



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 Asimétrica de β -lactamas y su Modelado Molecular ”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN DISEÑO MOLECULAR Y NANOQUÍMICA

PRESENTA:

MITZI RODRÍGUEZ REYES

DIRECTOR DE TESIS

DR. JAIME ESCALANTE GARCÍA

CUERNAVACA, MORELOS

NOVIEMBRE, 2020



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



VOTOS DE APROBATORIOS

Secretaría Ejecutiva del Consejo Directivo del Instituto de Investigación en Ciencias Básicas Aplicadas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

P r e s e n t e.

Por medio de la presente le informamos que después de revisar la versión escrita de la tesis que realizó la **C. MITZI RODRÍGUEZ REYES** con número de matrícula **20154010398** cuyo título es:

“Síntesis Asimétrica de β -lactamas y su Modelado Molecular”

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

Cuernavaca, Mor a 16 de octubre del 2020

ATENTAMENTE
POR UNA HUMANIDAD CULTA

SE ADICIONA PÁGINA CON LAS EFIRMAS DE LOS SIGUIENTES:

DRA. LAURA PATRICIA ÁLVAREZ BERBER
DR. CÉSAR MILLÁN PACHECO
DR. JAIME ESCALANTE GARCÍA
DR. JOSE MARIO ORDOÑEZ PALACIOS
DR. JONATHAN ROMÁN VÁLDEZ CAMACHO

PRESIDENTE
SECRETARIO
VOCAL
PRIMER SUPLENTE
SEGUNDO SUPLENTE

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

JAIME ESCALANTE GARCIA | Fecha:2020-10-20 10:43:33 | Firmante

Da3st7OU8mDeukul2i51bfS2Vj4AZEFPwRyF3qVSOZdEwzwKpY6qQT+MT/11NjCZwMvDZfRjwj+QkRj/9pKWonoHBZf0n2SwxAsN0FA7SBV2hkuTIRCNraTcOv4Dg5T+fkI8cDR5NSev1UCFos6m+DYDS/0+qKIBoZa3PqLoV7VOerasz4AyZ9/s90ArV4VmCyXRd4YajrUyzcXo/Ju7dWzizlw+IRO+WZKeq+V83x0N7wJ375pl/KDHme4sZRjITZ6gb3JDonUTHMXezTbW4sP800mKzDN340rsF2esCGSRPsdjKhL/e75dpfYpegQYTGPrij04flcZxOBJSOzYg==

JONATHAN ROMAN VALDEZ CAMACHO | Fecha:2020-10-20 11:00:34 | Firmante

kuvZKPRfhRMFBzMKzNzpYmGB+9jA71jV0pCMMdw/FIpfasfeG7Pjbm9UzHC1611rP/mBig/Cd0uoSTTI6HqIESWPC9k93xl+keLy1b1pKKxMhT4s29fErelDS/Ogv8ywDZgq6KJrEJ2yz1CiOADWa14nMuNj2elSsCg9wC5TUccAucqj/czAazlTRxhpq6jF9oRvWpDcbweXUYgwoacQsE/pCmGnB8ypdeYbv/13ZNG8hymte2jN54zPhiD0N1G8NQviCLbQ3BJyuz++IvcRznpvWUU5gMJKIQUWIXkjOZg5ebBqk4LcJw7RVWmMn19alupSUIhf/JB+cmvNCA==

CESAR MILLAN PACHECO | Fecha:2020-10-20 11:06:29 | Firmante

QXpN01wVdsQ5y+ob32N6lum+Pe2XWens74M3yUZ9MqaFIRHoFdx0Oyt1cimrtGCj/4XG6oqAFKfPdg1s7cHF9tp9waiWjB5psiuPwx4leAF4cQb43zsTbgEwlDoQ5ZLbCyHVKpHdyLJkSc1f/ORWWjrjAFi6OUY6NvG/W+iuDQA9OKPADr0HX6WtJvUU6bqm2Kjkw2SPO4kqK5axl4XGmfqXEIXKqncqVNi4iqJl4QaVuyUktbqR3ZGpjKQnagWwLsg8xCLdfKcNLQqYfXsLyl5LTM4xkzB2/JabTagd+wVt+VRI8en9slnuoecxO+H6vYBR37s4pWONQlIF5w==

LAURA PATRICIA ALVAREZ BERBER | Fecha:2020-10-20 11:51:43 | Firmante

b4XqwxgM52+0OgUdM1fc/YdpaY6vux+Bj3L1jxS1SYOnhvqmnSmb+EzCc8Qe7GVvf7T2juejaVvacAPC5cwzGVLq8pTbpx00GhOxcYPJzEX4WbKXTAAWyyYJXbdVJ5ZCIVSyKuYj4etcnDZmFG1iLrWAv4BjaYcAnkGNzNdBj9nc0VfATpfHR2kzQUr2uCz+fn+WbcGwQloqEh0LzQQNbvYEUmWkyScvCE7adrXSLtwZlXpo9CI9kO6mzHdnFaIG0uQmXtq1Mn/8fwAuMPhEbdUSC8pJXbcYrMpXUomQTa1D3xjfsQQL1wScUCFuRjBBolVrQabzspfs+Yw==

JOSE MARIO ORDÓÑEZ PALACIOS | Fecha:2020-10-20 12:25:07 | Firmante

1miuLZ0/RCB98PFOftqQZ09FAz8c0dwq8K4H1kNkU66JM17/MIA5HFA7AEppSLjafWRcT+EmfljqdfSdyCqz4u81CJttQ3Tw7TyOT+SfpOmrqduwqynz9w0juIsnnuAdSieunx7wHgl24oSEtvZXSNIELCL8gOd6tmi+jaSZRV07bkuTh86oEZdeX+2XFC1F08Xa5862L9wIqcn/QaLuHIsUx51i+SjMFETELBYI76etLQDNwM9h5huKGH0xM/u5FJcs4qkdNHGVXf5XUXiWV7o6uohqK/6HRzmyJOUpD63f+0DV7TSTZ6oO4BsPSIhPdh7j91ePCiJfIsXMPg==

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



joTE3F

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/oMuBGzZn10MRNHrsqoWB8o2vQberVnBE>

Dedicatorias

En la vida ni se gana ni se pierde, ni se fracasa ni se triunfa, en la vida se aprende, se crece, se descubre; se escribe, se borra y se reescribe; se brilla, se oscurece, se resplandece.

A mis superhéroes Narmí y Juan, por su amor incondicional, por su confianza ciega, por su apoyo moral y económico, por sus palabras de aliento cuando ya no podía más, a ustedes que nunca podré pagarles todos sus desvelos ni con las riquezas más grandes del mundo. Estoy muy orgullosa de tenerlos como padres, ya que la ilusión de su existencia ha sido verme convertida en una persona de bien; de todo corazón gracias por su incansable labor, los amo.

A mi hermana, quién ha estado conmigo durante todo este camino tan largo, quién ha estado consolando mi llanto y brindándome el cariño más sincero que se pueda tener. Gracias por ser y estar.

A mi familia: Mis abuelos, mis segundos padres, quiénes día a día me apoyaron, toleraron y me demostraron el amor tan grande que me tienen a pesar de mis imperfecciones; la vida es más bonita con ustedes a mi lado. A mi tía, quién sin tener obligación alguna ha sido otra madre para mí, gracias por tu amor, confianza y apoyo. A mis primos, Arturo y Giovanna, por entregarme un abrazo cálido, una sonrisa honesta y un amor de hermanos durante cada momento de mi vida. Gracias por darme el tesoro más grande que cualquier persona pueda recibir; amor.

A Dios, porque, aunque en ocasiones no logro entender los designios que tiene en mi vida, le estoy agradecida por dejarme cumplir cada sueño que me he propuesto y sobre todo por nunca dejarme sola.

Agradecimientos

Al Dr. Jaime Escalante García, por su apoyo al integrarme en su grupo de trabajo, por su paciencia, por todas las enseñanzas que me ha brindado, la confianza y sobre todo el ejemplo de una persona íntegra tanto académica como moralmente.

Al Dr. Jonathan Román Valdez Camacho, porque gracias a su paciencia, conocimiento, asesoría y amistad, fue posible lograr un gran crecimiento como estudiante y como persona; siempre estaré muy agradecida.

A los miembros del comité revisor, por dedicarme su tiempo para que este proyecto creciera extraordinariamente:

Dr. Jaime Escalante García

Dr. Mario Ordoñez Palacios

Dr. Jonathan Román Valdez Camacho

Dr. Cesar Millán Pacheco

Dra. Laura Patricia Álvarez Berber

A CONACyT por la beca (No. 28810) otorgada para la realización de este proyecto de tesis.

A mi madre Narmí, porque sin tu amor, confianza y apoyo no estaría cumpliendo este gran sueño; gracias por ser la mejor mamá. A mi padre Juan Francisco, quién a pesar de todas las adversidades que se han presentado en la vida, siempre ha puesto el bienestar de su familia primero, gracias por darme ese valor para seguir adelante día con día.

A mi hermana Mariana, porque a su lado he vivido los momentos más bonitos de mi vida, sin pensarlo prometimos soñar y crecer juntas y vamos a lograrlo.

A mi familia, en especial a mis abuelos Bety y Arturo, por apoyarme en todo momento y extenderme una mano siempre que la necesité, estaré eternamente agradecida; le pido a la vida que nunca me falten. A mi tía Areli por su gran amor y apoyo durante toda mi vida; a mis primos Giovanna y Arturo, por enseñarme lo valioso de la vida a través de su sonrisa.

A mi abuelita Carmelita, porque sé que estarías muy orgullosa de mí, no he dejado de extrañarte, pero sé que desde el cielo siempre cuidas de mí, ¡esto va por ti viejita chula! A mi abuelita Bertha porque eres un ángel más en mi vida.

A mi mejor amiga Mafer, por todas las palabras sinceras de apoyo durante esta travesía; mi vida no sería la misma sin tu risa. A Verónica, por enseñarme el significado de la amistad. Las quiero siempre.

A mis compañeros y amigos de generación, Omar, Alicia, Alain, Víctor, Andrea, Edson y Carlo, gracias por su cariño y apoyo durante estos años.

A mis amigos del laboratorio. Daniel, Adináh y Jorge por su cariño invaluable y apoyo sincero (mosqueteros del L-219); Jhony, Adrián Méndez, Adrián Neri, Lety, Grecia y Rosario, por sus consejos y ayuda durante esta etapa; simplemente el laboratorio es más divertido con ustedes y las risas nunca faltan. Gracias por su bonita amistad.

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Síntesis Asimétrica del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la dirección del Dr. Jaime Escalante García, con apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través del proyecto CB-2015/28810.

Este trabajo se presentó en los siguientes foros:

- ❖ XV años de Química Farmacéutica en la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. (2019).

“Síntesis racémica de β^2 -aril aminoácidos y β^2 -aril amino éteres, análogos de la triptamina”.

- ❖ 54° Congreso Mexicano de Química, 38° Congreso Nacional de Educación Química de la Sociedad Química de México. (2019).

“Síntesis racémica de β^2 -aril aminoácidos y β^2 -aril amino ésteres, análogos de la triptamina”.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	I
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	III
ÍNDICE DE TABLAS.....	V
ÍNDICE DE COMPUESTOS.....	VI
ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	VIII
RESUMEN	XI
ABSTRACT.....	XII

CONTENIDO

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Aminoácidos.....	3
2.2 β -aminoácidos.....	4
2.3 β -Lactamas	4
2.4 Síntesis de β -Lactamas.....	6
2.5 Microondas en la síntesis de β -aminoácidos	9
2.6 Compuestos enantioméricamente puros.....	10
2.7 Modelado Molecular.....	12
2.8 Serotonina.....	14
2.9 Receptores de Serotonina (5-HTR).....	15
2.10 Risperidona.....	16
CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN.....	18
CAPÍTULO 4. OBJETIVOS.....	19
4.1 General	19
4.2 Específicos.....	20

CAPÍTULO 5. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	22
5.1 Parte Química	23
5.1.1 Análisis retrosintético	23
5.1.2 Metodología general para la ruta sintética de las β -lactamas derivadas del ácido fenilacético, 10a-10a'	24
5.1.3 Metodología general para la síntesis de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético, 10b ₁ -10b ₁ ' (ruta sintética 1).....	26
5.1.4 Metodología general para la síntesis de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético, 10b ₂ -10b ₂ ' (ruta sintética 2).....	27
5.1.5 Metodología general para la síntesis de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético, 10b ₃ -10b ₃ ' (ruta sintética 3).....	28
5.1.6 Metodología general para la síntesis de las β -lactamas derivadas de la Indometacina, 10c-10c'	29
5.1.7 Identificación estructural de los compuestos	30
5.1.7.1 Espectroscopia de RMN.....	30
5.1.7.2 Cristalografía de Rayos X.....	30
5.2 Parte Computacional.....	32
5.2.1 Acoplamiento molecular automatizado	32
5.2.2 Reglas de Lipinski en el diseño de nuevos compuestos bioactivos	33
5.2.2.1 Molinspiration (Cheminformatics)	34
5.2.4 AdmentSAR: Predicción de las propiedades de absorción, distribución, metabolismo, eliminación y toxicidad.....	35
 CAPÍTULO 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	 37
6.1 Parte Química	37
6.1.1 Síntesis de las β -lactamas derivadas de ácido fenilacético	37
6.1.1.1 Síntesis del 2-acrilato de metilo, 6a	37
6.1.1.2 Síntesis de la mezcla diastereoisomérica (<i>S,S</i>) y (<i>S,R</i>) del 2-fenil-3-((<i>S</i>)- <i>N</i> -feniletilamino)propanoato de metilo, 8a	40
6.1.1.3 Síntesis diastereoisomérica (<i>S,S</i>) y (<i>S,R</i>) del ácido 2-fenil-3-((<i>S</i>)- <i>N</i> -feniletilamino)propanoico, 9a.....	44
6.1.1.4 Síntesis diastereoisomérica (<i>S,S</i>) y (<i>S,R</i>) de 3-fenil-1-((<i>S</i>)- <i>N</i> -feniletilazetidín-2-ona, 10a – 10a'	47
6.1.2 Síntesis de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético (primera ruta de síntesis)	51

6.1.2.1 Síntesis del 3-(3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>tert</i> -butilo, 6b ₁	51
6.1.2.2 Adición tipo Michael de la (<i>S</i>)-feniletilamina al derivado α,β -insaturado <i>N</i> -Boc protegido, 8b ₁	54
6.1.2.3 Síntesis diastereoisomérica del ácido 2-(1- <i>tert</i> -butoxicarbonil-1 <i>H</i> -indol-3-il-3((<i>S</i>)- <i>N</i> -feniletilamino)propanóico, 9b ₁	55
6.1.3 Síntesis de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético (segunda ruta de síntesis)	56
6.1.3.1 Síntesis del 2-(1 <i>H</i> -indo-3-il)acetato de bencilo, 3b ₂	56
6.1.3.2 Síntesis de 3-(2-benciloxi-2-oxoetil)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>tert</i> -butilo, 4b ₂	57
6.1.3.3 Reacción de aminometilación para la síntesis de 8b ₂	60
6.1.4 Síntesis de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético (tercera ruta de síntesis)	61
6.1.4.1 Síntesis del 3-(3-benciloxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>tert</i> -butilo, 6b ₃	61
6.1.4.2 Síntesis de la mezcla diastereoisomérica (<i>S,S</i>) y (<i>S,R</i>) del 3-(1-benciloxi-1-oxo-3-((<i>S</i>)- <i>N</i> -feniletilamino)propan-2-il)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>tert</i> -butilo, 8b ₃	63
6.1.4.3 Síntesis de la mezcla diastereoisomérica (<i>S,S</i>) y (<i>S,R</i>) del ácido 2-(1- <i>tert</i> -butoxicarbonil-1 <i>H</i> -indol-3-il)-3-((<i>S</i>)- <i>N</i> -feniletilamino)propanóico, 9b ₃ ...	64
6.1.4.4 Obtención de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético	65
6.2 Parte Computacional.....	72
6.2.1 Acoplamiento molecular (Molecular Docking)	72
6.2.1.1 Acoplamiento molecular sobre 5-HT _{2A} R.....	73
6.2.1.1.1 Acoplamiento molecular de las β -lactamas derivadas del ácido fenilacético 10a y 10a' sobre 5-HT _{2A} R.....	74
a) Resultados del acoplamiento molecular para la β -lactama 10a sobre 5-HT _{2A} R	74
b) Resultados del acoplamiento molecular para la β -lactama 10a' sobre 5-HT _{2A} R	76
6.2.1.1.2 Acoplamiento molecular de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético 10b ₃ y 10b ₃ ' sobre 5-HT _{2A} R	78
a) Resultados del acoplamiento molecular para la β -lactama 10b ₃ sobre 5-HT _{2A} R	79
b) Resultados del acoplamiento molecular para la β -lactama 10b ₃ ' sobre 5-HT _{2A} R	81

6.2.2	Análisis del acoplamiento molecular	83
6.2.3	Predicción de absorción y permeabilidad celular (Molinspiration)	85
6.2.4	Predicción de las propiedades farmacocinéticas (AdmetSAR)	86
CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES		88
CAPÍTULO 8. PERSPECTIVAS		89
CAPÍTULO 9. PARTE EXPERIMENTAL		90
9.1	Información General.....	90
9.2	Parte Química	91
9.2.1	Síntesis del compuesto 2-fenilacrilato de metilo	91
9.2.2	Síntesis del compuesto (<i>R,S</i>)-2-fenil-3-((<i>S</i>)- <i>N</i> -feniletilamino)propanoato de metilo	92
9.2.3	Síntesis del ácido (<i>R,S</i>)-2-fenil-3-(<i>N</i> -feniletilamino)propanoico	92
9.2.4	Síntesis diastereoisomérica (<i>S,S</i>) y (<i>S,R</i>) de 3-fenil-1-(<i>S</i>)- <i>N</i> -feniletilazetidín-2-ona.....	93
9.2.5	Síntesis del 2-(1 <i>H</i> -indol-3-il)acetato de bencilo	94
9.2.6	Síntesis del 3-(2-benciloxi-2-oxoetil)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>tert</i> -butilo	95
9.2.7	Síntesis del 3-(3-benciloxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>tert</i> -butilo.....	96
9.2.8	Síntesis del 3-((<i>R,S</i>)-1-benciloxi-1-oxo-3-((<i>S</i>)- <i>N</i> -feniletilamino)propan-2-il)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>tert</i> -butilo.....	97
9.2.10	Síntesis diastereoisomérica (<i>S,S</i>) y (<i>S,R</i>) de 3-(2-oxo-1-(<i>S</i>)- <i>N</i> -feniletilazetidín-3-il)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>tert</i> -butilo	99
	RMN ¹ H de (<i>S,S</i>)-1-bencilmetil-3-[(<i>N</i> - <i>tert</i> -butoxicarbonil)indoil]azetidín-2-ona	100
	RMN ¹ H de (<i>S,R</i>)-1-bencilmetil-3-[(<i>N</i> - <i>tert</i> -butoxicarbonil)indoil]azetidín-2-ona	100
CAPÍTULO 10. BIBLIOGRAFÍA		101

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Compuestos con núcleo de β -aminoácido.....	1
Figura 2. Clasificación estructural de los aminoácidos.....	3
Figura 3. Clasificación por Seebach de β -aminoácidos.....	4
Figura 4. Principales antibióticos β -lactámicos.....	5
Figura 5. Compuesto β -lactámico diseñado para el tratamiento del cáncer.....	6
Figura 6. Clasificación de radicales acilo.....	8
Figura 7. Microondas en el espectro electromagnético.....	9
Figura 8. Estructura de la serotonina.....	15
Figura 9. Estructura de la risperidona.....	17
Figura 10. Estructura de fármacos antipsicóticos.....	17
Figura 11. β -lactamas a sintetizar.....	19
Figura 12. Servidor en línea Molinspiration (https://www.molinspiration.com/).....	35
Figura 13. Programa computacional AdmetSAR (Immd.ecust.edu.cn).....	36
Figura 14. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del compuesto 6a	39
Figura 15. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 200 MHz) del compuesto 6a	40
Figura 16. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) de la mezcla diastereoisomérica del compuesto 8a	43
Figura 17. Espectro de RMN de ^1H (CD_3OD , 200 MHz) de los diastereoisómeros (<i>S,S</i>) y (<i>S,R</i>) del compuesto 9a	46
Figura 18. Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 200 MHz) del compuesto 9a	47
Figura 19. TLC para las β -lactamas diastereoisoméricas.....	48
Figura 20. (1) Estructura molecular en la estructura cristalina de la β -lactama menos polar, (2) Distancia entre hidrógenos.....	49
Figura 21. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del diastereoisómero más polar.....	50
Figura 22. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del diastereoisómero menos polar.....	51
Figura 23. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del éster bencílico derivado del ácido 3-indolacético.....	57
Figura 24. Espectro de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del éster bencílico derivado del ácido 3-indolacético.....	60
Figura 25. Espectro de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del derivado 6b3	62
Figura 26. Espectro de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del derivado 6b3	63
Figura 27. Espectro de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del derivado 9b3	65
Figura 28. Espectro de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del diastereoisómero más polar... ..	68
Figura 29. Espectro de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del diastereoisómero menos polar.....	69
Figura 30. Experimento NOESY para los diastereoisómeros más polar y menos polar.....	70
Figura 31. Configuración relativa para las β -lactamas diastereoisoméricas.....	71

Figura 32. Acoplamiento molecular del compuesto Risperidona sobre el sitio activo de 5-HT2AR.	73
Figura 33. Sobreposicionamiento del conformero de la β -lactama 10a y Risperidona sobre el sitio activo de 5-HT2AR.	75
Figura 34. Acoplamiento molecular de la β -lactama 10a sobre el sitio activo de 5-HT2AR.	75
Figura 35. Interacciones presentadas por la β -lactama 10a sobre el sitio activo de 5-HT2AR.	76
Figura 36. Sobreposicionamiento del conformero de la β -lactama 10a' y Risperidona sobre el sitio activo de 5-HT2AR.	77
Figura 37. Acoplamiento molecular de la β -lactama 10a' sobre el sitio activo de 5-HT2AR.	77
Figura 38. Interacciones en 2D presentadas por el compuesto 10a' sobre la cavidad de 5-HT2AR.	78
Figura 39. Sobreposicionamiento del compuesto 10b₃ y Risperidona sobre el sitio activo de 5-HT2AR.	79
Figura 40. Acoplamiento molecular de la β -lactama 10b₃ sobre el sitio catalítico de 5-HT2AR.	80
Figura 41. Diagrama en 2D de las interacciones presentadas por 10b₃' sobre el sitio activo de 5-HT2AR.	81
Figura 42. Sobreposicionamiento del conformero 10b₃' y Risperidona sobre el sitio activo de 5-HT2AR.	82
Figura 43. Acoplamiento molecular del compuesto 10b₃' sobre el sitio activo de 5-HT2AR.	82
Figura 44. Interacciones presentadas por el compuesto 10b₃' en 2D sobre la cavidad de 5-HT2AR.	83

ÍNDICE DE ESQUEMAS

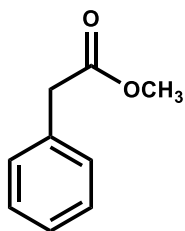
Esquema 1. Cicloadición de Staudinger.....	7
Esquema 2. Clasificación de ciclación de β -lactamas según el tipo de enlace.	7
Esquema 3. Ciclación tipo C ₃ -C ₄ para la obtención de β -lactamas.	8
Esquema 4. β -amino ésteres asistido por microondas.	10
Esquema 5. Obtención de CEP a partir de bioderivados.	11
Esquema 6. Obtención de CEP a partir de métodos químicos.....	12
Esquema 7. Análisis retrosíntetico de los compuestos β -lactámicos.....	23
Esquema 8. Estrategia para la preparación de β -lactamas derivadas del ácido fenilacético.	24
Esquema 9. Estrategia (1) para la preparación de β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético.	26
Esquema 10. Estrategia (2) para la preparación de β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético.	27
Esquema 11. Estrategia (3) para la preparación de β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético.	28
Esquema 12. Estrategia para la preparación de β -lactamas derivadas de la Indometacina.....	29
Esquema 13. Síntesis del 2-fenilacrilato de metilo, 6a	37
Esquema 14. Mecanismo de reacción que explica la formación del 2-feniacrilato de metilo, 6a y su producto de auto-adición de Michael.....	38
Esquema 15. Síntesis diastereoisomérica del 2-fenil-3-((S)-N-feniletilamino)propanoato de metilo, 8a	41
Esquema 16. Mecanismo de reacción que explica la formación del 2-fenil-3-((S)-N-feniletilamino)propanoato de metilo, 8a	42
Esquema 17. Síntesis diastereoisomérica (S,S) y (S,R) del ácido 2-fenil-3-((S)-N-feniletilamino)propanoico, 9a	44
Esquema 18. Mecanismo de reacción que explica la formación de los diastereoisómeros (S,S) y (S,R) del ácido 2-fenil-3-((S)-N-feniletilamino)propanoico, 9a	45
Esquema 19. Lactamización para la identificación de diastereoisómeros.	48
Esquema 20. Síntesis del 3-(3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>tert</i> -butilo, 6b₁	52
Esquema 21. Mecanismo que explica la formación del derivado α,β -insaturado <i>N</i> -Boc protegido, 6b₁	53
Esquema 22. Reacción Diels-Alder espontánea del derivado 6b₁	54
Esquema 23. Condiciones de reacción para la adición de Michael de la (S)-feniletilamina (7) al derivado 6b₁	55
Esquema 24. Síntesis diastereoisomérica del ácido (S)-2-[(<i>N-tert</i> -butoxicarbonil)indoil]-3-(<i>N</i> -bencilmetilamino)propanoico, 9b₁	55

Esquema 25. Síntesis del 2- <i>i</i> (1 <i>H</i> -indol-3-il)acetato de bencilo, 3b₂	56
Esquema 26. Síntesis de 3-(2-benciloxi-2-oxoetil)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>tert</i> -butilo, 4b₂	58
Esquema 27. Mecanismo de reacción para la obtención del derivado <i>N</i> -Boc protegido.....	59
Esquema 28. Condiciones de aminometilación para la obtención del derivado 8b₂	60
Esquema 29. Síntesis de 3-(3-benciloxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>tert</i> -butilo, 6b₃	61
Esquema 30. Síntesis de la mezcla diastereoisomérica (<i>S,S</i>) y (<i>S,R</i>) del 3-(1-benciloxi-1-oxo-3-((<i>S</i>)- <i>N</i> -feniletilamino)propan-2-il)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>tert</i> -butilo, 8b₃	64
Esquema 31. Hidrogenación catalítica del compuesto 8b₃ para la obtención del compuesto 9b₃	64
Esquema 32. Obtención de las β -lactamas utilizando el reactivo de Mukaiyama.....	66
Esquema 33. Mecanismo de reacción que explica la formación de β -lactamas utilizando el reactivo de Mukaiyama.....	67

ÍNDICE DE TABLAS

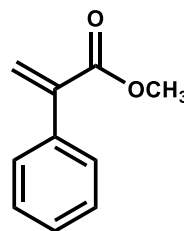
Tabla 1. Técnicas computacionales.....	14
Tabla 2. Valores de RMSD y energía de afinidad para los compuestos finales....	84
Tabla 3. Análisis de los postulados de Lipinski para los compuestos finales.....	85
Tabla 4. Propiedades farmacocinéticas de los compuestos finales, calculadas mediante el programa AdmetSAR.....	86

ÍNDICE DE COMPUESTOS



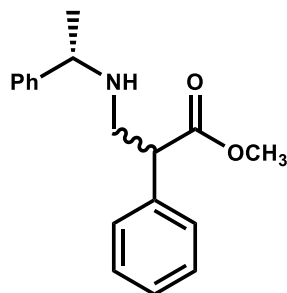
4a

2-fenilacetato de metilo



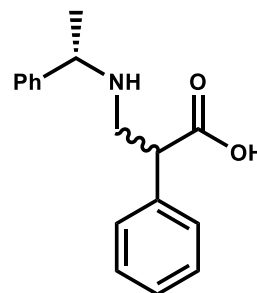
6a

2-fenilacrilato de metilo



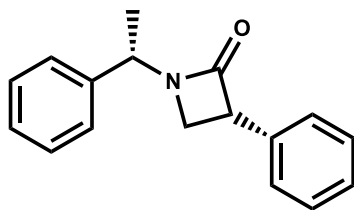
8a

(*R,S*)-2-fenil-3-((*S*)-*N*-feniletilamino) propanoato de metilo



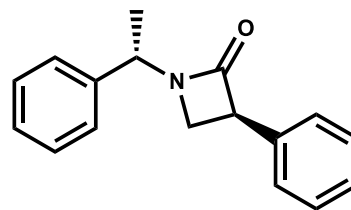
9a

Ácido (*R,S*)-2-fenil-3-((*S*)-*N*-feniletilamino) propanoico



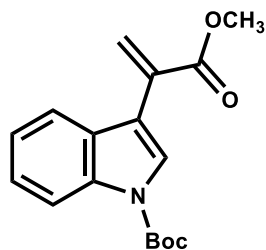
10a

(*R*)-3-fenil-1-(*S*)-*N*-feniletilazetidin-2-ona



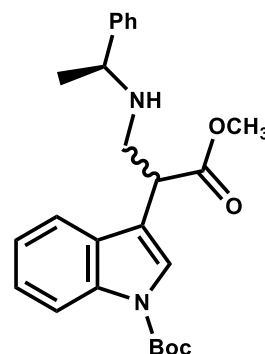
10a'

(*S*)-3-fenil-1-(*S*)-*N*-feniletilazetidin-2-ona



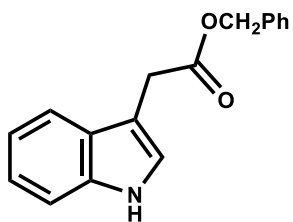
6b₁

3-(3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo



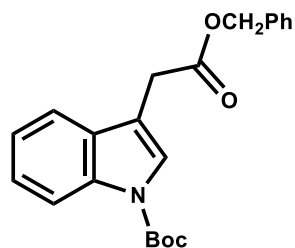
8b₁

3-(1-metoxi-1-oxo-3-((*S*)-*N*-feniletilamino) propan-2-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo



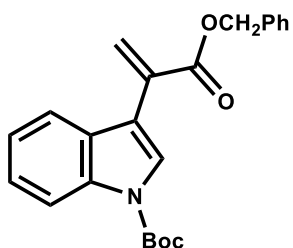
3b₃

2-(1*H*-indol-3-il) acetato de bencilo



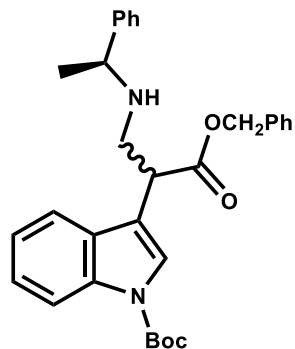
4b₃

3-(2-benciloxi-2-oxoetil)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo



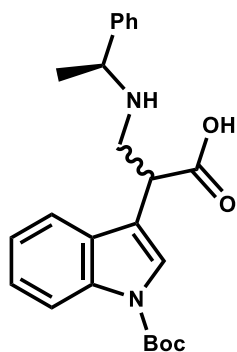
6b₃

3-(3-benciloxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo



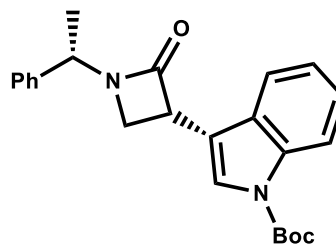
8b₃

3-((*R,S*)-1-benciloxi-1-oxo-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propan-2-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo



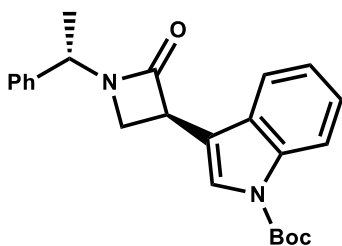
9b₃

Ácido (*R,S*)-2-(1-*tert*-butoxicarbonil-1*H*-indol-3-il)-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propanóico



10b₃

3-((*R*)-2-oxo-1-(*S*)-*N*-feniletilazetidín-3-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo



10b₃'

3-((*S*)-2-oxo-1-(*S*)-*N*-feniletilazetidín-3-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

^{13}C	Carbono trece
^1H	Protón
5-HT	5-hidroxitriptamina o serotonina
5-HTR	Receptores 5-HT
8NU	Ligando Risperidona
δ	Desplazamiento químico
(CH₂O)_n	Paraformaldehído
$^{\circ}\text{C}$	Grados centígrados
Å	Ángstrom
AcOEt	Acetato de etilo
BnBr	Bromuro de bencilo
Boc	<i>tert</i> -Butil carbamato
CCF	Cromatografía en capa fina
CEP	Compuestos enantioméricamente puros
COSY	Espectroscopia de correlaciones (Correlations Spectroscopy)
<i>d</i>	Doble (señal)
<i>dd</i>	Doble de dobles (señal)
<i>ddd</i>	Doble de doble de dobles
<i>dddd</i>	Doble de doble de doble de dobles
DMAP	4-dimetilaminopiridina

DMT	<i>N,N</i> -diemetiltriptamina
DOI	1-(4-yodo-2,5-dimetoxifenil)-isopropilamina
Et₃N	Trietilamina
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
<i>gem</i>	Geminal
GHz	Giga Hertz
GPCR	Receptores acoplados a proteínas G
GS	Grupo saliente
h	Hora
Hex	Hexano
HMBC	Correlación de enlace múltiple heteronuclear (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)
HSQC	Espectroscopia de correlación heteronuclear de un único cuanto (Heteronuclear Single Quantum Correlation Spectroscopy)
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de Acoplamiento
LiHMDS	Hexametildisililazano de litio
LSD	Dietilamida de ácido lisérgico
m	Metro
min	Minutos
mm	Milímetro
MW	Microondas (microwave, en inglés)
NaH	Hidruro de sodio

NOESY	Espectroscopia de efecto nuclear Overhauser (Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy, en inglés)
Ph	Fenilo
ppm	Partes por millón
psi	Libras por pulgada cuadrada (pounds-force per square inch, en inglés)
q	Cuarteto (señal)
rac	Racémico
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMSD	Desviación cuadrática media (root-mean-square deviation, en inglés)
SNC	Sistema Nervioso Central
t	Triple (señal)
THF	Tetrahidrofurano
W	Watts

RESUMEN

Existen numerosos enfoques para la síntesis del anillo β -lactámico; sin embargo, la síntesis de compuestos con un anillo de β -lactama apropiadamente sustituido con la diastereoselectividad deseada ha llamado la atención debido a la posibilidad de presentar propiedades farmacológicas importantes. En el presente trabajo se realizó la síntesis de diversas β -lactamas derivadas del ácido fenilacético y del ácido 3-indolacético.

Se prepararon el éster metílico derivado del ácido fenilacético y los ésteres metílico y bencílico derivados del ácido 3-indolacético respectivamente, estos últimos fueron previamente protegidos con anhídrido Boc. Enseguida, se realizó la síntesis de sus respectivos derivados α,β -insaturados, para a continuación, llevar a cabo adiciones tipo Michael de (*S*)-feniletilamina sobre los ésteres metílicos y bencílicos α,β -insaturados. Posteriormente, se realizaron reacciones de hidrólisis alcalina en los derivados metílicos o bien hidrogenólisis a los β^2 -Aрил amino ésteres bencílicos preparados, para así aislar los β^2 -Aрил aminoácidos. Finalmente se desarrollaron reacciones de lactamización para el aislamiento de los correspondientes diastereoisómeros, y se procedió a su caracterización por RMN ^1H y ^{13}C .

Así mismo, se realizó el acoplamiento molecular dirigido de las β -lactamas derivadas del ácido fenilacético, el ácido 3-indolacético y la indometacina utilizando el programa Autodock Vina en el visualizador Chimera, comparándolas con el ligando comercial Risperidona (8NU) y empleando el receptor 5-HT_{2A}R presente en enfermedades neurodegenerativas como posible diana terapéutica. La desviación de la raíz cuadrada media (RMSD) de las posiciones atómicas, fue utilizada para medir la distancia media entre los átomos de la interacción proteína-ligando. A partir de los datos obtenidos de cada compuesto, es posible precisar que estos se encuentran dentro del rango aceptable de los valores de RMSD. Por medio del programa Maestro fue posible realizar un modelado predictivo explorando el espacio químico de las β -lactamas, observando las interacciones presentes con los residuos de aminoácidos.

Adicionalmente se llevó a cabo la evaluación de manera predictiva de sus propiedades farmacocinéticas (absorción, distribución, metabolismo, eliminación) y toxicidad, así como la evaluación de las reglas de Lipinski, empleando una serie de programas quimio-informáticos, obteniendo resultados favorables para cada uno de los compuestos diseñados.

ABSTRACT

There are several methods for the synthesis of the β -lactam ring; however, the synthesis of compounds with an appropriately substituted β -lactam ring with the desired diastereoselectivity has drawn attention to the possibility of exhibiting important pharmacological properties. In the present work, the synthesis of various β -lactam rings derived from phenylacetic acid and 3-indolacetic acid was performed.

The methyl ester derived from phenylacetic acid and the methyl and benzyl esters derived from 3-indolacetic acid were prepared respectively, the latter were previously protected with Boc anhydride. Subsequently, the synthesis of their respective α,β -unsaturated derivatives was performed, and then Michael-type additions of (*S*)-phenylethylamine were carried out on the α,β -unsaturated methyl and benzyl esters. Then, alkaline hydrolysis reactions were performed on the methyl derivatives or hydrogenolysis reactions on the β^2 -Aryl amino benzyl esters prepared, to thereby isolate the β^2 -Aryl amino acids. Finally, lactamization reactions were developed for the isolation of the corresponding diastereoisomers, and their characterization was performed by ^1H and ^{13}C NMR.

Also, the directed molecular coupling of the β -lactams derived from phenylacetic acid, 3-indolacetic acid and indomethacin was performed using the Autodock Vina program on the Chimera visualizer, comparing them with the commercial ligand Risperidone (8NU) and using the receptor 5-HT_{2A}R present in neurodegenerative diseases as a possible therapeutic target. The mean square root deviation (RMSD) of the atomic positions was used to measure the mean distance between the atoms of the protein-ligand interaction. From the data obtained from each compound, it is possible to specify that these are within the acceptable range of the RMSD values. Through the Maestro program, it was possible to carry out predictive modeling by exploring the chemical space of the β -lactam rings, observing the interactions present with the amino acid residues.

Additionally, the predictive evaluation of its pharmacokinetic properties (absorption, distribution, metabolism, elimination) and toxicity was carried out, as well as the evaluation of the Lipinski rules, using a series of chemo-computer programs, obtaining favorable results for each one of the designed compounds.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Los α -aminoácidos son compuestos orgánicos que contienen un grupo carboxilo y un grupo amino unidos al mismo átomo de carbono. Los α -aminoácidos se encuentran en los 20 aminoácidos que forman parte de las proteínas;¹ sin embargo, los β -aminoácidos no se encuentran de manera tan común en la naturaleza. La β -alanina es el β -aminoácido más sencillo y abundante en la naturaleza.

Los β -aminoácidos son importantes constituyentes en muchos compuestos biológicamente activos y precursores de la clase de antibióticos β -lactámicos. Ejemplos bien conocidos son el agente anticancerígeno estabilizador de microtúbulos Taxol, el inhibidor de la proteasa Bestatin, utilizado en el tratamiento de la leucemia mieloide aguda y Telaprevir, desarrollado para el tratamiento de la hepatitis C (**Figura 1**).²

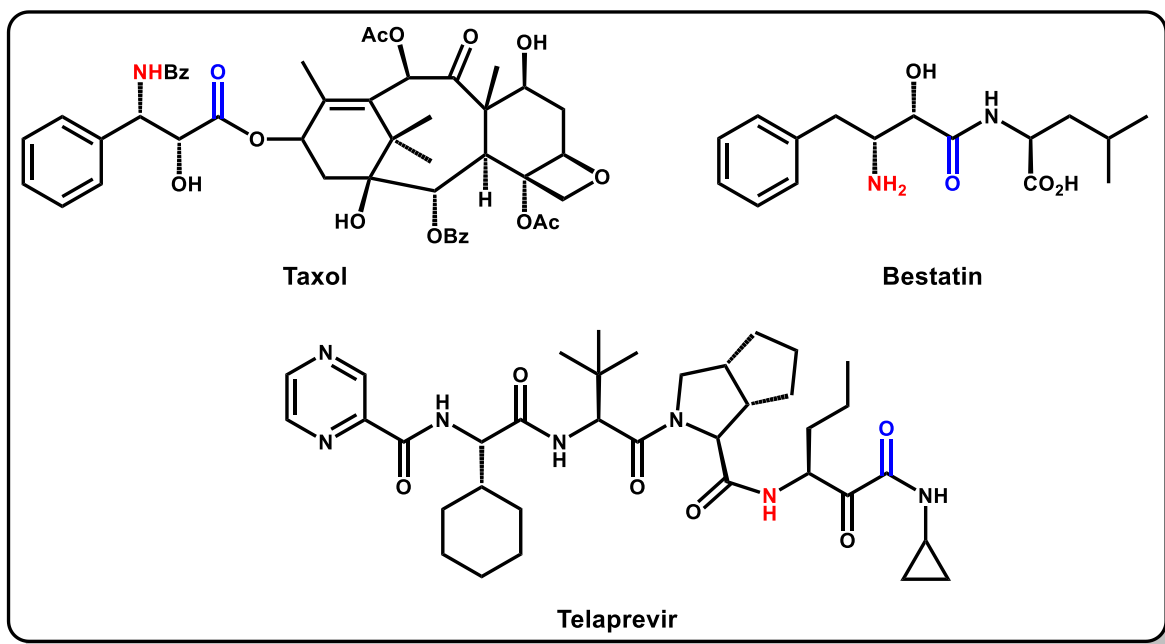


Figura 1. Compuestos con núcleo de β -aminoácido.

