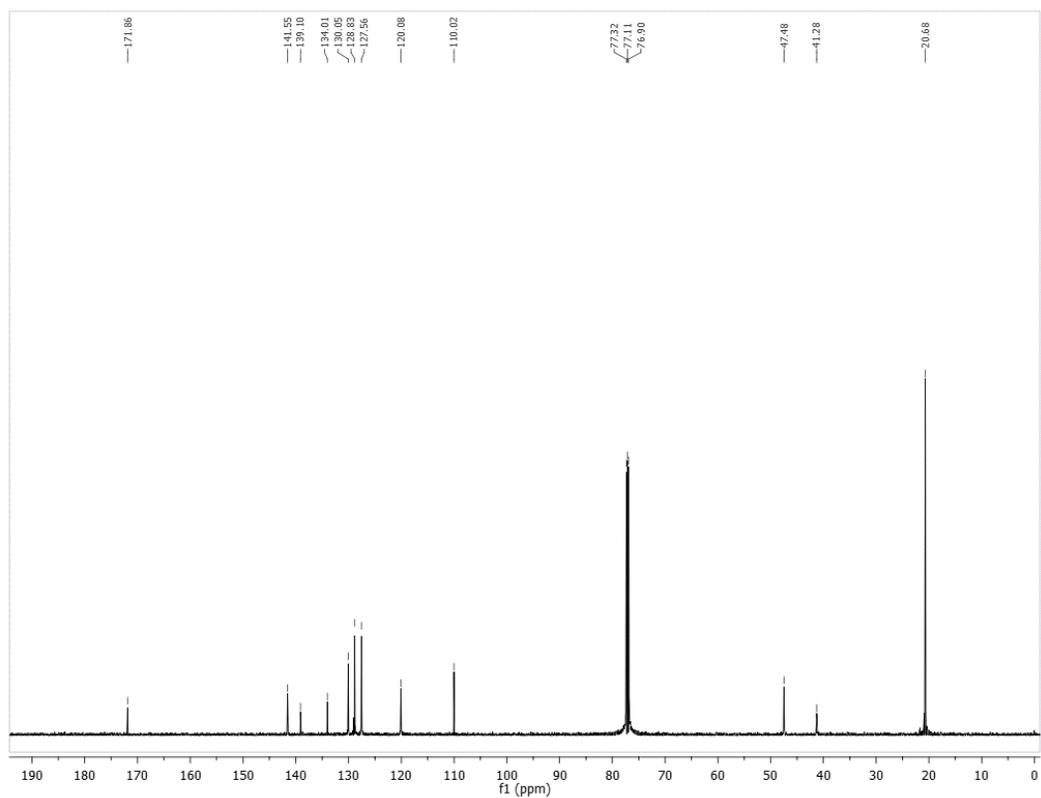
RMN ^{13}C (151 MHz, CDCl_3), 5-*etil-3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona*. (67e)-*syn*.



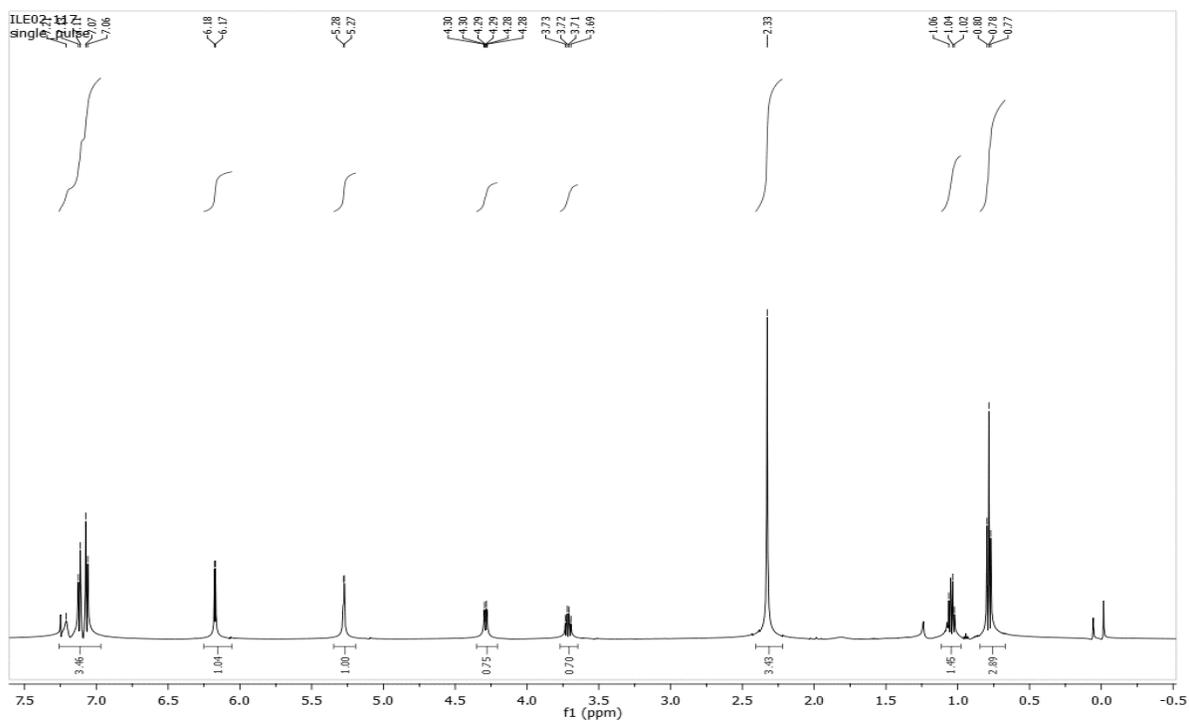
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), 5-*etil-3-metilen-4-(4-clorofenil)pirrolidin-2-ona*. (67f).



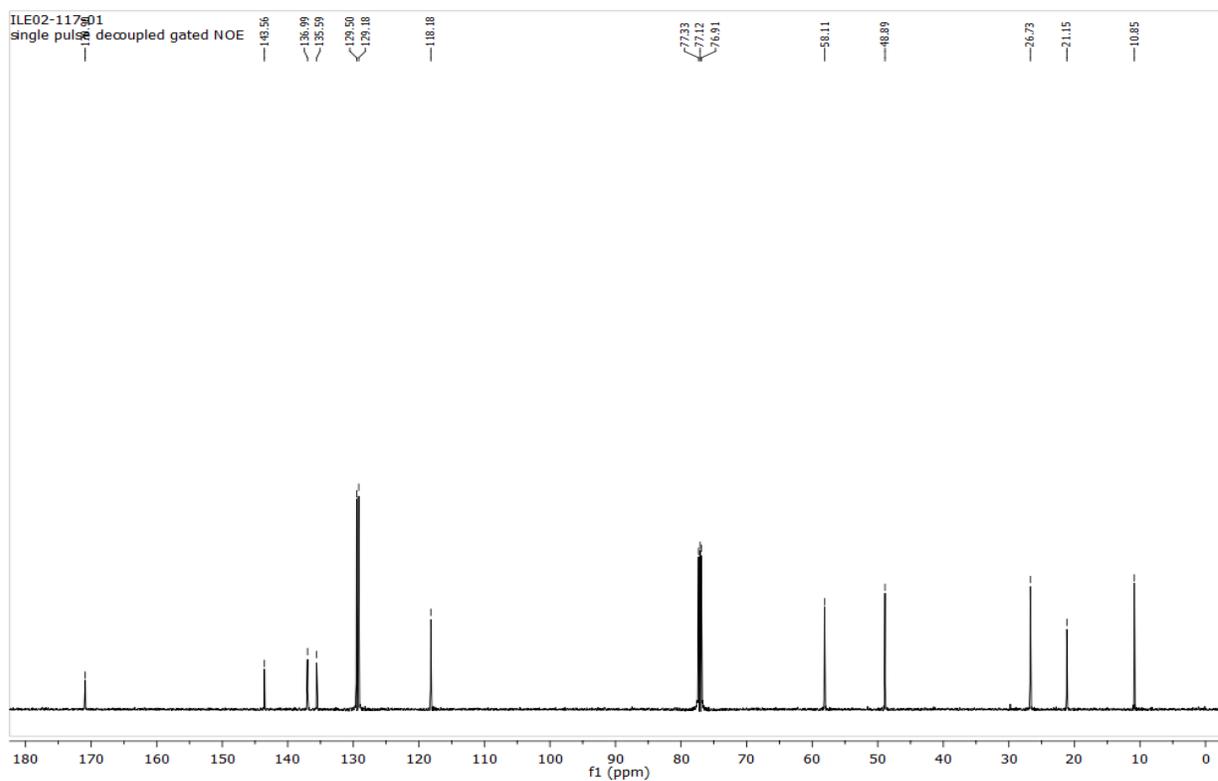
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), 5-*etil-3-metilen-4-(4-clorofenil)pirrolidin-2-ona*. (67f).



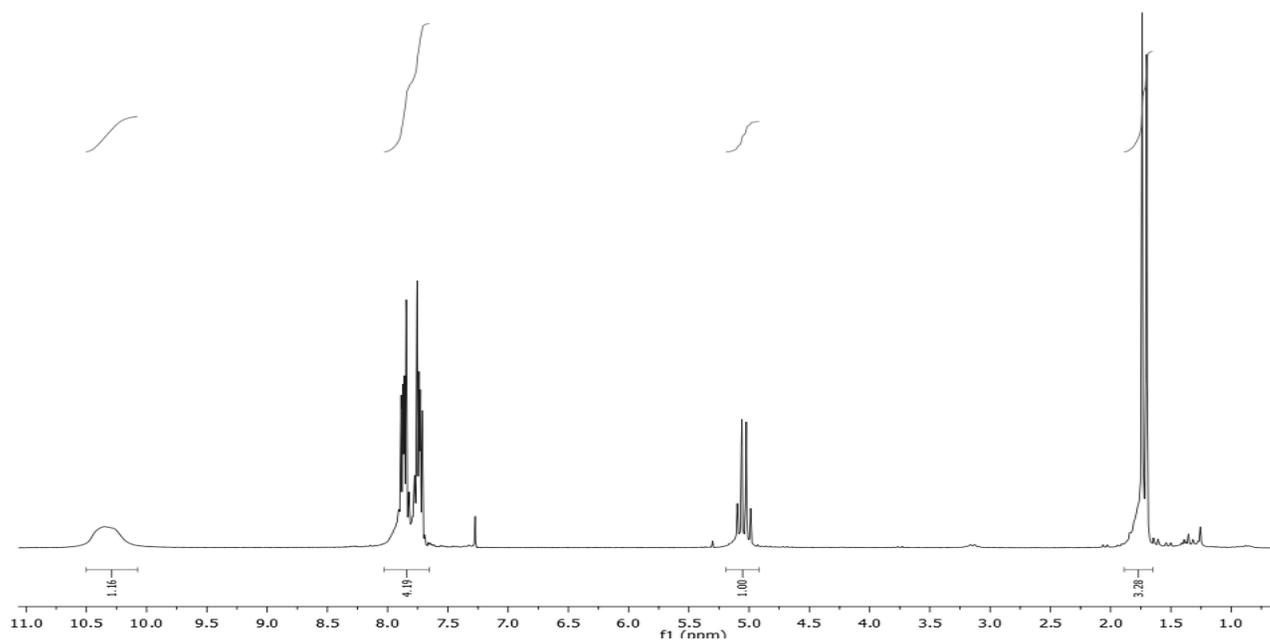
RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃), 5-etil-3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (67g).



