



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS**

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

**“Síntesis asimétrica de pares diastereoisoméricos de β -lactamas,
caracterización y modelado molecular”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

MITZI RODRÍGUEZ REYES

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Jaime Escalante García

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

Atendiendo a la solicitud para emitir DICTAMEN sobre la revisión de la TESIS titulada: **Síntesis asimétrica de pares diastereoisoméricos de β -lactamas, caracterización y modelado molecular**, que presenta la alumna **Mitzi Rodríguez Reyes (10046086)** para obtener el título de **Maestro en Ciencias**.

Nos permitimos informarle que nuestro voto es:

NOMBRE	DICTAMEN	FIRMA
Dra. Laura Patricia Alvarez Berber CIQ-UAEM	APROBADO	
Dra. María Luisa del Carmen Garduño Ramírez CIQ-UAEM	APROBADO	
Dr. David Miguel Aparicio Solano BUAP	APROBADO	
Dr. Adelfo Natalio Reyes Ramírez FES-Zaragoza-UNAM	APROBADO	
Dr. Jaime Escalante García CIQ-UAEM	APROBADO	

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

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

Sello electrónico

JAIME ESCALANTE GARCIA | Fecha:2023-01-02 12:26:44 | Firmante

OLLARAboc6uHBtYKJ7IGM9TXm6FjZBlgv9ekzq9WFB4M8i83G0zzu7sK2JJQIOZAS5oillg4vNFYwzSf2W6Uf9IC2bFNwmCKGZH2DgatPceclVcfchaXa1wIT3fWjz8ewukgGvbuAJed5OwzXrCahmvKalZgEzAPaRBYsreo5tiFtgUTHhFXhKUY0oYUAVhl1iM3WfH8ScwFvKQJlo27AvgqkBJkQuSGdD+968alaumAcfWKYyOYVy6WY2oUdlyBKb0gCurwBcW4Q M+0y4Or52Yzax4+9aS9gxWmaiubJh99SDnVrJGL9yRx9LcO7vg8YZRTT7Ov4agamCJjh3pQ==

LAURA PATRICIA ALVAREZ BERBER | Fecha:2023-01-02 12:31:28 | Firmante

Phzc8Z02eDgscXg6fuoo75hKgDC+Bo426nDCW4lub49GFtBDFJviPUBTPGievwwuONcK5wc7wpMDj6W4bnQov4oiflwEE1YQpmqsUnQQ93+1eUw0N5ZKWYvkq9DzLAMBcnx75X61OigASX0z0i/rOXEYJskbac+HlgqLKuuPizslvzOQXelrulW0w4gSDTnCoVQQBsQVYWNBa2oBJDP081/1pftjZ0ywwWoqF/atMIsOmfAdUZUvXj3Nly+3MW915rRu9hHfNeSdGONfsE+//KJZvnCMrhodzVrAotnjr3r7kDYTYbXStnX6SuyJlcOzblxnEfe90W3UyPaq16KzW==

ADELFO NATALIO REYES RAMÍREZ | Fecha:2023-01-02 15:34:33 | Firmante

GUIne2hr+IDpnyialk5F6xcVdf8PieoBimrebB++gie1NdVJdpHDZLx+I8ASOCcYrKccgh6NCTnhclmrs8zP7GB8YwPFAhAnAvRg3ZThdkYtK5uQHmJRfBXo+e2DDw2QUu/5W04wRBX4u16NCdkV1a5om+dZdhdZqCAZnvui236GdNl0nTNVW8B2aAurB1ZPLDsbe5VtiMzYCVb2nlkugOt26KWHCv1mwnJnpMWaluMXgz7vmyCnHoLNOfkT2xSNHs9Lx9g tPGOC1pkp5hzDV6klkWzEvZ1f3TW22HpokLDuHbRqG4h3QKk3JHwaTNVzHL106dJKU8/qO/FQ==

MARIA LUISA DEL CARMEN GARDUÑO RAMÍREZ | Fecha:2023-01-03 09:57:28 | Firmante

tfroqSPQveO0IR9STtYNYOR9MV3WYyAvWilyViXUo2aQ4ztSFMcV9bVCAbsRutrXv/ds/qwDAPboyRiRvJ+vPifGoApyDa9p3KT4NKkqNtmFuVzo74vNj+YjPHvzRtKdu3uJLs6C0eg/8SuN1lp8AbyPoOracr23vcHjOmGcPhRllg00kps9yx1fwrwbGZGCPPjFVJ9/n4e/vd10rHS6P7BcPcL3N6l1xgGfgvCe0Uz1Vt9ElvSSiFAwRfniNk8aM7q3r9hZDE4zQO69hN4paF+fkYdYtd9P+O0IZH0vaJOnnicp1yUssOw7Fl+1bk+y92mvmA7ZwkpMed0cw==

DAVID MIGUEL APARICIO SOLANO | Fecha:2023-01-06 12:05:08 | Firmante

qbuUtzUZ/zAKQ9LabOfW0sFY1/77wC5GB8bOSO5bPozMGcXqmU9xjJ CouhFwl8pxh1Jlce+qhv2tDwrXksWnYm7e1GaKXNuAac1+ryr9kJCXiziB3NVsDcoVwFEchlV889y7s3JK/9SXloT/l3yxxv3aKouALOMAjFqX1tmyDpbzcDbj7sAT1gCp0G9JZRiCi6WLCQbEUZQ21IGhLAEezcOIHuBy3WoqCufsfRjU82nwXy1birtY CibEYri0Au3822DPX32JEROjVO KMJpzrPrMPDnCs5nju1mRPriQu+56F4OwUROkBW/B65WZkNF8zLbuDpb5dKtSw==

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



FXjacJqK2

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/8A6rADyEjhzFiebWw90fn6O3QZiVVVig>

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio 219 de Síntesis Asimétrica del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la dirección del Dr. Jaime Escalante García, con apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través del proyecto CB-2021/791780.

Este trabajo se presentó en el siguiente foro:

❖ Congreso Internacional de la Sociedad Química de México 2022 “Una Química: Muchas Voces” (2022), con el título:

“Síntesis asimétrica de pares diastereoisoméricos de β -lactamas, caracterización y modelado molecular”.

Dedicatoria

No hay sueños imposibles, sigue creyendo; ríe, ama, vuela, descubre, llora, brilla, pero sobre todo nunca olvides que por más oscuro que estén los días, siempre estaré orgullosa de la persona en que te has convertido.

Lo estás logrando...

Agradecimientos

Al Dr. Jaime Escalante por darme la oportunidad de ser parte de su laboratorio permitiéndome permanecer hasta concluir con mi trabajo de tesis, por sus enseñanzas, guía y consejos académicos.

A CONACyT por la beca (No. 791780) otorgada para la realización de este proyecto de tesis.

A la Dra. Angélica Berenice Aguilar Guadarrama y a la Dra. María Luisa del Carmen Garduño Ramírez, por formar parte de mi comité tutorial y brindarme los conocimientos y consejos para crecer no sólo profesionalmente, sino personalmente.

A mi comité revisor, por dedicarme su tiempo para que este proyecto creciera extraordinariamente: Dra. Laura Patricia Álvarez Berber, Dra. María Luisa del Carmen Garduño Ramírez, Dr. David Miguel Aparicio Solano, Dr. Adelfo Natalio Reyes Ramírez, Dr. Jaime Escalante.

A Narmí y a Juan Francisco, mis padres; por estar incondicionalmente a mi lado, apoyando cada uno de mis sueños y locuras. Los dos me han enseñado a lo largo de la vida que Dios me dio a los padres más maravillosos, gracias por enseñarme todos los días la valentía, esfuerzo y dedicación con la que salen adelante. Gracias por su confianza en tiempos difíciles, ustedes saben que más de una vez les he sacado canas verdes, pero son lo mejor que tengo en la vida.

A mi hermana Mariana, que se ha convertido en una increíble amiga y motor de vida, tu risa alimenta mi alma.

A mi familia en general, a mis abuelos, tía y primos. Pero esencialmente a mis abuelos, Bety y Arturo, gracias por todo el amor sincero que me tienen; le pido a la vida que nunca me falten.

A mis amigos del laboratorio, quienes se han convertido en mi segunda familia. Dani Bahena, Lety, Alexita, Grecia, Jhony; los días en el laboratorio son más divertidos con ustedes, gracias por su amistad.

Al Ing. Alejandro González, por ser mi compañero, por festejar mis logros y consolar mis tristezas, apoyándome en todo momento, gracias por tu amor.

Índice General

Abreviaturas y Símbolos	I
Índice de Compuestos	III
Índice de Esquemas	V
Índice de Espectros	VI
Índice de Figuras	VII
Índice de Tablas	VIII
Resumen	IX
Introducción	1
Antecedentes	3
2.1 Compuestos enantioméricamente puros	3
2.2 β -Lactamas	4
2.3 Métodos generales para la síntesis de β -lactamas	5
2.3.1 Cicloadición de iminas y cetenas	6
2.3.2 Ciclación de β -aminoácidos mediante agentes activadores	7
2.3.3 Ciclación por formación del enlace N ₁ –C ₂	9
2.3.4 Ciclación por formación del enlace N ₁ –C ₄	9
2.3.5 Ciclación por formación del enlace C ₃ –C ₄	10
2.4 Diseño de fármacos basados en la estructura (SBDD)	10
2.5 Acoplamiento molecular	11
2.5.1 Búsqueda conformacional	13
2.6 β -Lactamas en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas	15
2.7 Esquizofrenia	16
2.8 Serotonina	17
2.9 Receptores de serotonina	18
2.9.1 Receptor 5-HT _{2A}	19
Justificación	20
Hipótesis	21
Objetivos	22

5.1 Objetivo General	22
5.2 Objetivos específicos	23
Resultados y Discusión	25
7.1 Parte Experimental	25
7.1.1 Obtención de las β -lactamas distereoisoméricamente puras derivadas del 2-fenilmalonato de dietilo (10a, 10a')	25
7.1.1.1 Síntesis del 2-fenilacrilato de etilo, 6a	25
7.1.1.2 Síntesis de la mezcla diastereoisomérica (<i>S,S</i>) y (<i>R,S</i>) del 2-fenil-3-(((<i>S</i>)-1-feniletil)amino)propanoato de etilo, 8a	30
7.1.1.3 Síntesis diastereoisomérica (<i>S,S</i>) y (<i>R,S</i>) del ácido 2-fenil-3-(((<i>S</i>)-1-feniletil)amino)propanoico, 9a	33
7.1.1.4 Síntesis diastereoisomérica (<i>S,S</i>) y (<i>S,R</i>) de 3-fenil-1-(((<i>S</i>)-1-feniletil)azetidín-2-ona, 10a – 10a'	34
7.1.2 Obtención de las β -lactamas distereoisoméricamente puras derivadas del ácido 3-indolacético (10b, 10b')	40
7.1.2.1 Síntesis del 2-(1 <i>H</i> -indo-3-il)acetato de metilo, 3b	40
7.1.2.2 Síntesis de 3-(2-metoxi-2-oxoetil)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo, 4b	42
7.1.2.3 Síntesis del 3-(3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo, 6b	44
7.1.2.4 Adición tipo Michael de la (<i>S</i>)-feniletilamina al derivado α,β -insaturado <i>N</i> -Boc protegido, 8b	47
7.1.2.5 Síntesis diastereoisomérica (<i>S,S</i>) y (<i>R,S</i>) del ácido 2-(1-(<i>terc</i> -butoxicarbonil)-1 <i>H</i> -indol-3-il)-3-(((<i>S</i>)-1-feniletil)amino)propanoico, 9b	49
7.1.2.6 Obtención de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético	50
7.1.3 Obtención de las β -lactamas diastereoisoméricamente puras usando como auxiliar quiral la (<i>R</i>)-ciclohexiletilamina (10c, 10c')	56
7.1.3.1 Síntesis de la mezcla diastereoisomérica (<i>R,R</i>) y (<i>S,R</i>) del 3-(((<i>R</i>)-1-ciclohexiletil)-2-fenilpropanoato de etilo, 8c	56
7.1.3.2 Síntesis diastereoisomérica (<i>R,R</i>) y (<i>S,R</i>) del ácido 3-(((<i>R</i>)-1-ciclohexiletil)amino)-fenilpropanoico, 9c	58
7.1.3.3 Síntesis diastereoisomérica (<i>R,R</i>) y (<i>S,R</i>) de 1-(((<i>R</i>)-1-ciclohexiletil)-3-fenilazetidín-2-ona, 10c – 10c'	59
7.1.4 Análisis de resultados de los experimentos NOESY	64
7.2 Parte Computacional	67
7.2.1 Preparación de las moléculas (ligando y receptor)	67
7.2.1.1 Preparación de ligandos	67
7.2.1.2 Análisis estructural del receptor 5-HT _{2A}	69
7.2.1.3 Sitio de unión de ligandos	70

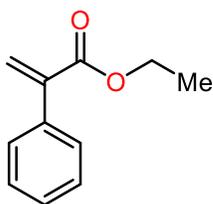
7.2.2 Acoplamiento Molecular _____	71
7.2.2.1 Validación del Acoplamiento Molecular _____	71
7.2.2.2 Análisis de la interacción ligando-receptor de las β -lactamas de interés ____	73
Conclusiones _____	77
Metodología _____	78
9.1 Parte Experimental _____	78
9.1.1 Obtención de las β -lactamas distereoisoméricamente puras derivadas del 2-fenilmalonato de dietilo (10a, 10a') _____	79
9.1.1.1 Síntesis del 2-fenilacrilato de etilo 6a _____	79
9.1.1.2 Síntesis de (<i>R,S</i>)-2-fenil-3-(((<i>S</i>)-1-fenietil)amino)propanoato de etilo 8a ____	79
9.1.1.3 Síntesis del ácido (<i>R,S</i>)-2-fenil-3-(((<i>S</i>)-1-fenietil)amino)propanoico 9a ____	80
9.1.1.4 Síntesis de (<i>R</i>)-3-fenil-1-(((<i>S</i>)-1-fenietil)azetidín-2-ona 10a y (<i>S</i>)-3-fenil-1-(((<i>S</i>)-1-fenietil)azetidín-2-ona 10a' _____	81
9.1.2 Obtención de las β -lactamas distereoisoméricamente puras derivadas del ácido 3-indolacético (10b, 10b') _____	82
9.1.2.1 Síntesis del 3-(3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo 6b _____	82
9.1.2.2 Síntesis del 3-(((<i>R,S</i>)-1-metoxi-1-oxo-3-(((<i>S</i>)-1-fenietil)amino)propan-2-il)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo 8b _____	82
9.1.2.3 Síntesis del ácido (<i>R,S</i>)-2-(1-(<i>terc</i> -butoxicarbonil)-1 <i>H</i> -indol-3-il)-3-(((<i>S</i>)-1-fenietil)amino)propanoico 9b _____	83
9.1.2.4 Síntesis de 3-(((<i>R</i>)-2-oxo-1-(((<i>S</i>)-1-fenietil)azetidín-3-il)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo 10b y 3-(((<i>S</i>)-2-oxo-1-(((<i>S</i>)-1-fenietil)azetidín-3-il)-1 <i>H</i> -indol-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo 10b' _____	84
9.1.3 Obtención de las β -lactamas diastereoisoméricamente puras usando como auxiliar quiral la (<i>R</i>)-ciclohexiletilamina (10c, 10c') _____	85
9.1.3.1 Síntesis de 3-(((<i>R</i>)-1-ciclohexiletil)amino)-(<i>R,S</i>)-2-fenilpropanoato de etilo 8c _____	85
9.1.3.2 Síntesis del ácido 3-(((<i>R</i>)-1-ciclohexiletil)amino)-(<i>R,S</i>)-2-fenilpropanoico 9c 85	
9.1.3.3 Síntesis de (<i>R</i>)-1-(((<i>R</i>)-1-ciclohexiletil)-3-fenilazetidín-2-ona 10c y (<i>S</i>)-1-(((<i>R</i>)-1-ciclohexiletil)-3-fenilazetidín-2-ona 10c' _____	86
Bibliografía _____	88

Abreviaturas y Símbolos

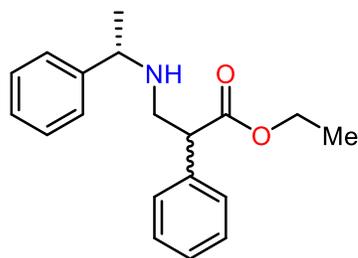
AcOEt	Acetato de etilo	g	Gramos
CH ₃ CN	Acetonitrilo	Hz	Hercio
Å	Ángstrom	Hex	Hexano
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -Butilo	NaOH	Hidróxido de sodio
Boc	<i>tert</i> -Butil carbamato	5-HT	5-Hidroxitriptamina serotonina
<i>N</i> -Boc	<i>tert</i> -Butil carbamato como grupo protector de una amina	h	Hora
CDCl ₃	Cloroformo deuterado	UV o hv	Luz ultravioleta
CEP	Compuestos enantioméricamente puros	MP	Materia Prima
<i>J</i>	Constante de acoplamiento	MHz	Megah Hercio
TLC	Cromatografía en capa fina	MeOH	Metanol
CC	Cromatografía en columna	min	Minutos
<i>c</i>	Cuarteto (señal)	m	Múltiple (señal)
Δ	Desplazamiento químico	(CH ₂ O) _n	Paraformaldehído
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano	ppm	Partes por millón
DMAP	4-Dimetilaminopiridina	p.f.	Punto de fusión
<i>d</i>	Doble (señal)	5-HTR	Receptores de 5-HT
<i>dd</i>	Doble de dobles (señal)	RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de ¹³ C
Eq	Equivalentes	RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de ¹ H
		Rf	Factor de retención

RMSD	Root Mean Squarea Deviation of atomic position
s	Simple (señal)
t.a.	Temperatura ambiente
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilano

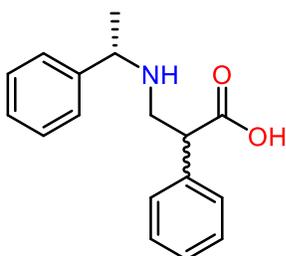
Índice de Compuestos



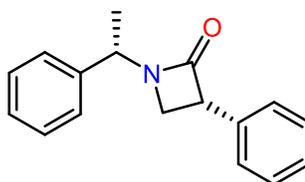
6a
2-Fenilacrilato de etilo



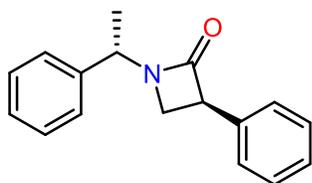
8a
(*R,S*)-2-fenil-3-(((*S*))-1-fenietil)amino)propanoato de etilo



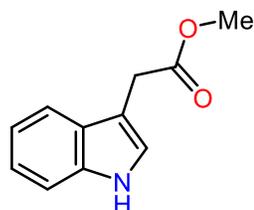
9a
Ácido (*R,S*)-2-fenil-3-(((*S*))-1-fenietil)amino)propanoico



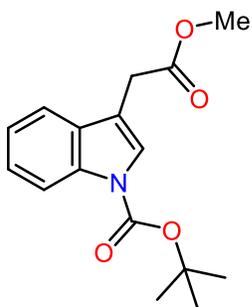
10a
(*R*)-3-fenil-1-((*S*))-1-fenietil)azetidin-2-ona



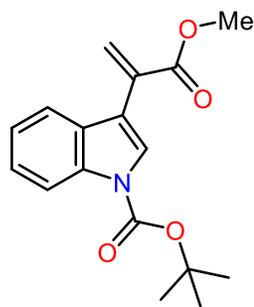
10a'
(*S*)-3-fenil-1-((*S*))-1-fenietil)azetidin-2-ona



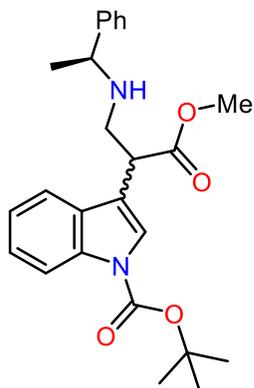
3b
2-(1*H*-Indo-3-il)acetato de metilo



4b
3-(2-metoxi-2-oxoetil)-1*H*-indol-1-carboxilato de *terc*-butilo

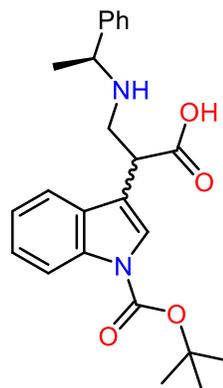


6b
3-(3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)1*H*-indol-1-carboxilato de *terc*-butilo



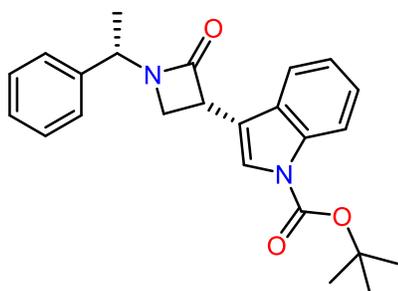
8b

3-((*R,S*)-1-metoxi-1-oxo-3-(((*S*)-1-feniletíl)amino)propan-2-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *terc*-butilo



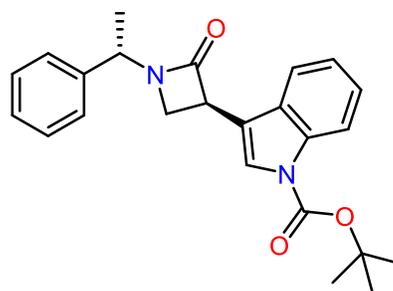
9b

Ácido (*R,S*)-2-(1-(*terc*-butoxicarbonil)-1*H*-indol-3-il)-3-(((*S*)-1-feniletíl)amino)propanóico



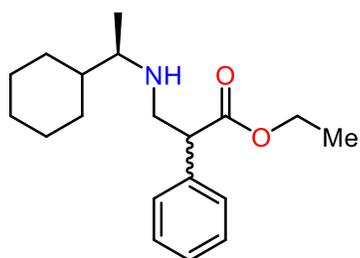
10b

3-((*R*)-2-oxo-1-((*S*)-1-feniletíl)azetidín-3-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *terc*-butilo



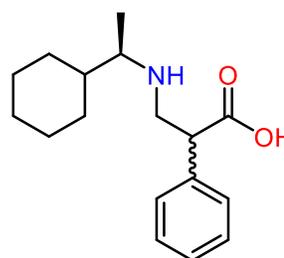
10b'

3-((*S*)-2-oxo-1-((*S*)-1-feniletíl)azetidín-3-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *terc*-butilo



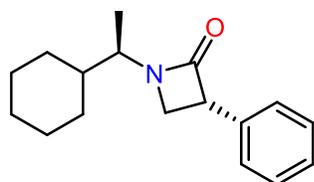
8c

3-(((*R*)-1-ciclohexiletíl)amino)-(*R,S*)-2-fenilpropanoato de etilo



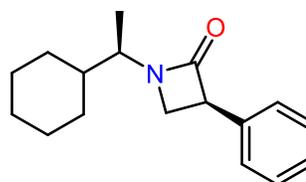
9c

Ácido 3-(((*R*)-1-ciclohexiletíl)amino)-(*R,S*)-2-fenilpropanóico



10c

(*R*)-1-(((*R*)-1-ciclohexiletíl)-3-fenil azetidín-2-ona



10c'

(*S*)-1-(((*R*)-1-ciclohexiletíl)-3-fenil azetidín-2-ona

Índice de Esquemas

Esquema 1. Cicloadición de Staudinger	6
Esquema 2. Aplicación de α -diazocarbonilos como precursores de cetenas.....	7
Esquema 3. Ciclación de β -aminoácidos	8
Esquema 4. Uso del reactivo de Mukaiyama	8
Esquema 5. Ciclación por formación del enlace $N_1 - C_2$	9
Esquema 6. Ciclación mediante la reacción de Mitsunobu.....	9
Esquema 7. Ciclación por formación del enlace $C_3 - C_4$	10
Esquema 8. Síntesis del 2-fenilacrilato de metilo, 12a	25
Esquema 9. Mecanismo de reacción que explica la formación del 2-fenilacrilato de metilo 12a y su producto de auto-adición de Michael.....	26
Esquema 10. Síntesis del 2-fenilacrilato de etilo, 6a	27
Esquema 11. Posible mecanismo de reacción para la síntesis del compuesto 6a	28
Esquema 12. Síntesis diastereoisomérica del compuesto 8a	31
Esquema 13. Mecanismo de reacción propuesto para la síntesis del compuesto 8a	31
Esquema 14. Síntesis diastereoisomérica (<i>S,S</i>) y (<i>R,S</i>) del ácido 2-fenil-3-(((<i>S</i>)-1-feniletil)amino)propanoico, 9a	33
Esquema 15. Lactamización para la identificación de los diastereoisómeros.....	35
Esquema 16. Mecanismo propuesto para la obtención de las β -lactamas 10a , 10a'	35
Esquema 17. Metodología para la obtención del éster metílico 3b	40
Esquema 18. Mecanismo de reacción para la síntesis del éster metílico 3b	41
Esquema 19. Protección de grupo amino del anillo indol	42
Esquema 20. Mecanismo de reacción para la obtención del derivado 4b	43
Esquema 21. Síntesis del 3-(3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1H-indol-1-carboxilato de terc-butilo, 6b₃	45
Esquema 22. Reacción Diels-Alder espontánea del derivado 6b	45
Esquema 23. Mecanismo de reacción en la obtención del derivado α,β -insaturado N-Boc protegido, 6b	46
Esquema 24. Condiciones de reacción para la adición de Michael de la (<i>S</i>)-feniletilamina (7) al derivado 6b	48
Esquema 25. Condiciones de reacción para la hidrólisis del éster metílico 8b	49
Esquema 26. Obtención de las β -lactamas 10b y 10b' , utilizando el reactivo de Mukaiyama	51
Esquema 27. Mecanismo de reacción que explica la formación de β -lactamas utilizando el reactivo de Mukaiyama	52
Esquema 28. Síntesis diastereoisomérica del compuesto 8c	56
Esquema 29. Síntesis diastereoisomérica del compuesto 9c	58
Esquema 30. Obtención de las β -lactamas usando como auxiliar quiral la (<i>R</i>)-ciclohexiletilamina.....	60