Los derivados naturales de los β -aminoácidos a menudo se caracterizan por sus potentes actividades farmacológicas y toxicológicas, que a menudo se basan de manera crucial en sus subestructuras de β -aminoácidos, como lo son péptidos, depsipéptidos, lactamas, alcaloides y otros productos naturales.³

Los β -aminoácidos son componentes de algunas toxinas y una clase especial de lipopéptidos formadores de poros,⁴ con actividad bacteriana y antifúngica.

Además de la importancia farmacológica de los β -aminoácidos, se ha demostrado su uso como componentes básicos para la preparación de análogos modificados de péptidos biológicamente activos;⁵ que a menudo muestran una actividad farmacológica interesante, con un aumento de potencia⁶ lo que le confiere estabilidad enzimática; desempeñando un papel importante en el avance de la comprensión de mecanismos enzimáticos, las conformaciones de proteínas y las propiedades relacionadas con el reconocimiento molecular.

En síntesis orgánica, los β -aminoácidos se usan comúnmente como bloques de construcción quirales,⁷ y una gran cantidad de investigación se ha centrado en métodos fáciles, prácticos y escalables para su preparación.

Entre los diversos β -aminoácidos, las β -lactamas representan una subclase de compuestos particularmente intrigante. Ahora se reconoce que los β -aminoácidos que presentan un anillo de cuatro miembros en su estructura, no solo pueden cambiar notablemente las propiedades biológicas de algunos aminoácidos naturales, sino que también son intermediarios clave en el diseño de ciertos fármacos.⁸

Dado su valor, muchos grupos de investigación se han centrado en su síntesis y aplicaciones, lo que ha dado lugar a una gran cantidad de compuestos derivados de β -aminoácidos.⁷ En este sentido, el presente proyecto de Tesis tiene como propósito contribuir al desarrollo de metodologías que permitan preparar β -lactamas con un grupo aromático en la posición dos.

CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES

2.1 Aminoácidos

Los aminoácidos son compuestos biológicamente importantes, ya que estos tienen diferentes funciones en el organismo, pero ante todo sirven como unidades básicas de péptidos y proteínas. En el código genético solo se consideran los veinte α -aminoácidos proteicos, los cuales se encuentran regularmente en las proteínas y en algunos casos sufren modificaciones después de su incorporación a ellas.

De acuerdo con la localización del grupo amino ($-\text{NH}_2$) con respecto del grupo carboxilo ($-\text{CO}_2\text{H}$) se asigna cierta clasificación estructural en los aminoácidos, ya sea alfa (α -), beta (β -), gama (γ -), delta (δ -), entre otras (**Figura 2**).

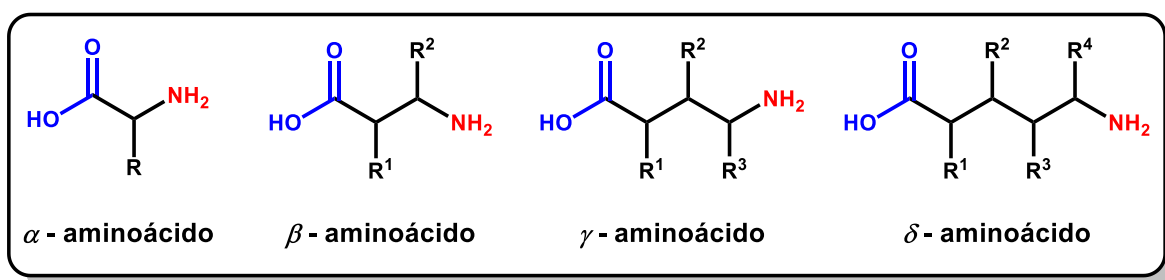


Figura 2. Clasificación estructural de los aminoácidos.

Debido a su versatilidad, los aminoácidos han sido ampliamente usados en la síntesis de heterociclos quirales enantioméricamente puros,⁹ de igual forma en los lípidos están presentes o sus derivados como unidades básicas.¹⁰ Ahora bien, algunos aminoácidos se desempeñan como neurotransmisores, siendo otros precursores de neurotransmisores, de mediadores o de hormonas.^{9,10}

En este sentido, la síntesis de aminoácidos ha recibido una especial atención en los últimos años, debido a las importantes actividades biológicas mostradas por este tipo de compuestos.¹¹

2.2 β -aminoácidos

Con excepción de la β -alanina y el ácido β -aminoisobutírico, los cuales constituyen intermediarios clave en varias rutas metabólicas, los β -aminoácidos no son tan abundantes en la naturaleza como los α -aminoácidos. Sin embargo, se presentan como parte esencial en una variedad de compuestos biológicamente activos.²

Para distinguir isómeros posicionales de los β -aminoácidos, se propuso la nomenclatura de Seebach y colaboradores, la cual indica la posición del grupo R sustituyente donde se plantearon los términos β^2 - y β^3 -aminoácido (**Figura 3**).¹²

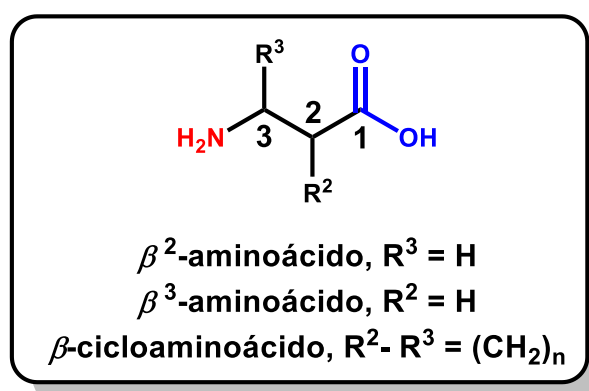


Figura 3. Clasificación por Seebach de β -aminoácidos.

Se han establecido una gran cantidad de enfoques químicos para producir β -aminoácidos quirales que incluyen la resolución de los β -aminoácidos racémicos, el uso de α -aminoácidos quirales naturales y la síntesis asimétrica.¹³

El reciente aumento de la investigación en el área de los β -aminoácidos, aparte de su propia actividad biológica generalmente alta,¹⁴ se debe a su importancia en la síntesis de compuestos más complejos como las β -lactamas, β -péptidos y β -ciclopéptidos.

2.3 β -Lactamas

El descubrimiento de la estructura química de la penicilina en 1928 por Alexander Fleming y la identificación del anillo de 2-azetidona como subunidad estructural

clave en la actividad biológica de dicho compuesto, dio como resultado un gran desarrollo en los métodos de síntesis de este esqueleto heterocíclico.¹⁵

El fundamento químico de la actividad biológica y de la inhibición enzimática de los antibióticos β -lactámicos parece estar relacionado con la reactividad del anillo de cuatro miembros, y con la susceptibilidad del grupo carbonilo a ataques nucleofílicos.¹⁶ Existen diferentes familias de antibióticos β -lactámicos, entre las cuales destacan las penicilinas, cefalosporinas y carbapenemas entre los sistemas bicíclicos; las nocardinas y monobactamas entre los monocíclicos (**Figura 4**);¹⁷ estas constituyen las familias de antibióticos más empleadas en el mercado mundial.^{15,16}

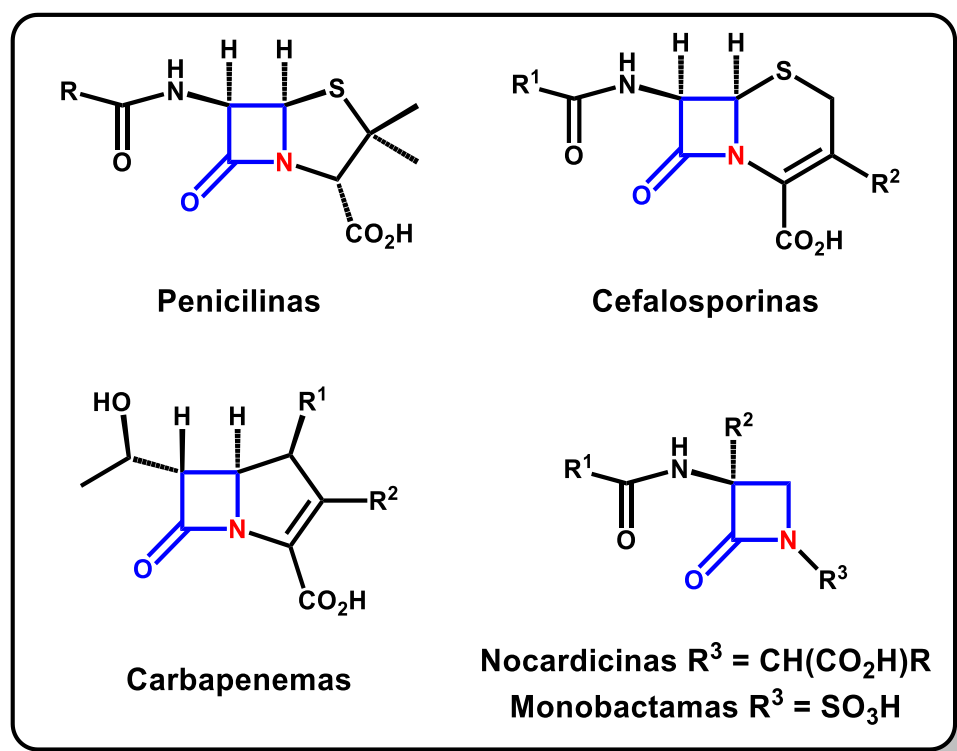


Figura 4. Principales antibióticos β -lactámicos.

El espectro de acción y su susceptibilidad a las enzimas β -lactamasas hace diferentes a las familias de antibióticos β -lactámicos, que el motivo más común de resistencia antibacteriana.¹⁸ Algunos antibióticos β -lactámicos han sido estudiados como agentes terapéuticos para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como la esclerosis lateral amiotrófica.¹⁹

Se han encontrado nuevas y prometedoras aplicaciones de las β -lactamas monocíclicas como inhibidores enzimáticos de serina proteasas.²⁰ Por otro lado, el esqueleto monocíclico de β -lactama se ha empleado como base para el diseño de nuevos agentes anticancerosos.²¹ Esta nueva estrategia para el tratamiento del cáncer se basa en la activación selectiva de la apoptosis o muerte celular programada de células tumorales.

El compuesto de la **Figura 5** destaca, ya que es capaz de inducir apoptosis mediante la activación de caspasas en diferentes líneas tumorales, como cáncer de mama o próstata.²²

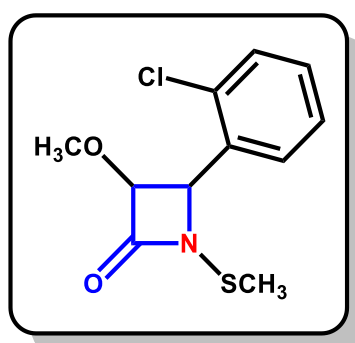
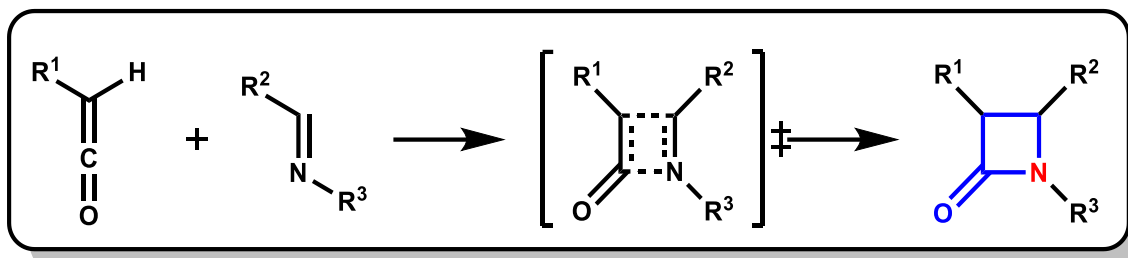


Figura 5. Compuesto β -lactámico diseñado para el tratamiento del cáncer.

2.4 Síntesis de β -Lactamas

Los métodos para la síntesis de β -lactamas²³ se pueden clasificar en dos categorías, siendo estas: (1) procesos que dan lugar al anillo heterocíclico por formación simultánea de más de un enlace, y (2) procesos que suponen la formación de un solo enlace para la generación del esqueleto β -lactámico.

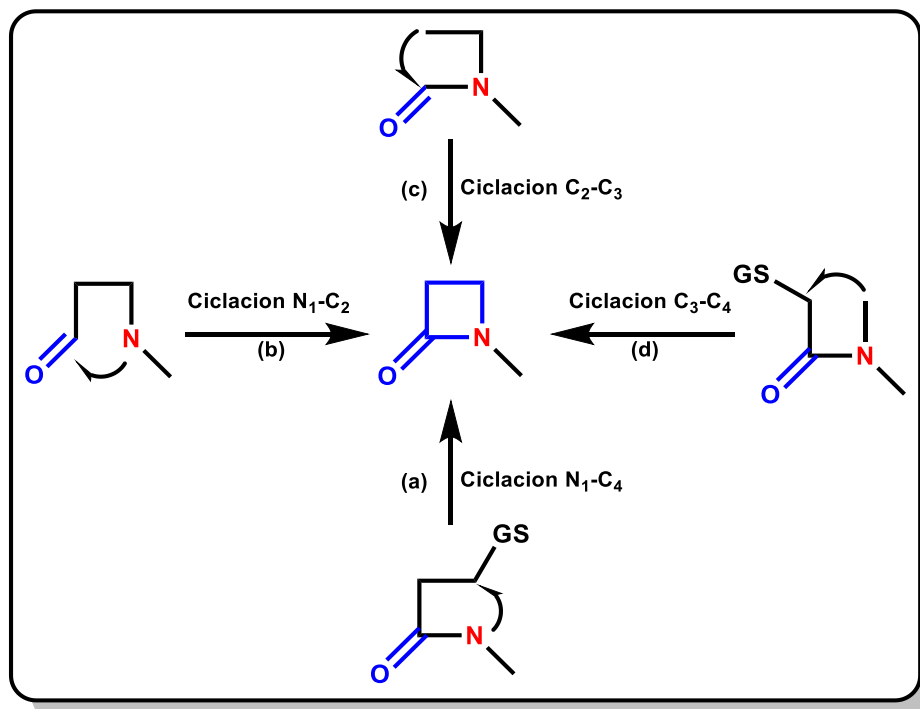
Como ejemplo del primer método de síntesis, se puede encontrar la ciclación de Staudinger,²⁴ la reacción más utilizada por su sencillez y eficacia; implica la cicloadición [2+2] entre iminas y cetenas (**Esquema 1**). Su mecanismo va a través de una reacción concertada para dar lugar al anillo β -lactámico.



Esquema 1. Cicloadición de Staudinger.

La estereoquímica de las β -lactamas obtenidas puede ser *cis* o *trans* o mezcla de ambos isómeros. La naturaleza de los sustituyentes tanto en las iminas como en los cloruros de ácido empleados como precursores de las cetenas, así como el tipo de base, el disolvente, las condiciones de reacción y el orden de adición de los reactivos afectan la selectividad con que se forma el anillo β -lactámico.²⁵

Las metodologías de las β -lactamas que transcurren a través de un proceso de ciclación se clasifican en función de los átomos implicados en la formación de un nuevo enlace: nitrógeno-carbono N₁-C₄ (a), amida N₁-C₂ (b), carbono-carbono C₂-C₃ (c) y carbono-carbono C₃-C₄ (**Esquema 2**).



Esquema 2. Clasificación de ciclación de β -lactamas según el tipo de enlace.

La ciclación de β -hidroxiamidas mediante la reacción de Mitsunobu²⁶ es la aproximación más utilizada para la ciclación de tipo (a) (**Esquema 2**). Esta ciclación consiste en el desplazamiento nucleofílico de un grupo saliente (GS) situado en la posición C₄ por el nitrógeno N₁.

El método empleado para la ciclación tipo (b) consiste en la ciclación de β -aminoácidos sustituidos. Los agentes de acoplamiento convencionales, como carbodiimidas,²⁷ el reactivo de Mukaiyama,²⁸ o la combinación de di(2-piridinil) disulfuro/trifenilfosfina,²⁹ son utilizados para la activación del ácido carboxílico.

Existen escasos procedimientos para la preparación de β -lactamas mediante la ciclación tipo (c), destacando entre los más conocidos aquellos basados en las ciclaciones de radicales carbamoilo (**Figura 6**).³⁰

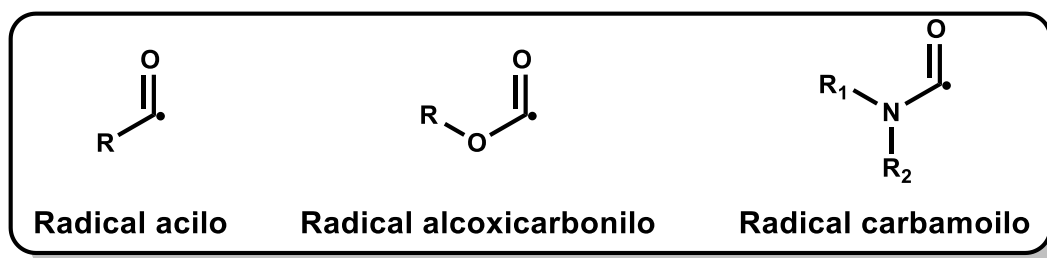
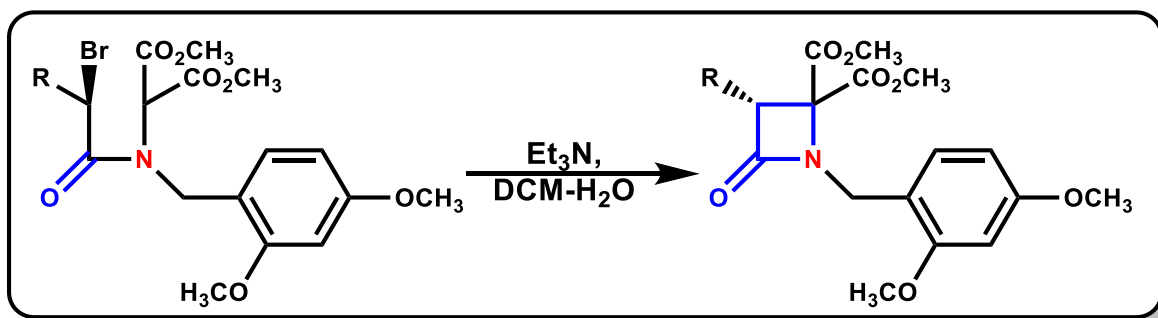


Figura 6. Clasificación de radicales acilo.

En cuanto a la ciclación intramolecular (d), el protocolo más utilizado es la reacción de sustitución nucleofílica para la generación del anillo β -lactámico (**Esquema 3**).³¹



Esquema 3. Ciclación tipo C₃-C₄ para la obtención de β -lactamas.

2.5 Microondas en la síntesis de β -aminoácidos

Dentro del espectro electromagnético, la región de radiación de microondas se encuentra entre la radiación infrarroja y las ondas de radio (**Figura 7**), que tienen frecuencias entre 0.3 GHz y 300 GHz, las cuales corresponden a longitudes de onda entre 1 mm y 1m, respectivamente.³²

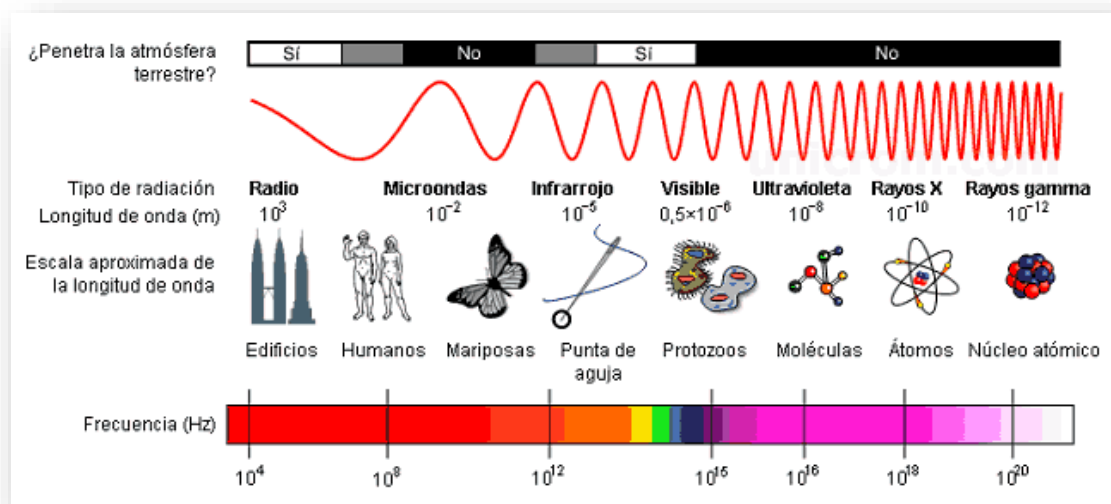


Figura 7. Microondas en el espectro electromagnético.

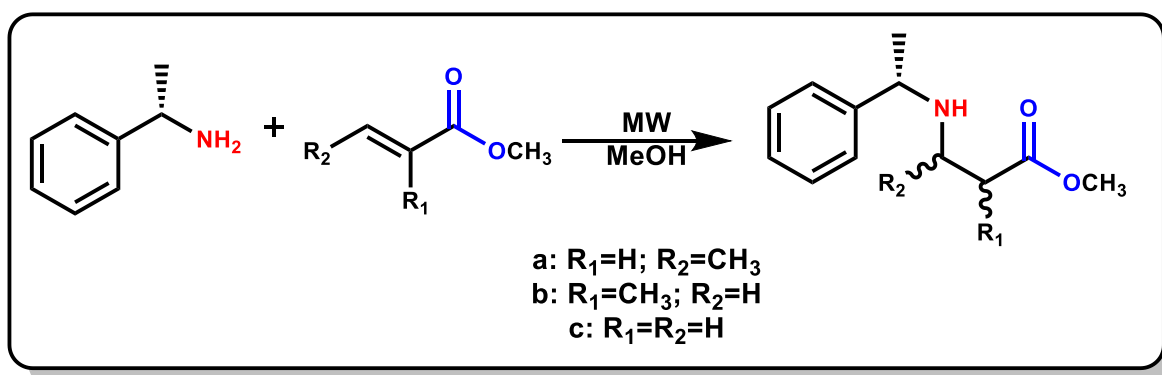
La síntesis asistida por microondas funciona sobre la base de la alineación de dipolos del material en un campo externo a través de la excitación producida por las radiaciones electromagnéticas de microondas y generalmente se ejecuta en combinación con una estrategia de síntesis conocida.³³

El proceso de alineación de las moléculas por el campo eléctrico externo puede dar como resultado la producción de calor interno, el cual es responsable de la reducción en el tiempo de procesamiento y de la energía requerida. El tiempo de reacción puede reducirse bastante, obteniendo así mejores rendimientos e incluso pudiendo trabajar en reacciones libres de disolventes, todo esto adoptando un proceso de síntesis asistido por microondas.³³

La síntesis orgánica asistida por microondas ha tenido un impacto en varias áreas del descubrimiento de fármacos, no se limita a áreas relacionadas con la síntesis orgánica.³² La tecnología de microondas también se está utilizando en el

descubrimiento de fármacos objetivo, el cribado, la farmacocinética e incluso en la clínica.

La síntesis asistida por microondas es una técnica única y simple, la cual ofrece un procesamiento rápido y eficiente de materiales con mayor reproducibilidad, sin embargo, existen pocos reportes donde se utilicen las microondas para la síntesis de β -aminoácidos. Un método desarrollado por Escalante y Morales³⁴ permitió la síntesis de β -aminoácidos a través de adiciones de Michael. Donde se lleva a cabo la adición de (*S*)- α -metilbencilamina a diversos esteres (Esquema 4), encontrando que, aunque se reportó baja diastereoselectividad, los tiempos de reacción se redujeron considerablemente, así como se mejoraron los rendimientos comparados con los resultados informados con calentamiento convencional.

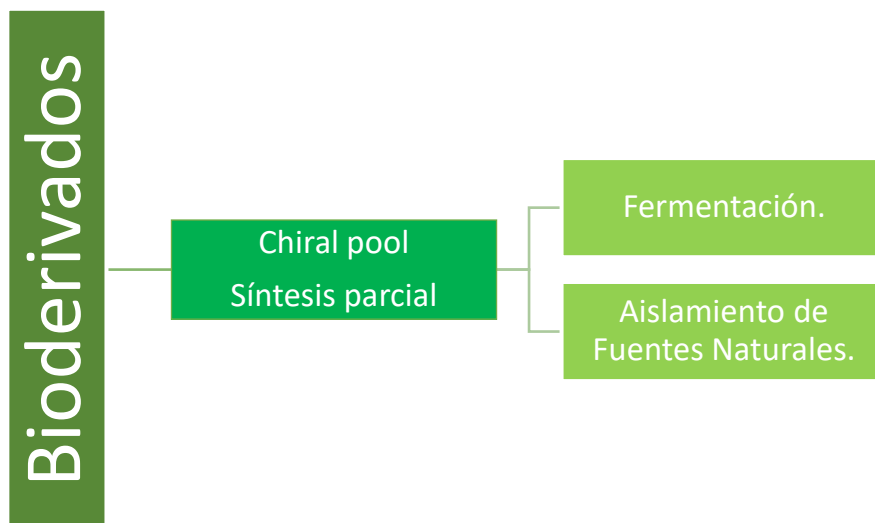


Esquema 4. β -amino ésteres asistido por microondas.

2.6 Compuestos enantioméricamente puros

En la actualidad existen tres estrategias generales para disponer de compuestos enantioméricamente puros (CEP).

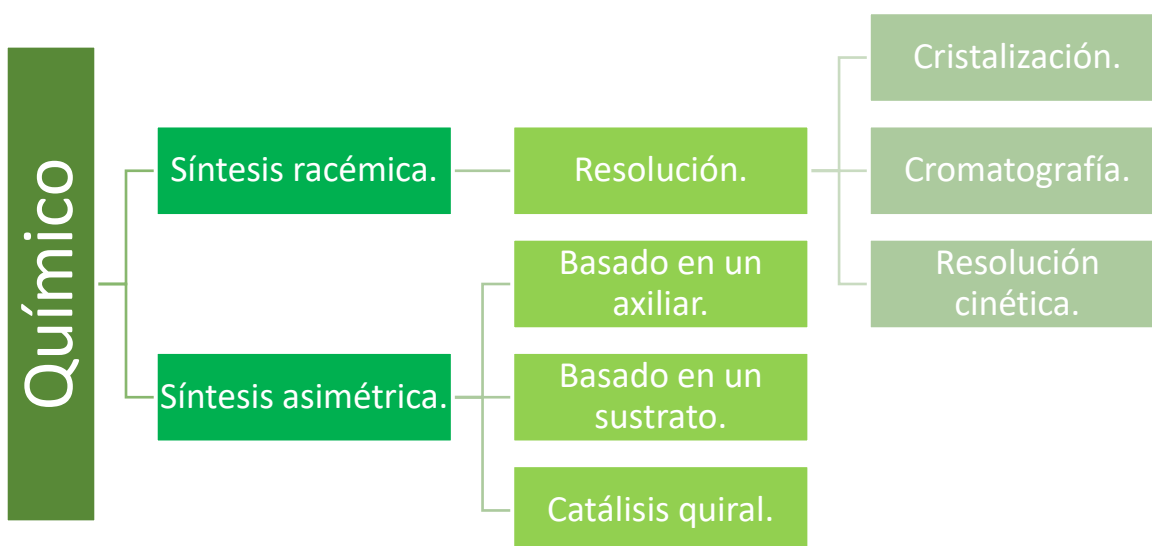
En la naturaleza, los compuestos como aminoácidos, terpenos, carbohidratos, entre otros, se presentan abundantemente en forma enantiopura, lo que representa el material de partida de “chiral pool”, estos compuestos son económicos y útiles para la síntesis enantioselectiva de sustratos más complejos. Chiral pool es el primer método para preparar CEP, donde la molécula objetivo-deseada se obtiene de un material de partida quiral, que se manipula a través de reacciones sucesivas usando un reactivo aquiral con retención de la quiralidad (Esquema 5).



Esquema 5. Obtención de CEP a partir de bioderivados.³⁵

La siguiente estrategia consiste en la resolución de compuestos racémicos, la resolución es un proceso en el que los enantiómeros presentes en un compuesto racémico se separan utilizando métodos como la cristalización, la resolución cinética y la cromatografía.³⁵

La síntesis asimétrica es el tercer método para obtener CEP, esta metodología implica la aplicación de un auxiliar quiral, un catalizador, un reactivo, o un biocatalizador que ayude a introducir uno o más centros quirales en un sustrato que produce mezclas estereoisoméricas que contiene enantiómeros o diastereoisómeros en cantidades desiguales. Las principales ventajas de este enfoque son el uso de cantidades estequiométricas de auxiliar o reactivos quirales. Sin embargo, el uso de un auxiliar quiral implica pasos sintéticos adicionales para su introducción y eliminación, además de que su aplicación no es económica para la preparación de grandes lotes, debido a sus elevados costos y difícil preparación (**Esquema 6**).



Esquema 6. Obtención de CEP a partir de métodos químicos.³⁵

2.7 Modelado Molecular

Existen dos grandes áreas en química computacional para el desarrollo de modelos moleculares, las técnicas de Mecánica Molecular (modelos clásicos) y las de Mecánica Cuántica (modelos cuánticos).³⁶

Estos dos modelos pretenden:³⁶

- Calcular la energía asociada a una estructura molecular determinada.
- Encontrar la estructura molecular con menor energía.
- Simular la variación a lo largo del tiempo de una determinada estructura molecular (dinámica molecular).

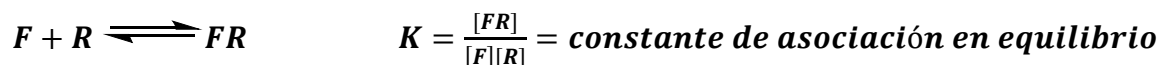
La mecánica molecular estudia el comportamiento dinámico de los átomos, es así como consideran la geometría en equilibrio, el análisis conformacional entre otras cosas, y es aplicable a entidades moleculares grandes.³⁷ Este considera los átomos como esferas unidas por resortes (enlaces entre átomos) según los criterios de la física clásica, por lo que se consideran solo los núcleos de los átomos, no teniendo en cuenta explícitamente a los electrones.

La mecánica molecular se aplica dado que:

- El modelo por estudiar es un sistema grande (macromoléculas).
- Se desea realizar análisis conformacionales.
- Se pretende calcular la energía de unión entre un blanco molecular y una serie de compuestos, así como la minimización de energía tanto de dichos compuestos como del blanco molecular problema.

El modelado molecular es una técnica computacional que permite estudiar la interacción que existe entre un fármaco y su diana biológica,³⁷ mediante el uso de programas informáticos que representan las estructuras y comportamiento de las moléculas. Es decir, permite predecir si una molécula va a unirse a un receptor, y por lo tanto si puede ser un punto de partida para el diseño y síntesis de fármacos.

La interacción ligando-receptor es estudiada por el modelado molecular mediante el estudio de fuerzas de unión entre ambas estructuras. La unión entre un fármaco (F) y su receptor (R) se considera una reacción de asociación simple, por lo que entre más alta sea la constante de asociación, mayor es la energía que se libera en la interacción entre el fármaco y el receptor.³⁷



Existen diferentes técnicas computacionales en función del conocimiento de la estructura del fármaco y del receptor (**Tabla 1**).

Tabla 1. Técnicas computacionales.³⁷

		ESTRUCTURA RECEPTOR	
		CONOCIDA	DESCONOCIDA
ESTRUCTURA DEL LIGANDO	CONOCIDA	<ul style="list-style-type: none"> • Interacciones ligando-receptor. • Dinámica molecular. • Técnicas de docking. 	<ul style="list-style-type: none"> • Modelado de fármacos. • Búsquedas 3D basadas en el ligando/farmacóforo. • QSAR 2D y 3D.
	DESCONOCIDA	<ul style="list-style-type: none"> • Diseño de <i>novo</i>. • Búsquedas 3D basadas en el diseño. 	<ul style="list-style-type: none"> • Generar estructuras en 3D. • Medidas de similitud y diversidad molecular. • Química combinatoria.

A partir de una molécula conocida, se pueden aplicar técnicas computacionales, para conseguir nuevos fármacos que supongan un avance terapéutico, con mayor especificidad, así como una mayor potencia.

2.8 Serotonina

Rapport y colaboradores³⁸ aislaron por primera vez la serotonina del suero sanguíneo. Anteriormente, Erspamer había demostrado que había una sustancia responsable de la reacción de tinción característica de las células de argantafina de la mucosa gastrointestinal.³⁹ De igual forma, mostró que las células que contienen la sustancia anterior son responsables de las contracciones de los músculos lisos. Más tarde, la sustancia anterior aislada por Erspamer se identificó como serotonina, es decir, 5-hidroxitriptamina (**Figura 8**).

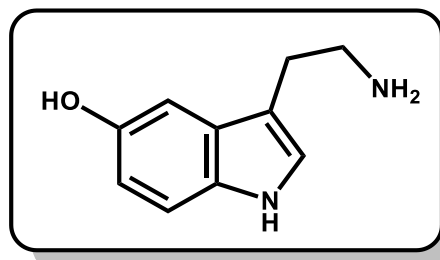


Figura 8. Estructura de la serotonina.

Se descubrió que el triptófano es la fuente de la formación de serotonina en el cuerpo. De este modo la serotonina se distribuye uniformemente en varias partes del cerebro de los mamíferos, actuando como un neurotransmisor muy importante en el sistema nervioso central (SNC) y también en los sistemas cardiovascular y gastrointestinal. Aunado a lo anterior, su concentración más alta se encontró en los ganglios basales y la glándula pineal; se cree que los ganglios basales son el área del cerebro relacionada con las emociones.⁴⁰ De igual forma se ha demostrado que el tejido carcinoide sintetiza serotonina.

Estas observaciones sugieren que cualquier cambio en la concentración de serotonina en el cerebro, ya sea por drogas o por un trastorno mental, daría lugar a psicosis.^{41,42} En consecuencia, pueden producirse trastornos psiquiátricos como ansiedad, depresión, agresividad, pánico, trastornos obsesivo-compulsivos, esquizofrenia, conducta suicida, autismo, trastornos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer, Parkinson, migraña, emesis y alcoholismo.

Debido a las propiedades psicofarmacológicas de la serotonina, se han sintetizado varios compuestos que contienen parte de serotonina con la esperanza de obtener compuestos que posean propiedades antagónicas o de tipo serotonina. Por lo tanto, la síntesis de compuestos que poseen una estructura similar a la de la serotonina o que contiene un residuo de triptamina o un resto aminoindol, ha atraído mucho la atención en los últimos años.

2.9 Receptores de Serotonina (5-HTR)

Los receptores 5-HT (5-HTR) son receptores para el neurotransmisor y mediadores de la señal periférica de la serotonina como agonista endógeno, ya que están ubicados en la membrana celular de las neuronas y otros tipos de células, incluidas las células del músculo liso, en animales.⁴³

En el cerebro, la función de muchos 5-HT_R está asociada con respuestas fisiológicas específicas, que van desde la modulación de la actividad neuronal y la liberación del neurotransmisor hasta los cambios de comportamiento. Los subtipos individuales de 5-HT_R afectan la liberación de otros neurotransmisores como el glutamato, la dopamina y el GABA.⁴⁴

El 5-HT_{2A}R se detectó inicialmente en membranas corticales de rata como sitio de unión de alta afinidad para la espiperona con afinidad relativamente baja por 5-HT, pero con un perfil farmacológico de un receptor de 5-HT.⁴⁵ Este receptor se definió originalmente como 5-HT_{2R}, pero luego se reasignó a la clasificación del receptor 5-HT como 5-HT_{2A}R, el cual es el principal subtipo de receptor excitador entre los receptores acoplados a proteínas G (GPCR) para la serotonina, aunque los 5-HT_{2A}R también pueden tener efectos inhibitorios en ciertas áreas del cerebro, como la corteza visual y orbitofrontal. El 5-HT_{2A}R se consideró como objetivo de las drogas psicodélicas como la dietilamida de ácido lisérgico (LSD) y como importante sitio de acción de alucinógenos como las ergolíneas (LSD), fenilalquilaminas (1-(4-yodo-2,5-dimetoxifenil)-isopropilamina, DOI) y triptaminas sustituidas (*N,N*-dimetiltriptamina, DMT).^{46,47} En la mayoría de los ensayos, estos compuestos actúan como agonistas parciales de 5-HT_{2A}R. La afinidad del agonista endógeno 5-HT es relativamente baja (pK_D ca. 6).^{48,49}

La transducción de señales mediada por 5-HT_{2A}R afecta a una gran cantidad de procesos fisiológicos clave, como la contracción del músculo liso vascular y no vascular, la agregación plaquetaria, la percepción y el comportamiento afectivo.

Por lo tanto, el estudio y la clasificación de los receptores de 5-hidroxitriptamina (5-HT) han dado como resultado el diseño y la síntesis de medicamentos altamente selectivos como el sumatriptán para el tratamiento de la migraña, el ondansetrón para la supresión de las náuseas y vómitos causados mediante quimioterapia y radioterapia contra el cáncer, y el alosetrón para el tratamiento del síndrome del intestino irritable; incluidos así algunos antidepresivos, ansiolíticos, antieméticos, antipsicóticos y agentes antimigrañosos.

2.10 Risperidona

La Risperidona (**Figura 9**), es un derivado de benzisoxazol, siendo este un agente antipsicótico novedoso que combina el potente antagonista de los receptores de serotonina (5-HT_{2A}) y dopamina (D₂).⁵⁰

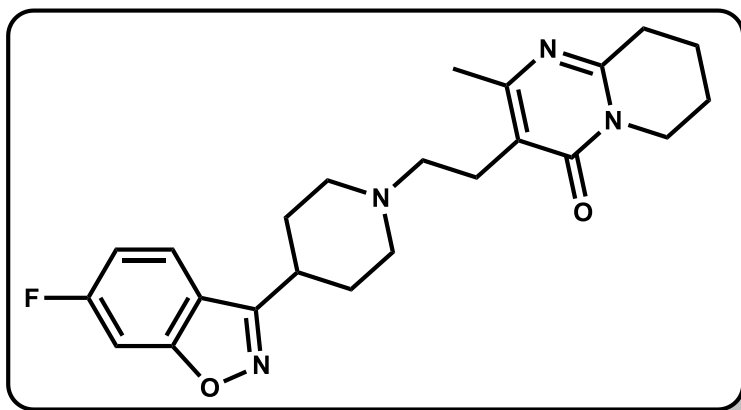


Figura 9. Estructura de la risperidona.

Investigaciones clínicas recientes⁵¹ sugieren que la risperidona tiene al menos una eficacia comparable al haloperidol y la perfenazina (**Figura 10**) para mejorar los síntomas de la esquizofrenia aguda y crónica en la administración a corto plazo. Las ventajas que ofrece la risperidona sobre el haloperidol incluyen un inicio más rápido de la acción antipsicótica, una menor incidencia de efectos extrapiramidales y posiblemente una mayor eficacia contra los síntomas negativos de la esquizofrenia. Si se demuestra que estos beneficios se mantienen durante la terapia a largo plazo, es probable que la risperidona contribuya significativamente al tratamiento de la esquizofrenia.

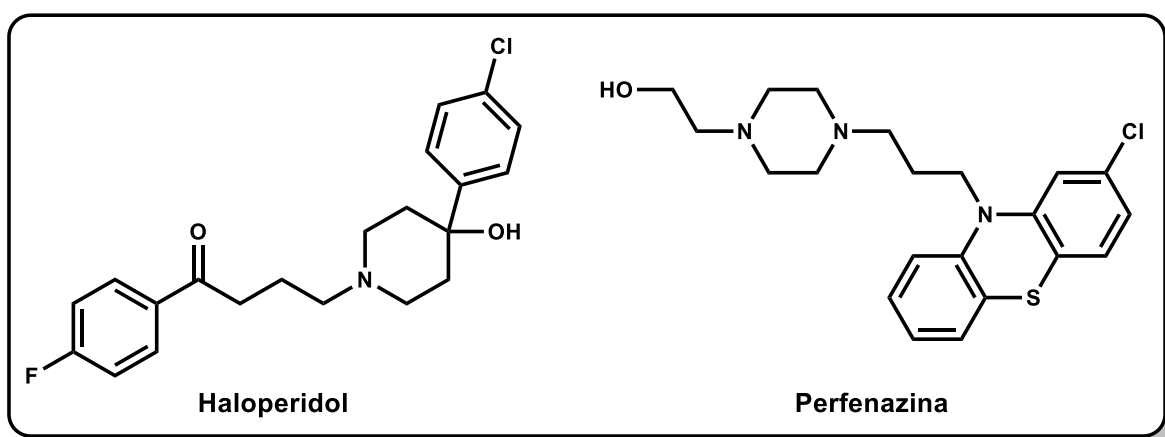


Figura 10. Estructura de fármacos antipsicóticos.