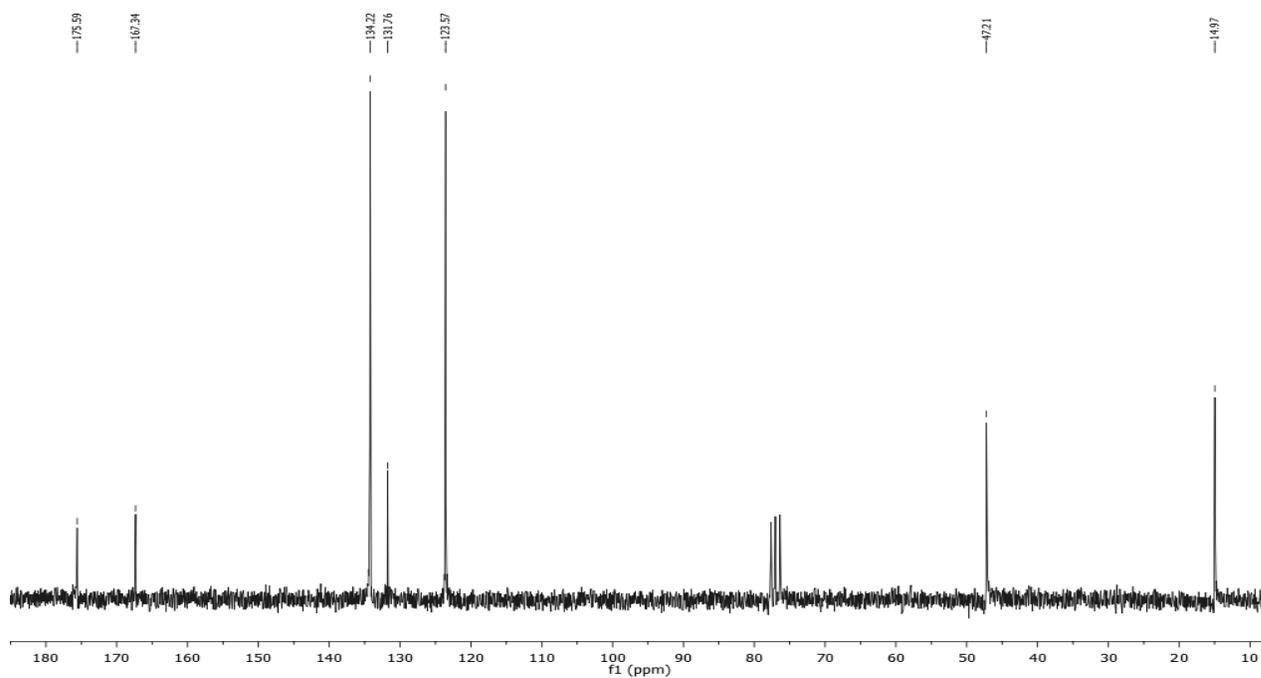
RMN ¹³C (151 MHz, CDCl₃), 5-etil-3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (67g).



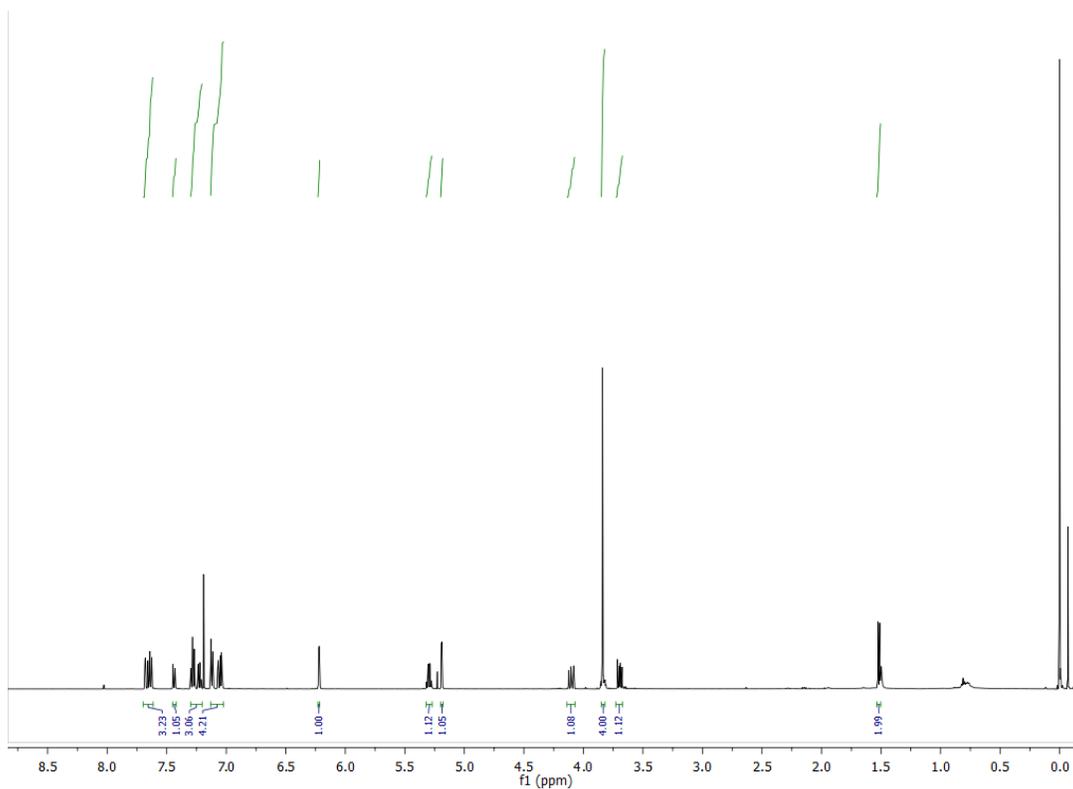
RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3), ácido (*S*)-2-(1,3-dioxoisindolin-2-il) propanoico. (**77**).



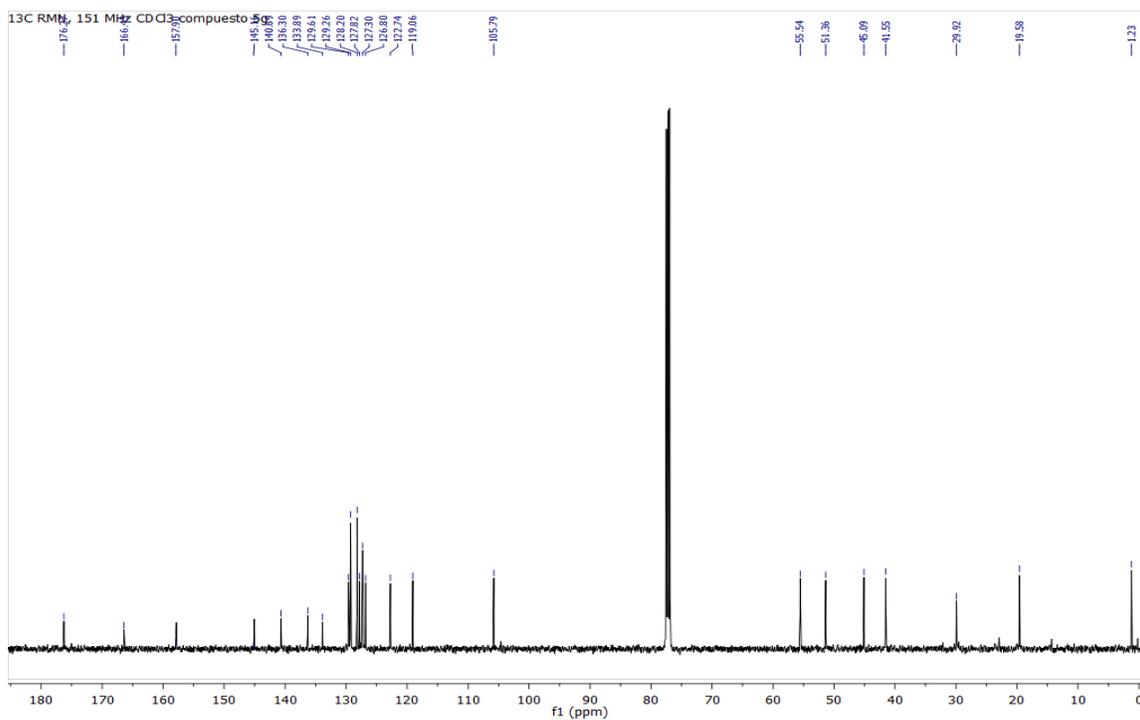
RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3), ácido (*S*)-2-(1,3-dioxoisindolin-2-il) propanoico. (**77**).



