



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS
CENTRO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS

“Preparación de lactamas α,γ -sustituidas con alta pureza óptica“

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN DISEÑO MOLECULAR Y NANOQUÍMICA

PRESENTA:
RAÚL OMAR SALAZAR MARTÍNEZ

DIRECTOR DE TESIS
DR. IVAN OMAR ROMERO ESTUDILLO

CUERNAVACA, MORELOS

NOVIEMBRE, 2020





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS



Control Escolar de Licenciatura

VOTOS DE APROBATORIOS

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

Por medio de la presente le informamos que después de revisar la versión escrita de la tesis que realizó el C. **SALAZAR MARTÍNEZ RAÚL OMAR** con número de matrícula **20154010578** cuyo título es:

“Preparación de lactamas α,γ -sustituidas con alta pureza óptica. ”.

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 20 de octubre del 2020

ATENTAMENTE
POR UNA HUMANIDAD CULTA

SE ADICIONA PÁGINA CON LAS EFIRMAS DE LOS SIGUIENTES:

DR. JOSÉ MARIO ORDOÑEZ PALACIOS
DR. JOSÉ LUIS VIVEROS CEBALLOS
DR. IVÁN OMAR ROMERO ESTUDILLO
DR. GABRIEL NAVARRETE VÁZQUEZ
M.C. PATRICIA MARTÍNEZ SALAS

PRESIDENTE
SECRETARIO
VOCAL
PRIMER SUPLENTE
SEGUNDO SUPLENTE



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

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

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

Sello electrónico

JUAN GABRIEL NAVARRETE VAZQUEZ | Fecha:2020-10-20 13:27:18 | Firmante

NZ3JvuK310KQEcXtUcvUgpcZZ2B9IKocQ/4ILlaxVBqRvVtsJukMiG7T68FHqPethG3h371Hyr8iWOjJQjyQTP0UBlo1n8klsxVK4VQa0oiHACTbRjhBqNiNU48EmmEE1ALN1ws
nya7zKJuu1WhJMZO5bnqynKY6/emnpATzWbd+xlu3ofrZzVylrWpmGWCicskFQLqZ3yTFYk+WN1EctUvGmANwrQ8qX69HXS/LrYwvnr73zZlv250eu0moAcv4HFFNWjV08ckiY
X4MqMQis8hruKxj3XqkLWEsFC8to/1X6rpdCtpZvgaSdiCHq31rLX3XDPRoH8W1Phe3A==

IVAN OMAR ROMERO ESTUDILLO | Fecha:2020-10-20 13:33:00 | Firmante

dmg+TgRgn0eIT1IZWdCNg0JjvrP3fc92QkLRVcwpEj9uBCDaZpbWE/jNn0G4r7ojp6oqnBFx44LijAROZDXNOiF0vUJOaStf48LkKEkSMUWDMQ9rOdONXhJ09Q0IWUomVphc6x
7yfyZrZpmvXUZhWZMD/sgGXVlxdknjM+yXDvmfX+kUHjauG0E5cTRGZhpFqMZUDdfcwVJdjWpXwHDpaZGjJr+xHou90c08to0IPassGLi7TR6a3JGDF3uqNPYnHRz+39qSiqSI
USAhoWPR4hEXKthsAaiHFAPWp4mVE+PB46tAv04pylmpulf06a3niZW6ii1w9RfHbOIONlg==

JOSE LUIS VIVEROS CEBALLOS | Fecha:2020-10-20 13:35:24 | Firmante

vY40QIK1jr4NdhSobmttRwfl59EQWrDKMuBKUeUytThkR1ZSYpzHLamFPBPzqi8q9TfX4I8YLWjUcXsXk2t8BnMADiKk1PS1+H6+wAqXaaMc38+bfU53SZNF2HidsYKIIr+r3BnQ
9zvYArCzVEC3OpCWWnlpUNQ4mcDZy44TLWGGDxFFZFawM4bcf+xZOTK/cb2WFcupBJ6IPC5+kf3xQDzhGfxummAyfRhuvhZlsJBLM5yKOehu1inR7+wXmRaOXcQzCI2l+cA
lr18c5QozVfmmkmpkoHXJJY6i7E5fap82l5EQ7cvYl36R/lJdKHaidbv01HwXcTa+yq64o/yyaA==

JOSE MARIO ORDOÑEZ PALACIOS | Fecha:2020-10-20 14:09:06 | Firmante

ylHGz4Q2GJ/KW2laDQo1duDRaRst195eqScri7oJfb/2LewBcid9clkg2jfl2zz6ou2w4RNaWMOxtEaEKndaXqN2M46h7H1xM52Si08WkJEixXI44IUoivAZ94UgZRNXBnm8rHnU
e4FWN0NnRqt1IGi+uSjtTuTGq7Wm4FS0h/bBQCqPvkobj7tpGrPau80ZEoedGhBX8cpDEGoScUvLhO62tTwQsbaF5hYEMLO7ec3qUZaZiPjY6dduUZV16MB2mVIN6rZaSxifDL
CWkBW+3PZyZkdKH4GXnCVDKR/QdUqL4i/paTnzeHXPeSu97Kgi1ImSfijU5zN0aCt+A==

PATRICIA MARTINEZ SALAS | Fecha:2020-10-20 15:01:24 | Firmante

01U2NSXtj/IDyzH1jf2XNBYT5bM3EPxOHfe15xjpUssYUz9x6A6WYXq6DPIsnLj1ukoN1rFaDN1RcgD+Z2vZi3WSrCZJiUuR7f60Gx/2F0CRKZ6GltqX0sWlu/c1Jl0f2wM/opmy/FZk
aC90rUvLkqE0XQvkNBcXCufar8uQUV/GFE/DFvVsgWCAnfxPihpggMFSVXTYsEog/dYoyXjLXZniITQ7taa79R0T5gRmmHvOcTkU+to2O3SY9n3pAE264QJknr69q9ng0mML
oDHYpHPDSrBwLu9kK8d60i5pKcJVulbd1q/bg2Py8R2hwAra6423ogTQkIG61kH2cA==

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



xDY6yT

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/Pw0cTszHF85HwzjwPsLcV0EU8iwwKqD0>





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

Dedicatoria

Lleno de regocijo, de amor y esperanza, dedico este proyecto a cada uno de mis seres queridos, quienes han sido mis pilares para seguir adelante.

Es para mi una gran satisfacción poder dedicarles a ellos, que con mucho esfuerzo, esmero y trabajo me lo he ganado.

A mis padres, Adan Salazar y Teresa Martínez, porque ellos son la motivación de mi vida, gracias por sus consejos, apoyo incondicional y paciencia, han forjado en mí una persona llena de valores e ideales con metas en la vida.

A mi hermano Héctor Salazar, que es la razón de sentirme tan orgulloso de culminar esta meta; solo un hermano puede amar como un padre, cuidar como una madre y apoyar como un amigo.

A mi abuelita Teresa Flores, quien es la mujer que me vio crecer y siempre me apoyó durante toda mi vida, gracias por darme la mejor versión de ti y hacerme la persona más feliz.

A mi abuelita Victoria Osorio, quien fue un gran ejemplo de mujer para mí, quien me cuidó y guió en este camino llamado vida, descansa en paz chus, te amo.

A ti, Jennifer Nava, nunca dudaste en impulsarme y luchar conmigo, eres una persona muy importante en mi vida, gracias por ser parte de esta etapa.

A Nayeli Valle, quien estuvo conmigo en todo mi proceso de formación académica, quien no dudó en apoyarme y estar conmigo en los momentos más difíciles, siempre estaré agradecido contigo.

Y sin dejar atrás a toda mi familia, a mis padrinos, primos y tíos, gracias por ser parte de mi vida y por permitirme ser parte de su orgullo.

Agradecimientos

De todo corazón agradezco a mis padres, quienes fueron mi pilar en esta etapa, son mi más grande inspiración y motivación, este camino estuvo lleno de altibajos, siempre estando los dos en cada uno de ellos.

A mi hermano, quien es uno de mis ejemplos de superación, a quien admiro y respeto desde tiempos memorables, gracias por tu apoyo incondicional y tus consejos.

A mis abuelitas, quien son mi ideal de amor, gracias por enseñarme a brillar en este mundo, gracias por su amor y cariño.

A mi asesor de tesis, al Dr. Ivan, quien me permitió trabajar en su grupo de investigación y me brindó todas las herramientas para ser el químico que soy hoy en día, por su cariño, apoyo y sobre todo su amistad, estoy muy agradecido por la confianza brindada.

Al M.C Oswaldo, quien más que un compañero de laboratorio se convirtió en mi hermano, gracias por los consejos para mejorar y ser un mejor profesionalista.

A mis compañeros de laboratorio: Betza, Fanny, Mizha, Erick, Hugo, Lalo, Morsol, Tadeo, Melchor, Glen, Xime y Yael.

Al Dr. Mario Ordoñez por permitirme un espacio para desarrollar este proyecto y por brindarme todas mis bases en química orgánica.

A mis compañeros de licenciatura: Mitzi, Alicia, Andrea, Alexa, Alain y Víctor, quienes fueron mis amigos durante toda mi formación académica.

A mis amigos de vida: Kerstin, Obed, Abraham Estrella, Abraham Roman, Francisco, Omar, Oliver y Sergio, con quienes he crecido y aprendido a ser una mejor persona.

Presentación en congresos nacionales:

Raúl Omar Salazar Martínez, Alicia Boto, Ivan Omar Romero Estudillo. Procesos secuenciales para la preparación de lactamas α,γ -disustituidas. XV Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica. Centro de Investigaciones Químicas, Campus Chamilpa, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos, del 8 al 12 de abril del 2019.

Raúl Omar Salazar Martínez, Alicia Boto, Ivan Omar Romero Estudillo. Síntesis diastereoselectiva de lactamas α,γ -disustituidas derivadas del ácido piroglutámico. XV años de Química Farmacéutica en la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Facultad de Farmacia, Campus Chamilpa, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos, 24 de mayo del 2019.

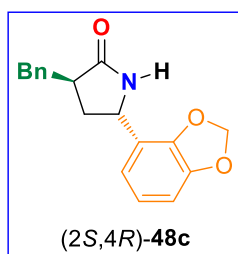
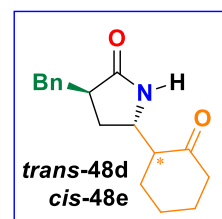
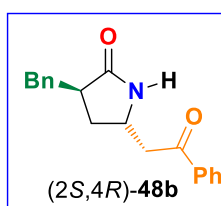
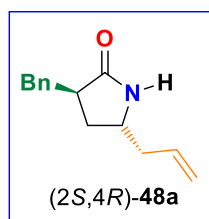
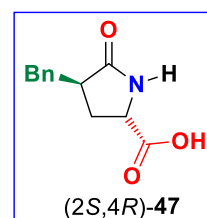
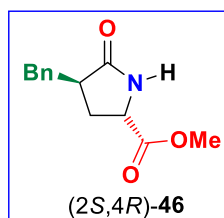
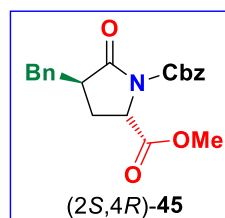
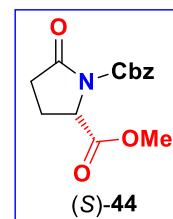
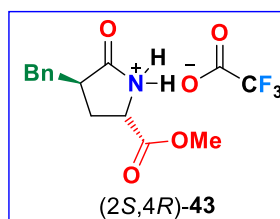
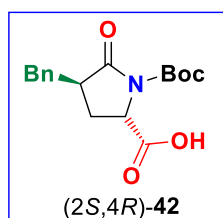
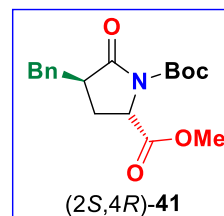
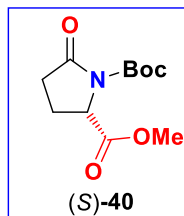
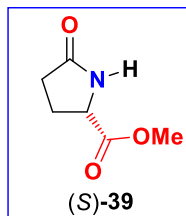
Raúl Omar Salazar Martínez, Alicia Boto, Ivan Omar Romero Estudillo. Procesos secuenciales para la preparación de lactamas α,γ -disustituidas con alta pureza óptica. 38 Congreso Nacional de Educación Química, 54 Congreso Mexicano de Química y Expoquímica. Complejo Cultural Universitario, BUAP, Pue., Puebla, México, del 30 de septiembre al 3 de octubre 2019.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1. Ácido γ -aminobutírico (GABA)	3
2.2. Biosíntesis y degradación de GABA.....	3
2.3. Receptores de GABA	4
2.4. GABA-Aminotransaminasa	5
2.5. Síntesis de análogos de GABA.....	5
2.6. Síntesis de γ -aminoácidos α,γ -disustituidos	9
3. JUSTIFICACIÓN	13
4. OBJETIVOS	14
4.1. Objetivo general	14
4.2. Objetivos específicos.....	14
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
5.1. Análisis retrosintético para la obtención de las lactamas α,γ -sustituidas. 15	
5.2. Síntesis del ácido 3-bencilpiroglutámico 47	15
5.2.1 Obtención del (S)-piroglutamato de metilo 39	15
5.2.2 Síntesis del 3-bencilpiroglutamato <i>N</i> -Boc protegido 41	17
5.2.3 Obtención del ácido 3-bencilpiroglutámico <i>N</i> -Boc protegido 42	18
5.3. Estudio del proceso secuencial de descarboxilación radicalaria-adición de C-nucleófilos	20
5.4. Síntesis del (S)-3-bencilpiroglutamato de metilo 47	25
5.5. Estudio de la descarboxilación-radicalaria-oxidativa-adición de C-nucleófilos	26
5.6. Estudios teóricos de acoplamiento molecular	31
5.6.1 Construcción del modelo de acoplamiento molecular	32
5.6.2 Validación del modelo de acoplamiento molecular	34
5.6.3 Resultados del modelo de acoplamiento molecular	35
5.7. Estudio de la hidrólisis de las lactamas α,γ -disustituidas 48a-b	38
5.8. Estudio de la protección de la lactama α,γ -disustituida 48b	39
6.4. Estudio de la hidrólisis de la lactama α,γ -disustituida 59b	40
6. CONCLUSIONES	43
7. PERSPECTIVAS.....	44
8. PARTE EXPERIMENTAL	45
8.1 Información general	45

PREPARACIÓN DE PRECURSORES.....	46
8.2 (S)-5-Oxopirrolidina-2-carboxilato de metilo 39	46
8.3 <i>N-terc</i> -Butoxicarbonil (S)-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilato de metilo 40 ..	46
8.4 (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-Bencil-5-oxopirrolidin-1,2-dicarboxilato de 1-(Butil) 2-metilo 41 ...	47
8.5 Ácido (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-Bencil-1-(butoxicarbonil)-5-oxopirrolidin-2-carboxílico 42 ...	48
8.6 (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-Bencil-5-oxopirrolidin-2-carboxilato de metilo 43	48
8.7 (S)-5-Oxopirrolidin-1,2-dicarboxilato de 1-bencilo 2-metilo 44	49
8.8 (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-Bencil-5-oxopirrolidin-1,2-dicarboxilato de 1-bencilo 2-metilo 45 .	50
8.9 (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-Bencil-5-oxopirrolidin-2-carboxilato de metilo 46	50
8.10 Ácido (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-bencil-5-oxopirrolidin-2-carboxílico 47	51
8.11 Procedimiento general para la descarboxilación radicalaria-adición de nucleófilos	52
8.11.1 (3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-5-Alil-3-bencilpirrolin-2-ona 48a	52
8.11.2 (3 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-3-Bencil-5-(2-oxo-2-feniletíl)-pirrolidin-2-ona 48b	53
8.11.3 (3 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-3-Bencil-5-(2-oxo-ciclohexil)pirrolidin-2-ona 48d y 48e	53
8.11.4 (3 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-5-(Benzo[<i>d</i>] [1,3]dioxo-4-il)-3-bencilpirrolidin-2-ona 48c	54
9. ANEXOS.....	55

Índice de Compuestos Sintetizados



Abreviaturas

BHE	Barrera Hematoencefálica
Boc	<i>t</i> -Butoxicarbonilo
COSY	Espectroscopia de correlación
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropiletilamina
DMAP	4-(<i>N,N</i> -dimetilamino)piridina
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos
GABA	Ácido γ -aminobutírico
GABA-AT	GABA-aminotransferasa
GAD	Glutamato Descarboxilasa
GLB	γ -Butirolactona
HSQC	Correlación cuántica heteronuclear
NaIO ₄	Peryodato de sodio
NOESY	Espectroscopia de mejora nuclear Overhauser
PDC	Dicromato de piridinio
PLP	Pirodoxal-5'-fosfato
PMP	Piridoxamina-5'-fosfato
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
SNC	Sistema Nervioso Central
SSA	Semialdehído Succínico
SSDH	Semialdehído Succínico Deshidrogenasa
TBAF	Fluoruro de <i>n</i> -tetrabutil amonio
TEA	Trietilamina
THF	Tetrahidrofurano

1. INTRODUCCIÓN

El Sistema Nervioso Central (SNC) está formado por el encéfalo y la médula espinal,¹ y su función principal es detectar, procesar y almacenar la información de la actividad en el interior del cuerpo, así como las situaciones externas. Su función normal y la actividad neuronal proporcionan al cerebro el equilibrio adecuado entre la excitación e inhibición de las neuronas.

Por otro lado, el ácido γ -aminobutírico (GABA) **1** es el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC en mamíferos y ejerce su acción fisiológica cuando interactúa con 3 subtipos de receptores: GABA_A, GABA_B y GABA_C.^{2,3} regulando de esta forma la excitación-inhibición de las neuronas. Las bajas concentraciones de GABA en el cerebro se han relacionado con el desarrollo de diversos trastornos psicológicos y neurológicos, tales como; epilepsia, dolor neuropático, depresión, ansiedad, migraña, enfermedad de Parkinson y Alzheimer.⁴

La administración de GABA **1** vía oral o intravenosa está limitada debido a su baja lipofilicidad y a su pobre capacidad para cruzar la barrera hematoencefálica (BHE).⁵ Para lograr lo anterior, distintos grupos de investigación e industrias farmacéuticas se han enfocado en el desarrollo de procesos químicos para la síntesis de análogos de GABA⁶ más lipófilos que sean capaces de cruzar la BHE. En trabajos recientes, su estudio se está expandiendo a su papel como agonistas y antagonistas de los receptores para el neurotransmisor GABA,⁷ así como inhibidores de la GABA-aminotransferasa (GABA-AT)⁸ y activadores de la

¹ Tuladhar, A.; Mitrousis, N.; Führmann, T.; Schoichet, M., **2015**, *Central Nervous System. Translational Regenerative Medicine* 415-435.

² Valenzuela, C. F.; Puglia, M. P.; Zucca, S. *Alcohol Res. Health.* **2011**, *34*, 106-120.

³ Chebib, M.; Johnston, G. A. R. *CEPP.* **1999**, *26*, 937-940.

⁴ Gajcy, K.; Lochyski S.; Librowski T. *Curr. Med. Chem.* **2010**, *17*, 2338-2347.

⁵ Padridge, W. M. *Arch. Neurol.* **2002**, *59*, 35-40.

⁶ a) Ordóñez, M.; Cativiela, C. *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 3-99. b) Ordóñez, M.; Cativiela, C.; Romero-Estudillo, I. *Tetrahedron: Asymmetry* **2016**, *27*, 999-1055.

⁷ Krall, J.; Balle, T.; Krosggaard-Larsen, N.; Sørensen, T. E.; Krosggaard-Larsen, P.; Kristiansen, U.; Frølund, B. *Advances in pharmacology* **2015**, *72*, 201-227.

⁸ a) Tovar-Gudiño, E.; Guevara-Salazar, J.; Bahena-Herrera, J.; Trujillo-Ferrara, J.; Martínez-Campos, Z.; Razo-Hernández, R.; Santiago, A.; Pastor, N.; Fernández-Zertuche, M. *Molecules* **2018**, *23*, 1128. b) Rodríguez-Lozada, J.; Tovar-Gudiño, E.; Guevara-Salazar, J.; Razo-Hernández, R.; Santiago, Á.; Pastor, N.; Fernández-Zertuche, M. *Molecules* **2018**, *23*, 2984.

descarboxilasa del ácido glutámico.⁹ Algunos ejemplos de fármacos análogos de GABA **1**³ aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos FDA (Food and Drug Administration por sus siglas en inglés), son el (*R*)-Baclofen **2** usado como relajante muscular de acción central y como agente antiespasmódico. Por otro lado, la Gabapentina **3** es un fármaco antiepiléptico y más recientemente se prescribe para el tratamiento del dolor neuropático y ansiedad. Otro ejemplo interesante es la (*S*)-Vigabatrina **4**, un inhibidor irreversible de la GABA-AT indicada para el tratamiento de epilepsia parcial resistente (Figura 1).

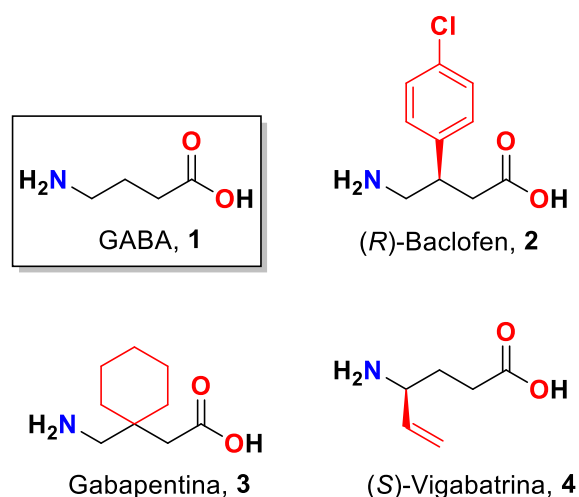


Figura 1. Análogos lipofílicos de GABA.

Como es de esperarse, la actividad biológica de los compuestos depende directamente de su estructura química y especialmente de su configuración absoluta, por lo que el desarrollo de métodos sintéticos para la obtención de compuestos enantioméricamente puros es un reto sintético en la búsqueda de nuevos fármacos.¹⁰ En este sentido, y dada la importancia que han mostrado los análogos de GABA enantioméricamente puros, en el presente trabajo se abordará el desarrollo de un proceso secuencial para la preparación de lactamas α,γ -disustituidas con alta pureza óptica como precursores útiles en la síntesis de análogos de GABA α,γ -disustituidos.

⁹ Taylor, C. P.; Vartanian, M. G.; Andruszkiewicz, R.; Silverman, R. B. *Epilepsy Res.* **1992**, *11*, 103-110.

¹⁰ a) Bhardwaj, K. K.; Gupta, R. J. *Oleo Sci.* **2017**, *66*, 1073-1084. b) Margolin, A. L. *Enzyme Microb. Technol.* **1993**, *15*, 266-280.

2. ANTECEDENTES

2.1. Ácido γ -aminobutírico (GABA)

El ácido γ -aminobutírico (GABA, **1**) es un aminoácido no proteínogénico. Estructuralmente, como todos los aminoácidos, se encuentra en su forma de zwitterión (con el grupo carboxilo desprotonado y el grupo amino protonado) (Figura 2).

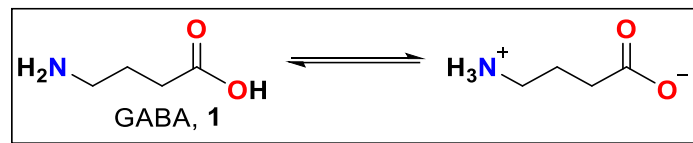


Figura 2. Ácido γ -aminobutírico (GABA) **1** y su forma de zwitterión.

El GABA **1** se encuentra ampliamente distribuido en bacterias,¹¹ plantas¹² y vertebrados¹³ y tiene dos acciones de gran relevancia en el cuerpo humano, una de ellas es la aceleración de la síntesis de proteínas en el cerebro, y la otra, el aumento de la secreción de las hormonas de crecimiento;¹⁴ además, es el responsable del 30-40% de la actividad sináptica inhibitoria.

2.2. Biosíntesis y degradación de GABA

El GABA se sintetiza a partir de la descarboxilación del glutamato, gracias a la acción de la enzima glutamato descarboxilasa (GAD), un proceso que ocurre en las neuronas gabaérgicas en el cerebelo, los ganglios basales y muchas áreas de la corteza cerebral. Esta enzima requiere de la presencia del cofactor piridoxal-5'-fosfato (PLP) (Paso 1). A continuación (Paso 2), el GABA es transformado a semialdehído succínico (SSA) gracias a la acción de la enzima GABA-

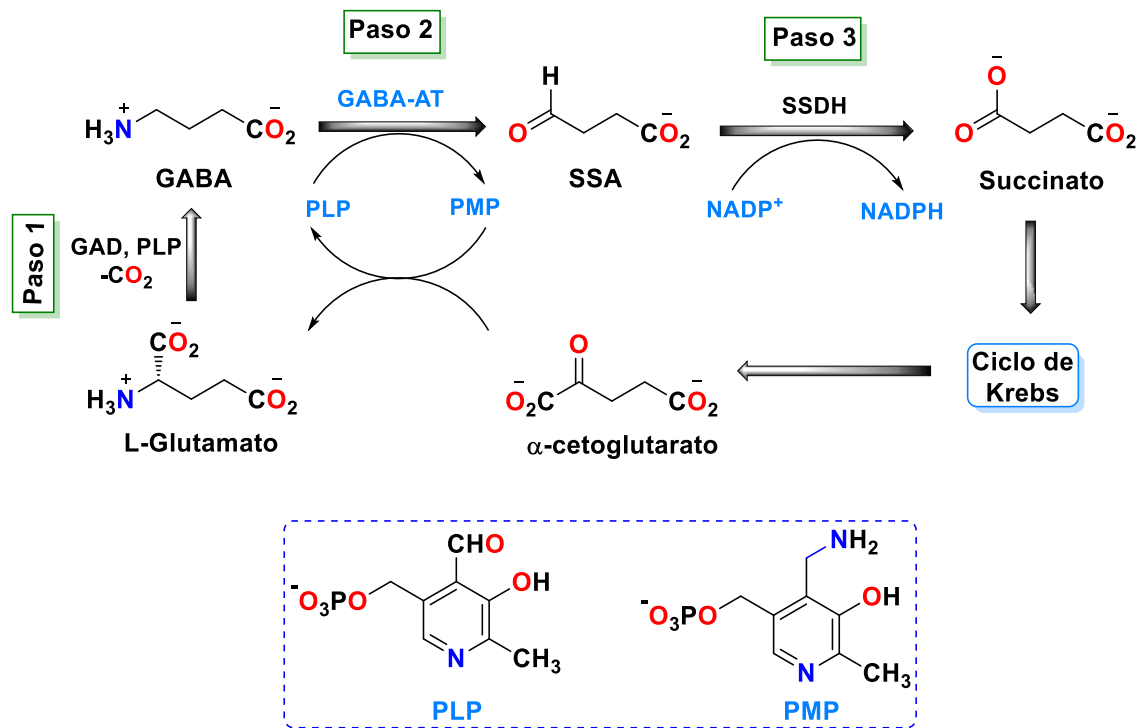
¹¹ Dhakal, R.; Bajpai, V. K.; Baek, K. H. *Braz. J. Microbiol.* **2012**, *43*, 1230-1241.

¹² Seifikalhor, M.; Aliniaiefard, S.; Hassani, B.; Niknam, V.; Lastochkina, O. *Plant Cell Reports* **2019**, *38*, 847-867.

¹³ Jessen, K. R.; Mirsky, R.; Dennison, M. E.; Burnstock, G. *Nature* **1979**, *281*, 71-74.

¹⁴ a) Takahara, J.; Yunoki, S.; Yakushiji, W.; Yamauchi, J.; Yamane, Y. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1977**, *44*, 1014-1017. b) Powers, M.E.; Yarrow, J.F.; McCoy, S.C.; Borst, S.E. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2008**, *40*, 104-110.

aminotransferasa (GABA-AT), enzima que depende igualmente de la presencia del cofactor PLP. La degradación de GABA trasmuta al PLP en piridoxamina-5'-fosfato (PMP) (Paso 2). Posteriormente, el semialdehído succínico (SSA) se oxida a succinato a través de la acción de la enzima semialdehído succínico deshidrogenasa (SSDH) (Paso 3). Y finalmente, el succinato ingresa al ciclo de Krebs y se convierte en α -cetoglutarato, el cual se transforma al L-Glutamato, a través de la regeneración del PMP a PLP (Esquema 1).



Esquema 1. Biosíntesis y degradación de GABA.