Índice de Espectros

Espectro 1. RMN de ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) del compuesto 6a	29
Espectro 2. RMN de ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) del alcohol.....	30
Espectro 3. RMN de ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) de la mezcla diastereoisomérica del compuesto 8a	32
Espectro 4. RMN de ^1H (CD_3OD , 200 MHz) de los diastereoisómeros (<i>S,S</i>) y (<i>R,S</i>) del compuesto 9a	34
Espectro 5. RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del diastereoisómero más polar.....	37
Espectro 6. RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del diastereoisómero menos polar.....	38
Espectro 7. NOESY para las β -lactamas 10a y 10a' . (A) Diastereoisómero menos polar. (B) Diastereoisómero más polar.....	39
Espectro 8. RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del éster metílico.....	42
Espectro 9. RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del compuesto 4b	44
Espectro 10. RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del derivado 6b	47
Espectro 11. RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) de la mezcla diastereoisomérica del compuesto 8b	48
Espectro 12. RMN de ^1H (MeOD , 200 MHz) del compuesto 9b	50
Espectro 13. RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del diastereoisómero más polar.....	53
Espectro 14. RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del diastereoisómero menos polar.....	54
Espectro 15. NOESY para las β -lactamas 10b y 10b' . (A) Diastereoisómero menos polar. (B) Diastereoisómero más polar.....	55
Espectro 16. RMN de ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) de la mezcla diastereoisomérica del compuesto 8c	57
Espectro 17. RMN de ^1H (CD_3OD , 200 MHz) de los diastereoisómeros (<i>S,S</i>) y (<i>S,R</i>) del compuesto 9c	59
Espectro 18. RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) del diastereoisómero más polar.....	61
Espectro 19. RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del diastereoisómero menos polar.....	62
Espectro 20. NOESY para las β -lactamas 10c y 10c' . (A) Diastereoisómero menos polar. (B) Diastereoisómero más polar.....	63

Índice de Figuras

Figura 1. Estructuras generales para inhibidores β -lactámicos de serina-proteasa	1
Figura 2. Aspartamo	3
Figura 3. Métodos para la obtención de compuesto enantioméricamente puros.....	4
Figura 4. β -lactama (2-azetidiona)	5
Figura 5. Métodos para la preparación de β -lactamas	6
Figura 6. Representación del proceso de acoplamiento molecular.....	12
Figura 7. Diagrama de flujo con los pasos comunes en los protocolos de acoplamiento molecular	13
Figura 8. Estructura de la 5-hidroxitriptamina	17
Figura 9. Estructura de la mescalina.....	17
Figura 10. Estructura del ácido 5 hidroxindolacético.....	18
Figura 11. β -lactamas a sintetizar	22
Figura 12. TLC para las β -lactamas diastereoisoméricas 10a y 10a'	36
Figura 13. Estructura molecular en la estructura cristalina de la β -lactama menos polar ...	37
Figura 14. Configuración relativa de las β -lactamas 10a y 10a'	40
Figura 15. TLC para las β -lactamas diastereoisoméricas 10b y 10b'	53
Figura 16. TLC para las β -lactamas diastereoisoméricas 10c y 10c'	60
Figura 17. Estructuras de las β -lactamas 10a , 10a' , 10b , 10b' , 10c y 10c'	68
Figura 18. Estructura de 5-HT _{2A} R.....	69
Figura 19. Sitio de unión del ligando a 5-HT _{2A} R.....	70
Figura 20. Resultados de acoplamiento de la Risperidona y 5-HT _{2A} R.....	72
Figura 21. Interacciones y modo de unión de las β -lactamas y el receptor 5-HT _{2A}	76

Índice de Tablas

Tabla 1. Ejemplos de algoritmos de búsqueda conformacional	14
Tabla 2. Resultados de los experimentos NOESY para las diferentes β -lactamas	64
Tabla 3. Posible asignación de la configuración relativa de las β -lactamas.....	65
Tabla 4. Valores de RMSD y Energía de Afinidad para los compuestos finales.....	73
Tabla 5. Interacción de las β -lactamas y el receptor 5-HT _{2A}	74

Resumen

Las β -lactamas son compuestos heterocíclicos de cuatro miembros, representan a una clase importante de compuestos farmacéuticos como lo son los antibióticos. De igual forma se reconoce que los β -aminoácidos que presentan un anillo de cuatro miembros en su estructura, no solo pueden cambiar notablemente las propiedades biológicas de algunos aminoácidos naturales, sino que además son intermediarios clave en el diseño de ciertos fármacos.

En el presente trabajo se llevó a cabo la síntesis de tres pares de diastereoisómeros de β -lactamas derivadas de los ácidos fenilacético y 3-indolacético, usando como auxiliares quirales a las (*S*)-feniletilamina y (*R*)-ciclohexiletilamina. Así mismo se llevó a cabo el acoplamiento molecular utilizando AutoDock Vina junto con el software Maestro para visualizar las interacciones entre los tres pares de diastereoisómeros de β -lactamas y el receptor 5-HT_{2A}.

Para la síntesis se prepararon los correspondientes aceptores de tipo Michael empleando una estrategia de síntesis diseñada en el grupo de investigación, donde se resalta el uso de paraformaldehído como agente metilante estable y de fácil manipulación; se realizó la adición del auxiliar quiral, (*S*)-feniletilamina y (*R*)-ciclohexiletilamina, a los sistemas α,β -insaturados. A continuación, se realizó la hidrólisis de los β^2 -aril amino ésteres y así aislar a los β^2 -aril aminoácidos diastereoisoméricos. Posteriormente se desarrollaron reacciones de lactamización para el aislamiento de los tres pares de diastereoisómeros de β -lactamas.

Se caracterizaron cada par diastereoisomérico de β -lactamas y mediante las correlaciones vistas dentro de los diferentes experimentos NOESY se observó una posible tendencia con respecto a la diferencia de desplazamiento ($\Delta\delta_{|H_b-H_a|}$) de los hidrógenos diasterotópicos de las β -lactamas, permitiéndonos asignar la posible configuración relativa de cada β -lactama.

Una vez sintetizadas las β -lactamas, se desarrollaron estudios de acoplamiento molecular que justificaron la unión al receptor 5-HT_{2A}, mediante la descripción de las interacciones ligando-receptor en el sitio de unión. A partir de los datos obtenidos de cada compuesto, es posible precisar que estos se encuentran dentro del rango aceptable de los valores de RMSD y fue posible realizar un modelado predictivo explorando el espacio químico de las β -lactamas, observando las interacciones presentes con los residuos de aminoácidos.

Introducción

Los derivados de amida cíclica que contienen en su estructura cuatro miembros, conocidos como anillos β -lactámicos, fueron sintetizados por primera vez en 1907 por Staudinger.¹ Sin embargo, no pasaron a primer plano hasta el descubrimiento histórico de la penicilina en 1928 por Alexander Fleming² y la confirmación de Dorothy Crowfoot-Hodgkin de su estructura mediante cristalografía de rayos X en 1945.³ El reconocimiento de la fracción β -lactámica como el componente farmacofórico clave de los antibióticos penam inició una oleada en la actividad sintética de dicho compuesto. Debido a ello, en la actualidad se conocen miles de compuestos quirales que contienen anillos β -lactámicos.

Desde la perspectiva del químico sintético, tanto la síntesis del andamiaje β -lactámico como la comprensión de su reactividad como un bloque de construcción sintético (sintón) para otras estructuras que no son anillos β -lactámicos, son fundamentales para iluminar las relaciones *in vivo* estructura-actividad (SAR), acceder/estudiar a nuevos compuestos y asignar nuevas posibilidades para el descubrimiento de fármacos.

Pese al manejo de anillos β -lactámicos como antibióticos, se encuentran muchos usos importantes que se han ido desarrollando a lo largo de los años. Tal es el caso de notables descubrimientos que refieren al desarrollo de aplicaciones para mejorar la calidad de vida, como lo es la serina proteasa basada en mecanismos inhibidores de elastasa, de proteasas de citomegalovirus, de trombina, de antígeno prostático específico, β -lactamasa y metástasis celular, y como inhibidores de la acil-CoA colesterol acil tranferasa (**Figura 1**).⁴

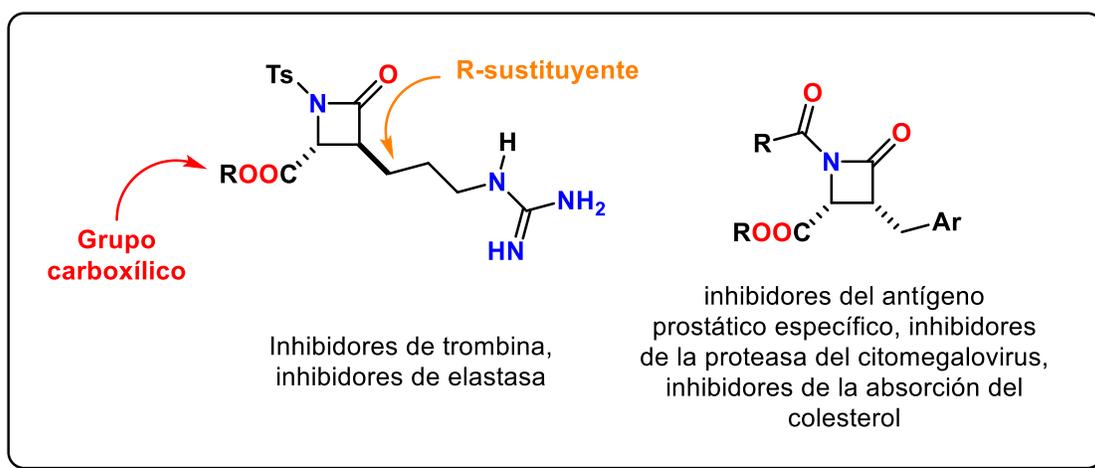


Figura 1. Estructuras generales para inhibidores β -lactámicos de serina-proteasa⁵

En la actualidad, existen técnicas computacionales que permiten estudiar la interacción que existe entre un fármaco y su diana biológica,⁶ como lo es el modelado molecular; el cual mediante el uso de programas informáticos predice si una molécula va a unirse a un receptor, y por lo tanto si puede ser un punto de partida para el diseño y síntesis de fármacos. Los procedimientos de modelado molecular van de la mano con la síntesis de los compuestos más prometedores.

Por consiguiente, los compuestos que contienen un anillo β -lactámico siguen siendo un objetivo valioso para el químico orgánico. La promesa de que las β -lactamas pudieran tener utilidad más allá del control de enfermedades infecciosas reside en el hallazgo de que pueden actuar como una plataforma en el desarrollo de nuevos fármacos acompañado de métodos *in silico*.

En este sentido, el presente proyecto de tesis pretende aportar un desarrollo metodológico para preparar pares de diastereoisómeros y a la par estudios *in silico* que nos permitan establecer si alguno de estos diastereoisómeros podría ser candidato para poseer alguna actividad biológica.

Antecedentes

2.1 Compuestos enantioméricamente puros

Las enzimas y los sitios receptores en los sistemas biológicos tienen la capacidad de distinguir entre los dos enantiómeros de un compuesto original a través de la unión diferencial y, por lo tanto, provocar diferentes respuestas biológicas. En la industria de la alimentación, en cuanto a la percepción de olores y sabores, existe el caso del aspartamo, cuyo enantiómero (*S,S*) es dulce, mientras el (*R,R*) es amargo (**Figura 2**).⁷

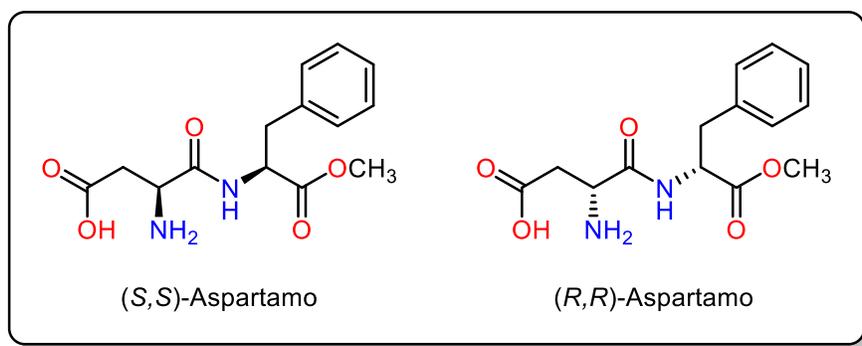


Figura 2. Aspartamo

La síntesis de compuestos ópticamente puros juega un papel importante en el desarrollo de nuevos fármacos, agroquímicos e intermediarios. Los químicos sintéticos han descubierto una variedad de métodos para complementar los procesos biológicos y sintetizar compuestos ópticamente puros. Existen tres estrategias generales para disponer de compuestos enantioméricamente puros (CEP, **Figura 3**).

El uso de agentes de resolución quiral es un método para preparar CEP, a partir de racematos, utilizando métodos como la cristalización, la resolución cinética, la cromatografía, entre otros. Los racematos se pueden resolver por resolución cinética, que depende del hecho de que los diferentes enantiómeros reaccionen a diferentes velocidades con otra molécula quiral.

Para la síntesis de fármacos enantioméricamente puros a partir de la “fosa quiral” existe una gran variedad de materiales de partida disponible. Sin embargo, en muchos casos

pueden ser necesarias transformaciones químicas extensas para obtener materiales de partida útiles para la síntesis de fármacos.

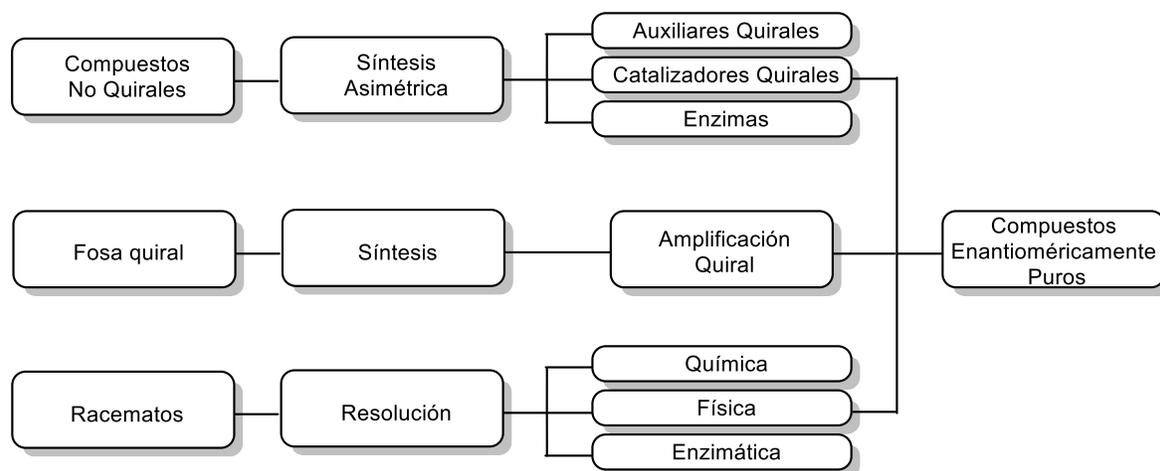


Figura 3. Métodos para la obtención de compuesto enantioméricamente puros

La técnica para sintetizar CEP a partir del uso de auxiliares quirales, catalizadores quirales o enzimas, se conoce como síntesis asimétrica. El reactivo quiral, debe emplearse en cantidades catalíticas, lo que lo hace una gran ventaja; además de que al momento de eliminarlo se puede reciclar el auxiliar quiral. La mayor parte de auxiliares quirales se basan en derivados de aminoácidos, hidroxiácidos y terpenos.

2.2 β -Lactamas

Los heterocíclicos son moléculas orgánicas cíclicas con al menos un heteroátomo que no sea carbono e hidrógeno.⁸ Cualquier clase de molécula orgánica en la que tres o más átomos se unen para formar una estructura cíclica que contiene uno o más heteroátomos se clasifican como compuestos heterocíclicos.

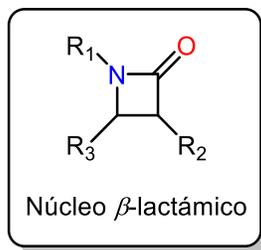


Figura 4. β -lactama (2-azetidionona)

Las β -lactamas son derivados carbonílicos de las azetidinas que contienen un grupo carbonilo en la posición 2, por lo que, se denominan 2-azetidionona (**Figura 4**). La barrera rotacional de un enlace C-N de amida acíclica es de aproximadamente 16-22 kcal/mol, según lo determinado en fase gaseosa y por experimentos de RMN dinámica,⁹ debido a un fuerte grado de resonancia entre el par solitario del átomo de nitrógeno y el sistema π del carbonilo, la tensión angular en la amida cíclica de cuatro miembros interrumpe esta resonancia armoniosa tanto como para alterar la reactividad del carbonilo de amida notoriamente estable a la de un cloruro de ácido en el caso extremo.¹⁰

Las características únicas y la reactividad *in vivo* de las β -lactamas la convierten en un codiciado farmacóforo para ensamblar y un valioso bloque de construcción sintético para transformar.

2.3 Métodos generales para la síntesis de β -lactamas

Además de las actividades antibacterianas, las moléculas que contienen anillos β -lactámicos han demostrado actividades anticancerígenas, antivirales, antihiper glucémicas, entre otras actividades biológicas.¹¹ De manera que es necesario contar con métodos sencillos y novedosos para el acceso a compuestos β -lactámicos. A continuación, se presentan métodos generales para la obtención de los mismos (**Figura 5**).

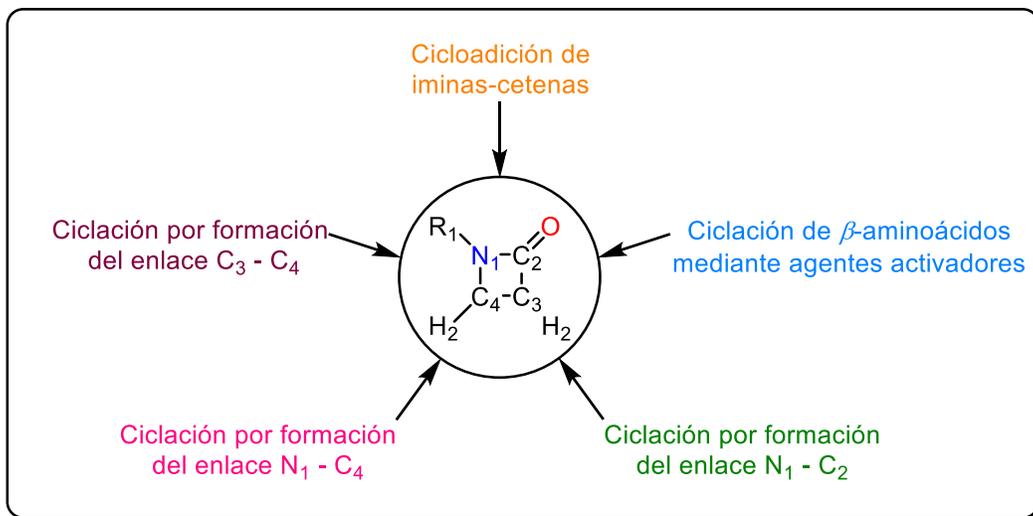
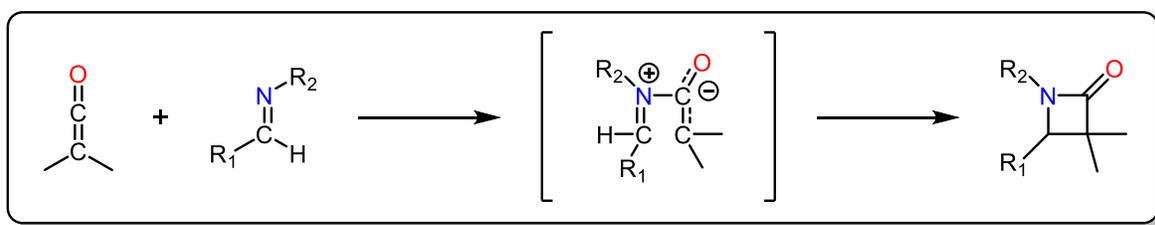


Figura 5. Métodos para la preparación de β -lactamas¹²

2.3.1 Cicloadición de iminas y cetonas

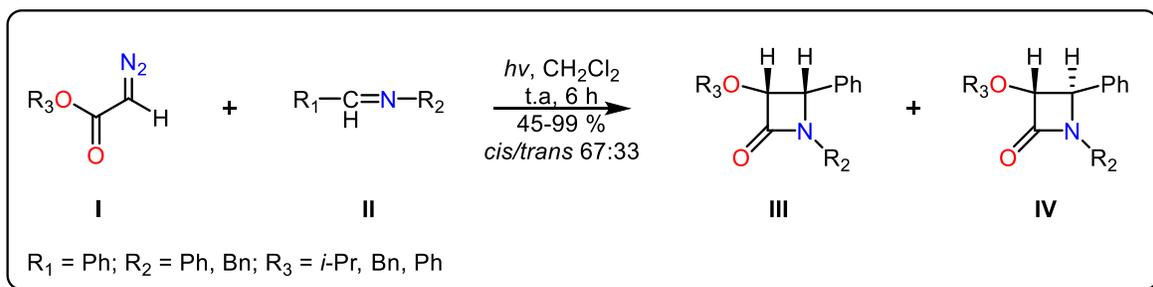
La cicloadición de Staudinger entre iminas y cetonas es el método más fundamental y versátil para la síntesis de 2-azetidionas (**Esquema 1**).



Esquema 1. Cicloadición de Staudinger

Aunque se clasifica como una cicloadición [2+2], involucra un proceso de dos pasos; el primer paso es el ataque nucleofílico del nitrógeno de la imina al carbono central electrofílico de la cetona, generado *in situ* a partir de un cloruro de ácido y una base, para formar un intermediario zwitteriónico, seguido de un cierre de anillo conrotatorio para generar el cicloaducto de cuatro miembros.¹ La estereoselectividad sigue siendo un desafío en esta reacción.

En los últimos años se han desarrollado varios precursores nuevos de cetenas, de azometinas y activadores de ácido. Un método alternativo para la generación de cetenas implica el reordenamiento de Wolff de α -carbonil carbenos, generados a partir de la descomposición térmica o fotoquímica de α -diazocarbonilos.¹³

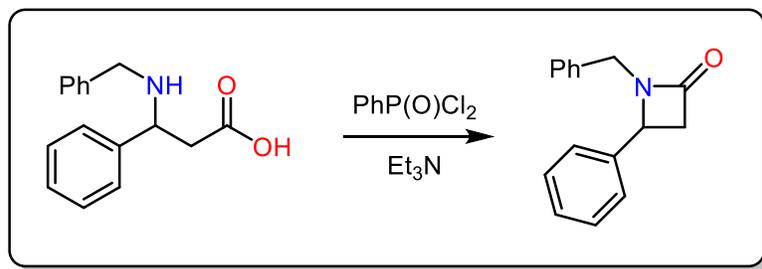


Esquema 2. Aplicación de α -diazocarbonilos como precursores de cetenas

Se han sintetizado 3-alcoxi/ariloxi 2-azetidinonas **III** y **IV** con rendimientos de buenos a satisfactorios mediante una reacción de Staudinger fotoinducida entre iminas **II** y diazoacetatos de alquilo/arilo **I**.¹⁴ Los alcoxi/ariloxicetenas, generados *in situ* a partir de la descomposición fotoquímica de diazoacetatos **I** y el reordenamiento de Wolff de los carbenos resultantes, experimentaron la reacción de Staudinger con las iminas **II** para dar las 2-azetidinonas **III** y **IV** (Esquema 2).¹⁵

2.3.2 Ciclación de β -aminoácidos mediante agentes activadores

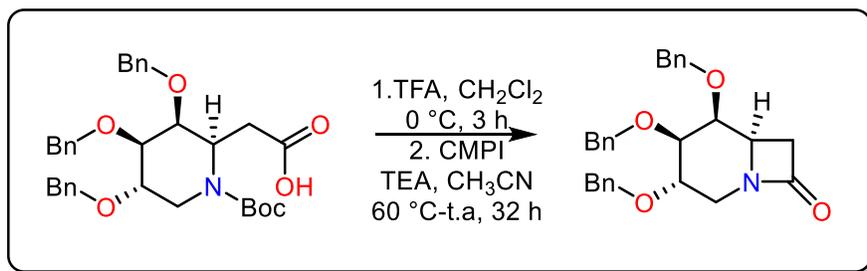
La ciclación de β -aminoácidos mediante agentes activadores es uno de los enfoques más útiles para la construcción de anillos β -lactámicos.