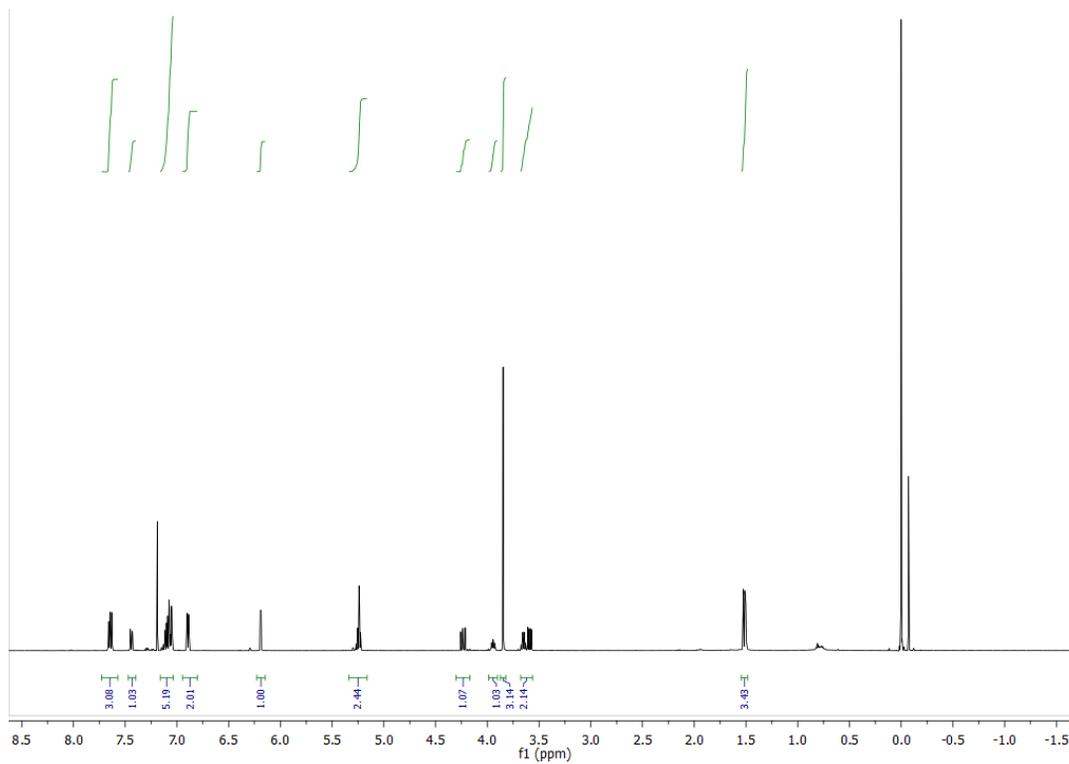
RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃), (R)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona. (R,S)-**67a**.



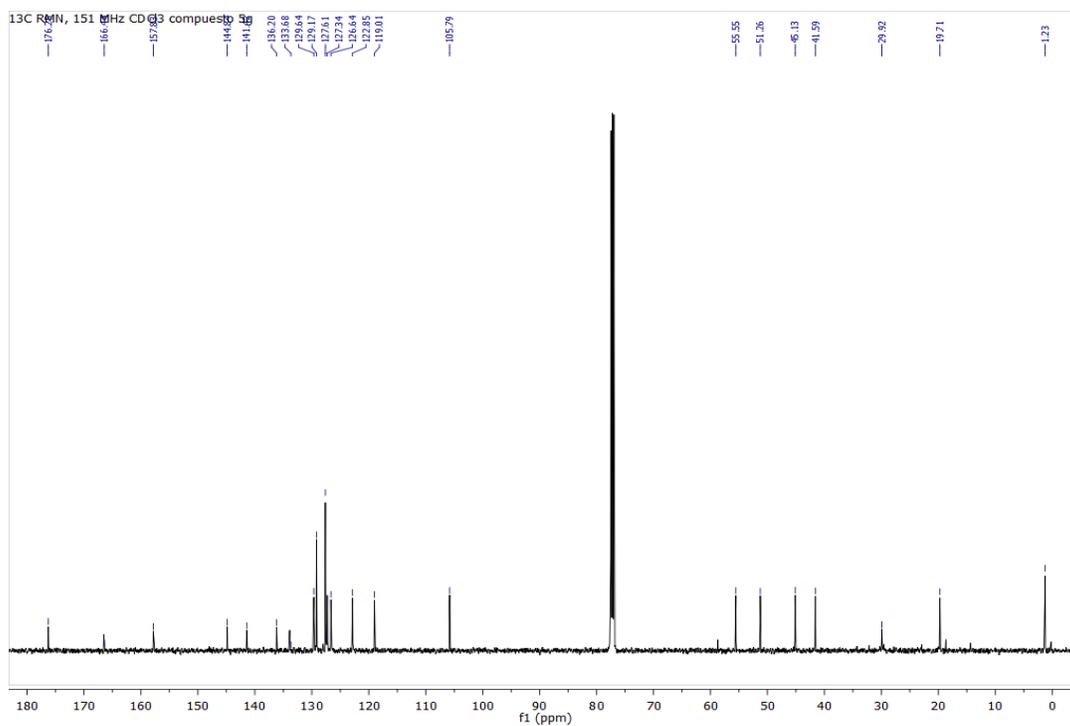
RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃), (R)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona. (R,S)-**67a**.



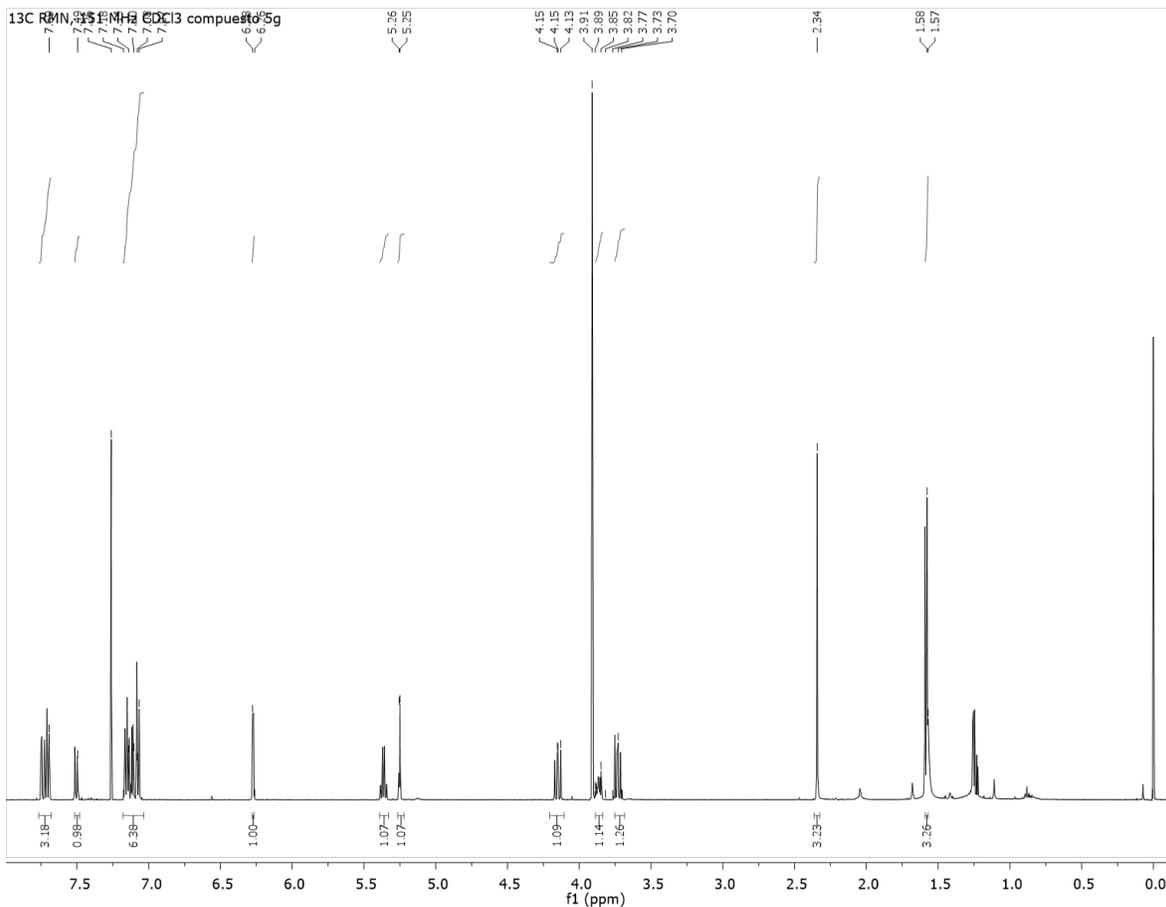
RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃), (S)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona. (S,S)-**67a**.



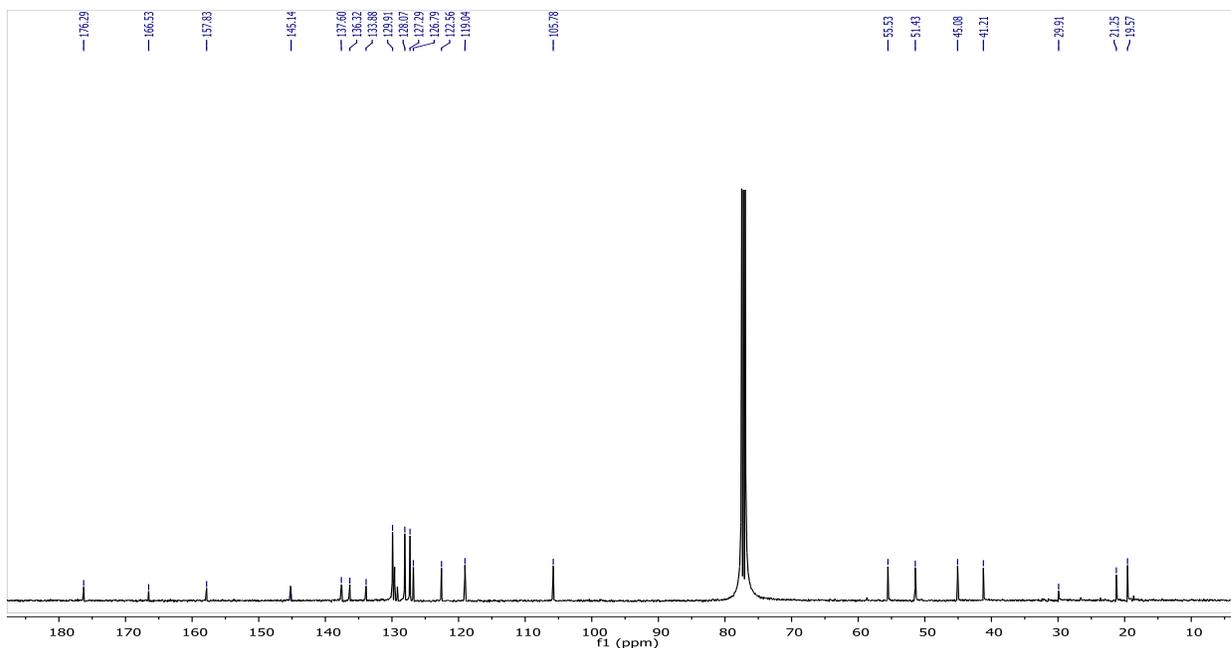
RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃), (S)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-fenilpirrolidin-2-ona. (S,S)-**67a**.