La risperidona exhibe actividad antagonista central de serotonina 5-HT_{2A} y dopamina neostriatal D₂,⁵⁰ pero carece de actividad anticolinérgica, en varios modelos animales *in vivo*.

CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN

Los β -aminoácidos han sido de gran importancia ya que tanto en su forma libre o como parte de moléculas más complejas, pueden presentar interesantes propiedades biológicas.⁵² Dentro del mismo contexto, la preparación de compuestos estructuralmente complejos y diversos contribuye a poblar el espacio químico disponible y facilita el estudio de los sistemas biológicos.⁵³

En este sentido, la síntesis asimétrica de compuestos heterocíclicos (β -lactamas) ha recibido una especial atención en los últimos años,⁵⁴ debido a las importantes actividades biológicas mostradas por este tipo de compuestos. En muchos casos, estos heterociclos están basados, total o parcialmente, en esqueletos de productos naturales, compuestos biosintéticos con arquitecturas normalmente complejas y con estereocentros quirales, que siguen teniendo un papel principal en el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos.

La especial reactividad de las β -lactamas ha propiciado su utilización como precursores sintéticos para la generación de nuevos compuestos. Así, se han empleado β -lactamas enantioméricamente puras como sintones quirales en la preparación de α - y β -aminoácidos, heterociclos y derivados dipeptídicos.⁵⁵

En este sentido, se pretende contribuir con compuestos novedosos que actúen sobre más de un padecimiento neurodegenerativo, en especial la esquizofrenia. Por lo tanto, dado que actualmente hay un aumento de interés en las β -lactamas, es necesario estudiar métodos para su síntesis.

CAPÍTULO 4. OBJETIVOS

4.1 General

Diseñar una estrategia de síntesis efectiva que permita el acceso en forma enantioméricamente pura a las β -lactamas (**9a-c**), así como evaluar *in silico*, su posible efecto antipsicótico.

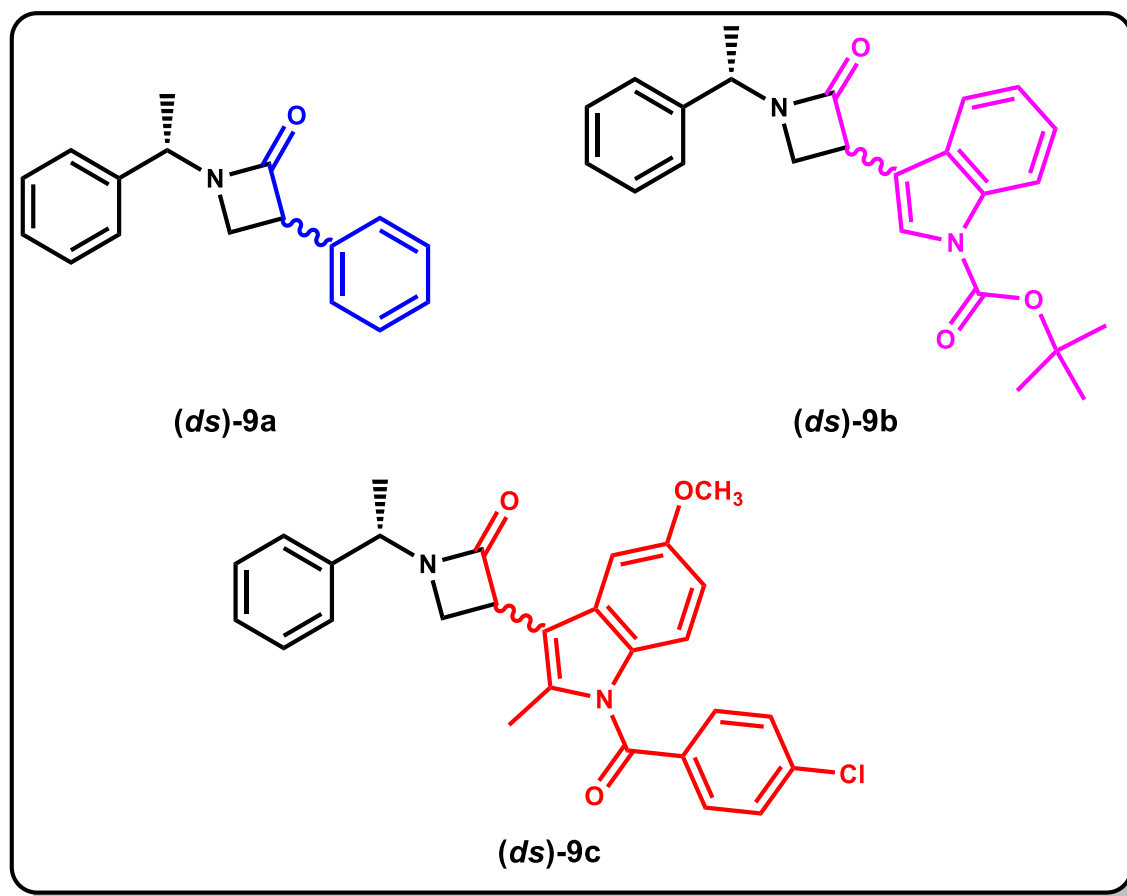
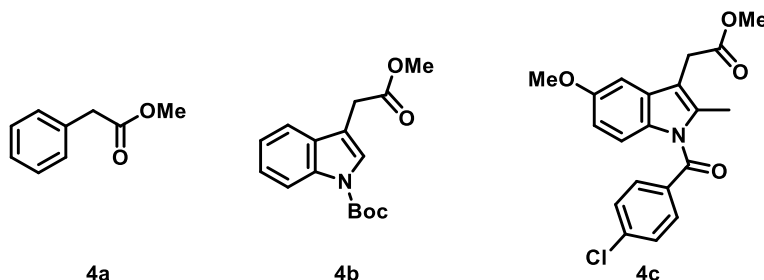


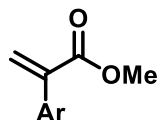
Figura 11. β -lactamas a sintetizar.

4.2 Específicos

- ❖ Preparar a los ésteres metílicos derivados del ácido 3-indolacético (**4b**) y de la Indometacina (**4c**) como intermediarios clave en subsecuentes procedimientos. **Nota:** El éster metílico derivado del ácido fenilacético (**4a**), es un compuesto comercial de relativo bajo costo.

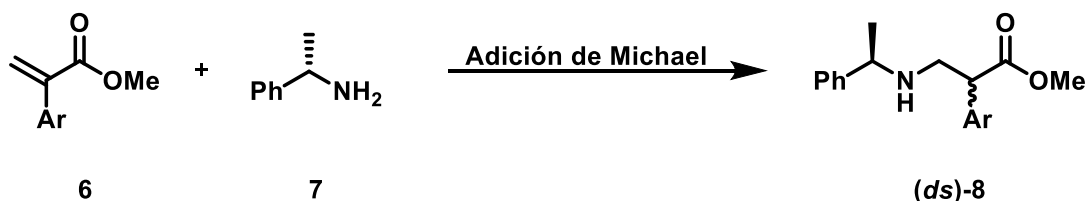


- ❖ Sintetizar ésteres α,β -insaturados derivados del ácido fenilacético (**6a**), del ácido 3-indolacético (**6b**) y de la Indometacina (**6c**).



6a: Ar= Ph
6b: Ar= 3-(*tert*-butilo 1*H*-indol-1-carboxilato)
6c: Ar= 3-((4-chlorofenil) (5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-1-il)metanona

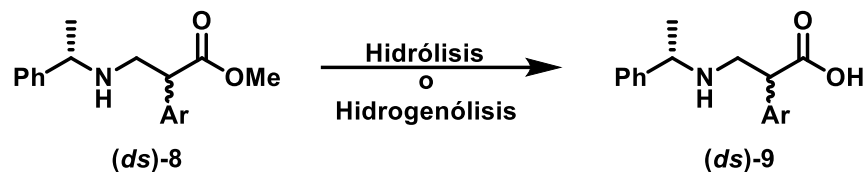
- ❖ Llevar a cabo adiciones tipo Michael de (*S*)-feniletilamina (**7**) sobre **6a**, **6b** y **6c**.



6a: Ar= Ph
6b: Ar= 3-(*tert*-butilo 1*H*-indol-1-carboxilato)
6c: Ar= 3-((4-chlorofenil) (5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-1-il)metanona

(ds)-8a: Ar= Ph
(ds)-8b: Ar= 3-(*tert*-butilo 1*H*-indol-1-carboxilato)
(ds)-8c: Ar= 3-((4-chlorofenil) (5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-1-il)metanona

- ❖ Realizar reacciones de hidrólisis alcalina o hidrogenólisis, a los β^2 -Aril amino ésteres [(*ds*)-**8a-c**] y aislar a los β^2 -Aril aminoácidos racémicos *N*-Boc protegidos [(*ds*)-**9a-c**].

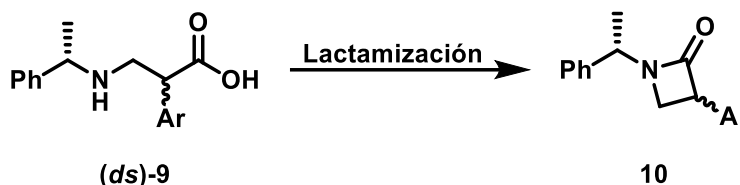


$(ds)-8a$ y $(ds)-9a$: Ar= Ph

$(ds)-8b$ y $(ds)-9b$: Ar= 3-(*tert*-butilo 1*H*-indol-1-carboxilato)

$(ds)-8c$ y $(ds)-9c$: Ar= 3-((4-chlorofenil) (5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-1-il)metanona

- ❖ Desarrollar reacciones de lactamización para el aislamiento de diastereoisómeros correspondientes.



$(ds)-9a$: Ar= Ph

$(ds)-9b$: Ar= 3-(*tert*-butilo 1*H*-indol-1-carboxilato)

$(ds)-9c$: Ar= 3-((4-chlorofenil) (5-metoxi-2-metil-1*H*-indol-1-il)metanona

- ❖ Caracterizar mediante técnicas Espectroscópicas (RMN ^1H , ^{13}C) cada uno de los compuestos sintetizados.
- ❖ Realizar estudios *in silico* (acoplamiento molecular) de los compuestos evaluados sobre los receptores 5-HT_{2A}, así como con otro ligando como lo es la Risperidona y realizar una comparación de los resultados.
- ❖ Llevar a cabo un análisis *in silico* de las propiedades toxicológicas de los compuestos diseñados empleando herramientas quimioinformáticas

CAPÍTULO 5. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

El desarrollo experimental de este proyecto de tesis se encuentra dividido en dos secciones:

- (1) Parte química.
- (2) Parte computacional.

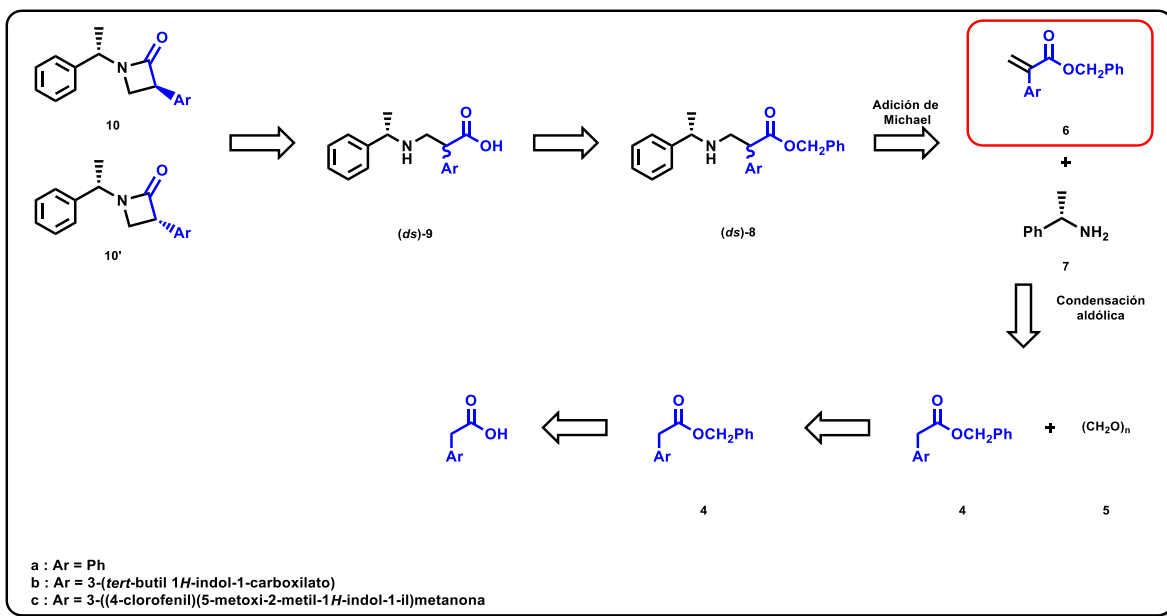
En lo que corresponde a la parte química, relaciona las consideraciones de la síntesis de los compuestos preparados, dicha parte se llevó a cabo en el Laboratorio de Síntesis Asimétrica (L-219) del Centro de Investigaciones Química (CIQ-UAEM), bajo la dirección del Dr. Jaime Escalante García y la asesoría del Dr. Jonathan Román Valdez Camacho. Los análisis espectroscópicos de los compuestos sintetizados se realizaron en colaboración con el área de Resonancia Magnética Nuclear en el Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM).

En lo que refiere a la parte computacional, se realizó en la etapa posterior a la síntesis química de los compuestos propuestos; consta de la realización del acoplamiento molecular sobre el receptor 5-HT_{2A} de los compuestos finales obtenidos, observando interacciones presentadas por los compuestos en respuesta a la interacción ligando-receptor. Dicho acoplamiento se realizó en la Facultad de Farmacia ubicada en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la dirección del Dr. César Millán Pacheco.

5.1 Parte Química

5.1.1 Análisis retrosintético

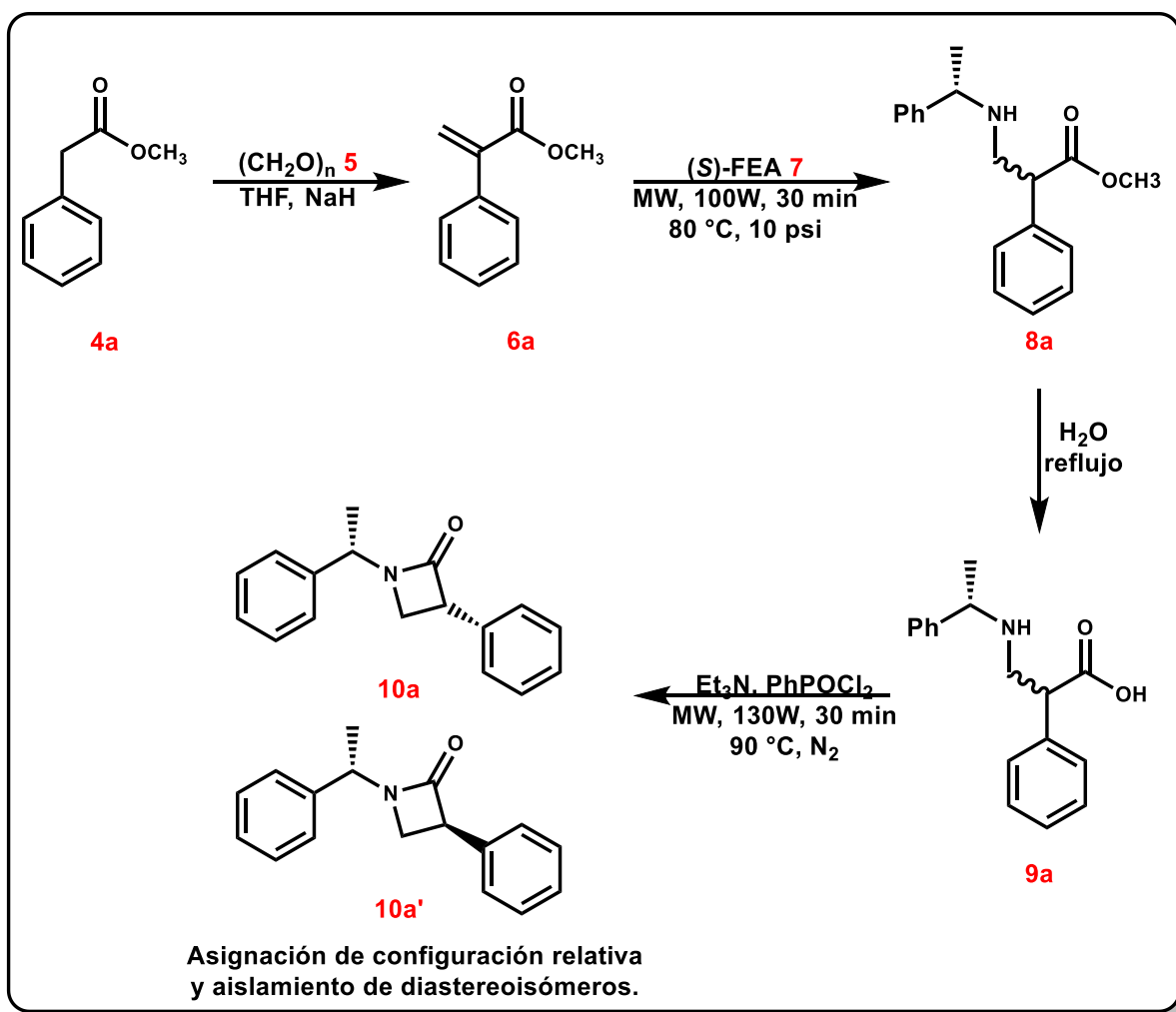
Previo a la síntesis de los compuestos, es de suma importancia realizar un análisis retrosintético. En este método se parte de la molécula de interés realizando una serie de desconexiones para obtener moléculas más sencillas hasta llegar a compuestos de partida comerciales o de fácil acceso, teniendo en cuenta que se requiere del mínimo número de reacciones y de precursores necesarios para obtener el compuesto final, de tal manera que el proceso de síntesis sea aceptable y proporcione rendimientos buenos.⁵⁸ En el **Esquema 7** se muestra el análisis retrosintético para la preparación de los derivados β -lactámicos (**10**), que se logra a través de la lactamización de β^2 -aminoácidos racémicos (**9**), los cuales a su vez son productos hidrólizados/hidrogenolizados (**8**) de adiciones tipo Michael en sistemas α,β -insaturados (**6**) derivados del ácido fenilacético (**3a**), del ácido 3-indolacético (**3b**) y de la Indometacina (**3c**).



Esquema 7. Análisis retrosintético de los compuestos β -lactámicos.

5.1.2 Metodología general para la ruta sintética de las β -lactamas derivadas del ácido fenilacético, 10a-10a'

Para la síntesis de las β -lactamas enantioméricamente puras, se propuso la siguiente ruta que se muestra en el **Esquema 8**. Este método de síntesis partió del fenilacetato de metilo (**4a**) y paraformaldehído (**5**) como agente metilante estable y de fácil manipulación,³³ para dar lugar al 2-fenilacrilato de metilo (**6a**). Los sistemas α,β -insaturados son precursores clave en la síntesis de β -aminoácidos,⁵⁶ ya que puede actuar como aceptores de Michael y por tanto resulta ser una técnica económica y rápida, dando la opción de tener una biblioteca más amplia de intermediarios.

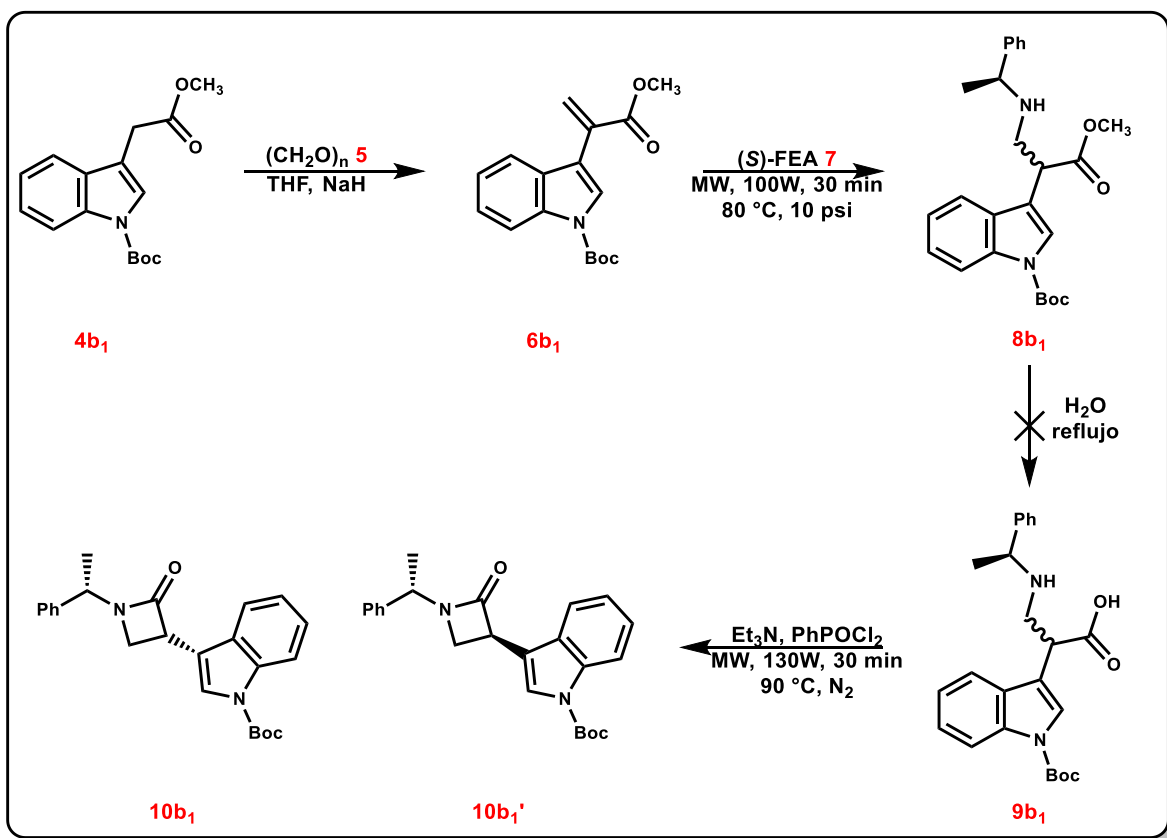


Esquema 8. Estrategia para la preparación de β -lactamas derivadas del fenilacetato de metilo.

A continuación, se efectuó una reacción denominada adición tipo Michael o adición 1,4. Así, se llevó a cabo una adición nucleofílica de la (S)-feniletilamina ((S)-FEA, **7**) sobre el sistema α,β -insaturado (**6a**), dando como producto un par de ésteres metílicos diastereoisoméricos (**8a**), en una proporción 1:1. A continuación, se llevó a cabo una reacción de hidrólisis, lo que dio lugar a la mezcla diastereoisomérica de β -aminoácidos (**9a**). Finalmente, una reacción de lactamización,⁵⁷ usando cloruro de fenilfosforilo como agente activante del ácido carboxílico, nos permitió obtener las β -lactamas, que posterior a su separación cromatográfica se pudieron obtener en forma pura ambos diastereoisómeros. Se caracterizó y asignó la configuración relativa de cada diastereoisómero, a partir de la estructura obtenida por medio de rayos X del diastereoisómero (*S,R*).

5.1.3 Metodología general para la síntesis de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético, $10b_1$ - $10b_1'$ (ruta sintética 1)

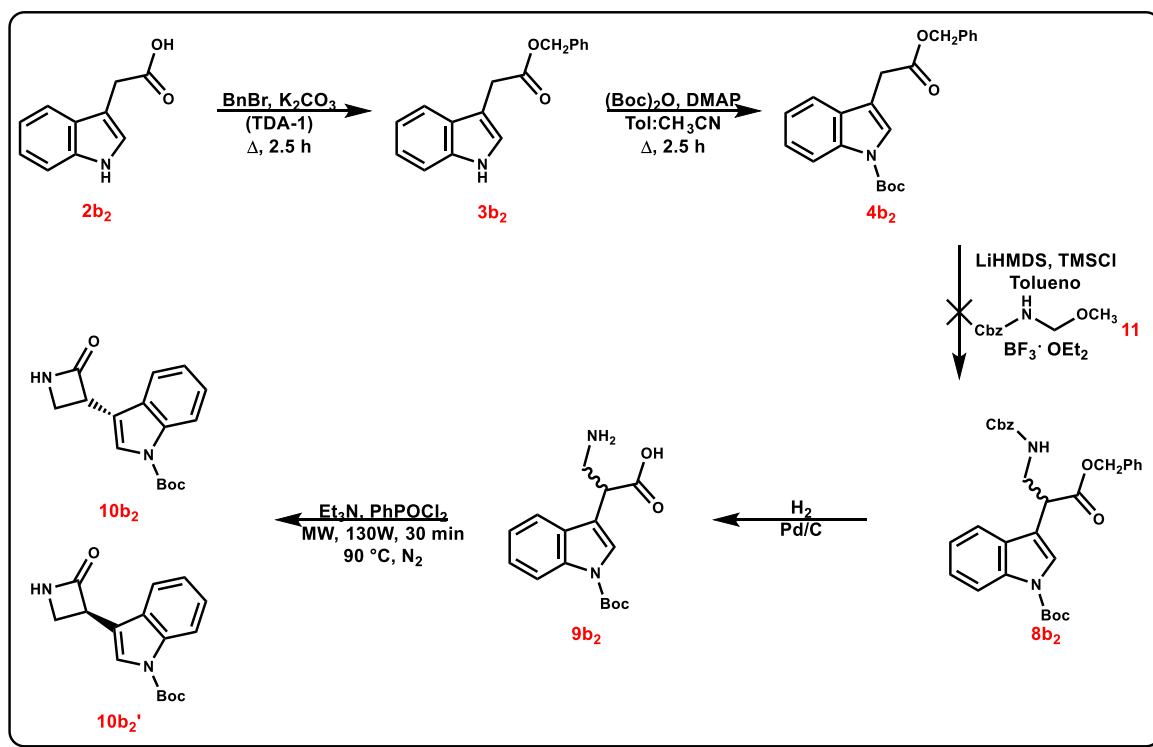
Para la obtención de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético, se propuso una primera ruta de síntesis planteada en el **Esquema 9**. Sin embargo, la imposibilidad de llevar a cabo la reacción de hidrólisis del éster metílico (**8b₁**) motivó un cambio en la ruta de síntesis.



Esquema 9. Estrategia (1) para la preparación de β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético.

5.1.4 Metodología general para la síntesis de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético, 10b₂-10b₂' (ruta sintética 2)

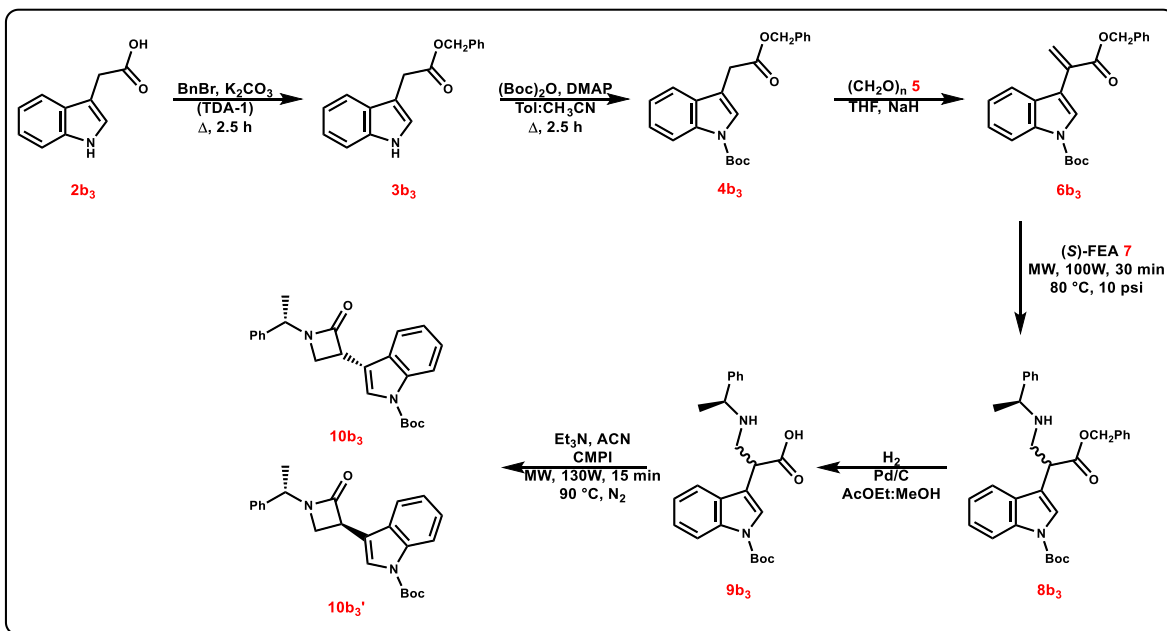
Con la finalidad de tener acceso a las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético, se propuso una segunda estrategia de síntesis (**Esquema 10**). Se realizó la protección de ácido 3-indolacético (**2b₂**) empleando bromuro de bencilo y tolueno como disolvente a reflujo durante 2.5 h, obteniendo así el éster bencilico **3b₂**. A continuación se efectuó la protección de la amina del anillo indol (**3b₂**) con el grupo protector *tert*-butiloxicarbonilo. Se hizo reaccionar el compuesto **4b₂** con el bencil(metoximetil)carbamato (**11**); esta estrategia denominada aminometilación, ha sido empleada previamente por el grupo de investigación con otros sustratos, como el éster bencilico de la Indometacina.⁵⁸ Posteriormente se efectuó una hidrogenólisis de los grupo bencilo, para conseguir los ácidos carboxílicos (**9b₂**) y mediante la lactamización, aislar las β -lactamas. Sin embargo, no fue posible obtener la mezcla de compuestos (**8b₂**), optando por una modificación en la ruta de síntesis.



Esquema 10. Estrategia (2) para la preparación de β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético.

5.1.5 Metodología general para la síntesis de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético, $10b_3$ - $10b_3'$ (ruta sintética 3)

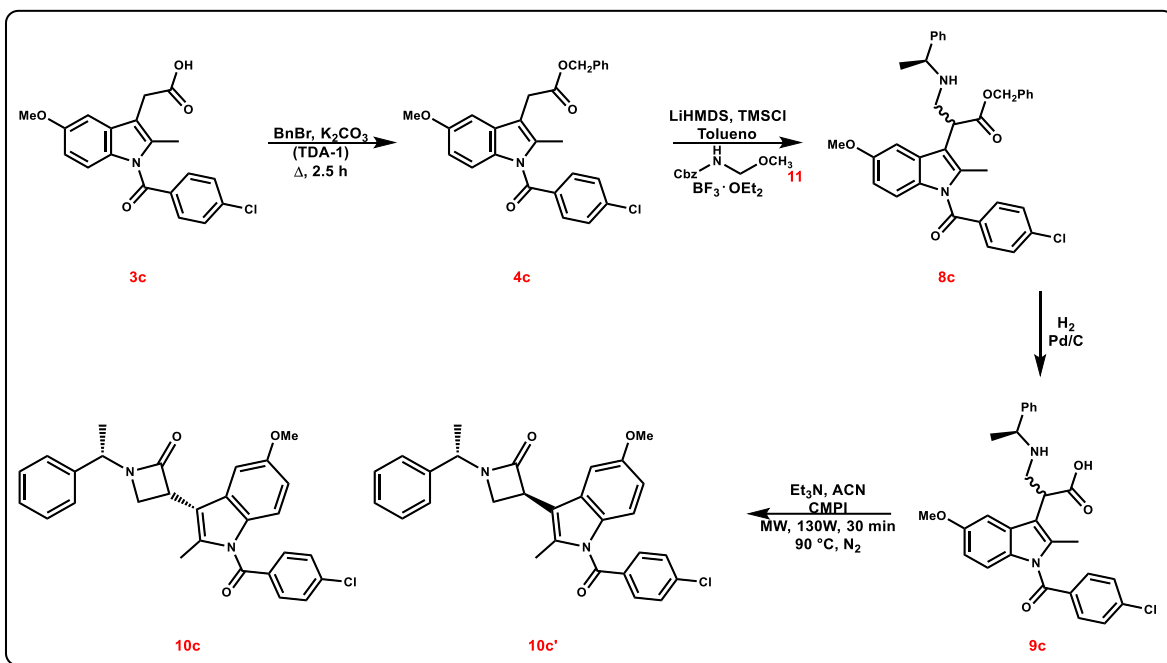
Basado en la ruta sintética 1 de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético con ciertas modificaciones, se planteó la ruta del **Esquema 11**. Se realizó la protección del ácido (**2b₃**), empleando bromuro de bencilo, carbonato de potasio y TDA-1. Seguido de la protección con (Boc)₂O (**4b₃**), haciéndolo reaccionar con paraformaldehído (**5**) para dar lugar al sistema α,β -insaturado (**6b₃**). Mediante una adición de Michael de (S)-feniletilamina al sistema α,β -insaturado, se obtuvieron la mezcla de ésteres (**8b₃**). Para la síntesis de los compuestos (**9b₃**) se realizó una hidrogenación catalítica para reducir el éster bencílico al ácido carboxílico, utilizando Pd/C al 10% como catalizador al 10% y una mezcla de acetato de etilo y metanol como disolvente. Finalmente, para la obtención de las β -lactamas diastereoisoméricamente puras derivadas del ácido 3-indolacético (**10b₃**-**10b₃'**), se realizó una reacción de lactamización usando el reactivo de Mukayama como agente activante del ácido carboxílico. La configuración relativa se asignó mediante experimentos de dos dimensiones de RMN (NOESY, COSY, HMBC, HSQC).



Esquema 11. Estrategia (3) para la preparación de β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético.

5.1.6 Metodología general para la síntesis de las β -lactamas derivadas de la Indometacina, 10c-10c'

La síntesis de las β -lactamas derivadas de la Indometacina, consiste en hacer reaccionar el derivado de la indometacina (éster bencílico, **4c**) con el bencil(metoximetil)carbamato (**11**), en una reacción de aminometilación. Seguido de una hidrogenólisis, para obtener los β -aminoácidos (**9c**), lo cual daría origen a las β -lactamas derivadas de la Indometacina (**Esquema 12**).



Esquema 12. Estrategia para la preparación de β -lactamas derivadas de la Indometacina.

5.1.7 Identificación estructural de los compuestos

A continuación, se enlistan las técnicas empleadas para la caracterización de todas las moléculas sintetizadas durante la realización de este proyecto.

5.1.7.1 Espectroscopia de RMN

Durante los últimos años, la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN), se ha convertido en la técnica indispensable para determinar la estructura de los compuestos orgánicos. Para tener éxito en el uso de RMN como herramienta analítica, es necesario comprender los principios físicos en los que se basan los métodos.

Esta técnica se basa en el carácter magnético de los núcleos con un número impar de protones o neutrones presentes en un átomo (^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P) ya que sus núcleos se comportan como imanes pequeños, los cuales al aplicarles un campo magnético intenso, los niveles nucleares se desdoblán en varios niveles de energía que corresponden a diferentes orientaciones de los espines de los núcleos respecto al campo magnético, en un estado de mínima energía (espín α), mientras que los núcleos con espín negativo se orientan en dirección opuesta a la del campo magnético, en estado de mayor energía (espín β). Cuando una muestra es irradiada brevemente por un pulso intenso de radiación, los núcleos en el estado de espín α son promovidos al estado de espín β . Cuando los núcleos vuelven a su estado inicial emiten señales cuya frecuencia depende de la diferencia de energía entre los estados de espín α y β . El espectrómetro de RMN detecta estas señales y las registra como una gráfica de frecuencias frente a la intensidad.⁵⁹

5.1.7.2 Cristalografía de Rayos X.

La cristalografía de rayos X es una de las técnicas más utilizadas para determinar la estructura tridimensional de compuestos cristalinos. Los rayos X interactúan con la materia a través de los electrones que la constituyen y que a su vez se encuentran en constante movimiento, cuando la radiación electromagnética alcanza a un electrón cargado este se convierte en una fuente de radiación electromagnética secundaria dispersa. Por lo que al incidir un haz de rayos X sobre un cristal, este choca con los átomos haciendo que los electrones que se encuentran en la misma

dirección vibren con una frecuencia idéntica a la de la radiación incidente originando un patrón de difracción, lo cual se observa y se mide tanto la intensidad como la posición de los rayos X difractados mediante el uso de detectores y posteriormente mediante cálculos matemáticos se obtiene una representación de los átomos y moléculas del cristal evaluado.⁶⁰ Se considera una técnica de caracterización no destructiva, ya que se puede recuperar el cristal analizado y no requiere ningún proceso específico de preparación de las muestras para ser analizadas.

5.2 Parte Computacional

5.2.1 Acoplamiento molecular automatizado

Los métodos que relacionan la estructura química con la actividad biológica pueden dividirse en dos grandes categorías:⁶¹ métodos topológicos/estadísticos y métodos de modelado molecular.

En la aproximación topológica, sólo se tiene en cuenta la estructura química plana de la molécula y se utilizan técnicas estadísticas o de reconocimiento de patrones para encontrar las relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR, Quantitative Structure-Activity Relationships, en inglés). En los métodos de modelado molecular, se consideran las propiedades de las moléculas en tres dimensiones, lo que proporciona una información espacial esencial para comparar moléculas y estudiar la interacción entre ligandos y receptores;⁶² este no es exclusivo de estudios encaminados al diseño de nuevos fármacos, sino también a áreas de investigación como la ingeniería de proteínas o la química de polímeros.

El acoplamiento molecular automatizado consiste en buscar la conformación y posición óptima de un ligando (molécula orgánica) dentro de una diana molecular (enzima, transportador, canal iónico o un receptor acoplado a proteína G). En la actualidad el acoplamiento molecular es especialmente útil para proponer modelos de unión, pero aún no son muy confiables para calcular con precisión la energía de las interacciones.⁶³ Por otro lado, es una herramienta que nos permite determinar el modo de unión de un ligando con su receptor, el cual consiste en una serie de interacciones de tipo Van der Waals, electrostáticas, hidrofóbicas y uniones por puentes de hidrógeno. Se considera un instrumento novedoso, el cual se lleva a cabo cuando se tiene la estructura del ligando y receptor, determinada comúnmente por cristalografía de rayos X⁶⁴ o bien mediante modelos predictivos.

Para llevar a cabo el acoplamiento molecular se requiere del uso de una serie de programas computacionales especializados, como lo son los utilizados en este proyecto:

- A. Maestro.** Es un software de simulación química de última generación para su uso en investigación farmacéutica, biotecnológica y de ciencia de los materiales. Es una plataforma innovadora y completa que integra soluciones de primera clase para el modelado predictivo, análisis de datos y permitir la exploración rápida del espacio químico.⁶⁵

- B. AutoDock Vina.** Software para acoplamiento molecular y cribado virtual. Permite predecir la unión no covalente, de una macromolécula (receptor) y una molécula pequeña (ligando) de manera eficiente. La predicción de la unión de moléculas pequeñas a proteínas es de particular importancia porque se usa para seleccionar bibliotecas virtuales de moléculas similares a fármacos, con el objetivo de obtener pistas para el desarrollo de fármacos.⁶⁶
- C. Chimera.** Programa altamente extensible para la visualización interactiva y el análisis de estructuras moleculares y datos relacionados, incluidos mapas de densidad, ensamblajes supramoleculares, alineaciones de secuencias, resultados de acoplamiento, trayectorias y conjuntos conformacionales. Se pueden generar imágenes y animaciones de alta calidad.⁶⁷
- D. MarvinSketch.** Es un software que presenta un amplio conjunto de funcionalidades para permitir el dibujo rápido y preciso de compuestos químicos, reacciones, estructuras y moléculas de consulta. Además, tiene comprobadores de valencia para proporcionar orientación y calculadoras de propiedad integradas para obtener resultados *in vivo*.⁶⁸

5.2.2 Reglas de Lipinski en el diseño de nuevos compuestos bioactivos

Las reglas de Lipinski permiten estimar una predicción de la absorción y la solubilidad del compuesto a partir de las propiedades fisicoquímicas de la molécula.