Esquema 3. Ciclación de β -aminoácidos

La activación del grupo carboxilo en un β -aminoácido por medio de un reactivo organofosforado es uno de los métodos más comunes para la construcción de β -lactamas por condensación intramolecular (**Esquema 3**).¹⁶

El cloruro de fenilfosforilo ha demostrado una amplia aplicación en transformaciones orgánicas sintéticas, como sucede en la formación de β -lactamas a partir de β -aminoácidos.

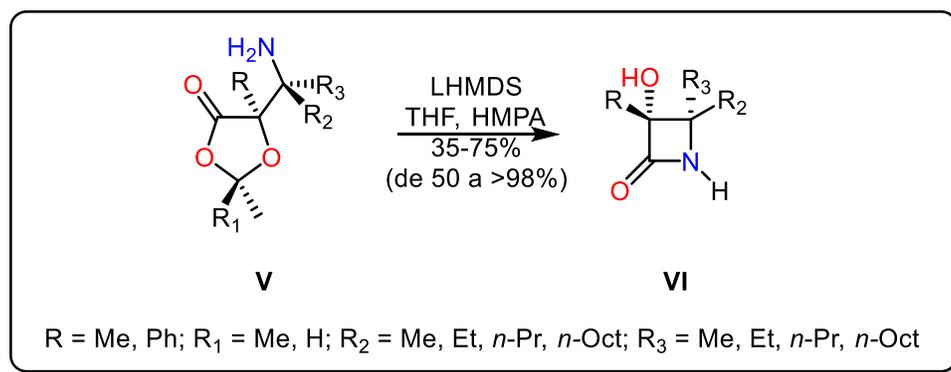
Otro ejemplo, de agentes activadores del grupo carboxilo, es el reactivo de Mukaiyama, tal como se muestra en el **Esquema 4**,¹⁷ realizaron la desprotección de la fracción *N*-Boc mediante agitación con TFA en CH_2Cl_2 a 0°C durante 3 h, seguido del tratamiento con yoduro de 2-cloro-1-metilpiridinio (CMPI, reactivo de Mukaiyama) en presencia de un exceso de trietilamina, obteniendo el anillo β -lactámico con un 53% de rendimiento.



Esquema 4. Uso del reactivo de Mukaiyama

2.3.3 Ciclación por formación del enlace $N_1 - C_2$

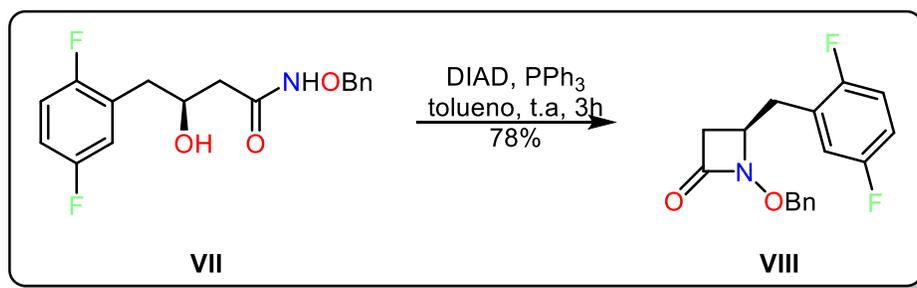
La 1-aminoalquildioxolan-4-ona **V**, experimenta ciclación que produce 3-hidroxi-2-azetidinonas quirales **VI** con buenos rendimientos y excelente diastereoselectividad (**Esquema 5**). La ciclación inducida por bases en las dioxolan-4-onas **V** desprotegidas por el ataque nucleofílico del grupo amino en el carbono del carbonilo seguido de la apertura del anillo de dioxolano y la hidrólisis del éster resultante proporciona los productos finales **VI**.



Esquema 5. Ciclación por formación del enlace $N_1 - C_2$

2.3.4 Ciclación por formación del enlace $N_1 - C_4$

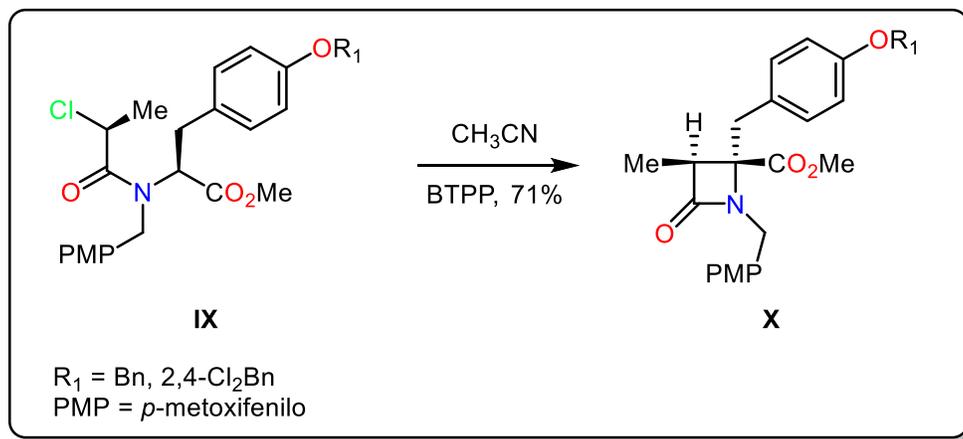
La ciclación de β -hidroxiamidas mediante la reacción de Mitsunobu¹⁸ es la aproximación más utilizada para la ciclación por formación del enlace $N_1 - C_4$ (**Esquema 6**)



Esquema 6. Ciclación mediante la reacción de Mitsunobu

El cierre del anillo en el compuesto **VII** a la β -lactama **VIII** a través de la reacción de Mitsunobu transcurrió muy suavemente, con un rendimiento aislado del 78% con inversión de la configuración.

2.3.5 Ciclación por formación del enlace C₃–C₄



Esquema 7. Ciclación por formación del enlace C₃–C₄

El compuesto **IX** fue ciclado en presencia de *tert*-butilimino-tris(pirrolidino)fosforano (BTPP) condujo a la síntesis de la 2-azetidinona **X** de forma enantiopura.¹⁹

2.4 Diseño de fármacos basados en la estructura (SBDD)

Comprender los principios por los cuales los ligandos de moléculas pequeñas reconocen e interactúan con las macromoléculas es de gran importancia en la investigación y el desarrollo farmacéutico.²⁰ SBDD se refiere al uso sistemático de datos estructurales (por ejemplo, las dianas biológicas también llamadas receptores), que generalmente se obtiene experimentalmente o mediante modelos de homología computacional.²¹

El propósito es concebir ligandos con características electrostáticas y estereoquímicas específicas para lograr una alta afinidad de unión al receptor.

SBDD es un proceso cíclico que consiste en la adquisición de conocimiento paso a paso. A partir de la estructura de una diana conocida, se llevan a cabo estudios *in silico* para identificar posibles ligandos. Los procedimientos de modelado molecular van de la mano con la síntesis de los compuestos más prometedores.²²

La estructura tridimensional del complejo ligando-receptor permite la observación de varias características intermoleculares que respaldan el proceso de reconocimiento molecular, estas son útiles para la investigación de las conformaciones de unión, la caracterización de interacciones intermoleculares clave, la caracterización de sitios de unión desconocidos, estudio de mecanismos y la elucidación de cambios conformacionales inducidos por ligandos.²³ Una vez que se ha determinado el complejo ligando-receptor, los datos de actividad biológica se correlacionan con la información estructural.

2.5 Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular (*Docking*) es una técnica de mecánica molecular, siendo uno de los métodos más utilizados en el SBDD debido a su capacidad para predecir, con un grado sustancial de precisión, la conformación de ligandos (moléculas pequeñas) dentro del sitio de unión de la diana biológica (**Figura 6**).²⁴ Tras el desarrollo de los primeros algoritmos en la década de 1980, el acoplamiento molecular se convirtió en una herramienta esencial en el descubrimiento de fármacos.²⁵

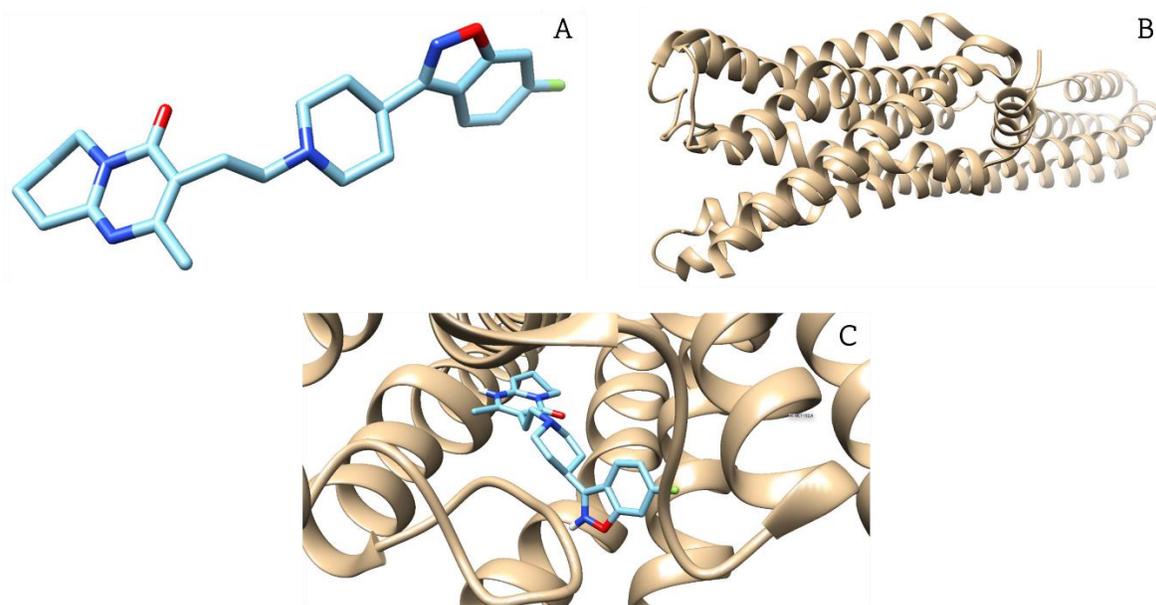


Figura 6. Representación del proceso de acoplamiento molecular. (A) Estructura tridimensional del ligando; (B) Estructura tridimensional del receptor; (C) El ligando se acopla en la cavidad de unión de receptor y se identifica la conformación de unión más probable. La proteína se presenta en forma de caricatura. El ligando (carbono color azul claro) se muestra en representación de barras.

El acoplamiento molecular tiene una amplia variedad de usos y aplicaciones en el descubrimiento de fármacos, incluidos estudios de estructura-actividad, optimización y búsqueda de potenciales líderes mediante cribado virtual, asistencia a la cristalografía de rayos X en el ajuste de sustratos, estudios de mecanismos químicos y diseño de bibliotecas combinatorias.²⁶ Los términos a utilizar son “receptor” para referirse a la diana biológica, ya sea alguna proteína, ADN o ARN, a la que se acopla una molécula más pequeña llamada “ligando”.

La identificación de las conformaciones de unión más probables requiere de dos pasos: (1) la exploración de un gran espacio conformacional que representa varios modos de unión potenciales; (2) la predicción precisa de la energía de interacción asociada con cada una de las conformaciones de unión predichas.²⁷ Los programas de acoplamiento molecular realizan estas tareas a través de un proceso cíclico, en el que la conformación del ligando se evalúa mediante funciones de puntuación específicas, este proceso se lleva a cabo recursivamente hasta converger a una solución de mínima energía.²⁸

La evaluación de los resultados a menudo se mide en términos de desviación cuadrática media (RMSD) de las coordenadas cartesianas de los átomos del ligando en los acoplamientos y en las conformaciones cristalográficas; un acoplamiento generalmente se

considera exitoso si es menor de 2 Å; existen medidas de éxito alternativas, como observar las interacciones ligando-receptor correctas.

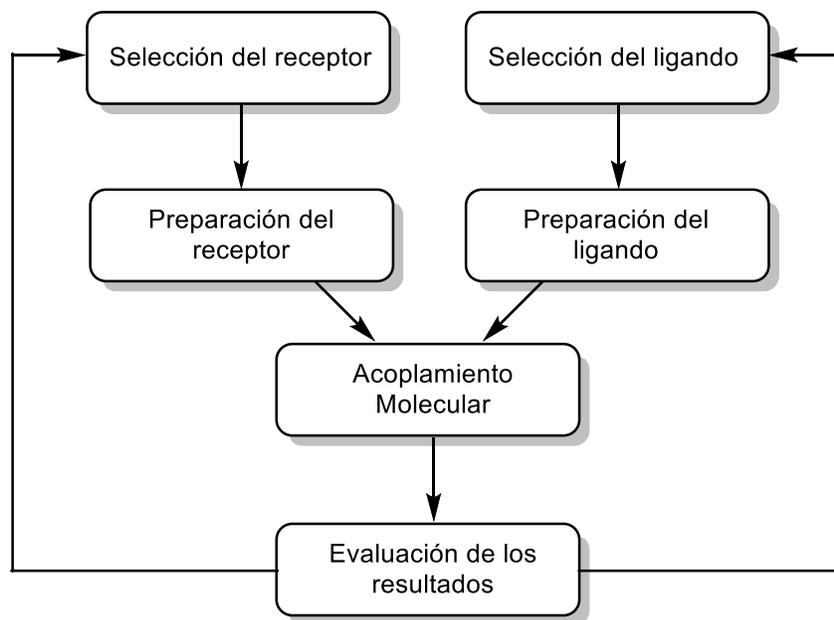


Figura 7. Diagrama de flujo con los pasos comunes en los protocolos de acoplamiento molecular

2.5.1 Búsqueda conformacional

El acoplamiento molecular implica la exploración computacional de un espacio de búsqueda definido por la representación molecular y la clasificación de soluciones candidatas para determinar el mejor modo de unión. Por lo tanto, el acoplamiento requiere tanto un método de búsqueda como una función de puntuación.

En la etapa de búsqueda conformacional, los parámetros estructurales de los ligandos, como el ángulo de torsión (ángulo diedro), los grados de libertad traslacional y rotacional, se modifican gradualmente. Los algoritmos de búsqueda conformacional realizan esto aplicando métodos de búsqueda sistemático y estocástico.²⁹

Los métodos de búsqueda sistemática promueven ligeras variaciones en los parámetros estructurales, cambiando gradualmente la conformación de los ligandos.³⁰ El algoritmo sondea el panorama energético del espacio conformacional y, después de numerosos ciclos de búsqueda y evaluación, converge a la solución de mínima energía

correspondiente al modo de unión más probable. Aunque el método es efectivo explorando el espacio conformacional, puede converger a un mínimo local en lugar de un mínimo global.

Los métodos estocásticos llevan a cabo la búsqueda conformacional modificando aleatoriamente los parámetros estructurales de los ligandos.³¹ Para ello, el algoritmo genera conjuntos de conformaciones moleculares y proporciona una amplia gama del panorama energético. Esta estrategia evita atrapar la solución final en un mínimo de energía local y aumenta la probabilidad de encontrar un mínimo global. Como el algoritmo promueve una amplia cobertura del panorama energético, el costo computacional asociado con este procedimiento es una limitante importante.³²

Los métodos sistemáticos y estocásticos se incluyen en los programas de acoplamiento molecular ampliamente utilizados, que tienen enfoques específicos para abordar sus respectivos problemas.³⁰ Independientemente de los detalles de cada método, cualquier algoritmo de búsqueda conformacional debería poder explorar una amplia gama del panorama energético en un tiempo razonable. Idealmente, la evaluación de un conjunto modesto de moléculas debe concluirse en unos pocos minutos. En la **Tabla 1** se proporciona una lista de algoritmos de acoplamiento molecular ampliamente utilizados clasificados según la metodología de búsqueda conformacional.

*Tabla 1. Ejemplos de algoritmos de búsqueda conformacional*³³

Búsqueda Sistemática	Búsqueda Aleatoria/Estocástica
eHiTS	AutoDock
FRED	Gold
Surflex-Dock	PRO_LEADS
DOCK	EADock
GLIDE	ICM
EUDOC	LigandFit
FlexX	Molegro Virtual Docker
Hammerhead	CDocker
Flog	GlamDock
SLIDE	PLANTS
ADAM	MolDock
	MOE_Dock

Las funciones de puntuación pueden ser empíricas, basadas en el conocimiento o basadas en la mecánica molecular. Algunas estrategias de acoplamiento utilizan una función de puntuación durante el acoplamiento y otra diferente después del acoplamiento para volver a clasificar los resultados, sin embargo, dicha puntuación retrospectiva no puede afectar la eficiencia y la precisión de la función de puntuación primaria.³⁴ La función de puntuación de AutoDock se basa en el campo de fuerza de la mecánica molecular AMBER,³⁵ con dos términos adicionales: uno para modelar el cambio de energía libre de desolvatación en la unión, que se basa en parámetros de solvatación atómica³⁵ y un término empírico para modelar la pérdida de entropía conformacional en la unión.³⁵

2.6 β -Lactamas en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas

El impacto que ha tenido la penicilina y la familia de antibióticos β -lactámicos desde su introducción en la medicina clínica a principios de la década de 1940 ha sido de gran importancia. Estos fármacos actúan inhibiendo el ensamblaje de la pared exterior protectora de las bacterias; de este modo se usa en el tratamiento de una amplia variedad de infecciones. Pero esta familia de fármacos del siglo pasado puede tener aún más potencial terapéutico sin explotar.

Rothstein³⁶ demuestra que ciertos antibióticos β -lactámicos tienen potencial como neuroterapéuticos para el tratamiento de enfermedades neurológicas como la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), la enfermedad de la neurona motora y la lesión isquémica.³⁷

Por otro lado, el screening de la FDA *in vitro* e *in vivo* demostró una utilidad adicional de los antibióticos β -lactámicos (penicilinas y cefalosporinas), la protección contra la neurotoxicidad mediada por la desregulación del transporte de glutamato (Glu).³⁶

El L-Glutamato es el principal neurotransmisor excitador del sistema nervioso, no obstante, altas dosis de glutamato en la sinapsis (a menudo inducidas por el estrés) puede provocar daño celular nervioso y muerte celular. Este daño neuronal debido al exceso de glutamato se asocia a un amplio espectro de enfermedades,³⁸ entre las cuales destacan el Parkinson, Alzheimer, comportamientos depresivos y posible trastorno depresivo, esclerosis lateral amiotrófica, tumores cerebrales, epilepsia, accidente cerebrovascular, entre otros.

2.7 Esquizofrenia

La esquizofrenia es una patología del sistema nervioso central (SNC) que se centra en alrededor del 1-2% de la población mundial.³⁹ Su distribución es independiente del sexo, edad, raza y nivel socioeconómico.

La esquizofrenia se define como un trastorno crónico, caracterizado por síntomas los cuales se pueden dividir en tres dominios principales:⁴⁰

- ❖ Síntomas positivos como alucinaciones, alteraciones de la percepción, fenómenos delirantes y trastornos formales del pensamiento.
- ❖ Disfunción cognitiva, que incluye déficits de funciones ejecutivas y motivacionales.
- ❖ Síntomas negativos, que incluyen afecto plano, pobreza del habla, abstinencia y respuestas emocionales inapropiadas.

La presentación de estos síntomas es heterogénea, lo que dificulta el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad. El período de mayor riesgo para desarrollar esquizofrenia es durante la edad adulta; ambos sexos se ven igualmente afectados por el trastorno, aunque la edad de aparición de los síntomas suele ser más joven para los hombres⁴¹ que para las mujeres.⁴² Su causa todavía se desconoce, pero se postula que podría tratarse de una enfermedad de origen multifactorial, producto de la susceptibilidad genética y de diversos factores ambientales.⁴³

Aún existe evidencia de ventrículos agrandados y disminución del volumen cerebral (cortical e hipocampal)⁴⁴ asociados con la esquizofrenia, no existe una neuropatología distintiva asociada con la enfermedad. Aunado a estos cambios neuropatológicos se ha conceptualizado a la esquizofrenia como una enfermedad de desconexión funcional o un trastorno de la sinapsis que afectan la maquinaria de la sinapsis.

La idea de que la 5-hidroxitriptamina (5-HT; serotonina) está implicada en la esquizofrenia se ha defendido durante mucho tiempo porque el alucinógeno LSD (dietilamida de ácido lisérgico) es un agonista de la 5-HT. Para explicar la participación de 5-HT en la esquizofrenia se planteó la hipótesis que incluye, alteraciones en el papel trófico de 5-HT en el desarrollo neurológico, activación deficiente de la corteza prefrontal mediada por el receptor 5-HT_{2A} e interacciones entre 5-HT y dopamina.⁴⁵

2.8 Serotonina

El neurotransmisor serotonina está involucrado en la regulación de una amplia gama de funciones psicológicas, conductuales y biológicas que, cuando se desregulan, influyen en el desarrollo y el curso de una gama igualmente amplia de trastornos psiquiátricos y médicos.⁴⁶

La serotonina ha sido implicada en la función serotoninérgica del SNC, por ejemplo, en la mediación de emociones negativas, comportamiento agresivo-impulsivo, mayor uso de alcohol y nicotina, mayor consumo de alimentos, aumento de la salida del sistema nervioso parasimpático y simpático y alteración de la función neuroendocrina.⁴⁷

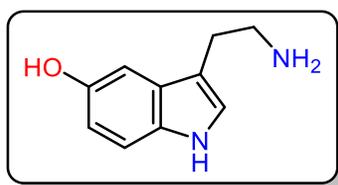


Figura 8. Estructura de la 5-hidroxitriptamina

El primer paso en la dirección de la idea de que el sistema serotoninérgico puede contribuir a la esquizofrenia probablemente lo propuso el psiquiatra alemán Kurt Beringer en 1923.⁴⁸ Fue el primero en proponer el uso del alucinógeno mescalina (**Figura 9**, 2-(3,4,5-trimetoxifenil) etanamina) como modelo experimental de psicosis, a pesar de no tener un conocimiento de los receptores de serotonina, ni de los principios de la neurotransmisión.

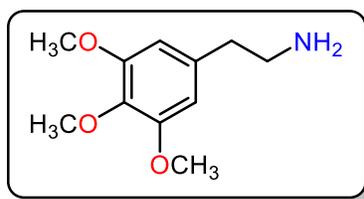


Figura 9. Estructura de la mescalina

En 1943, Albert Hofmann identificó los efectos psicotomiméticos de la dietilamida de ácido lisérgico (LSD).⁴⁹ Por otro lado, en 1948 Rapport y colaboradores buscaban una sustancia vasoconstrictora en las plaquetas,⁵⁰ descubriendo así la serotonina.

Posteriormente se demostró que se podía encontrar serotonina en el cerebro de los mamíferos. Inicialmente se pensó que la serotonina era un residuo de sangre en el cerebro, pero las similitudes estructurales entre el LSD y la serotonina llevaron a la sugerencia de que esta puede actuar directamente en el cerebro.

Los primeros estudios *post-mortem* con pacientes con esquizofrenia, revelaron que los niveles de 5-HT y ácido 5-hidroxiindolacético (**Figura 10**, 5-HIAA) estaban aumentados en regiones subcorticales del cerebro,⁵¹ y que los niveles de 5-HIAA están disminuidos en las regiones corticales.⁵² Estudios posteriores *in vivo* y *post-mortem* en pacientes con esquizofrenia, investigaron la expresión alterada del transportador y del receptor de serotonina. La mayoría de estas investigaciones de receptores exploraron la densidad del receptor 5-HT_{2A}.

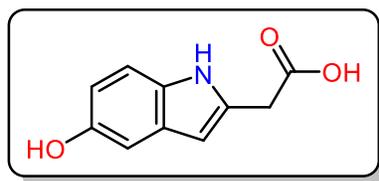


Figura 10. Estructura del ácido 5 hidroxiindolacético

2.9 Receptores de serotonina

La serotonina se sintetiza a partir del aminoácido esencial triptófano y es liberada por las células nerviosas en los núcleos del Rafe que se proyectan por todo el cerebro.⁵³ Los receptores de serotonina se expresan en todo el sistema nervioso y la periferia,⁵⁴ y se dividen en siete clases principales: 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆ y 5-HT₇.