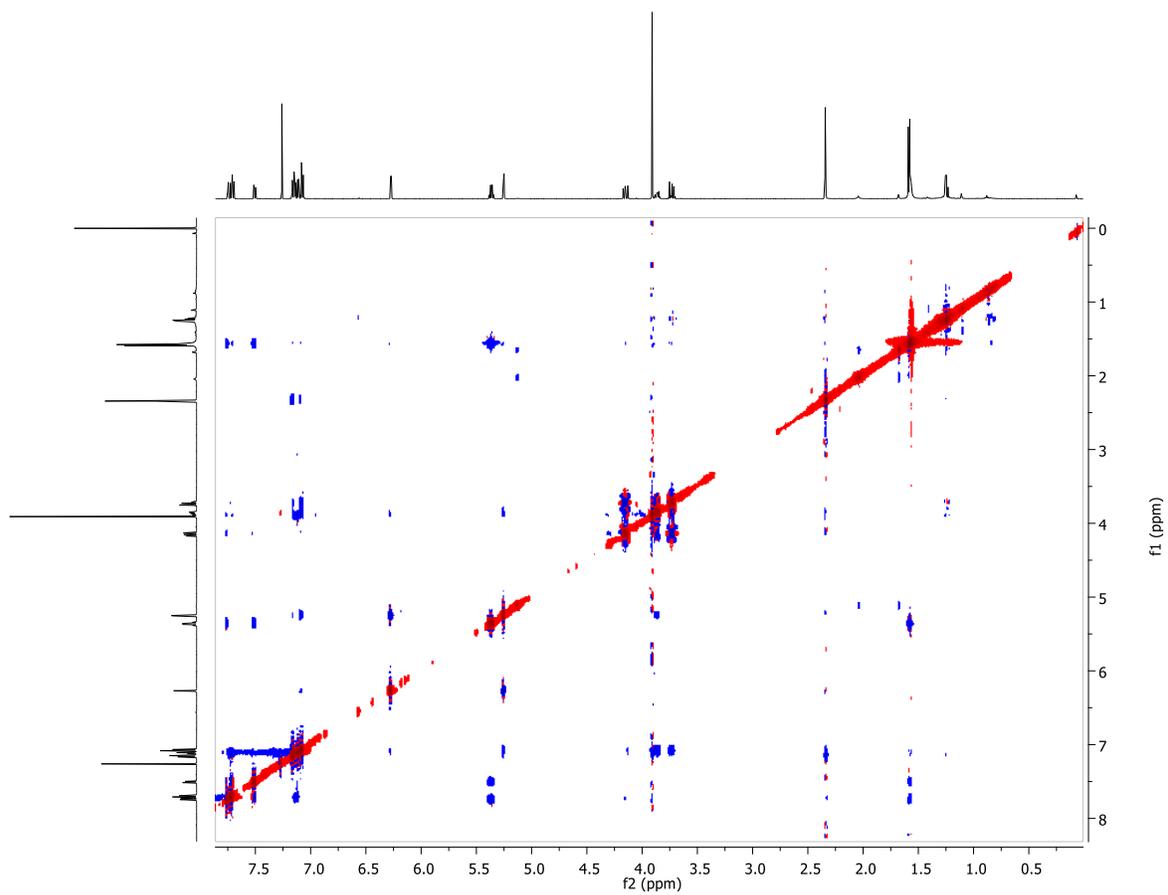
RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃), (S)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (S,S)-67c.



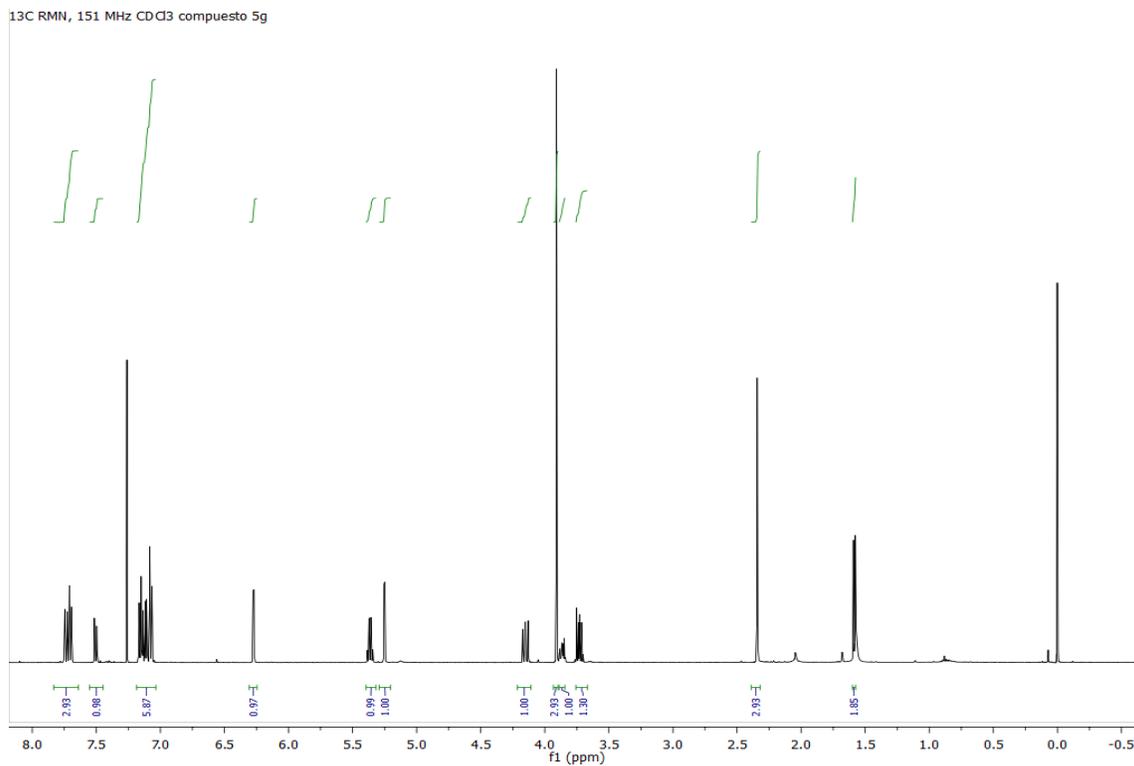
RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃), (S)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (S,S)-67c.



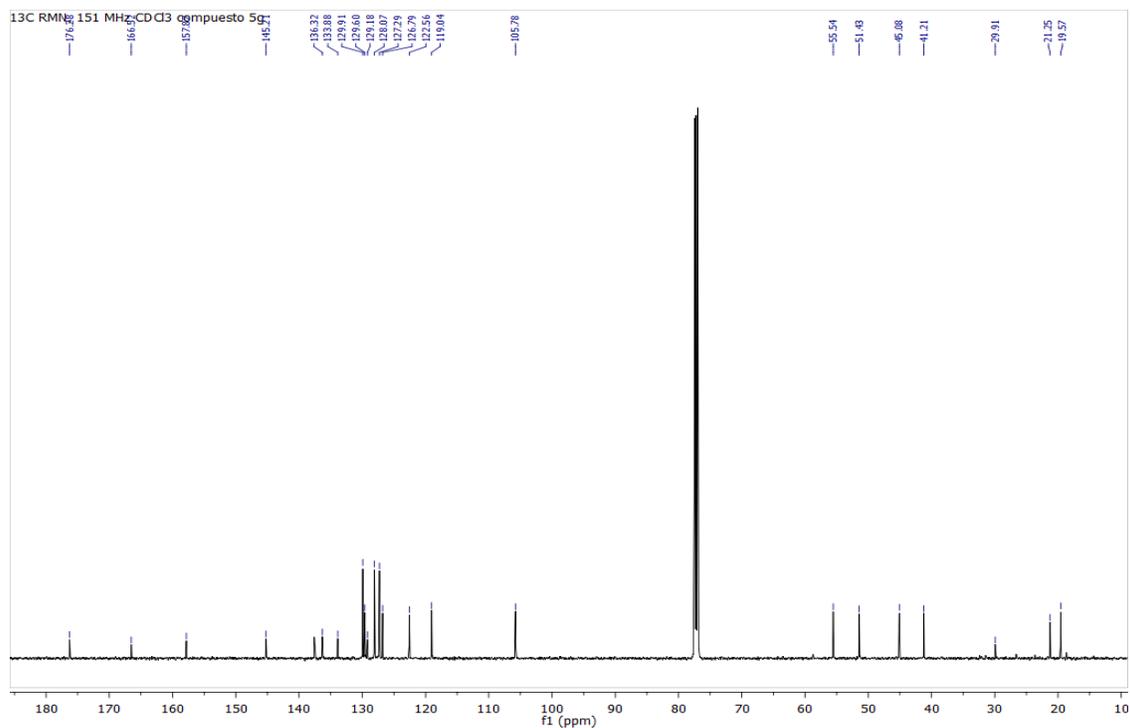
NOESY. (S)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (S,S)-67c.



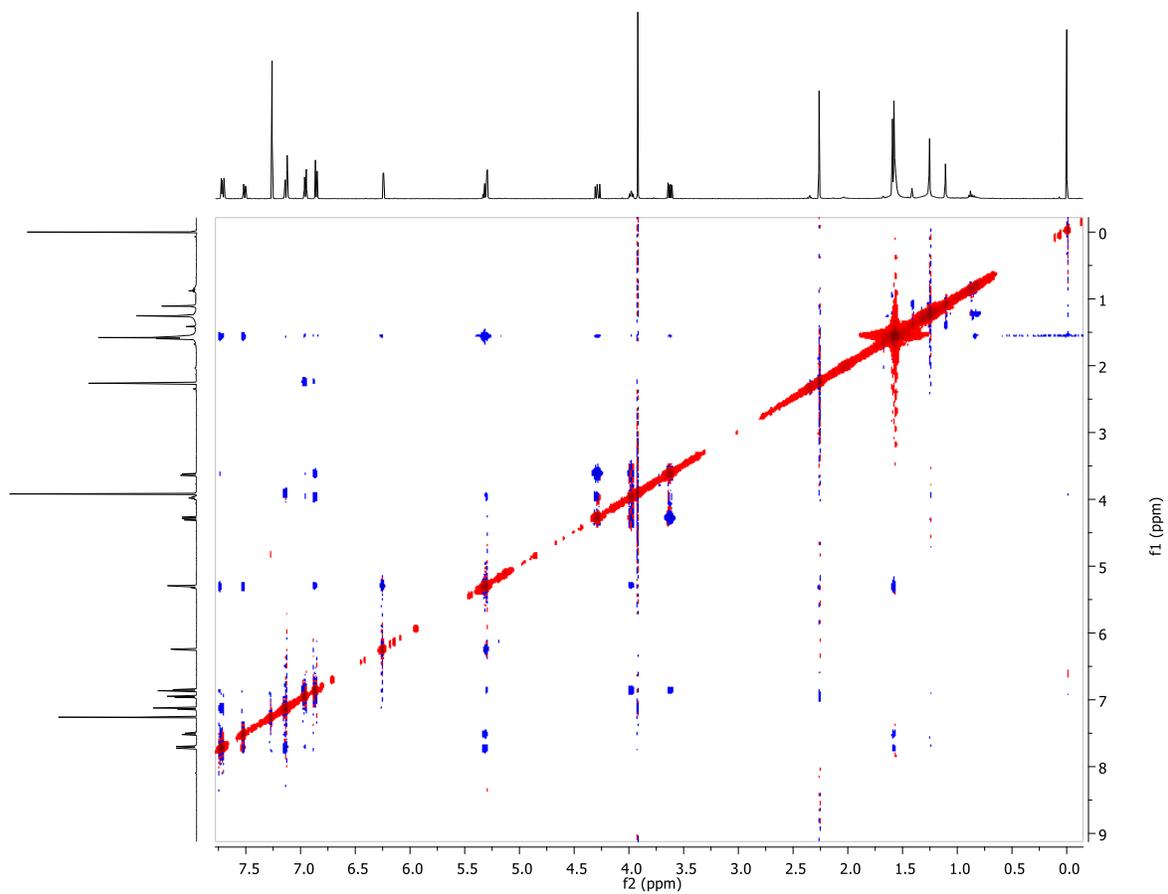
RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃), (R)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (R,S)-67c.