2.3. Receptores de GABA

Como ya se mencionó, el GABA 1 es el principal neurotransmisor inhibitorio en SNC y actúa a través de los receptores GABA_B acoplados a la proteína G metabotrópicos y los receptores GABA_A y GABA_C del canal de cloruro dependiente de ligandos ionotrópicos.¹⁵ Una vez liberado 1 al espacio sináptico, desencadena

¹⁵ Romaus-Sanjurjo D.; Rodicio MC.; Barreiro-Iglesias A. *Neural Regen. Res.* **2019**, *14*, 1695-1696.

su acción fisiológica al interactuar con estos tres subtipos de receptores. Estos receptores se encuentran localizados en las neuronas pre- y postsinápticas.¹⁶

Los receptores GABA_B son receptores acoplados a proteínas G heterodiméricos y se unen a GABA activando la proteína G α_i , que inhibe la adenilil ciclasa e inactiva los canales de Ca²⁺ dependientes de voltaje.¹⁷

Por otro lado, la activación del receptor GABA_A tras la unión de su ligando fisiológico, aumenta la permeabilidad a los aniones (Cl⁻), hiperpolarizándose la membrana, con la consiguiente disminución de la excitabilidad.

2.4. GABA-Aminotransaminasa

Uno de las estrategias implementadas para elevar los niveles de GABA en el cerebro humano, es el uso de moléculas pequeñas lipofílicas capaces de cruzar la barrera hematoencefálica, su mecanismo de acción está basado en inhibir de forma selectiva e irreversible la actividad de la GABA-AT y del 5'-fosfato de piridoxal (PLP) dependientes de la enzima que degrada el GABA **1**.¹⁸ Un inactivador de GABA-AT que promueve un aumento de la concentración de este neurotransmisor, es el fármaco antiepiléptico (S)-Vigabatrina **4** (Sabril®) que ha mostrado ser un medicamento eficaz para el tratamiento de crisis parciales. Sin embargo, su baja lipofilicidad aumenta las dosis utilizadas en terapia (2-6 g/día),¹⁹ y en consecuencia, se incrementan considerablemente la aparición de efectos secundarios tales como psicosis y la pérdida permanente de la visión.

2.5. Síntesis de análogos de GABA

Dada la importancia de los γ -aminoácidos y su aplicación en el desarrollo de fármacos para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, se han descrito numerosas rutas de síntesis para su preparación.⁶

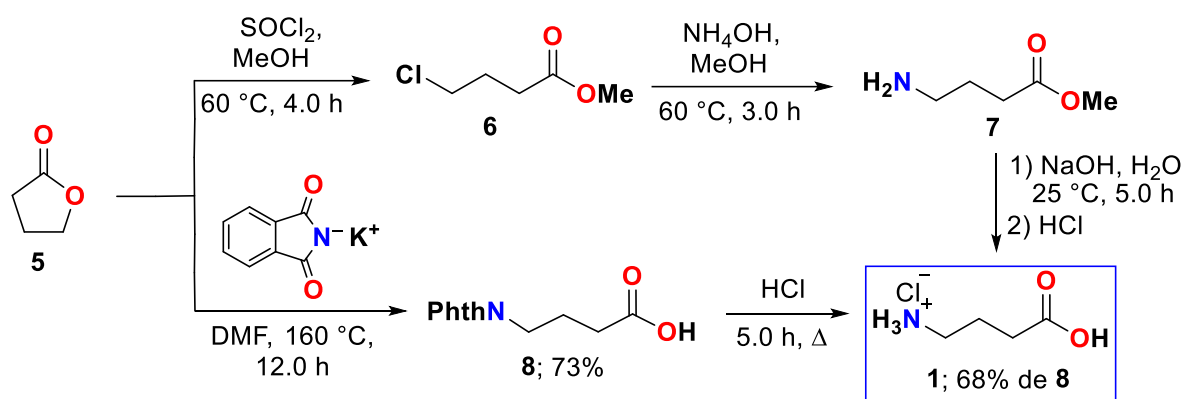
¹⁶ Bettler, B.; Kaupmann, K.; Mosbacher, J.; Gassmann, M. *Physiol. Rev.* **2004**, *84*, 835-867.

¹⁷ Mele, M.; Leal, G.; Duarte, C.B. *J. Neurochem* **2016**, *139*, 997-1018.

¹⁸ Gale, K. *Epilepsia* **1989**, *30*, S1-S11.

¹⁹ Tassinari, C. A.; Michelucci, R.; Ambrosetto, G.; Salvi, F. *Arch. Neurol.* **1987**, *44*, 907-910.

Recientemente Cimin y colaboradores²⁰ describieron una nueva metodología para la síntesis del ácido γ -aminobutírico **1** (Esquema 2). En este contexto, la γ -butirolactona (GBL) **5** se hizo reaccionar con cloruro de tionilo (SOCl_2) en metanol proporcionando el 4-clorobutanoato de metilo **6** que al hacerse reaccionar con hidróxido de amonio en metanol generó el 4-aminobutanoato de metilo **7**. Finalmente, la hidrólisis básica del éster **7** con hidróxido de sodio en agua y el tratamiento con HCl, proporcionó el clorhidrato del ácido γ -aminobutírico **1** (Esquema 2). Por otro lado, Talbot y colaboradores²¹ hicieron reaccionar la GBL **5** con ftalimida de potasio, generando de forma directa el derivado de ácido carboxílico **8**, que por hidrólisis con ácido clorhídrico y bajo calentamiento, produjo el hidrocloreuro de GABA **1** con un rendimiento químico del 68% (Esquema 2).



Esquema 2. Síntesis de GABA **1** a partir de γ -butirolactona **5**.

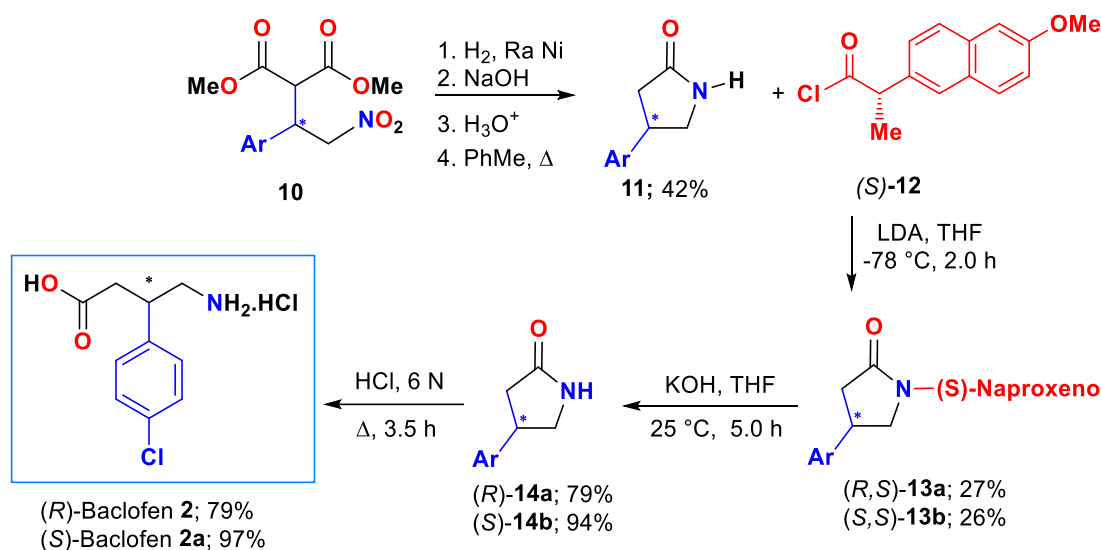
Un ejemplo descrito recientemente para la obtención de (*R*)-Baclofen **2** y (*S*)-Baclofen **2a** es el descrito por Linzaga-Elizalde y colaboradores²² (Esquema 3). La hidrogenación catalítica del γ -nitro éster **10** seguido de la saponificación de los ésteres utilizando una disolución de hidróxido de sodio y el subsecuente calentamiento en tolueno, proporcionó la β -lactama **11** con un rendimiento global

²⁰ Zhiyong, F.; Xin, W.; Xinyi, L.; Haiyan, L.; Qixiong, L.; Cimin, L. **2013**. Número de patente: CN103242183.

²¹ Talbot, G.; Gaudry, R.; Berlinguet, L. *Can. J. Chem.* **1958**, *36*, 593-596.

²² Montoya-Balbás, I.; Valentín-Guevara, B.; López-Mendoza, E.; Linzaga-Elizalde, I.; Ordoñez, M.; Román-Bravo, P. *Molecules* **2015**, *20*, 22028-22043.

del 42%. A continuación, se llevó a cabo la resolución de la β -lactama **11** haciendo reaccionar la mezcla racémica **11** con el cloruro de ácido del (S)-Naproxeno **12**, obteniendo los diastereoisómeros (R,S)-**13a** y (S,S)-**13b** con un rendimiento del 27% y 26%, respectivamente. La hidrólisis de las lactamas (R,S)-**13a** y (S,S)-**13b** con una disolución de KOH, generó las lactamas (R)-**14a** y (S)-**14b** con rendimientos del 79% y 94%, respectivamente. Finalmente, la hidrólisis ácida de las lactamas (R)-**14a** y (S)-**14b** con una disolución de HCl 6 N, dio lugar al (R)-Baclofen **2** y (S)-Baclofen **2a** con excelentes rendimientos químicos (Esquema 3).

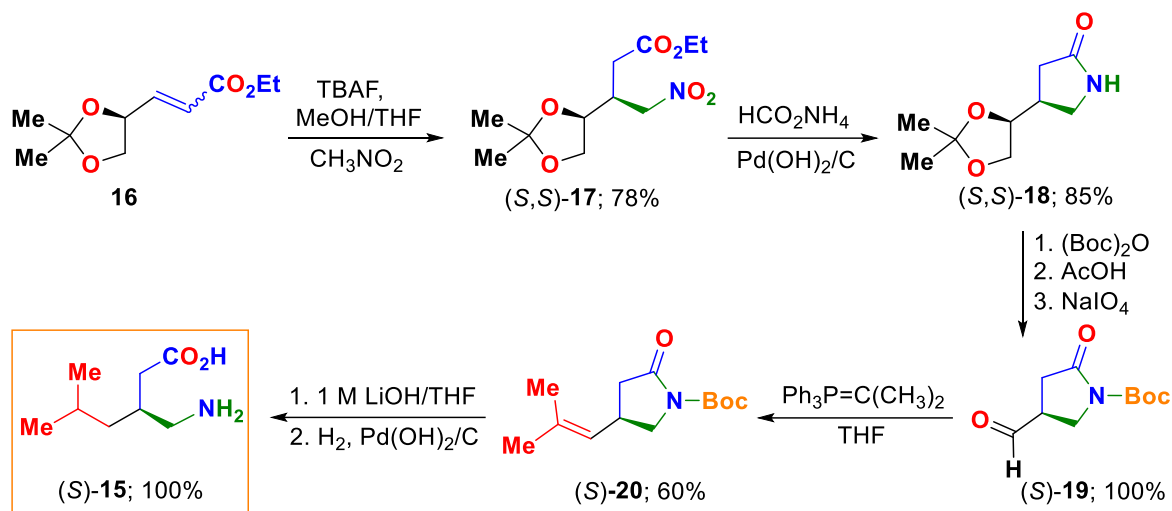


Esquema 3. Síntesis de (R)-Baclofen **2** y (S)-Baclofen **2a**.

Por otro lado, Ortuño y colaboradores²³ publicaron la síntesis de (S)-Pregabalina **15** (Esquema 4). Para lograr lo anterior, la adición 1,4 de nitrometano al éster α,β -insaturado **16** en presencia de fluoruro de *n*-tetrabutil amonio (TBAF), proporcionó el γ -nitroéster β -disustituido (S,S)-**17** con un rendimiento del 78%. La reducción del grupo nitro en (S,S)-**17** con formiato de amonio y como catalizador Pd(OH)₂/C, proporcionó la γ -lactama (S,S)-**18** con un rendimiento químico del 85%. A continuación, la lactama (S,S)-**18** se trató con (Boc)₂O, seguido de la hidrólisis del acetónido con ácido acético (AcOH) y la posterior oxidación con NaIO₄, generó el aldehído- γ -lactama (S)-**19** con un rendimiento cuantitativo. Posteriormente, el

²³ Izquierdo, S.; Aguilera, J.; Buschmann, H. H.; García, M.; Torrens, A.; Ortuño, R. M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 651-653.

aldehído- γ -lactama (S)-**19** se hizo reaccionar con isopropiliden trifenil fosforano, dando lugar al β -isobutenilo (S)-**20** con un rendimiento del 60%. Finalmente, la hidrólisis básica de la lactama (S)-**20** con una disolución de LiOH seguido de la hidrogenación catalítica del doble enlace utilizando Pd(OH)₂/C bajo atmósfera de hidrógeno, dio lugar a la (S)-Pregabalina **15** enantioméricamente pura con un rendimiento cuantitativo (Esquema 4).

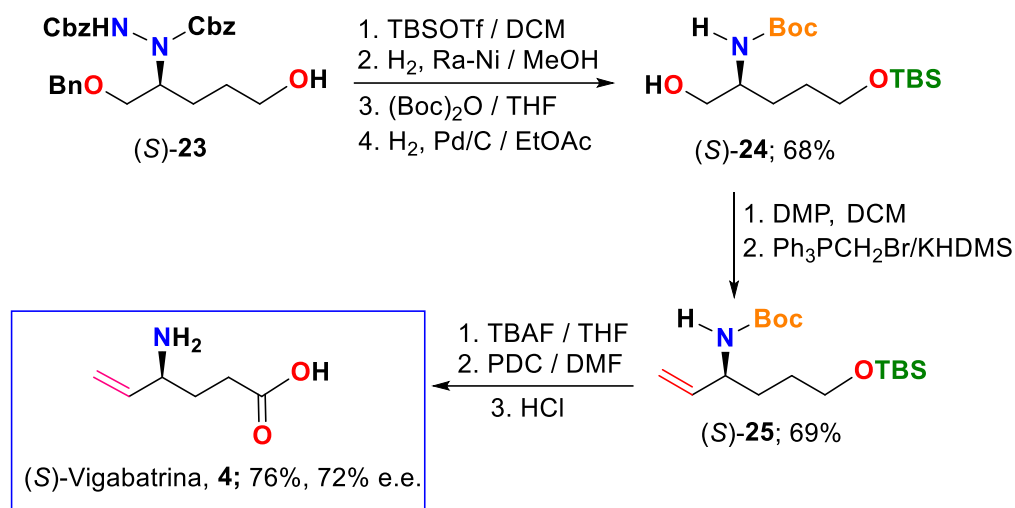


Esquema 4. Síntesis de (S)-Pregabalina **15**.

Otro ejemplo en la síntesis de análogos de GABA, es el descrito por Brenner-Moyer y colaboradores,²⁴ en donde describen una ruta sintética para la obtención de la (S)-Vigabatrina **4** (Esquema 5). En primer lugar, el γ -amino alcohol (S)-**23** se hizo reaccionar con trifluorometanosulfonato de *tert*-butildimetilsililo (TBSOTf), seguido del tratamiento con cantidades catalíticas de Niquel-Raney bajo una atmósfera de hidrógeno, seguido de la reacción con dicarbonato de di-*tert*-butilo y la hidrogenólisis del enlace O-Bn, utilizando Pd/C y una atmósfera de hidrógeno, proporcionó el alcohol (S)-**24** con un rendimiento del 68%. A continuación, el alcohol (S)-**24** se trató con Dess-Martin periodinano (DMP) seguido de la reacción con bromuro de metiltrifenilfosfonio, proporcionando el derivado (S)-**25** con un 69% de rendimiento. Finalmente, la reacción de (S)-**25** con fluoruro de tetra-*n*-butilamonio (TBAF) seguido del tratamiento con dicromato de piridinio (PDC) y una

²⁴ Appayee, C.; Fraboni, A. J.; Brenner-Moyer, S. E. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 8828-8834.

disolución de HCl 5 N, proporcionó a la (*S*)-Vigabatrina **4** con un rendimiento del 95% y un 72% de exceso enantiomérico (Esquema 5).



Esquema 5. Síntesis de (*S*)-Vigabatrina **4**.

2.6. Síntesis de γ -aminoácidos α,γ -disustituidos

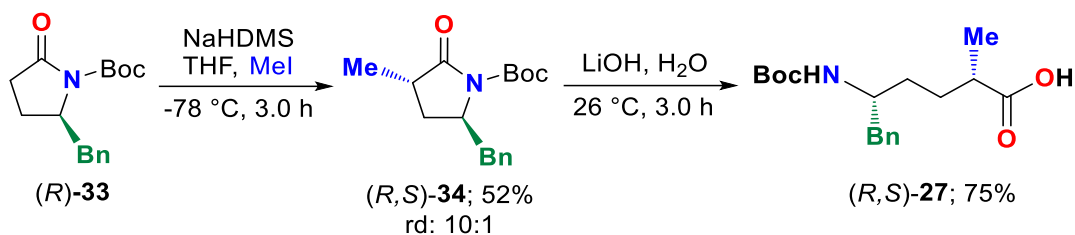
En la literatura existen pocos precedentes para la preparación de γ -aminoácidos α,γ -disustituidos y gran parte de ellos están dedicados a la síntesis de un fragmento para la obtención de la Tubusilina **26**,²⁵ un compuesto aislado del cultivo de cepas de *myxobacteria Archangium gephyra* Ar 315, que ha mostrado ser un potente inhibidor de la polimerización de tubulina, causando la desintegración del citoesqueleto y conduciendo a la apoptosis.²⁶ En este sentido, Parker y colaboradores²⁷ describieron la síntesis del γ -aminoácido α,γ -disustituido (*R,S*)-**27**, que fue utilizado como un fragmento clave en la preparación de la Tubulisina **26**. Así, el derivado de la nitrofenilalanina (*S*)-**28** se trató con Me₂SO₄ y Na₂CO₃ seguido por la reducción con borohidruro de sodio (NaBH₄), generando el

²⁵ a) Peltier, H. M.; McMahon, J. P.; Patterson, A. W.; Ellman, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16018-16019. b) Pando, O.; Dörner, S.; Preusentanz, R.; Denkert, A.; Porzel, A.; Richter, W.; Wessjohann, L. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 5567-5569.

²⁶ Gregory K.; Koushik, B. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1095-1098.

²⁷ Parker, J.; McCormick, M.; Anderson, D.; Maltman, B.; Gingipalli, L.; Toader, D. *Org. Process Res. Dev.* **2017**, *21*, 1602-1609.

Por otro lado, Fecik y colab.²⁸ desarrollaron la síntesis del γ -aminoácido α,γ -disustituido (*R,S*)-**26**. La lactama (*R*)-**33** se hizo reaccionar con bis(trimetilsilil)amida de sodio (NaHDMS) y yoduro de metilo, produciendo la lactama (*S,R*)-**34** con un rendimiento del 52%. La hidrólisis básica de (*S,R*)-**34** con NaOH, proporcionó el γ -aminoácido (*R,S*)-**26** con un rendimiento del 75% y una relación diastereoisomérica 10:1 (Esquema 7).

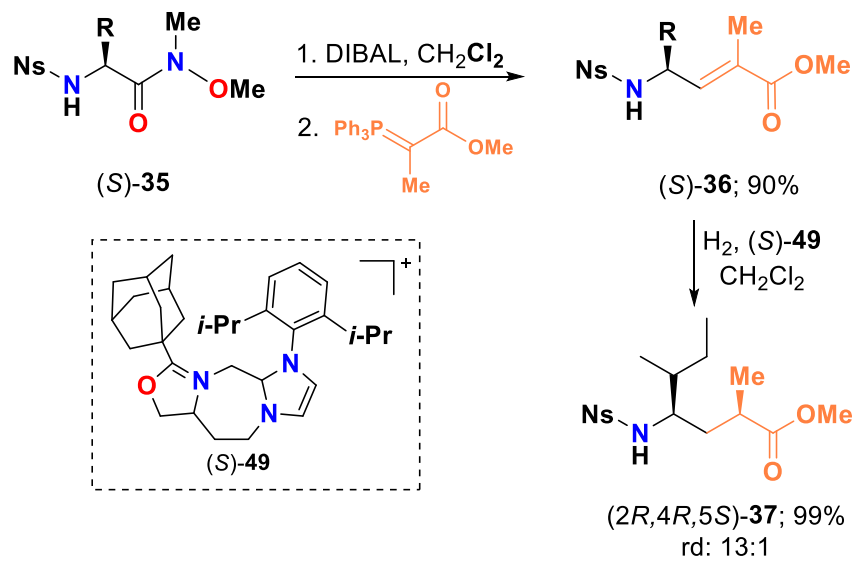


Esquema 7. Síntesis del γ -aminoácido α,γ -disustituido (*R,S*)-**27**.

Adicionalmente Zhu y colaboradores²⁹ describieron una metodología para la obtención de γ -aminoésteres α,γ disustituidos. En este sentido, la reducción de la amida de Weinreb (*S*)-**35** con hidruro de diisobutilaluminio (DIBAL-H) seguida de la olefinación de Wittig-Horner, proporcionó el compuesto (*S*)-**36** α,β -insaturado, que por hidrogenación catalítica asimétrica del doble enlace utilizando (*S*)-**49** dio lugar al γ -aminoéster α,γ -disustituido (*S,R*)-**37** con un excelente rendimiento químico (Esquema 8).

²⁸ Raghavan, B.; Balasubramanian, R.; Steele, J.; Sackett, Dan.; Fecik, R. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 1530-1533.

²⁹ Zhu, Y.; Khumsubdee, S.; Schaefer, A.; Burgess, K. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 7449-7457.



Esquema 8. Obtención del γ -aminoéster α,γ -disustituido $(2R,4R,5S)$ -**37**.

3. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años distintos grupos de investigación han enfocado su atención en la síntesis de nuevos γ -aminoácidos biológicamente activos. Dentro de los métodos más utilizados para su preparación, se encuentra la formación de enlaces C-C a través de la homologación de α -aminoácidos,³⁰ y gran parte de sus estudios de actividad se enfocan en su potencial como agonistas y antagonistas de los receptores para el neurotransmisor GABA. Como se mencionó en la introducción, el GABA es el principal neurotransmisor que participa en la comunicación entre neuronas, y juega un papel importante en el comportamiento, cognición, y en la respuesta del cerebro frente a situaciones de estrés. Los niveles bajos del neurotransmisor GABA se asocian a distintos trastornos psicológicos y neurológicos; sin embargo, su administración vía oral o intravenosa está limitada debido a su baja lipofilicidad y a su pobre capacidad para cruzar la barrera hematoencefálica.

En este contexto, en el presente proyecto se propone el desarrollo de un proceso secuencial de descarboxilación radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos, para la preparación de lactamas α,γ -sustituidas con alta pureza óptica, las cuales son precursores claves en la preparación de γ -aminoácidos α,γ -disustituidos más lipofílicos que serán capaces de cruzar la barrera hematoencefálica.

³⁰ (a) Reetz, M. T.; Griebenow, N.; Goddard, R. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 58, 1605-1606; (b) Hanessian, S.; Schaum, R. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 163-167. (c) Smrcina, M.; Majer, P.; Majerova, E.; Guerassina, T. A.; Eisenstat, M. A. *Tetrahedron* **1997**, 53, 12867-12874. (d) Loukas, V.; Noula, C.; Kokotos, G. *J. Pept. Sci.* **2003**, 9, 312-319.

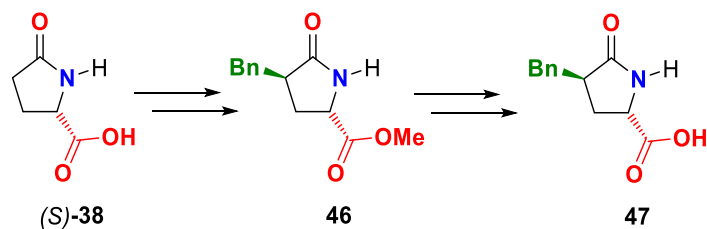
4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

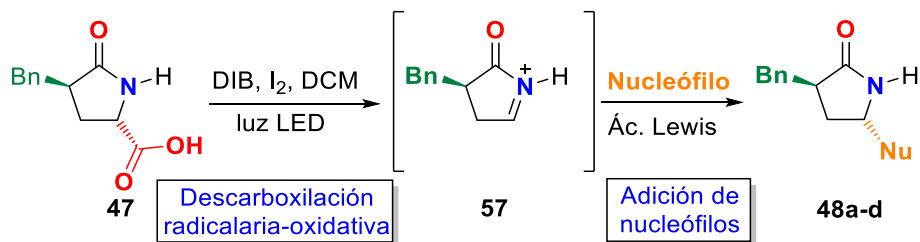
Desarrollar un proceso secuencial de descarboxilación radicalaria-oxidativa-adición de C-nucleófilos para la preparación de las lactamas α,γ -disustituidas **48a-d** con alta pureza óptica.

4.2. Objetivos específicos

- a) A partir del ácido (S)-piroglutámico **38** comercial, llevar a cabo la síntesis del 3-bencilpiroglutamato de metilo **46**. Obtener el ácido 3-bencilpiroglutámico **47** a través de la hidrólisis del 3-bencilpiroglutamato de metilo **46**.



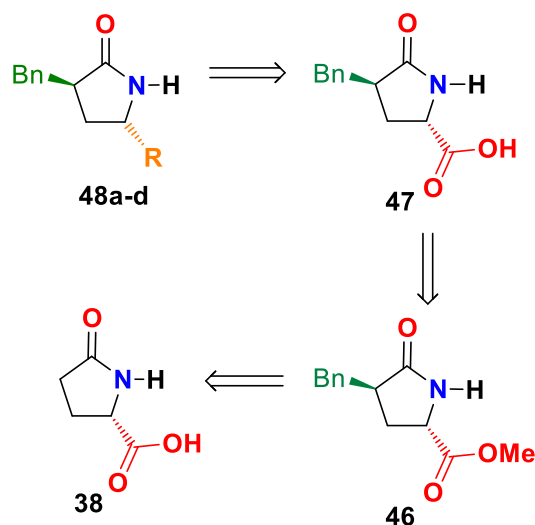
- b) Estudiar el proceso secuencial de descarboxilación radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos para la preparación de las lactamas α,γ -disustituidas **48a-d** vía el ion aciliminio **57**.



5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Análisis retrosintético para la obtención de las lactamas α,γ -sustituidas.

De acuerdo al siguiente análisis retrosintético (Esquema 9), la obtención de las lactamas α,γ -disustituidas **48a-d** se podrían obtener a través de un proceso secuencial de descarboxilación radicalaria oxidativa-adición de nucleófilos a partir del ácido 3-bencilpiroglutámico **47**, que a su vez se podrá obtener por bencilación y esterificación del ácido (S)-piroglutámico **38** comercialmente disponible.



Esquema 9. Análisis retrosintético para la obtención de las lactamas α,γ -disustituidas **48a-d**

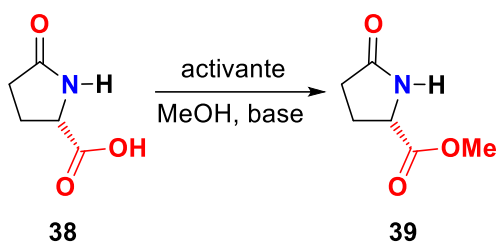
5.2. Síntesis del ácido 3-bencilpiroglutámico **47**

5.2.1 Obtención del (S)-piroglutamato de metilo **39**

Con base al análisis retrosintético propuesto en el Esquema 9. En primer lugar se buscaron las condiciones óptimas para la obtención del (S)-piroglutamato de metilo **39**. Como se observa en la Tabla 1, en el Ensayo 1, el ácido (S)-piroglutámico **38** se hizo reaccionar con metanol y 7.0 equivalentes de cloruro de trimetilsilano (TMSCl) a temperatura ambiente durante 48.0 horas, logrando obtener el (S)-piroglutamato de metilo **39** con un rendimiento del 43%. En segundo experimento, el ácido (S)-piroglutámico **38** disuelto en metanol, se hizo reaccionar

con cantidades catalíticas de SOCl_2 (0.4 equiv) y se agitó a temperatura ambiente durante 24.0 horas, obteniendo el éster métilico **39** con un rendimiento del 32% (Tabla 1, Ensayo 2). Cuando se utilizaron cantidades equimolares de SOCl_2 , y después 48.0 horas de agitación, se logró obtener el (S)-piroglutamato de metilo **39** con un rendimiento del 53% (Tabla 1, Ensayo 3). Con base en los resultados anteriores, se decidió estudiar la influencia de lo equivalentes de SOCl_2 y el tiempo de reacción. Para ello, la reacción se llevó a cabo durante 2.5 y 4.0 horas a temperatura ambiente y utilizando 1.4 equivalentes de SOCl_2 , se logró obtener el éster métilico **39** con rendimientos del 88 y 98%, respectivamente (Tabla 1, Ensayos 4 y 5). Finalmente, el ácido (S)-piroglutámico **38** disuelto en metanol se trató con 1.0 equivalente de SOCl_2 , la mezcla se calentó a 90 °C durante 3.0 horas, obteniendo el ácido (S)-piroglutámico **38** sin reaccionar (Tabla 1, Ensayo 6).