La mayoría de estas clases se pueden dividir en subtipo, por ejemplo, 5-HT₂ en 5-HT_{2A}. A excepción del subtipo 5-HT₃, todos los receptores 5-HT son miembros de la superfamilia acoplada a proteínas G.⁵⁵

2.9.1 Receptor 5-HT_{2A}

El receptor 5-HT_{2A} está ampliamente distribuido por todo el cerebro con una alta densidad en las áreas corticales, una densidad más baja en las áreas del mesencéfalo y el tálamo, y una expresión insignificante en el cerebelo.

El receptor 5-HT_{2A} está asociado con enfermedades como la esquizofrenia, la depresión, el trastorno bipolar, la adicción, los trastornos alimentarios, la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer.⁵⁶

Estudios *post-mortem* de tejido cerebral de pacientes con esquizofrenia han informado una disminución de la expresión del receptor 5-HT_{2A} en áreas corticales.⁵⁷ Esta disminución parece ser más pronunciada en la corteza frontal. Si embargo, los estudios *post-mortem* tienen que tomar en cuenta la cronicidad de la enfermedad y el tratamiento previo con fármacos antipsicóticos, los cuales pueden disminuir la expresión del receptor 5-HT_{2A}.⁵⁸

Justificación

En el ámbito de la síntesis quiral y el descubrimiento de fármacos, la síntesis asimétrica desempeña un papel fundamental. En este sentido, la síntesis asimétrica de compuestos heterocíclicos ha recibido una especial atención, por las actividades biológicas mostradas por este tipo de compuestos

Dado que las β -lactamas representan una clase importante de compuestos farmacológicos, así como la síntesis de compuestos que poseen una estructura similar a la serotonina o un resto aminoindol han atraído la atención por sus propiedades psicofarmacológicas; es posible sintetizar β -lactamas diastereoisoméricamente puras que pudieran estar asociadas con enfermedades neurodegenerativas, esto con la finalidad de obtener compuestos que posean propiedades antagónicas o de tipo serotonina.

Los receptores 5-HT (5-HTR) son receptores para el neurotransmisor y mediadores de la señal periférica de la serotonina como agonista endógeno, siendo el 5-HT_{2A}R, el principal subtipo de receptor excitador entre los receptores acoplados a proteínas G. En este sentido, el acoplamiento molecular nos permite estudiar las interacciones que existen entre los diferentes ligandos y el receptor.

El presente trabajo se centra en estudiar la síntesis de β -lactamas, así como observar las posibles interacciones *in silico* que tendrían con el receptor 5-HT_{2A}, aportando herramientas para el diseño y síntesis de fármacos.

Hipótesis

Las β -lactamas diastereoisoméricamente puras pueden ser preparadas a través del uso de auxiliares quirales y poseen una estructura similar a la serotonina, lo que les confiere características apropiadas para acoplarse al sitio de unión del receptor 5-HT_{2A} de un modo consistente, por lo que esto es un punto de partida para el diseño de fármacos basado en la estructura para atender enfermedades neurodegenerativas (esquizofrenia).

Objetivos

5.1 Objetivo General

Desarrollar una estrategia general de síntesis para obtener tres pares de diastereoisómeros de β -lactamas derivadas de los ácidos fenilacético y 3-indolacético, usando como auxiliares quirales a las (*S*)-feniletilamina y (*R*)-ciclohexiletilamina.

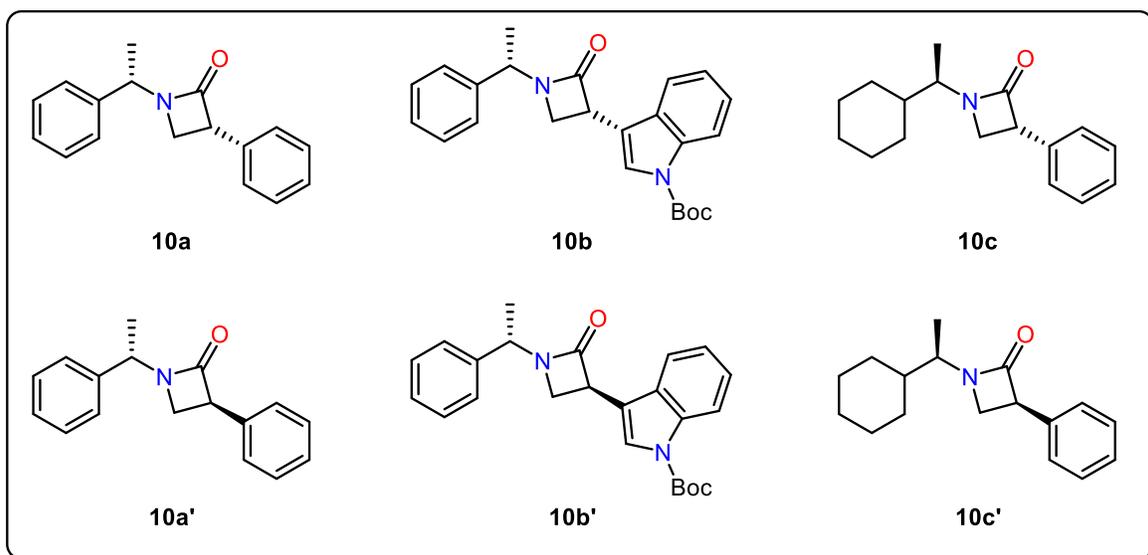
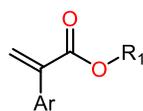


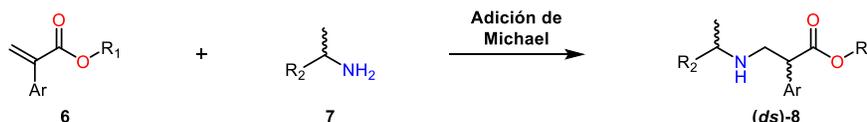
Figura 11. β -lactamas a sintetizar

5.2 Objetivos específicos

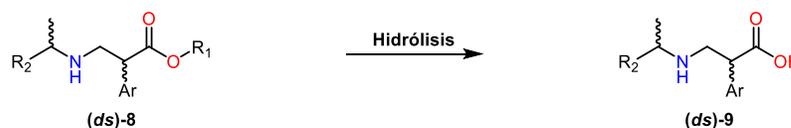
- ❖ Sintetizar ésteres α,β -insaturados **6a** y **6b** derivados del 2-fenilmalonato de etilo y del ácido 3-indolacético respectivamente.

**6****6a:** Ar = Ph, R₁ = Et**6b:** Ar = 3-(*tert*-butoxicarbonil)-1*H*-indol-3-ilo, R₁ = Me

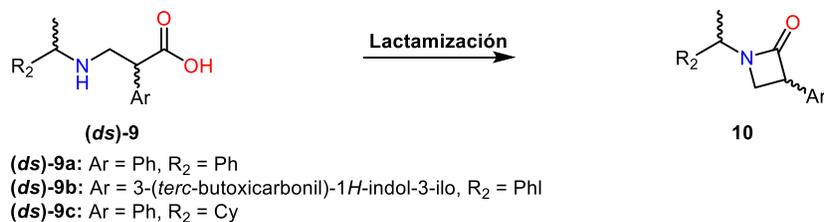
- ❖ Llevar a cabo adiciones tipo Michael de (*S*)-feniletilamina (**7**) sobre **6a** y **6b** y de la (*R*)-ciclohexiletilamina (**7'**) sobre **6a**.

**6a:** Ar = Ph, R₁ = Et**7:** R₂ = Ph**6b:** Ar = 3-(*tert*-butoxicarbonil)-1*H*-indol-3-ilo
R₁ = Me**7':** R₂ = Cy**(ds)-8a:** Ar = Ph, R₁ = Et, R₂ = Ph**(ds)-8b:** Ar = 3-(*tert*-butoxicarbonil)-1*H*-indol-3-ilo, R₁ = Me, R₂ = Ph**(ds)-8c:** Ar = Ph, R₁ = Et, R₂ = Cy

- ❖ Realizar la hidrólisis de los β^2 -aril aminoésteres [(*ds*)-**8a-c**] para aislar los correspondientes β^2 -aril aminoácidos racémicos [(*ds*)-**9a-c**].

**(ds)-8a:** Ar = Ph, R₁ = Et, R₂ = Ph**(ds)-8b:** Ar = 3-(*tert*-butoxicarbonil)-1*H*-indol-3-ilo, R₁ = Me, R₂ = Ph**(ds)-8c:** Ar = Ph, R₁ = Et, R₂ = Cy**(ds)-9a:** Ar = Ph, R₂ = Ph**(ds)-9b:** Ar = 3-(*tert*-butoxicarbonil)-1*H*-indol-3-ilo, R₂ = Ph**(ds)-9c:** Ar = Ph, R₂ = Cy

- ❖ Desarrollar reacciones de lactamización para el aislamiento de los correspondientes diastereoisómeros **10**.



- ❖ Caracterizar mediante técnicas espectroscópicas (RMN ¹H, ¹³C y experimentos de dos dimensiones) cada uno de los compuestos sintetizados.
- ❖ Asignar la configuración relativa de cada par de diastereoisómeros de β-lactamas.
- ❖ Realizar estudios *in silico* (acoplamiento molecular) de los compuestos sintetizados sobre el receptor 5-HT_{2A}, así como con el ligando Risperidona.

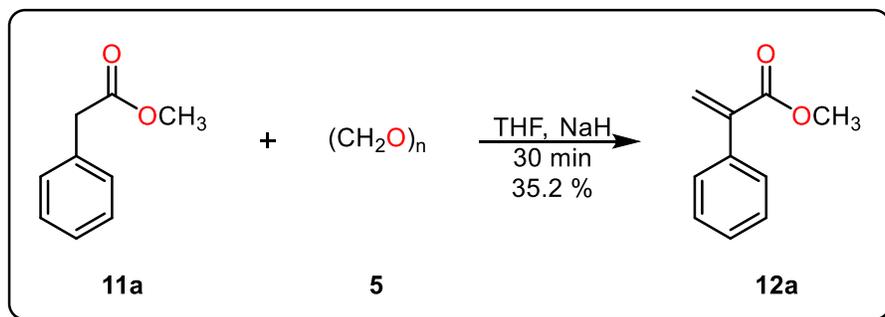
Resultados y Discusión

7.1 Parte Experimental

7.1.1 Obtención de las β -lactamas distereoisoméricamente puras derivadas del 2-fenilmalonato de dietilo (10a, 10a')

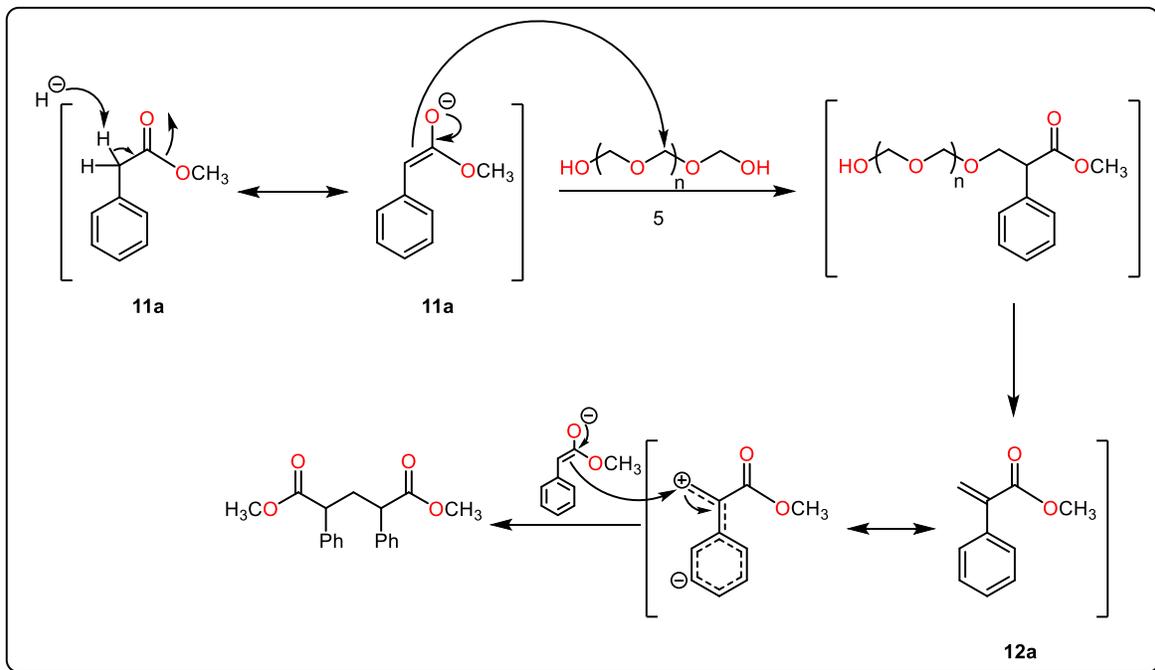
7.1.1.1 Síntesis del 2-fenilacrilato de etilo, 6a

La manera tradicional de preparar acrilatos de metilo dentro del grupo de investigación se basaba en una reacción de condensación aldólica. Tal como se muestra en el **Esquema 8**, se realizó la síntesis del sistema α,β -insaturado **12a**, en donde se hizo reaccionar la materia prima **11a** con paraformaldehído (**5**) empleando hidruro de sodio como base y tetrahidrofurano como disolvente, sin embargo, bajo estas condiciones sólo se pudo aislar el producto **12a** en un 35.2% de rendimiento.



Esquema 8. Síntesis del 2-fenilacrilato de metilo, **12a**

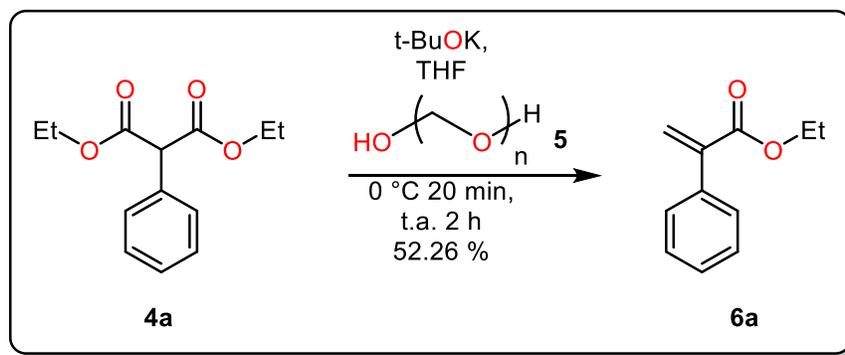
El bajo rendimiento reportado se puede explicar debido a que cuando se extrae el átomo de hidrógeno ácido alfa al carbonilo con la base, se convierte en un ion enolato, el enolato **11a**, el cual lleva a cabo una sustitución nucleofílica sobre el paraformaldehído, obteniendo un intermediario. Dependiendo de la cantidad de **11a**, la reacción puede generar el compuesto **12a** a través de una eliminación beta, y posteriormente puede ocurrir la adición tipo Michael del enolato **11a** en **12a** para obtener un compuesto de doble adición como ha sido reportado (**Esquema 9**).⁵⁹



Esquema 9. Mecanismo de reacción que explica la formación del 2-fenilacrilato de metilo **12a** y su producto de auto-adición de Michael

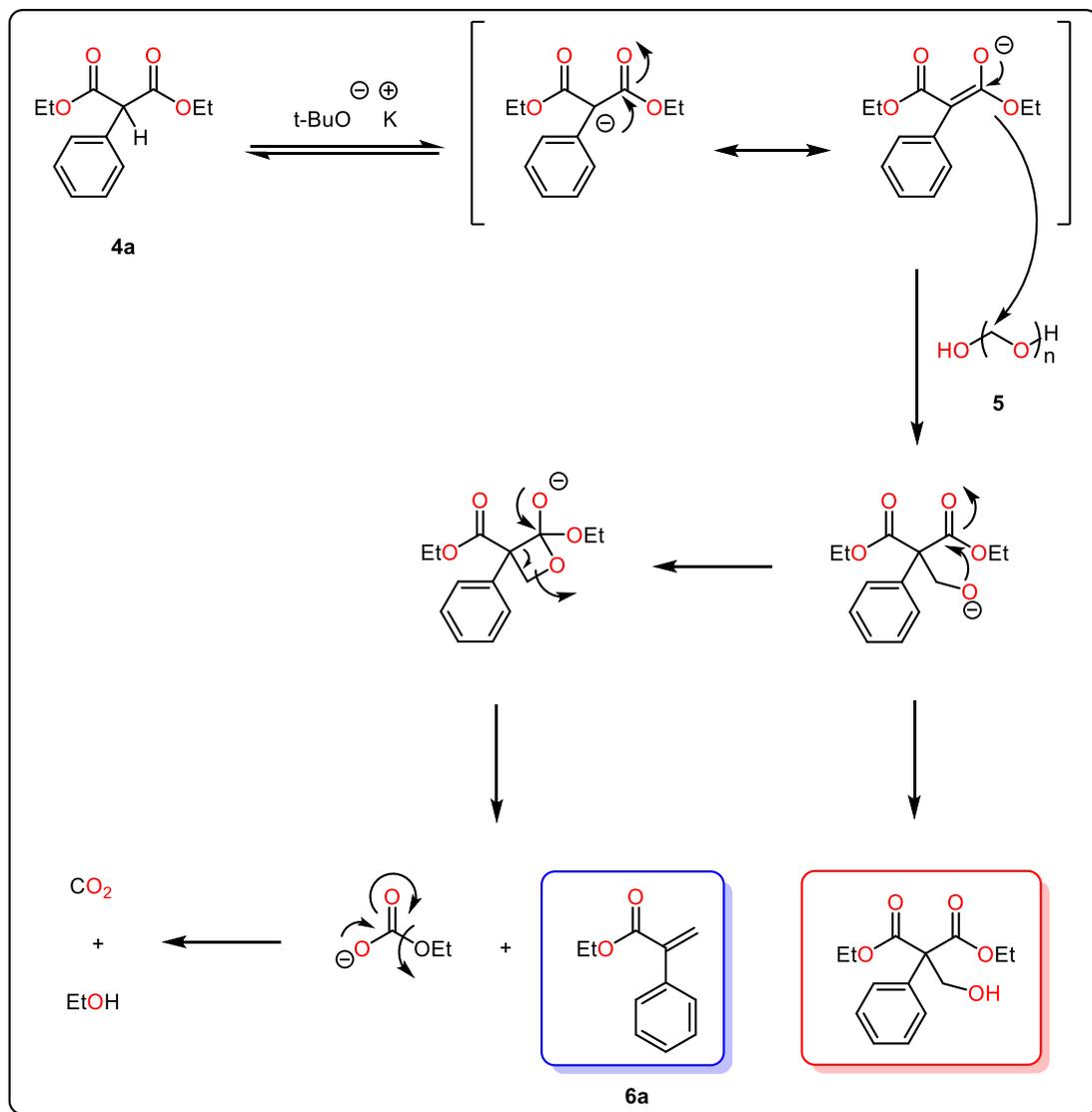
Con el fin de optimizar el proceso de síntesis del compuesto **6a**, se probó un nuevo procedimiento a través de una estrategia diseñada también en el grupo de investigación (Esquema 10).

La estrategia de síntesis del 2-fenilacrilato de etilo **6a**,⁶⁰ consistió en hacer reaccionar el 2-fenilmalonato de dietilo **4a** en atmósfera de nitrógeno, disuelto en THF a 0 °C con *t*-BuOK como base y paraformaldehído (5). A continuación, se elevó la temperatura a temperatura ambiente y se da por terminada la reacción por la adición de ácido nítrico. Se recuperó un producto **6a** en forma de aceite amarillo claro con un rendimiento de 52.26%, es posible observar mediante cromatografía en capa fina la formación del alcohol que se muestra en el Esquema 11.



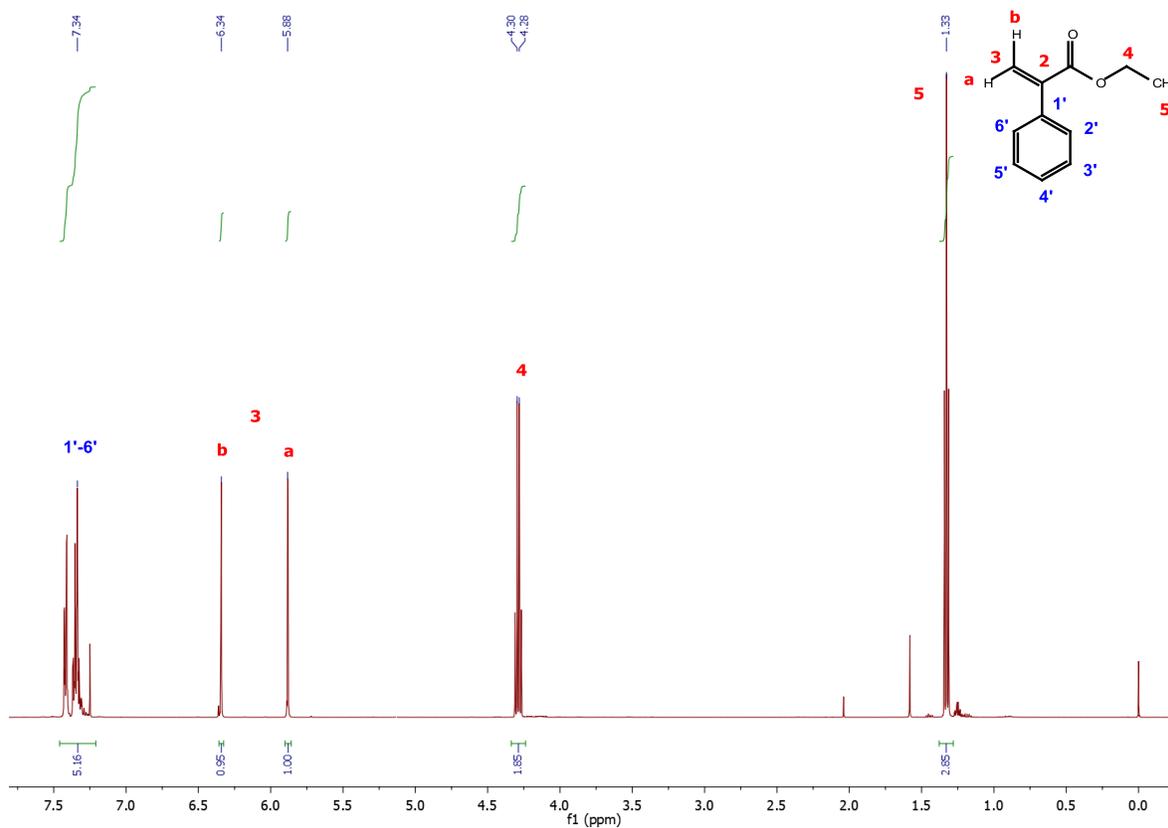
Esquema 10. Síntesis del 2-fenilacrilato de etilo, **6a**

A continuación, se propone un posible mecanismo de reacción por el cual podría obtenerse el compuesto **6a** con esta metodología, como se muestra en el **Esquema 11**.