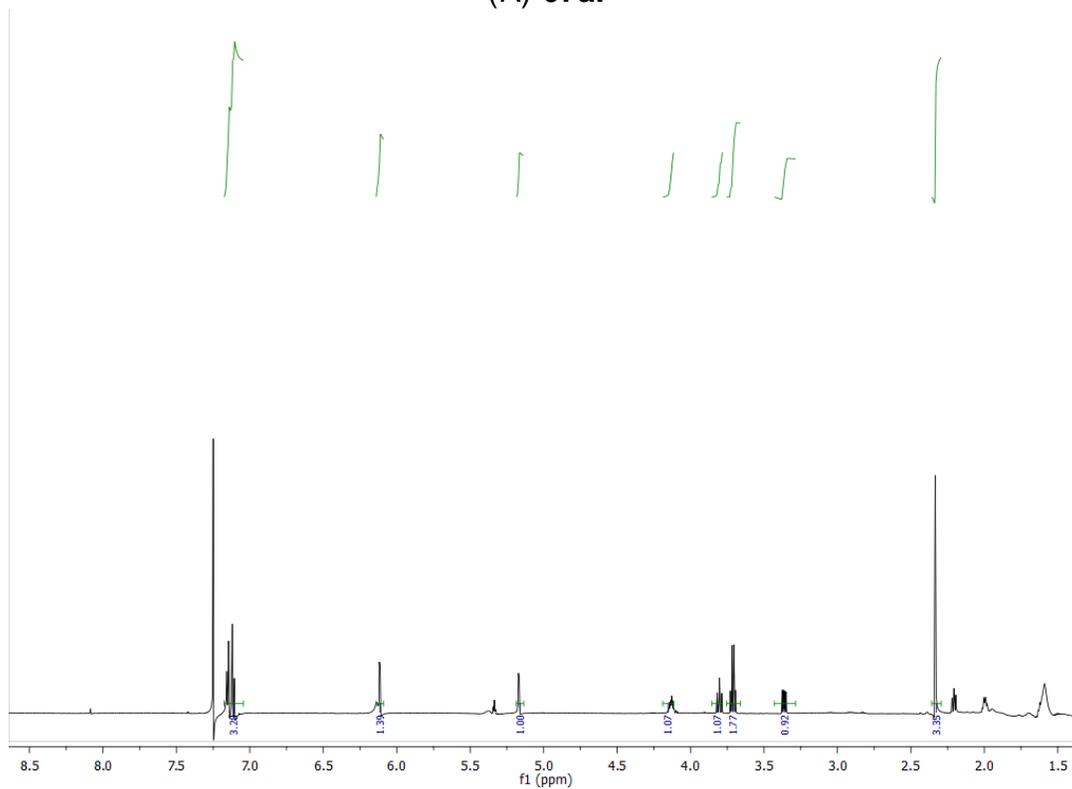
RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃), (R)-1-((S)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-(p-tolil)pirrolidin-2-ona. (R,S)-67c.



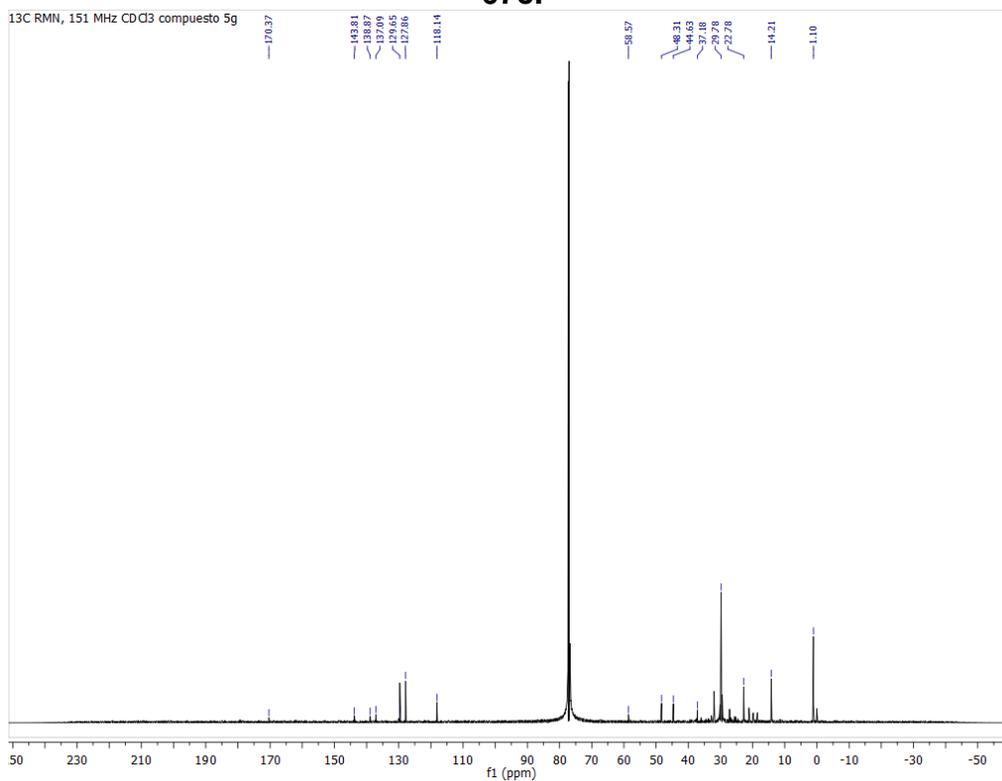
NOESY. *(R)*-1-((*S*)-2-(7-metoxinaftalen-2-il)propanoil)-3-metilen-4-(*p*-tolil)pirrolidin-2-ona. (*R,S*)-**67c**.



RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃), (R)-2-oxo-4-(p-tolil)pirrolidina-3-carboxilato de metilo.
(R)-67a.



RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃), 2-oxo-4-(p-tolil)pirrolidina-3-carboxilato de metilo. (R)-
67c.





Synthesis of β -mono- and β,γ -di-substituted α -methylene- γ -lactams

Alexis Hernández-Guadarrama, Fernando Cuevas, Iris J. Montoya-Balbás, Perla Román-Bravo, Irma Linzaga-Elizalde*

Centro de Investigaciones Químicas, Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Cuernavaca 62209, Mexico



ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 June 2022

Revised 19 August 2022

Accepted 22 August 2022

Available online 28 August 2022

Keywords:

γ -Lactams

α -Methylene- γ -lactams

Arylidene malonates

Nitroderivatives by microwave irradiation

ABSTRACT

A series of β -mono- and β,γ -di-substituted α -methylene- γ -lactams was synthesized. This method involves the 1,4-addition of nitroalkanes to arylidene malonates to obtain nitro derivatives using a conventional method and microwave irradiation. Subsequent nitro reduction provided α -carbomethoxy- γ -lactam, a versatile molecule that was used to obtain the alcohol. After alcohol, the mesylate was obtained, which was eliminated to give the α -methylene- γ -lactams. The process characteristics are easy work-up, mild reaction conditions, and good yields.

© 2022 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

γ -Lactams are considered one of the most important heterocycles in medicinal chemistry and can be widely found in a large number of natural products with a broad spectrum of biological activities as well as in different drug candidates [1,2]. The γ -lactam rings have also been utilized as key intermediates in many syntheses of γ -amino acids [3,4], such as baclofen, pregabalin, phenibut, and peptidomimetics [5–7]. Accordingly, γ -lactams have great interest in organic chemistry, and different approaches have been developed for their synthesis. In particular, α -methylene- γ -lactams are less widespread in nature and show activities similar to those of the isosteric analogs α -methylene- γ -lactones but with fewer toxic side effects [8]. In recent years, the synthesis of α -methylene- γ -lactams has received considerable attention due to their excellent activities as well as their role as building blocks for obtaining nonproteinogenic amino acids such as kainic acid [9], natural products such as salinosporamide A [10], and alkaloids such as isocynometrine [11,12]. In addition, α -methylene- γ -lactams have been found to be incorporated into natural products, such as anantine and isoanantine [13], which have been isolated from the *Cynometra* plant and have been used in traditional African medicine as a remedy for pain. Pukeleimide E [14], isolated from a seaweed called *Lyngbya majuscula*, is a cytotoxic agent against *Mycobacterium smegmatis* and *Streptococcus pyogenes* (Fig. 1). Fur-

thermore, α -methylene- γ -lactams showed moderate inhibitory activity against homoserine transacetylase of *Haemophilus influenzae in vitro* [15]. Additionally, these compounds have also shown antitumor [16–18], anti-inflammatory [19], and antifungal [20] activities. In this sense, Heliotropamide A [21] and Bisavenanthramide B-6 [22] are produced by the biosynthesis of *N-E*-feruloyl tyramine and Avenanthramide E, respectively, which is due to the stress suffered by some plants. These compounds show some properties, such as acetylcholinesterase inhibitory activity, and they can be regarded as promising against neurodegenerative disorders [23]. (Fig. 1).

α -Methylene- γ -lactams have also been used since 1985 as polymers in the preparation of contact lenses and for biomedical applications [24,25]. However, currently, the knowledge about polymerization to obtain polymeric materials is very poor. Their properties as kinetic hydrate inhibitors have been studied in industry, and recently, some research groups have carried out studies to obtain the characteristics of such polymers, including their degradation behavior [26–28].