Tabla 1. Optimización de las condiciones de reacción para la obtención del (S)-piroglutamato de metilo **39**.



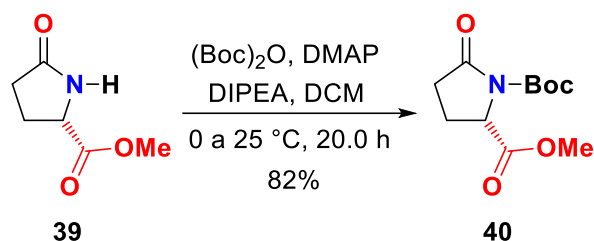
Ensayo	Activante	Equiv.	Temp. (° C)	Tiemp. (h)	Rend. (39)
1	TMSCl	7.0	25	48.0	43%
2	SOCl_2	0.4	25	24.0	32%
3	SOCl_2	1.0	25	48.0	53%
4	SOCl_2	1.4	25	2.5	88%
5	SOCl_2	1.4	25	4.0	98%
6	SOCl_2	1.0	90	3.0	--

Para comprobar la pureza óptica del (S)-piroglutamato de metilo **39** se determinó su rotación específica y se comparó con el valor descrito en la literatura,

observando un valor de rotación de $[\alpha]_D = +10.5$ (c 1.0, EtOH)³¹ para ambos compuestos.

5.2.2 Síntesis del 3-bencilpiroglutamato *N*-Boc protegido 41

Una vez obtenido el éster metílico **39**, y para evitar reacciones no deseadas. En primer lugar, se llevó a cabo la síntesis del (*S*)-piroglutamato de metilo *N*-Boc protegido **40** (Esquema 10). Con base en los trabajos descritos por Renault, y colaboradores³² una disolución del (*S*)-piroglutamato de metilo **39** en diclorometano se hizo reaccionar a 0 °C utilizando cantidades catalíticas de DMAP, la base de Hünig (DIPEA) y (Boc)₂O, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20.0 horas, produciendo el (*S*)-piroglutamato de metilo *N*-Boc protegido **40** con un rendimiento del 82% (Esquema 10).



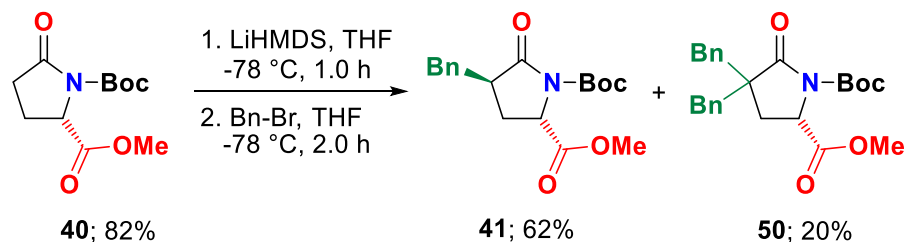
Esquema 10. Síntesis del (*S*)-piroglutamato de metilo *N*-Boc protegido **40**.

Es importante resaltar que la protección de la amida con el carbamato de Boc cumple principalmente dos funciones: evitar reacciones secundarias (disminución de generación de subproductos) y activar el carbonilo de la amida (aumento de la acidez de los protones α al carbonilo de la amida) en la reacción de alquilación.

Con base en lo anterior, una disolución (*S*)-piroglutamato de metilo *N*-Boc protegido **40** disuelto en THF seco a -78 °C se hizo reaccionar con una disolución 1 M de LiHDMS, seguido de la adición de bromuro de bencilo, proporcionando el 3-bencilpiroglutamato *N*-Boc protegido **41** con un rendimiento del 62% y la lactama α,α -dibencilada **50** con un 20% de rendimiento (Esquema 11).

³¹ Suchy, Moimir; Elmehriki, Adam A. H.; Hudson, Robert H. E. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3952-3955.

³² Vu, H. D.; Renault, J.; Roisnel, T.; Gouault, N.; Uriac, P. *J. Org. Chem.* **2014**, *21*, 4506-4514.

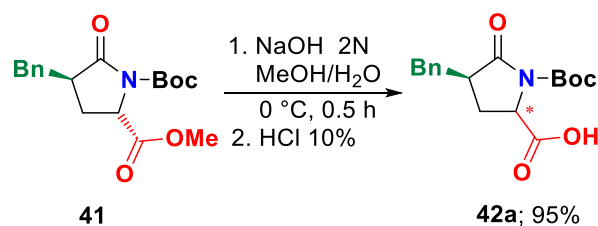


Esquema 11. Síntesis de las lactamas α,γ -disustituidas **41** y **50**.

Con base en lo descrito por Bassoli y colaboradores,³³ el 3-bencilpiroglutamato *N*-Boc protegido **41** se obtuvo con una alta pureza óptica y un exceso diastereoisomérico del 99%.

5.2.3 Obtención del ácido 3-bencilpiroglutámico *N*-Boc protegido **42**

A continuación, el 3-bencilpiroglutamato *N*-Boc protegido **41** se hizo reaccionar a 0 °C con una disolución de NaOH 2 N en una mezcla de H₂O/MeOH por 0.5 horas. En un segundo paso, la mezcla de reacción se acidificó (pH = 2) a temperatura ambiente utilizando una disolución de HCl al 10%, proporcionando el ácido 3-bencilpiroglutámico *N*-Boc protegido **42a** con un rendimiento del 95% (Esquema 12).



Esquema 12. Obtención del ácido 3-bencilpiroglutámico *N*-Boc protegido **42a**.

³³ Bassoli, A.; Borgonovo, G.; Busnelli, G.; Morini, G.; Merlini, L. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 12, 2518-2525.

El espectro de RMN de ^1H del compuesto **42a**, reveló la epimerización del centro estereogénico de la posición 5 (Figura 4).

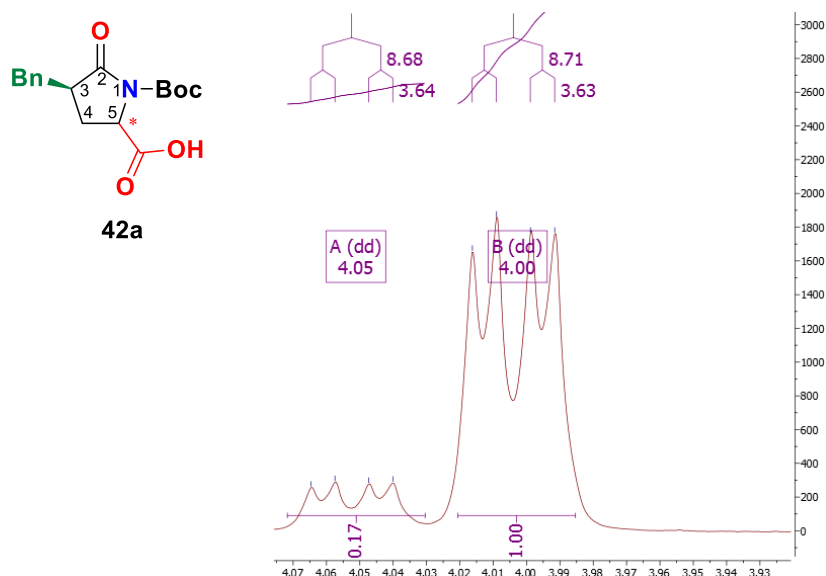
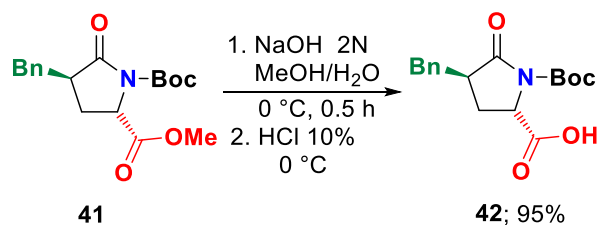


Figura 3. Espectro de RMN ^1H del ácido 3-bencilpiroglutámico *N*-Boc **42a**.

Con base en el resultado anterior, se dedujo que al acidificar la reacción a temperatura ambiente (segundo paso) se llevaba a cabo la epimerización del centro estereogénico. Para comprobar lo anterior, se repitió la reacción modificando el segundo paso de reacción. Así, una disolución del 3-bencilpiroglutamato *N*-Boc protegido **41** disuelto en MeOH a 0 °C se hizo reaccionar con una disolución de NaOH 2 N (H₂O/MeOH) durante 0.5 horas seguido de la adición de una disolución de HCl al 10% a 0 °C hasta alcanzar un pH = 2, generando el ácido **42** con un rendimiento del 95% (Esquema 13).



Esquema 13. Obtención del ácido 3-bencilpiroglutámico *N*-Boc **42**.

En el espectro de RMN ^1H para el compuesto **42** obtenido bajo estas condiciones se observó como un solo producto de reacción (Figura 4). Comprobando que la temperatura juega un papel fundamental para obtener compuestos ópticamente puros.

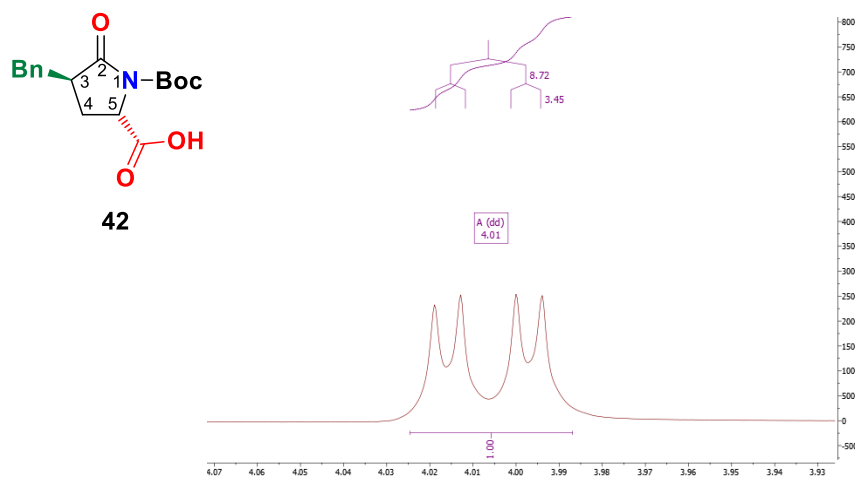


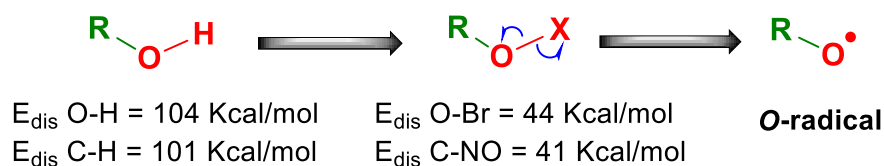
Figura 4. Espectro de RMN ^1H del ácido 3-bencilpiroglutámico *N*-Boc **42**.

5.3. Estudio del proceso secuencial de descarboxilación radicalaria-adición de C-nucleófilos

Los procesos de fragmentación estudiados en el grupo de investigación del Dr. Romero inician con la conversión de un alcohol o ácido en un *O*-radical (denominado radical alcoxilo si se genera a partir de alcoholes y radical carboxilo a partir de un ácido).³⁴ El *O*-radical es una especie altamente reactiva que presenta un electrón desapareado centrado en el átomo de oxígeno. Aunque formalmente se puede considerar que proviene de la ruptura homolítica del enlace O-H de un fragmento C-O-H, en la práctica los *O*-radicales no pueden ser preparados directamente a partir del alcohol, o del ácido, esto se debe a la elevada energía del enlace O-H (104 Kcal/mol), que es superior incluso a la del enlace C-H (95/101 Kcal/mol, C-terciarios/C-primarios). Por lo tanto, para generar un *O*-radical, el

³⁴ (a) *Radicals in Organic Synthesis*; Renaud, P.; Sibi, M.P., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, **2001**, vol. 1 y 2. (b) Giese, B.; Porter, N.; Curran, D. P. *Stereochemistry of Radical Reactions*, VCH, Weinheim, **1995**. (c) Curran, D. P.; Jasperse, C. L.; Fevig, T. L. *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 1237-1286.

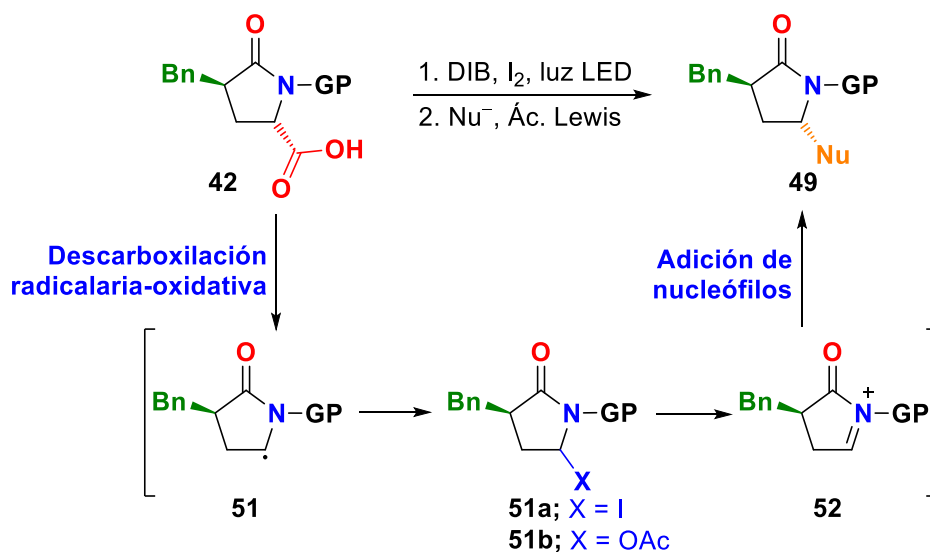
enlace O-H se debe transformar en un enlace más débil, tipo oxígeno-heteroátomo O-X (X = halógeno, NO, SAr, Pb(OAc)₃, etc),³⁵ que por irradiación con luz visible, luz LED o calentamiento se puede llevar a cabo la ruptura homolítica, generando los correspondientes O-radicales (Esquema 14).



Esquema 14. Generación de radicales alcoxilo a partir de enlaces RO-H.

Con base en lo anterior, en este apartado se estudiará un proceso secuencial de descarboxilación radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos, que iniciaría con un proceso dominado de descarboxilación radicalaria-oxidativa, al tratar el ácido 3-bencilpiroglutámico *N*-Boc protegido **42** con una mezcla de (diacetoxi)yodobenceno (DIB) y yodo en diclorometano bajo irradiación de luz LED, la cual generará el ion aciliminio intermedio **52**, que al tratarse con distintos nucleófilos en presencia de un ácido de Lewis daría lugar a una gran variedad de lactamas α,γ -disustituidas **49** con alta pureza óptica (Esquema 15).

³⁵ (a) Cekovic, Z. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8073-8090. (b) Spicer, C. W.; Villa, A.; Wiebe, H. A. Heicklen, J. J. *Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 13-20. (c) Mayo, F. R. *Acc. Chem. Res.* **1968**, *7*, 193-201.

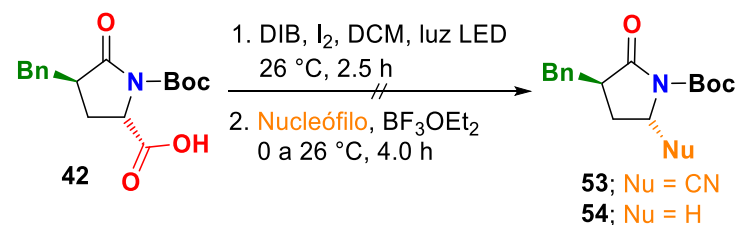


Esquema 15. Proceso secuencial de descarboxilación radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos.

Con base en los trabajos previos descritos por Boto y col.³⁶ se estudió el proceso secuencial de descarboxilación-radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos. Como se comentó anteriormente el proceso consta de dos pasos: el primero es la generación del intermedio *N*-aciliminio **52**, y el segundo paso corresponde a la adición de nucleófilos en presencia de un ácido de Lewis. Para llevar a cabo el estudio del proceso secuencial, en un primer experimento (Tabla 2, Ensayo 1) el ácido 3-bencilpiroglutámico *N*-Boc protegido **42** se hizo reaccionar con una mezcla de (diacetoxi)yodobenceno (DIB, 3.0 eq) y yodo (1.0 eq) en diclorometano seco bajo irradiación de luz LED durante 2.5 horas, generando el *N*-aciliminio **52**, el cual se hizo reaccionar con cianuro de trimetilsililo (TMSCN) (5.0 eq) y trifluoruro de boro eterato (BF₃OEt₂) (2.0 eq) a 0 °C; sin embargo, bajo estas condiciones de reacción no fue posible identificar el producto **53**. En segundo ensayo, se decidió usar como nucleófilo un hidruro. En este contexto, el ácido 3-bencilpiroglutámico *N*-Boc protegido **42** se hizo reaccionar con 3.0 equivalentes de DIB y 1.2 de yodo a temperatura ambiente bajo irradiación de luz LED, seguido de la adición de hidruro de trietilsilano (Et₃SiH) y BF₃OEt₂, no observándose la formación del producto **54** (Tabla 2, Ensayo 2).

³⁶ a) Boto, A.; Hernández, D.; Guzmán, D.; Alvarez, E. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 7736-7742. b) Batchu, V. R.; Romero-Estudillo, I.; Boto, A.; Miguélez, J. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 9547-9556. c) Boto, A.; Romero-Estudillo, I. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3426-3429.

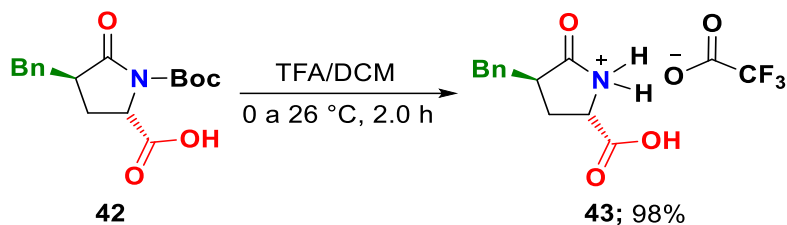
Tabla 2. Ensayos para la obtención de lactamas α,γ -sustituidas **53** y **54**.



Ensayo	Yodo (eq)	Nucleófilo (eq)	Rend. (%)
1	1.0	TMSCN (2.0)	--
2	1.2	Et ₃ SiH (2.0)	--

Con base en los resultados anteriores, se dedujo que el grupo protector Boc esta impidiendo la cara *si* y el grupo bencilo la cara *re*, esto debido a la distribución en el espacio de minima energía que tiene el ion *N*-aciliminio intermediario **52**.

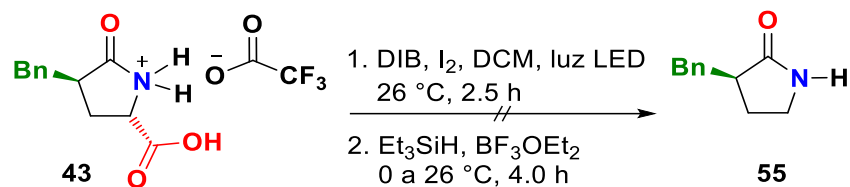
Para favorecer la adición del nucleófilo por la cara *si* se preparó un sistema que no contenga el grupo Boc, por lo tanto, se llevó a cabo la desprotección de la amida. Así, el ácido 3-bencilpiroglutámico *N*-Boc protegido **42** se hizo reaccionar con ácido trifluoroacético (TFA) en diclorometano (DCM) a 0 °C, obteniendo la sal de trifluoroacetato **43** con un rendimiento del 98% (Esquema 16).



Esquema 16. Desprotección del grupo Boc.

Una vez obtenido la sal del ácido 3-bencilpiroglutámico **43**, se estudió la descarboxilación-radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos. En primer lugar, el ácido **43** se trató con una mezcla de DIB/I₂ en DCM bajo irradiación de luz LED durante 2.5 h, seguido de la adición lenta de Et₃SiH y trifloruro de boroeterato a 0

°C; sin embargo, bajo estas condiciones tampoco fue posible obtener el producto **55** (Esquema 17).



Esquema 17. Proceso secuencial de descarboxilación-oxidación-adición de hidruro.

Con base en el resultado anterior, se dedujo que la sal de trifluoroacetato juega un papel importante en el proceso de descarboxilación-adición de nucleófilos, y se propone que esto se debe a que se encuentra como sal, provocando una disminución en la reactividad del nitrógeno y baja solubilidad en DCM, impidiendo la formación del ion *N*-aciliminio, limitando la formación de la lactama α,γ -disustituida. Para resolver lo anterior, se decidió cambiar el grupo protector en la lactama por un carboxibencilo (Cbz) que al llevar a cabo la desprotección evitaría la formación de sales.

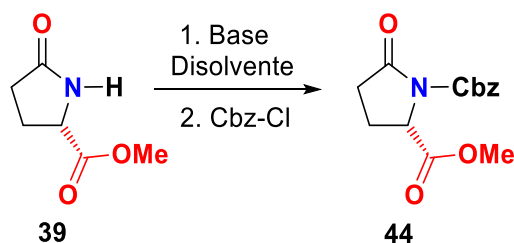
En este contexto, se llevó a cabo el estudio de la protección del (*S*)-piroglutamato de metilo **39** con cloroformiato de bencilo. Como se muestra en la Tabla 3, en el Ensayo 1 y con base en la metodología descrita por Hausch y col.³⁷ una disolución del (*S*)-piroglutamato de metilo **39** en THF seco a 0 °C se hizo reaccionar con hidruro de sodio (NaH) seguido de la adición de cloroformiato de bencilo (Cbz-Cl) y agitación a temperatura ambiente durante 20.0 horas, generando el (*S*)-piroglutamato de metilo *N*-Cbz protegido **44** con un rendimiento del 50% (Tabla 3, Ensayo 1). En el Ensayo 2, el (*S*)-piroglutamato de metilo **39** disuelto en diclorometano seco a 0 °C se trató con DIPEA, cantidades catalíticas de DMPA,³⁸ y Cbz-Cl. La mezcla de reacción se agitó durante 72.0 horas, obteniendo el (*S*)-piroglutamato de metilo *N*-Cbz protegido **44** con un rendimiento del 65%. Con la finalidad de aumentar el rendimiento en la protección y con base en lo descrito por

³⁷ Bischoff, M., Sippel, C., Bracher, A.; Hausch, F. *Org. Lett.*, **2014**, *16*, 5254-5257.

³⁸ He, W., Griffiths, B. M., Wang, W., & Wang, X. *Org. Biomol. Chem.*, **2017**, *15*, 4241-4245.

Martin y colaboradores³⁹ una disolución del (S)-piroglutamato de metilo **39** en THF seco a -78°C y se trató con una disolución 1 M de LiHDMS, seguido de la adición de Cbz-Cl, generando el (S)-piroglutamato de metilo *N*-Cbz protegido **44** con un rendimiento del 90% (Tabla 3, Ensayo 3).

Tabla 3. Ensayos para la protección del (S)-piroglutamato de metilo **39**



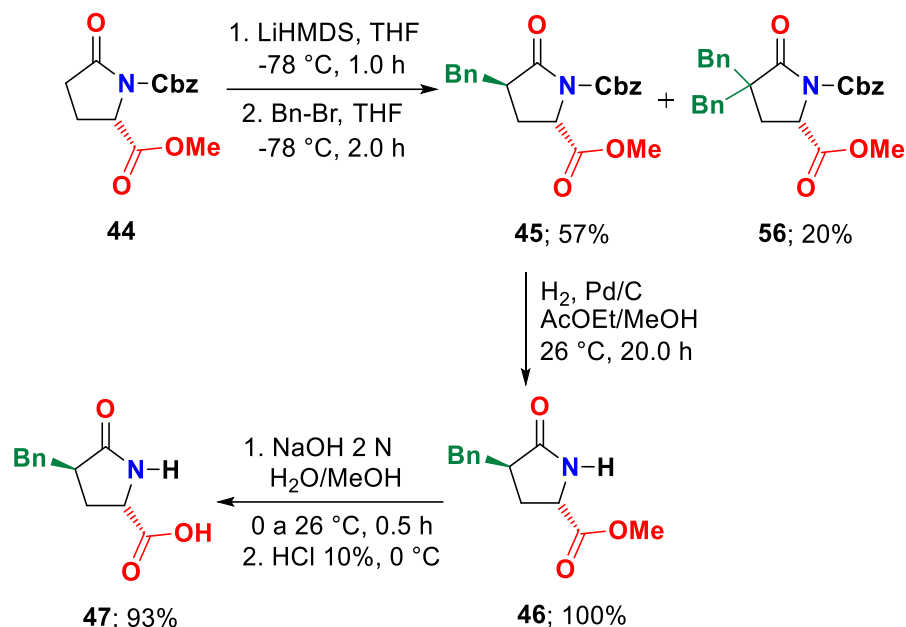
Ensayo	Base (eq.)	Catal. (eq.)	Disolv	Cbz-Cl (eq.)	Tiempo (h)	Rend (44)
1	NaH (1.1)	-----	THF	1.1	20.0	50%
2	DIPEA (1.5)	DMAP	DCM	1.5	72.0	65%
3	LiHMDS (1.1)	-----	THF	1.1	2.0	90%

5.4. Síntesis del (S)-3-bencilpiroglutamato de metilo **47**

Una disolución del compuesto *N*-Cbz protegido **44** en THF seco a -78 °C se hizo reaccionar con una disolución 1 M de LiHDMS, seguido de la adición de bromuro de bencilo, obteniendo el 3-bencilpiroglutamato *N*-Cbz protegido **45** con un rendimiento del 57% y la lactama α,α -dibencilada **56** con 20% de rendimiento (Esquema 18). A continuación, la lactama **45** se trató bajo condiciones de hidrogenólisis. Así, la lactama **45** disuelta en MeOH/AcOEt se trató con cantidades catalíticas de Pd/C (20 mol%) utilizando una atmósfera de hidrógeno, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20.0 horas proporcionando la lactama *N*-desprotegida **46** de manera cuantitativa. Con base en los resultados previos, una disolución del el 3-bencilpiroglutamato **46** en MeOH a 0 °C se hizo

³⁹ Brenneman, J. B., Machauer, R.; Martin, S. F. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7301-7314.

reaccionar con una disolución de NaOH 2 N (H₂O/MeOH) durante 0.5 horas seguido de la adición de una disolución de HCl al 10% a 0 °C hasta alcanzar un pH = 2, generando el ácido **47** con un rendimiento del 93% (Esquema 18). Para comprobar la pureza óptica del ácido (S)-3-bencilpiroglutámico **47** se determinó su rotación óptica observando un valor de $[\alpha]_D = -96.3^\circ$ (c 0.77, MeOH) que coincide con el valor descrito por Baldwin y colaboradores.⁴⁰



Esquema 18. Obtención del ácido (S)-3-bencilpiroglutámico **47**.

5.5 Estudio de la descarboxilación-radicalaria-oxidativa-adición de C-nucleófilos

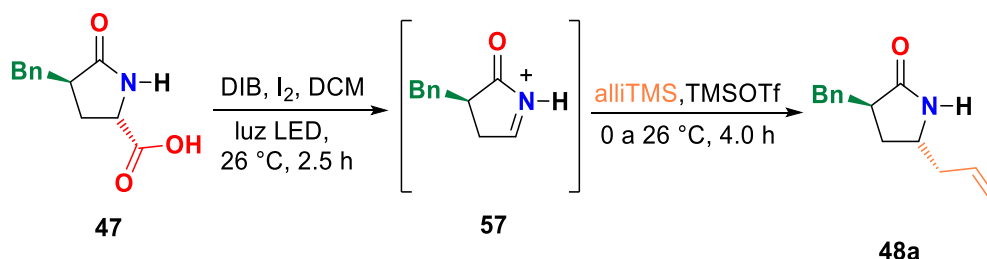
Una vez obtenido el ácido precursor **47**, se estudió el proceso secuencial de descarboxilación radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos en donde se variaron las cantidades de DIB y yodo (Tabla 4). Para llevar a cabo el estudio del proceso secuencial, en un primer experimento (Tabla 4, Ensayo 1) el ácido (S)-3-bencilpiroglutámico **47** se hizo reaccionar con una mezcla de (diacetoxi)yodobenceno (DIB, 1.5 equiv.) y yodo (0.5 equiv.) en diclorometano seco bajo irradiación de luz LED durante 2.5 horas generando el *N*-aciliminio **57**, el cual sin aislar se hizo reaccionar con aliltrimetilsilano (5.0 equiv.) y

⁴⁰ Baldwin, J. E.; Miranda, T.; Moloney, M.; Hokelek, T. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 7459-7468.

trifluorometanosulfonato de trimetilsililo (TMSOTf) (2.0 equiv.) a 0 °C, la mezcla se dejó alcanzar temperatura ambiente y se mantuvo la agitación durante 4.0 horas, proporcionando la lactama α,γ -disustituida **48a** en un 20% de rendimiento.