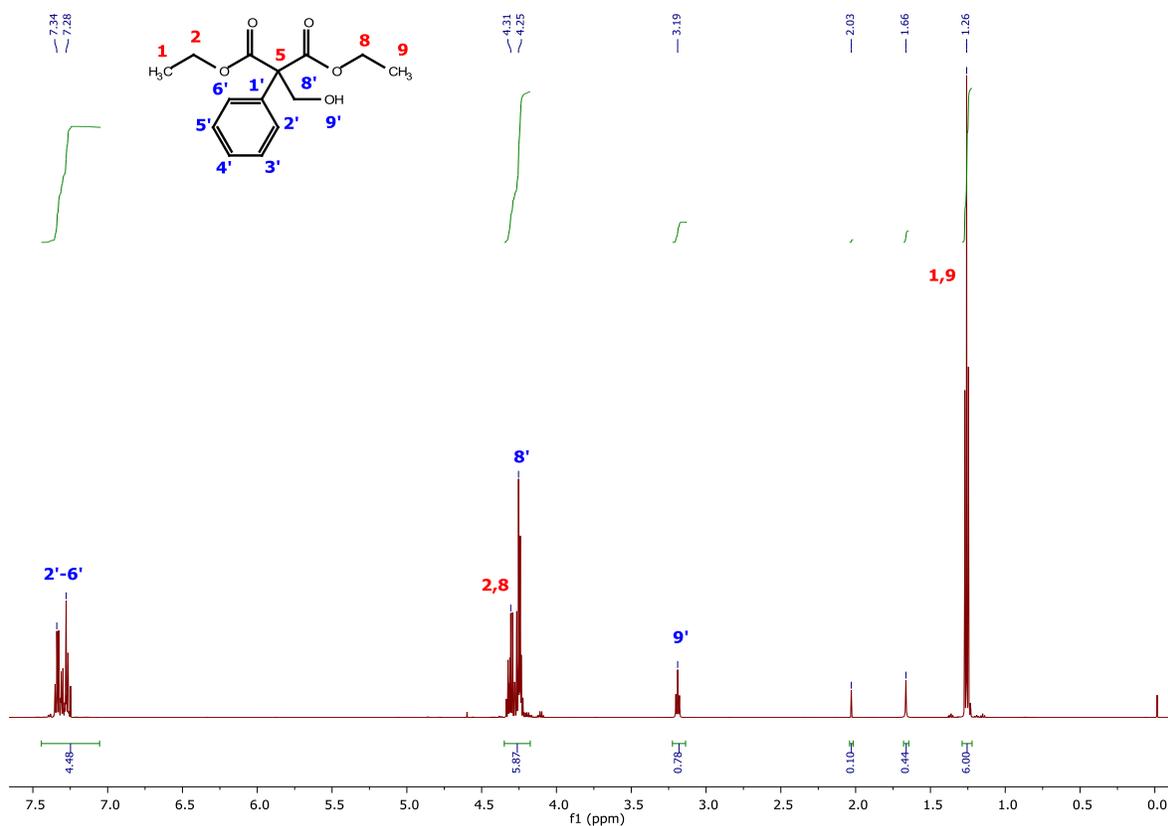
Esquema 11. Posible mecanismo de reacción para la síntesis del compuesto **6a**

En el **Espectro 1** de RMN de ^1H se observan las señales características del compuesto **6a**. En el desplazamiento químico de 1.33 ppm se observó una señal triple ($J=7.1$ Hz) correspondiente a los hidrógenos del grupo metilo, una señal cuádruple en 4.29 ($J=7.1$ Hz) correspondiente a los hidrógenos del metileno del éster etílico, dos señales dobles a 6.34 y 5.88 ppm correspondientes a los hidrógenos del metileno de la posición *a* ($J=1.3$ Hz) y *b* ($J=1.3$ Hz) y una señal múltiple correspondiente a los cinco hidrógenos aromáticos en 7.12-7.53 ppm.



*Espectro 1. RMN de ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) del compuesto **6a***

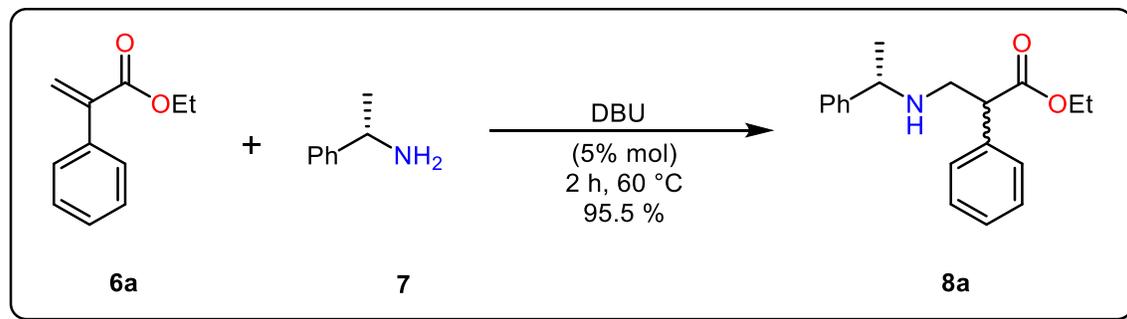
Como se describe anteriormente se obtiene el alcohol del mecanismo señalado en el **Esquema 11** y fue caracterizado mediante RMN de ^1H . En el **Espectro 2** se observa una señal en 1.26 ppm como un triplete ($J = 7.1$ Hz) para los metilos de los ésteres etílicos, una señal triplete en 3.19 ppm ($J = 7.1$ Hz) correspondiente al hidrógeno del grupo hidroxilo, una señal múltiple en 4.25 ppm de los protones metilénicos alfa al grupo hidroxilo, una señal múltiple en 4.31 ppm de los protones metilénicos de los ésteres etílicos y señales múltiples en el rango de 7.28-7.34 ppm de los hidrógenos aromáticos. Al ser caracterizado el alcohol, podría indicarnos que el mecanismo planteado podría ir por la ruta propuesta.



Espectro 2. RMN de ¹H (CDCl₃, 600 MHz) del alcohol

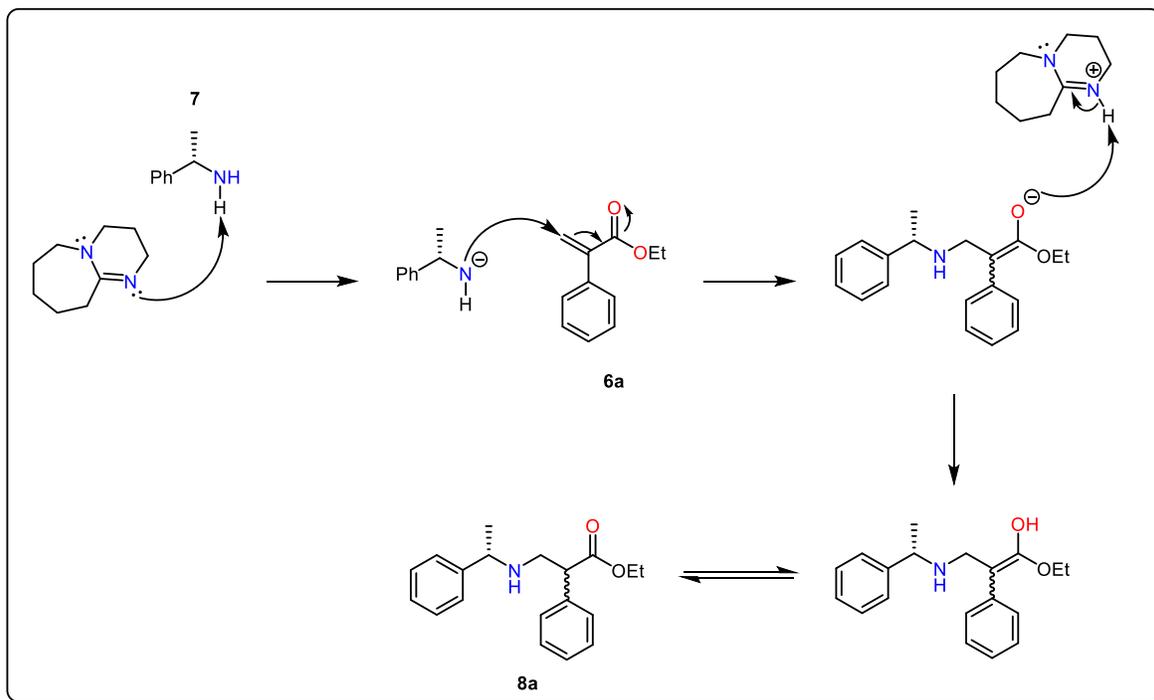
7.1.1.2 Síntesis de la mezcla diastereoisomérica (*S,S*) y (*R,S*) del 2-fenil-3-(((*S*)-1-feniletil)amino)propanoato de etilo, **8a**

Se hizo reaccionar el compuesto α,β -insaturado **6a** con la (*S*)-feniletilamina (**7**) y la adición de 5% mol de DBU, se dejó reaccionar durante 2 horas a 60 °C. Después de purificar la mezcla de reacción, se obtuvo un aceite amarillo claro con un rendimiento del 95.5%; es importante resaltar que en este punto fue imposible la separación de los dos diastereoisómeros **8a** por cromatografía en columna.



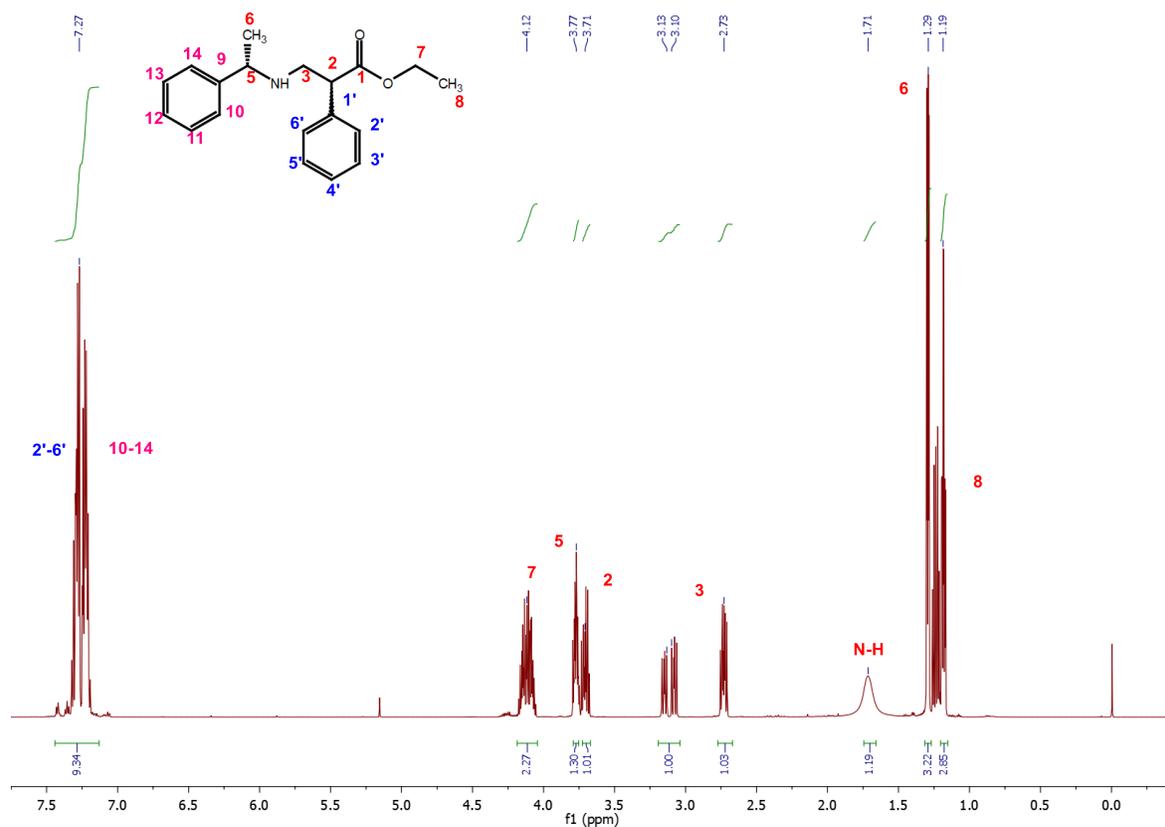
Esquema 12. Síntesis diastereoisomérica del compuesto **8a**

Un posible mecanismo de esta reacción es el que se muestra en el **Esquema 13**, en donde el 1,8-diazobicyclo[5.4.0]undeca-7-eno (DBU) abstrae el protón de la (*S*)-feniletilamina (**7**) para formar el amiduro y aumentar su basicidad, dando origen a la adición 1,4 sobre el sistema α,β -insaturado **6a** y así obtener el compuesto de interés **8a** después del equilibrio ceto-enol **Esquema 13**.



Esquema 13. Mecanismo de reacción propuesto para la síntesis del compuesto **8a**

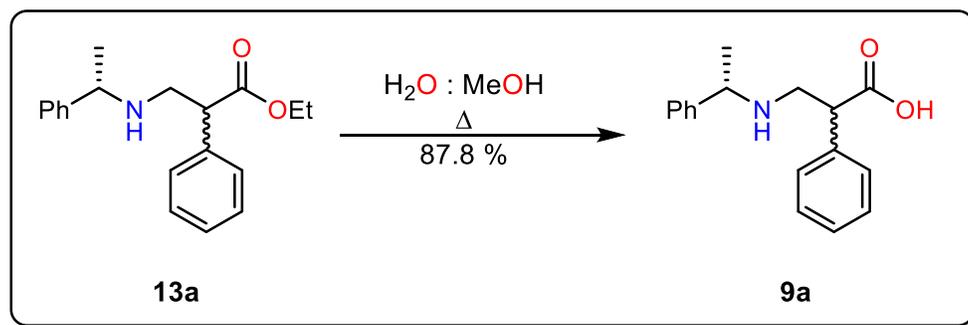
Como se mencionó anteriormente la mezcla de los diastereoisómeros **8a** no pudo separarse, por lo que en el **Espectro 3** de RMN de ^1H de **8a**, se observan los hidrógenos característicos del grupo metilo del éster etílico desplazados a 1.19 ppm como una señal múltiple, una señal doble de doble en 1.29 ppm ($J= 6.6, 2.5$ Hz) correspondiente al grupo metilo de la (*S*)-feniletilamina, una señal simple amplia en 1.71 ppm para el hidrógeno de la amina, además se observan dos señales características de los hidrógenos diasterotópicos β al carbonilo en 2.73 ppm y 3.12 ppm como señales múltiples, una señal múltiple en 3.71 ppm del hidrógeno del metino α al carbonilo, una señal múltiple en 3.77 ppm correspondiente al metino de la (*S*)-feniletilamina, una señal en 4.12 correspondiente a los hidrógenos del metileno del éster etílico y finalmente una señal múltiple para los hidrógenos aromáticos en 7.04-7.46 ppm.



Espectro 3. RMN de ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) de la mezcla diastereoisomérica del compuesto **8a**

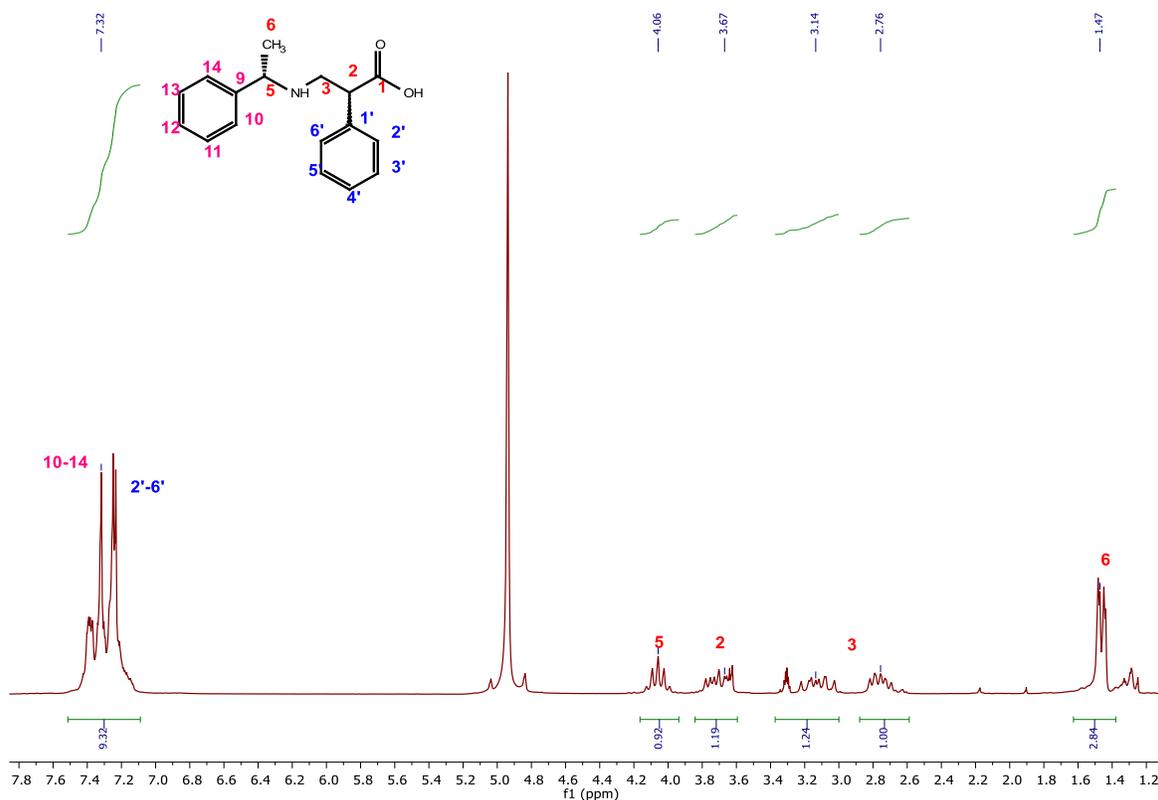
7.1.1.3 Síntesis diastereoisomérica (*S,S*) y (*R,S*) del ácido 2-fenil-3-(((*S*)-1-feniletil)amino)propanóico, **9a**

Se realizó la hidrólisis del éster previamente sintetizado, empleado agua y MeOH como co-disolvente a reflujo durante 25 h. El crudo de reacción no necesitó de purificación ya que el producto se recuperó como un sólido blanco con un rendimiento del 87.8% y una temperatura de descomposición de 179-181 °C (**Esquema 14**).



*Esquema 14. Síntesis diastereoisomérica (*S,S*) y (*R,S*) del ácido 2-fenil-3-(((*S*)-1-feniletil)amino)propanóico, **9a***

A continuación, se muestra el **Espectro 4** de RMN ¹H.

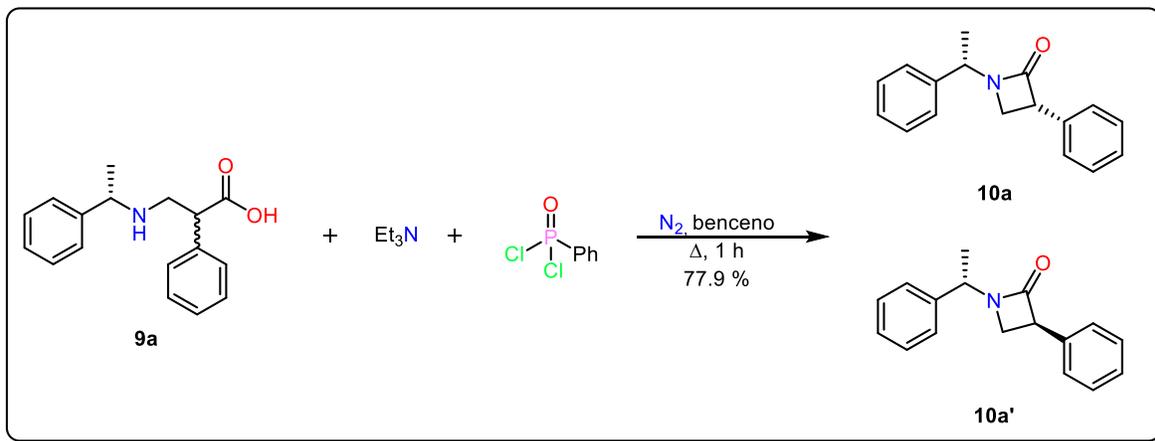


Espectro 4. RMN de ^1H (CD_3OD , 200 MHz) de los diastereoisómeros (*S,S*) y (*R,S*) del compuesto **9a**

En el espectro de RMN de ^1H se observaron las señales características del ácido **9a**; nuevamente las señales se encuentran traslapadas para ambos diastereoisómeros y ya no se observan las señales características del grupo etoxilo del éster en 1.20 y 4.12 ppm, lo cual es indicativo de que la reacción de hidrólisis se llevó a cabo de manera exitosa.

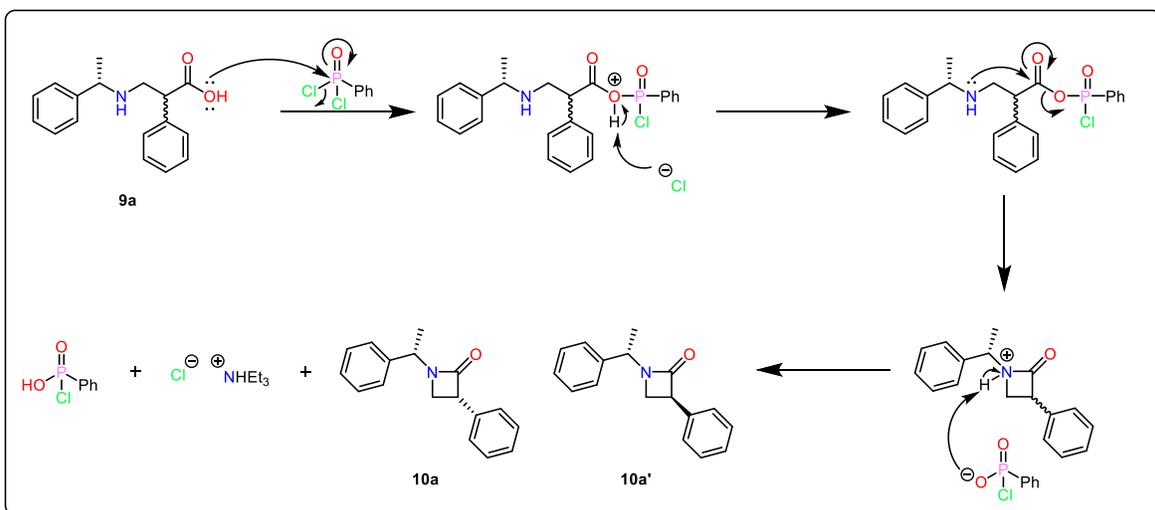
7.1.1.4 Síntesis diastereoisomérica (*S,S*) y (*S,R*) de 3-fenil-1-((*S*)-1-feniletil)azetidín-2-ona, **10a** – **10a'**

Una vez obtenida la mezcla diastereoisomérica del β -aminoácido **9a** se procedió a realizar la síntesis de las β -lactamas (**Esquema 15**), empleando benceno como disolvente, Et_3N y cloruro de fenilfosforilo, todo esto bajo atmósfera de N_2 y reflujo durante 1 hora. Al terminar el tiempo de reacción se observó la formación de las β -lactamas con un 77.9% de rendimiento.



Esquema 15. Lactamización para la identificación de los diastereoisómeros

El mecanismo propuesto para la obtención de las β -lactamas **10a** y **10a'** se muestra en el **Esquema 16**. La reacción comienza con el ataque nucleofílico del aminoácido **9a** hacia el cloruro de fenilfosforilo (PhPOCl_2), liberando un ion cloruro, el cual posteriormente abstraerá el protón que se encuentra unido al oxígeno, formándose ácido clorhídrico, que será neutralizado con la trietilamina del medio. A continuación, el átomo de nitrógeno lleva a cabo el ataque intramolecular hacia el grupo carbonilo para generar las β -lactamas **10a** y **10a'**.



Esquema 16. Mecanismo propuesto para la obtención de las β -lactamas **10a**, **10a'**

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

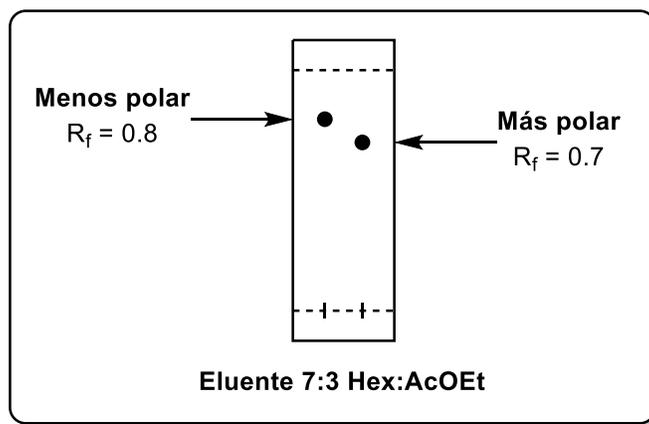
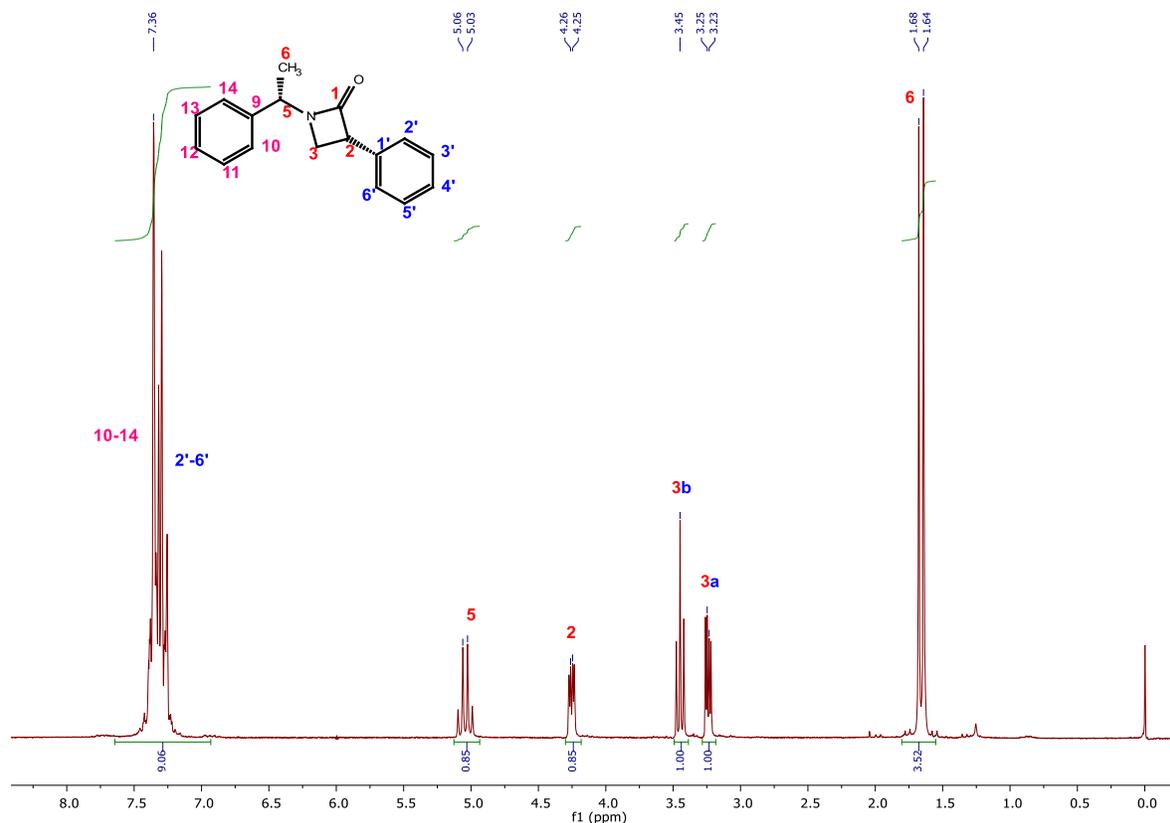


Figura 12. TLC para las β -lactamas diastereoisoméricas **10a** y **10a'**

El diastereoisómero más polar se recuperó como un sólido ceroso blanco con un punto de fusión de 49-51 °C. El diastereoisómero menos polar se recuperó en forma de agujas cristalinas con un punto de fusión de 64-65 °C. Este último presentó características apropiadas para su difracción de rayos X, lo que nos permitió conocer y asignar su configuración relativa del nuevo centro quiral como (*R*) (Figura 13).