Los procesos de diseño y optimización de fármacos han permitido establecer, de modo empírico, que la mayor parte de los fármacos que son administrados por vía oral, presentan ciertas similitudes en determinados parámetros fisicoquímicos y estructurales. Lo cual dio origen a las reglas de Lipinski o regla de los 5, debido a la relación de múltiplos de 5 que han de cumplir las propiedades consideradas. Así, la correlación de algunas de sus propiedades fisicoquímicas o químicas ha permitido determinar estadísticamente que los fármacos con un mejor perfil de absorción oral, relacionado con su capacidad para atravesar membranas lipídicas, son aquellos que presentan un buen balance entre el peso molecular, la solubilidad en lípidos, la solubilidad en agua y su polaridad.⁶⁹

Las reglas de Lipinski se consideran en la actualidad un buen criterio predictivo para la selección de moléculas con utilidad terapéutica en los procesos de búsqueda de nuevos fármacos, ya que con base en ellas se establece que los compuestos propuestos tendrán propiedades fisicoquímicas ideales, teniendo mayor probabilidad de aprobar los ensayos clínicos. A continuación, se enlistan los

postulados presentados por el químico farmacéutico Christopher A. Lipinski, en donde se considera a un compuesto, que presente más de 2 violaciones a cualquiera de los postulados, como un compuesto con problemas de absorción y permeabilidad celular.⁵⁸

1. Peso molecular (PM) menor a 500 g/mol.
2. Número de donadores de puentes de hidrógeno (OH, NH) menor o igual a 5, (Suma de -OH y -NH en la molécula).
3. Número de aceptores de puentes de hidrógeno (O, N) menor o igual a 10. (Suma de -O y -N en la molécula).
4. Log P calculado (c Log P) menor a 5.

Los compuestos que no violan alguno de los postulados propuestos por Lipinski, se consideran como potenciales fármacos que presentarán buena biodisponibilidad al ser absorbidos por difusión pasiva.

Estas propiedades pueden ser calculadas de manera predictiva por diversos programas, entre ellos destaca, el programa computacional molinspiration,⁷⁰ el cual presenta una amplia gama de herramientas quimioinformáticas, que permiten el cálculo de diversas propiedades moleculares, como las reglas de Lipinski mencionadas anteriormente, permitiendo entonces determinar si una molécula tendrá problemas de permeabilidad celular.

5.2.2.1 Molinspiration (Cheminformatics)

Molinspiration ofrece una amplia gama de herramientas de software de quimioinformática que admiten la manipulación y el procesamiento de moléculas, la normalización de moléculas, la generación de tautómeros, la fragmentación de moléculas, el cálculo de diversas propiedades moleculares necesarias en QSAR, el modelado molecular y el diseño de fármacos, la representación de moléculas de alta calidad, herramientas de bases de datos moleculares que admiten subestructura y búsquedas de similitud.

También ofrece servicios para el cálculo de propiedades moleculares importantes (logP, área de superficie polar, número de donantes y aceptores de enlaces de hidrógeno y otros), así como la predicción de la puntuación de bioactividad para los objetivos farmacológicos más importantes (Ligandos GPCR, inhibidores de quinasas, moduladores de canales iónicos, receptores nucleares) (**Figura 12**).⁷⁰

molinspiration
cheminformatics

Molinspiration Cheminformatics Software

Molinspiration offers broad range of cheminformatics software tools supporting molecule manipulation and processing, including SMILES and SDFfile 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

Calculation of Molecular Properties

Molinspiration supports internet chemistry community by offering free on-line services for calculation of important molecular properties (logP, polar surface area, number of hydrogen bond donors and acceptors and others), as well as prediction of bioactivity score for the most important drug targets (GPCR ligands, kinase inhibitors, ion channel modulators, nuclear receptors). **Number of molecules processed per month exceeds 80,000!**

More than 4500 Citations in Scientific Papers!

Molinspiration software is used by hundreds of cheminformatics experts in industry and academia to produce high-quality scientific results. According to the Google Scholar our tools are more than 4500 times cited! Check the (incomplete) list of publications produced with help of our software.

Molinspiration Molecule Viewer

Molinspiration Molecule Viewer allows visualization of collection of molecules encoded as SMILES or SDFfile. SMILES is automatically transformed into molecule 2D representation by our depiction engine. Display of associated data, selection of molecules, built-in substructure search and export of selected molecules is supported. Viewer is written in Java, therefore is platform independent and may be used on any computer where the Java runtime is installed. **Ask for free evaluation now!**

Figura 12. Servidor en línea Molinspiration (<https://www.molinspiration.com/>).

5.2.3 AdmentSAR: Predicción de las propiedades de absorción, distribución, metabolismo, eliminación y toxicidad

Las propiedades ADMET juegan un papel muy importante en el descubrimiento de nuevos fármacos. Por lo cual AdmentSAR, es una herramienta útil para la predicción de estas propiedades de posibles candidatos a fármacos.

En su base de datos existen más de 210, 000 datos de propiedades de aproximadamente 96, 000 compuestos, los cuales son recopilados, seleccionados y gestionados continuamente de la literatura publicada.

AdmetSAR es accesible de forma gratuita (<http://www.admetexp.org>), la base de datos incluye 22 clasificaciones cualitativas y 5 modelos de regresión cuantitativa con una precisión altamente predictiva, lo que permite estimar las propiedades de absorción, distribución, metabolismo, eliminación y toxicidad de nuevos productos químicos (Figura 13).⁷¹



Figura 13. Programa computacional AdmetSAR (Immd.ecust.edu.cn).

CAPÍTULO 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

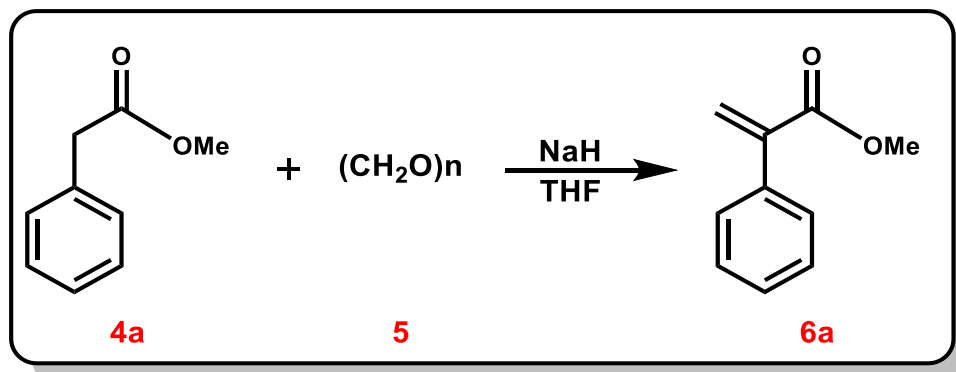
6.1 Parte Química

Se realizó la síntesis de 15 compuestos, los cuales se encuentran divididos en β -lactamas derivadas del ácido fenilacético y β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético.

6.1.1 Síntesis de las β -lactamas derivadas de ácido fenilacético

6.1.1.1 Síntesis del 2-acrilato de metilo, 6a

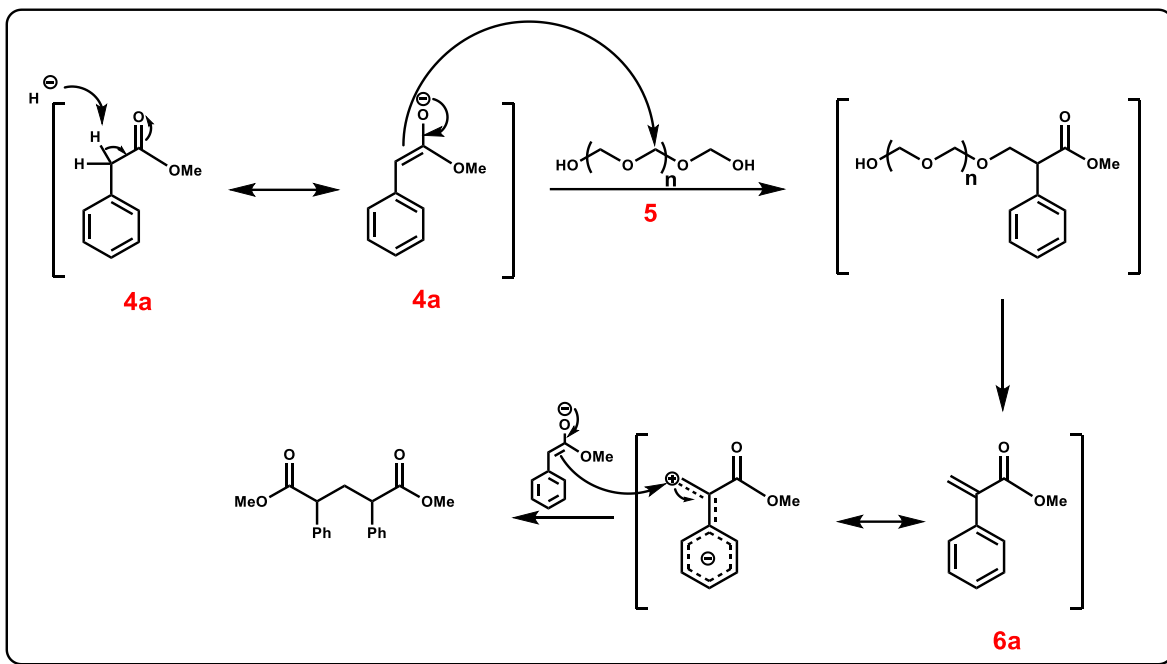
Una forma tradicional de preparar acrilatos de metilo ha sido a través de una estrategia diseñada en el grupo de investigación, vía una reacción de condensación aldólica. Tal como se muestra en el **Esquema 13**, se realizó la síntesis del sistema α,β -insaturado **6a**; se hizo reaccionar la materia prima **4a** con paraformaldehído (**5**) empleando hidruro de sodio como base y tetrahidrofurano como disolvente, sin embargo, bajo estas condiciones sólo se pudo aislar el producto **6a** en un 35.2% de rendimiento.



Esquema 13. Síntesis del 2-fenilacrilato de metilo, **6a**.

Este bajo rendimiento se puede explicar debido a que cuando se extrae el átomo de hidrógeno ácido alfa al carbonilo con la base, se convierte en un ión enolato, el enolato **4a** lleva a cabo una sustitución nucleofílica sobre el paraformaldehído,

obteniendo un intermediario. Dependiendo de la cantidad de **4a**, la reacción puede generar el compuesto **6a** a través de una eliminación beta, y posteriormente puede ocurrir la adición tipo Michael del enolato **4a** en **6a** para obtener un compuesto de doble adición como ha sido reportado (**Esquema 14**).⁷²



Esquema 14. Mecanismo de reacción que explica la formación del 2-feniacrilato de metilo, **6a** y su producto de auto-adición de Michael.

El tiempo estándar para completar esta reacción fue de 20 minutos. Se llevó a cabo la purificación del compuesto **6a** por cromatografía en columna en un sistema isocrático (9:1) Hex:AcOEt, obteniendo un aceite incoloro viscoso; este fue caracterizado espectroscópicamente empleado las técnicas de RMN ^1H y ^{13}C .

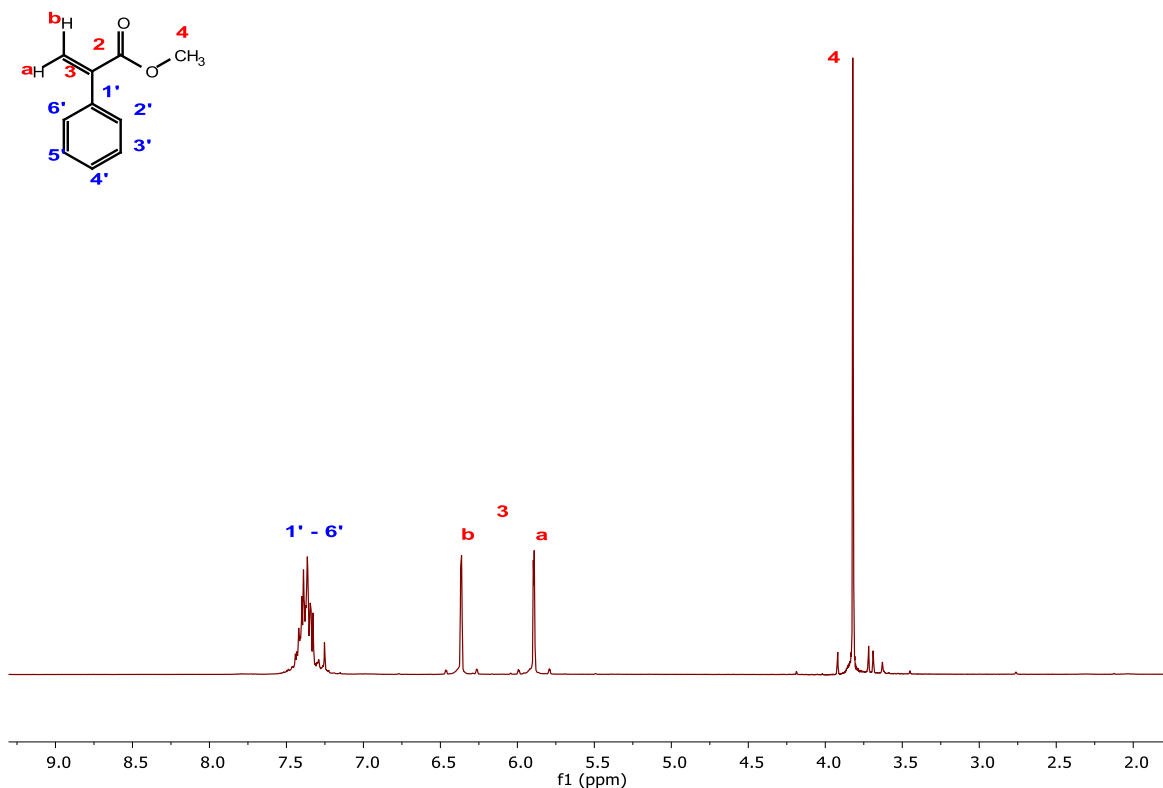


Figura 14. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del compuesto **6a**.

En la **Figura 14** se observa una señal simple en 3.71 ppm correspondientes a los hidrógenos del grupo metoxilo, dos señales dobles a 5.79 y 6.26 ppm correspondientes a los hidrógenos del metileno de la posición a ($J_{gem}=1.2$ Hz) y b ($J_{gem}=1.2$ Hz), y una señal multiplete correspondiente a hidrógenos aromáticos en 7.18-7.39 ppm.

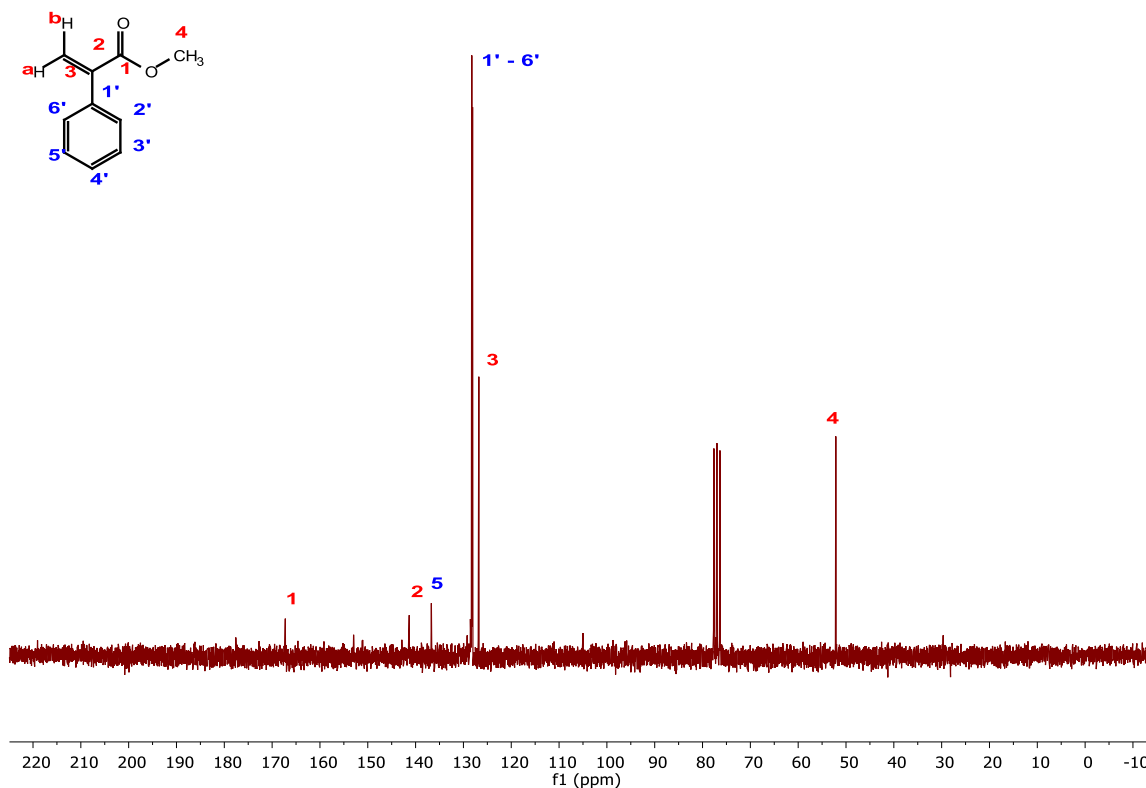
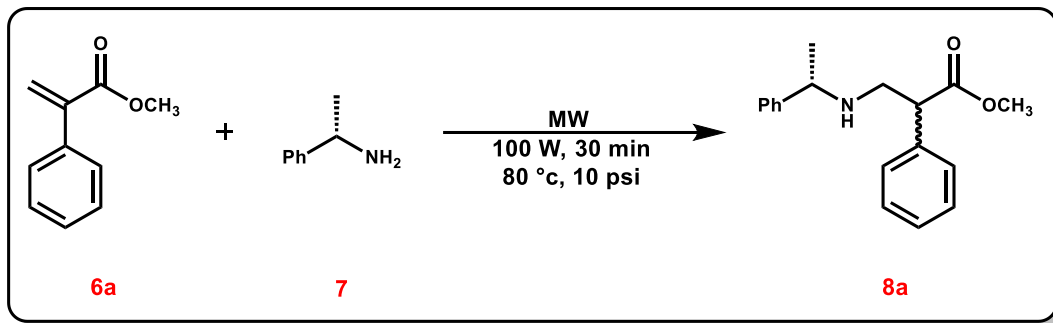


Figura 15. Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 200 MHz) del compuesto **6a**.

En la **Figura 15** correspondiente al espectro de RMN de ^{13}C se observa el carbono del metoxilo aproximadamente en 52.3 ppm, el carbono del carbonilo del éster en 167.3 ppm, una señal correspondiente al carbono 2 en 141.4 ppm, el carbono del metileno en 126.8 ppm y finalmente señales a 128.2, 128.3, 128.4 136.8 correspondientes a los carbonos del anillo aromático.

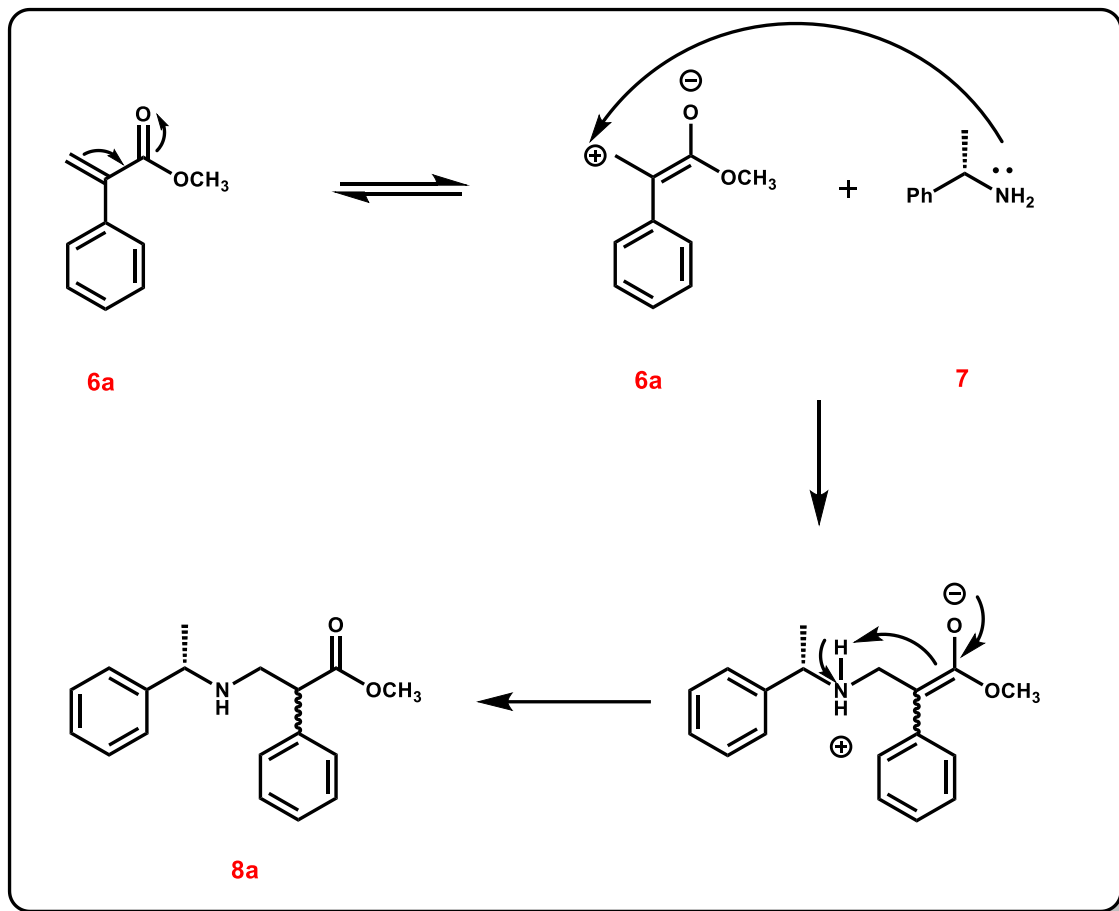
6.1.1.2 Síntesis de la mezcla diastereoisomérica (*S,S*) y (*S,R*) del 2-fenil-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propanoato de metilo, **8a**

Para la obtención de los diastereoisómeros de **8a**, se hizo reaccionar el compuesto **6a** con la (*S*)-feniletilamina (**7**) mediante una adición de tipo Michael o adición 1,4, asistida por microondas bajo las siguientes condiciones: Sistema cerrado, temperatura de 80 °C, potencia de 100W, presión de 10 psi y 1 ciclo de 30 min (**Esquema 15**). Se obtuvo un aceite amarillo claro con un rendimiento del 50.3%.



Esquema 15. Síntesis diastereoisomérica del 2-fenil-3-((S)-N-feniletilamino)propanoato de metilo, **8a**.

La (S)-feniletilamina ataca al carbono β , debido a que al establecer el equilibrio ceto-enol, el carbono β tiene una carga formal positiva, mientras que el oxígeno del carbonilo tiene una carga parcial negativa, por lo que se favorecerá el ataque nucleofílico al carbono β (**Esquema 16**).



Esquema 16. Mecanismo de reacción que explica la formación del 2-fenil-3-((S)-N-feniletilamino)propanoato de metilo, **8a**.

En este caso el carbono beta presenta una hibridación sp^2 , por lo que hay una probabilidad prácticamente del 50% de que la adición fuera por la cara *Si* y 50% de que fuera por la cara *Re*. Debido a que no se pudieron separar por TLC los dos diastereoisómeros, no fue posible asignar la configuración del nuevo centro estereogénico formado.

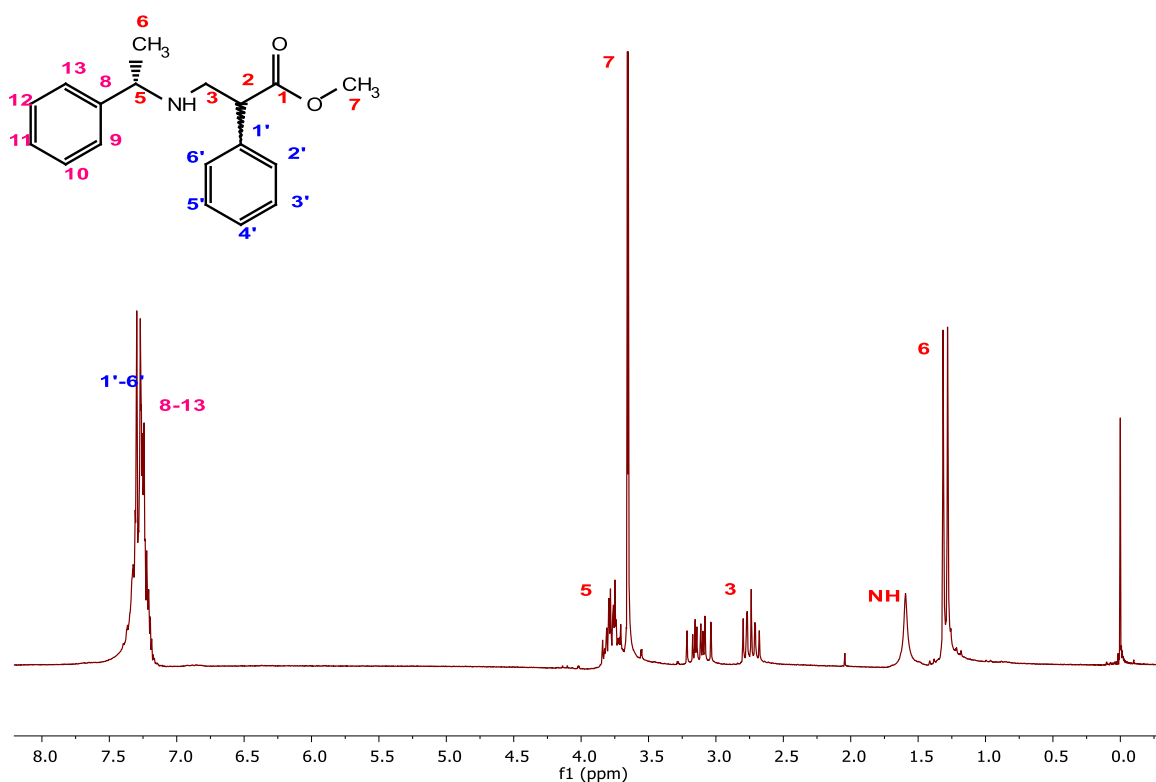
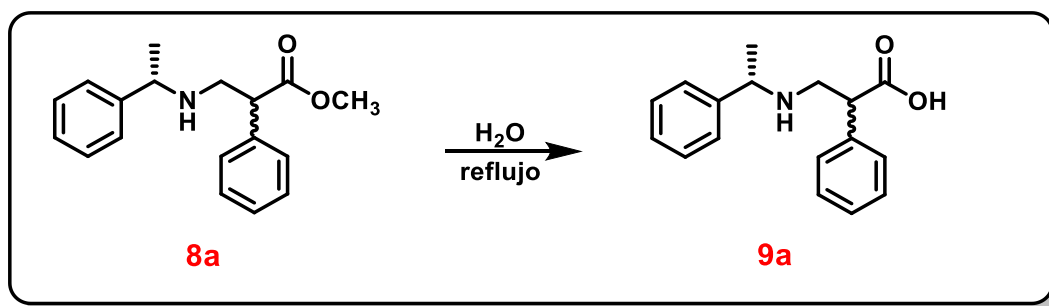


Figura 16. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) de la mezcla diastereoisomérica del compuesto **8a**.

En la **Figura 16** correspondiente al espectro de RMN de ^1H se observan las señales características de la mezcla diastereoisomérica del compuesto **8a**, las señales se encuentran traslapadas y con integral doble debido a la mezcla diastereoisomérica. Se observan los hidrógenos característicos del metilo de la (*S*)-feniletilamina desplazados a 1.30 ppm como una señal doble ($J = 6.6$ Hz), una señal simple amplia en 1.59 ppm correspondiente al hidrógeno de la amina, aparecen dos señales características de los hidrógenos diastereotópicos beta al carbonilo en 3.13 ppm (*dddd*, $J = 15.0, 12.0, 8.7, 1.0$ Hz) y 2.14 ppm (*dddd*, $J = 12.0, 6.4, 5.5, 1.0$ Hz), una señal doble en 3.65 ppm (*d*, $J = 1.2$ Hz) correspondiente a los hidrógenos de los metoxilos del éster y finalmente una señal multiplete correspondiente al metileno de la (*S*)-feniletilamina desplazado a 3.76 ppm.

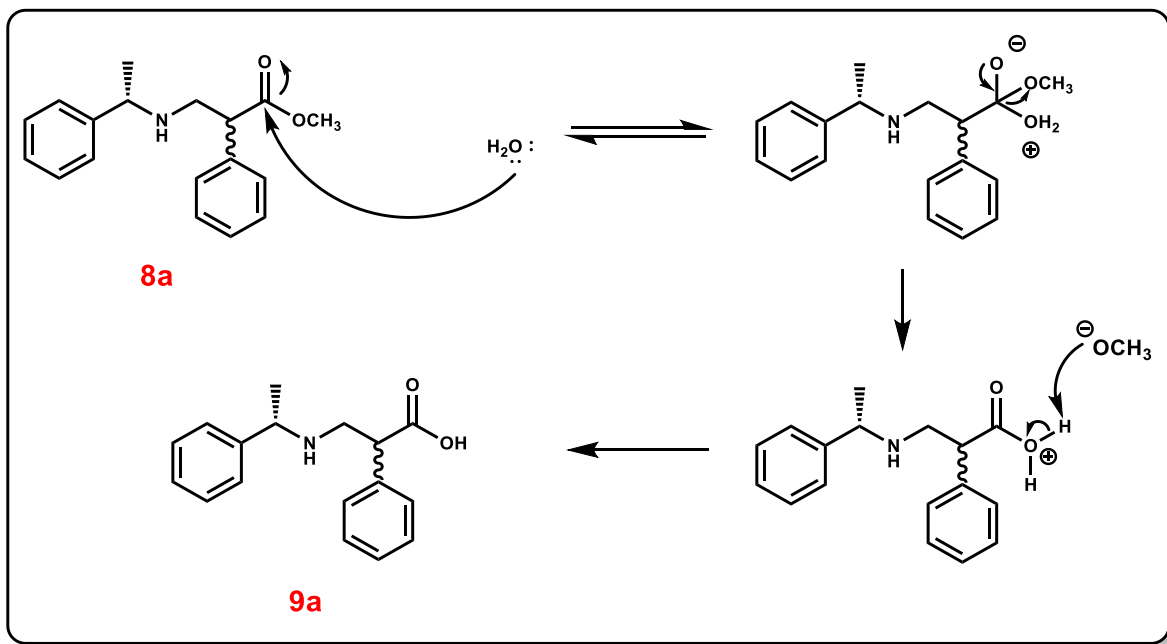
6.1.1.3 Síntesis diastereoisomérica (*S,S*) y (*S,R*) del ácido 2-fenil-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propanoico, **9a**

Posteriormente se realizó la hidrólisis del éster previamente sintetizado, empleado agua como disolvente a reflujo durante 4 h.⁷³ El crudo de reacción no necesita de purificación por lo que se recuperó un sólido blanco con un rendimiento del 84% y una temperatura de descomposición de 179-181 °C (**Esquema 17**).



Esquema 17. Síntesis diastereoisomérica (*S,S*) y (*S,R*) del ácido 2-fenil-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propanoico, **9a**.

El mecanismo transcurre mediante un mecanismo de adición/eliminación. En una primera etapa se adiciona el grupo hidróxi al carbonilo del éster, y en la segunda etapa se produce la eliminación de metóxido. Los ésteres se hidrolizan lentamente ya que poseen grupos salientes muy básicos y además el agua es un nucleófilo débil (**Esquema 18**).



Esquema 18. Mecanismo de reacción que explica la formación de los diastereoisómeros (*S,S*) y (*S,R*) del ácido 2-fenil-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propanóico, **9a**.

A continuación, se muestra su espectro de ^1H y ^{13}C .

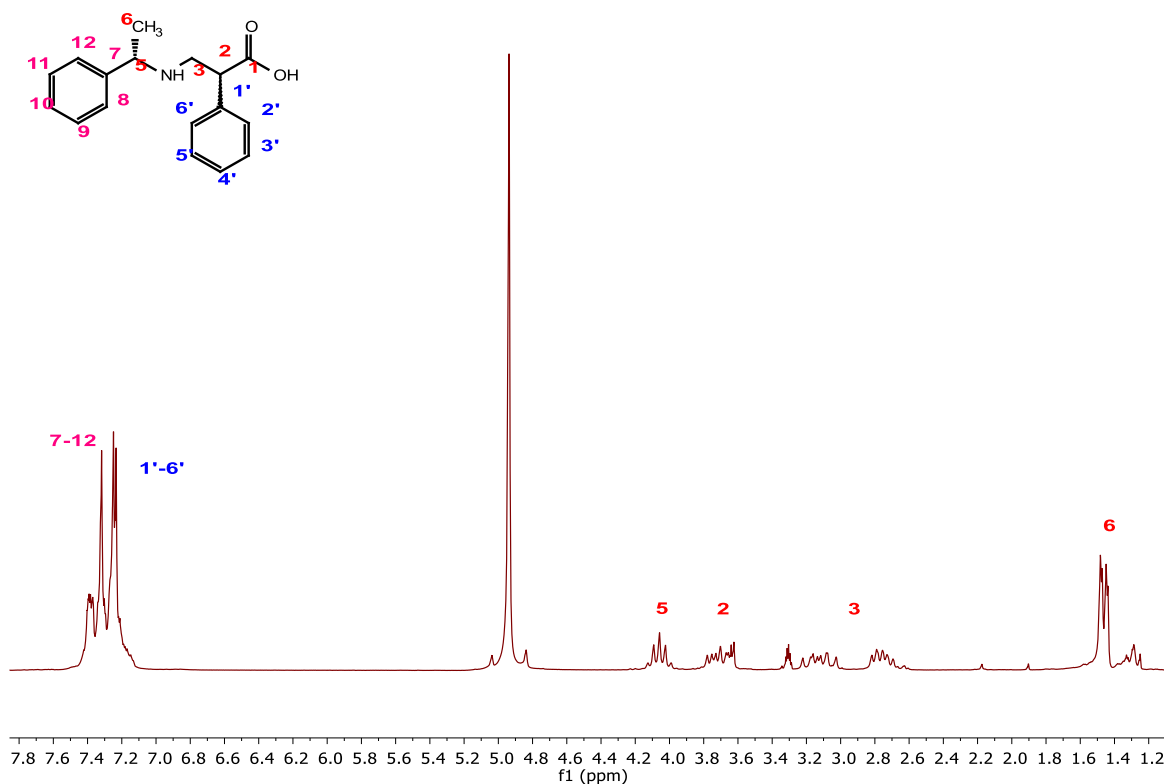


Figura 17. Espectro de RMN de ^1H (CD_3OD , 200 MHz) de los diastereoisómeros (*S,S*) y (*S,R*) del compuesto **9a**.

En la **Figura 17** correspondiente al espectro de RMN de ^1H se observan las señales características del ácido **9a**, nuevamente las señales se encuentran traslapadas para ambos diastereoisómeros y con integral doble; ya no es posible observar la señal característica del grupo metoxilo del éster a 3.65 ppm. Se observan las señales de los hidrógenos del metilo de la (*S*)-feniletilamina en 1.49 ppm.

En la **Figura 18** correspondiente al espectro de RMN de ^{13}C es posible observar señales características del derivado **9a**.

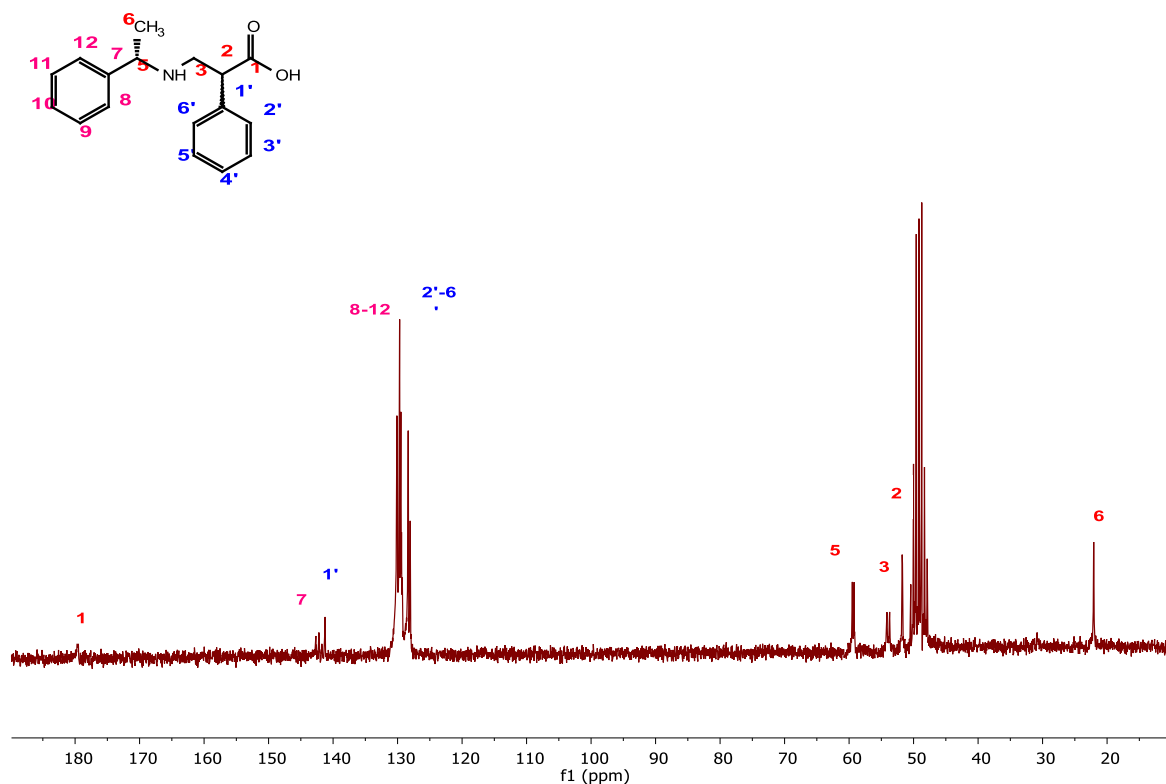
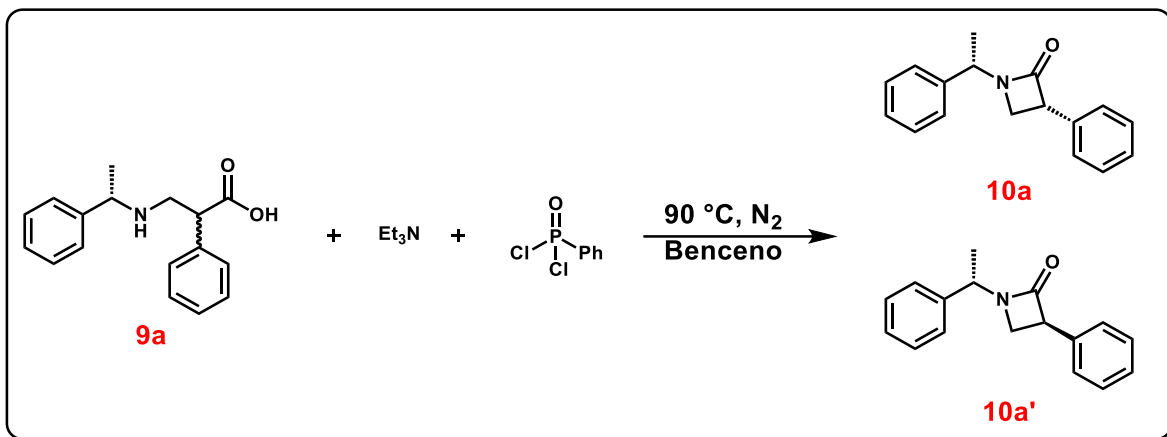


Figura 18. Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 200 MHz) del compuesto **9a**.

6.1.1.4 Síntesis diastereoisomérica (*S,S*) y (*S,R*) de 3-fenil-1-((*S*)-*N*-feniletiletidín-2-ona, **10a** – **10a'**

Una vez obtenido el β -aminoácido **9a** se procedió a realizar la síntesis asistida por microondas (**Esquema 19**), este fue disuelto en benceno y purgado con N_2 , posteriormente se añadió gota a gota Et_3N y cloruro de fenilfosforilo, todo esto bajo las siguientes condiciones: Sistema abierto, temperatura de $90\text{ }^\circ\text{C}$, potencia de 130W y 1 ciclo de 30 min. Al terminar el tiempo de reacción se observó la formación de las β -lactamas, la reacción tuvo un 44% de rendimiento.



Esquema 19. Lactamización para la identificación de diastereoisómeros.

Los compuestos se purificaron por cromatografía en columna en un sistema de gradiente (95:5 → 7:3 Hex:AcOEt), se recuperaron dos sólidos, los cuales difieren en su R_f observable en cromatografía en capa fina (TLC) y fueron clasificados como “diastereoisómero más polar” para aquel que tiene un R_f mayor y “diastereoisómero menos polar” para aquel que tiene R_f menor (**Figura 19**).