En el Ensayo 2, se observó que al utilizar 3.0 equivalentes de DIB y 1.2 de yodo se obtiene el producto **48a** con un 24%. Con base en el experimento anterior, se llevó a cabo la reacción de descarboxilación radicalaria usando 3.0 equivalentes de DIB y 1.5 de yodo (Tabla 4, Ensayo 3), y después de irradiar con luz LED durante 2.5 horas y la posterior adición de aliltrimetilsilano y TMSOTf se obtuvo la lactama α,γ -sustituida **48a** con 45% de rendimiento. Continuando el estudio, el ácido **47** se trató con DIB (2.0 equiv.) y yodo (0.75 equiv.) en diclorometano seco, la mezcla de reacción se irradió con luz LED durante 2.5 horas generando el intermedio catiónico **57**, que por tratamiento con aliltrimetilsilano y TMSOTf a 0 °C proporcionó la lactama α,γ -disustituida **48a** con un 43% de rendimiento (Tabla 4, Ensayo 4). Cuando la reacción se llevó a cabo usando 2.0 equivalentes de DIB y 1.0 equivalentes de yodo se logró obtener la lactama **48a** con un rendimiento del 58% (Tabla 1, Ensayo 5).

Tabla 4. Ensayos para la obtención de la lactama α,γ -disustituida **48a**.



Ensayo	DIB (eq.)	I ₂ (eq.)	Rend. (48)
1	1.5	0.5	20%
2	3.0	1.2	24%
3	3.0	1.5	45%
4	2.0	0.75	43%
5	2.0	1.0	58%

De los resultados obtenidos, se concluyó que las mejores condiciones de reacción eran las del Ensayo 5, en la que se utilizaron 2.0 equivalentes de DIB y 1.0

equivalente de yodo con respecto al ácido **47**. La lactama **48a**, se caracterizó por RMN de ^1H , y ^{13}C , así como por experimentos de dos dimensiones (COSY y HSQC). Con el propósito de determinar la configuración absoluta de la lactama **48a** se realizó un experimento bidimensional NOESY (Figura 5). En el experimento NOESY no se observaron interacciones espaciales entre los protones 3-H (δ_{H} 2.76) y 5'-H₂ (δ_{H} 2.17/2.13) y entre 5-H (δ_{H} 3.49) y 3'-H₂ (δ_{H} 3.17/2.66), esta información no permitió determinar la configuración relativa del carbono-5 de la lactama **41a**. Se deduce que el grupo alilo tiene libre giro, influyendo al momento de adquirir el experimento de 2D.

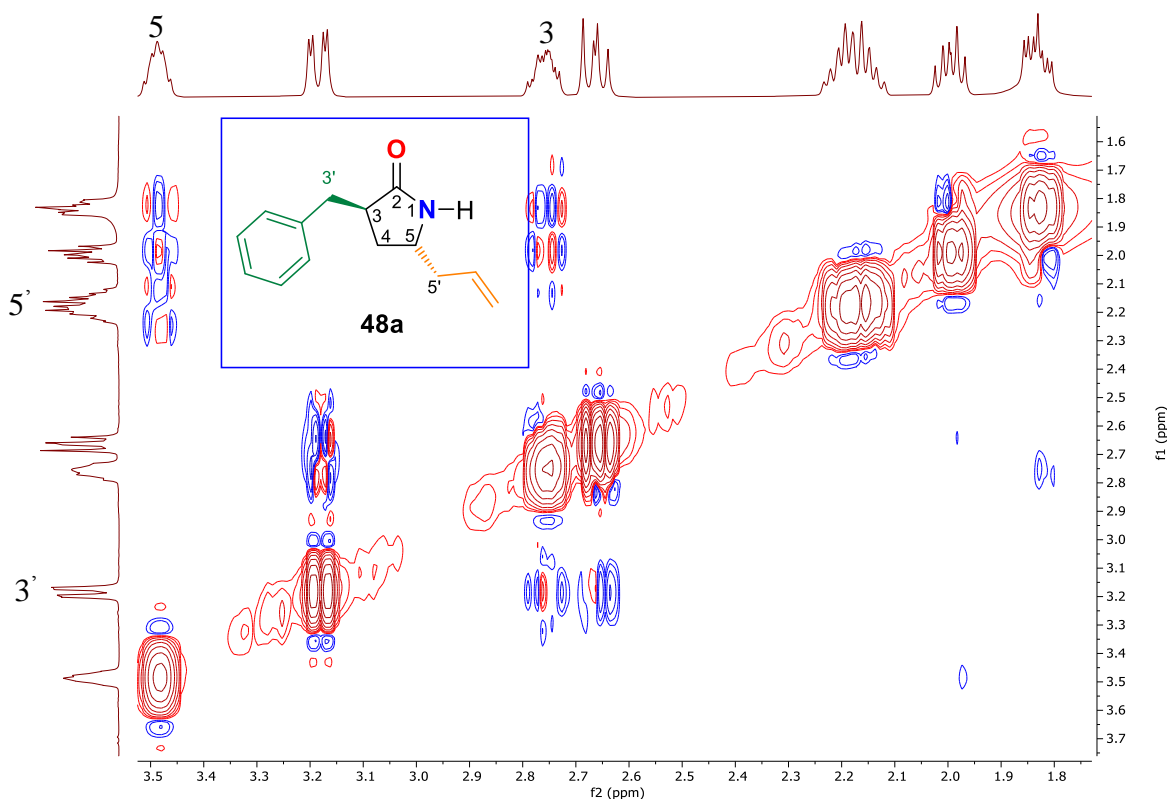
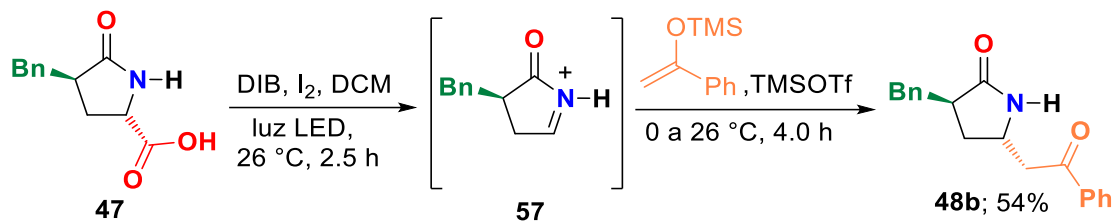


Figura 5. Experimento NOESY de lactama **48a**.

Para comprobar lo anterior, se decidió explorar el uso de un nucleófilo un poco más rígido. En este contexto y usando las condiciones óptimas, el ácido **47** se hizo reaccionar con una mezcla de DIB/l₂ en DCM bajo irradiación de luz LED durante 2.5 horas y el posterior tratamiento con fenil-1-(trimetilsiloxi)etileno y TMSOTf a 0 °C, la mezcla de reacción se continuó agitando hasta alcanzar temperatura ambiente durante 4.0 horas. El residuo se purificó por cromatografía en columna y

se logró aislar como producto exclusivo la cetona **48b** con un 54% de rendimiento químico (Esquema 19).



Esquema 19. Proceso secuencial para la preparación de la lactama **48b**.

Su estructura química se elucidó a través de RMN de ^1H y ^{13}C . Adicionalmente, se llevó a cabo un experimento bidimensional NOESY con la finalidad de observar la correlación de los hidrógenos en el espacio, y poder determinar la estereoquímica del centro estereogénico formado (Figura 6).

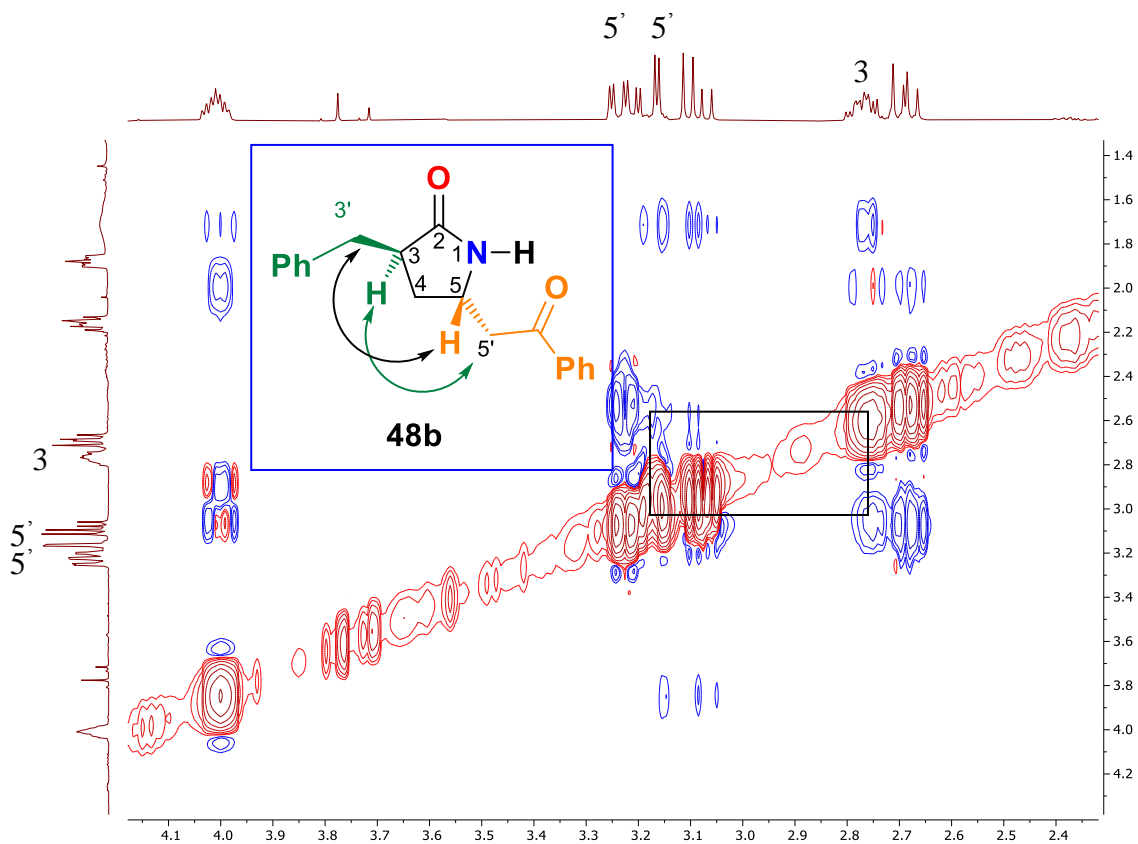
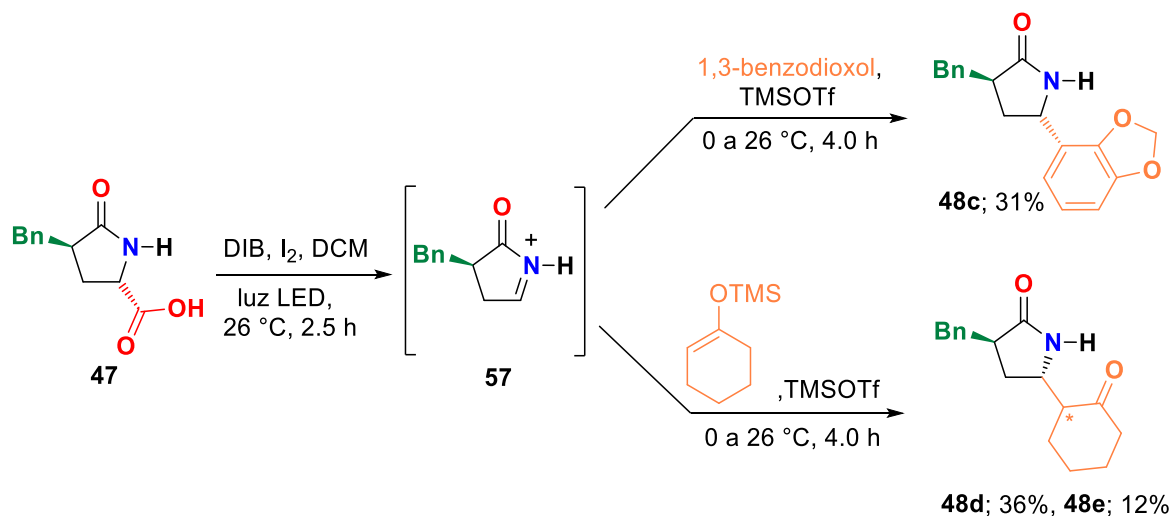


Figura 6. Experimento NOESY de lactama **48b**.

Al analizar el experimento bidimensional NOESY de la lactama **48b** (Figura 7), se observaron interacciones espaciales entre 3-H (δ_H 2.76) y 5'-H₂ (δ_H 3.09/3.17) y entre 5-H (δ_H 4.00) y 3'-H₂ (δ_H 2.66/3.23). Con estos datos podemos concluir que el compuesto **48b** corresponde al isómero *trans* (Figura 6).

A continuación, se estudió el uso de otros nucleófilos. Utilizando las condiciones óptimas del proceso secuencial de descarboxilación radicalaria-oxidativa adición de nucleófilos y usando como nucleófilo nucleófilo aromático el 1,3-benzodioxol se identificó como único producto la lactama α,γ -disustituida **48c** con un 31% mostrando una excelente inducción 1,3 del bencilo (Esquema 20).

Por otro lado, cuando se usó como nucleófilo el 1-(trimetilsiloxi) ciclohexeno se logró aislar la lactama diastereoméricamente pura **48d** y **48e** en un 36% y 12% de rendimiento químico respectivamente (Esquema 20).



Esquema 20. Obtención de las lactama α,γ -disustituida **48c-e**.

Con base en los resultados, se puede destacar que el proceso secuencial de descarboxilación radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos desarrollado permite producir una gran variedad de lactamas α,γ -sustituida con alta pureza óptica a través de la adición de nucleófilos de distinta naturaleza. Los compuestos obtenidos son valiosos precursores para la síntesis de γ -aminoácidos α,γ -sustituidos con potencial como agentes inhibidores de la enzima GABA-AT.

5.6. Estudios teóricos de acoplamiento molecular

Como se mencionó en la introducción, dentro de las estrategias utilizadas en el descubrimiento de agentes para combatir trastornos asociados a la deficiencia de GABA **1**, se encuentran la preparación de análogos de GABA que conserven el grupo farmacóforo y la síntesis de inhibidores de la enzima GABA-AT. Se sabe, que la concentración de **1** en el SNC es disminuida por la acción de la enzima GABA-AT generando semialdehído succínico (SSA), la concentración de **1** aumentaría al inactivar dicha enzima. Para conseguir este objetivo, se han desarrollado agentes inhibidores de la GABA-AT, un ejemplo es la (S)-Vigabatrina **4** usada en el tratamiento de epilepsia. En trabajo recientes descritos por Fernández-Zertuche y col.⁸ demostraron *in vivo* que el 1,2,3-triazol-1,4-disustituido **60** es un buen inhibidor de la enzima GABA-AT de *Pseudomonas fluorescens*. Por otro lado, Silverman y col.⁴¹ describieron un método de síntesis de OV329; **61**, un potente inactivador de la GABA-AT que actualmente se encuentra en estudios preclínicos para el tratamiento de epilepsia y adicción (Figura 7).

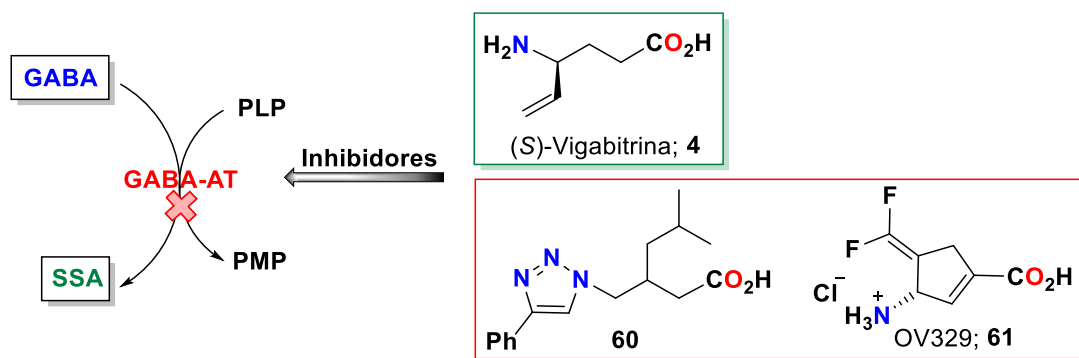


Figura 7. Inhibidores de GABA-AT.

Debido a la necesidad de descubrir nuevos agentes inhibidores de la enzima GABA-AT, en este trabajo se realizó un estudio teórico de las interacciones de los productos de hidrólisis de las lactamas obtenidas **58a-c** y de esta manera

⁴¹ a) Moschitto, M. J.; Silverman, R. B. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 4589-4592. b) Juncosa, J. I.; Takaya, K.; Le, H. V.; Moschitto, M. J.; Weerawarna, P. M.; Mascarenhas, R.; Liu, D.; Dewey, S. L.; Silverman, R. B. *J. Ame. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 2151-2164. c) Silverman, R. B. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 567-575.

comprobar que los productos obtenidos son precursores valiosos para el desarrollo de nuevos compuestos como potenciales inhibidores de la GABA-AT.

5.6.1 Construcción del modelo de acoplamiento molecular

Inicialmente, se llevó a cabo la optimización de los γ -aminoácidos **58a-c** en el software Avogadro, lográndose obtener la conformación de menor energía (más estable) (Figura 8).

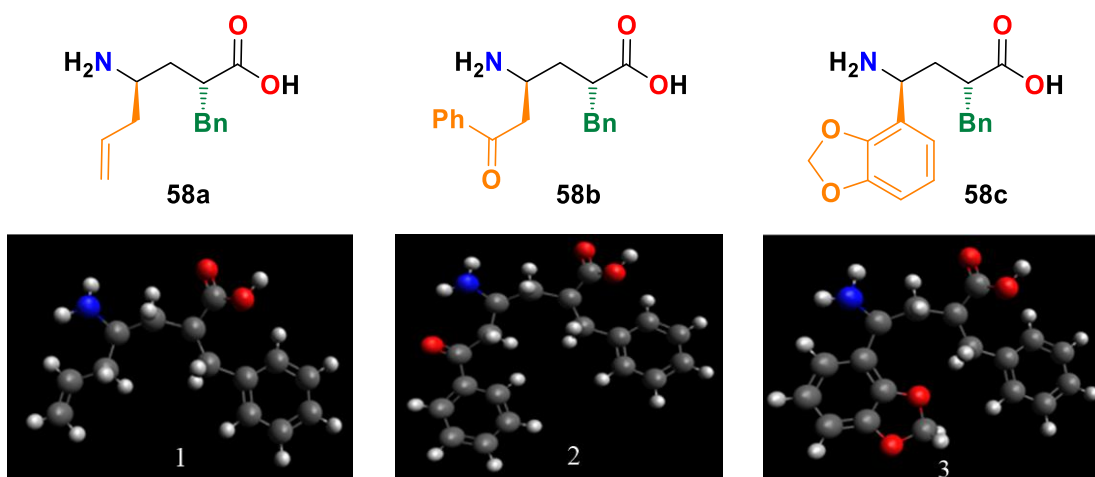


Figura 8. Optimización de los γ -aminoácidos **58a-c**

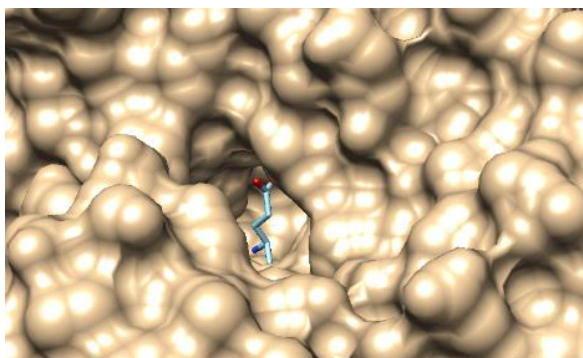


Figura 9. Complejo VIG-GABA-AT

A continuación, se obtuvieron los cristales del receptor de GABA-AT a través del protein data bank (PDB), y se encontró el receptor 1OHW (Sus Scrofa) en complejo con Vigabatrina (VIG), en donde se conoce el sitio alostérico VIG-GABA-AT (Figura 9).

Una vez optimizados los compuestos **58a-c**, y con la ayuda del visualizador Chimera, se cargó el PDB del receptor 1OHW y el ligando Vigabatrina seleccionando el residuo VIG eliminando las moléculas de agua. A continuación, una vez cargados los ligando de Vigabatrina se realizó el Docking dirigido utilizando AutoDock Vina en Chimera, utilizando las coordenadas descritas en la Figura 10.

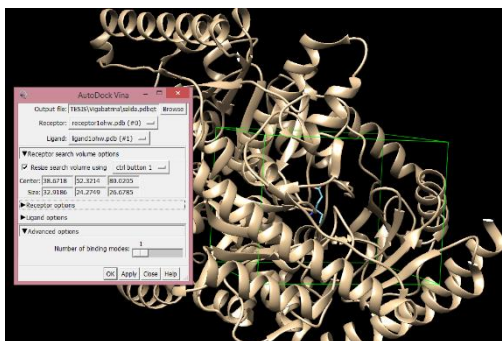


Figura 10. Docking dirigido

Enseguida, se utilizó la terminal CygWin 64 para correr 500 repeticiones del acoplamiento con la ayuda del archivo salida.conf obtenido con el paso anterior. En primer lugar, con la herramienta *vi* se modificó el archivo salida.conf (Figura 11).

```
receptor=salida1.receptor.pdbqt
ligand=salida1.ligand.pdbqt

center_x = 38.67
center_y = 52.32
center_z = 80.02
size_x = 32.91
size_y = 24.27
size_z = 26.67

out= salidatesismolecula1.docked_numero.pdbqt

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

Figura 11. Modificación del archivo salida.conf

Una vez modificado el archivo salida.conf se realizó la siguiente instrucción que nos permitió correr los 500 acoplamientos de forma consecutiva:

```
a=1; while [ $a -le 500 ]; do sed 's/numero/'$a/' salida.conf > archivo.inp;
/cygdrive/c/Program\ Files\ \(\x86\)/The\ Scripps\ Research\ Institute/Vina/vina.exe -
-config archivo.inp; a=$(( $a+1 )); done
```

Con los 500 acoplamientos generados se procedió a crear un script para identificar las líneas que contenían “HETATOM/ATOM” dentro de los archivos con terminación .pdbqt. A continuación, fueron extraídas con *vi* para después transformarlas a un archivo con terminación .pdb (Figura 12).

```
#!/bin/bash
a=1
while [ $a -le 500 ]
do
  egrep "HETATOM|ATOM" salida.vigabatrina.docked_"$a".pdbqt > salida.vigabatrina.docked_"$a".pdb
  a=$(( $a+1 ))
done
```

Figura 12. Script para extraer “HETATOM/ATOM”

Una vez extraídos los archivos .pdb se construyó un script para correr el RMSD, en donde se mide la distancia media entre los átomos con la interacción proteína-ligando. Logrando conocer la similitud de cada uno de los acoplamientos generados y la forma de unión de la Vigabatrina con la proteína (Figura 13).