As a result of its biological and polymeric activity, caused in part by the presence of α -exomethylene conjugated to the carbonyl group of γ -lactam, several synthetic approaches have been developed for the preparation of derivatives of α -methylene- γ -lactams [29].

The approaches to obtain α -methylene- γ -lactams have been divided into five main groups (Scheme 1): a) Aza-Barbier reaction applied by Lin [30] and Lee [31], b) Morita-Baylis-Hillman developed by Rios [32], c) Horner-Wadsworth-Emmons applied by

* Corresponding author.

E-mail address: linzaga@uaem.mx (I. Linzaga-Elizalde).

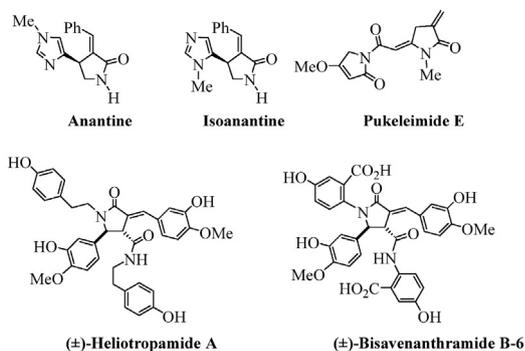
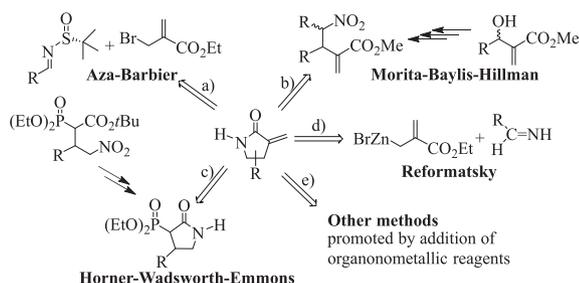


Fig. 1. α -Methylene- γ -lactams isolated from natural products.



Scheme 1. Main methods for the preparation of α -methylene- γ -lactams.

Krawczyk [33] and Beji [34], and d) Reformatsky described by Belaud [35] and Letourneux [36]. Additionally, e) there are other methods that use the addition of organometallic reagents and subsequent cyclization [37]. In this way, several metals, such as Zn [38], In [39,40], Pd [41,42], Cu [43], and Rh [44,45] were found to promote this reaction efficiently. Allylboration of aldimines [46] also represents an important route. (Scheme 1).

Considering the biological importance and the multiple applications of α -methylene- γ -lactams, we report herein the synthesis of α -carbomethoxy- γ -lactams through Knoevenagel condensation, which are readily converted into α -methylene- γ -lactams incorporating β -aryl or β -aryl- γ -alkyl substituents. This synthetic route

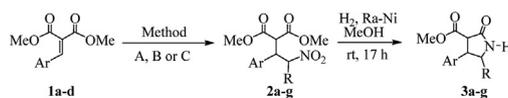
represents a straightforward way to obtain α -methylene- γ -lactams.

Results and discussions

Based on our previous report, we first prepared arylidene-malonates **1a-d**. Thus, a Knoevenagel condensation using dimethyl malonate and different aromatic aldehydes gave the desired starting materials **1a-d** [47]. In the next step, we carried out the 1,4-addition. The arylidenemalonates **1a-d** were reacted with nitromethane and potassium carbonate in toluene as solvent at room temperature to obtain the corresponding γ -nitroesters **2a-d** with yields from 65 to 81% (Table 1, Method A). It is important to note that when arylidenemalonates **1a-c** were reacted with 1 nitropropane under these conditions, Compounds **2e-g** were not obtained. Due to the above results, to study other methods for the synthesis of **2e-g**, we carried out reactions **1a-c** using 1 nitropropane and 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) under irradiation with microwaves (MW) (50 W) at 80 °C, and γ -nitroesters **2e-g** were obtained in moderate yields (54 to 59%) (Table 1, Method B). Additionally, we tested the reaction of arylidene-malonate **1b** with nitromethane and DBU (10% mol) under MW irradiation (50 W, 80 °C) for 30 min. However, after purification by column chromatography, only traces of product were obtained. Finally, **1a-d** were also reacted using DBU (5% mol) by MW irradiation (50 W, 30 °C) for 5 min (Method C); in this way, **2a-d** were obtained after purification in 31–73% yield. In the next step, nitro derivatives **2a-g** were reduced by catalytic hydrogenation with Ra-Ni at room temperature and atmospheric pressure in the presence of methanol. The *in situ* cyclization of the resulting amine afforded the α -carbomethoxy- β -aryl- γ -lactams **3a-g**, with yields from 75 to 88% (Table 1).

Subsequently, we continued with the formation of the double bond to obtain the desired α -methylene- γ -lactam. Different methods in the literature to prepare alkenes involve the elimination of bromoalkanes. Taking this into account, we decided to apply the Appel reaction [48,49]. Herein, the key step is the formation of the double bond without isomerization since it must be endocyclic. Thus, the α -carbomethoxy group of **3d** was treated under reduction conditions (NaBH₄, THF/MeOH) to obtain alcohol **4d** in 51% yield, which after purification was subjected to reaction with car-

Table 1
Synthesis of α -carbomethoxy- β -aryl- γ -lactams **3a-g**.



Substrate	Ar	R	Method, time	Yield product 2a-g (%)	Yield product 3a-g (%)
1a	C ₆ H ₅	H	A, 48 h	2a (65)	3a (85)
			C, 5 min	(30)	
1b	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	H	A, 48 h	2b (81)	3b (83)
			B, 30 min	traces	
			C, 5 min	(56)	
1c	<i>p</i> -MeC ₆ H ₄	H	A, 24 h	2c (71)	3c (85)
			C, 5 min	(31)	
1d	<i>o</i> -ClC ₆ H ₄	H	A, 48 h	2d (69)	3d (88)
			C, 5 min	(73)	
1a	C ₆ H ₅	Et	B, 5 min	2e (55)	3e (75)
1b	<i>p</i> -ClC ₆ H ₄	Et	B, 5 min	2f (59)	3f (75)
1c	<i>p</i> -MeC ₆ H ₄	Et	B, 5 min	2g (54)	3g (82)

Method A: MeNO₂, K₂CO₃, PhMe, 26 °C.

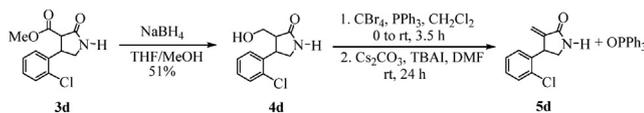
Method B: MeNO₂ or CH₃(CH₂)₂NO₂, DBU (10% mol), MW (50 W), 80 °C.

Method C: MeNO₂, DBU (5% mol), MW (50 W), 30 °C.

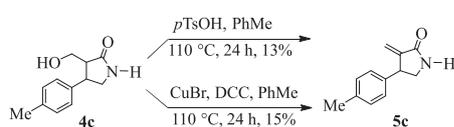
bon tetrabromide and triphenylphosphine in dichloromethane for 3.5 h, giving alkyl bromide and triphenylphosphine oxide (reaction byproduct). Even with subsequent washing with hexane and ether, in addition to purification by column chromatography, it was not possible to eliminate the triphenylphosphine oxide. In this way, the mixture was then reacted with cesium carbonate and tetrabutylammonium iodide (TBAI) [50] in *N,N*-dimethylformamide at room temperature for 24 h, yielding **5d** with triphenylphosphine oxide from the starting substrate, so it was not possible to calculate the yield (Scheme 2).

To study other methods for the synthesis of α -methylene- γ -lactams, we carried out the dehydration of alcohol **4c** with *p*-toluenesulfonic acid at reflux in toluene for 24 h, obtaining **5c** in 13% yield. In another experiment, alcohol **4c** was reacted with copper bromide and *N,N*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) [51] in refluxing toluene for 24 h, and **5c** was obtained in only 15% yield. In addition to the low yield, the drawback in this assay was the removal of the *N,N*-dicyclohexylurea (reaction byproduct) after several washes with HCl 10% and saturated NaHCO₃ solution (Scheme 3).

Because the desired double bond could not be obtained in good yield by the above methods, we explored the formation of the mesylate from alcohol **4c**. In this context, alcohol **4c** was reacted with mesyl chloride using triethylamine as a base in dichloromethane [52,53], producing methanesulfonate **6c** in 78% yield. Continuing with our goal, we studied the elimination reaction in mesylate **6c** with different bases and solvents (Table 2). In the first assay, **6c** was treated with 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) [54] in dichloromethane, obtaining a complex mixture of products, which made its purification difficult. However, when



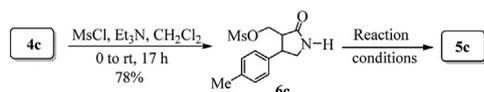
Scheme 2. Preparation of α -methylene- γ -lactam **5d** by Appel reaction.



Scheme 3. Preparation of α -methylene- γ -lactam **5c**.

Table 2

Optimization reaction conditions for mesylate group elimination.



Entry	Reaction conditions	Yield product 5c (%)
1	DBU (1 equiv.)/CH ₂ Cl ₂ , rt, 12 h	c.m.
2	K ₂ CO ₃ (1 equiv.)/CH ₂ Cl ₂ , rt, 24 h	n.r.
3	K ₂ CO ₃ (3 equiv.)/PhMe, rt, 24 h	n.r.
4	Cs ₂ CO ₃ (3 equiv.)/CH ₂ Cl ₂ , rt, 24 h	n.r.
5	Et ₃ N (2 equiv.)/CH ₂ Cl ₂ , rt, 24 h	n.r.
6	Et ₃ N (3 equiv.)/CH ₂ Cl ₂ , rt, 36 h	n.r.
7	KI (1 equiv.)/DMF, 120 °C, 2.5 h	65
8	1 N NaOH (33% mol)/THF, rt, 5 h	89

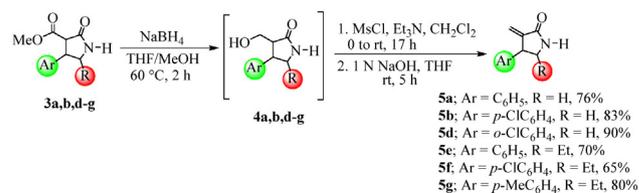
c.m.: complex mixture; n.r.: no reaction.

potassium carbonate in dichloromethane or toluene was used, the reaction did not proceed (Entries 2 and 3). In another experiment, cesium carbonate in dichloromethane was used without obtaining a good result (Entry 4). In the following experiments, excess triethylamine was used, but the elimination reaction was not carried out (Entries 5 and 6). Next, potassium iodide [55,56] in *N,N*-dimethylformamide was used at 120 °C for 2.5 h, obtaining **5c** with a 65% yield (Entry 7). To improve the yield, 1 N sodium hydroxide [57] in THF was used. After 5 h of reaction, **5c** was produced with 89% yield (Entry 8). We did not observe the endocyclic double bond despite being the most stable.