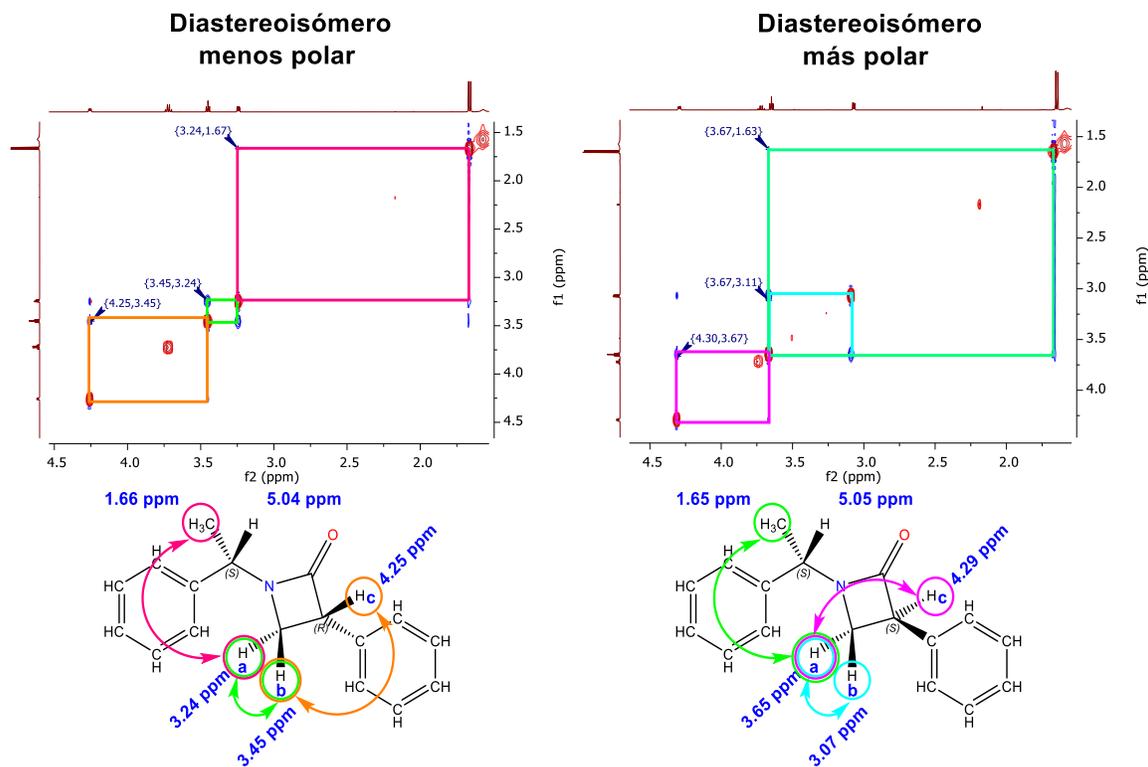
Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C muestran señales características de las β -lactamas derivadas del 2-fenilacrilato de etilo y únicamente difieren en la señal de los hidrógenos diastereotópicos del carbono beta al carbonilo. En el diastereoisómero más polar, los hidrógenos diastereotópicos aparecen a 3.07 ppm (*dd*, $J = 5.5, 2.6$ Hz) y 3.65 ppm (*t*, $J = 5.5$ Hz) (**Espectro 5**), mientras que en el diastereoisómero menos polar aparecen a 3.24 ppm (*dd*, $J = 5.5, 2.6$ Hz) y 3.45 ppm (*t*, $J = 5.5$ Hz) (**Espectro 6**).



Espectro 6. RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del diastereoisómero menos polar

A través del experimento NOESY (**Espectro 7A**), también fue posible estimar las correlaciones que existen espacialmente entre protones que se encuentran en un rango de 2-3.5 Å. Dentro del experimento correspondiente al diastereoisómero menos polar se observó la correlación entre la señal a 3.24 ppm y a 3.45 ppm correspondientes a los hidrógenos diastereotópicos, se observa una segunda correlación entre la señal a 4.25 ppm correspondiente al hidrógeno del carbono quiral y la señal del uno de los hidrógenos diastereotópicos a 3.45 ppm, una correlación entre el metilo de (*S*)-FEA con el hidrógeno diastereotópicos en 3.24 ppm.

Se puede observar dentro del experimento correspondiente al diastereoisómero más polar la señal a 3.65 ppm la cual correlaciona con la señal en 3.07 ppm mostrando así la relación entre los hidrógenos diasterotópicos, una segunda correlación entre la señal en 3.65 ppm y 4.29 ppm mostrando la correlación entre un hidrógeno diasterotópico y el protón alfa al carbonilo, una tercera correlación entre el metilo de (*S*)-FEA y el hidrógeno diasterotópico etiquetado como Ha (**Espectro 7B**).



Espectro 7. NOESY para las β -lactamas **10a** y **10a'**. (A) Diastereoisómero menos polar. (B) Diastereoisómero más polar.

El análisis de los resultados reveló la configuración relativa de las β -lactamas **10a** y **10a'** (Figura 14).

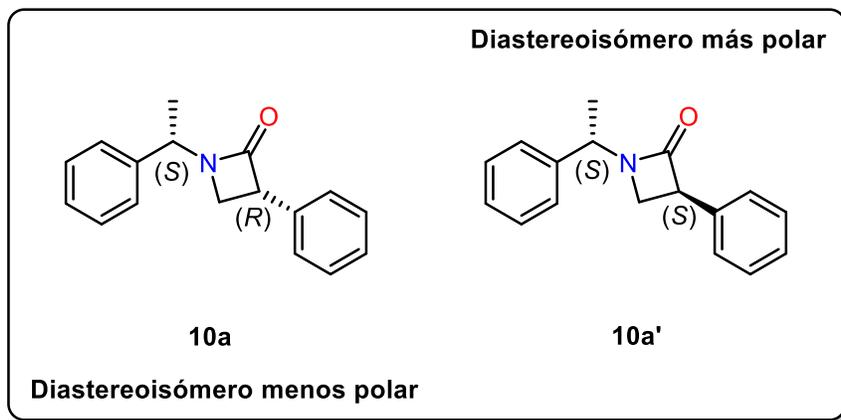
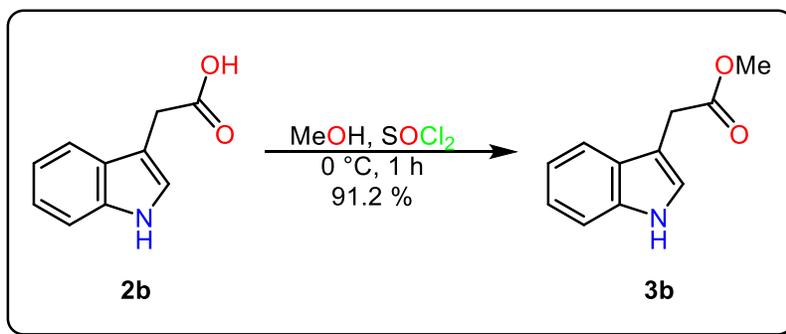


Figura 14. Configuración relativa de las β -lactamas **10a** y **10a'**

7.1.2 Obtención de las β -lactamas distereoisoméricamente puras derivadas del ácido 3-indolacético (**10b**, **10b'**)

7.1.2.1 Síntesis del 2-(1*H*-indo-3-il)acetato de metilo, **3b**

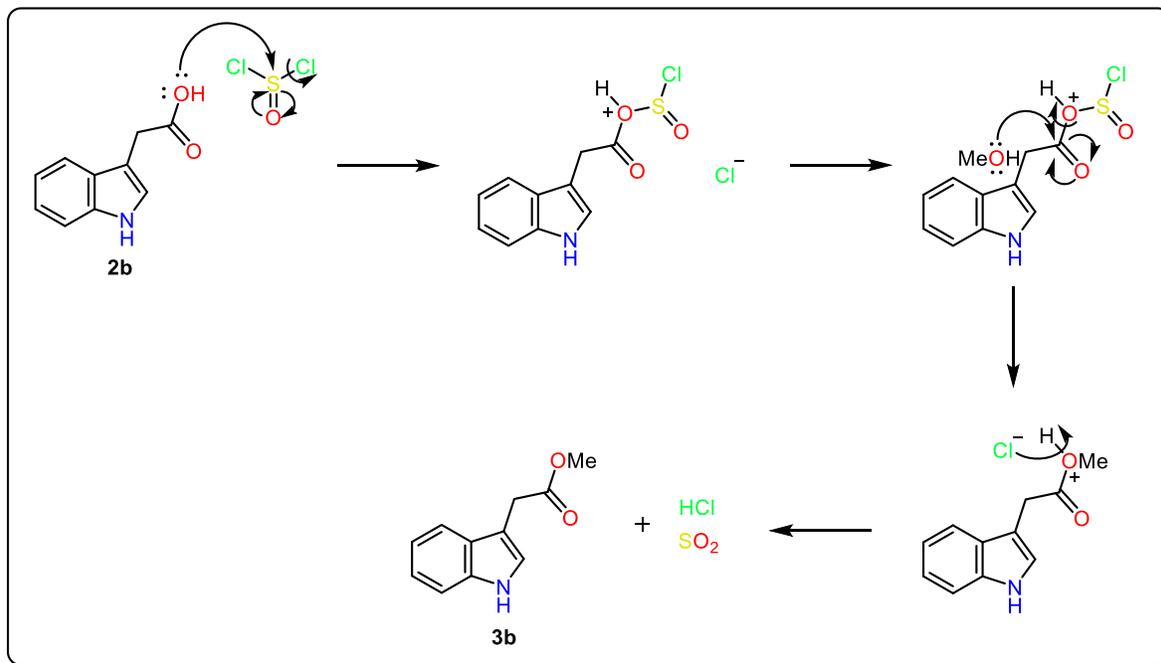
La síntesis del compuesto **3b** anteriormente se había reportado dentro del grupo de investigación,⁶¹ como se muestra en el siguiente Esquema 17.



Esquema 17. Metodología para la obtención del éster metílico **3b**

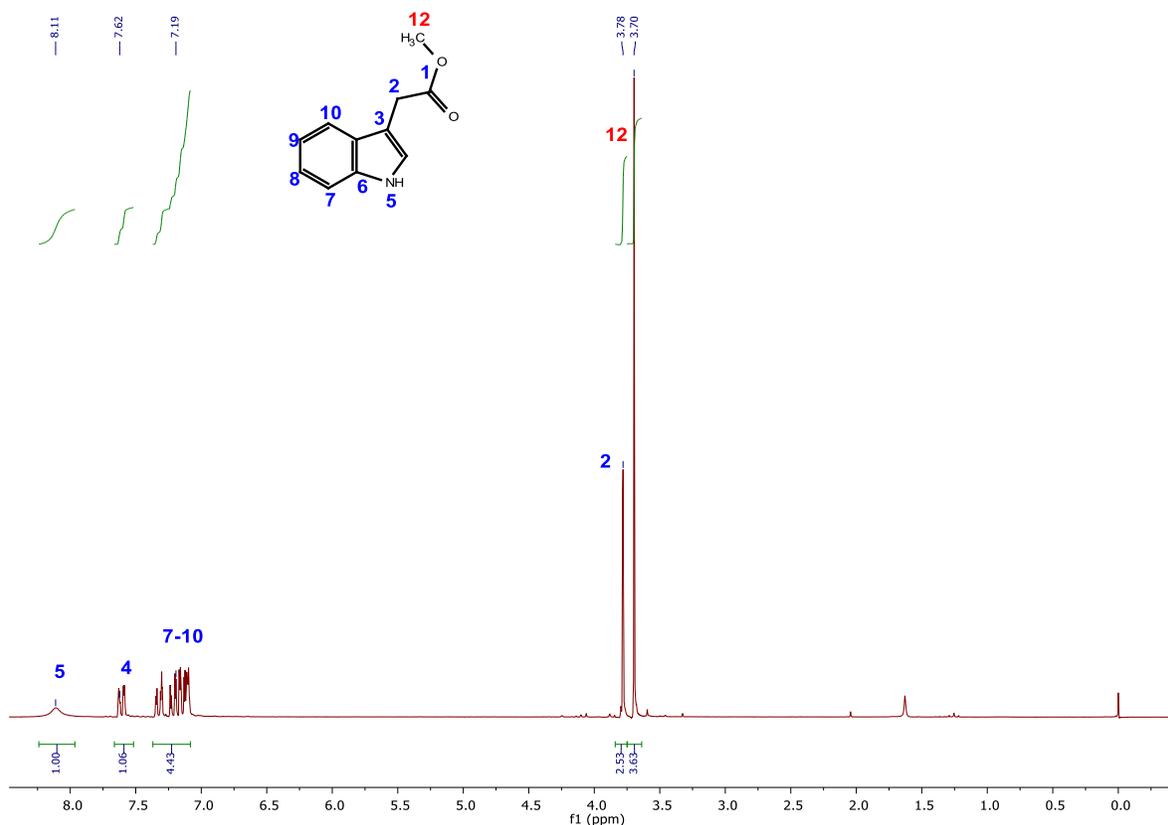
El mecanismo propuesto para esta reacción transcurre a través de la transformación del ácido carboxílico a un clorosulfato de acilo protonado, con intención de activar al grupo

carbonilo y posteriormente hacer el ataque nucleofílico del metanol, el mecanismo se ilustra en el **Esquema 18**.



Esquema 18. Mecanismo de reacción para la síntesis del éster metílico 3b

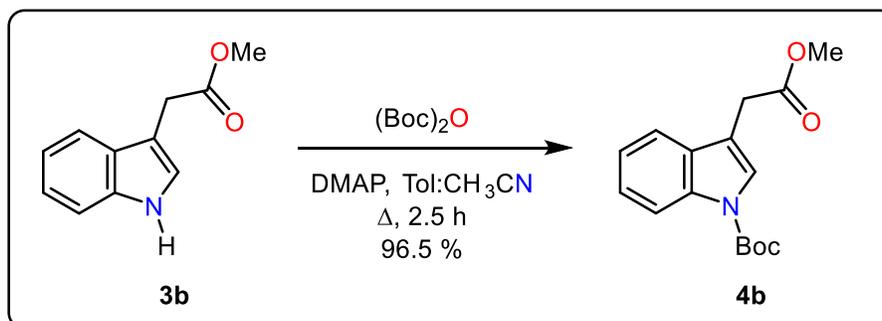
En el **Espectro 8** se observan señales características del éster metílico **3b**, la señal que confirma que la molécula se sintetizó correctamente es el singlete en 3.70 ppm, el cual integra para tres protones.



Espectro 8. RMN de ¹H (CDCl₃, 200 MHz) del éster metílico

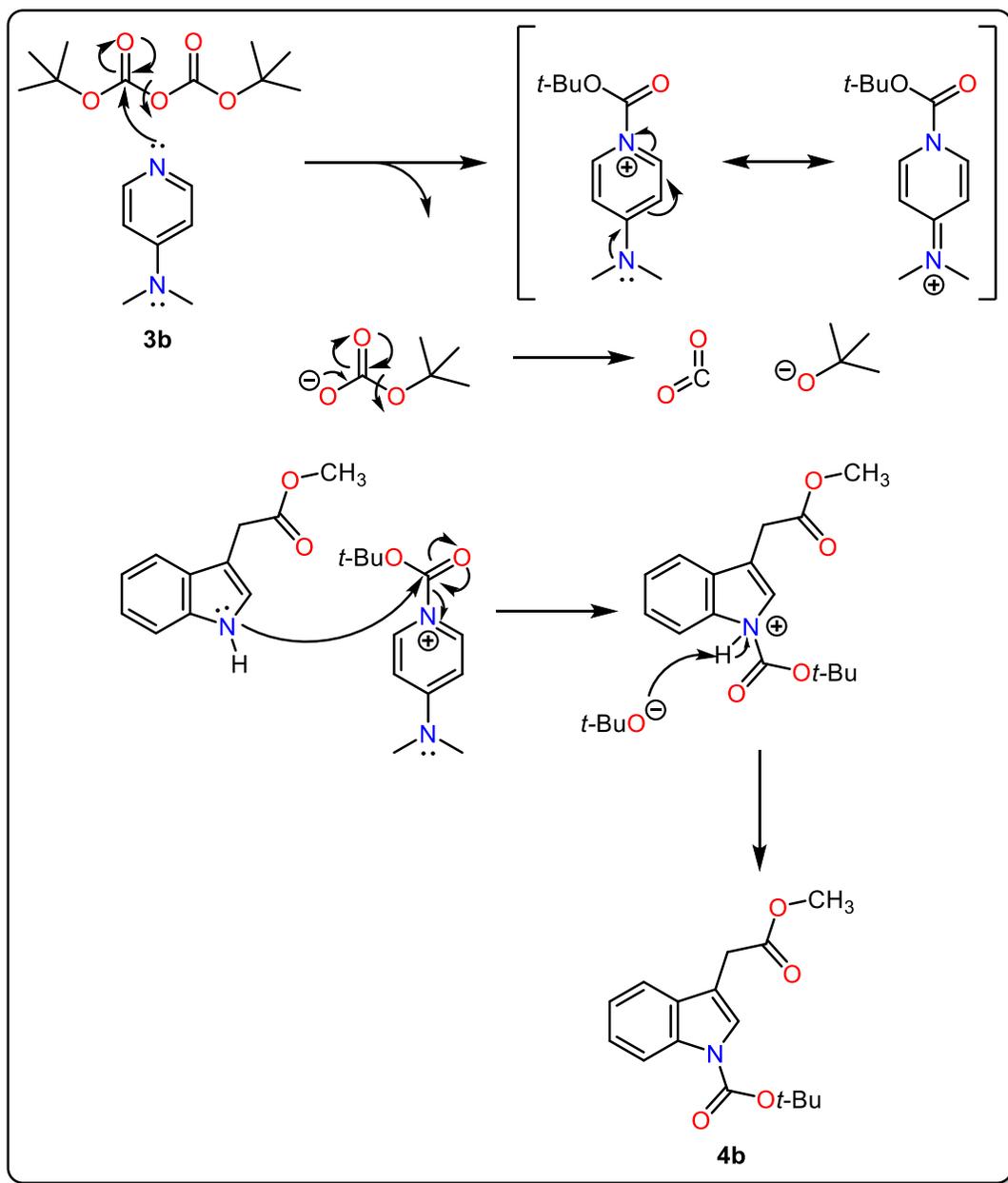
7.1.2.2 Síntesis de 3-(2-metoxi-2-oxoetil)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo, 4b

La síntesis del siguiente derivado se realizó según las condiciones que se muestran en el Esquema 19.



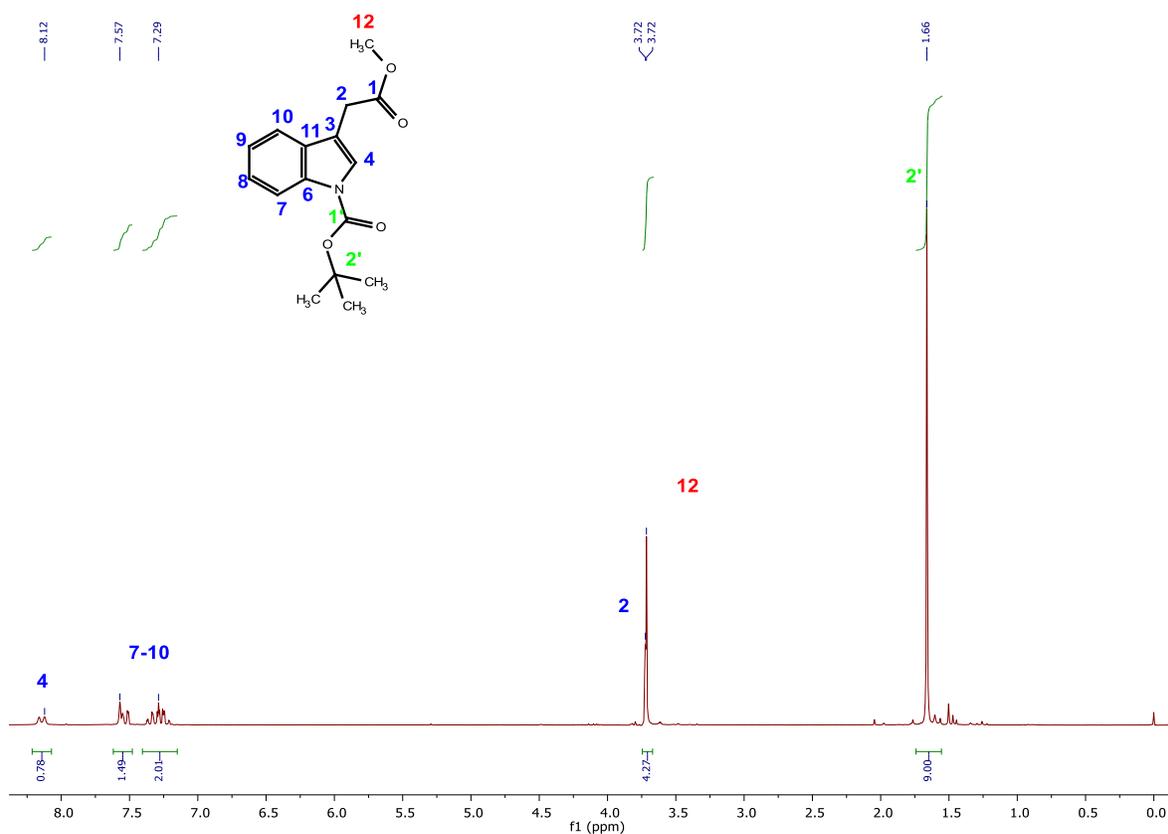
Esquema 19. Protección de grupo amino del anillo indol

El posible mecanismo inicia al hacer reaccionar DMAP con dicarbonato de *tert*-butil, generando así una especie activa. A continuación, la especie activa es atacada nucleofílicamente por el átomo de nitrógeno del anillo indol, seguido de la desprotonación del intermediario *N*-protegido (**Esquema 20**).



Esquema 20. Mecanismo de reacción para la obtención del derivado **4b**

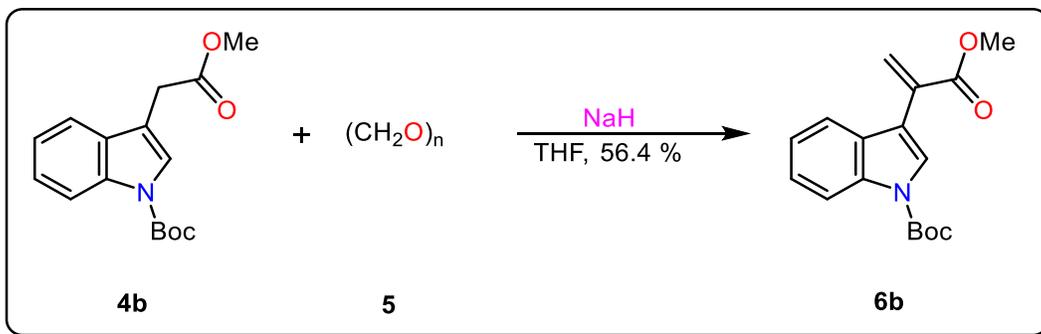
La señal simple desplazada en 1.66 ppm que integra para nueve protones correspondiente al grupo *tert*-butilo en el espectro de RMN ^1H , confirmó la obtención de dicho derivado (**Espectro 9**).