```
#!/bin/bash
i=1
while [ $i -le 500 ]
do
  paste -d" " salida.vigabatrina.docked_1.pdb salida.vigabatrina.docked_"$i".pdb | tr -d "\r" | a
  wk '{s+=$(( $7-$20)^2 + ($8-$21)^2 + ($9-$22)^2) END {print "salida_1 vs '$i' " sqrt (s/NR)}'
  i=$(( $i+1 ))
done
```

Figura 13. Script para determinar el RMSD de la VGB

Finalmente, los RMSD generados fueron promediados y la desviación estándar de las 500 salidas de la VIG, proporcionaron un valor de $(2.992 \text{ \AA} \pm 1.092 \text{ \AA})$.

5.6.2 Validación del modelo de acoplamiento molecular

Para validar el modelo se corrió el RMSD entre el archivo original del ligando de la Vigabatrina (amarillo) contra las 500 predicciones corridas de la Vigabatrina (azul).

Nuevamente se calculó el promedio y la desviación estándar obteniendo un valor aceptable de ($1.297 \text{ \AA} \pm 0.759 \text{ \AA}$) (Figura 14). Finalmente, se determinó la energía de afinidad del ligando original y del ligando de las 500 predicciones, obteniendo un valor de ($-4.862 \text{ kcal/mol} \pm 0.123 \text{ kcal/mol}$) y ($-4.919 \text{ kcal/mol} \pm 0.165 \text{ kcal/mol}$) respectivamente.

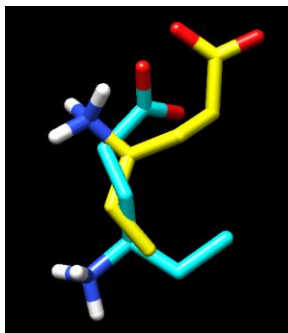


Figura 14. Validación del modelo

5.6.3 Resultados del modelo de acoplamiento molecular

Se realizó el acoplamiento molecular covalente debido a que, tanto el receptor de GABA-AT como los γ -aminoácidos **58a-c** actúan a nivel del SNC, por lo que es necesario evitar choques estéricos desfavorables, así como contactos electrostáticos a medida que se favorece la unión ligando-receptor. De esta forma, establecer una comparación del modo de unión del ligando **Vigabatrina** con los γ -aminoácidos **58a-c**.

Siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente se probaron los γ -aminoácidos **58a-c**. En primer lugar, se corrió el RMSD de cada ligando, se calculó su promedio y finalmente, se determinó su desviación estándar (Tabla 5). De acuerdo a los valores descritos en la Tabla 5 se observa una mejor forma de anclaje de los γ -aminoácidos **58a-c** en comparación con el fármaco comercial Vigabatrina.

Tabla 5. RMSD de los γ -aminoácidos **58a-c**.

Compuesto	Promedio RMSD (Å)	Desviación estándar	Resultado
Vigabatrina	2.992	1.092	(2.992±1.092)
58a	0.907	0.419	(0.907±0.419)
58b	1.205	0.9189	(1.205±0.919)
58c	0.494	0.174	(0.494±0.174)

Por otro lado, se calculó la energía de unión de cada ligando en el sitio de unión, posteriormente se determinó su promedio y finalmente se obtuvo su desviación estándar.

Tabla 6. Energía de unión de los γ -aminoácidos **58a-c**.

Compuesto	Energía de unión (kcal/mol)	Desviación estándar	Resultado
Vigabatrina	-4.862	0.123	(-4.862±0.123)
58a	-7.188	0.039	(-7.188±0.039)
58b	-8.532	0.047	(-8.532±0.047)
58c	-8.778	0.087	(-8.778±0.087)

Se podría deducir que la afinidad proteína-ligando de los los γ -aminoácidos **58a-c** se debe a la sustitución en la posición α y γ del ligando, lo que le confiere un mayor volumen y en consecuencia un menor grado de libertad, al mismo tiempo una mayor afinidad al sitio de unión. Por otro lado, los grupos aromáticos le confieren a los γ -aminoácidos **58a-c** una mayor interacción con el residuo de Phe-189 y Phe-351 a través de interacciones dipolo-dipolo inducido e interacciones de Van Der Waals, manteniendo las interacciones de enlace de hidrógeno con el residuo de Arg-192. Finalmente, es bueno destacar que el compuesto **58c** presentó una mejor afinidad al sitio de unión, esta característica se debe a que el anillo de 1,3 benzodioxol por un lado, le confiere interacciones hidrofóbicas y por otro, su tamaño reduce el número de rotámeros, así mismo los átomos de oxígeno en las posiciones 1,3 aumentan el número de interacciones de enlace con los

hidrógenos de la Arg, permitiendo de esta manera un mejor anclaje al sitio de unión (Figura 15).

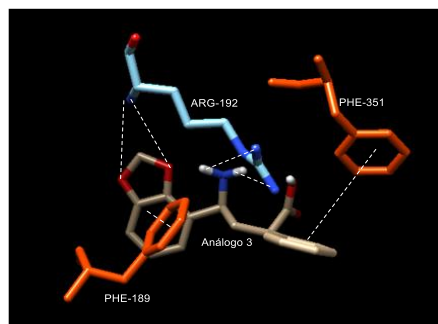


Figura 15. Interacciones γ -aminoácido **58c**-sitio de unión.

Adicionalmente, se construyeron los histogramas de las poblaciones entre cada ligando y la proteína, observando que los ligandos **58a-c** adoptan una mejor forma de anclaje, ya que su mayoría poblacional está en una zona menor que el fármaco comercial Vigabatrina, favoreciendo así su forma de unión (Figura 16).

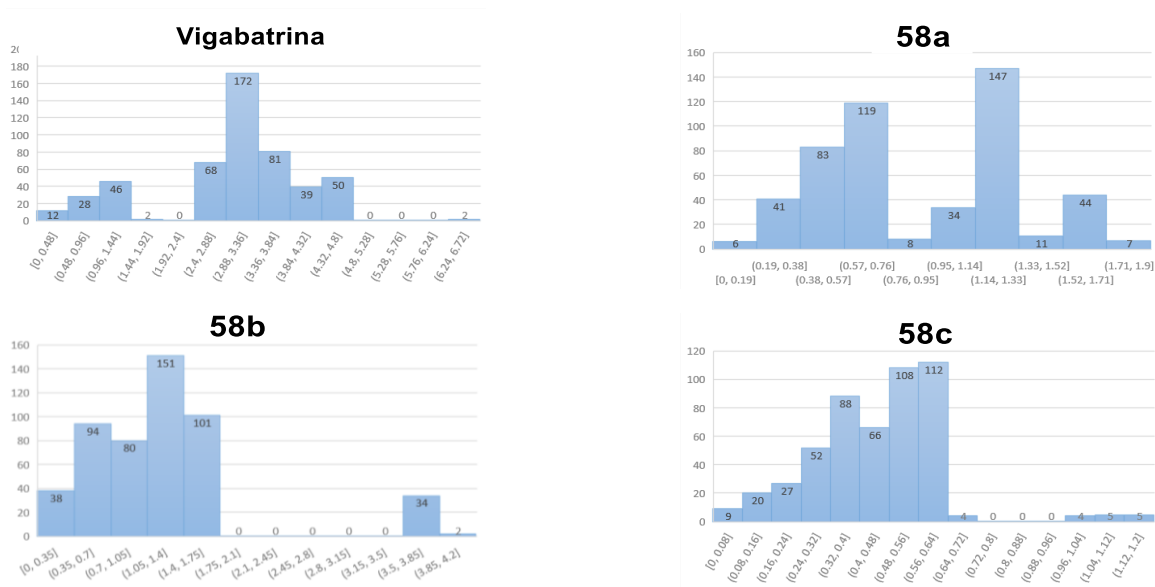


Figura 16. Histograma de γ -aminoácido **58a-c**.

Con base en los resultados obtenidos se puede destacar que el modelo desarrollado permitió deducir que los γ -aminoácidos **58a-c** tienen una alta interacción con los receptores de GABA-AT, incluso mejor que la interacción que

existe entre GABA-AT y la VIG. Con base en estos resultados, se puede predecir que los γ -aminoácidos **58a-c** son potenciales agentes inhibidores de la GABA-AT.

5.7 Estudio de la hidrólisis de las lactamas α,γ -disustituidas **48a-b**

Conociendo el potencial de las γ -aminoácidos α,γ -disustituidos y como trabajo adicional de esta tesis, se llevó a cabo el estudio de la hidrólisis de las lactamas **48a** y **48b** para la generación de γ -aminoácidos α,γ -sustituidos **58a,b**. Así, la lactama **48a** disuelta en THF se trató con una solución de HCl a distintas concentraciones 1 N, 3 N y 6 N,⁴² y después de calentar a reflujo durante 24.0 h, se observó por cromatografía en placa fina la aparición de varios productos los cuales fueron identificados por RMN de protón, observando productos de descomposición (Tabla 7, Ensayo 1-3). Por otro lado, cuando la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una solución de HCl 6 N, no se observó el producto de la hidrólisis de la lactama (Tabla 7, Ensayo 4).

Tabla 7. Ensayos para la obtención del γ -aminoácido α,γ -disustituido **58a**.

Ensayo	Concen. HCl (N)	Temp. (°C)	Rend. (58a) (%)
1	1	100	----
2	3	100	----
3	6	100	----
4	6	25	----

Considerando que el grupo alilo podría estar reaccionando con el HCl favoreciendo la formación de subproductos, se decidió usar la lactama **48b**.

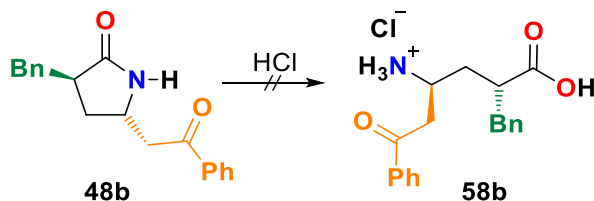
Se extrapolaron los Ensayos 1-3 de la Tabla 8, utilizando HCl a diferentes concentraciones (1, 3 y 6 N) y calentamiento a 100 °C durante 24.0 horas

⁴² Seebach, D.; Brenner, M.; Rueping, M.; Jaun, B. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 573-584.

proporcionando varios subproductos que no correspondieron al producto de hidrólisis (Tabla 8, Ensayo 1-3). Por otro lado, la lactama **48b** disuelta en THF se trató con una solución 6 N y 1 N de HCl a temperatura ambiente (Ensayo 4 y 5), no logrando observar la generación del producto esperado **58b**.

Con base en los resultados anteriores, se observó que bajo las condiciones estudiadas (Tabla 7 y 8) la hidrólisis no procede, concluyendo que la amida no es suficientemente reactiva para que en condiciones estándar se pueda llevar a cabo la apertura. En este contexto, se decidió llevar a cabo la protección de la amida como carbamato de Boc con la finalidad de hacer más electrófilo el carbono de la amida, y que de esta manera la reacción de hidrólisis tenga lugar.

Tabla 8. Ensayos para la obtención del γ -aminoácido α,γ -disustituido **58b**.



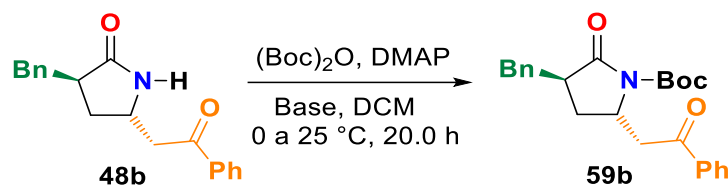
Ensayo	HCl (N)	Tiempo (h)	Temp (° C)	Rend. (58b) (%)
1	1	24.0	100	----
2	3	24.0	100	----
3	6	24.0	100	----
4	1	8.0	25	----
5	6	24.0	25	----

5.8 Estudio de la protección de la lactama α,γ -disustituida **48b**

Para comenzar, se exploraron las condiciones óptimas de la protección de la amida (Tabla 9), en el Ensayo 1, la lactama **48b** disuelta en DCM se trató con cantidades catalíticas de 4-dimetilaminopiridina (0.2 equiv.) y (Boc)₂O, la mezcla de reacción se agitó de 0 a 26 °C durante 20.0 horas no lográndose aislar el producto de protección. Siguiendo la metodología descrita anteriormente, usando TEA (1.1 equiv.) y 4-dimetilaminopiridina en distintas proporciones (0.2 y 1.0

equiv.) se logró aislar la lactama *N*-Boc protegida con un 35 y 29% de rendimiento químico respectivamente (Ensayo 2 y 3). Cuando se usaron 1.1 equiv. de TEA y 1.5 de DMPA, no se produjo el producto de protección (Ensayo 4). Adicionalmente, en el Ensayo 5 se estudió el uso de otra base, así la lactama **48b** disuelta en DMC se hizo reaccionar con DIPEA (1.1 equiv.), DMPA (0.5 equiv.) y (Boc)₂O, la lactama **59b** en un 15% de rendimiento.

Tabla 9. Ensayos para la protección de la lactama **48b**.



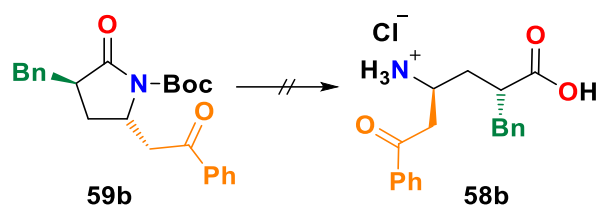
Ensayo	Base (equiv.)	DMPA (equiv.)	Tiempo (h)	Rend. (59b) (%)
1	-----	0.2	20.0	---
2	TEA (1.1)	0.1	20.0	35
3	TEA (1.1)	1.0	48.0	29
4	TEA (1.1)	1.5	48.0	---
5	DIPEA (1.5)	0.5	48.0	15

6.4 Estudio de la hidrólisis de la lactama α,γ -disustituida **59b**

Una vez obtenida la lactama *N*-Boc protegida **59b**, se llevó a cabo su estudio de hidrólisis. Para comenzar, se utilizó HCl 6 N y calentamiento a 100 °C durante 48.0 horas (Tabla 10, Ensayo 1), observándose a las 24.0 horas de reacción, dos productos por cromatografía en capa fina, uno correspondiente al producto de desprotección **48b** y el siguiente al posible producto de apertura, posteriormente, para observar la desaparición de la lactama desprotegida, se dejó calentando a reflujo otras 24.0 horas, observando la descomposición del producto. En un segundo experimento (Tabla 10, Ensayo 2), se decidió utilizar un medio básico para la apertura del compuesto **59b**.²⁹ En este sentido, la lactama *N*-Boc protegida **59b** disuelta en THF se trató con una disolución acuosa de LiOH 1 M a

temperatura ambiente durante 96.0 horas, la reacción se siguió a través de cromatografía en capa fina no observando cambio en la materia prima.