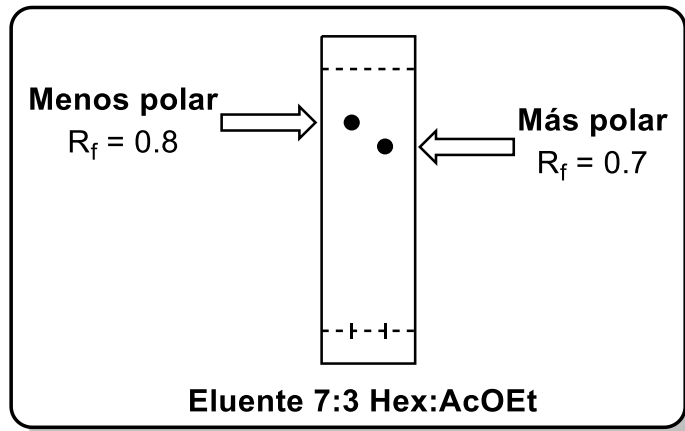


Figura 19. TLC para las β -lactamas diastereoisoméricas.

El diastereoisómero más polar se recuperó como un sólido ceroso blanco con un punto de fusión de 49-51 °C y una rotación óptica ($[\alpha]_D^{20}$ en CH_2Cl_2) de -128.5 °. El diastereoisómero menos polar se recuperó en forma de agujas cristalinas con un punto de fusión de 64-65 °C y una rotación óptica de -24.82 °, ya que presentaba características apropiadas para ser difractado por rayos X se conoció la configuración relativa (**Figura 20, (1)**).

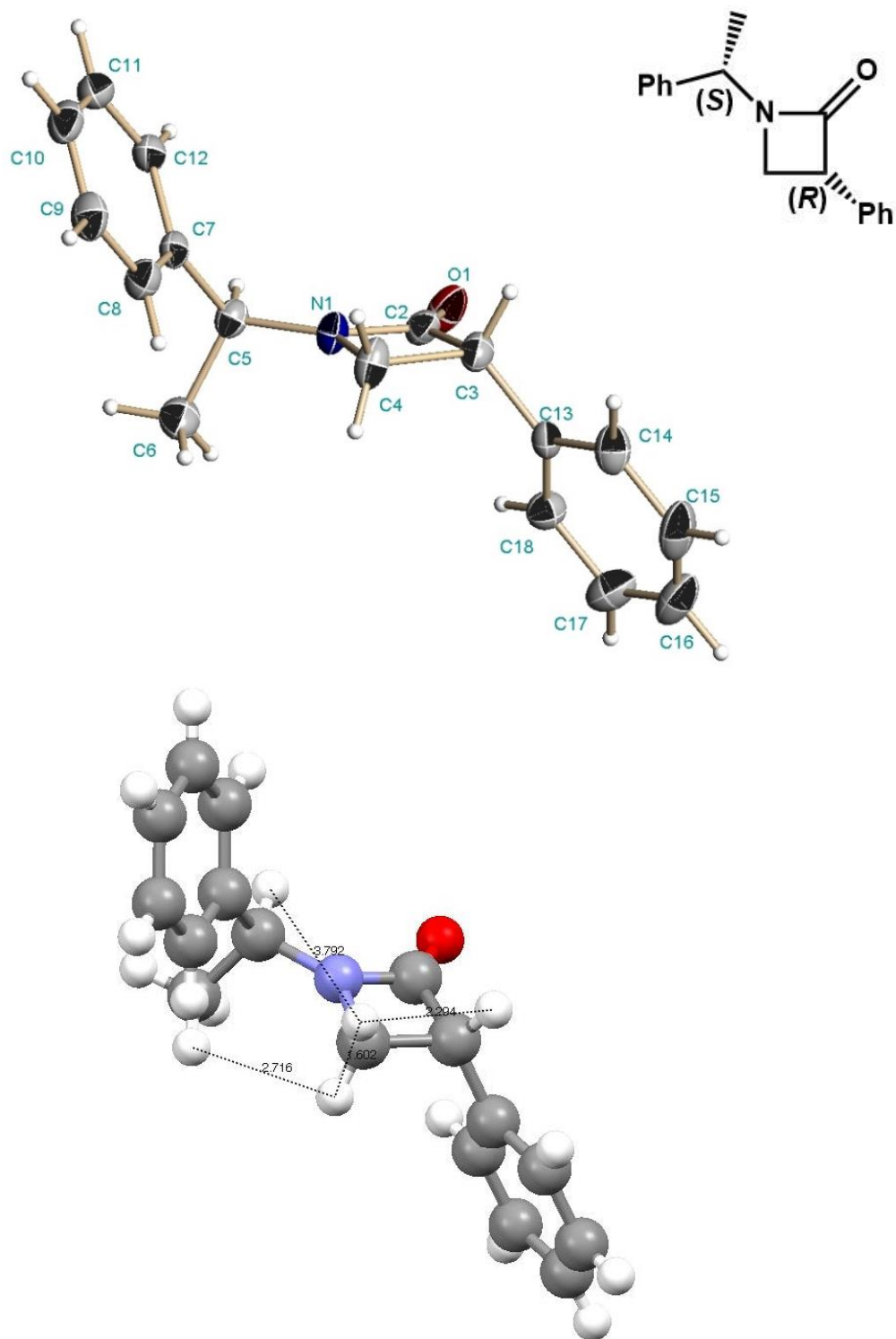


Figura 20. (1) Estructura molecular en la estructura cristalina de la β -lactama menos polar, (2) Distancia entre hidrógenos.

Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C muestran señales características de las β -lactamas derivadas del ácido fenilacético, únicamente difieren en la señal de los hidrógenos diastereotópicos del carbono beta al carbonilo. En el diastereoisómero más polar, los hidrógenos diastereotópicos aparecen a 3.15 ppm (dd , $J = 5.4$, 2.6 Hz) y 3.65 ppm (t , $J = 5.4$ Hz) (**Figura 21**), mientras que en el diastereoisómero menos polar aparecen a 3.35 ppm (dd , $J = 5.4$, 2.6 Hz) y 3.45 ppm (t , $J = 5.4$ Hz) (**Figura 22**).

A través del experimento NOESY, es posible estimar las correlaciones que existen espacialmente entre protones que se encuentran en un rango de 2-3.5 Å. En la **Figura 20, (2)** se puede observar a una distancia de 1.602 Å a los hidrógenos diastereotópicos de la β -lactama, mostrando así la correlación entre estos, sería posible observar una segunda correlación entre el hidrógeno diastereotópico orientado hacia el frente y el hidrógeno del carbono asimétrico ya que se encuentra a una distancia de 2.394 Å, sin embargo, no es posible observar una correlación entre el hidrógeno diastereotópico orientado hacia el frente y el hidrógeno α al anillo β -lactámico dado que se encuentran a una distancia de 3.792 Å, excediendo así la distancia máxima para observar una correlación en el experimento NOESY. Finalmente se podría observar una correlación entre el hidrógeno diastereotópico orientado hacia abajo y los hidrógenos del metilo de la (S)-feniletilamina puesto que se encuentran a una distancia de 2.716 Å.

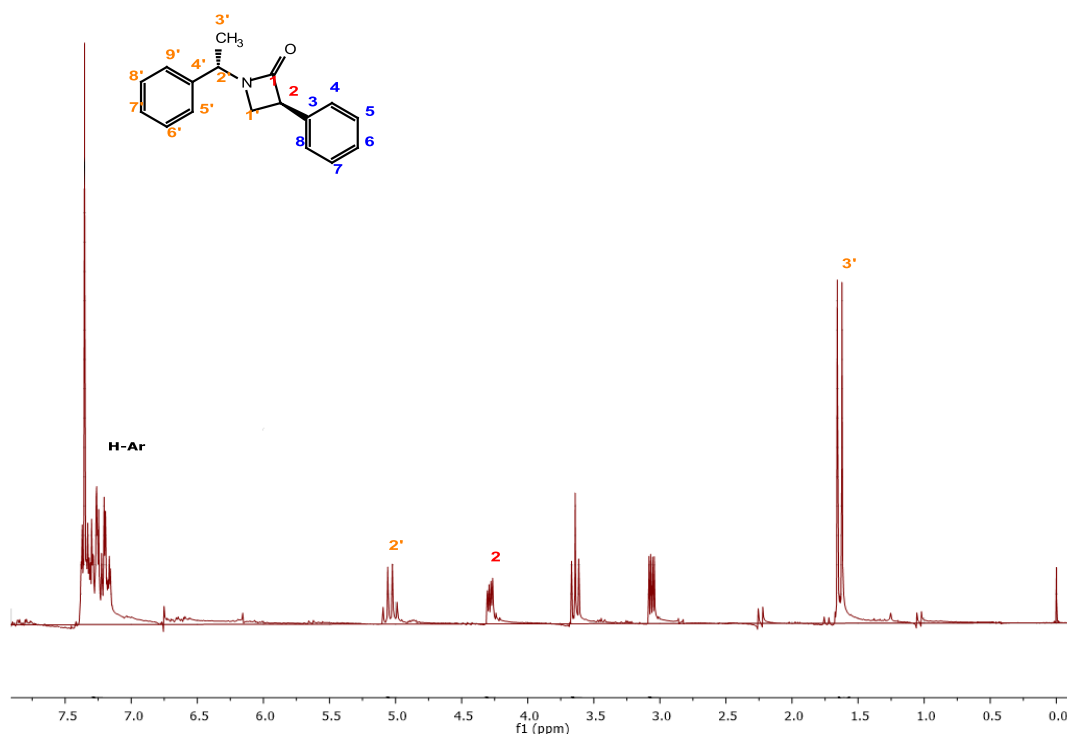


Figura 21. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del diastereoisómero más polar.

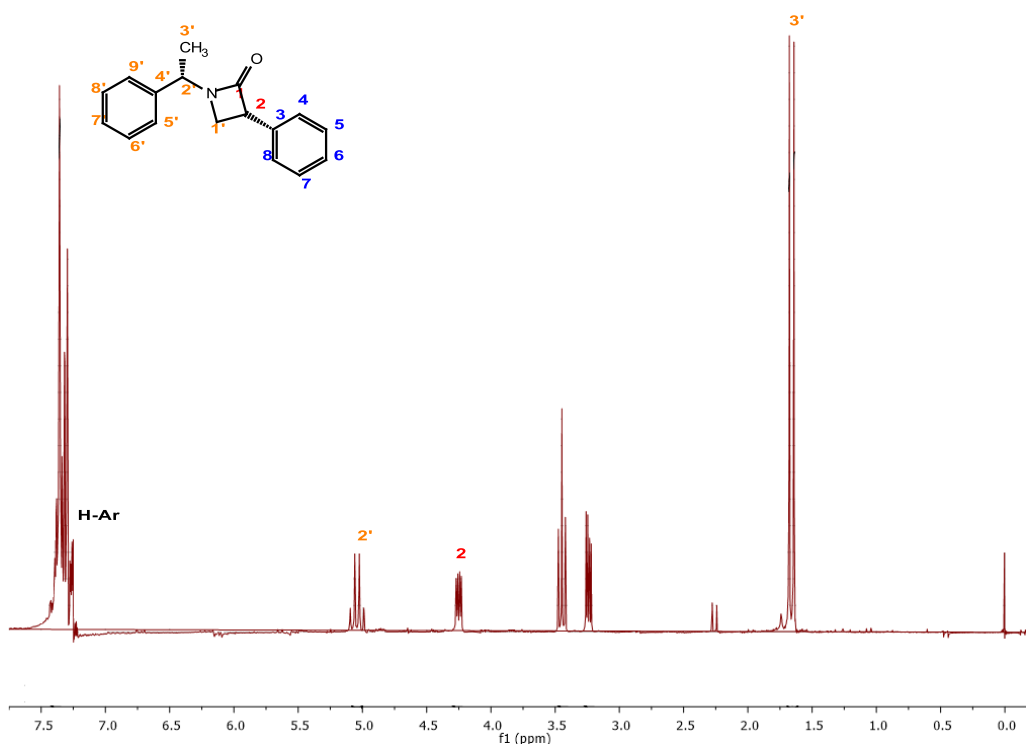
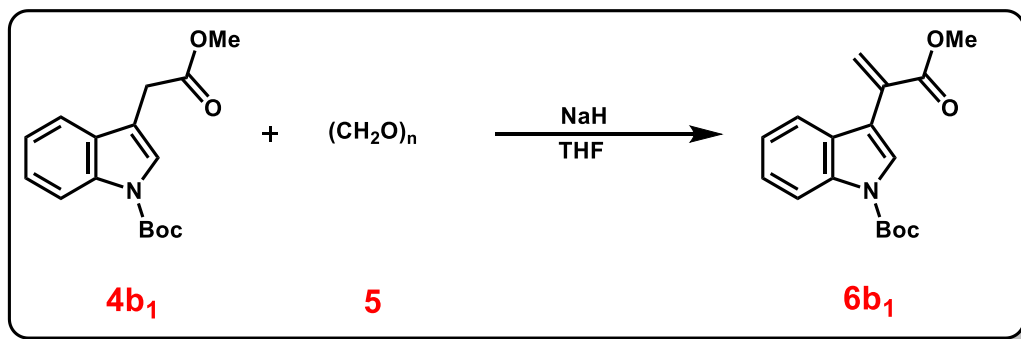


Figura 22. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del diastereoisómero menos polar.

6.1.2 Síntesis de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético (primera ruta de síntesis)

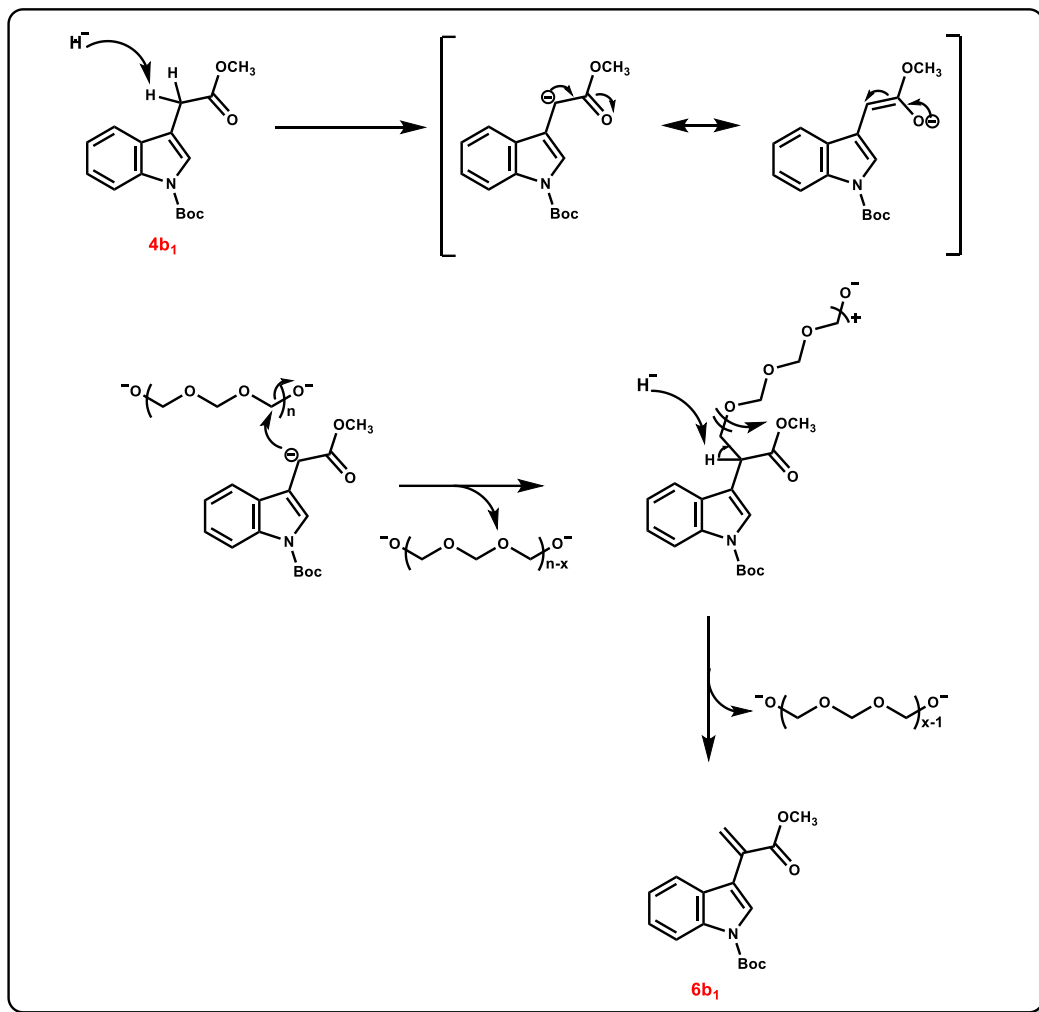
6.1.2.1 Síntesis del 3-(3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo, **6b₁**

La síntesis de este derivado se realizó siguiendo la metodología general planteada en el **Esquema 13**, sin embargo, el sustrato que se hizo reaccionar fue el éster metílico *N*-Boc protegido derivado del ácido 3-indolacético **4b₁** (**Esquema 20**).⁷⁴



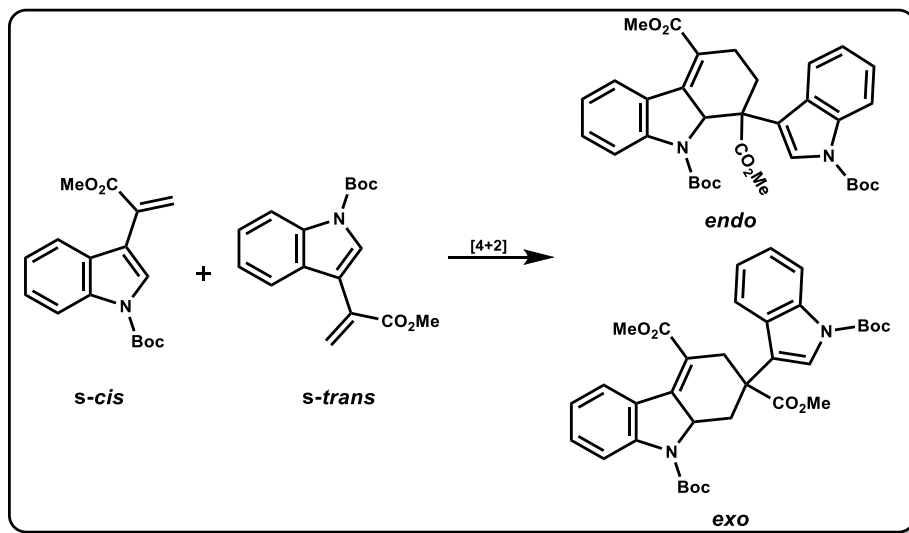
Esquema 20. Síntesis del 3-(3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1-*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo, **6b₁**.

El mecanismo propuesto va a través de la desprotonación del éster metílico *N*-Boc protegido **6b₁** al mismo tiempo que la del paraformaldehído por acción del ión hidruro (**Esquema 21**). A continuación, el enolato formado ataca nucleofílicamente a un metileno de la cadena polimérica del paraformaldehído, una vez adicionada en la posición alfa al carbonilo, ocurre un segundo ataque nucleofílico por los iones hidruro presentes en exceso. Este ataque se da por un equivalente de ión hidruro, el cual abstrae el protón ácido alfa al carbonilo restante, desplazándose entonces la cadena polimérica del paraformaldehído y finalmente el par de electrones del enlace C-H escindido se incorpora, obteniendo el compuesto **6b₁**.⁷⁴



Esquema 21. Mecanismo que explica la formación del derivado α,β -insaturado *N*-Boc protegido, **6b₁**.

Esta ruta de síntesis permitió aislar el derivado α,β -insaturado *N*-Boc protegido con un rendimiento bajo del 29.8%, esto es debido a que, sí el compuesto **6b₁** se somete a calor, presenta una dimerización tipo Diels-Alder entre las conformaciones *s-cis* y *s-trans* que produce el derivado de tetrahidrocarbazol como se muestra en el **Esquema 22**.⁶³



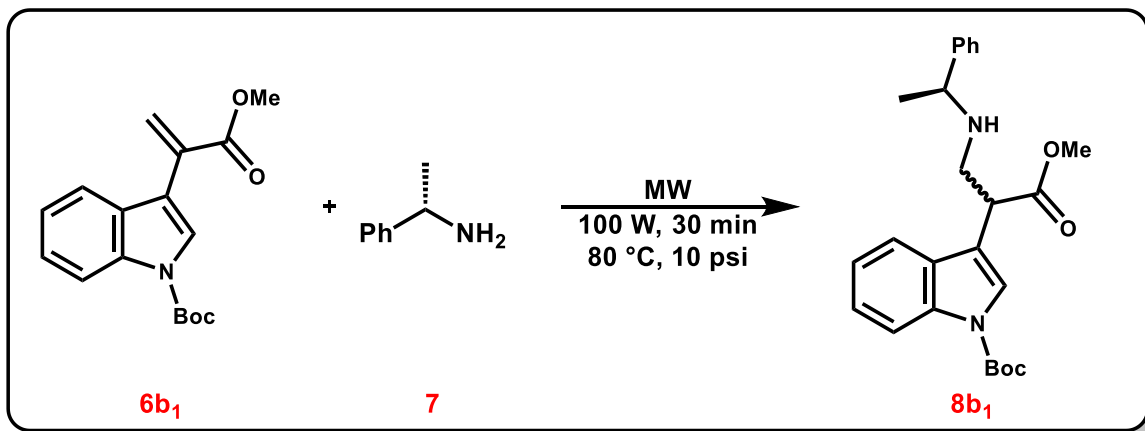
Esquema 22. Reacción Diels-Alder espontánea del derivado **6b₁**.

La caracterización espectroscópica del derivado **6b₁** se confirmó tras ver la desaparición el RMN ¹H de la señal que integra para dos protones correspondientes al metileno alfa al carbonilo en la región de 4.0 - 3.5 ppm y la aparición de dos nuevas señales en la región de 5.85 - 6.37 ppm correspondientes a los protones del metileno beta.

6.1.2.2 Adición tipo Michael de la (*S*)-feniletilamina al derivado α,β -insaturado *N*-Boc protegido, **8b₁**

La reacción se llevó a cabo mediante la adición nucleofílica de la (*S*)-feniletilamina sobre el sistema α,β -insaturado, bajo las mismas condiciones que el **Esquema 15**.

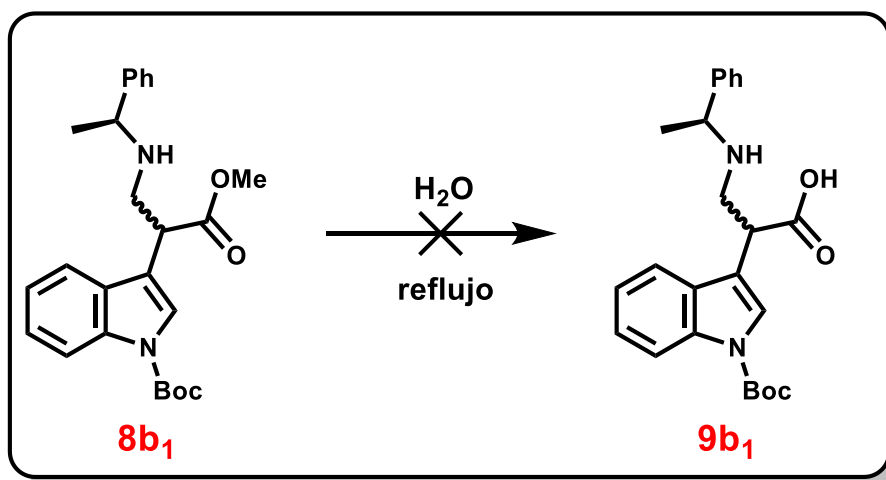
Ya que el éster metílico α,β -insaturado *N*-Boc protegido **6b₁**, se encuentra soportado en disolvente para evitar la dimerización, se evaporó el disolvente en frío (26 °C), posteriormente se hizo reaccionar con la (*S*)-feniletilamina (**7**) mediante una adición de tipo Michael asistida por microondas bajo las siguientes condiciones: Sistema cerrado, temperatura de 80 °C, potencia de 100W, presión de 10 psi y 1 ciclo de 30 min (**Esquema 23**). Se obtuvo un aceite amarillo claro con un rendimiento del 39.4%.



Esquema 23. Condiciones de reacción para la adición de Michael de la (*S*)-feniletilamina (**7**) al derivado **6b₁**.

6.1.2.3 Síntesis diastereoisomérica del ácido 2-(1-*tert*-butoxicarbonil-1*H*-indol-3-il)-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propanóico, **9b₁**

Para la síntesis del compuesto **9b₁**, se llevó a cabo una reacción de hidrólisis del éster metílico previamente obtenido (**Esquema 24**), el cual se disolvió en agua, se dejó reaccionar a temperatura de reflujo durante 7 h, siendo monitoreada por CCF, observando la descomposición del producto.



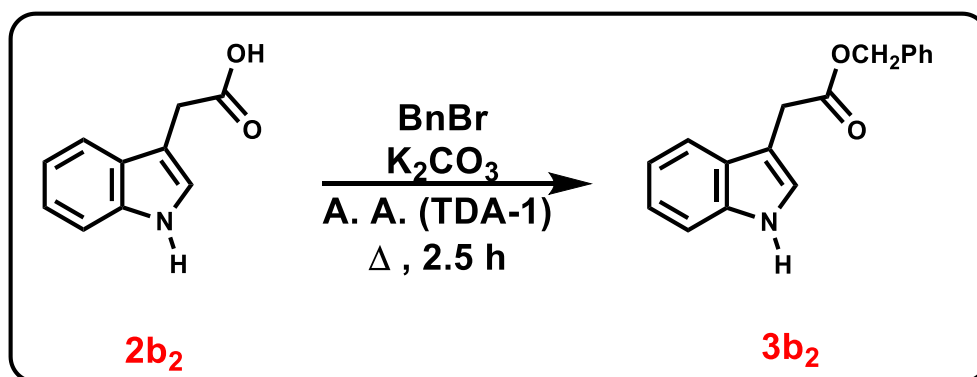
Esquema 24. Síntesis diastereoisomérica del ácido (*S*)-2-[(*N*-*tert*-butoxicarbonil)indoil]-3-((*N*-bencilmetilamino)propanóico, **9b₁**.

Por lo tanto, no fue posible obtener el producto de interés siguiendo la metodología propuesta, ya que se sufría una desprotección de la amina y posteriormente la descomposición del producto, optando por realizar un cambio en la metodología empleada.

6.1.3 Síntesis de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético (segunda ruta de síntesis)

6.1.3.1 Síntesis del 2-(1*H*-indo-3-il)acetato de bencilo, **3b₂**

La siguiente reacción consistió en llevar a cabo una sustitución nucleofílica bimolecular (S_N2), del ácido 3-indolacético **2b₂** sobre el bromuro de bencilo, empleando carbonato de potasio como base, tolueno como disolvente y TDA-1 como agente de intercambio de fase, tal como se muestra en el **Esquema 25**.



Esquema 25. Síntesis del 2-i(1*H*-indol-3-il)acetato de bencilo, **3b₂**.

Se logró observar buenos rendimientos (83.8%) bajo estas condiciones, el tiempo estándar fue de 2.5 horas. El producto de interés fue purificado por cromatografía en columna y caracterizado espectroscópicamente empleando las técnicas de RMN ¹H y ¹³C (**Figura 23**).

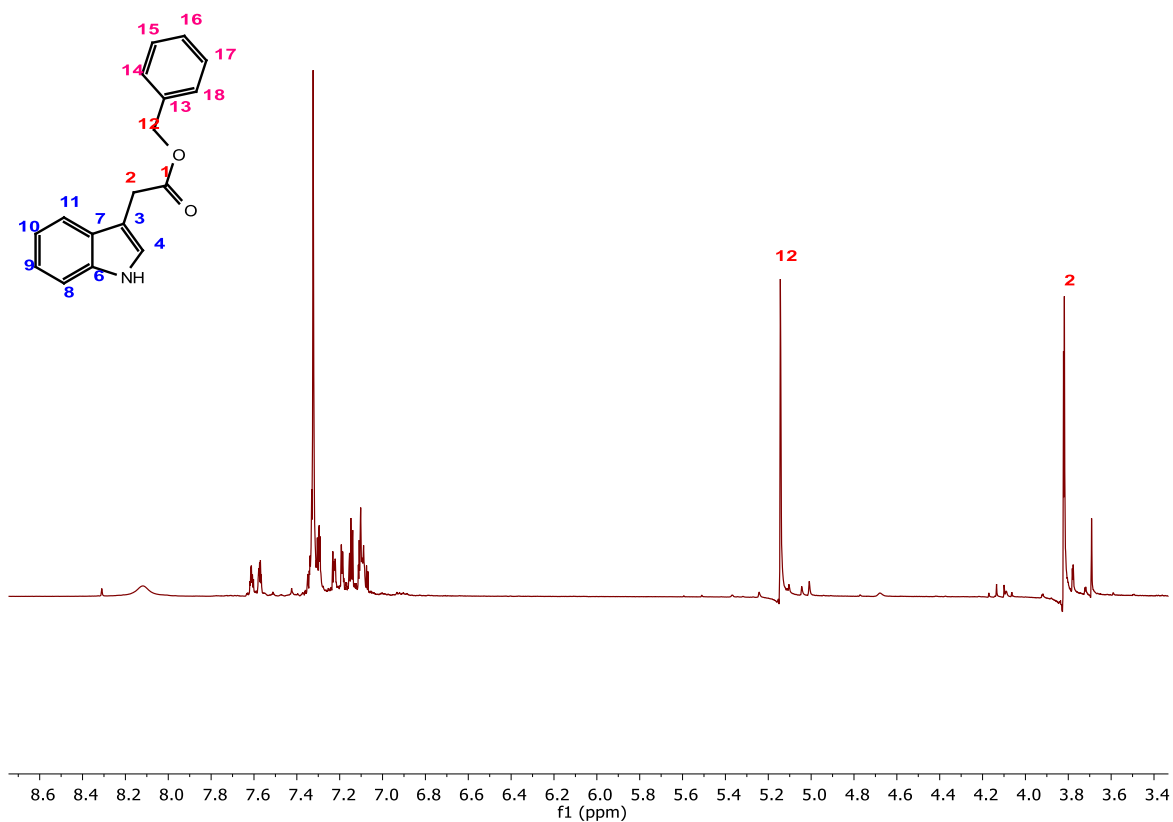
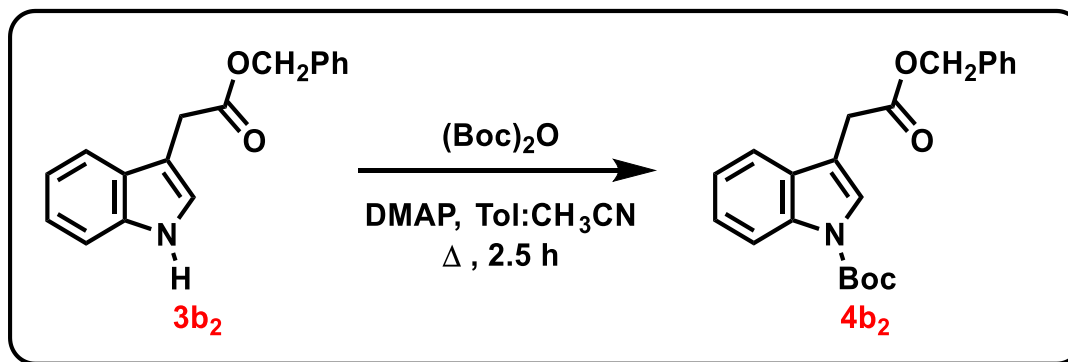


Figura 23. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del éster bencílico derivado del ácido 3-indolacético.

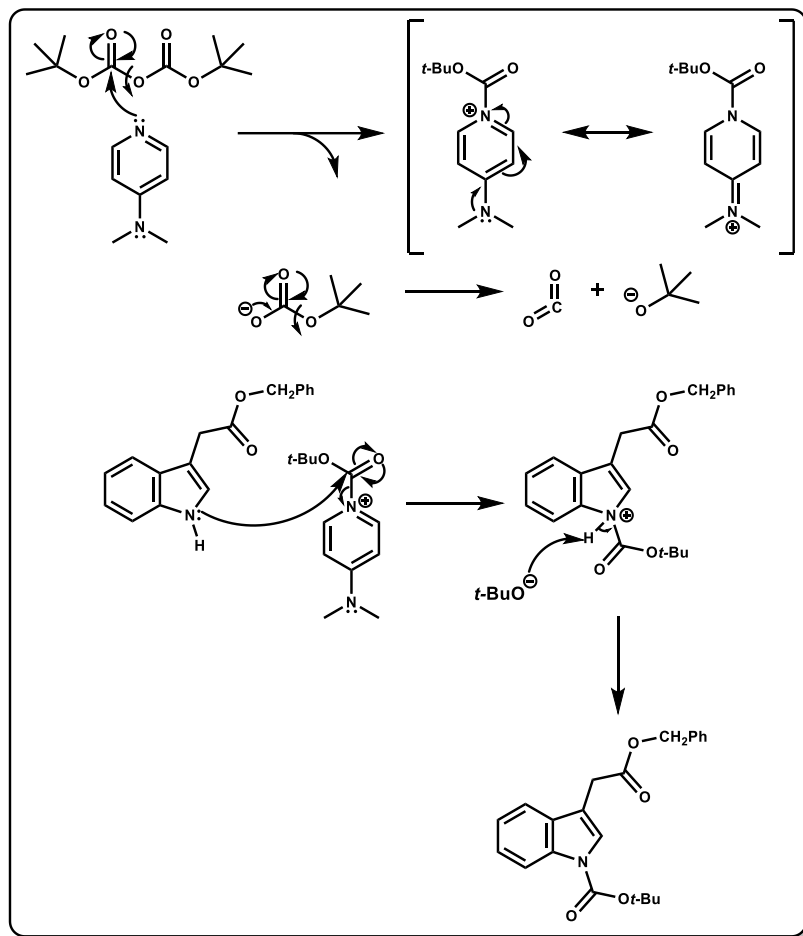
6.1.3.2 Síntesis de 3-(2-benciloxi-2-oxoetil)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo, **4b₂**

La síntesis de este derivado se realizó según las condiciones que se muestran en el **Esquema 26**.



Esquema 26. Síntesis de 3-(2-benciloxi-2-oxoetil)-1H-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo, **4b₂**.

El mecanismo inicia al hacer reaccionar DMAP con *tert*-butil dicarbonato, generando así una especie activada. A continuación, la especie activada es atacada nucleofílicamente por el átomo de nitrógeno del anillo indol, seguido de la desprotonación del intermediario *N*-protegido (**Esquema 27**).



Esquema 27. Mecanismo de reacción para la obtención del derivado *N*-Boc protegido.

La aparición de una señal que integra para nueve protones a 1.66 ppm correspondiente al grupo *tert*-butilo en el espectro de RMN ^1H , confirmaron la obtención de dicho derivado (**Figura 24**).

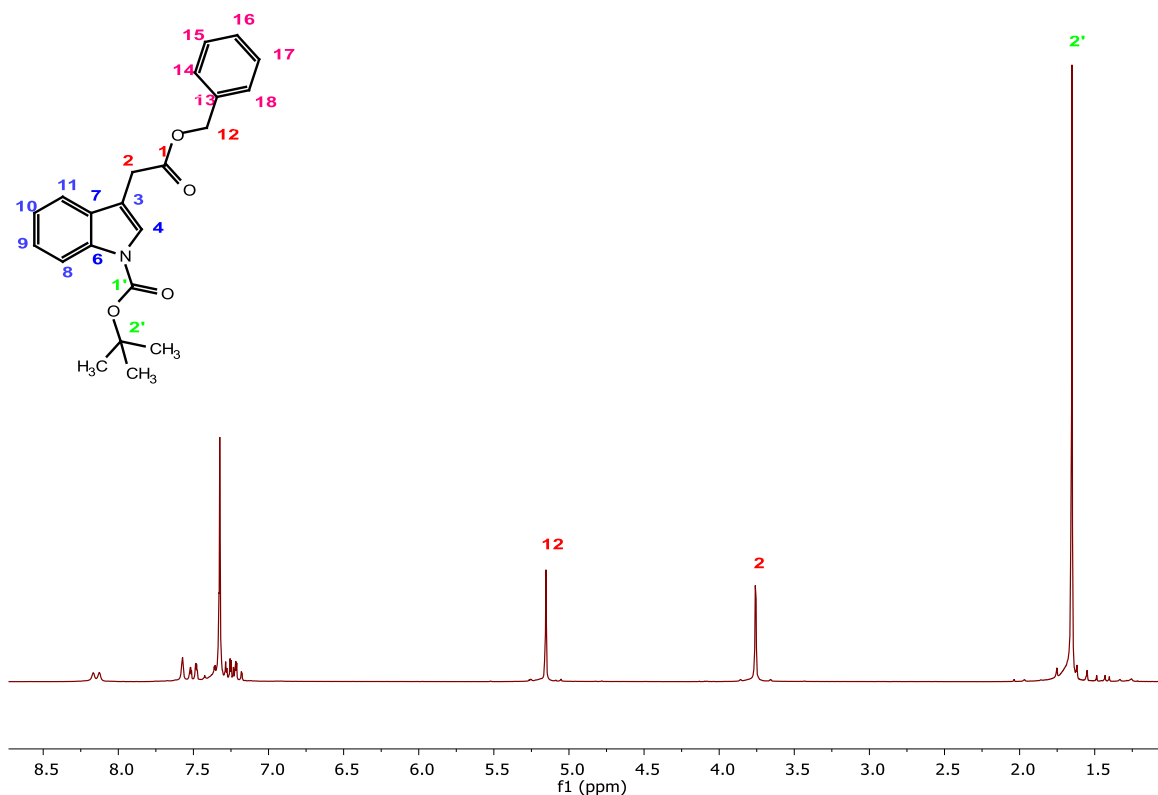
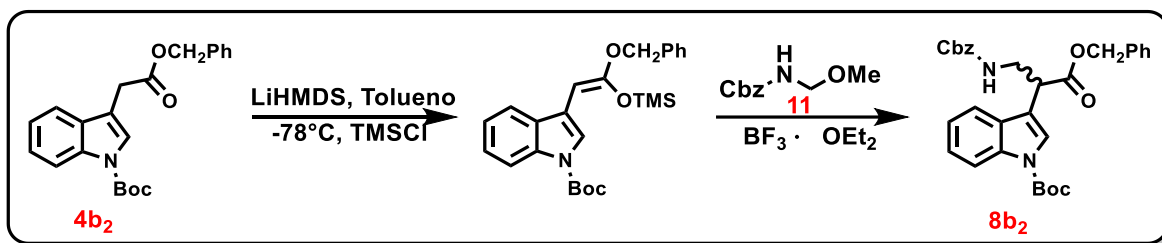


Figura 24. Espectro de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del éster bencílico derivado del ácido 3-indolacético.

6.1.3.3 Reacción de aminometilación para la síntesis de **8b₂**.



Esquema 28. Condiciones de aminometilación para la obtención del derivado **8b₂**.

La síntesis consiste en hacer reaccionar **4b₂** con la base LiHMDS, para la formación del enolato en tolueno a $-78\text{ }^\circ\text{C}$, para la estabilización del carbanión se formó el acetal de silil enol. A continuación, se elevó la temperatura a $-15\text{ }^\circ\text{C}$ para proceder

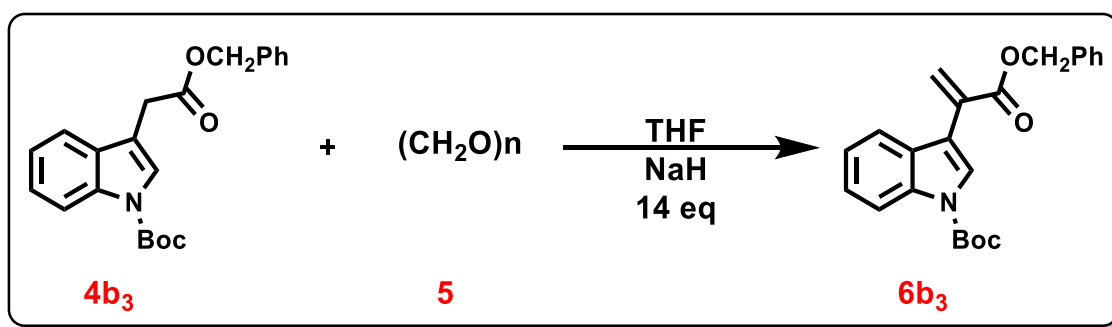
a la activación del *N,O*-Acetal empleando eterato de trifluoruro de boro como ácido de Lewis, permitiéndole reaccionar a temperatura ambiente durante una 1 hora, obteniendo así la formación del derivado **8b₂** (**Esquema 28**).

Sin embargo, no fue posible llegar al derivado **8b₂**, ya que se sufría la descomposición del producto, como resultado del estado de los reactivos con que se contaba en el grupo de investigación, modificando la metodología empleada.

6.1.4 Síntesis de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético (tercera ruta de síntesis)

6.1.4.1 Síntesis del 3-(3-benciloxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo, **6b₃**

La síntesis de este derivado se realizó siguiendo la metodología general planteada en el **Esquema 13**, sin embargo, el sustrato que se hizo reaccionar fue el éster bencilíco *N*-Boc protegido derivado del ácido 3-indolacético **4b₃** preparado previamente en la segunda ruta sintética (**Esquema 20**).



Esquema 29. Síntesis de 3-(3-benciloxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo, **6b₃**.

Una vez finalizada la reacción, el compuesto se purificó por columna, se recuperó un aceite transparente con un rendimiento del 52.4%, del cual se muestra su espectro de ¹H y ¹³C en la **Figura 25 y 26**.