With the optimized conditions on hand, we carried out the unsaturation formation of all the α -carbomethoxy- γ -lactams. First, the reduction of α -carbomethoxy- γ -lactams **3a, b**, and **d-g** was carried out (NaBH₄ and THF/MeOH), and the corresponding alcohols **4a, b**, and **d-g** were obtained. After purification, products **4a, b**, and **d-g** were treated with methanesulfonyl chloride, and triethylamine in dichloromethane afforded the corresponding mesylate, which was not purified. Afterward, the elimination reaction with 1 N NaOH was carried out in tetrahydrofuran to obtain α -methylene- γ -lactams **5a, b**, and **d-g** with yields from 65 to 90%, after purification by column chromatography (Scheme 4).

In ¹H and ¹³C NMR, the main characteristic of these compounds are the double signals of vinyl hydrogens (in 6.09–6.44 and 5.11–5.44 ppm) and the carbon signals of the double bond (in 110–123 ppm). It is important to mention that **5e-g** was obtained as inseparable diastereomeric mixtures, and only **5e** could be separated by column chromatography into **5e-syn** and **5e-anti**. In general, the obtained Compounds **5a-g** showed similar spectroscopic data (IR, ¹H, and ¹³C NMR), which are in agreement with data reported from similar structures [58].

Additionally, **5c**, the derivative prepared from *p*-methylbenzaldehyde, crystallized in the form of a crystal suitable for X-ray crystallography so that the geometry adopted in the solid state could be analyzed [59]. As shown in Fig. 2a, the γ -lactam ring adopts an envelope form, with the exocyclic methylene group almost perpendicular to the *p*-methylphenyl group, with a torsion angle of H₂C = C–C–CAr = –41.8(2)°. The exocyclic methylene and carbonyl groups are almost coplanar and have a torsion angle of H₂C = C–C=O = –5.6(2)°. Furthermore, the NH hydrogen atoms participate in the intermolecular NH...O=C hydrogen bridge, which is shown in Fig. 2b.



Scheme 4. Synthesis of α -methylene- γ -lactams **5a, b**, and **d-g**.

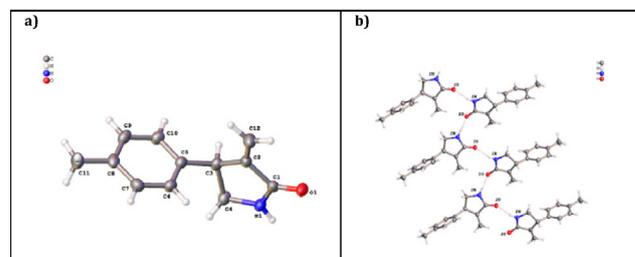


Fig. 2. a) Perspective view of the molecular structure of Compound **5c**. b) A fragment of the crystal lattice showing the intermolecular NH...O=C hydrogen bridge.

Conclusions

A synthesis from arylidenemalonates to obtain β -mono- and β , γ -di-substituted α -methylene- γ -lactams using easily available starting materials was developed.

In comparison with the conventional method using a base and solvent, the 1,4-addition of nitroalkanes to arylidenemalonates using MW irradiation afforded the corresponding nitroderivatives in moderate yields within 5 min. Reduction of nitroderivatives followed by cyclization *in situ* provided the α -carbomethoxy- γ -lactams with excellent yields. Considering the α -carbonyl ester of the lactams, the reduction was carried out to obtain alcohols. Mesylation of alcohols to later carry out its elimination and, in this way, α -methylene- γ -lactams were afforded in a straightforward and efficient way. The geometry adopted by lactam **5c** in the solid-state could be analyzed. Additionally, we anticipate the use of this procedure in the preparation of α -methylene- γ -lactams as key intermediates in the synthesis of compounds with important pharmacological properties.

Data availability

Data will be made available on request.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

The authors thank the Laboratorio Nacional de Estructura de Macromoléculas (Conacyt 315896) and CONACyT for the Graduate Scholarships 473619 and 305283.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2022.154105>.

References

- [1] J. Caruano, G.G. Muccioli, R. Robiette, *Org. Biomol. Chem.* **14** (2016) 10134–10156.
- [2] S.N. Smith, R. Craig, S.J. Connon, *Chem. Eur. J.* **26** (2020) 13378–13382.
- [3] M. Ordoñez, C. Cativiela, *Tetrahedron Asymmetry* **18** (2007) 3–99.
- [4] M. Ordoñez, C. Cativiela, I. Romero-Estudillo, *Tetrahedron Asymmetry* **27** (2016) 999–1055.
- [5] K. Dolbeare, G.F. Pontoriero, S.K. Gupta, R.K. Mishra, R.L. Johnson, *J. Med. Chem.* **46** (2003) 727–733.
- [6] F.I. Saldívar-González, E. Lenci, A. Trabocchi, J.L. Medina-Franco, *RSC Adv.* **9** (2019) 27105–27116.
- [7] L. Zhang, D. Lin, X. Sun, U. Curth, C. Drosten, L. Sauerhering, S. Becker, K. Rox, R. Hilgenfeld, *Science* **368** (2020) 409–412.
- [8] A. Janecka, A. Wyrębska, K. Gach, J. Fichna, T. Janecki, *Drug Discovery Today* **17** (2012) 561–572.
- [9] M.B.T. Thuong, S. Sottocornola, G. Prestat, G. Brogini, D. Madec, G. Poli, *Synlett* **10** (2007) 1521–1524.
- [10] L.R. Reddy, P. Saravanan, E.J. Corey, *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 6230–6231.
- [11] X. Xie, X. Lu, Y. Liu, W. Xu, *J. Org. Chem.* **66** (2001) 6545–6550.
- [12] W. Xu, A. Kong, X. Lu, *J. Org. Chem.* **71** (2006) 3854–3858.
- [13] T. Naito, Y. Honda, O. Miyata, I. Ninomiya, *Chem. Pharm. Bull.* **41** (1993) 217–219.
- [14] J.H. Cardellina, R.E. Moore, *Tetrahedron Lett.* **22** (1979) 2007–2010.
- [15] T.G. Elford, A. Ulaczyk-Lesanko, G. De Pascale, G.D. Wright, D.G. Hall, J. Comb. Chem. **11** (2009) 155–168.
- [16] A. Albrecht, L. Albrecht, M. Różalski, U. Krajewska, A. Janecka, K. Studzian, T. Janecki, *New J. Chem.* **34** (2010) 750–761.
- [17] H. Krawczyk, L. Albrecht, J. Wojciechowski, W.M. Wolf, U. Krajewska, M. Różalski, *Tetrahedron* **64** (2008) 6307–6363.
- [18] A. Albrecht, J.F. Koszuk, J. Modranka, M. Różalski, U. Krajewska, A. Janecka, K. Studzian, T. Janecki, *Bioorg. Med. Chem.* **16** (2008) 4872–4882.
- [19] H. Ikuta, H. Shirota, S. Kobayashi, Y. Yamagishi, K. Yamada, I. Yamatsu, K. Katayama, *J. Med. Chem.* **30** (1987) 1995–1998.
- [20] W. Delong, W. Lanying, W. Yongling, S. Shuang, F. Juntao, Z. Xing, *Eur. J. Med. Chem.* **130** (2017) 286–307.
- [21] A. Guntern, J.R. Ioset, E.F. Queiroz, P. Sándor, C.M. Foggin, K. Hostettmann, *J. Nat. Prod.* **66** (2003) 1550–1553.
- [22] M.J. Di Maso, G.M. Nepomuceno, M.A. St Peter, H.H. Gitre, K.S. Martin, J.T. Shaw, *Org. Lett.* **18** (2016) 1740–1743.
- [23] Á. Cores, S. Abril, P. Michalska, P. Duarte, A.I. Olives, M.A. Martín, M. Villacampa, R. León, J.C. Menéndez, *Antioxidants* **10** (2021) 941.
- [24] Song, S. Z. Mehta, S. C. Murthy, K. S. Nesbitt, R. U. Fawzi, M. B. U.S. Patent 5,035,884, **1991**; *Chem. Abstr.*
- [25] Shibata, T.; Yamanaka, M.; Kako, H. US Patent 4,547,543, **1985**.
- [26] I.M. Heyns, R. Pfuikwa, B. Klumperman, *Biomacromolecules* **17** (2016) 1795–1800.
- [27] K. Neuhaus, H. Ritter, *Polym. Int.* **64** (2015) 1690–1694.
- [28] I.M. Heyns, R. Pfuikwa, L. Bertossi, L.E. Ball, M.A. Kelland, B. Klumperman, *Eur. Polym. J.* **112** (2019) 714–721.
- [29] A. Albrecht, L. Albrecht, T. Janecki, *Eur. J. Org. Chem.* **15** (2011) 2747–2766.
- [30] A. Shen, M. Liu, Z.S. Jia, M.H. Xu, G.Q. Lin, *Org. Lett.* **12** (2010) 5154–5157.
- [31] A.S.Y. Lee, Y.T. Chang, *Tetrahedron Lett.* **51** (2010) 3800–3802.
- [32] X. Companyo, P.Y. Geant, A. Mazzanti, A. Moyano, R. Rios, *Tetrahedron* **70** (2014) 75–82.
- [33] E. Blaszczyk, H. Krawczyk, T. Janecki, *Synlett* **15** (2004) 2685–2688.
- [34] B. Beji, *Org. Chem. Ind. J.* **11** (2015) 251–260.
- [35] N.E. Alami, C. Belaud, J. Villieras, *Tetrahedron Lett.* **28** (1987) 59–60.
- [36] C. Belaud, C. Roussakis, Y. Letourneux, N.E. Alami, J. Villieras, *Synth. Commun.* **15** (1985) 1233–1243.
- [37] S. Dutta, S. Chatterjee, S.A. Al-Thabaiti, S. Bawaked, M. Mokhtar, D. Maiti, *Chem. Catalysis* **2** (2022) 1046–1083.
- [38] Y. Tan, X.D. Yang, W.J. Liu, X.W. Sun, *Tetrahedron Lett.* **55** (2014) 6105–6108.
- [39] H.K. Dema, F. Foubelo, M. Yus, *Heterocycles* **80** (2010) 125–131.
- [40] P.K. Choudhury, F. Foubelo, M. Yus, *J. Org. Chem.* **64** (1999) 3376–3378.
- [41] X. Xie, X. Lu, *Synlett* **5** (2000) 707–709.
- [42] G. Zhu, Z. Zhang, *J. Org. Chem.* **70** (2005) 3339–3341.
- [43] F. Zhang, S. Wang, Z. Liu, Y. Bai, G. Zhu, *Tetrahedron Lett.* **58** (2017) 1448–1452.
- [44] J. Wang, X. Xie, F. Ma, Z. Peng, L. Zhang, Z. Zhang, *Tetrahedron* **66** (2010) 4212–4217.
- [45] O. Jackowski, J. Wang, X. Xie, T. Ayad, Z. Zhang, V. Ratovelomanana-Vidal, *Org. Lett.* **14** (2012) 4006–4009.
- [46] I. Chataigner, F. Zammattio, J. Lebreton, J. Villieras, *Tetrahedron* **64** (2008) 2441–2455.
- [47] I.J. Montoya-Balbás, B. Valentín-Guevara, E. López-Mendoza, I. Linzaga-Elizalde, M. Ordoñez, P. Román-Bravo, *Molecules* **20** (2015) 22028–22043.
- [48] R. Appel, *Angew. Chem. internat. Edit.* **14** (1975) 801–811.
- [49] Z.P. Tachrim, T. Nakamura, Y. Sakihama, Y. Hashidoko, M. Hashimoto, *Arkivoc* **7** (2018) 341–348.
- [50] R.J. Cohen, D.L. Fox, J.F. Eubank, R.N. Salvatore, *Tetrahedron Lett.* **44** (2003) 8617–8621.
- [51] S. Klutchko, M.L. Hoeffle, R.D. Smith, A.D. Essenburg, R.B. Parker, V.L. Nemeth, M.J. Ryan, D.H. Dugan, H.R. Kaplan, *J. Med. Chem.* **24** (1981) 104–108.
- [52] X. Liu, Y. Wang, X. Zhang, Z. Gao, S. Zhang, P. Shi, X. Zhang, L. Song, H. Hendrickson, D. Zhou, G. Zheng, *Bioorg. Med. Chem.* **26** (2018) 3925–3938.
- [53] J.Q. Chen, Y. Mi, Z.F. Shi, X.P. Cao, *Org. Biomol. Chem.* **16** (2018) 3801–3808.
- [54] S.G. Deshpande, C.G. Suresh, T. Pathak, *Carbohydr. Res.* **343** (2008) 1163–1170.
- [55] G. Mehta, S. Padma, *J. Am. Chem. Soc.* **109** (1987) 2212–2213.
- [56] H.S. Kim, S.H. Oh, D.I. Kim, I.C. Kim, K.H. Cho, Y.B. Park, *Bioorg. Med. Chem.* **3** (1995) 367–374.
- [57] M. Sodeoka, R. Sampe, S. Kojima, Y. Baba, T. Usui, K. Ueda, H. Osada, *J. Med. Chem.* **44** (2001) 3216–3222.
- [58] K.Y. Lee, Y.J. Lee, J.N. Kim, *Bull. Korean Chem. Soc.* **28** (2007) 143–146.
- [59] 2130058CCDC contains the supplementary crystallographic data. <http://www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html>. (Email: deposit@ccdc.cam.ac.uk).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Instituto de
Investigación 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: **Síntesis de α -metilen- γ -lactamas β -mono- y β,γ -disustituídas y su resolución con (S)-Naproxeno**, que presenta el alumno **Alexis Hernández Guadarrama (10010092)** para obtener el título de **Doctor en Ciencias**.