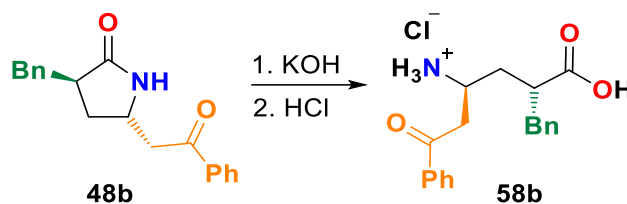
Tabla 10. Ensayos para la obtención del γ -aminoácido α,γ -disustituido **58b**



Ensayo	HCl (N)	LiOH (M)	Tiempo (h)	Temp (° C)	Rend. (58b) (%)
1	6	-----	48.0	100	----
2	-----	1	96.0	26	----

Con base en los resultados obtenidos, se decidió implementar la metodología descrita por Sartillo-Piscil y colaboradores⁴³ en donde la lactama *N*-desprotegida **48b** disuelta en MeOH se trató con una disolución de KOH a distintas concentraciones (4, 6 y 8 N), y calentamiento a 100 °C durante 5.0 horas, como segundo paso de reacción se acidificó la mezcla utilizando HCl al 10%, en los Ensayos 1 y 2 no se observó la transformación completa de **48b** a **58b**. Bajos las condiciones descritas en el Ensayo 3, se logró obtener el γ -aminoácido α,γ -disustituido **58b** con un 73% de rendimiento (Tabla 11).

⁴³ Rodríguez, V.; Quintero, L.; Sartillo-Piscil, F. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 4305-4308.

Tabla 11. Ensayos para la obtención del γ -aminoácido α,γ -disustituido **58b**

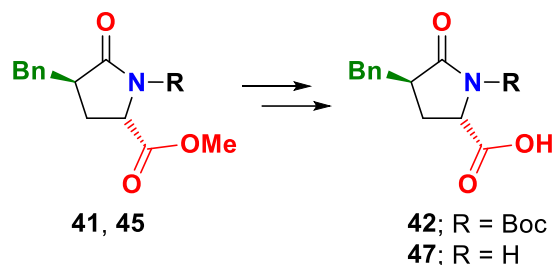
Ensayo	KOH (N)	Tiempo (h)	Temp (° C)	Rend. (58b) (%)
1	4	5.0	100	----
2	6	5.0	100	----
3	8	5.0	100	73%

A pesar de la sorprendente pobre reactividad de la lactama **48b** se logró obtener el producto de hidrólisis **58b** con buen rendimiento. Esta misma estrategia se utilizará para la síntesis de los derivados de γ -aminoácidos **58a-e**.

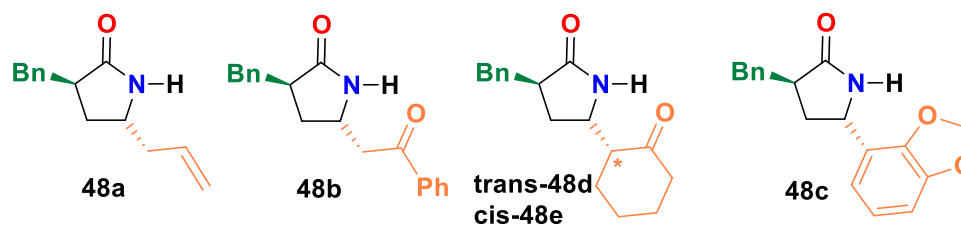
De esta forma, se puede mencionar que un sustrato de bajo costo y de fácil obtención puede convertirse a compuestos de alto valor añadido, usando como paso clave un proceso secuencial eficaz y sostenible.

6. CONCLUSIONES

- Se obtuvieron las lactamas α -benciladas **41** y **45** con una alta diastereoselectividad y buenos rendimientos químicos.
- Se logró la síntesis de los derivados de ácido piroglutámico **42** y **47** precursores clave para el proceso secuencial de descarboxilación adición de nucleófilos.



- Se desarrolló un proceso secuencial de descarboxilación radicalaria-adición de C-nucleófilos orientado a la diversidad en donde a partir de un precursor en común se lograron obtener lactamas α,γ -sustituidas **48a-e** con diversidad estructural. Las reacciones transcurrieron en condiciones suaves de reacción, con buenos rendimientos globales, alta diastereoselectividad y sin la necesidad del uso de promotores metálicos.



- El análisis de acoplamiento molecular covalente, demostró que los productos de hidrólisis de la lactamas **48a-c**, tienen una alta afinidad por los receptores de la enzima GABA-AT destacando entre ellos el ligando **48c**. Los resultados demuestran el alto potencial de los γ -aminoácidos **58a-c** para el desarrollo de agentes inhibidores de la GABA-AT.

7. PERSPECTIVAS

- ❖ Llevar a cabo la hidrólisis de las lactamas **48a-d** para la preparación de los γ -aminoácidos α,γ -disustituidos **58a-d** diastereoisomericamente puros.
- ❖ Realizar pruebas *in vitro* a los γ -aminoácidos α,γ -sustituidos **58a-d** y estudiar su potencial como agentes inhibidores de la GABA-AT.
- ❖ Estudiar la adición de otros nucleófilos en el proceso secuencial de descarboxilación-radicalaria-adición de nucleófilos.

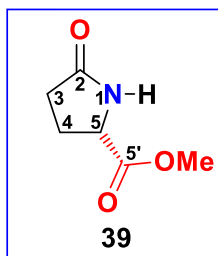
8. PARTE EXPERIMENTAL

8.1 Información general

El material de vidrio, cánulas y jeringas utilizadas en las reacciones que necesitan condiciones anhidras se secaron en una estufa Binder FD 115 - UL a 70 °C durante 12 horas. Los reactivos comerciales fueron adquiridos de Sigma-Aldrich y se usaron sin purificación adicional. Los disolventes como acetato de etilo, hexano, diclorometano y metanol que se utilizaron durante la purificación, fueron purificados por destilación simple. El tetrahidrofurano (THF), metanol y diclorometano que se utilizaron en las reacciones son grado reactivo (A.C.S) marca MEYER. El THF utilizado en las reacciones anhidras fue secado sobre sodio metálico, empleando benzofenona como indicador bajo atmósfera de nitrógeno hasta que adquiriera un color azul intenso. El diclorometano se secó al calentar a reflujo sobre hidróxido de calcio. El curso de las reacciones y los productos se detectaron por cromatografía en capa fina (CCF), usando placas recubiertas de gel de sílice MERCK (60 F₂₅₄), con soporte de aluminio en capas de 0.2 mm de espesor. Para el revelado se usaron soluciones de permanganato de potasio (KMnO₄/K₂CO₃/NaOH en H₂O), ninhidrina (ninhidrina/ácido acético/etanol), vapores de yodo y exposición a la luz ultravioleta (254 nm). **Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN).** Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear se obtuvieron del espectrómetro: Bruker Advance de 500 MHz marca VARIAN DIRECT-DRIVE, utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna o la señal residual del disolvente deuterado (CDCl₃ o MeOD). Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) en hertzios (Hz). La multiplicidad de las señales se indica con las siguientes abreviaturas; **s** simple, **d** doble, **t** triple, **a** ancha, **dd** doble de dobles, **ddd** doble de doble de dobles, **dt** doble de triples, **m** señal múltiple. **Espectrometría de masas (HRMS).** Los espectros de masas de alta resolución se obtuvieron del equipo JEOL HRMStation JHRMS-700, utilizando la espectrometría de masas por bombardeo atómico rápido (FAB), y como matriz se utilizó alcohol 3-nitrobencílico.

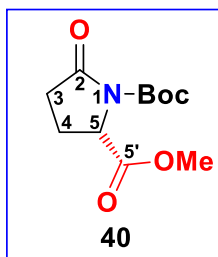
PREPARACIÓN DE PRECURSORES

8.2 (S)-5-Oxopirrolidina-2-carboxilato de metilo **39**



En un matraz redondo provisto de agitación magnética se colocaron 2.0 g (15.5 mmol) de ácido L-piroglutámico y 40 mL de metanol. La disolución resultante se enfrió a 0 °C y se adicionó lentamente 2.5 g, 1.6 mL (21.7 mmol) de cloruro de tionilo, la mezcla de reacción se dejó que alcanzara la temperatura ambiente y se agitó durante 4.0 horas. Transcurrido el tiempo, se adicionaron 2.6 g (31.0 mmol) de bicarbonato de sodio y se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, el crudo de la reacción se filtró sobre celita, y el residuo se purificó por cromatografía en columna utilizando acetato de etilo como eluyente, obteniendo el éster **39** (2.18 g, 98%) como un aceite incoloro, $[\alpha]_D^{25} = +10.5$ (c 1.0, EtOH).³¹ **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): 2.18-2.48 (m, 4H, H₃, H₄), 3.73 (s, 3H, CH₃O), 4.23 (dd, $J = 9.1, 5.5$ Hz, 1H, H₅), 7.25 (s, 1H, NH). **RMN ¹³C** (125 MHz, CDCl₃): 24.8 (C₄), 29.4 (C₃), 52.7 (C₅), 59.0 (CH₃O), 172.6, 178.5 (C=O).⁴⁴ **HMRS** [FAB⁺]: Calculado para C₆H₁₀NO₃ [M+H]⁺, m/z 144.0661; encontrado 144.0673 m/z .

8.3 *N*-*tert*-Butoxicarbonil (S)-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilato de metilo **40**



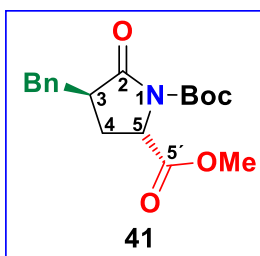
En un matraz redondo provisto de agitación magnética, se colocaron 2.0 g (13.9 mmol) del éster metílico del ácido (S)-piroglutámico **39** y 30 mL de diclorometano anhidro. A la disolución resultante se adicionó una mezcla de Trietilamina 1.5 g, 2.1 mL (15.4 mmol), 4-dimetilaminopiridina 0.2 g (1.4 mmol) y dicarbonato de di-*tert*-butilo 6.0 g (27.9 mmol) en 10 mL de diclorometano anhidro. La mezcla de reacción se agitó durante 20.0 h. Posteriormente, el solvente se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de Hexano:AcOEt (80:20), obteniendo el (S)-piroglutamato de

⁴⁴ Gharpure, S. J.; Nanda, L. N.; Kumari, D. *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, 27, 3917-3920.

metilo *N*-Boc protegido **40** (2.8 g, 82%) como un sólido blanco, p.f. = 66-68 °C. $[\alpha]_D = -32.1$ (c 1.0, CH₂Cl₂).⁴⁵ **RMN** ¹H (500 MHz, CDCl₃): 1.42 (s, 9H, (CH₃)₃), 1.97-2.1 (m, 1H, H₃), 2.26 (dq, *J* = 13.4, 9.7 Hz, 1H, H₃), 2.42 (ddd, *J* = 17.6, 9.4, 3.6 Hz, 1H, H₄), 2.55 (ddd, *J* = 17.5, 9.8, 9.8 Hz, 1H, H₄), 3.71 (s, 3H, CH₃O), 4.56 (dd, *J* = 9.5, 3.0 Hz, 1H, H₅).

RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃): 21.7 (C₄), 28.1 (CH₃)₃, 31.3 (C₃), 52.7 (CH₃O), 59.0 (C₅), 83.8 (CH(CH₃)₃), 149.5, 172.1, 173.4 (C=O).

8.4 (2*S*,4*R*)-4-Bencil-5-oxopirrolidin-1,2-dicarboxilato de 1-(Butil) 2-metilo **41**



En un matraz redondo provisto de agitación magnética, se colocaron 2.0 g (8.2 mmol) del (*S*)-piroglutamato de metilo *N*-Boc protegido **40** y 40 mL de tetrahidrofurano anhidro. La disolución resultante se enfrió a -78 °C y se adicionó lentamente 1.5 g, 9.1 mL (9.0 mmol) de bis (trimetilsilil) amida

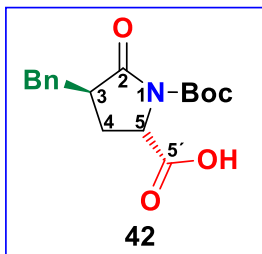
de litio, manteniendo la agitación durante 1.0 hora. Transcurrido el tiempo, se adicionaron 1.6 g, 1.2 mL (8.8 mmol) de bromuro de bencilo y se mantuvo la agitación a -78 °C durante 2.0 horas. El crudo de la reacción se disolvió en acetato de etilo y se extrajo con una disolución al 10% de cloruro de amonio, la fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Posteriormente el solvente se evaporó a presión reducida y el crudo de la reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de Hex:AcOEt (90:10) proporcionando el 3-bencilpiroglutamato *N*-Boc protegido **41** (1.7 g, 62%) como un sólido blanco. p.f. = 95-97 °C. $[\alpha]_D = -38.7$ (c 0.78, CH₃Cl).⁴⁶ **RMN** ¹H (500 MHz, CDCl₃): 1.50 (s, 9H, (CH₃)₃), 2.1 (m, 2H, H₄), 2.66 (sistema AB, *J* = 14.0 Hz, 1H, CH₂Bn), 2.92 (dddd, *J* = 11.1, 9.1, 9.0, 4.2 Hz, 1H, H₃), 3.28 (sistema AB, *J* = 14.0 Hz, 1H, CH₂Bn), 3.73 (s, 3H, CH₃O), 4.48 (dd, *J* = 9.1, 2.2 Hz, 1H, H₅), 7.15-7.32 (m, 5H, H_{arom}). **RMN**¹³C (125 MHz, CDCl₃): 28.1 ((CH₃)₃), 28.2 (C₄), 34.6 (CH₂Bn x