Espectro 9. RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del compuesto **4b**

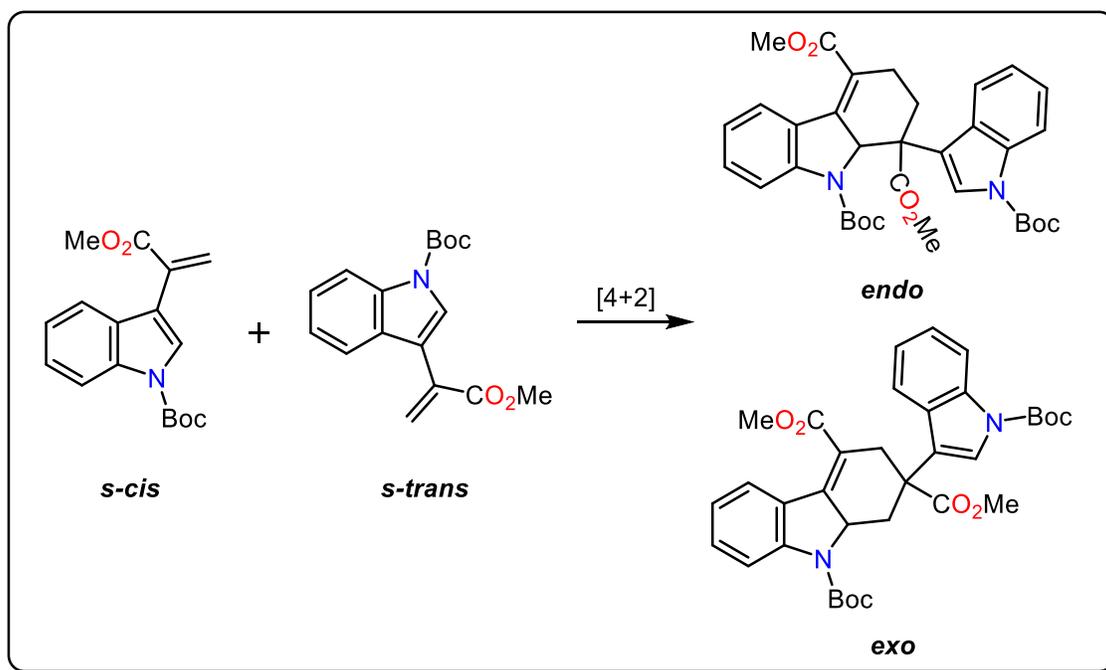
7.1.2.3 Síntesis del 3-(3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo, **6b**

El sustrato que se hizo reaccionar fue el éster metílico *N*-Boc protegido derivado del ácido 3-indolacético **4b** siguiendo la metodología planteada en el **Esquema 21**.⁶²



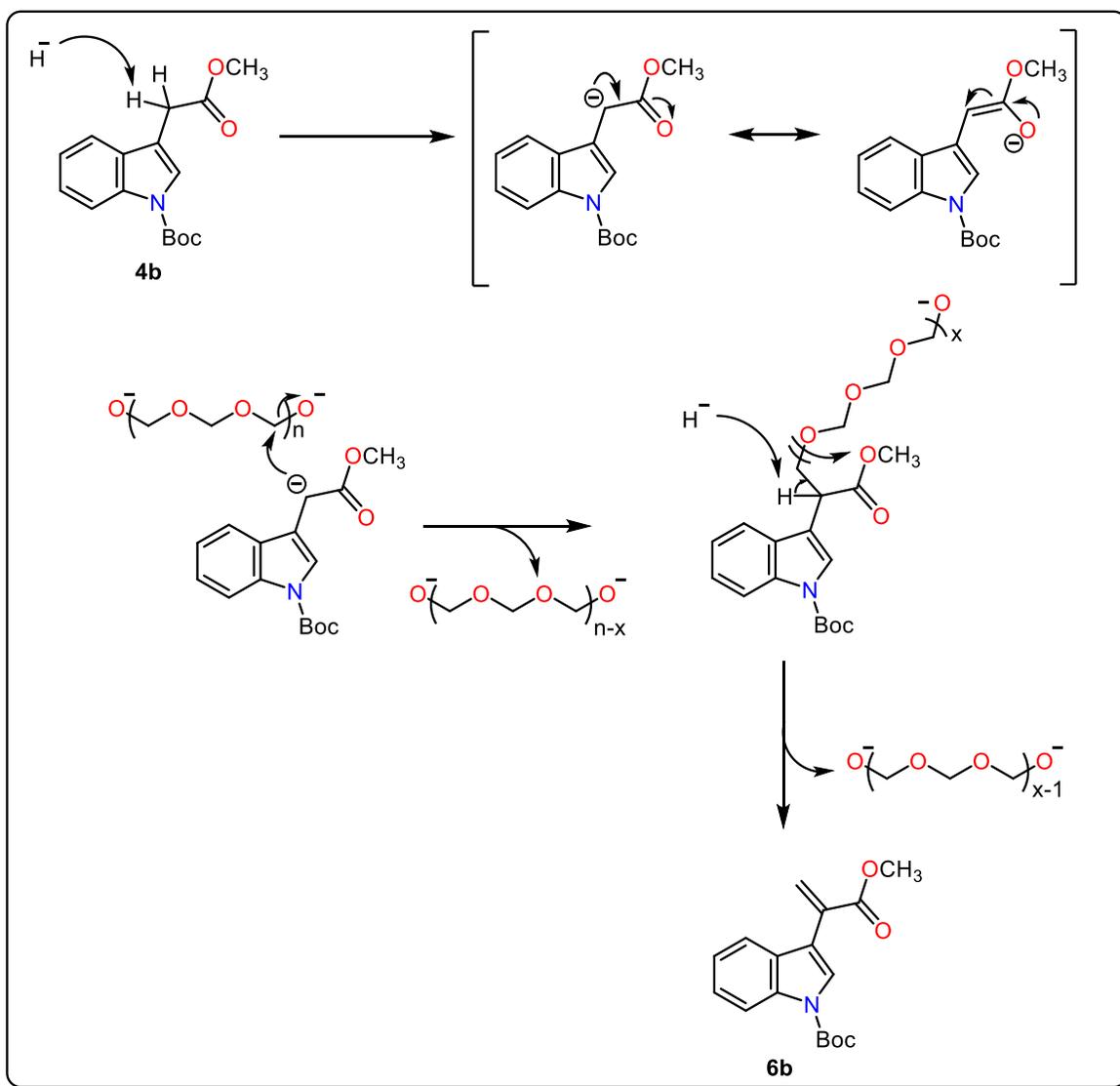
Esquema 21. Síntesis del 3-(3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1H-indol-1-carboxilato de terc-butilo, **6b**

Esta ruta de síntesis permitió aislar el derivado α,β -insaturado *N*-Boc protegido con un rendimiento del 56.4%. Este rendimiento se justificó debido a que como se publicó por parte de nuestro grupo de investigación,⁶² si el compuesto **6b** se somete a calor, presenta una dimerización tipo Diels-Alder entre las conformaciones *s-cis* y *s-trans* para producir el derivado de tetrahidrocarbazol como se muestra en el Esquema 22.



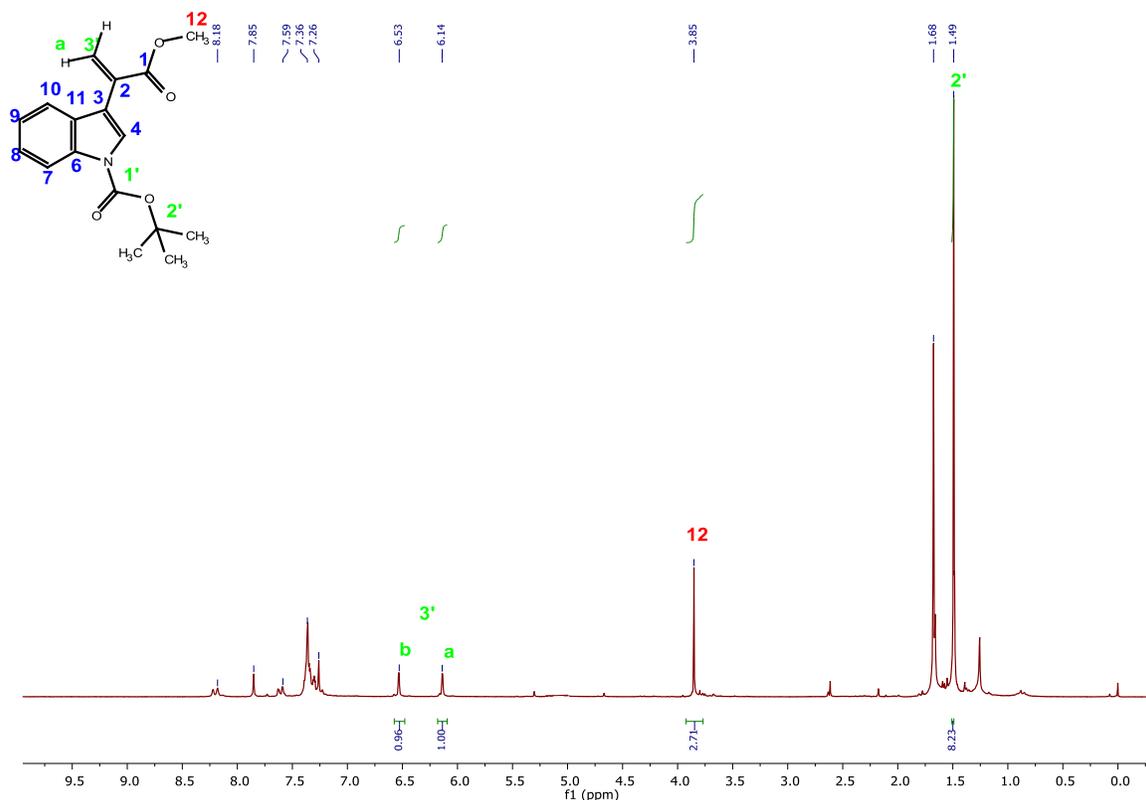
Esquema 22. Reacción Diels-Alder espontánea del derivado **6b**

El mecanismo propuesto para la formación de **6b** va a través de la desprotonación del éster metílico *N*-Boc protegido **4b**, al mismo tiempo que la del paraformaldehído por acción del ion hidruro. A continuación, el enolato formado ataca nucleofílicamente a un metileno de la cadena polimérica del paraformaldehído, una vez adicionada en la posición alfa al carbonilo, ocurre un segundo ataque nucleofílico por los iones hidruro presentes en exceso. Este ataque se da por un equivalente de ion hidruro, el cual abstrae el protón ácido alfa al carbonilo restante, desplazándose entonces la cadena polimérica del paraformaldehído y finalmente el par de electrones del enlace C-H escindido se incorpora, obteniendo el compuesto **6b**.



Esquema 23. Mecanismo de reacción en la obtención del derivado α,β -insaturado *N*-Boc protegido, **6b**

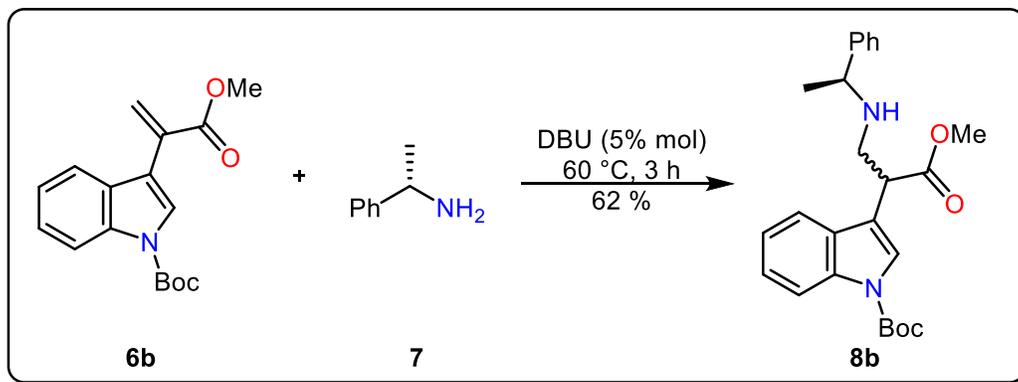
En la **Espectro 10** de RMN de ^1H se observan las señales características del compuesto **6b**. En el desplazamiento químico de 1.49 ppm se observó una señal simple correspondiente a los hidrógenos del *tert*-butilo, una señal simple en 3.85 ppm del grupo metilo del éster etílico, dos señales dobles a 6.53 y 6.14 ppm correspondientes a los hidrógenos del metileno de la posición *a* ($J= 1.2$ Hz) y *b* ($J= 1.2$ Hz) y una señal múltiple correspondiente a los cinco hidrógenos aromáticos en 7.26-8.18 ppm.



Espectro 10. RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del derivado **6b**

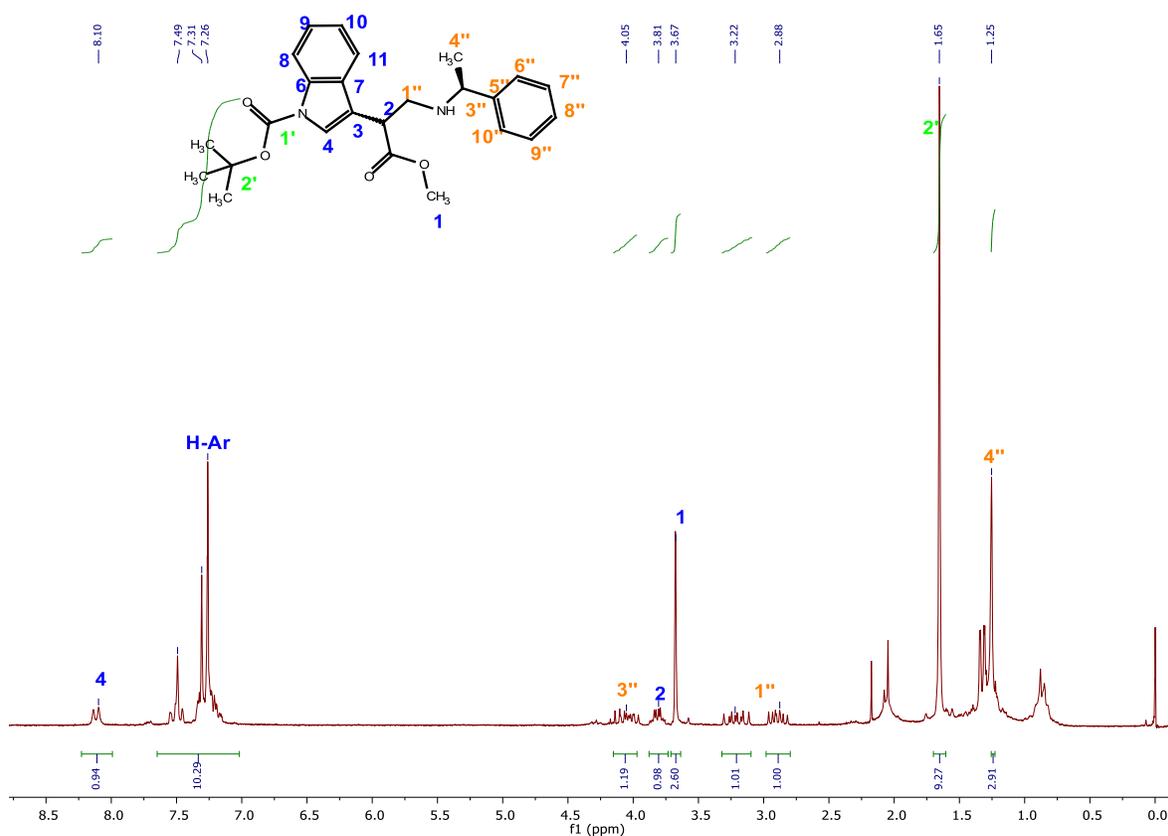
7.1.2.4 Adición tipo Michael de la (*S*)-feniletilamina al derivado α,β -insaturado *N*-Boc protegido, **8b**

La reacción se llevó a cabo mediante la adición nucleofílica de la (*S*)-feniletilamina sobre el sistema α,β -insaturado, bajo las condiciones del **Esquema 24**, usando DBU como catalizador.



Esquema 24. Condiciones de reacción para la adición de Michael de la (*S*)-feniletilamina (**7**) al derivado **6b**

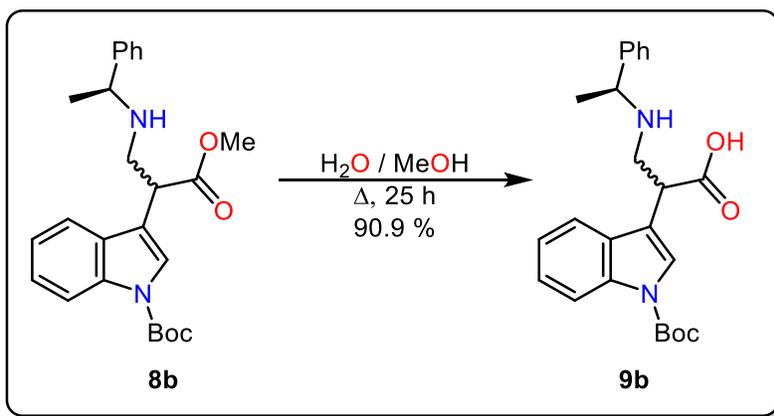
En esta etapa de reacción la mezcla de los diastereoisómeros **8b** no pudo separarse. A continuación, se muestra el **Espectro 11** de RMN de ^1H del compuesto **8b**.



Espectro 11. RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) de la mezcla diastereoisomérica del compuesto **8b**

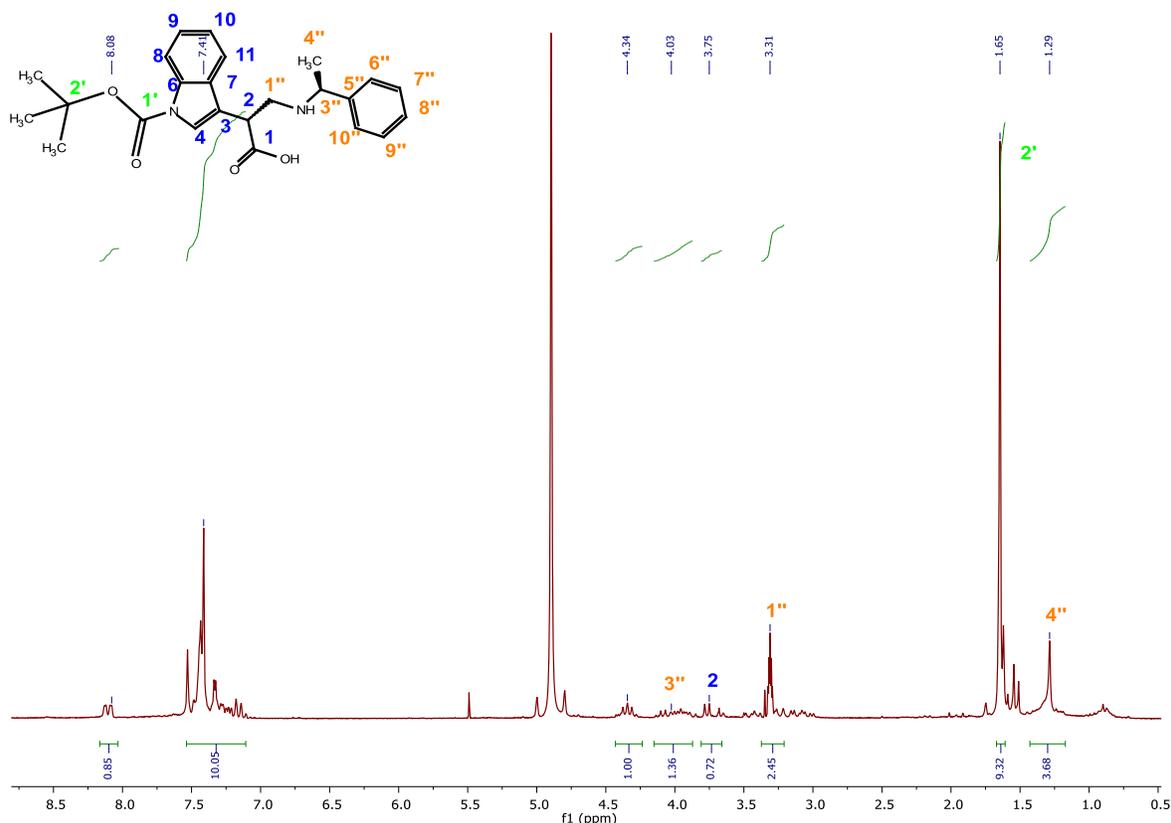
Se observan los hidrógenos característicos del grupo metilo de la (*S*)-feniletilamina desplazados en 1.25 ppm como una señal simple, una señal simple en 1.65 ppm correspondiente al grupo *tert*-butilo, señales múltiples en 2.88 ppm y 3.22 ppm características de los hidrógenos diasterotópicos β al carbonilo, una señal simple en 3.67 ppm del metilo de éster metílico, una señal múltiple en 3.81 ppm del hidrógeno del metino α al carbonilo, una señal múltiple en 4.05 ppm correspondiente al metino de la (*S*)-feniletilamina y finalmente una señal múltiple para los hidrógenos aromáticos en 7.26-8.10 ppm.

7.1.2.5 Síntesis diastereoisomérica (*S,S*) y (*R,S*) del ácido 2-(1-(*tert*-butoxicarbonil)-1H-indol-3-il)-3-(((*S*)-1-feniletil)amino)propanóico, **9b**



Esquema 25. Condiciones de reacción para la hidrólisis del éster metílico **8b**

Para la obtención del compuesto **9b** se realizó mediante la hidrólisis del compuesto **8b**, en una mezcla agua/metanol a reflujo durante 25 h como se muestra en el **Esquema 25**.

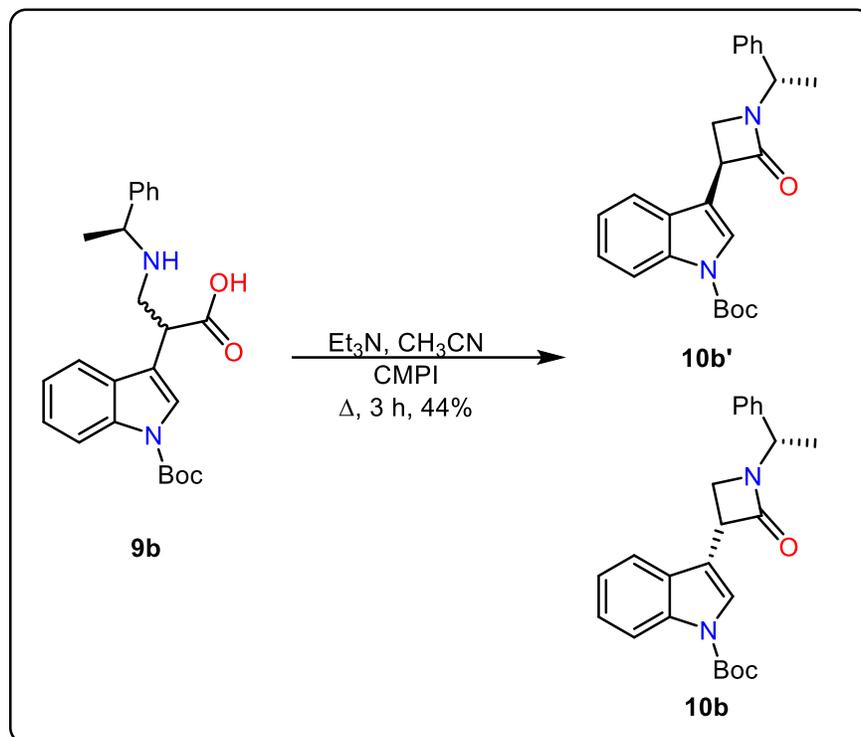


Espectro 12. RMN de ^1H (MeOD, 200 MHz) del compuesto **9b**

En el **Espectro 12** se puede observar el espectro de RMN ^1H del derivado **9b**, sin embargo, las señales no presentan una multiplicidad definida debido a la mezcla diastereoisomérica presente. A grandes rasgos, los hidrógenos correspondientes al metilo de la (*S*)-feniletilamina se observan en 1.29 ppm, los hidrógenos diasterotópicos beta al carbonilo en 3.31 ppm, y el hidrógeno del carbono quiral adyacente al anillo del indol en 3.75 ppm.