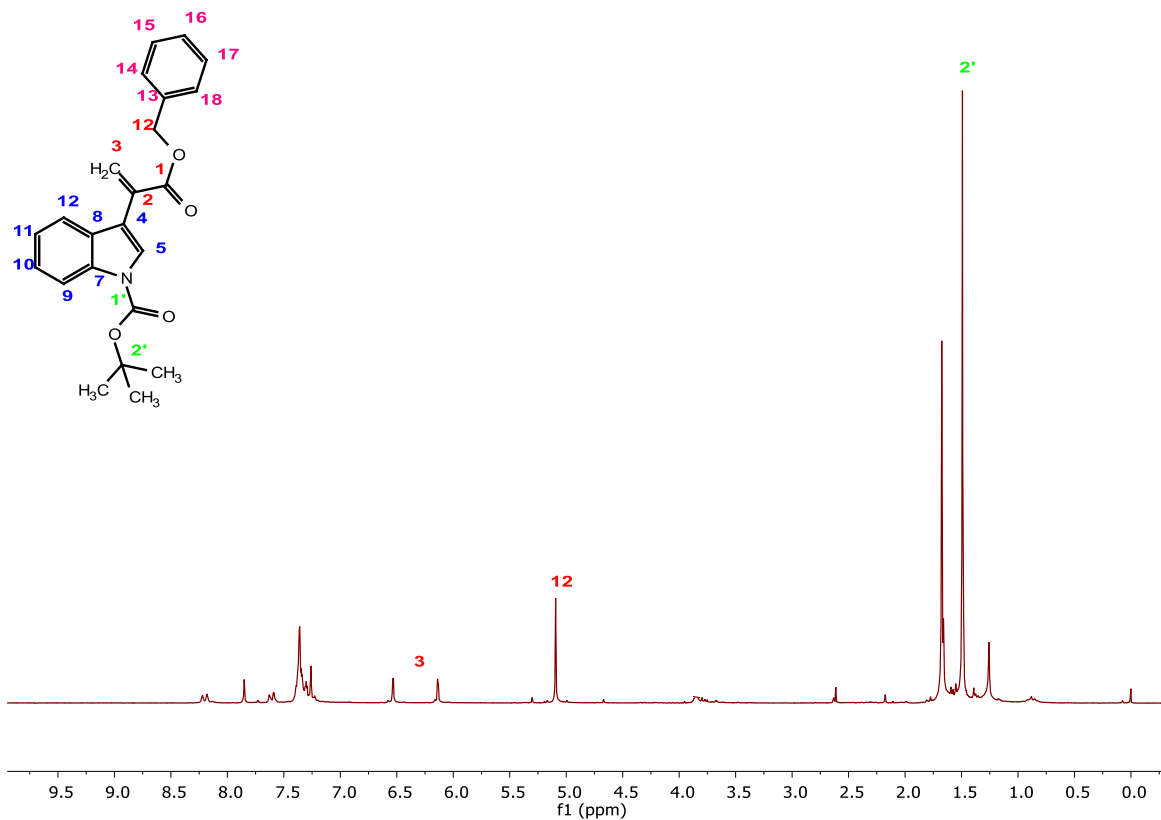


Figura 25. Espectro de ¹H (CDCl₃, 200 MHz) del derivado **6b3**.

En la **Figura 25** se observan señales características de los hidrógenos aromáticos en un rango de 7.0 a 8.5 ppm, los hidrógenos geminales correspondientes al doble enlace aparecen a 6.53 y 6.14 ppm, una señal simple correspondiente al metileno bencílico a 5.09 ppm y la señal característica del *tert*-butilo a 1.49 ppm.

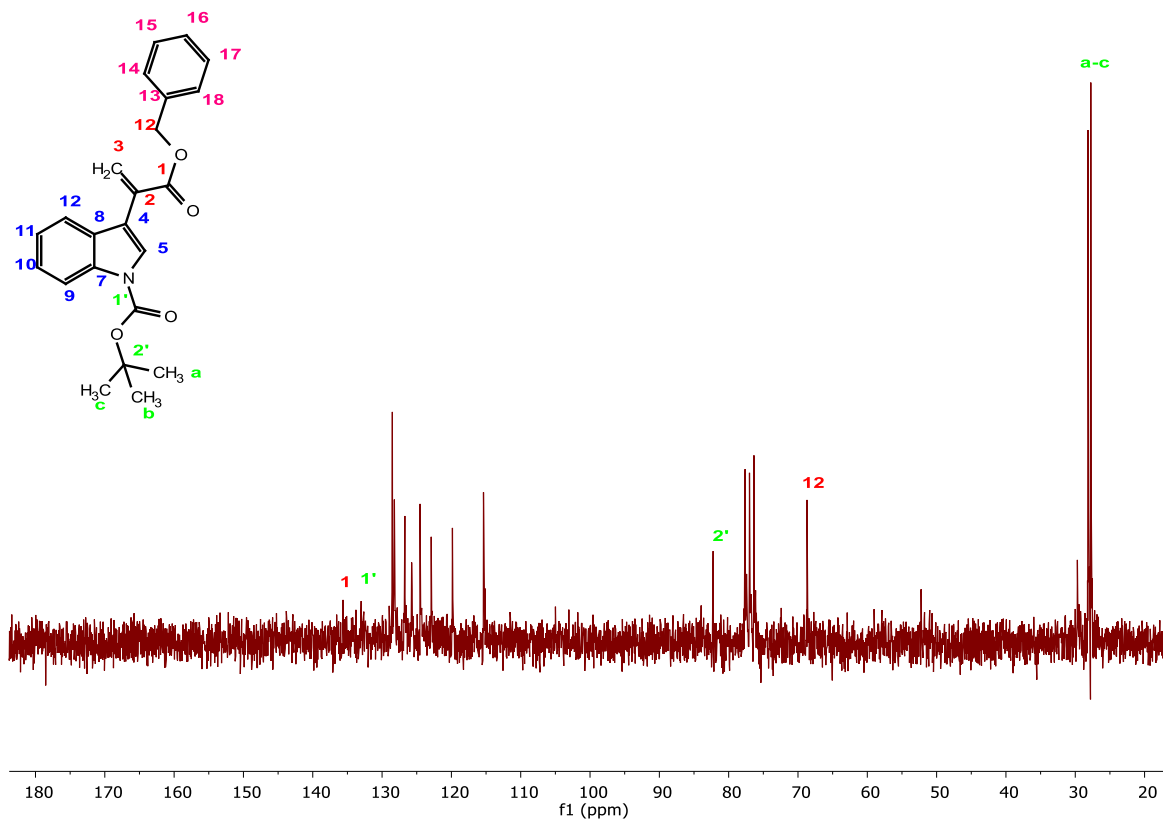
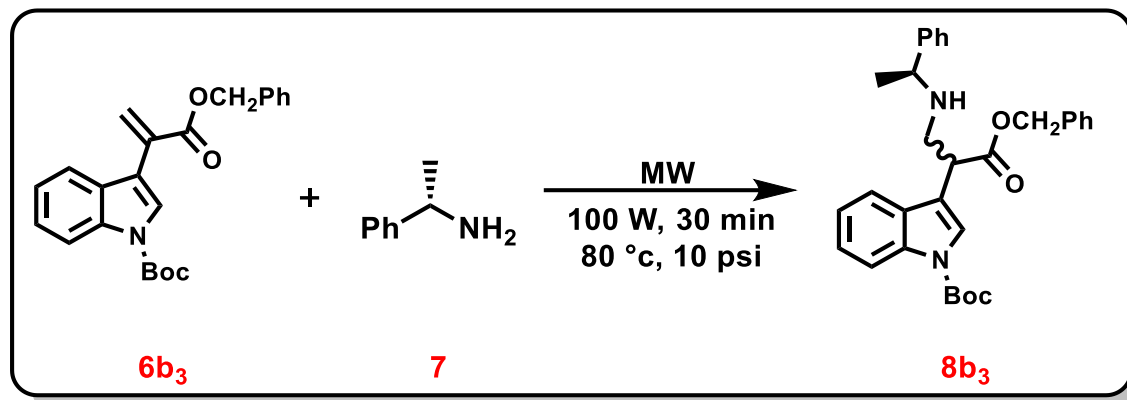


Figura 26. Espectro de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del derivado **6b₃**.

En la **Figura 26** se observan las señales correspondientes a cada uno de los carbonos del derivado **6b₃**.

6.1.4.2 Síntesis de la mezcla diastereoisomérica (*S,S*) y (*S,R*) del 3-(1-benciloxi-1-oxo-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propan-2-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo, **8b₃**

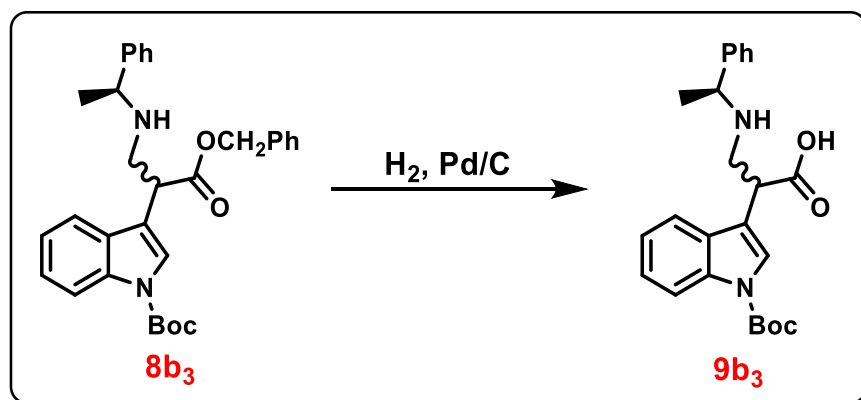
La preparación de este derivado se llevó cabo efectuando una adición de tipo Michael de la (*S*)-feniletilamina. La adición 1,4 de la (*S*)-feniletilamina sobre el éster bencilico α,β -insaturado *N*-Boc protegido **6b₃**, sin disolvente mediante el uso de microondas generó el β -amino éster **8b₃**, con un rendimiento del 55.05% (**Esquema 30**).



Esquema 30. Síntesis de la mezcla diastereoisomérica (*S,S*) y (*S,R*) del 3-(1-benciloxi-1-oxo-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propan-2-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo, **8b₃**.

6.1.4.3 Síntesis de la mezcla diastereoisomérica (*S,S*) y (*S,R*) del ácido 2-(1-*tert*-butoxicarbonil-1*H*-indol-3-il)-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propanoico, **9b₃**

Para la obtención del compuesto **9b₃** se realizó una hidrogenación catalítica del compuesto **8b₃** el cual se disolvió en una mezcla acetato de etilo y metanol (9:1), posteriormente se añadió 10% del catalizador Pd/C y se colocó en agitación a una presión de 15 psi durante 2 h (**Esquema 31**) en la cual se llevó a cabo la reducción del éster bencilico en un solo paso. Una vez finalizada la reacción, se recuperó un aceite amarillo claro con un rendimiento del 77%.



Esquema 31. Hidrogenación catalítica del compuesto **8b₃** para la obtención del compuesto **9b₃**.

En la **Figura 27** se puede observar el espectro de RMN ^1H del derivado **9b₃**, sin embargo, las señales no presentan una multiplicidad definida debido a la mezcla diastereoisomérica presente. Los hidrógenos correspondientes al metilo de la (*S*)-feniletilamina se observan en 1.29 ppm, los hidrógenos diasterotópicos beta al carbonilo a 3.30 ppm, así como el hidrogeno correspondiente al carbono quiral en 3.72 ppm.

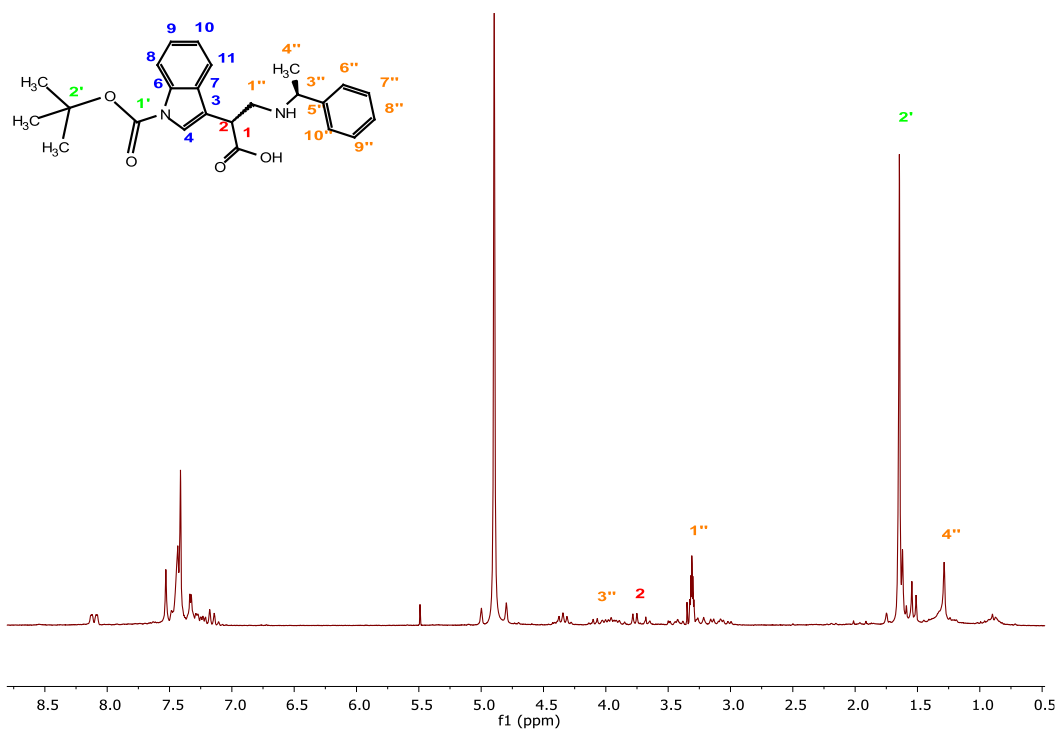
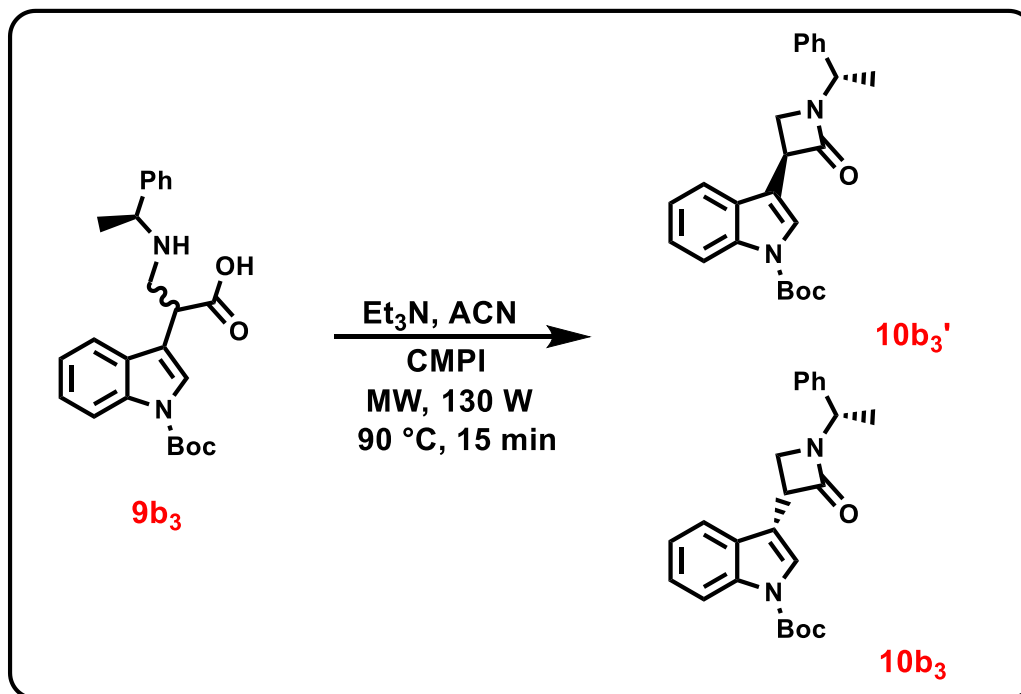


Figura 27. Espectro de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del derivado **9b₃**.

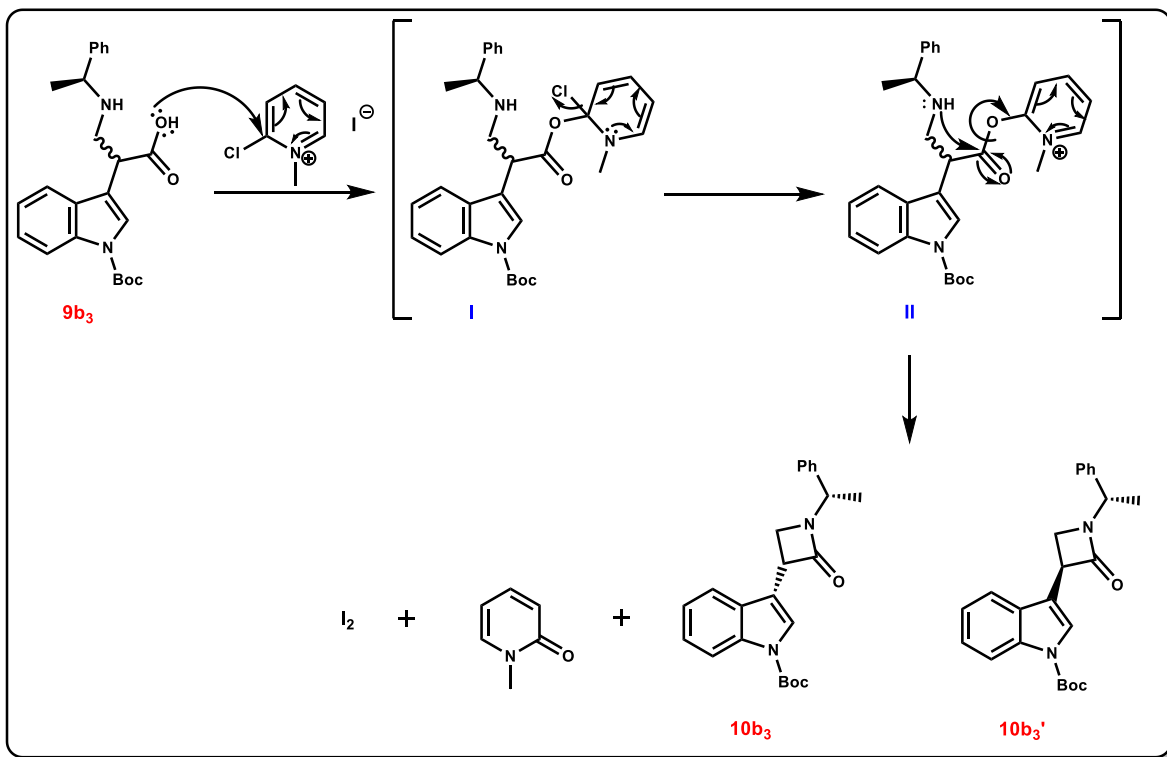
6.1.4.4 Obtención de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético

Se realizó la preparación de los compuestos **10b₃** y **10b₃'** utilizando el reactivo de Mukaiyama (**Esquema 32**). La reacción se llevó a cabo utilizando el aminoácido **9b₃** suspendido en acetonitrilo, se adicionó el yoduro de 2-cloro-1-metilpiridino y trietilamina, la mezcla de reacción fue sometida a microondas durante 15 minutos a 90 °C con 130 , obteniendo así las β -lactamas.



Esquema 32. Obtención de las β -lactamas utilizando el reactivo de Mukaiyama.

La reacción comienza con el ataque nucleofílico del aminoácido **9b₃** hacia el yoduro de 2-cloro-1-metilpiridino, formándose así el intermediario **I**, en el cual se regenera la aromaticidad eliminando el átomo de cloro formando el intermediario **II**. En el intermediario **II**, el átomo de nitrógeno lleva a cabo el ataque intramolecular hacia el grupo carbonilo para generar las **10b₃** y **10b₃'** (**Esquema 33**).



Esquema 33. Mecanismo de reacción que explica la formación de β -lactamas utilizando el reactivo de Mukaiyama.

Los compuestos se purificaron por cromatografía en columna en un sistema de elución por gradiente (99:1 \rightarrow 90:10 Hex:AcOEt), se recuperaron dos aceites, los cuales difieren en su R_f observable en TLC y fueron clasificados como “diastereoisómero más polar” para aquel que tiene un R_f menor y “diastereoisómero menos polar” para aquel que tiene R_f mayor. Los espectros de RMN 1H y ^{13}C muestran señales características de las β -lactamas derivadas.

A continuación, se muestran el espectro de RMN 1H del diastereoisómero más polar (**Figura 28**).

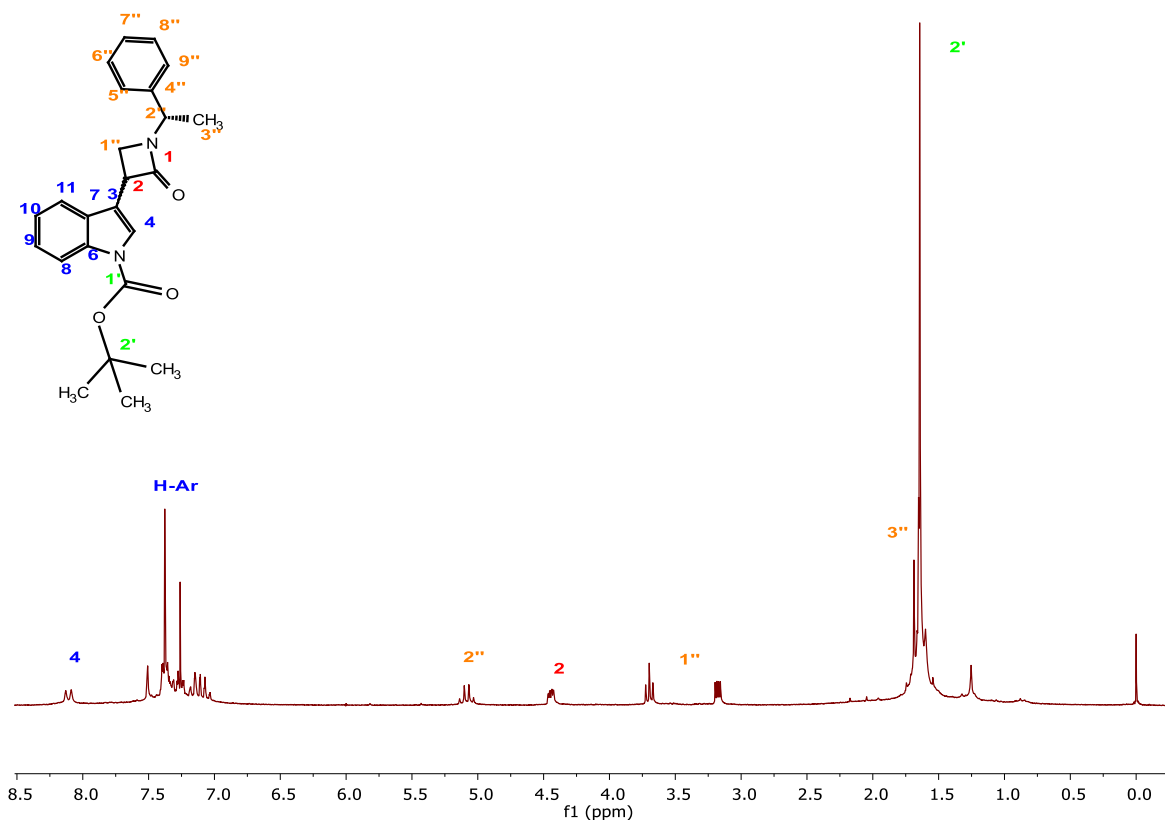


Figura 28. Espectro de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del diastereoisómero más polar.

En la **Figura 28** se observa un cuarteto que integra para un hidrógeno con un desplazamiento químico de 5.08 ppm (q , $J = 7.1$ Hz) correspondiente al metino de la (*S*)-feniletilamina, una señal doble de doble de doble a 4.45 ppm (ddd , $J = 5.5$, 2.7, 1.0 Hz) correspondiente al hidrógeno del carbono asimétrico, dos señales correspondientes a los hidrógenos diastereotópicos beta al carbonilo a 3.70 ppm ($dd(t)$, $J = 5.5$ Hz) y a 3.18 ppm (dd , $J = 5.5$, 2.7 Hz). Estas señales nos indican la presencia de la β -lactama derivada del ácido 3-indolacético clasificada como diastereoisómero más polar.

A continuación, se muestran el espectro de RMN ^1H del diastereoisómero menos polar (**Figura 29**).

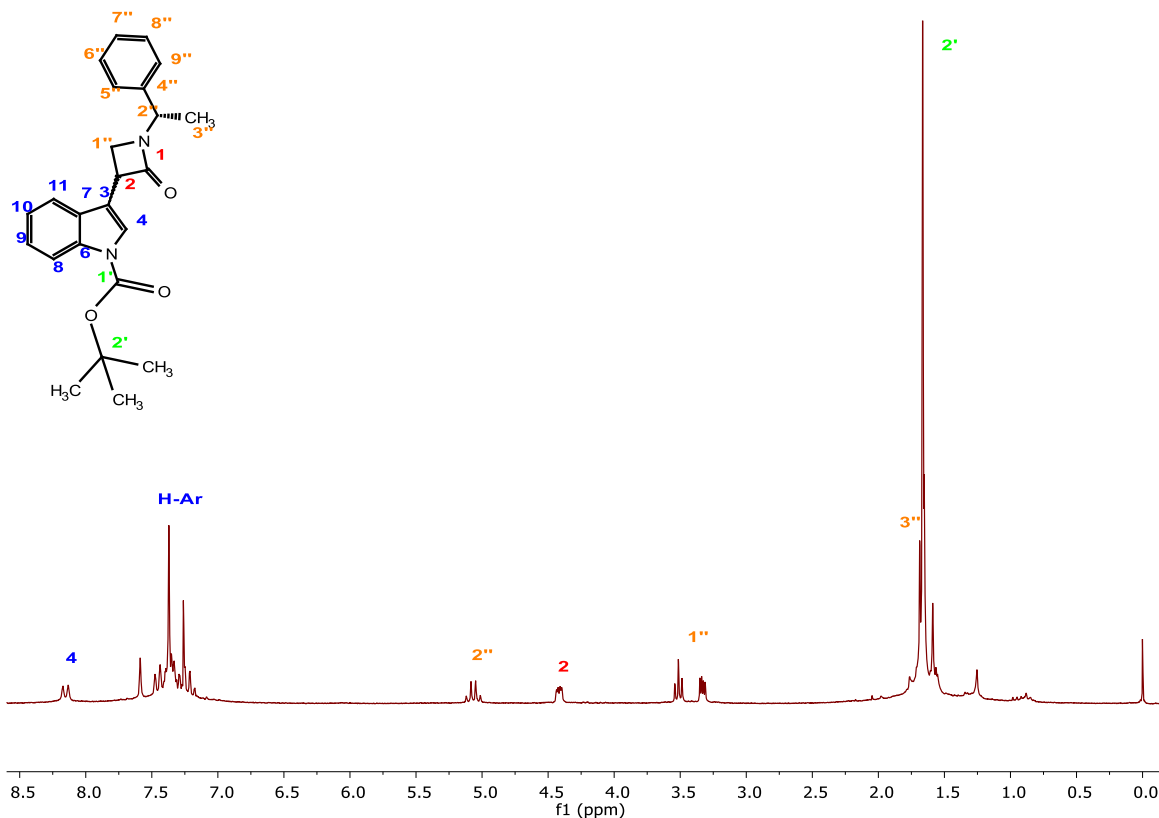


Figura 29. Espectro de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del diastereoisómero menos polar.

En la **Figura 29** se observa un cuarteto que acopla para un hidrógeno a 5.07 ppm (q , $J = 7.1$ Hz) correspondiente al metino de la (*S*)-feniletilamina, una señal doble de doble de doble a 4.42 ppm (ddd , $J = 5.5, 2.7, 1.0$ Hz) correspondiente al hidrógeno del carbono asimétrico, dos señales correspondientes a los hidrógenos diastereotópicos beta al carbonilo a 3.52 ppm ($dd(t)$, $J = 5.5$ Hz) y a 3.34 ppm (dd , $J = 5.5, 2.7$ Hz). Sí se compara la **Figura 28** y **29** la diferencia que existe es únicamente en los desplazamientos de los hidrógenos diastereotópicos beta al carbonilo, por lo tanto, mediante el espectro de RMN de ^1H no fue posible asignar la configuración relativa de los diastereoisómeros.

Con la finalidad de asignar la configuración relativa de manera correcta se realizaron experimentos en dos dimensiones de RMN (HMBC, HSQC, COSY, NOESY). Mediante el experimento de NOESY y las correlaciones que este presentaba fue posible asignar dichas configuraciones (**Figura 30**).

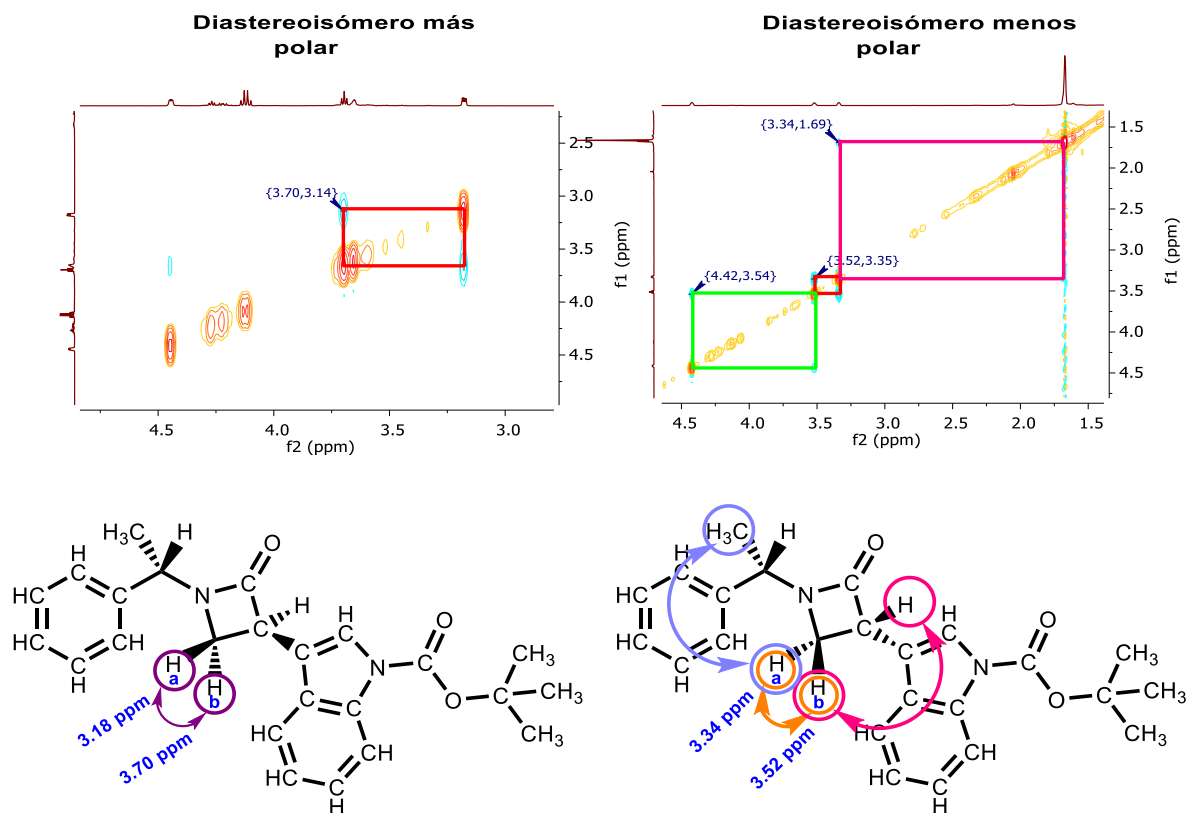


Figura 30. Experimento NOESY para los diastereoisómeros más polar y menos polar.

Se puede observar en la **Figura 30** dentro del experimento correspondiente al diastereoisómero más polar la señal a 3.70 ppm ($dd(t)$, $J = 5.5$ Hz), la cual correlaciona únicamente a una señal en 3.18 ppm (dd , $J = 5.5, 2.7$ Hz), mostrando así la relación entre los hidrógenos diasterotópicos. De igual forma en la **Figura 30** dentro del experimento correspondiente al diastereoisómero menos polar se muestra la correlación entre la señal a 3.52 ppm ($dd(t)$, $J = 5.5$ Hz) y a 3.34 ppm (dd , $J = 5.5, 2.7$ Hz) correspondientes a los hidrógenos diasterotópicos, sin embargo, se observa una segunda correlación entre la señal a 4.42 ppm (ddd , $J = 5.5, 2.7, 1.0$ Hz) correspondiente al hidrógeno del carbono asimétrico y la señal de uno de los hidrógenos diasterotópicos a 3.52 ppm ($dd(t)$, $J = 5.5$ Hz) y una tercera correlación entre la señal de los hidrógenos del metilo de la (*S*)-feniletilamina en 1.68 ppm y la señal de uno de los hidrógenos diasterotópicos a 3.34 ppm, pudiendo así asignar la configuración relativa de las β-lactamas (**Figura 31**).

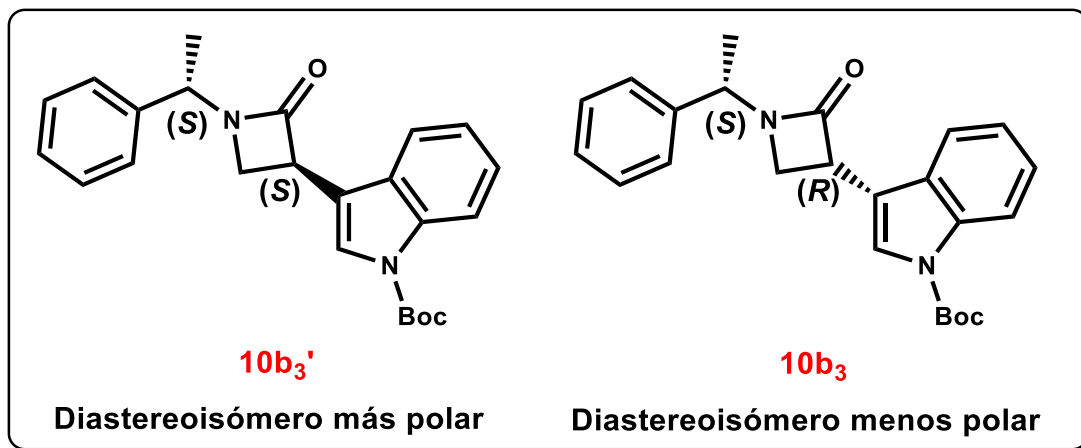


Figura 31. Configuración relativa para las β -lactamas diastereoisoméricas.

6.2 Parte Computacional

6.2.1 Acoplamiento molecular (Molecular Docking)

El objetivo de las herramientas de acoplamiento molecular es predecir las posibles interacciones fármaco-receptor para explicar la actividad mostrada experimentalmente con el fin de ayudar al diseño racional de compuestos bioactivos.

El programa MarvinSketch⁶⁸ fue empleado para la construcción y la minimización de la energía de las β -lactamas derivadas del ácido fenilacético **10a** y **10a'** y las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético **10b₃** y **10b₃'**.

El acoplamiento molecular, en este trabajo se llevó a cabo sobre el receptor de serotonina 5-HT_{2A} (PDB-ID: 6A93),⁷⁵ el cual se encuentra co-cristalizado con el ligando Risperidona (8NU).

El primer paso fue separar la proteína del ligando con el que fue cristalizada (8NU) mediante la utilización de una serie de programas computacionales, con el fin de poder introducir sobre el sitio de reconocimiento de fármacos a los compuestos sintetizados en este trabajo, demostrando que nuestros compuestos llevarán a cabo las mismas interacciones que el ligando original (8NU).

500 corridas independientes fueron realizadas para cada β -lactama derivada del ácido fenilacético y del ácido 3-indolacético en el programa AutoDock Vina. Lo anterior con la finalidad de tener una mayor reproducibilidad en cuanto a los datos obtenidos. Se ha utilizado AutoDock Vina tanto para la predicción del modo de unión como para el acoplamiento. En ambos casos, las dimensiones de la malla tridimensional son 11.7x-1.33x58.28 Å, situándose centradas en el sitio de unión del ligando y con coordenadas en (35.83, 32.40, 27.60).

Por otro lado, al momento de realizar el acoplamiento molecular, se originan una serie de conformaciones (poses) probables, las cuales representan posibles modos de unión del ligando sobre el receptor. Una forma de saber si la pose es confiable es determinar su Distancia media cuadrática mínima (RMSD) con respecto de una estructura de referencia. Un valor de RMSD menor a 2 Å implica que es capaz de seleccionar como mejor pose aquella que presenta una gran semejanza con la pose original de aquellos ligandos evaluados dentro del receptor biológico. El cual determina la diferencia entre las coordenadas de los dos ligandos, es decir, que tan cerca se encuentra la estructura acoplada a la estructura de rayos X.

6.2.1.1 Acoplamiento molecular sobre 5-HT_{2A}R

Inicialmente se realizó una validación con el ligando co-cristalizado (Risperidona) sobre el sitio activo de 5-HT_{2A}R, con el fin de demostrar que el acoplamiento molecular es reproducible. Los residuos de aminoácidos implicados en la unión de la Risperidona en 5-HT_{2A}R están altamente conservados en receptores aminérgicos. La Risperidona posiciona su anillo de fluorobenzisoxazol y un anillo de benceno en la hendidura hidrofóbica inferior. Estos anillos forman interacciones CH- π con Ser159, interacciones hidrófobas con Ile163, Phe243 y Phe332, e interacciones π con Trp336 y Phe340. El anillo de tetrahidropiridopirimidinona de la Risperidona se encuentra entre Leu228 y Val366 (**Figura 32**).

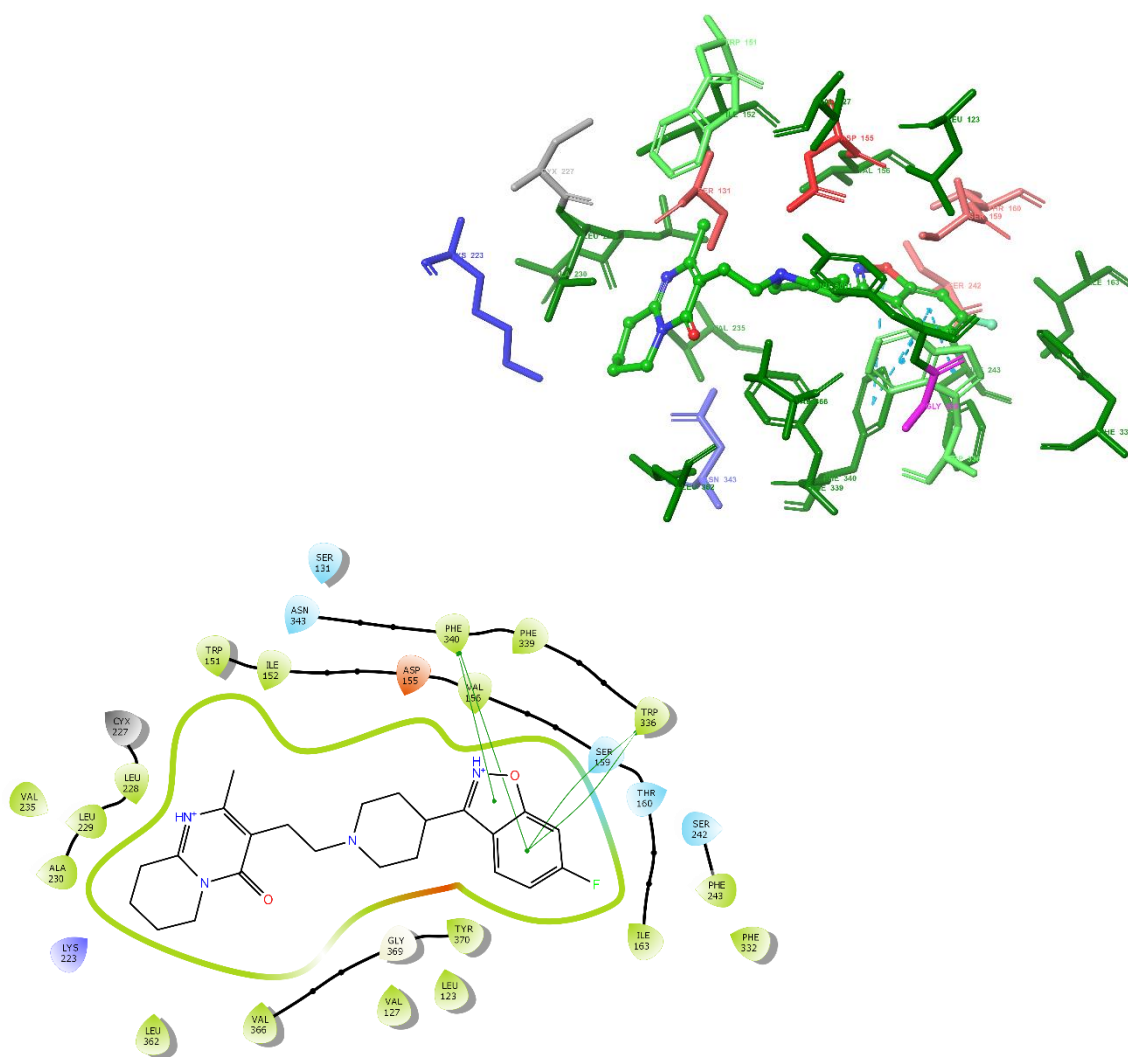


Figura 32. Acoplamiento molecular del compuesto Risperidona sobre el sitio activo de 5-HT_{2A}R.