⁴⁵ Aggarwal, V. K.; Astle, C. J.; Iding, H.; Wirz, B.; Rogers-Evans, M. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 945-947.

⁴⁶ Bassoli, Angela; Borghonovo, Gigliola; Busnelli, Gilberto; Morini, Gabriella; Merlini, Lucio. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *12*, 2518-2525.

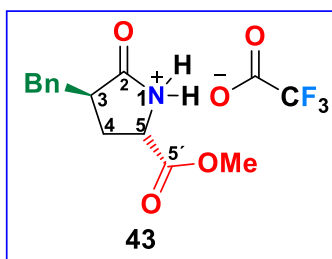
2), 41.1 (C₃), 52.8 (CH₃O), 56.5 (C₅), 83.8 (CH(CH₃)₃), 126.9, 128.9 (x 2), 129.2 (x 2), 138.5 (C_{arom}) 149.2, 171.9, 174.1 (C=O).

8.5 Ácido (2*S*,4*R*)-4-Bencil-1-(butoxicarbonil)-5-oxopirrolidin-2-carboxílico **42**



En un matraz redondo provisto de agitación magnética, se colocaron 0.4 g (1.2 mmol) de la lactama **41** y 1 mL de metanol. La disolución resultante se enfrió a 0 °C y se adicionó lentamente 10.0 mL de hidróxido de sodio en una mezcla metanol/H₂O (10:90), la solución resultante se agitó durante 30 minutos. Transcurrido el tiempo y manteniendo la mezcla fría se acidificó a un pH = 2 utilizando una disolución de ácido clorhídrico al 10%. El crudo de la reacción se extrajo con acetato de etilo (3 x 15 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Posteriormente, se evaporó bajo presión reducida y el residuo se lavó con diclorometano (2 x 20 mL) generando el ácido **42** (0.36 g, 95%) como un sólido blanco. **RMN** ¹H (500 MHz, CDCl₃): 1.50 (s, 9H, (CH₃)₃), 2.12-2.25 (m, 2H, H₄), 2.66 (sistema AB, *J* = 14.0 Hz, 1H, CH₂Bn), 2.92 (dddd, *J* = 11.1, 9.1, 9.0, 4.2 Hz, 1H, H₃), 3.28 (sistema AB, *J* = 14.0 Hz, 1H, CH₂Bn), 4.48 (dd, *J* = 9.1, 2.2 Hz, 1H, H₅), 7.15-7.32 (m, 5H, H_{arom}). **RMN**¹³C (125 MHz, CDCl₃): 28.1 ((CH₃)₃), 28.2 (C₄), 34.6 (CH₂Bn x 2), 41.1 (C₃), 52.8 (CH₃O), 56.5 (C₅), 83.8 (CH(CH₃)₃), 126.9, 128.9 (x 2), 129.2 (x 2), 138.5 (C_{arom}) 149.2, 171.9, 174.1 (C=O).

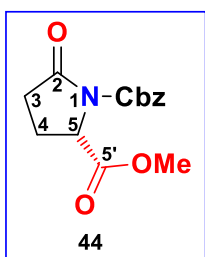
8.6 (2*S*,4*R*)-4-Bencil-5-oxopirrolidin-2-carboxilato de metilo **43**



En un matraz redondo provisto de agitación magnética, se colocaron 0.36 g (1.03 mmol) del ácido 3-bencilpiroglutámico *N*-Boc protegido **42** y 10.0 mL de diclorometano. La disolución resultante se enfrió a 0 °C y se adicionó lentamente 14.9 g, 10.0 mL (130 mmol) de ácido trifluoroacético, la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1.0 hora. Transcurrido el tiempo, se dejó alcanzar temperatura ambiente y se continuó la agitación por 1.0 hora. Posteriormente, la mezcla de la reacción se concentró a presión reducida, y se lavó con diclorometano (3 x 20 mL) proporcionando la sal

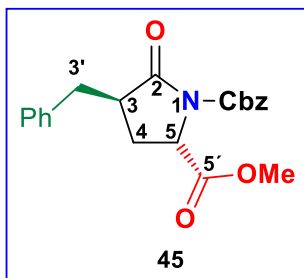
de trifluoroacetato **43** (0.5 g, 98%) como un sólido blanco. **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): 2.12-2.25 (m, 2H, H₄), 2.70 (sistema AB, *J* = 13.6 Hz, 1H, CH₂Bn), 2.79 (qd, *J* = 8.8, 4.1 Hz, 1H, H₃), 3.12 (sistema AB, *J* = 13.6 Hz, 1H, CH₂Bn), 3.33 (s, 1H, NH), 4.0 (dd, *J* = 8.7, 3.6 Hz, 1H, H₅), 7.20-7.33 (m, 5H, H_{arom}). **RMN ¹³C** (125 MHz, CDCl₃): 30.3 (C₄), 35.9 (CH₂Bn), 41.8 (C₅), 53.6 (C₃), 126.2, 128.2, 128.7, 138.8 (C_{arom}), 174.4, 180.3 (C=O).

8.7 (S)-5-Oxopirrolidin-1,2-dicarboxilato de 1-bencilo 2-metilo **44**



En un matraz redondo provisto de agitación magnética, se colocaron 0.7 g (0.4 mmol) del (S)-piroglutamato de metilo **39** y 10.0 mL de tetrahidrofurano. La disolución resultante se enfrió a -78 °C y se adicionó lentamente 0.9 g, 0.4 mL (0.44 mmol) de bis(trimetilsilil) amida de litio, la mezcla de la reacción se agitó durante 30 minutos. Transcurrido el tiempo, se le adicionó lentamente 0.9 g, 0.06 mL (0.44 mmol) de cloruro de benzoilo, la mezcla de reacción se dejó alcanzar temperatura ambiente durante 1.0 hora. Posteriormente, el crudo de la reacción se trató con una solución de cloruro de amonio y se extrajo con diclorometano (3 x 15 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se evaporó y el crudo resultante se purificó por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla Hex:AcOEt (60:40), proporcionando el (S)-piroglutamato de metilo *N*-Cbz protegido **44** (1.2 g, 90%) como un líquido color amarillo, $[\alpha]_D = -41.5^\circ$ (*c* 1.0, EtOH).⁴⁷ **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): 2.08 (dddd, *J* = 12.9, 9.5, 3.0, 3.0 Hz, 1H, H₃), 2.35 (dddd, *J* = 13.2, 9.7, 9.7, 9.7 Hz, 1H, H₃), 2.51 (ddd, *J* = 17.6, 9.3, 3.2 Hz, 1H, H₄), 2.65 (ddd, *J* = 17.6, 10.0, 10.0 Hz, 1H, H₄), 3.68 (s, 3H, CH₃O), 4.69 (dd, *J* = 9.5, 2.7 Hz, 1H, H₅), 5.21 (sistema AB, *J* = 12.4 Hz, 1H, CH₂Bn), 5.33 (sistema AB, *J* = 12.4 Hz, 1H, CH₂Bn), 7.3-7.4 (m, 5H, H_{arom}). **RMN ¹³C** (125 MHz, CDCl₃): 21.8 (C₄), 31.0 (C₃), 52.7 (CH₃O), 58.7 (C₅), 68.4 (CH₂Bn), 128.2 (x 2), 128.5 (x 2), 128.6, 135 (C_{arom}), 150.9, 171.5, 172.9 (C=O). **HMRS** [FAB⁺]: Calculado para C₁₄H₁₆NO₅ [M+H]⁺, *m/z* 278.0984; encontrado 278.1011 *m/z*.

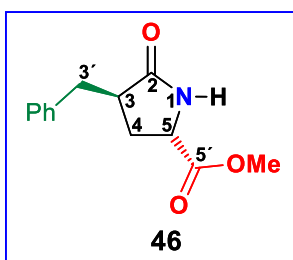
⁴⁷ (a) Sajio, S.; Wada, M.; Himizu, J.; Ishida, A. *Chem. Pharm. Bull.* **1980**, *28*, 1449; (b) Chiesa, M. V.; Manzoni, L. Scolastico, C. *Synlett* **1996**, 441.

8.8 (2*S*,4*R*)-4-Bencil-5-oxopirrolidin-1,2-dicarboxilato de 1-bencilo 2-metilo 45

En un matraz redondo provisto de agitación magnética, se colocaron 2.0 g (7.2 mmol) del (*S*)-piroglutamato de metilo *N*-Cbz protegido **44** y 50 mL de tetrahidrofurano anhidro. La disolución resultante se enfrió a -78 °C y se adicionó lentamente 1.5 g, 9.1 mL (9.0 mmol) de bis (trimetilsilil) amida de litio, manteniendo la agitación durante 1.0 hora.

Transcurrido el tiempo, se adicionaron 1.6 g, 1.2 mL (8.8 mmol) de bromuro de bencilo y se mantuvo la agitación a -78 °C durante 2.0 horas. El crudo de la reacción se disolvió en acetato de etilo y se extrajo con una disolución al 10% de cloruro de amonio, la fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Posteriormente el solvente se evaporó a presión reducida y el crudo de la reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de Hex:AcOEt (90:10) proporcionando el (*S*)-3-bencilpiroglutamato de metilo *N*-Cbz protegido **45** (1.5 g, 57%) como un sólido blanco. $[\alpha]_D = -47.7^\circ$ (c 0.18, CHCl₃).

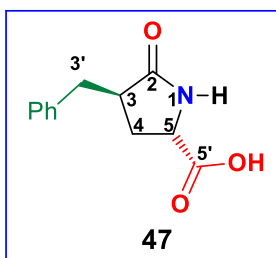
RMN¹H (500 MHz, CDCl₃): 2.0-2.13 (m, 2H, H₄), 2.68 (dd, $J = 14.0, 9.4$ Hz, 1H, H_{3'}), 2.94 (dddd, $J = 11.6, 9.1, 8.9, 4.3$ Hz, 1H, H₃), 3.28 (dd, $J = 14.0, 4.3$ Hz, 1H, H_{3'}), 3.65 (s, 3H, CH₃O), 4.56 (dd, $J = 9.2, 1.9$ Hz, 1H, H₅), 5.24 (sistema AB, $J = 12.4$ Hz, 1H, CH₂Bn), 5.32 (sistema AB, $J = 12.4$ Hz, 1H, CH₂Bn), 7.15-7.41 (m, 10H, H_{arom}). **RMN¹³C** (125 MHz, CDCl₃): 27.4 (C₄), 36.3 (C_{3'}), 43.6 (C₃), 51.7 (CH₃O), 56.9 (C₅), 68.6 (CH₂Bn), 126.9, 128.3 (x 2), 128.6 (x 2), 128.8 (x 2), 128.9, 129.2 (x 2), 135.2, 138.2 (C_{arom}), 152.1, 171.5, 174.1 (C=O). **HMRS** [FAB⁺]: Calculado para C₂₁H₂₂NO₅ [M+H]⁺, m/z 368.1452; encontrado 368.1509 m/z

8.9 (2*S*,4*R*)-4-Bencil-5-oxopirrolidin-2-carboxilato de metilo 46

En un matraz redondo provisto de agitación magnética, se colocaron 0.1 g (0.3 mmol) de la lactama *N*-Cbz protegida **45** y una mezcla de AcOEt/MeOH (1:2). A la disolución resultante se le añadió Pd/C 20% mol (peso/peso), la mezcla de la reacción se dejó agitando a temperatura

ambiente bajo atmósfera de hidrógeno durante 20.0 horas. Una vez transcurrido el tiempo, el crudo de la reacción se filtró sobre Celita utilizando como fase móvil metanol, obteniendo la lactama *N*-desprotegida **46** (0.06, 100%) como un sólido blanco, p.f. = 145-147 °C. $[\alpha]_D = +12.70$ (c 0.11, MeOH).⁴⁸ **RMN¹H** (500 MHz, CDCl₃): 2.0-2.13 (m, 2H, H₄), 2.68 (sistema AB, $J = 14.0$ Hz, 1H, H_{3'}), 2.94 (dddd, $J = 11.6, 9.1, 8.9, 4.3$ Hz, 1H, H₃), 3.28 (sistema AB, $J = 14.0$ Hz, 1H, H_{3'}), 3.65 (s, 3H, CH₃O), 4.56 (dd, $J = 9.2, 1.9$ Hz, 1H, H₅), 7.25-7.36 (m, 5H, H_{arom}). **RMN¹³C** (125 MHz, CDCl₃): 27.4 (C₄), 36.3 (C_{3'}), 43.6 (C₃), 51.7 (CH₃O), 56.9 (H₅), 128.9 (x 2), 129.2 (x2), 135.2, 138.2 (C_{arom}), 171.5, 174.1 (C=O). **HMRS** [FAB⁺]: Calculado para C₁₃H₁₆NO₃ [M+H]⁺, m/z 234.1085; encontrado 234.0000 m/z .

8.10 Ácido (2*S*,4*R*)-4-bencil-5-oxopirrolidin-2-carboxílico **47**



En un matraz redondo provisto de agitación magnética, se colocaron 0.4 g (1.7 mmol) de la lactama α,γ -sustituida **46** y 1 mL de metanol. La disolución resultante se enfrió a 0 °C y se adicionó lentamente 10 mL de hidróxido de sodio en una mezcla de MeOH/H₂O (10:90), la solución resultante se agitó durante 30 minutos horas. Transcurrido el tiempo y manteniendo la mezcla fría se acidificó a un pH = 2 utilizando una solución de ácido clorhídrico al 10%. El crudo de la reacción se extrajo con AcOEt (3 x 15 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se evaporó bajo presión reducida y el residuo se lavó con diclorometano (2 x 20 mL) generando el derivado de ácido piroglutámico **47** (0.34 g, 93%) como un sólido blanco. p.f. = 161-163 °C $[\alpha]_D = -96.3^\circ$ (c 0.77, MeOH).⁴⁹ **RMN¹H** (500 MHz, CDCl₃): 2.12-2.25 (m, 2H, H₄), 2.70 (sistema AB, $J = 13.6$ Hz, 1H, CH₂Bn), 2.79 (qd, $J = 8.8, 4.1$ Hz, 1H, H₃), 3.12 (sistema AB, $J = 13.6, 4.1$ Hz, 1H, CH₂Bn), 3.33 (s, 1H, NH), 4.0 (dd, $J = 8.7, 3.6$ Hz, 1H, H₅), 7.20-7.33 (m, 5H, H_{arom}). **RMN¹³C** (125 MHz, CDCl₃): 30.3 (C₄), 35.9 (C_{3'}), 41.8 (C₅), 53.6 (C₃), 126.2, 128.2 (x 2), 128.7 (x 2), 138.8 (C_{arom}), 174.4, 180.3 (C=O). **HMRS** [FAB⁺]: Calculado para C₁₂H₁₄NO₃ [M+H]⁺, m/z 220.0929; encontrado 220.0598 m/z .

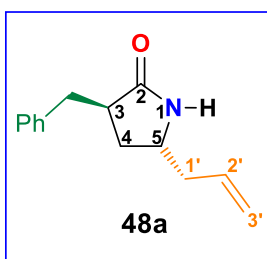
⁴⁸ Goswami, L. N.; Srivastava, S.; Pandav, S. K.; Dikshit, D. K. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 7891-7892.

⁴⁹ Baldwin, J. E.; Miranda, T.; Moloney, M.; Hokelek, T. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 7459-7468.