Nos permitimos informarle que nuestro voto es:

NOMBRE	DICTAMEN	FIRMA
Dr. José Mario Ordoñez Palacios CIQ-UAEM	APROBADO	
Dr. José Luis Viveros Ceballos CIQ-UAEM	APROBADO	
Dr. Ivan Omar Romero Estudillo CIQ-UAEM	APROBADO	
Dra. Gabriela María Ávila Villarreal UACQByF-UAN	APROBADO	
Dr. Oscar García Barradas SARA-UV	APROBADO	
Dr. Rubén Oswaldo Argüello Velasco FCQel-UAEM	APROBADO	
Dra. Irma Linzaga Elizalde (Directora de tesis) CIQ- UAEM	APROBADO	



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

GABRIELA MARIA AVILA VILLARREAL | Fecha:2023-02-28 10:50:42 | Firmante

een0htBm9FM2LeBx3tziEUQLokaUdSWzCdH9/ybvWuPQ/PrumCpxlSQpBwVoBmNMv93FF82hUx8YHoSVll8Fibqrbi9aettXCE2mJHe2lKneKijQmIdnE4JzuE+Was8t6hYxHVE MDUrk2fYhU4m7kLTT09wRXgTaGJaWA4vZUaDmNpK0QLrIXfELPHpK8SHHtL5aKxuVGoDnPSbS2XaA/JHeog/d3fC1TnqHvM4T0V7RLupQEdLpoxFQzjqMshjFV/3re1q2uJaJ Y8cpvvAeZsCf5toyLmVA5gJC5TqAKqwGiLvH3Qse89pthPnftP6g1b4claxah+kJYqwS3Q==

OSCAR GARCÍA BARRADAS | Fecha:2023-02-28 10:55:52 | Firmante

ryH657Oz50SjqkhV9sHRJ8a42Yl0g2yL+JofOT7kjT5SA6cOQxhUGsld9kPy1n8iZ5cahUssX0/adbmV3CWFTtoUhrpnD4ylbMr2g9o6zBV1Db21K9wGLh/pH/HNgTraRjCdmVQjAz sq+x2MyLFYI2RS3eKdN7egnOhG3ZqCdLXAYFTDtlzXn9qvy+YSGuoOdQPcWlprh2sMajHW4xg8gGOg9+VGyCWANA54vvLTAx4+FEvc3YNUtUfUJOBXKfd5qTNIv816+6HCHuZ/ mAPLje3kgad6WxYoGH/mR3ZA0fUlpus/rmudUZU79QCpmoSqoqke5uA+9vYL8Wj1a9EOPw==

IVAN OMAR ROMERO ESTUDILLO | Fecha:2023-03-01 10:25:45 | Firmante

iy5PxVjmCNSs+WqC68WIHCepGm4lpOIIIMNpi+ZAJW0auWGCX09MrWm9mU75BxmG0t0HnCeXjiasw659jtfBE7Llx3ea0BxbOKGgqqz9M9fzXG1yKEUjXmu4xKBWt7YdEORO 4eRvWcGxaioYa4+D3SDYmLqnJmaoKzTJJoqVVeYUUV+pBCS2DY2ueYlweyCp8tNVrfCM3e/egQMq+FX+unRvUBvPsyZkck14t4XDMGqJQh0KDQu9Y7hLHDoibkL3FQ7oQQYq OMrqxCMH8ddrbzCUjacnVJAWVZ0EXb1JUFn0tmnnoN/NwOKZNH8A0zZ80bTQ+KFHa7pA+qWpvqFekGA==

RUBEN OSWALDO ARGUELLO VELASCO | Fecha:2023-03-01 15:33:17 | Firmante

gJwmvqSlp1D5KpT+vUvNqNCYupT/DpqqOd+G1SMK3A5sSOITH9XtpYbZHFjWgpyOT97tb5+Yk1jhX9xJNAZ4347x/glUKylosw00SCoPCfMGA/pQh1YeA41FJdehznob7jmZ/ q7xXyOjW8uJO1UgZQKddUDSD+nXWClA4JBZGMLGe2B4F6bW1g4mZtFC1bGNqvgJ3lpeUH48csdvoeHU7e0TL+dzntVgd8ujyeYmpdYczelw/QO0zcbUpMdVz3tYpfaTRcAA9M xlxjWnDjDRoDSh2l4yVvHoG+2/zFpjR3/leADPZ/1vujO2qnCMBwMEUQDC9gOn2x/OV9riQbtw==

JOSE MARIO ORDOÑEZ PALACIOS | Fecha:2023-03-01 22:02:01 | Firmante

VonFavWuk8nUBw920Nj81ZVWdl1EUtX7DspYTMUo9tWLFsdrKNKWMGCPD62iEerUX7sX+iEyKp5F6iCwjsCv4xbxUEWFyyMJ2jyR4rcUL6q2/Zp2fvmUOFCqYr64nc0hTaBaq 3hSrolgRFBtUerJkEvO4N3OOHIMDnfDlGHPRY1TyPfySb2ebArkd2chufZ968zpldSjrxmnuQ7mbK6UOrjiYIHojr+hLpiskJNkoEc3cUw2zrZy0SBYlXd7W1Gv7c66/C0kofV5WrvYvq 0T0KBA9Kpsn3T8eLXsrXzQvul/afaSSCLgobmfX7iW8ByYMBfGDFfuoGE+hWmZPSuiA==

IRMA LINZAGA ELIZALDE | Fecha:2023-03-05 22:15:08 | Firmante

nI9RZARcR4mhZVPMPx5bWRvAvEjw5KHHbWVW8d5hZlxayl94pPOEX0NRzKwsVQjw7TgeNXoV9l2Ee0l0lVbRTYKeHJbBBsgFgP0Ybxy4NRbVoBno8EY+57nO1ocYDy9zkdFdm uxsLNNbO9BwC7PFtXFPuMncOsOS7Dzti31snDhGhIX/hl05bCkXygs5c5OJ+FwZs2lI3PMUo+nOch774ZJ0Q/laJezw3dprOZ0flqOvPWk+bechfIS6daq6x3UwgyzN+L4rUdaQ2MI ce/tV0BSCdNfEfb3Wbc7vWAky0/vAs2b9Gim/OC47elrXR/ObnopizQSU/Y2umjnzrfz1fNg==

JOSE LUIS VIVEROS CEBALLOS | Fecha:2023-03-10 17:56:00 | Firmante

kw2WBIZHjzPy5Z7MZYAPrxwsOALMeEJtQlpMmudCpc6G9hleL3TvmMzes7FojzPP8J087JePpO0VC/e8TMXL4iAl6TwyNLd4Pfg+yBTz9K4CysoahunZY1zCryYJ78olqE3 uFQHLztx9O/L4ptlrfv782eMqn+Y0xgtD5pOypPXybkEdADFdy+bjGMv+XQUtLVsMnk8Vyh/RNwQHfGF7OJ5WzszKCVl0KpskwE95mq4O2p1mmyA8Vllthv2TGUbsvD4mT/T21p sGnOHnc15P2t5ViaoLd6TXPn8HSyTLpsX7XDQrM3je53+VzXdqTHHbmj8o1pZBS65SoFg==

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



vfAnqjwOU

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/0z7NEwsvq3aRpCq2hL4kOhKqc3ZBeovV>