A lo largo del texto se usará el mismo código de colores, el cual depende de tipo de residuo de aminoácido al que corresponde.

Cabe mencionar que se obtuvo para este confórmero un valor de RMSD de 0.089 Å, el cual nos indica las distancias entre los átomos de dos estructuras que son comparadas entre sí. Al ser menor de 2.0 Å, se considera que los parámetros empleados para el acoplamiento molecular son reproducibles, mismo que se observa al comparar el confórmero obtenido con el ligando co-cristalizado observando que mantienen la misma posición dentro de la cavidad de 5-HT2AR.

Se llevó a cabo el acoplamiento molecular de las β -lactamas derivadas del ácido fenilacético **10a** y **10a'**, y de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético **10b₃** y **10b₃'** con el ligando Risperidona.

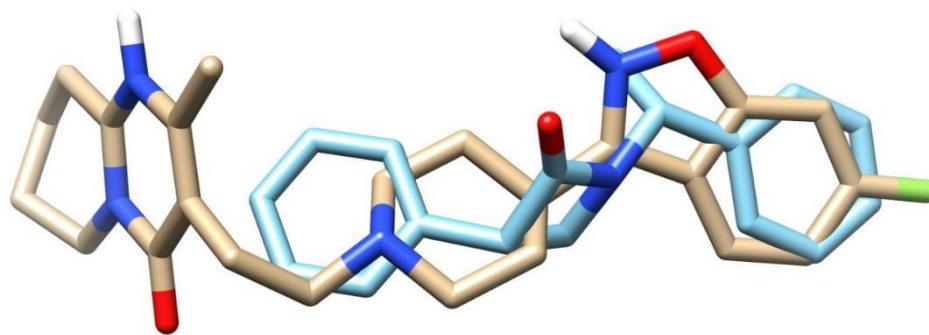
6.2.1.1.1 Acoplamiento molecular de las β -lactamas derivadas del ácido fenilacético 10a y 10a' sobre 5-HT2AR

Se realizó el acoplamiento molecular de los compuestos diastereoisoméricos para las β -lactamas derivadas del ácido fenilacético **10a** y **10a'**, sobre el sitio de unión o reconocimiento de fármacos en el receptor 5-HT2AR.

a) Resultados del acoplamiento molecular para la β -lactama 10a sobre 5-HT2AR

De acuerdo con lo anterior se realizó el acoplamiento molecular con el compuesto **10a** sobre este receptor, se obtuvo un valor de RMSD igual a 0.009, teniendo así una distancia media menor a 2.0 Å.

En la **Figura 33** se observa el sobreposicionamiento del compuesto con el ligando Risperidona, los cuales mantienen una orientación similar dentro de la cavidad de 5-HT2AR.



● Risperidona ● β -lactama 10a

Figura 33. Sobreposicionamiento del confórmero de la β -lactama 10a y Risperidona sobre el sitio activo de 5-HT2AR.

En la **Figura 34** se puede observar en 3D interacciones importantes de tipo π - π por la β -lactama 10a con los residuos de aminoácidos Phe340 y Trp336, mismas que comparte con la Risperidona.

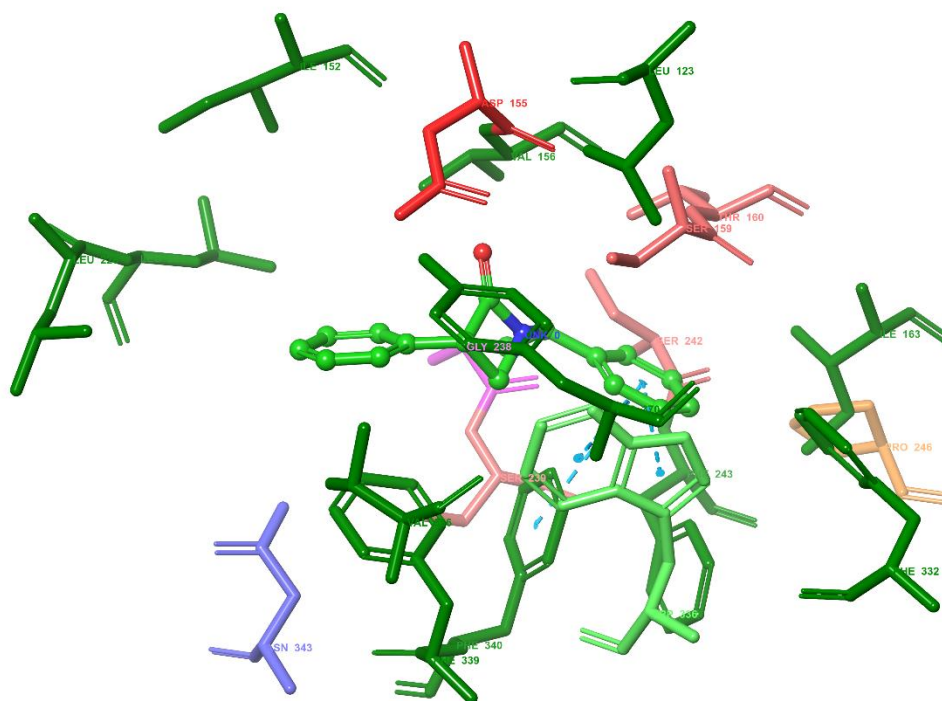


Figura 34. Acoplamiento molecular de la β -lactama 10a sobre el sitio activo de 5-HT2AR.

En el diagrama en 2D se puede observar que la β -lactama **10a** presenta interacciones adicionales sobre el sitio activo de 5-HT_{2A}R (**Figura 35**).

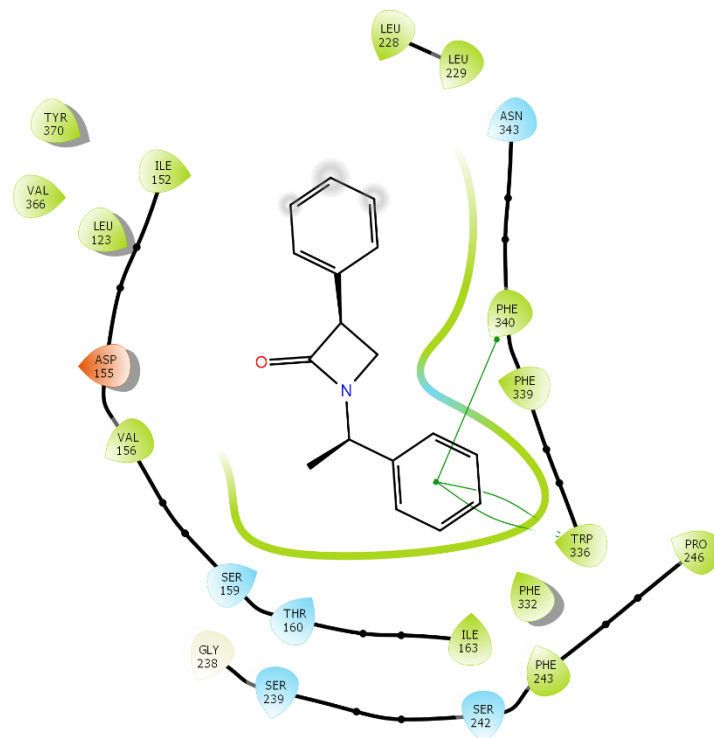


Figura 35. Interacciones presentadas por la β -lactama **10a** sobre el sitio activo de 5-HT_{2A}R.

En la **Figura 35** se observa como la β -lactama **10a** presenta interacciones de tipo puente de hidrógeno con los residuos de aminoácido Phe339, Ile163, Thr 160, Ser159, Val 156 y Asp 155 mismas que comparte con el ligando Risperidona.

b) Resultados del acoplamiento molecular para la β -lactama **10a'** sobre 5-HT_{2A}R

Se llevó a cabo el acoplamiento molecular con la β -lactama **10a'** sobre 5-HT_{2A}R, tal como se muestra en la **Figura 36**, en la cual se puede observar el sobreposicionamiento de este compuesto con Risperidona ligando co-cristalizado con 5-HT_{2A}R los cuales mantienen la misma orientación dentro de la cavidad de este receptor, se obtuvo un valor de RMSD igual a 0.045 Å.

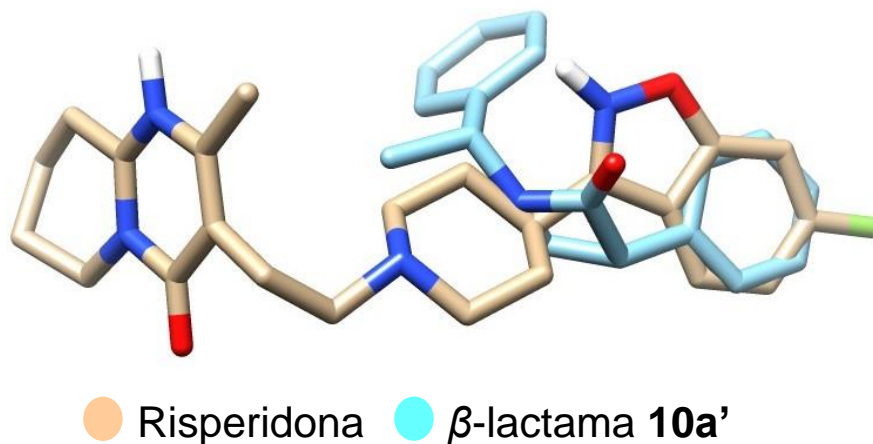


Figura 36. Sobreposicionamiento del confórmero de la β -lactama **10a'** y Risperidona sobre el sitio activo de 5-HT2AR.

A continuación, en la **Figura 37** se puede observar en 3D las principales interacciones de tipo π - π de la porción polar del compuesto **10a** con los residuos de aminoácidos Phe340 y Trp336, interacciones que también mantiene con la molécula objetivo Risperidona.

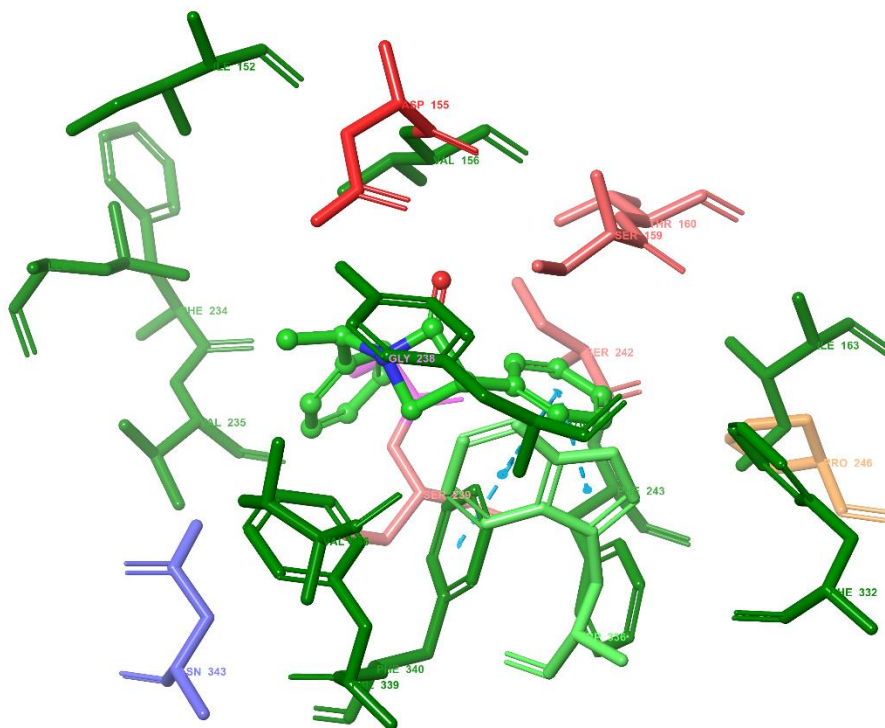


Figura 37. Acoplamiento molecular de la β -lactama **10a'** sobre el sitio activo de 5-HT2AR.

Adicional a las interacciones observadas en 3D con la región polar del compuesto **10a'** también se pueden observar interacciones adicionales por puente de hidrógeno con Leu229, Phe 234, Val 235, Pro246, Val156 e Ile152; estas son observables en el diagrama en 2D, donde se muestran más interacciones presentadas por el compuesto **10a'** sobre el sitio activo de 5-HT_{2A}R (**Figura 38**).

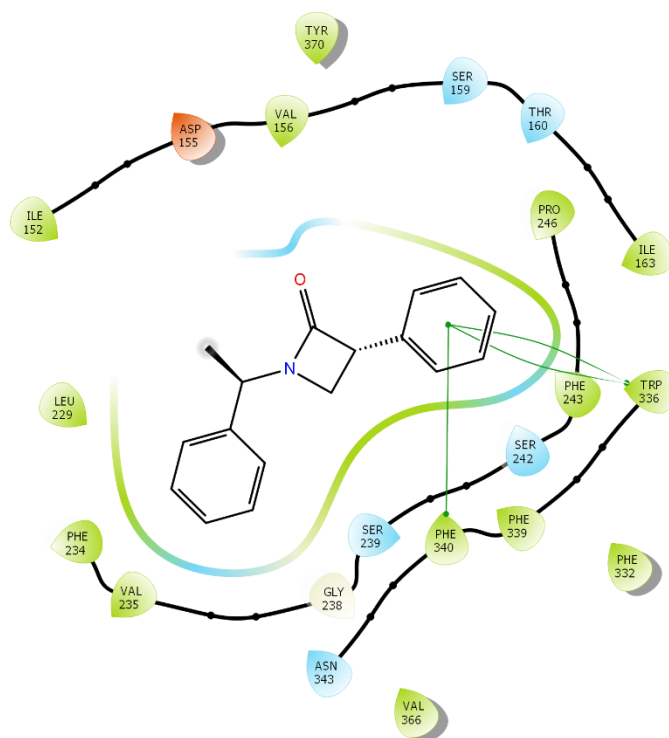


Figura 38. Interacciones en 2D presentadas por el compuesto **10a'** sobre la cavidad de 5-HT_{2A}R.

6.2.1.1.2 Acoplamiento molecular de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético **10b₃** y **10b₃'** sobre 5-HT_{2A}R

Se realizó el acoplamiento molecular de los compuestos diastereoisoméricos para las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético **10b₃** y **10b₃'**, sobre el sitio de unión o reconocimiento de fármacos en el receptor 5-HT_{2A}R.

a) Resultados del acoplamiento molecular para la β -lactama **10b₃** sobre 5-HT_{2A}R

Posteriormente se llevó a cabo el acoplamiento molecular del compuesto **10b₃** sobre el sitio activo de 5-HT_{2A}R, obteniendo un valor de RMSD igual a 0.143 Å. En la **Figura 39** se observa el sobreposicionamiento del compuesto Risperidona, el compuesto **10b₃** comparte una orientación espacial similar a la Risperidona dentro del sitio activo de 5-HT_{2A}R, además de que es posible observar que el sobreposicionamiento no se da en la misma región que los compuestos anteriormente probado (**10a** y **10a'**).

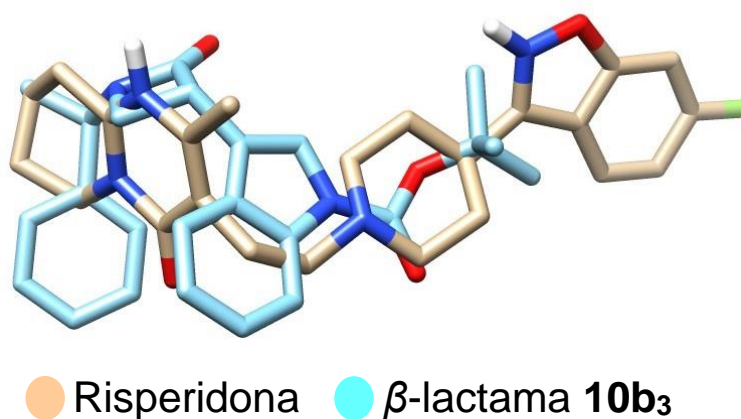


Figura 39. Sobreposicionamiento del compuesto **10b₃** y Risperidona sobre el sitio activo de 5-HT_{2A}R.

En la **Figura 40** se presentan las interacciones vistas en 3D de la β -lactama **10b₃** presentadas sobre 5-HT_{2A}R, solo se observa una interacción por puente de hidrógeno con el carbonilo del anillo la β -lactámico y el residuo de aminoácido Asn343 que comparte con el ligando comercial Risperidona.

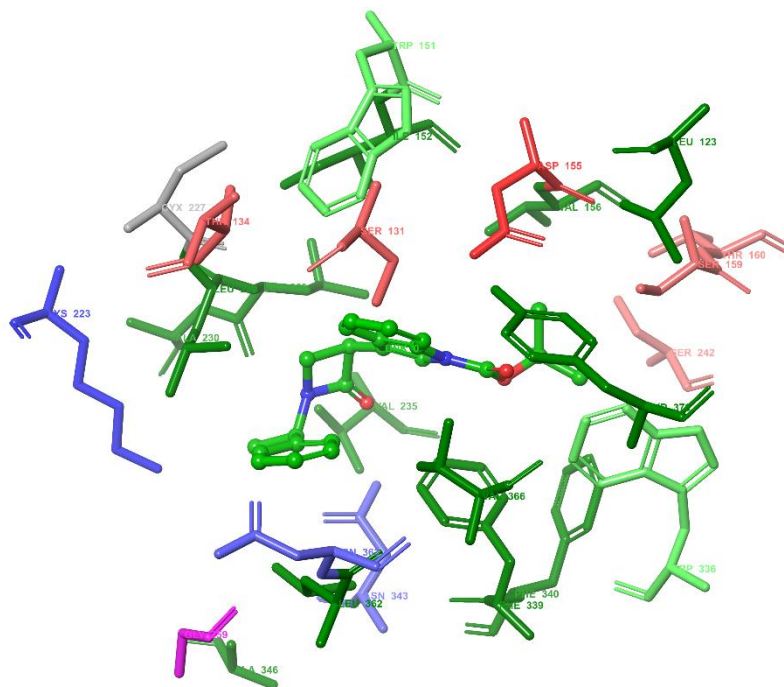


Figura 40. Acoplamiento molecular de la β -lactama **10b₃** sobre el sitio catalítico de 5-HT_{2A}R.

En la **Figura 41** se muestran las interacciones en 2D presentadas por el compuesto **10b₃** sobre el sitio catalítico del receptor 5-HT_{2A}. De acuerdo con el diagrama, se muestra interacciones de tipo hidrofóbicas con los residuos de aminoácidos Ala230, Leu229, Leu228, Trp151, Ile152, Val156, Trp336, Phe339, Phe340 y Ala346, las cuales comparte con el ligando Risperidona.

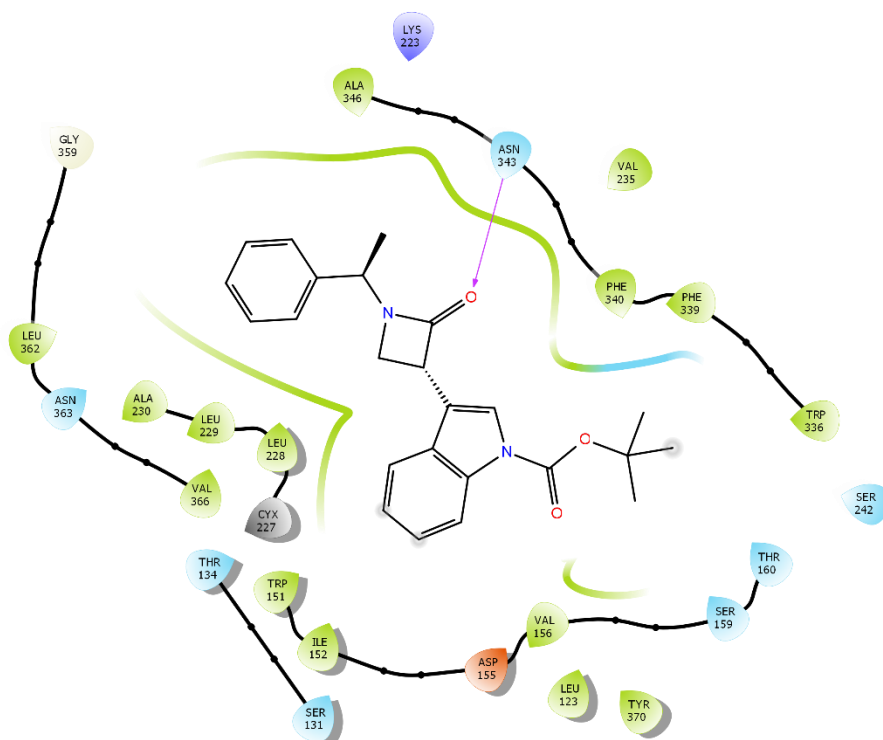
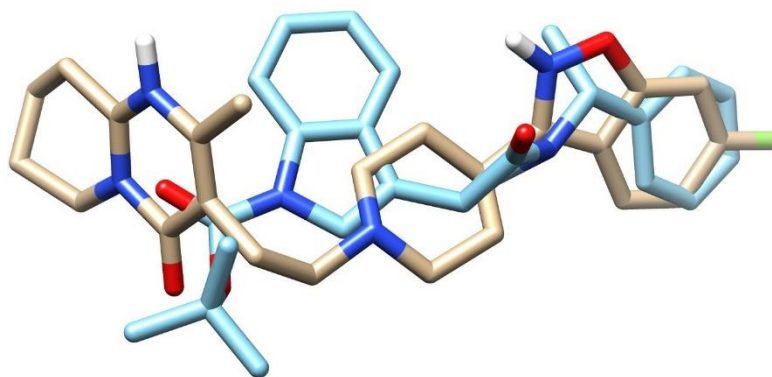


Figura 41. Diagrama en 2D de las interacciones presentadas por **10b₃'** sobre el sitio activo de 5-HT2AR.

b) Resultados del acoplamiento molecular para la β -lactama **10b₃' sobre 5-HT2AR**

Finalmente se llevó a cabo el acoplamiento molecular del compuesto **10b₃'** sobre el sitio activo de 5-HT2AR, se observa el sobreposicionamiento del compuesto **10b₃'** y risperidona, se obtuvo un valor de RMSD igual a 0.052 Å. Este compuesto comparte una orientación espacial similar a Risperidona dentro del sitio activo de 5-HT2AR, lo cual es de gran importancia ya que se lleva a cabo la actividad farmacológica del compuesto.



● Risperidona ● β -lactama **10b₃'**

Figura 42. Sobreposicionamiento del conformero **10b₃'** y Risperidona sobre el sitio activo de 5-HT₂AR.

Se observaron en 3D interacciones de tipo π - π de la β -lactama **10b₃'** con los residuos de aminoácidos Phe243, Phe340 y Trp336, mismas que comparte con el ligando comercial Risperidona (**Figura 43**).

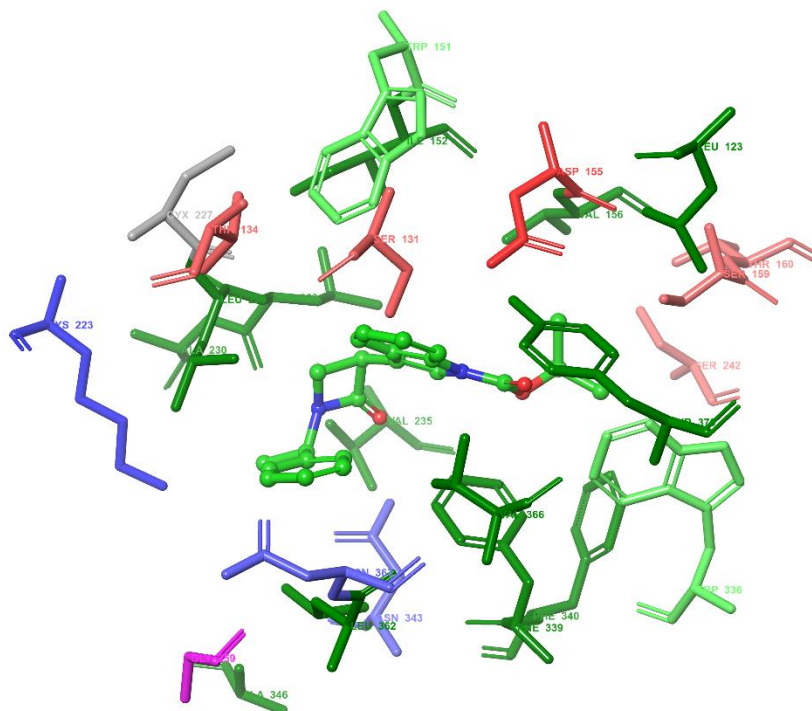


Figura 43. Acopamiento molecular del compuesto **10b₃'** sobre el sitio activo de 5-HT₂AR.

De acuerdo con el diagrama en 2D del compuesto **10b₃'** presenta interacciones hidrofóbicas importantes con Val336, Val156, Ile163 y Phe332. Adicionalmente mantiene interacciones con Ser239, Ser159, Thr160, Ser242, Thr134 y Ser131 (**Figura 44**).

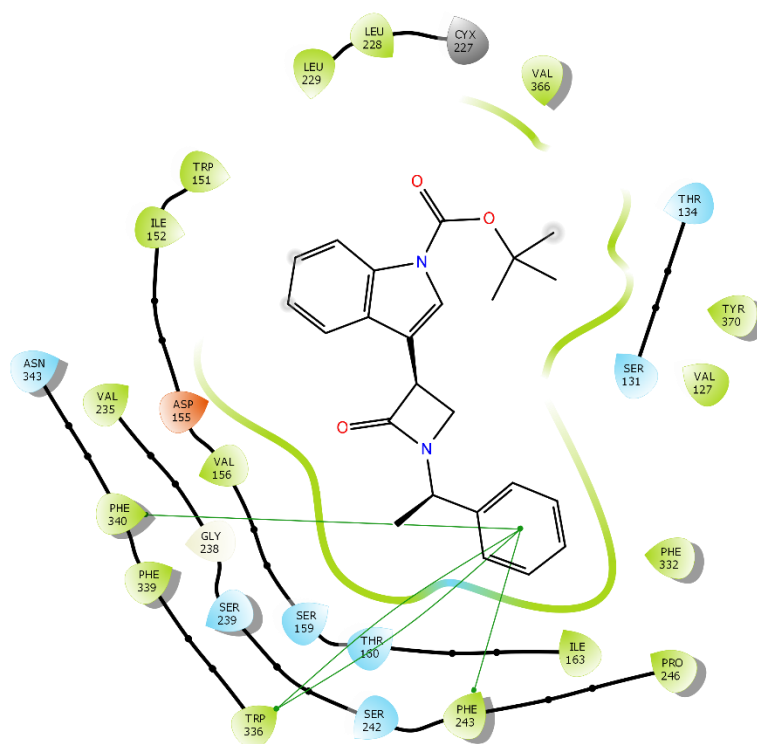


Figura 44. Interacciones presentadas por el compuesto **10b₃'** en 2D sobre la cavidad de 5-HT2AR.

6.2.2 Análisis del acoplamiento molecular

En la **Tabla 2** se muestran los resultados obtenidos para el acoplamiento molecular para los compuestos finales.

La validación con el ligando co-cristalizado Risperidona, sobre el sitio activo de 5-HT2AR se realizó para conocer si los parámetros correspondientes a este modelo son aplicables a las β -lactamas **10a**, **10a'**, **10b₃**, **10b₃'**. No es posible comparar los valores de RMSD con los obtenidos para las β -lactamas, ya que no presentan el mismo número de átomos.

En este caso los valores de RMSD menor a 2 Å correspondientes a las β -lactamas nos indica que no existieron variaciones importantes entre las conformaciones obtenidas en cada ejecución.

Tabla 2. Valores de RMSD y energía de afinidad para los compuestos finales.

Compuesto	RMSD		Energía de Afinidad	
	Promedio	Desviación Estándar	Promedio	Desviación Estándar
β -lactama 10 ^a	0.009	0.004	-8.160	0.003
β -lactama 10a'	0.045	0.02	-8.747	0.011
β -lactama 10b ₃	0.143	0.299	-10.242	0.011
β -lactama 10b ₃ '	0.052	0.02	-9.037	0.037
Risperidona	0.089	0.036	-11.447	0.015

Para el caso de las energías de afinidad, es posible determinar que la Risperidona presenta una energía igual a -11.447 kJ/mol. Esto representa una mejor interacción con el sitio activo al exhibir en su estructura un anillo de fluorobenzisoxazol y un anillo de tetrahidropiridopirimidinona lo que le confiere mayores interacciones con respecto de las β -lactamas. Aunque estas representan una clase de bioisostero con respecto a la risperidona por su anillo de tipo indol, no se favorecen las mismas interacciones.

6.2.3 Predicción de absorción y permeabilidad celular (Molinspiration)

Se llevó a cabo la predicción de cada uno de los postulados de Lipinski de las β -lactamas finales (**10a**, **10a'**, **10b₃** y **10b₃'**) empleando Molinspiration online. A continuación, se muestra la **Tabla 2** comparando los valores obtenidos, en relación con su absorción.

Tabla 3. Análisis de los postulados de Lipinski para los compuestos finales.

Propiedades	Log P	PM g/mol	APH	DPH
Compuesto	<5	<500	<10	<5
β -lactama 10a	3.55	251.33	2	0
β -lactama 10a'	3.55	251.33	2	0
β -lactama 10b ₃	4.33	390.48	5	0
β -lactama 10b ₃ '	4.33	390.48	5	0
Risperidona	3.24	406.53	6	0

APH: aceptores de puente de hidrógeno.

DPH: donadores de puente de hidrógeno.

De acuerdo con los valores obtenidos se observa que ninguna de las moléculas diseñadas tendrá problemas de absorción y permeabilidad por difusión pasiva. La difusión pasiva consiste en el paso de una sustancia a través de la membrana biológica en función del gradiente de concentración, pasando de la zona de mayor concentración a la de menor. Por lo cual, las moléculas podrían presentar buena biodisponibilidad al ser administrados por vía oral, ya que no presentan ninguna violación a estas reglas.

6.2.4 Predicción de las propiedades farmacocinéticas (AdmetSAR)

Mediante el programa AdmetSAR se llevó a cabo la predicción de las propiedades farmacocinéticas de los compuestos finales (**10a**, **10a'**, **10b₃** y **10b₃'**), obteniendo valores de absorción, metabolismo y de toxicidad basadas en una relación estructura actividad (Tabla 3).

Tabla 4. Propiedades farmacocinéticas de los compuestos finales, calculadas mediante el programa AdmetSAR.

Modelo	Resultado	β -lactama 10a	β -lactama 10a'	β - lactama 10b ₃	β - lactama 10b ₃ '	Risperidona
Absorción						
Barrera hematoencefálica	BBB+	BBB+ 0.9766	BBB+ 0.9766	BBB+ 0.9766	BBB+ 0.9766	BBB+ 0.9954
Absorción en intestino humano	HIA+	0.9907	0.9907	0.9907	0.9907	1.0
Sustrato de glicoproteína-P	No sustrato	0.8420	0.8420	0.8420	0.8420	Sustrato 0.5951
Inhibidor de la glicoproteína -P	No inhibidor	0.9751	0.9751	0.9839	0.9839	0.9350
Metabolismo						
CYP450 2C9 Sustrato	No sustrato	0.7952	0.7952	0.7952	0.7952	0.8131
CYP450 2D6 Sustrato	No sustrato	0.8462	0.8462	0.8462	0.8462	Sustrato 0.7060
CYP450 3A4 Sustrato	No sustrato	0.7982	0.7982	0.7982	0.7982	Sustrato 0.7564
Toxicidad						
Toxicidad AMES	AMES (no tóxico)	0.9732	0.9732	0.9732	0.9732	0.5363
Carcinogénesis	No carcinógeno	0.6995	0.6995	0.6995	0.6995	0.8184
Toxicidad en pez	Alta toxicidad	Bajo 0.6105	Bajo 0.6105	Bajo 0.6105	Bajo 0.6105	0.7558
	Alto riesgo		Riesgo moderado			Sin riesgo

De acuerdo con los resultados arrojados por el programa AdmetSAR, se muestran los mismos valores para los compuestos finales sintetizados (**10a**, **10a'**, **10b₃** y **10b₃'**), sin embargo, presentan diferentes valores en cuanto a la absorción en intestino humano, no serán sustratos de glicoproteína P, lo cual se encuentra relacionado con la resistencia a fármacos. No son sustratos de las principales isoformas del CYP450, lo que indica que no habrá interacciones fármaco-fármaco, por lo cual no presentará toxicidad de este tipo. Cabe mencionar que estos compuestos, arrojan valores altos que indican que no están relacionados con carcinogénesis y tampoco con mutagenicidad. Con respecto a la barrera hematoencefálica, el programa indica que los compuestos presentarán alta probabilidad de actuar a nivel del SNC.

CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES

Las β -lactamas son un componente químico en la síntesis total de compuestos biológicamente activos y farmacéuticamente importantes.

Se desarrolló una estrategia de síntesis efectiva que permite el acceso a las β -lactamas diastereisoméricamente puras derivadas del ácido fenilacético y del ácido 3-indolacético.

Debido al acoplamiento molecular, es posible decir que los ligandos empleados representan la clase estructural que podría acoplarse en este sitio en un modo consistente, dando como resultado una alineación basada en la estructura que puede servir como punto de partida para el análisis de estudios *in vitro* e *in vivo*. Los modos de unión de estos ligandos sobre el receptor 5-HT_{2A}R pudieran estar asociados con enfermedades neurodegenerativas, en especial la esquizofrenia. Por lo tanto, la elucidación de estas estructuras es beneficiosa para el diseño basado en la estructura de medicamentos para este tipo de enfermedades.

CAPÍTULO 8. PERSPECTIVAS

Continuar con el proceso de obtención de las β -lactamas diastereoisoméricamente puras de la indometacina.

Obtener los β^2 -arilamino ácidos en forma libre derivados del ácido fenilacético, del ácido 3-indolacético y de la indometacina.

Llevar a cabo ensayos *in vitro* e *in vivo* de los compuestos con el mejor perfil destacado en los análisis de consenso bioinformático.

CAPÍTULO 9. PARTE EXPERIMENTAL

9.1 Información General

Los reactivos usados para la síntesis de los compuestos presentados en este proyecto fueron obtenidos comercialmente (SIGMA-ALDRICH®). Cada uno de los materiales de vidrio (matraces, probetas, vasos de precipitado) fueron de vidrio tipo PYREX®.

Los disolventes fueron secados utilizando técnicas estándar; el tetrahidrofurano (THF) y tolueno fueron empleados en condiciones de extrema sequedad. En el caso del THF, la eliminación de la humedad se realizó empleando sodio metálico y benzofenona como indicador, a reflujo y bajo atmósfera de nitrógeno.

Las reacciones se monitorearon por cromatografía en capa fina en placas de aluminio recubiertas de sílica gel con indicador fluorescente (60 F₂₅₄), utilizando como revelador luz UV y vapores de yodo. Las columnas cromatográficas se llevaron a cabo utilizando sílica gel (230-440 mallas).

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Melt-temp Electrothermal en capilares abiertos.

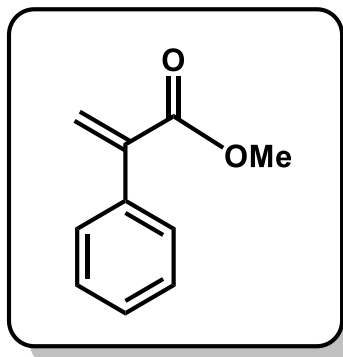
Las reacciones en microondas se llevaron a cabo en un equipo *Discover CEM*. Los espectros de RMN se obtuvieron en un equipo *Varian Gemini* a 200 (¹H) y 50 MHz (¹³C) y *Varian Oxford* a 400 MHz (¹H), reportando los espectros obtenidos a 200 MHz y usando CDCl₃ como disolvente a menos que se indique lo contrario. El desplazamiento químico (δ) está dado en ppm utilizando Me₄Si como referencia interna y las constantes de acoplamiento (J) en Hz.

Las estructuras de rayos-X fueron obtenidas en un equipo APEX-Brucker y las estructuras se resolvieron por métodos directos utilizando el programa SHELXS.

9.2 Parte Química

9.2.1 Síntesis del compuesto 2-fenilacrilato de metilo

En un matraz redondo provisto de agitación magnética y atmósfera inerte se colocaron 3.98 gr (66 mmol) de NaH al 60% y a continuación se lavó tres veces con hexano. Para lavar el hidruro de sodio soportado en aceite mineral se agrega hexano vía cánula y se agita por un minuto. Se decanta el residuo sólido y el líquido sobrenadante se remueve vía cánula. Este procedimiento se repite por tres veces. Enseguida se adicionaron THF anhidro y 4.69 mL (33 mmol) de 2-fenilacetato de metilo. La mezcla de reacción se sumergió en un baño de aceite a 50-55 °C por aproximadamente 10 minutos. La mezcla de reacción permaneció en agitación durante 15 minutos para posteriormente adicionar 6.42 mL (299 mmol) de paraformaldehído. Se permitió a la mezcla reaccionar a esta temperatura por 20 minutos y a continuación se enfría con un baño de hielo para luego ser tratada con 10 mL de agua. La fase acuosa se extrae con AcOEt (3 x 50 mL), una vez reunida la fase orgánica se transfirió a un matraz Erlenmeyer limpio y seco, pasando por Na₂SO₄ anhidro para terminar de secar, la solución se filtra y el disolvente se evapora a presión reducida, obteniendo así un aceite transparente. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna en un sistema isocrático (9:1) Hex:AcOEt.



2-fenilacrilato de metilo

C₁₀H₁₀O₂

PM: 162.07 g/mol

Líquido, aceite transparente

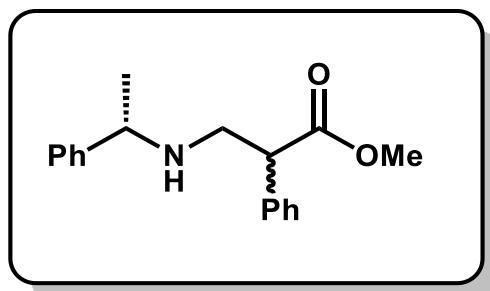
Rendimiento: 35.2 %

RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz): δ (ppm) 7.37 – 7.13 (*m*, 5H, H-Ar), 6.26 (*d*, 1H, *J* = 1.2 Hz, 1H, CH₂), 5.79 (*d*, 1H, *J* = 1.2 Hz, 1H, CH₂), 3.71 (*s*, 3H, CH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 50 MHz): δ (ppm) 52.1 (OCH₃), 126.8 (CH₂), 128.1 (CH-2'), 128.1 (CH-6'), 128.2 (CH-4'), 128.3 (CH-3'), 128.3 (CH-5'), 136.7 (C-1'), 141.3 (C-2), 167.3 (CO).

9.2.2 Síntesis del compuesto (*R,S*)-2-fenil-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propanoato de metilo

En un vial para microondas (sistema cerrado) provisto de agitación magnética se colocó 1.0 g del 2-fenilacrilato de metilo (6.16 mmol). Enseguida y a temperatura ambiente se adicionaron 0.94 mL (7.39 mmol) de la (*S*)-bencilmetilamina. La mezcla fue sometida a irradiación de microondas a una potencia de 100 W, una temperatura de 80 °C y una presión de 10 psi. De acuerdo con la referencia esta potencia es la adecuada para alcanzar los 80 °C, sin embargo, se recomienda disminuir o aumentar la potencia considerando que se busca alcanzar la temperatura previamente comentada. Una vez agotado el 2-fenilacrilato de metilo, el crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna por gradiente, comenzando por un sistema 9:1 (Hex:AcOEt), hasta llegar a 7:3 (Hex:AcOEt), no fue posible separar los diastereoisómeros presentes en la mezcla mediante cromatografía en columna.