8.11 Procedimiento general para la descarboxilación radicalaria-adición de nucleófilos

En un matraz de dos bocas de 25 mL provisto de agitación magnética, se colocaron 44 mg (0.2 mmol) del ácido 3-bencilpiroglutámico **47** y 5 mL de diclorometano bajo atmósfera de nitrógeno. La disolución resultante se trató con 0.13 g (0.4 mmol) de (Diacetoxiiodo) benceno y 50 mg (0.2 mmol) de yodo molecular. La mezcla de la reacción se agitó durante 2.5 horas a temperatura ambiente bajo irradiación de luz blanca LED (30 Watts). Transcurrido el tiempo, la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se adicionó lentamente (1.0 mmol) del nucleófilo correspondiente y 80 mg, 0.07 mL (0.4 mmol) de trifluorometanosulfonato de trimetilsililo. La reacción se dejó alcanzar temperatura ambiente y se agitó durante 4.0 horas, el residuo de la reacción se lavó con una disolución acuosa al 10% de tiosulfato de sodio y se extrajo con diclorometano (2 x 10 mL). El crudo de la reacción se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se concentró y se purificó por cromatografía en columna.

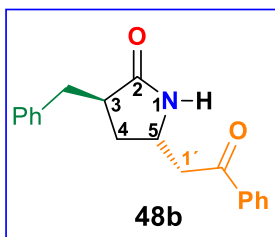
8.11.1 (3*R*,5*R*)-5-Alil-3-bencilpirrolin-2-ona **48a**



Siguiendo el procedimiento general de la descarboxilación radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos, usando como nucleófilo aliltrimetilsilano 0.11 g, 0.16 mL (1.0 mmol). El crudo de la reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla Hex:AcOEt (50:50), proporcionando la lactama **48a** (22 mg, 58%) como un sólido blanco. $[\alpha]_D^{25} = +25.5$ (c 0.2, MeOH). **RMN ^1H** (500 MHz, CDCl_3): 1.83 (ddd, $J = 13.1, 8.9, 4.1$ Hz, 1H, H_4), 2.0 (ddd, $J = 13.1, 7.6, 7.5$ Hz, 1H, H_4), 2.11-2.24 (m, 2H, $\text{H}_{1'}$), 2.66 (sistema AB, $J = 13.6$ Hz, 1H, CH_2Bn), 2.76 (dddd, $J = 8.9, 8.9, 7.1, 3.9$ Hz, 1H, H_3), 3.19 (sistema AB, $J = 13.6$ Hz, 1H, CH_2Bn), 3.49 (dddd, $J = 7.4, 7.1, 7.1, 4.6$ Hz, 1H, H_5), 5.05-5.12 (m, 2H, $\text{H}_{3'}$), 5.70 (dddd, $J = 16.7, 10.3, 7.6, 6.4$ Hz, 1H, H_2), 6.21 (sa, 1H, NH), 7.18-7.32 (m, 5H, H_{arom}). **RMN ^{13}C** (125 MHz, CDCl_3): 32.1 (C_4), 37.1 (CH_2Bn), 41.1 ($\text{C}_{1'}$), 42.3 (C_5), 51.8 (C_3), 118.7 ($\text{C}_{3'}$), 126.2, 128.7 (x 2), 129.2 (x 2),

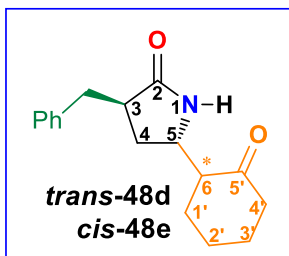
133.8 (C_{arom}), 139 ($C_{2'}$) 178.1 ($C=O$). **HMRS** [FAB⁺]: Calculado para $C_{14}H_{18}NO$ [M+H]⁺, m/z 215.1310; encontrado 215.1512 m/z

8.11.2 (3*R*,5*S*)-3-Bencil-5-(2-oxo-2-feniletíl)-pirrolidin-2-ona **48b**



Siguiendo el procedimiento general de la descarboxilación radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos. Usando como nucleófilo 1-fenil-1-(trimetilsiloxi)etileno (0.19 g, 0.20 mL, 1.0 mmol). El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla Hex:AcOEt (50:50), proporcionando la lactama **48b** (30 mg, 54%) como un sólido blanco. $[\alpha]_D^{20} = +20$ (c 0.2, MeOH). **RMN** ¹H (500 MHz, CDCl₃): 1.83 (ddd, $J = 13.1, 8.9, 4.1$ Hz, 1H, H₄), 2.0 (ddd, $J = 13.1, 7.6, 7.5$ Hz, 1H, H₄), 2.11-2.24 (m, 1H, H_{1'}), 2.66 (sistema AB, $J = 13.6$ Hz, 1H, CH₂Bn), 2.76 (dddd, $J = 8.9, 8.9, 7.1, 3.9$ Hz, 1H, H₃), 3.09 (dd, $J = 17.9, 9.3$ Hz, 1H, H_{1'}), 3.24 (sistema AB, $J = 13.5, 3.9$ Hz, 1H, CH₂Bn), 4.0 (dddd, $J = 7.4, 7.1, 7.1, 4.6$ Hz, 1H, H₅), 6.21 (s, 1H, NH), 7.20-7.90 (m, 10H, H_{arom}). **RMN** ¹³C (125 MHz, CDCl₃): 32.4 (C₄), 37.1 (CH₂Bn), 42.0 (C_{1'}), 45.3 (C₅), 48.2 (C₃), 126.7, 128.2 (x 2), 128.7 (x 2), 128.9 (x 2), 129.2 (x 2), 133.9, 136.5, 139.4 (C_{arom}), 178.5, 198.6 ($C=O$). **HMRS** [FAB⁺]: Calculado para $C_{19}H_{20}NO_2$ [M+H]⁺, m/z 294.1449; encontrado 294.1468 m/z .

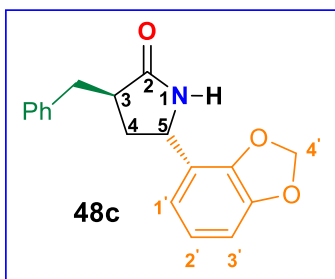
8.11.3 (3*R*,5*S*)-3-Bencil-5-(2-oxo-ciclohexil)pirrolidin-2-ona **48d** y **48e**



Siguiendo el procedimiento general de la descarboxilación radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos. Usando ciclohex-1-en-1-iloxi)trimetilsilano (0.17 g, 0.20 mL, 1.0 mmol). El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla Hex:AcOEt (50:50), proporcionando la lactama **48d** (20 mg, 36%) y **48e** (9 mg, 12%) como líquidos amarillentos. *trans*-**48c**: **RMN** ¹H (500 MHz, CDCl₃): 1.49-1.52 (m, 1H, H_{1'}), 1.63-1.72 (m, 2H, H_{2'}), 1.84-1.95 (m, 2H, H_{3'}), 2.08-2.15 (m, 3H, H₄, H₄, H_{1'}), 2.25-2.30 (m, 1H, H_{4'}), 2.37-2.42 (m, 2H, H_{4'}, H₆), 2.62 (dd, $J = 13.6, 10.0$

Hz, 1H, CH₂Bn), 2.68 (dddd, $J = 8.9, 8.9, 7.1, 3.9$ Hz, 1H, H₃), 3.22 (sistema AB, $J = 13.4$ Hz, 1H, CH₂Bn), 3.94 (dt, $J = 8.7, 4.1$ Hz, 1H, H₅), 6.07 (sa, 1H, NH), 7.18-7.32 (m, 5H, H_{arom}). **RMN ¹³C** (125 MHz, CDCl₃): 24.9 (C_{1'}), 28.0 (C_{2'}), 28.1 (C_{3'}), 30.6 (C₄), 37.5 (CH₂Bn), 42.3 (C_{4'}), 42.6 (C₃), 50.6 (C₅), 55.7 (C₆), 126.6, 128.7 (x 2), 129.2 (x 2), 139.1 (C_{arom}), 179.5, 211.9 (C=O). *cis*-**48e**: **RMN¹H** (500 MHz, CDCl₃): 1.63-1.72 (m, 2H, H_{2'}), 1.77-1.83 (m, 2H, H_{1'}), 1.93-1.98 (m, 2H, H_{3'}), 2.07-2.15 (m, 2H, H₄, H₄), 2.26-2.31 (m, 2H, H_{4'}), 2.39-2.45 (m, 1H, H₆), 2.65-2.85 (m, 2H, H₃, CH₂Bn), 3.2-3.32 (m, 1H, CH₂Bn), 3.49-3.53 (m, 1H, H₅), 6.39 (sa, 1H, NH), 7.18-7.32 (m, 5H, H_{arom}). **RMN ¹³C** (125 MHz, CDCl₃): 24.3 (C_{1'}), 27.8 (C_{2'}), 29.7 (C_{3'}), 30.2 (C₄), 36.6 (CH₂Bn), 42.0 (C_{4'}), 42.3 (C₃), 51.9 (C₅), 56.4 (C₆), 126.4, 128.6 (x 2), 129.0 (x 2), 139.2 (C_{arom}), 178.3, 212.8 (C=O).

8.11.4 (3*R*,5*S*)-5-(Benzo[*d*] [1,3]dioxo-4-il)-3-bencilpirrolidin-2-ona **48c**

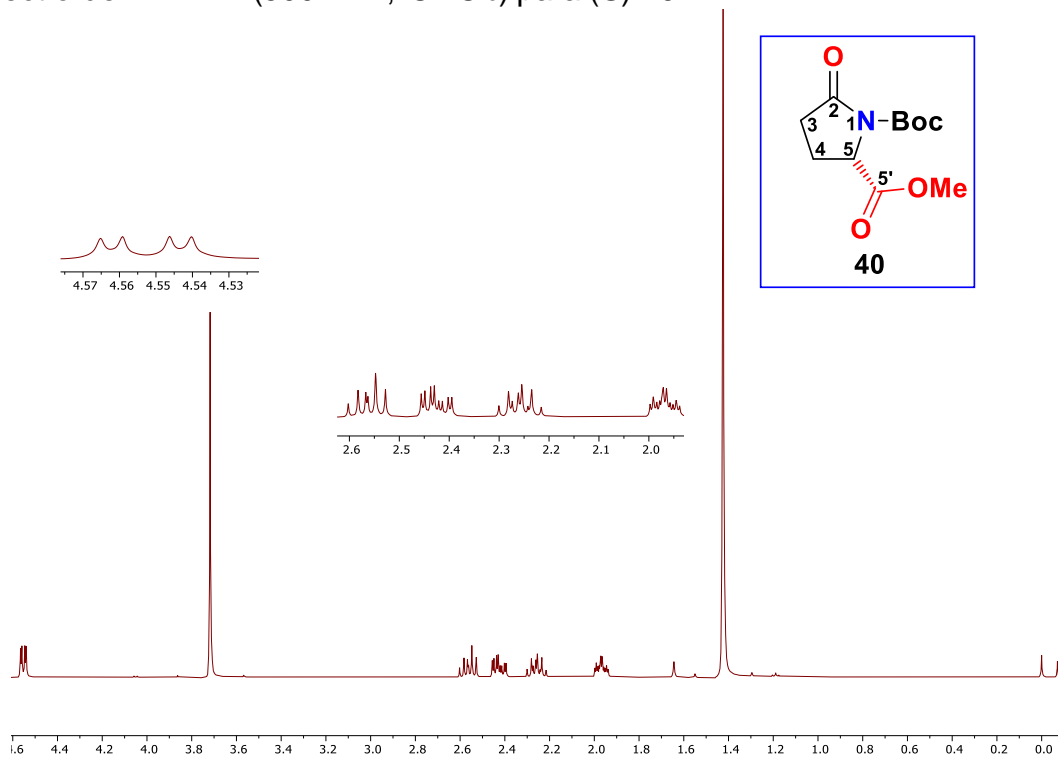


Siguiendo el procedimiento general de la descarboxilación radicalaria-oxidativa-adición de nucleófilos. Usando como nucleófilo 1,3-benzodioxol 0.12 g, 0.10 mL (1.0 mmol). El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla Hex:AcOEt (70:30), generando la

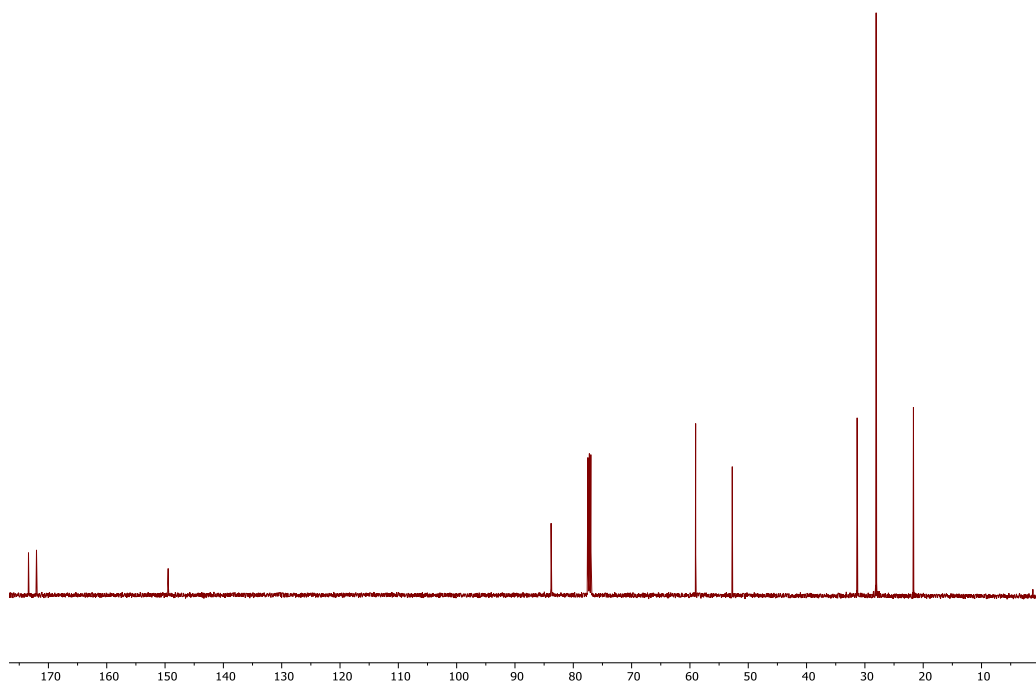
lactama **48d** (16 mg, 31%) como un líquido amarillento, $[\alpha]_D = +56.7$ (c 0.2, MeOH). **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃): 1.98 (ddd, $J = 13.1, 8.8, 4.3$ Hz, 1H, H₄), 2.30 (ddd, $J = 13.1, 7.6, 7.5$ Hz, 1H, H₄), 2.73 (sistema AB, $J = 13.7$ Hz, 1H, CH₂Bn), 2.85 (dddd, $J = 8.82, 8.82, 7.42, 4.06$ Hz, 1H, H₃), 3.20 (sistema AB, $J = 13.70$ Hz, 1H, CH₂Bn), 4.44 (dd, $J = 8.3, 4.3$ Hz, 1H, H₅), 5.93 (s, 1H, H_{4'}), 6.62–6.78 (m, 3H, H_{1'}, H_{2'}, H_{3'}) 7.16-7.33 (m, 5H, H_{arom}). **RMN ¹³C** (125 MHz, CDCl₃): 29.9 (C₄), 36.8 (CH₂Bn), 42.6 (C₅), 55.8 (C₃), 101.3 (C_{4'}), 106.1, 108.5, 118.8, 126.7, 128.7 (x 2), 129.2 (x 2), 136.8, 139.3, 146.7, 148.4 (C_{arom}), 176.6 (C=O). **HMRS [FAB⁺]**: Calculado para C₁₈H₁₈NO₃ [M+H]⁺, m/z 295.1208; encontrado 295.1318 m/z .

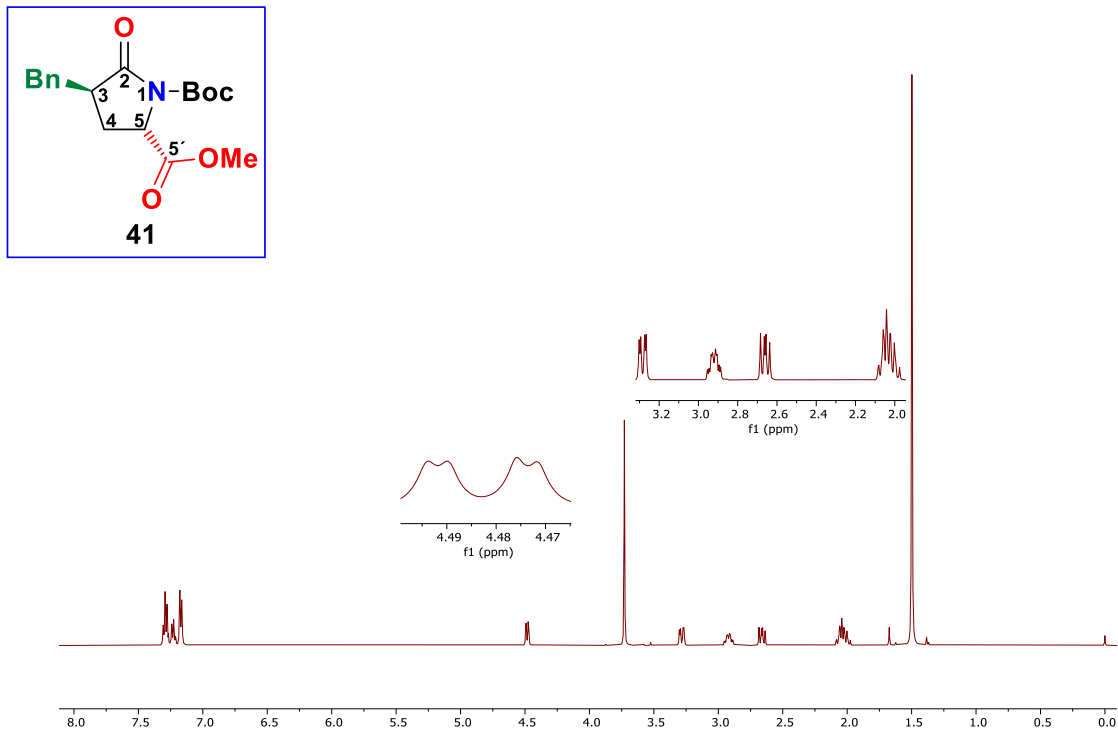
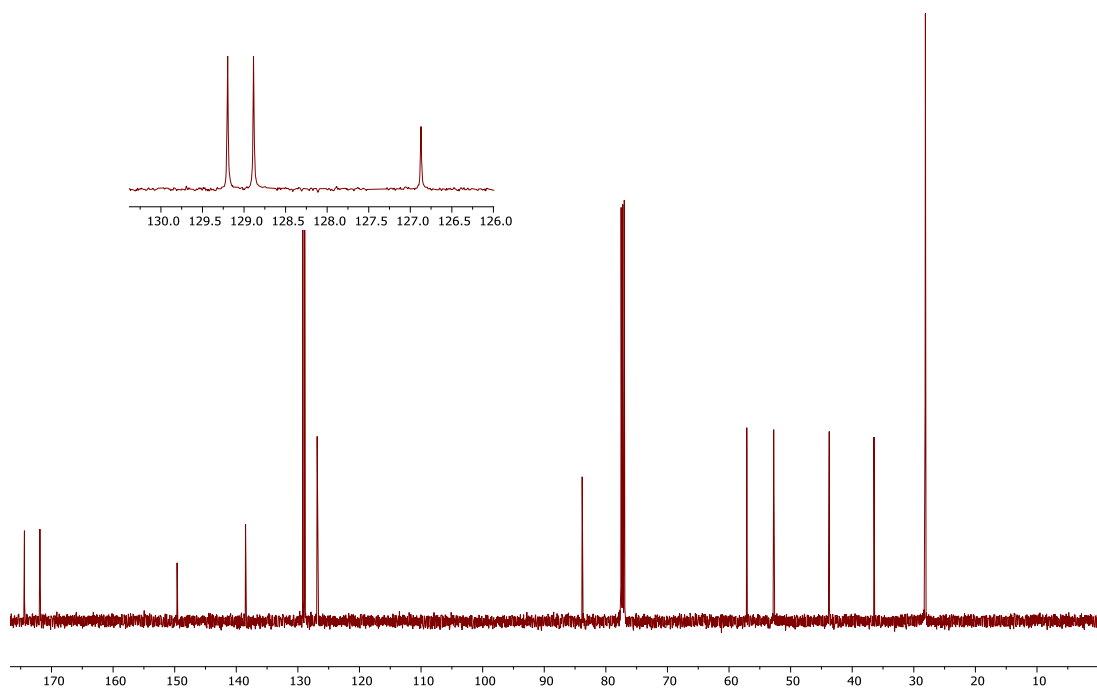
9. ANEXOS

Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) para (S)-40

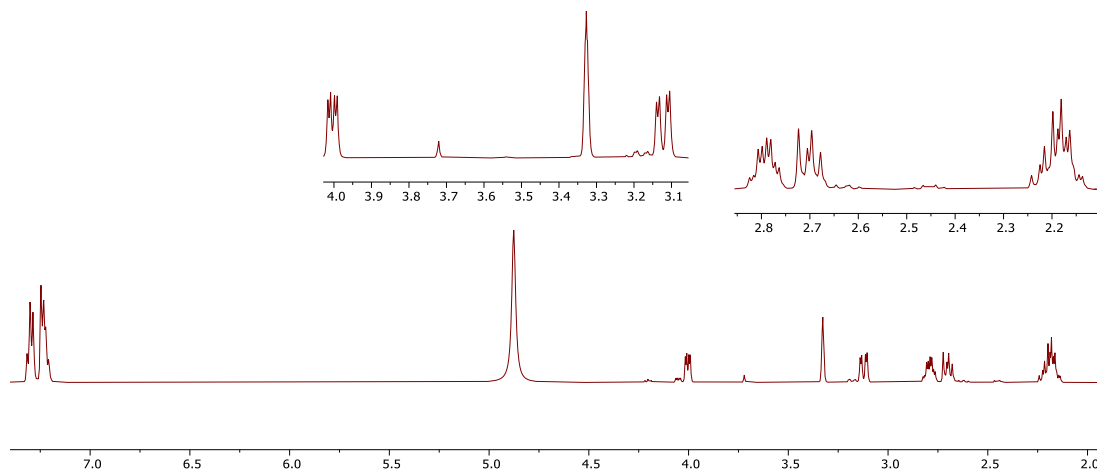
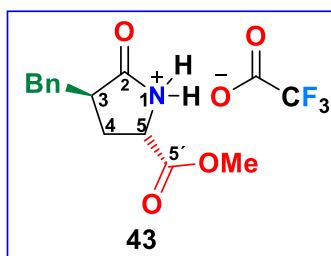


Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para (S)-40

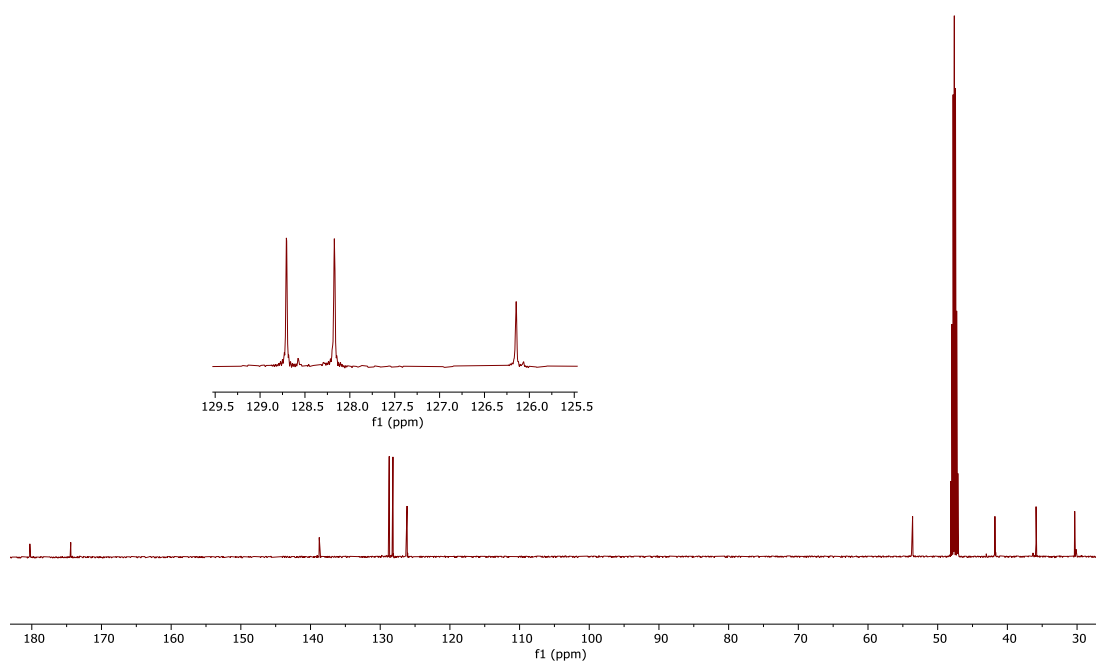


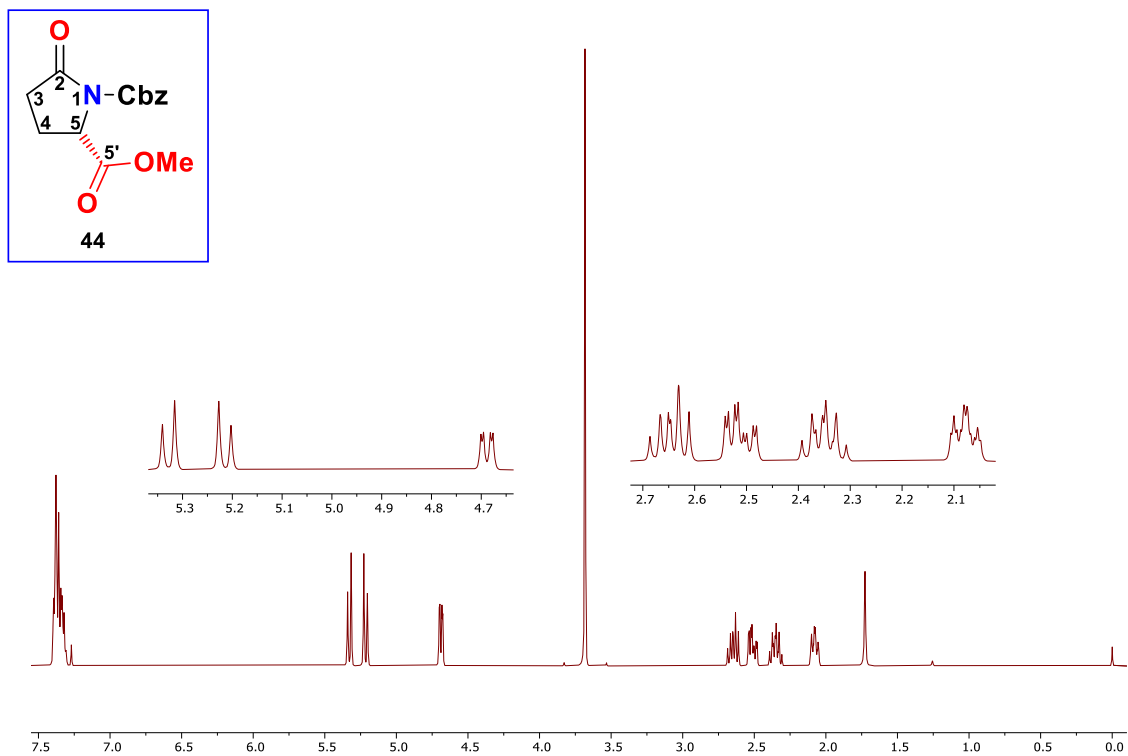
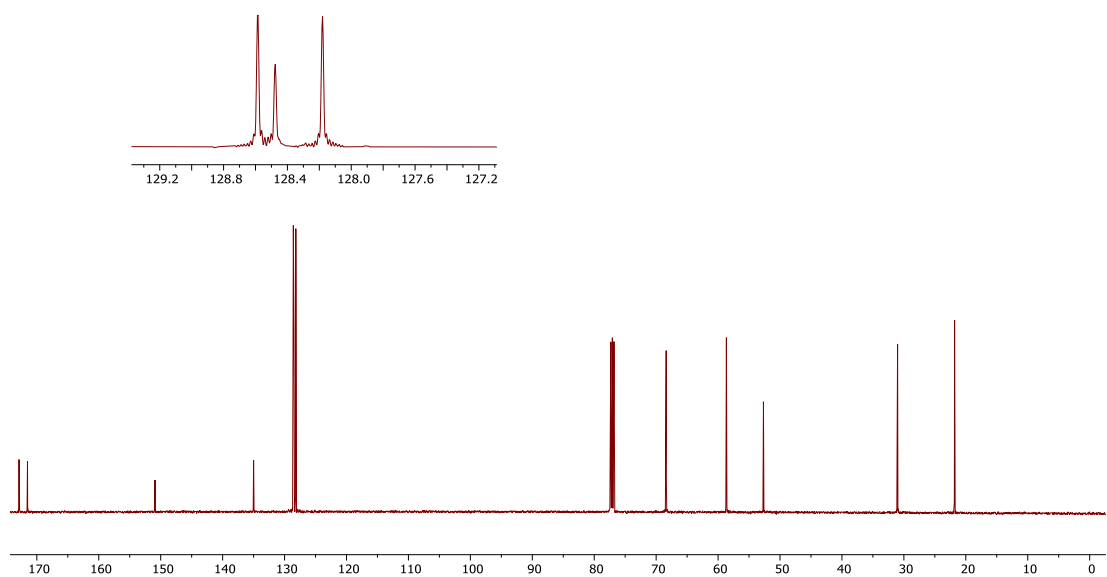
Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-41Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-41

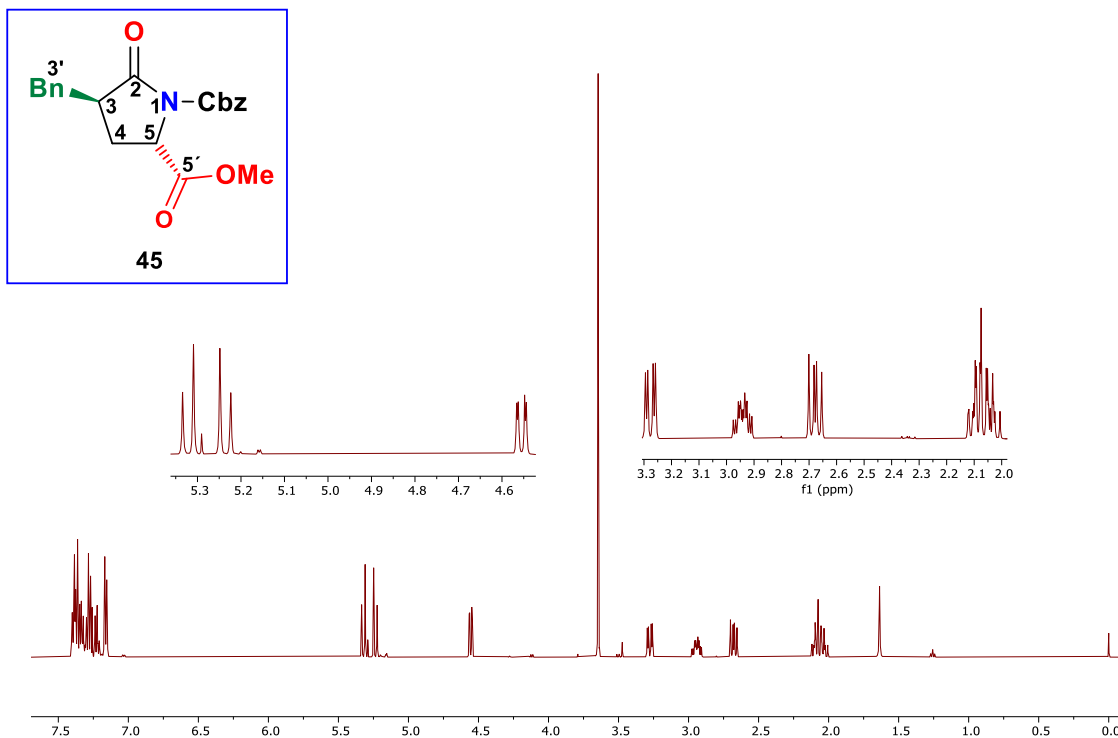
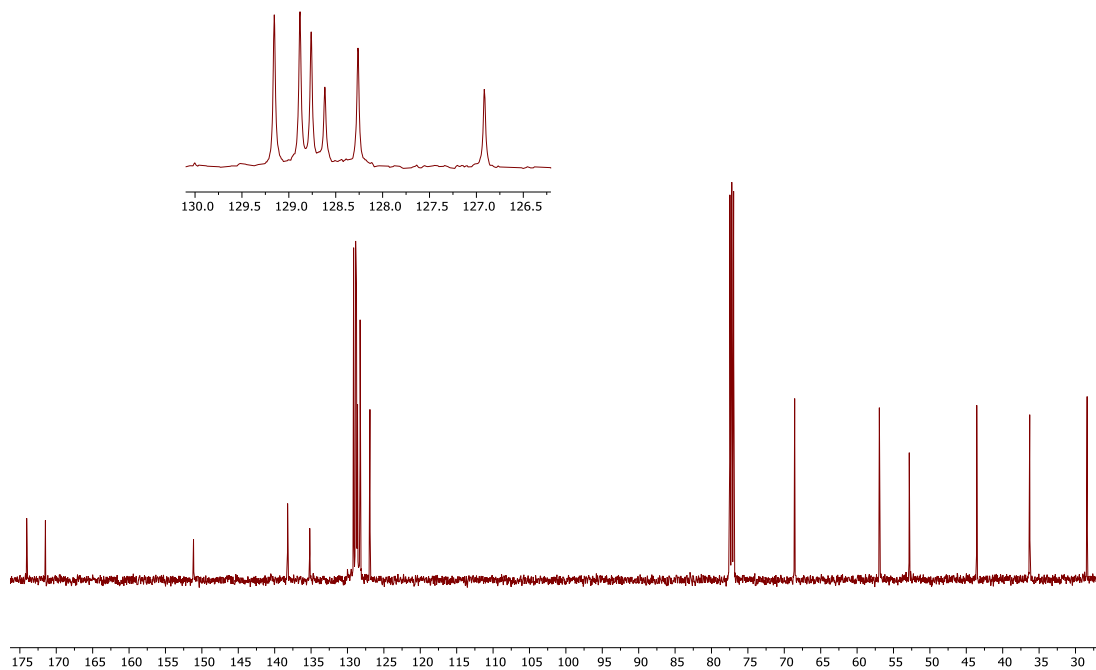
Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-**43**



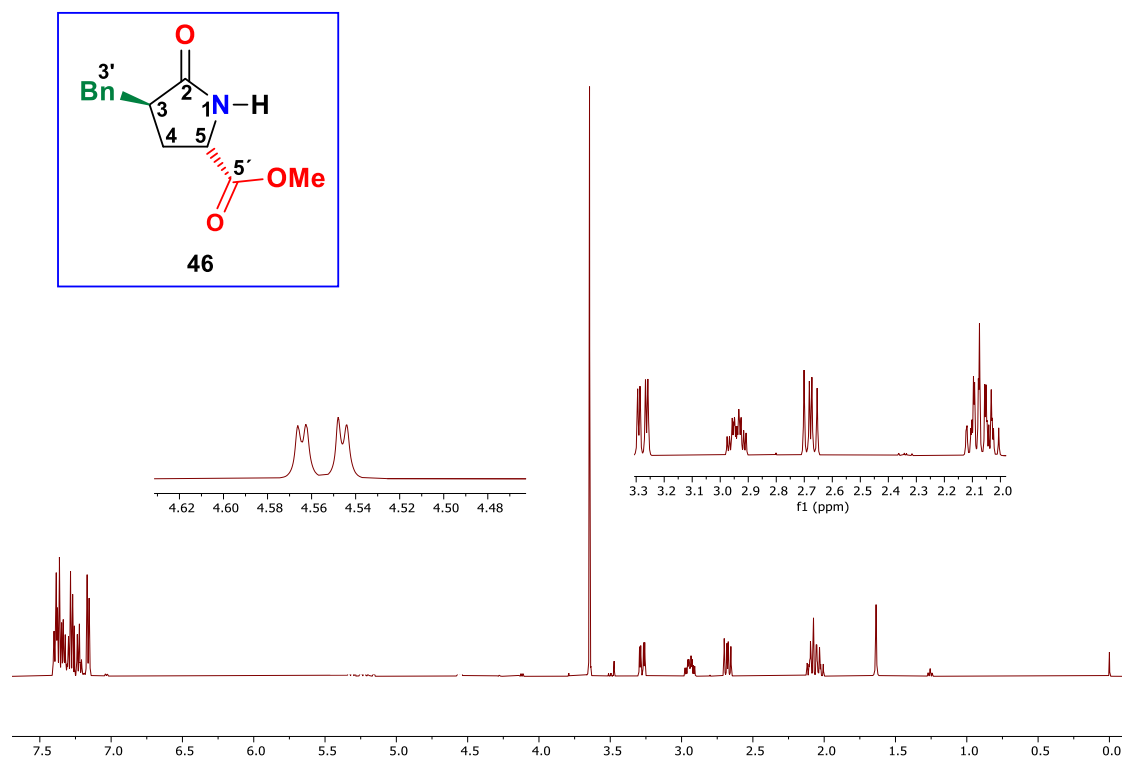
Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-**43**



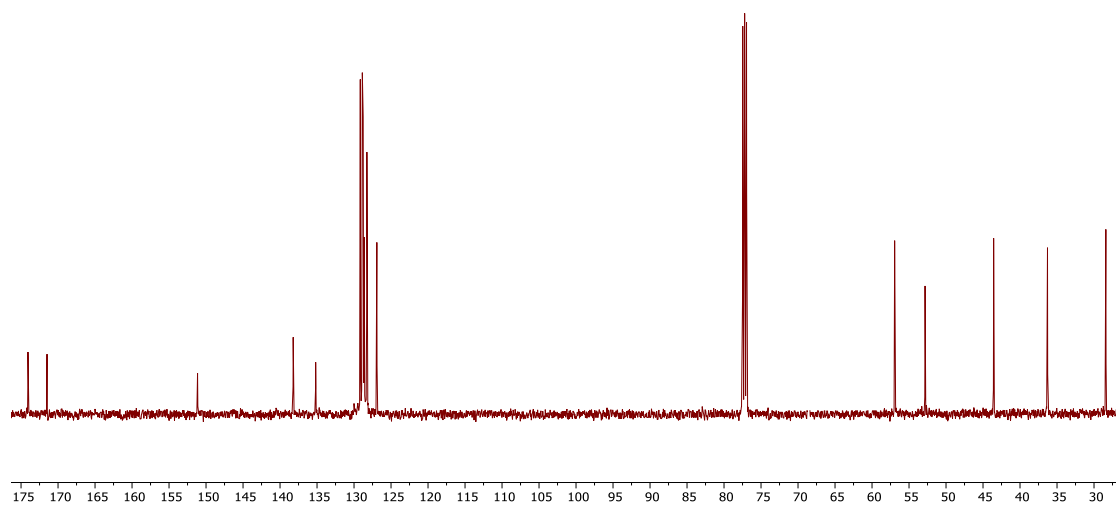
Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) para (S)-44Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para (S)-44

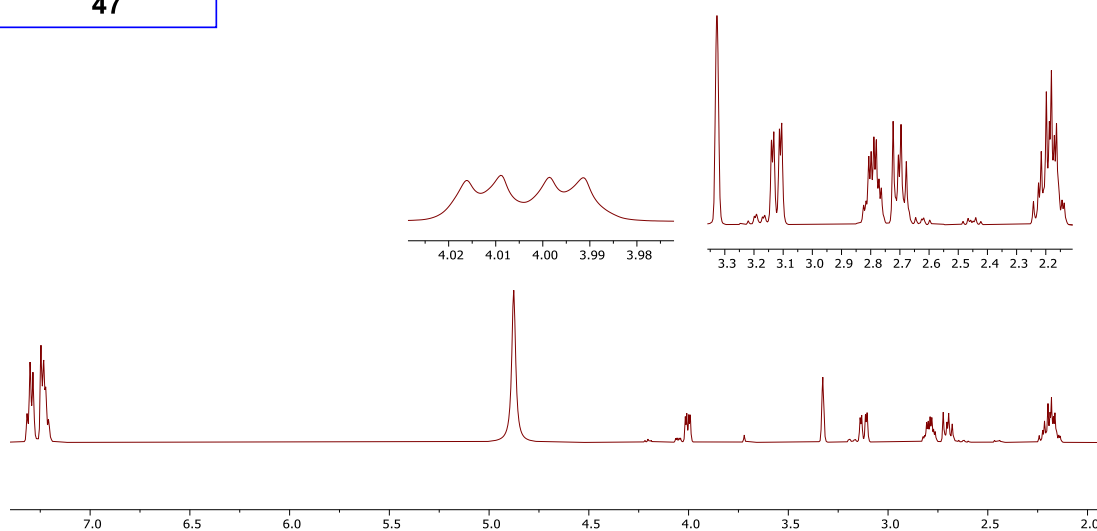
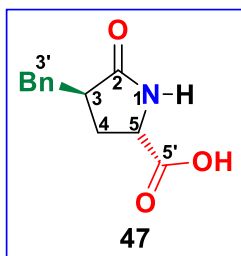
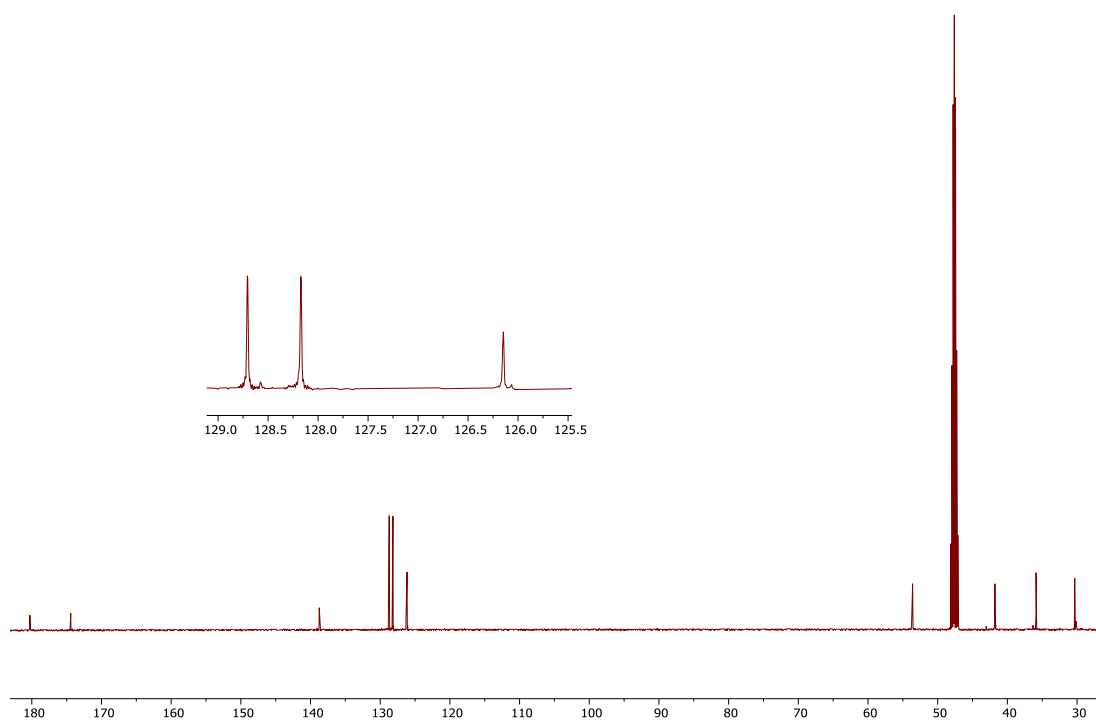
Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-45Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-45

Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-**46**

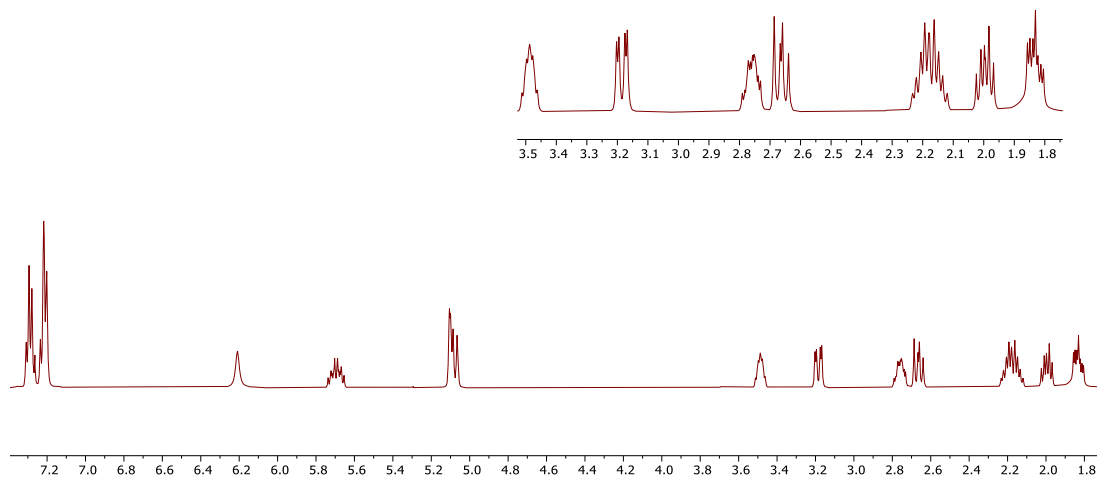
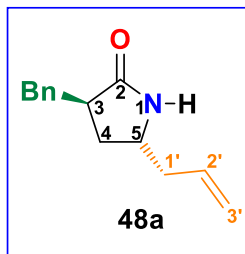


Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-**46**

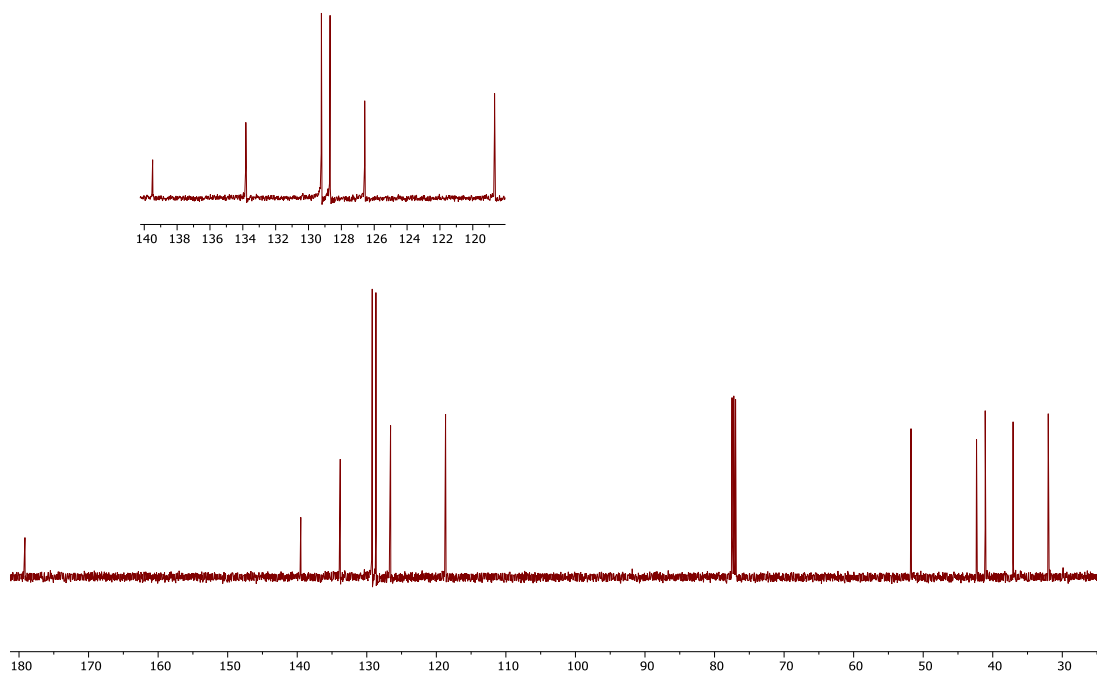


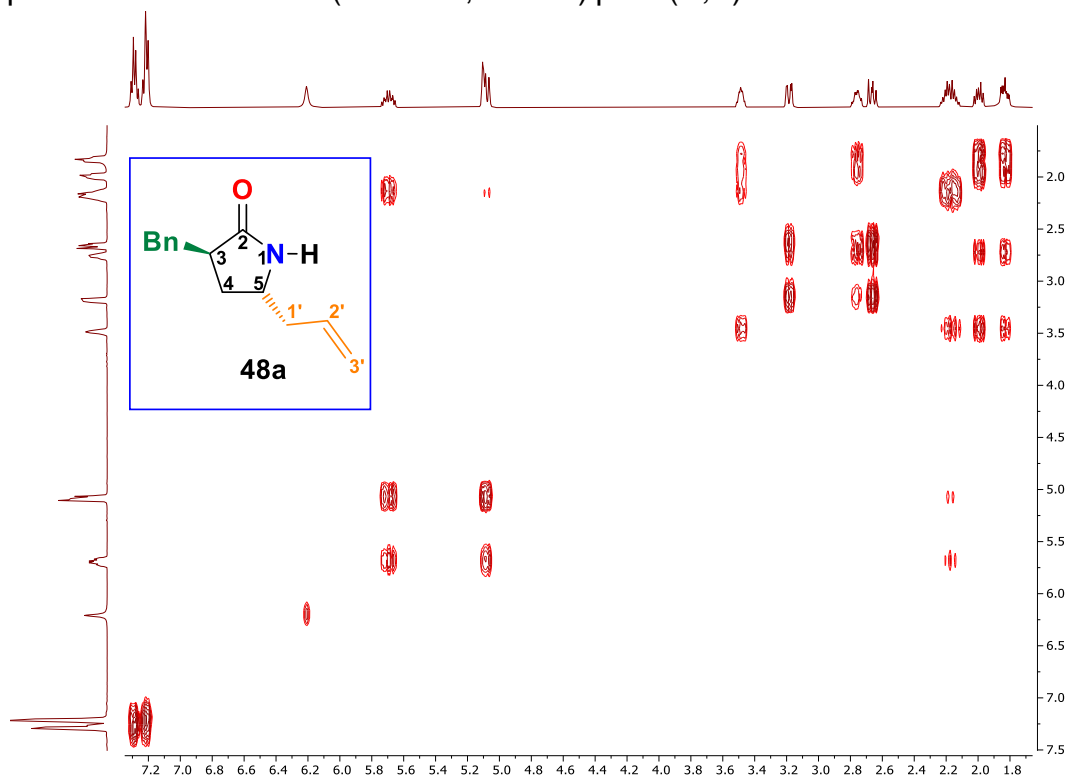
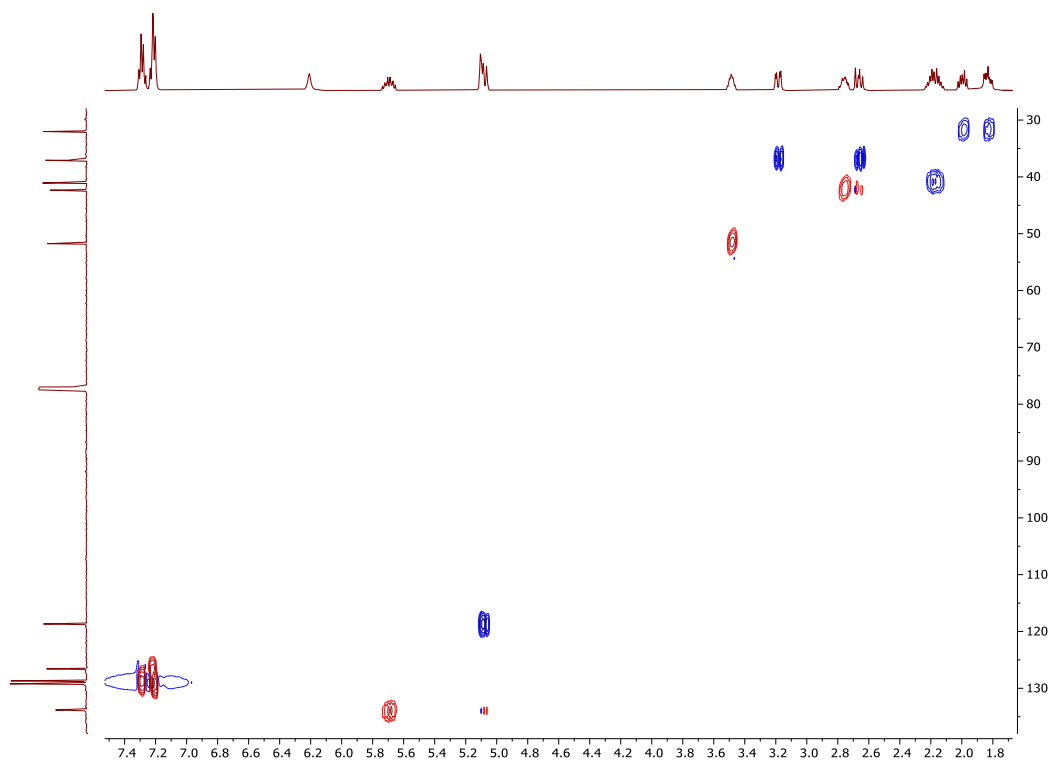
Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-47Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-47

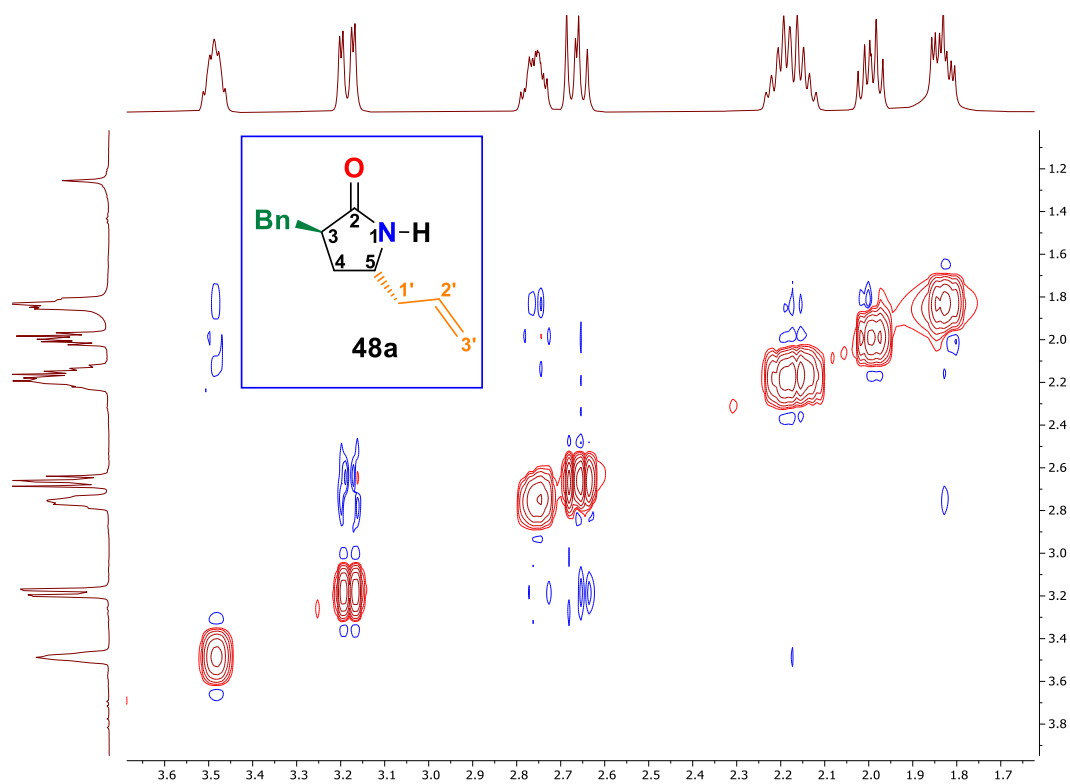
Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-**48a**

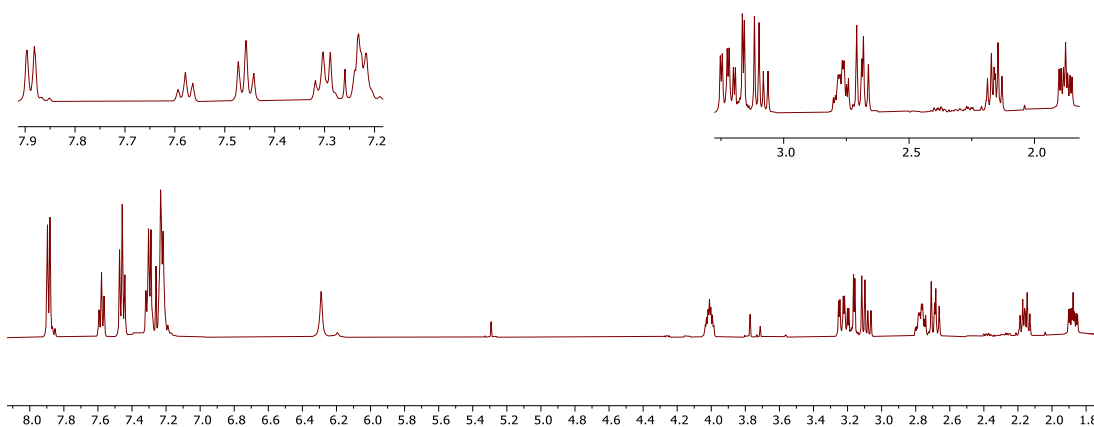
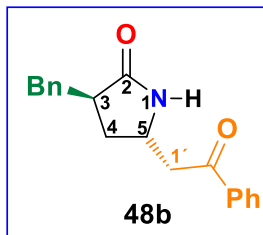
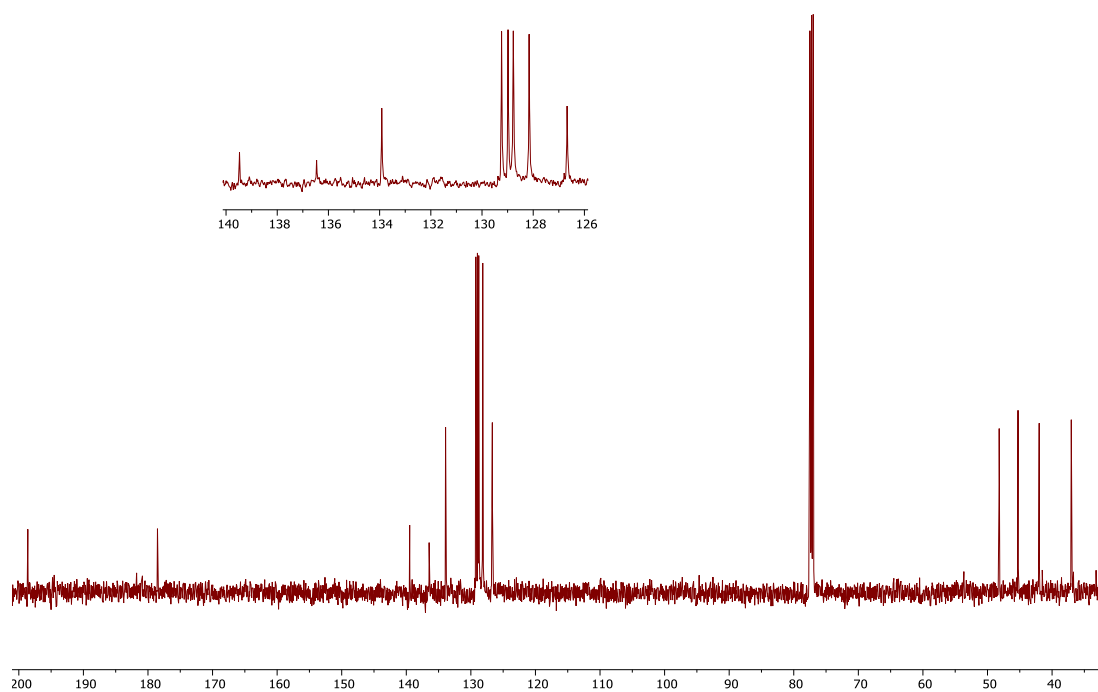


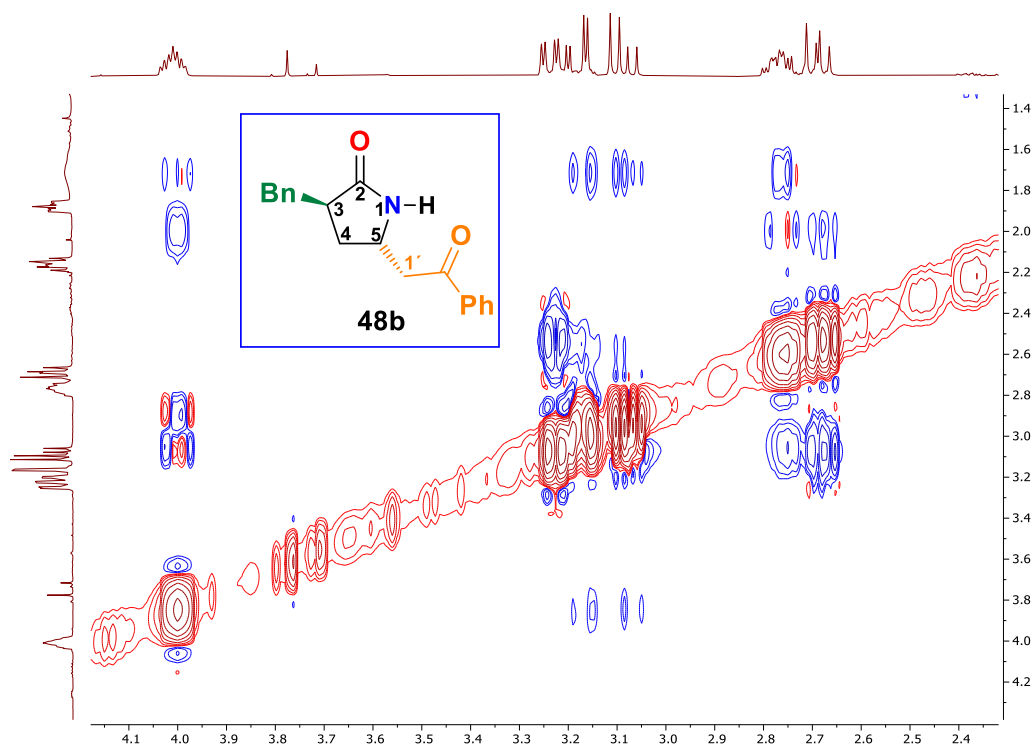
Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-**48a**



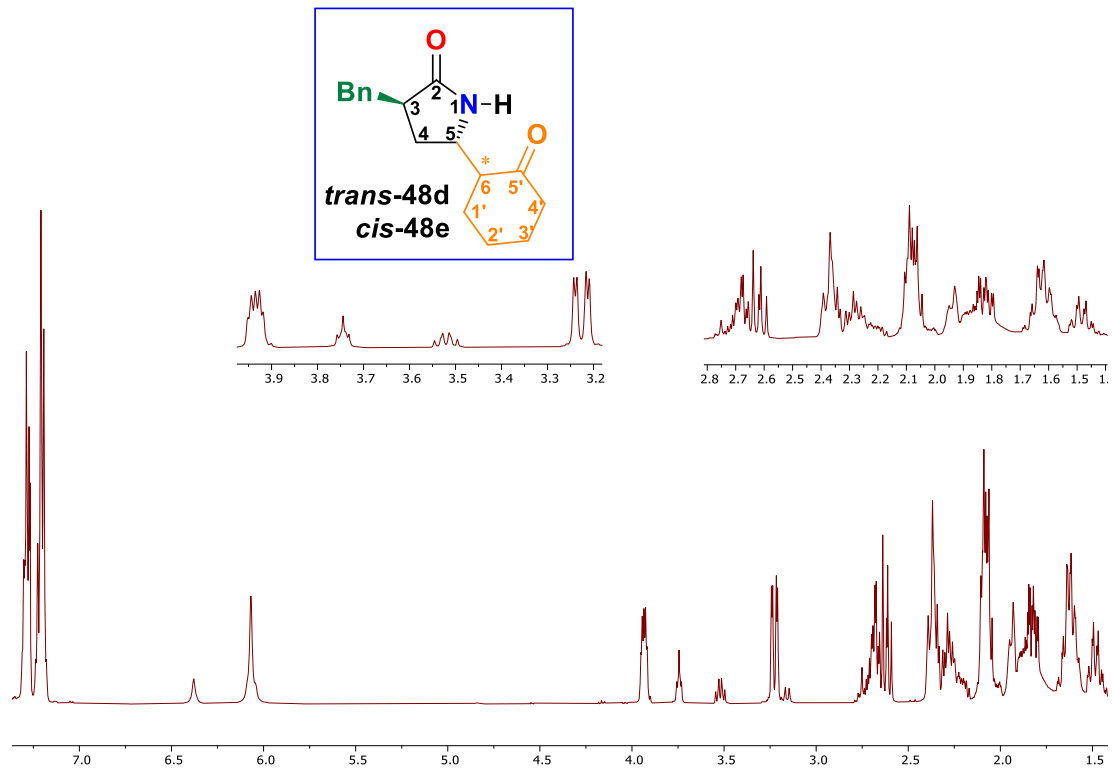
Espectro de RMN COSY (500 MHz, CDCl₃) para (R,S)-48aEspectro de RMN HSQC (500 MHz, CDCl₃) para (R,S)-48a

Espectro de RMN NOESY (500 MHz, CDCl₃) para (*R,S*)-**48a**

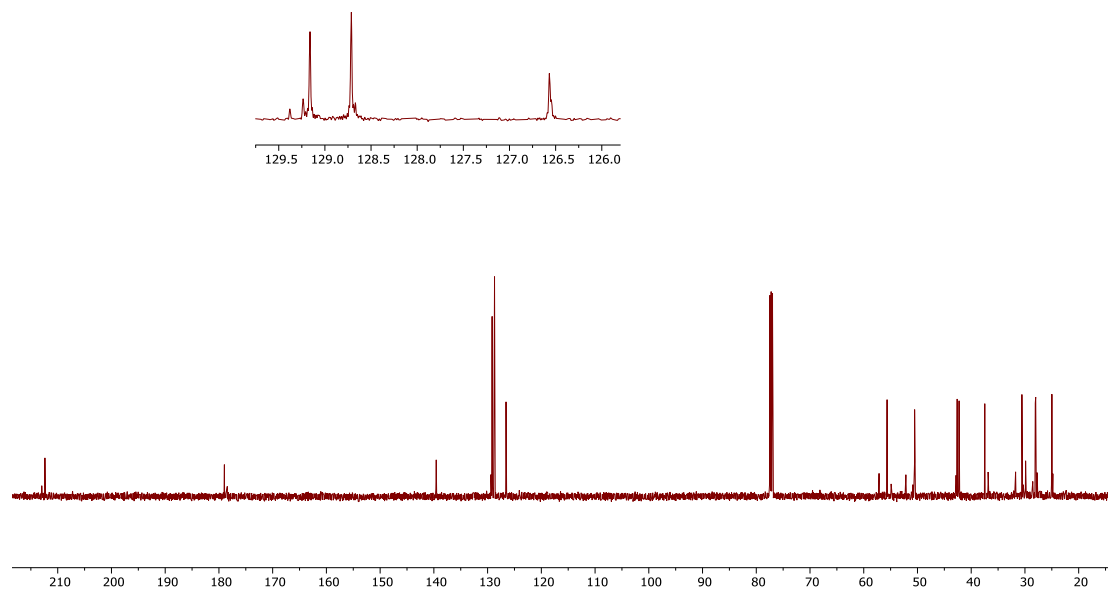
Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-**48b**Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-**48b**

Espectro de RMN NOESY (500 MHz, CDCl₃) para (*R,S*)-**48b**

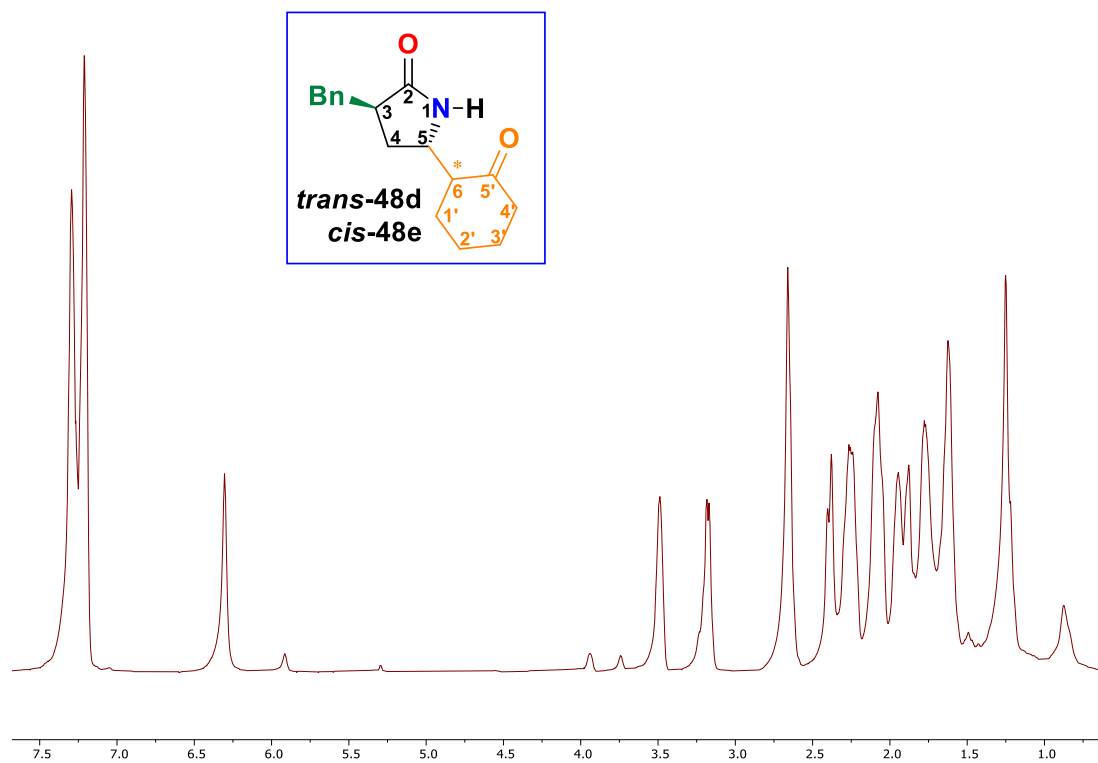
Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-**48d**



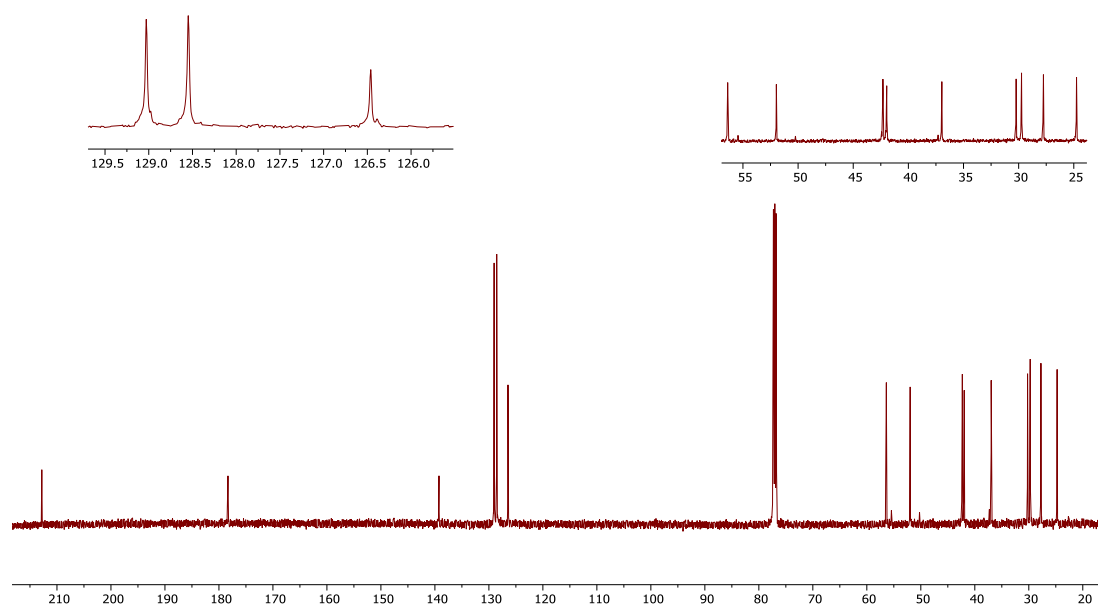
Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-**48d**

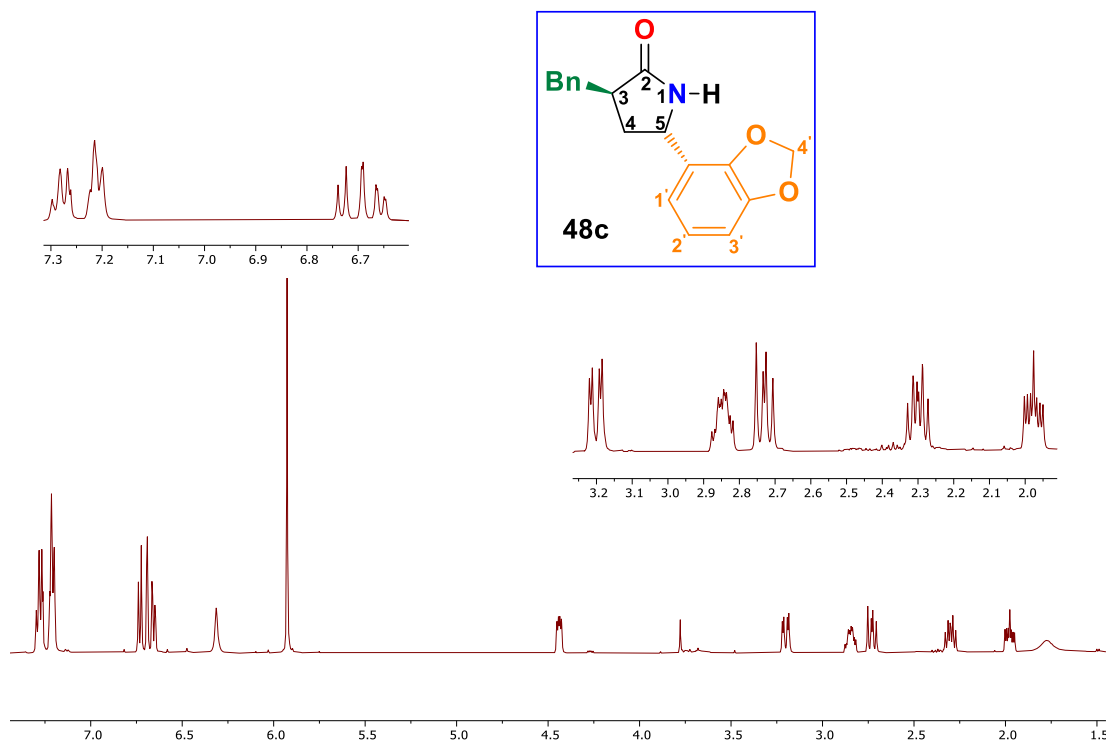


Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-**48e**



Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-**48e**



Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-**48c**Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para (*R,S*)-**48c**