(*R,S*)-2-fenil-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propanoato de metilo

$C_{18}H_{21}NO_2$

PM: 283.16 g/mol

Líquido, aceite incoloro

Rendimiento: 50.3%

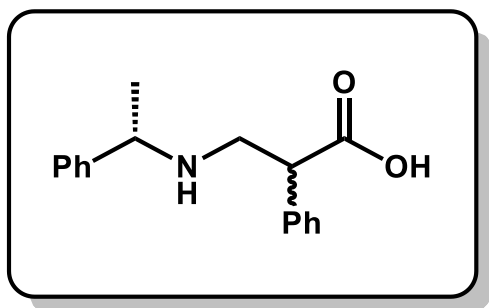
RMN 1H ($CDCl_3$, 200 MHz): δ (ppm) 7.48 – 7.04 (*m*, 10H, H-Ar), 3.85 – 3.68 (*m*, 2H CH_2), 3.65 (*d*, 3H, $J = 1.3$ Hz, OCH_3), 3.13 (*dddd*, 1H, $J = 15.0, 12.0, 8.7, 1.0$ Hz, CH), 2.14 (*dddd*, 1H, $J = 12.0, 6.6, 5.5, 1.0$ Hz, CH), 1.59 (*sa*, 1H, NH), 1.30 (*d*, 3H, $J = 6.6$ Hz, CH_3).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 50 MHz): δ (ppm) 23.5 (CH_3), 48.0 (CH), 52.4 (OCH_3), 58.3 (CH), 126.8 (CH-4'), 127.0 (CH-9), 127.0 (CH-13), 127.1 (CH-11), 128.7 (CH-10, CH-12), 128.8 (CH-3', CH-5', CH-2'), 129.1 (CH-6'), 137.8 (C-1'), 144.3 (C-8), 173.3 (CO).

9.2.3 Síntesis del ácido (*R,S*)-2-fenil-3-(*N*-feniletilamino)propanoico

En un matraz redondo de 100 mL provisto de agitación magnética se colocaron 0.83 g (3.1 mmol) del (*R,S*)-2-fenil-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propanoato de metilo y 50 mL de agua. La mezcla de reacción se refluyó durante 4 h hasta la desaparición total de

la materia prima. Se evaporó a presión reducida el disolvente hasta sequedad, no fue necesaria la purificación del producto.



Ácido (R,S)-2-fenil-3-(N-feniletilamino)propanóico

$C_{17}H_{19}NO_2$

PM: 283.16 g/mol

Sólido, polvo blanco

Temperatura de descomposición: 179-181 °C

Rendimiento: 83.5%

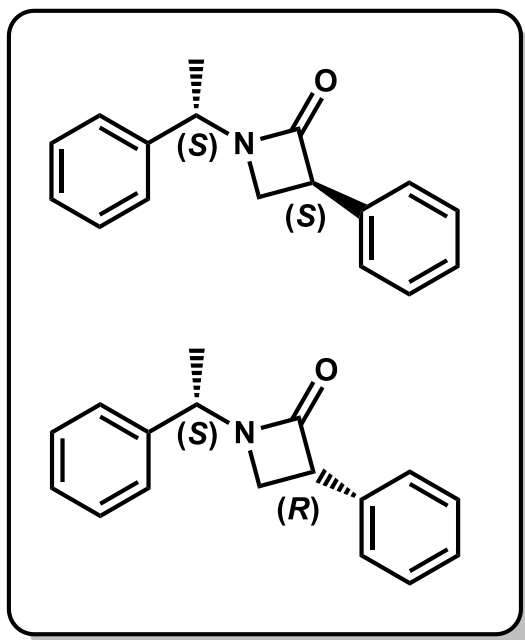
Las señales dentro del espectro de RMN 1H se encuentran traslapadas y con integral doble debido a la mezcla diastereoisomérica; de igual forma para el espectro de RMN ^{13}C , las señales se encuentran dobles

RMN 1H (CD₃OD, 200 MHz): δ (ppm) 7.54 – 7.08 (*m*, 10H H-Ar), 4.06 (*qt*, 1H, *J* = 6.9, 1.4 Hz, CH), 3.69 (*m*, 1H, CH), 3.13 (*m*, 1H, CH₂), 2.74 (*m*, 1H, CH₂), 1.49 (*dd*, 3H, *J* = 4.7, 1.6 Hz, CH₃).

RMN ^{13}C (CD₃OD, 50 MHz): δ (ppm) 22.0 (CH₃), 51.7 (CH), 51.8 (CH), 53.7 (CH₂), 54.1 (CH₂), 59.2 (CH), 59.5 (CH), 128.0 (CH), 128.3 (CH), 129.3 (CH), 129.4 (CH), 129.5 (CH), 129.7 (CH), 130.0 (CH), 130.1 (CH), 141.2 (C), 142.2 (C), 142.7 (C), 179.6 (CO).

9.2.4 Síntesis diastereoisomérica (S,S) y (S,R) de 3-fenil-1-(S)-N-feniletilazetidín-2-ona

En un matraz redondo de 100 mL provisto de agitación magnética, se añadieron 0.48 g del ácido (R,S)-2-fenil-3-((S)-N-bencilmetilamino)propanóico (1.82 mmol), acto seguido se agregaron 50 mL de Benceno; la mezcla de reacción fue purgada con N₂. Posteriormente se añadieron 0.51 mL (3.64 mmol) de Et₃N para después adicionar con jeringa de vidrio 0.39 mL (2.73 mmol) de dicloruro fenilfosfonico. A continuación, la reacción fue irradiada con microondas y puesta a reflujar por 30 min a 90 °C con 130 W de potencia. La β -lactamas fueron purificadas por cromatografía en columna con un sistema de gradiente (95:5 \rightarrow 7:3 Hex:AcOEt). Se lograron aislar dos sólidos en relación 1:1 de cada lactama.



(S)-3-fenil-1-(S)-N-feniletiazetidín-2-ona

$C_{17}H_{17}NO$

PM: 251.13 g/mol

Sólido, cera blanca

Punto de fusión: 49-51 °C

Rendimiento: 44.5%

Rotación Óptica: -128.30 CH_2Cl_2

(R)-3-fenil-1-(S)-N-feniletiazetidín-2-ona

$C_{17}H_{17}NO$

PM: 251.13 g/mol

Sólido, agujas cristalinas

Punto de fusión: 64-66 °C

Rendimiento: 44.5%

Rotación Óptica: -24.75 CH_2Cl_2

RMN 1H de (S,S)-1-bencilmetil-3-fenilazetidín-2-ona ($CDCl_3$, 200 MHz): δ (ppm) 7.12 - 7.48 (*m*, 10H, H-Ar), 5.04 (*q*, 1H, $J = 7.1$ Hz, CH), 4.26 (*ddd*, 1H, $J = 5.5, 2.7, 1.0$ Hz, CH), 3.65 (*t*, 1H, $J = 5.4$ Hz, CH_2), 3.15 (*dd*, 1H, $J = 5.4, 2.6$ Hz, CH_2), 1.62 (*d*, 3H, $J = 1.0$ Hz, CH_3).

RMN 1H de (S,R)-1-bencilmetil-3-fenilazetidín-2-ona ($CDCl_3$, 200 MHz): δ (ppm) 7.18 - 7.59 (*m*, 10H, H-Ar), 5.06 (*q*, 1H, $J = 7.1$ Hz, CH), 4.26 (*ddd*, 1H, $J = 5.5, 2.7, 1.0$ Hz, CH), 3.45 (*t*, 1H, $J = 5.4$ Hz, CH_2), 3.35 (*dd*, 1H, $J = 5.4, 2.6$ Hz, CH_2), 1.64 (*d*, 3H, $J = 1.0$ Hz, CH_3).

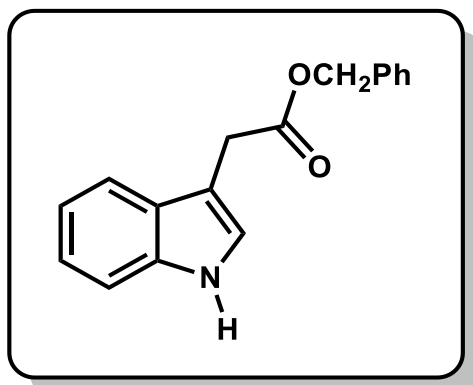
RMN ^{13}C de (S,S)-1-bencilmetil-3-fenilazetidín-2-ona ($CDCl_3$, 50 MHz): δ (ppm) 20.3 (CH_3), 47.1 (CH_2), 53.6 (CH), 65.5 (CH), 126.7 (CH), 127.1 (CH), 127.6 (CH, CH), 127.7 (CH, CH), 128.3 (CH, CH), 128.4 (CH, CH), 137.9 (C), 141.1 (C), 166.5 (CO).

RMN ^{13}C de (S,R)-1-bencilmetil-3-fenilazetidín-2-ona ($CDCl_3$, 50 MHz): δ (ppm) 20.7 (CH_3), 48.3 (CH_2), 53.2 (CH), 64.8 (CH), 126.8 (CH), 127.3 (CH), 127.6 (CH), 127.6 (CH), 127.9 (CH), 127.9 (CH), 128.1 (CH), 128.1 (CH), 128.4 (CH), 128.4 (CH), 137.4 (C), 141.5 (C), 166.8 (CO).

9.2.5 Síntesis del 2-(1*H*-indol-3-il)acetato de bencilo

En un matraz redondo provisto de agitación magnética se colocaron 0.5 g del ácido 3-indolacético (3.1 mmol), enseguida se adicionaron 50 mL de Tolueno. La mezcla de reacción permaneció en agitación durante 10 minutos. A continuación, se

agregan 0.93 g de K_2CO_3 (6.7 mmol), 0.83 mL de BnBr (6.7 mmol) y 1 mL de TDA-1 (3.1 mmol). La reacción se mantuvo a reflujo durante 2.5 h. Posteriormente el disolvente se eliminó en el rotaevaporador a 70 °C. Al crudo le fueron adicionados 10 mL de H_2O y la fase acuosa se extrae con AcOEt (3 x 10 mL), una vez reunida la fase orgánica se transfirió a un matraz Erlenmeyer limpio y seco, pasando por Na_2SO_4 anhidro para terminar de secar, la solución se filtra y el disolvente se evapora a presión reducida. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna en un sistema isocrático (9:1) Hex:AcOEt.



2-(1*H*-indol-3-il)acetato de bencilo

$C_{17}H_{15}NO_2$

PM: 265.31 g/mol

Líquido, aceite amarillo claro

Rendimiento: 83.8%

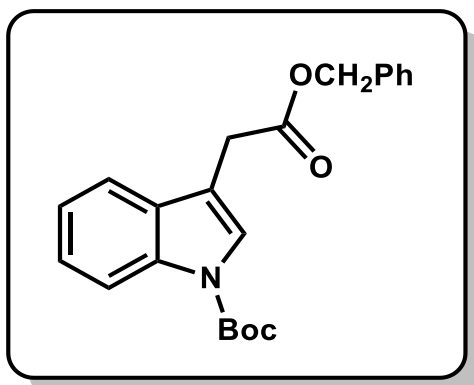
RMN 1H ($CDCl_3$, 200 MHz): δ (ppm) 8.12 (sa, 1H, H-4), 7.66 - 7.02 (*m*, 9H, H-Ar), 5.14 (*s*, 2H, CH_2), 3.8 (*d*, 2H, $J = 0.9$ Hz, CH_2).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 50 MHz): δ (ppm) 30.9 (CH_2), 66.4 (CH_2), 107.4 (C), 111.1 (CH), 118.8 (CH), 119.8 (CH), 121.7 (CH), 123.0 (CH), 127.1 (CH), 127.4 (CH), 127.6 (CH), 128.9 (CH, CH), 136.1 (C), 136.5 (C), 169.2 (CO).

9.2.6 Síntesis del 3-(2-benciloxi-2-oxoetil)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo

En un matraz de 100 mL provisto de agitación magnética se colocaron 0.5 g del 2-(1*H*-indol-3-il)acetato de bencilo (0.376 mmol) y 50 mL de un sistema de disolventes (9:1) Tol: CH_3CN , seguido de la adición de 0.005 g de DMAP (0.04 mmol). La mezcla de reacción se dejó en agitación por 10 min y posteriormente se añadió 0.098 g de anhídrido Boc (0.452 mmol). El crudo de reacción se somete a reflujo durante 3 h. Posteriormente el disolvente se eliminó en el rotaevaporador a 70 °C. Al crudo le fueron adicionados 10 mL de H_2O y la fase acuosa se extrae con AcOEt (3 x 10 mL), una vez reunida la fase orgánica se transfirió a un matraz Erlenmeyer limpio y seco, pasando por Na_2SO_4 anhidro para terminar de secar, la solución se filtra y el disolvente se evapora a presión reducida. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna, iniciando con un gradiente de concentración (98:2)

Hex:AcOEt y finalizando con (9:1) Hex:AcOEt, se obtuvieron 0.538 g de producto puro (79.2% de rendimiento) (Figura 2.2.2).



3-(2-benciloxi-2-oxoetil)-1H-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo

$C_{22}H_{23}NO_4$

PM: 365.16 g/mol

Líquido, aceite amarillo

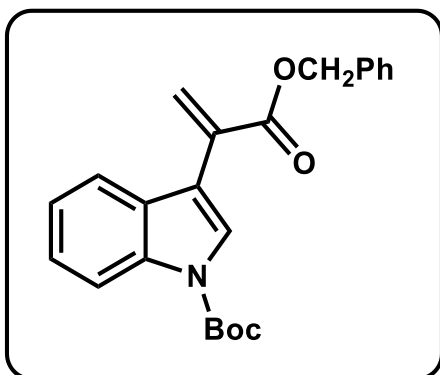
Rendimiento: 79.2%

RMN 1H ($CDCl_3$, 200 MHz): δ (ppm) 8.15 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz, CH), 7.71 – 6.97 (m, 9H, H-Ar), 5.15 (s, 2H, CH_2), 3.76 (d, 2H, $J = 1.1$ Hz, CH_2), 1.65 (s, 9H, $(CH_3)_3$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 50 MHz): δ (ppm) 28.2 ($(CH_3)_3$), 31.1 (CH_2), 66.8 (CH_2), 83.6 (C), 113.0 (C), 115.3 (CH), 119.0 (CH), 122.6 (CH), 124.4 (CH), 124.5 (CH), 128.3 (CH), 128.3 (CH), 128.6 (CH, CH), 130.04 (C), 135.4 (C), 135.7 (C), 149.6 (CO), 170.8 (CO).

9.2.7 Síntesis del 3-(3-benciloxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1H-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo

En un matraz redondo con capacidad de 100 mL, provisto de agitación magnética, y atmósfera inerte se colocó 0.8 g NaH (19.16 mmol) previamente lavado con hexano y a continuación se adicionaron 50 mL de THF anhidro. La solución anterior fue sumergida en un baño a 0 °C durante 5 min para después adicionar 0.5 g de 3-(2-benciloxi-2-oxoetil)-1H-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo (1.36 mmol) y 0.4 g de paraformaldehído (13.3 mmol), respectivamente. La reacción fue monitoreada por TLC, observándose la desaparición parcial o total de la materia prima. Posteriormente, se adicionaron 10 mL de agua destilada. La fase acuosa se extrajo con AcOEt (3 X 10 mL) y saturando la fase acuosa con NaCl, se secó sobre Na_2SO_4 , la solución fue filtrada y el disolvente evaporado a presión reducida. El crudo de reacción fue purificado por columna obteniéndose 0.270 g como un aceite amarillo claro.



3-(3-benciloxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1H-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo

$C_{23}H_{23}NO_4$

PM: 377.16 g/mol

Líquido, aceite amarillo claro

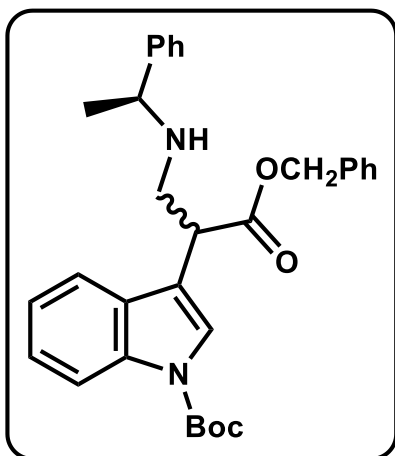
Rendimiento: 52.4 %

RMN 1H ($CDCl_3$, 200 MHz): δ (ppm) 8.20 (d, $J = 8.1$ Hz, CH), 7.94 - 7.14 (m, H-Ar), 6.53 (s, CH_2), 6.14 (s, CH_2), 5.09 (s, CH_2), 1.68 (s, $(CH_3)_3$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 50 MHz): δ (ppm) 28.2 ($(CH_3)_3$), 68.7 (CH_2), 82.2 (C), 115.4 (CH), 119.9 (CH_2), 122.9 (CH), 124.5 (CH), 126.7 (CH), 128.2 (CH, CH), 128.5 (CH, CH), 130.2 (C), 135.9 (C), 136.4 (C), 149.8 (CO), 171.5 (CO).

9.2.8 Síntesis del 3-((*R,S*)-1-benciloxi-1-oxo-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propan-2-il)-1H-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo

En un vial para microondas (sistema cerrado) provisto de agitación magnética, se colocaron 0.47 g de 3-(3-benciloxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1H-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo (1.24 mmol). Enseguida y a temperatura ambiente se adicionaron 0.24 mL (1.89 mmol) de la (*S*)-bencilmetilamina. La mezcla fue sometida a irradiación de microondas a una potencia de 100 W, una temperatura de 80 °C y una presión de 10 psi. De acuerdo con la referencia esta potencia es la adecuada para alcanzar los 80 °C, sin embargo, se recomienda disminuir o aumentar la potencia considerando que se busca alcanzar la temperatura previamente comentada. Una vez agotado el 3-(3-benciloxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1H-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo, el crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna por gradiente, comenzando por un sistema 9:1 (Hex:AcOEt), hasta llegar a 7:3 (Hex:AcOEt).



3-((*R,S*)-1-benciloxi-1-oxo-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propan-2-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo

$C_{31}H_{34}N_2O_4$

PM: 498.25 g/mol

Líquido, aceite amarillo

Rendimiento: 55.05 %

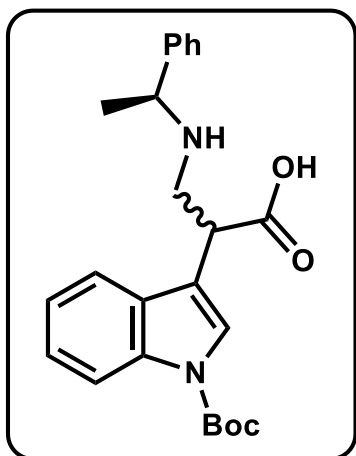
Las señales dentro del espectro de RMN 1H se encuentran traslapadas y con integral doble debido a la mezcla diastereoisomérica; de igual forma para el espectro de RMN ^{13}C , las señales se encuentran dobles

RMN 1H (CDCl₃, 200 MHz): δ (ppm) 8.12 (*d*, 1H, $J = 8.1$ Hz, CH), 7.57 – 7.10 (*m*, 9H, H-Ar), 5.13 (*m*, 2H, CH₂), 4.08 (*m*, 1H, CH), 3.81 (*m*, 1H, CH), 3.23 (*m*, 1H, CH₂), 2.94 (*m*, 1H, CH₂), 1.65 (*d*, 9H, $J = 1.7$ Hz, (CH₃)₃), 1.30 (*d*, 3H, $J = 6.6$ Hz, CH₃).

RMN ^{13}C (CDCl₃, 50 MHz): δ (ppm) 23.5 (CH₃), 27.9 ((CH₃)₃), 43.9 (CH), 49.6 (CH₂), 59.3 (CH), 66.7 (CH₂), 82.3 (C), 111.6 (CH), 115.3 (C), 119.3 (CH), 121.0 (CH), 124.8 (CH), 126.1 (CH), 127.1 (CH), 127.1 (CH), 127.2 (CH), 128.0 (CH), 128.3 (CH), 128.3 (CH), 128.4 (CH, CH), 128.7 (CH, CH), 130.1 (C), 135.6 (C), 136.2 (C), 144.3 (C), 149.8 (CO), 170.5 (CO).

9.2.9 Síntesis del ácido (*R,S*)-2-(1-*tert*-butoxicarbonil-1*H*-indol-3-il)-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propanóico

En un matraz redondo de 50 mL provisto de agitación magnética, se adicionaron 0.036 g del 3-((*R,S*)-1-benciloxi-1-oxo-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propan-2-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo (0.0722 mmol) y se disolvieron en 1 mL de AcOEt. Se adicionaron 10% en peso de Pd/C. Se agitó magnéticamente y se sometió a atmósfera de hidrógeno empleando un globo. Se realizó TLC a la hora de reacción empleando un sistema 9:1 (Hex:AcOEt), debido a que se observaba materia prima y físicamente se formaba un sólido, se adicionaron unas gotas de MeOH para lograr la homogeneidad de la reacción, la agitación continuó en atmósfera de hidrógeno durante 2 horas. Agotada la materia prima, el crudo de reacción se filtra empleando una cama de silica gel y 5 mL de AcOEt.



Ácido (*R,S*)-2-(1-*tert*-butoxicarbonil-1*H*-indol-3-il)-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propanóico

$C_{24}H_{28}N_2O_4$

PM: 408.20 g/mol

Líquido, aceite amarillo claro

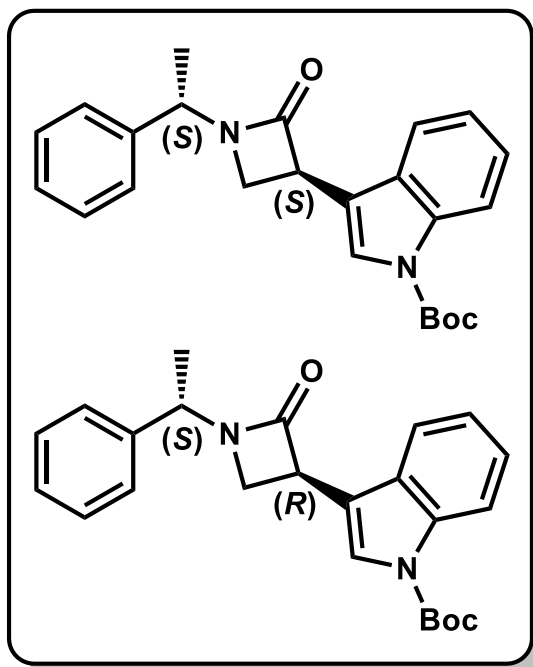
Rendimiento: 77 %

RMN 1H (CD₃OD, 200 MHz): δ (ppm) 8.10 (*dd*, 1H, $J = 7.7, 2.3$ Hz, CH), 7.58 – 7.09 (*m*, 9H, H-Ar), 4.33 (*m*, 1H, CH), 3.97 (*m*, 1H, CH), 3.30 – 2.95 (*m*, 2H, CH₂), 1.64 (*s*, 9H, (CH₃)₃), 1.29 (*s*, 3H, CH₃).

RMN ^{13}C (CD₃OD, 50 MHz): δ (ppm) 22.07 (CH₃), 27.9 ((CH₃)₃), 38.0 (CH), 51.8 (CH), 59.5 (CH), 128.0 (CH), 128.3 (CH, CH), 129.3 (CH, CH), 129.5 (CH), 129.7 (CH), 129.7 (CH), 130.0 (CH), 130.1 (CH, CH), 136.2 (C) 141.2 (C), 142.2 (C), 149.8 (CO), 179.6 (CO).

9.2.10 Síntesis diastereoisomérica (*S,S*) y (*S,R*) de 3-(2-oxo-1-(*S*)-*N*-feniletilazetidín-3-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo

En un matraz redondo de 50 mL, provisto de agitación magnética, se adicionaron 0.0228 g del ácido (*R,S*)-2-(1-*tert*-butoxicarbonil-1*H*-indol-3-il)-3-((*S*)-*N*-feniletilamino)propanóico (0.056 mmol) y 20 mL de acetonitrilo. A la mezcla se le adicionaron 0.02 mL de Et₃N (2.5 mmol) y 0.017 g del reactivo de Mukaiyama (1.1 mmol). La mezcla se irradió en el microondas a 90 °C y 130 W de potencia durante 15 min, en un sistema abierto. Al finalizar, el crudo de reacción se concentró a sequedad. Posteriormente se adicionaron 5 mL de CH₂Cl₂ y 10 mL de H₂O, se separó la fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a sequedad. Fue purificado por cromatografía en columna, iniciando con un sistema 99:1 (Hex:AcOEt) y terminando con un sistema 90:10 (Hex:AcOEt).



3-((S)-2-oxo-1-(S)-N-phenyletilazetidín-3-il)-1H-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo

$C_{24}H_{26}N_2O_3$

PM: 390.19 g/mol

Líquido, aceite amarillo

Rendimiento: 54.6%

Rotación Óptica: -13.0 $CHCl_3$

3-((R)-2-oxo-1-(S)-N-phenyletilazetidín-3-il)-1H-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo

$C_{24}H_{26}N_2O_3$

PM: 390.19 g/mol

Líquido, aceite amarillo

Rendimiento: 54.6%

Rotación Óptica: -4.0 $CHCl_3$

RMN 1H de (S,S)-1-bencilmetil-3-[(N-*tert*-butoxicarbonil)indoil]azetidín-2-ona ($CDCl_3$, 200 MHz): δ (ppm) 8.11 (*d*, 1H, $J=8.0$ Hz, CH), 7.51 – 7.08 (*m*, 9H, H-Ar), 5.08 (*q*, 1H, $J=7.1$ Hz, CH), 4.45 (*ddd*, 1H, $J=5.5, 2.7, 1.0$ Hz, CH), 3.70 (*dd*, 1H, $J=5.5$ Hz, CH_2), 3.18 (*dd*, 1H, $J=5.5, 2.7$ Hz, CH_2), 1.64 (*s*, 9H, $(CH_3)_3$), 1.67 (*d*, 3H, $J=7.1$ Hz, CH_3).

RMN 1H de (S,R)-1-bencilmetil-3-[(N-*tert*-butoxicarbonil)indoil]azetidín-2-ona ($CDCl_3$, 200 MHz): δ (ppm) 8.15 (*d*, 1H, $J=8.0$ Hz, CH), 7.59 – 7.22 (*m*, 9H, H-Ar), 5.07 (*q*, 1H, $J=7.1$ Hz, CH), 4.42 (*ddd*, 1H, $J=5.5, 2.7, 1.0$ Hz, CH), 3.52 (*dd*, 1H, $J=5.5$ Hz, CH_2), 3.34 (*dd*, 1H, $J=5.5, 2.7$ Hz, CH_2), 1.67 (*s*, 9H, $(CH_3)_3$), 1.68 (*d*, 3H, $J=7.1$ Hz, CH_3).

RMN ^{13}C de (S,S)-1-bencilmetil-3-[(N-*tert*-butoxicarbonil)indoil]azetidín-2-ona ($CDCl_3$, 50 MHz): δ (ppm) 18.19 (CH_3), 28.2 ($(CH_3)_3$), 43.7 (CH_2), 45.4 (CH), 51.6 (CH), 84.1 (C), 115.3 (CH), 119.0 (CH), 122.6 (CH), 123.4 (CH, CH), 124.6 (CH), 126.9 (CH, CH), 127.8 (CH, CH), 128.9 (CH, CH), 138.5 (C), 140.0 (C), 163.7 (CO), 167.0 (CO).

RMN ^{13}C de (S,R)-1-bencilmetil-3-[(N-*tert*-butoxicarbonil)indoil]azetidín-2-ona ($CDCl_3$, 50 MHz): δ (ppm) 18.2 (CH_3), 28.2 ($(CH_3)_3$), 43.9 (CH_2), 45.3 (CH), 51.6 (CH), 83.8 (C), 115.4 (CH), 118.9 (CH), 122.7 (CH), 123.2 (CH), 124.7 (CH), 126.8 (C), 126.9 (CH, CH), 127.7 (CH, CH), 127.8 (C), 128.8 (CH), 135.7 (C), 140.2 (C), 167.1 (CO), 172.9 (CO).

CAPÍTULO 10. BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Nelson, D. L.; Cox, M. M.; Principios de Bioquímica; OMEGA; 4ª EDICIÓN, **2005**.
- ² Benito-Garagorri D.; Felzmann W; Nerding S.; Höferl-Prantz K. *Heterocycles*. **2020**, *101*, 14.
- ³ Patocka, J.; Streda, L. *ASA Newsletter*. **2002**, *89*, 16.
- ⁴ Okada, Y. *Yak Zasi*. **2009**, *129*, 1141.
- ⁵ Rahman A. *Studies in Natural Products Chemistry*. **2000**, *22*, 273
- ⁶ Shinagawa S.; Kanamaru T.; Harada S.; Asai M.; Okazaki H. *Journal of medicinal chemistry*. **1987**, *30*, 1458.
- ⁷ Cardillo, G.; Tomasini, C. *Chemical Society Reviews*. **1996**, 117.
- ⁸ Anders, R.; Kleiman, J.; Nicholson, N.; Wazowicz, B.; Burns, D. *Cardiovascular Drug*. **2001**, *19*, 116.
- ⁹ Coppola, G. M.; Schuster, H. F. *Asymmetric Synthesis. Construction of Chiral Molecules Using Amino Acids*. Wiley: New York **1987**.
- ¹⁰ Sardina, F. J.; Rapoport, H. *Chemical Reviews*. **1996**, *96*, 1825-1872.
- ¹¹ Singh, G.S. *Mini-Reviews in Medical Chemistry*. **2004**, *4*, 69-93.
- ¹² Juaristi, E.; Soloshonok, V. A. Enantioselective synthesis of β -amino acids; *Wiley-interscience*. Second Edition, New Jersey, **2005**.
- ¹³ Rudat, J.; Brucher, B. R.; Syldatk, C. *AMB Express*, **2012**, *2*, 11.
- ¹⁴ Soloshonok, V.A.; Fokina, N.A.; Rybakova, A.V.; Shishkina, I.P.; Galuchko, S.V.; Sorochinsky, A.E.; Kukhar, V.P. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1995**, *6*, 1601-1610.
- ¹⁵ Woodward, R. B.; Neuberger, A.; Trenner, N. R.; Clarke, H. J.; Johnson, J. R.; Robinson, R. *Princeton University Press: Princeton*, **1949**, 415-439.
- ¹⁶ Singh, G.S. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. **2004**, *4*, 69-93
- ¹⁷ Nussbaum, F.; Brands, M.; Hinzen, B.; Weigand, S.; Häbich, D. *Angeandte Chemie International Edition*. **2006**, *45*, 5072-5129.
- ¹⁸ Miller, T.M.; Cleveland, D.W. *Science*. **2005**, *307*, 361-362.
- ¹⁹ Rothstein, J.D.; Patel, S.; Regan, M.R.; Haenggeli, C.; Huang, Y.H.; Bergles, D.E.; Jin, L.; Hoberg, M.D.; Vidensky, S.; Chung, D.S.; Toan, S.V.; Bruijn, L.I.; Su, Z-Z.; Pankaj Gupta, P.; Fisher, P.B. *Nature*. **2005**, *433*, 73-77.
- ²⁰ Sutton, J.C.; Bolton, S. A.; Hartl, K. S.; Huang, M.-H.; Jacobs, G.; Meng, W.; Ogletree, M. L.; Pi, Z.; Schumacher, W. A.; Seiler, S. M.; Slusarchyk, W. A.; Treuner, U.; Zalher, R.; Zhao, G.; Bisacchi, G. S. *Bioorganic.& Medicinal Chemistry Letters*. **2002**, *12*, 3229-3233.
- ²¹ Smith, D.M.; Kazi, A.; Smith, L.; Long, T.E.; Heldreth, B.; Turos, E.; Dou, Q.P. *Molecular Pharmacology*. **2002**, *61*, 1348-1358.
- ²² Kazi, A.; Hill, R.; Long, T.E.; Kuhn, D.J.; Turos, E.; Dou, Q.P. *Biochemical Pharmacology*. **2004**, *67*, 365-374.

- ²³ Brandi, A.; Cicchi, S.; Cordero, F.M. *Chemical Society Reviews*. **2008**, *108*, 3988-4035.
- ²⁴ Staudinger, H.; Justus Liebigs Annalen der Chemie. **1907**, *51*, 356-358.
- ²⁵ Jiao, L.; Liang, Y.; Xu, J. *J. Am. Chemical Society*. **2006**, *128*, 6060-6069.
- ²⁶ Angelaud, R.; Zhong, Y.-L.; Maligres, P.; Lee, J.; Askin, D. *Journal of Organic Chemistry*. **2005**, *70*, 1949-1952.
- ²⁷ Vassiliou, S.; Dimitropoulos, C.; Magriotis, P. A. *Synlett*, **2003**, 2398-2400.
- ²⁸ Pandey, G.; Dumbre, S. G.; Khan, M. I.; Shabab, M.; Puranik, V. G. *Tetrahedron Lett*, **2006**, *47*, 7923-7926.
- ²⁹ Whisler, M. C.; Beak, P. *Journal of Organic Chemistry*. **2003**, *68*, 1207-1215.
- ³⁰ Grainger, R. S.; Innocenti, P. *Angew. Chemie International Edition*. **2004**, *43*, 3445-3448.
- ³¹ Qian, X.; Zheng, B.; Burke, B.; Saindane, M. T.; Kronenthal, D. R. *Journal of Organic Chemistry*. **2002**, *67*, 3595-3600.
- ³² Lidström, P.; Tierney, J.; Wathey, B.; Westman, J. *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 9225.
- ³³ Gabriel, C. *Chemical Society Reviews*. **1998**, *27*, 213-224
- ³⁴ Escalante J., Carrillo-Morales, M., Linzaga I., *Molecules*. **2008**, *13*, 340.
- ³⁵ Houben, J., Weyl T. (1997). *Stereoselective Synthesis*. Stuttgart, New York: Thieme.
- ³⁶ Cordero, M.; Colman, T.; Avendaño, M. *Revista Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela* **2012**, *75*, 39-49.
- ³⁷ Sánchez-Montero, J.M. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. **2016**, *82*, 168-184.
- ³⁸ Mohammad-Zadeh, L. F.; Moses, L.; Gwaltney-Brant, S.M. *Journal of Veterinary Pharmacology & Therapeutics*. *31*, 187-199.
- ³⁹ Göthert, M. *Pharmacological Reports* **2013**, *65*, 771-786.
- ⁴⁰ Guridi, J.; Aldave, G. *Neurocirugía*, **2011**, *22*, 5-22.
- ⁴¹ Brandes, J. L.; Kudrow, D.; Stark, S. R.; O'Carroll, C. P.; Adelman, J. U.; O'Donnell, F. J.; Alexander, W. J.; Puill, S. E.; Barrett, P. S.; Lener, S. E. *J. American Medical Association*. **2007**, *297*, 1443.
- ⁴² Adams, D.; Benardeau, A.; Bickerdike, M. J.; Bentley, J. M.; Bissantz, C.; Bourson, A.; Cliffe, I. A.; Hebeisen, P.; Kennett, G. A.; Knight, A. R.; Malcolm, C. S.; Mizrahi, J.; Plancher, J.-M.; Richter, H.; Rover, S.; Taylor, S.; Vickers, S. P. *Chimia*, **2004**, *58*, 613.
- ⁴³ Sánchez-López, A. *Archivos de Cardiología de México*, **2009**, *79*, 83-94.
- ⁴⁴ Boess, E. L.; Martin, I. L. *Neuropharmacology*, **1994**, *33*, 275.
- ⁴⁵ Bonaventure, P.D.; Nepomuceno, K.; Miller, J.; Chen, C.; Kuei, F.; Kamme, D.T.; Tran, T.W.; Lovenberg, C.L. *European Journal of Pharmacology*. **2005**, *181*, 513.
- ⁴⁶ Mahmood, Z.A.; Ahmed, S.W.; Azhar, I.; Sualeh, M.; Baig, M.T; et al. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2010**, *23*, 349-357.
- ⁴⁷ Hill S.L.; Thomas S.H. *Clinical Toxicology*. **2011**, *49*, 705-719.

- ⁴⁸ Brandes, J. L.; Kudrow, D.; Stark, S. R.; O'Carroll, C. P.; Adelman, J. U.; O'Donnell, F. J.; Alexander, W. J.; Spuill, S. E.; Barrett, P. S.; Lener, S. E. *J. American Medical Association*. **2007**, *297*, 1443.
- ⁴⁹ Adams, D.; Benardeau, A.; Bickerdike, M. J.; Bentley, J. M.; Bissantz, C.; Bourson, A.; Cliffe, I. A.; Hebeisen, P.; Kennett, G. A.; Knight, A. R.; Malcolm, C. S.; Mizrahi, J.; Plancher, J.-M.; Richter, H.; Rover, S.; Taylor, S.; Vickers, S. P. *Chimia*, **2004**, *58*, 613.
- ⁵⁰ Carlsson A. *Americal Journal of Psychiatry*. **1978**, *135*, 164-73.
- ⁵¹ Losonczy, M.F; Davidson, M; Davis, K.L. *Psychopharmacology*, **1987**, *70*, 715-26.
- ⁵² Shinagawa, S.; Kanamaru, T.; Harada, S.; Asai, M.; Okazaki, H. *Journal of Medicinal Chemistry*. **1987**, *30*, 1458.
- ⁵³ Jacoby, E.; Mozzarelli, A. *Current Medicinal Chemistry*. **2009**, *16*, 4374-4381.
- ⁵⁴ Harvey, A. L. *Chemistry & Biology* **2007**, *11*, 480-484.
- ⁵⁵ Palomo, C.; Aizpurua, J.M.; Ganboa, I.; Oiarbide, M. *Current Medicinal Chemistry*. **2004**, *11*, 1837-1872.
- ⁵⁶ Davies, S.G.; Ichihara, O. *Tetrahedrom: Asymmetry*. **1991**, *2*, 183-186.
- ⁵⁷ Escalante, J.; González-Tototzin, M.A.; Aviña, J.; Muñoz-Muñiz, O.; Juaristi, E. *Tetrahedrom*. **2001**, *57*, 1883-1890.
- ⁵⁸ Valdéz-Camacho, J. R.; (2015). Diseño racional de Fármacos de Base metálica con potenciales propiedades anticancerígenas. (Tesis de para obtener el título de Maestría en Ciencias). Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos
- ⁵⁹ Resonancia Magnética Nuclear Departamento de Química Física, Universidad de Valencia. QFIII Tema 1 (1-3-2012), pp 1-36.
- ⁶⁰ Crichton, R.R.; Louro, R.O. *Practical Approaches to Biological Inorganic Chemistry*. Amsterdam: Elsevier **2013**.
- ⁶¹ Sheridan, R. P.; Venkataraghavan, R. *Accounts of Chemical Research*.**1987**, *20*, 322-329.
- ⁶² Langridge, R.; Ferrin, T.E.; Kuntz, I.D.; Connolly, M.L. *Science* **1981**, *211*, 661-666.
- ⁶³ Lazcano, P. J. & Escalante, J. (2017). Síntesis y acoplamiento molecular de β -aminoácidos derivados del ácido 2-[1-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metilindol-3-il]acético como inhibidores de Glicoproteína-P (Tesis para obtener el título de Licenciado en Farmacia). Universidad Autónoma de Morelos, Cuernavaca, Morelos.
- ⁶⁴ Mosso, M. D. & Navarrete, J. G. (2018). Diseño y síntesis de híbridos basados en ácido fenilpropónico como agonistas duales PPAR α / γ . (Tesis para obtener el título de Maestro en Farmacia). Universidad Autónoma de Morelos, Cuernavaca, Morelos.
- ⁶⁵ Maestro, Schrödinger, LLC, Nueva York, NY, **2019**.
- ⁶⁶ Trott, O.; Olson, A.J.; AutoDock Vina. *Journal of Computational Chemistry*, **2010**, *31*, 455-461.

-
- ⁶⁷ Pettersen, E.F.; Goddard, T.D.; Huang, C.C.; Couch, G.S.; Greenblatt D.M.; Meng, E.C.; Ferrin, T.E. *Journal of Computational Chemistry*. **2004**, *13*, 1605-12.
- ⁶⁸ ChemAxon. MarvinSketch (Version 19.4) [Windows]. Budapest, Hungría; **1998**.
- ⁶⁹ Lipinski, A. C.; Lombardo, F.; Dominy, W. B.; Feeney, J. P. *Drug Delivery Reviews*. **1997**, *23*, 3.
- ⁷⁰ Molinspiration Cheminformatics. **1986**. Retrieved 7 November 2019, from <https://www.molinspiration.com/about.html>
- ⁷¹ Feixiong, C.; Weihua, L.; Yadi, Z.; Jie, S.; Zengrui, W.; Guixia, L.; Philip, W.L.; Yun, T. *Journal of Chemical Information and Modeling*. **2012**, *52*(11), 3099-3105.
- ⁷² Valdéz-Camacho, J.R.; Rivera-Ramírez, J.D.; Escalante, J. *International Journal of Organic Chemistry*. **2018**, *09*, 10-22.
- ⁷³ Velázquez, R.M. & Escalante, J. (**2014**). Estudio de la reacción de adición tipo Michael de aminas sobre el sistema 2-fenil acrilato de metilo (Tesina para obtener el título de técnico laborista). Universidad Autónoma de Morelos, Cuernavaca, Morelos.
- ⁷⁴ Valdez-Camacho, J.R.; Cortés-Guzmán, K.P.; Torrés-Gómez, H.; Flores, R.; Leyva, M.A.; Escalante, J. *ChemistrySelect*. **2019**, *4*, 8311-8316.
- ⁷⁵ Kimura, K.T.; Asada, H.; Inoue, A.; Kadji, F.M.N.; Im, D., Mori, C.; Arakawa, T.; Hirata, K.; Nomura, Y.; Nomura, N.; Aoki, J.; Iwata, S.; Shimamura, T. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2019, *26*, 121-128.