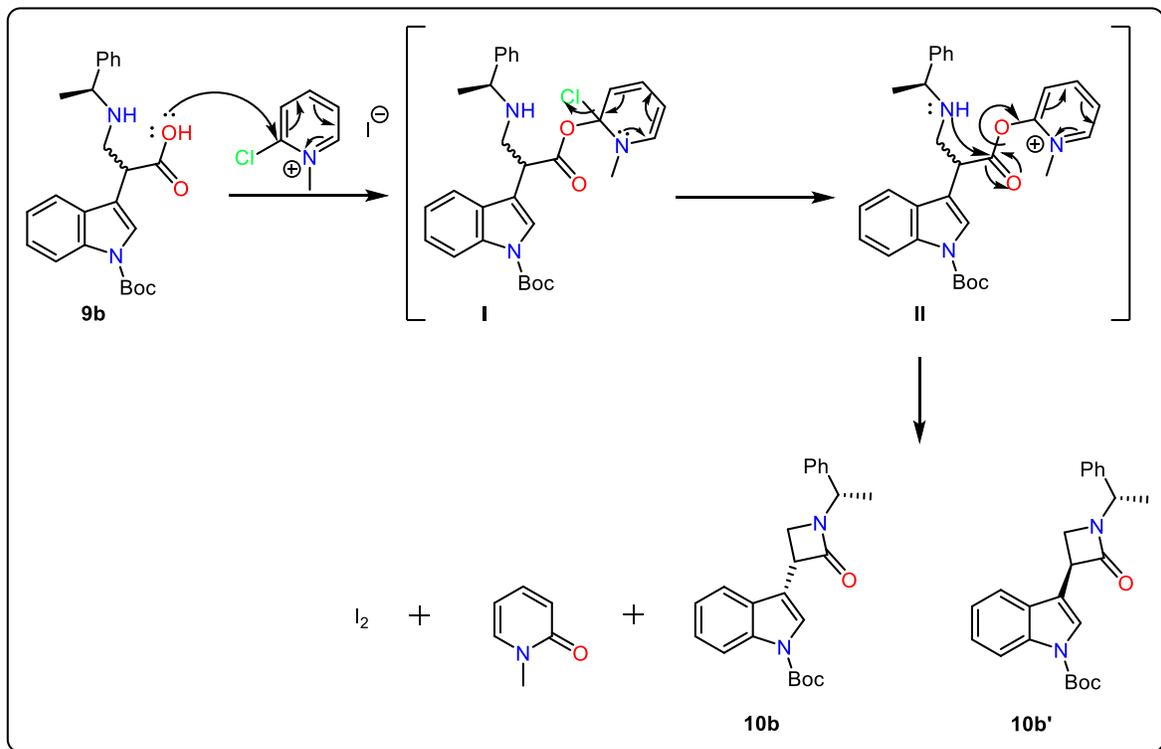
7.1.2.6 Obtención de las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético

Se realizó la preparación de los compuestos **10b** y **10b'** utilizando el reactivo de Mukaiyama (**Esquema 26**). La reacción se llevó a cabo utilizando el aminoácido **9b** suspendido en acetonitrilo, se adicionó el yoduro de 2-cloro-1-metilpiridino y trietilamina a reflujo durante 3 horas, obteniendo así las β -lactamas.



Esquema 26. Obtención de las β -lactamas **10b** y **10b'**, utilizando el reactivo de Mukaiyama

Un mecanismo propuesto de esta reacción comienza con el ataque nucleofílico del aminoácido **9b** hacia el yoduro de 2-cloro-1-metilpiridino, formándose así el intermediario I, en el cual se regenera la aromaticidad eliminando el ion cloruro formando el intermediario II. Finalmente, el átomo de nitrógeno en el intermediario II lleva a cabo el ataque intramolecular hacia el grupo carbonilo para generar las β -lactamas **10b** y **10b'** (Esquema 27).



Esquema 27. Mecanismo de reacción que explica la formación de β -lactamas utilizando el reactivo de Mukaiyama

Los compuestos se purificaron por cromatografía en columna en un sistema de elución por gradiente, recuperando dos aceites, los cuales difieren en su R_f observable en TLC y fueron etiquetados como “diastereoisómero más polar” para aquel que tiene un R_f menor y “diastereoisómero menos polar” para aquel que tiene R_f mayor (**Figura 15**). Los espectros de RMN 1H y ^{13}C muestran señales características de las β -lactamas derivadas.

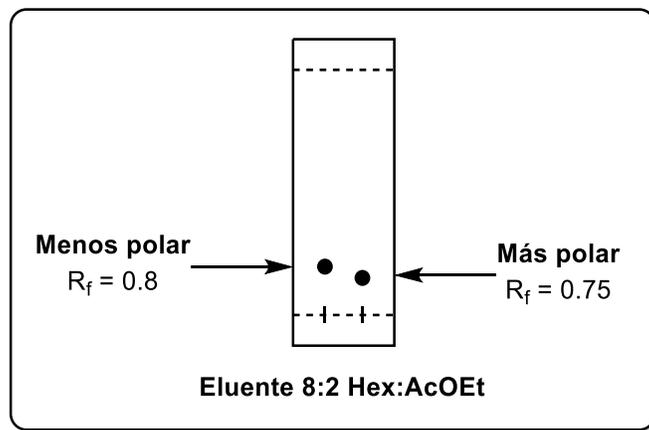
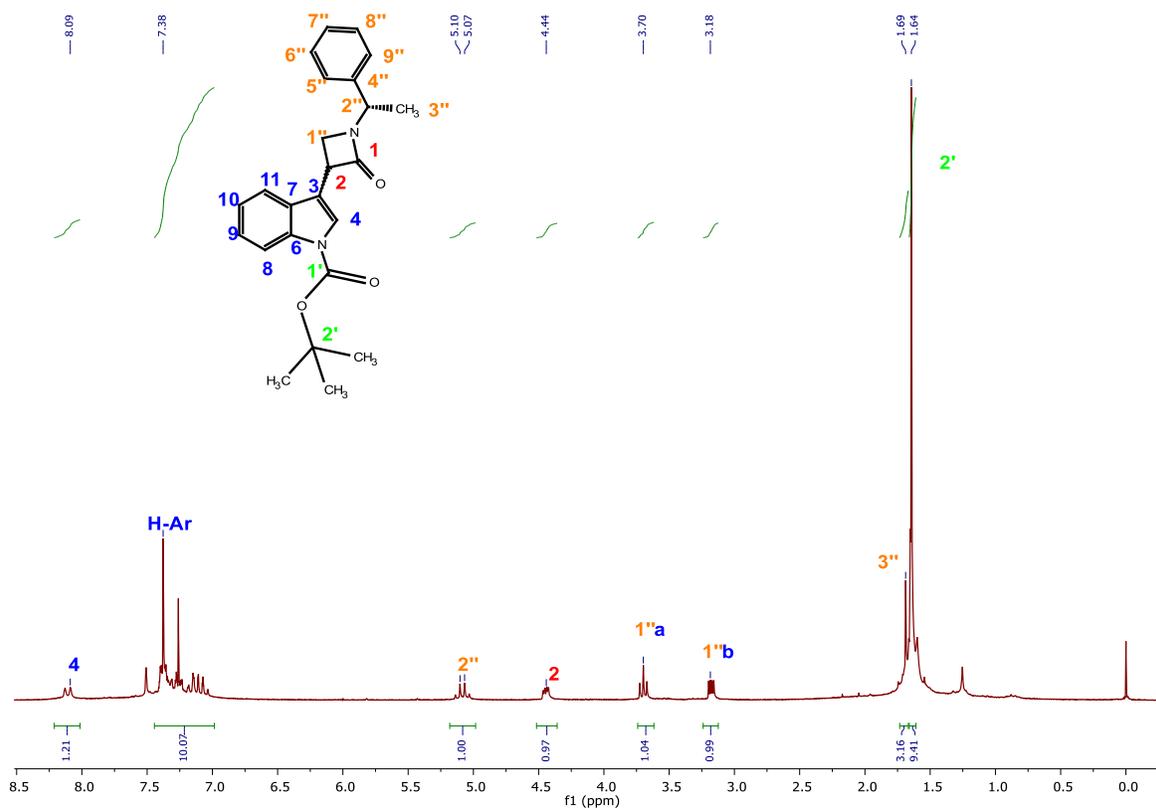


Figura 15. TLC para las β -lactamas diastereoisoméricas **10b** y **10b'**

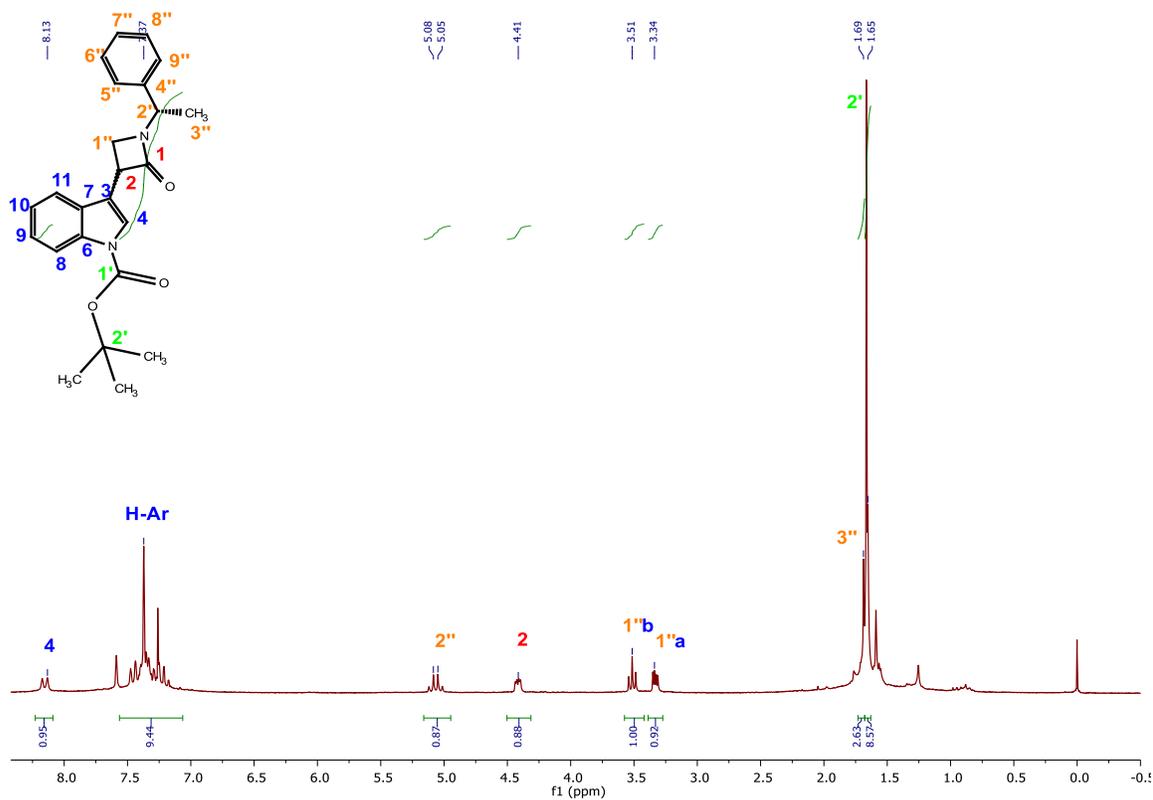
A continuación, se muestran el espectro de RMN ^1H del diastereoisómero más polar.



Espectro 13. RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del diastereoisómero más polar

En el **Espectro 13** se observa un cuarteto que integra para un hidrógeno con un desplazamiento químico de 5.08 ppm (q , $J = 7.1$ Hz) correspondiente al metino de la (*S*)-feniletilamina, una señal doble de doble de doble a 4.45 ppm (ddd , $J = 5.5, 2.7, 1.0$ Hz) del hidrógeno del carbono asimétrico, dos señales de los hidrógenos diasterotópicos beta al carbonilo en 3.70 ppm (t , $J = 5.5$ Hz) y a 3.18 ppm (dd , $J = 5.5, 2.7$ Hz). Estas señales nos indican la presencia de la β -lactama derivada del ácido 3-indolacético etiquetada como diastereoisómero más polar.

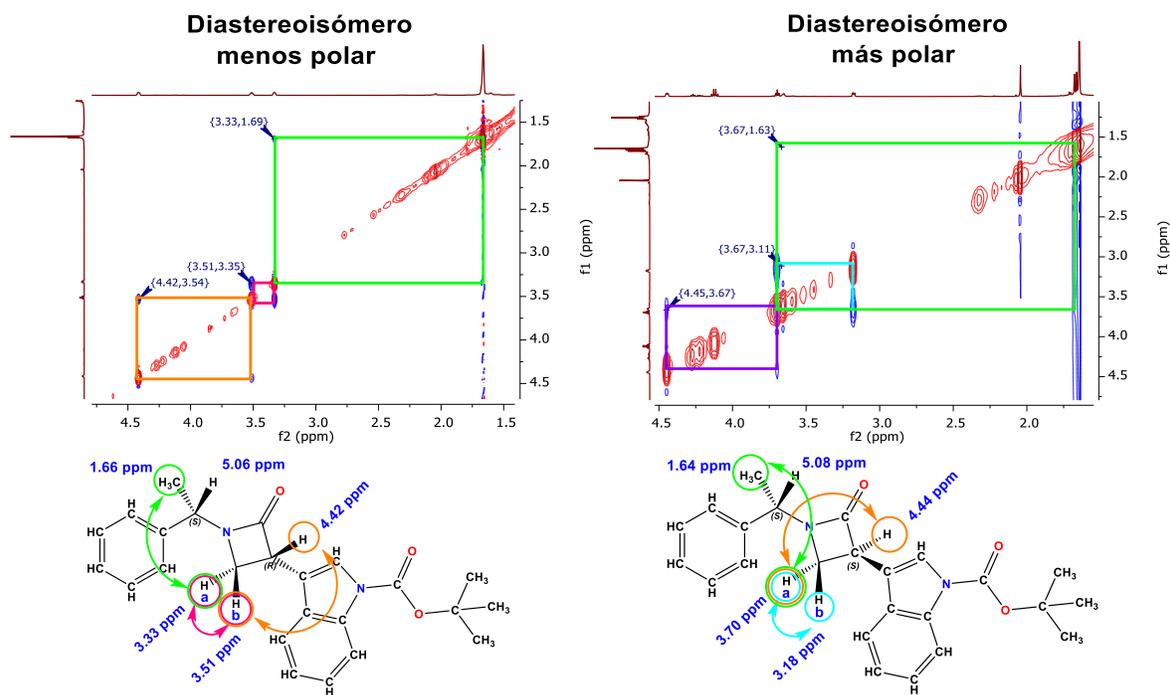
A continuación, se muestran el espectro de RMN ^1H del diastereoisómero menos polar.



Espectro 14. RMN de ^1H (CDCl₃, 200 MHz) del diastereoisómero menos polar

En el **Espectro 14** se observa en 5.07 ppm (q , $J = 7.1$ Hz) un cuarteto para el metino de la (*S*)-feniletilamina, una señal doble de doble de doble a 4.42 ppm (ddd , $J = 5.5, 2.7, 1.0$ Hz) correspondiente al hidrógeno del carbono asimétrico, dos señales de los hidrógenos diasterotópicos beta al carbonilo a 3.52 ppm (t , $J = 5.5$ Hz) y 3.34 ppm (dd , $J = 5.5, 2.7$ Hz).

Sí comparamos los **Espectro 13** y **Espectro 14** la diferencia que existe es únicamente en los desplazamientos de los hidrógenos diasterotópicos beta al carbonilo. Para asignar la configuración relativa de los diastereoisómeros, fueron adquiridos los experimentos de dos dimensiones de NOESY (**Espectro 15**).



*Espectro 15. NOESY para las β -lactamas **10b** y **10b'**. (A) Diastereoisómero menos polar. (B) Diastereoisómero más polar.*

Dentro del experimento correspondiente al diastereoisómero menos polar se observó la correlación entre la señal a 3.51 ppm y a 3.33 ppm correspondientes a los hidrógenos diasterotópicos, una segunda correlación entre la señal a 4.42 ppm correspondiente al hidrógeno del carbono quiral y la señal de uno de los hidrógenos diasterotópicos a 3.51 ppm. Una tercera correlación entre la señal de los hidrógenos del metilo de la (*S*)-feniletilamina en 1.66 ppm y la señal de uno de los hidrógenos diasterotópicos a 3.33 ppm.

Por lo que estas interacciones nos llevan a la conclusión de que la posible configuración relativa de la β -lactama menos polar es (*S,R*). En la sección 7.1.4 se discuten con mayor detalle los análisis de estos experimentos NOESY para cada uno de los

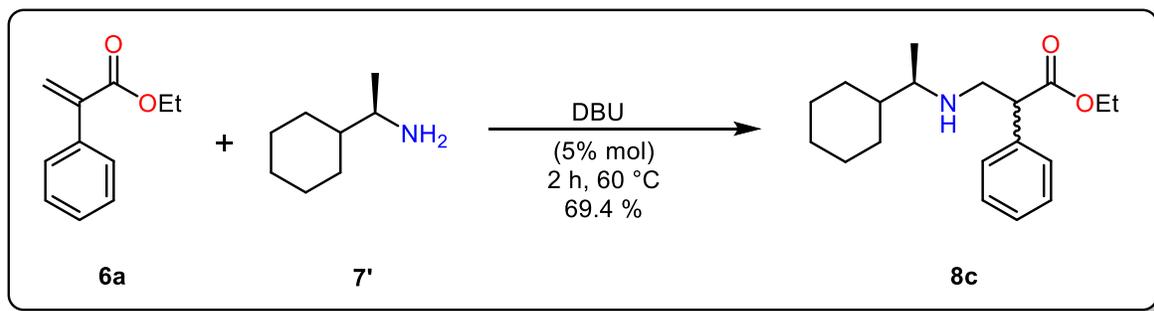
diastereoisómeros de las β -lactamas sintetizadas, con la finalidad de asignar de manera inequívoca su configuración relativa (*vide infra*).

Con respecto al experimento correspondiente al diastereoisómero más polar la señal a 3.70 ppm la cual correlaciona con la señal en 3.18 ppm mostrando así la relación entre los hidrógenos diasterotópicos, una segunda correlación entre la señal en 3.70 ppm y 4.46 ppm mostrando la correlación entre un hidrógeno diasterotópico y el protón alfa al carbonilo, una tercera correlación entre el metilo de (*S*)-FEA y el hidrógeno diasterotópico etiquetado como Ha. Por lo que estas correlaciones nos indican que la posible configuración relativa es (*S,S*).

7.1.3 Obtención de las β -lactamas diastereoisoméricamente puras usando como auxiliar quiral la (*R*)-ciclohexiletilamina (10c, 10c')

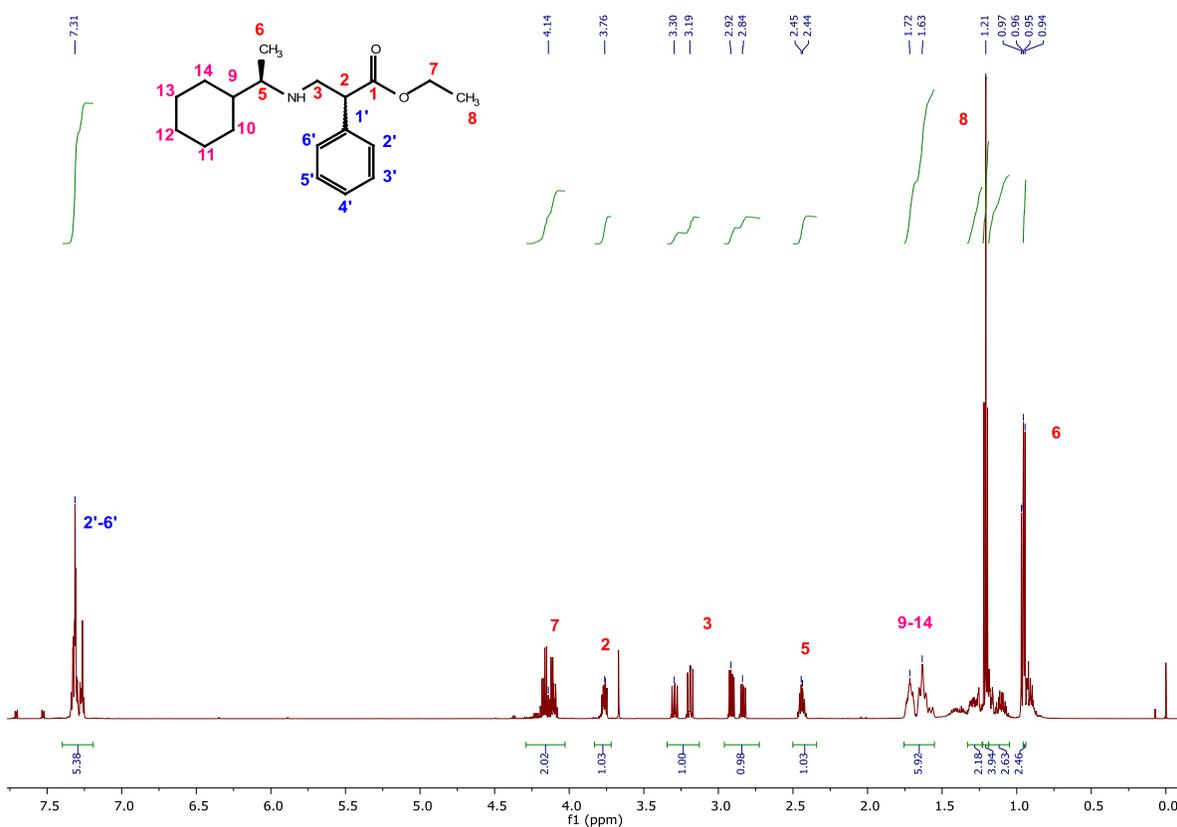
7.1.3.1 Síntesis de la mezcla diastereoisomérica (*R,R*) y (*S,R*) del 3-(((*R*)-1-ciclohexiletil)-2-fenilpropanoato de etilo, 8c

Tomando como material de partida el sistema α,β -insaturado **6a** se hizo reaccionar con la (*R*)-ciclohexiletilamina (**7'**) y la adición de 5% mol de DBU. La reacción se calentó durante 2 h a 60 °C y después de purificar el producto se obtuvo un aceite amarillo claro con un rendimiento del 69.4%; en este punto no fue posible la separación de los dos diastereoisómeros por cromatografía en columna.



Esquema 28. Síntesis diastereoisomérica del compuesto **8c**

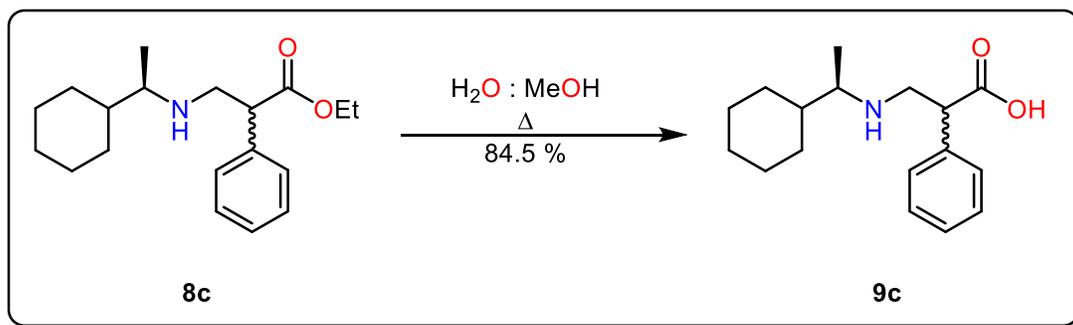
Se muestra el **Espectro 16** de RMN de ^1H del compuesto **8c**, en donde se observan los hidrógenos característicos del grupo metilo de la (*R*)-ciclohexiletilamina desplazados a 0.96 ppm como una señal doble ($J= 6.5$ Hz), una señal triple en 1.21 ppm ($J= 7.1$ Hz) del grupo metilo del éster etílico, señales múltiples en un rango de 0.95-1.72 ppm corresponden a los hidrógenos del ciclohexilo, una señal múltiple en 2.45 ppm del metino de la (*R*)-ciclohexiletilamina, se observan dos señales características de los hidrógenos diasterotópicos β al carbonilo en 2.92 ppm y 3.30 ppm como señales múltiples, una señal múltiple en 3.76 ppm correspondiente al hidrógeno del metino α al carbonilo, una señal en 4.14 correspondiente a los hidrógenos del metileno del éster etílico y finalmente una señal múltiple correspondiente a los hidrógenos aromáticos en 7.15-7.40 ppm.



Espectro 16. RMN de ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) de la mezcla diastereoisomérica del compuesto **8c**

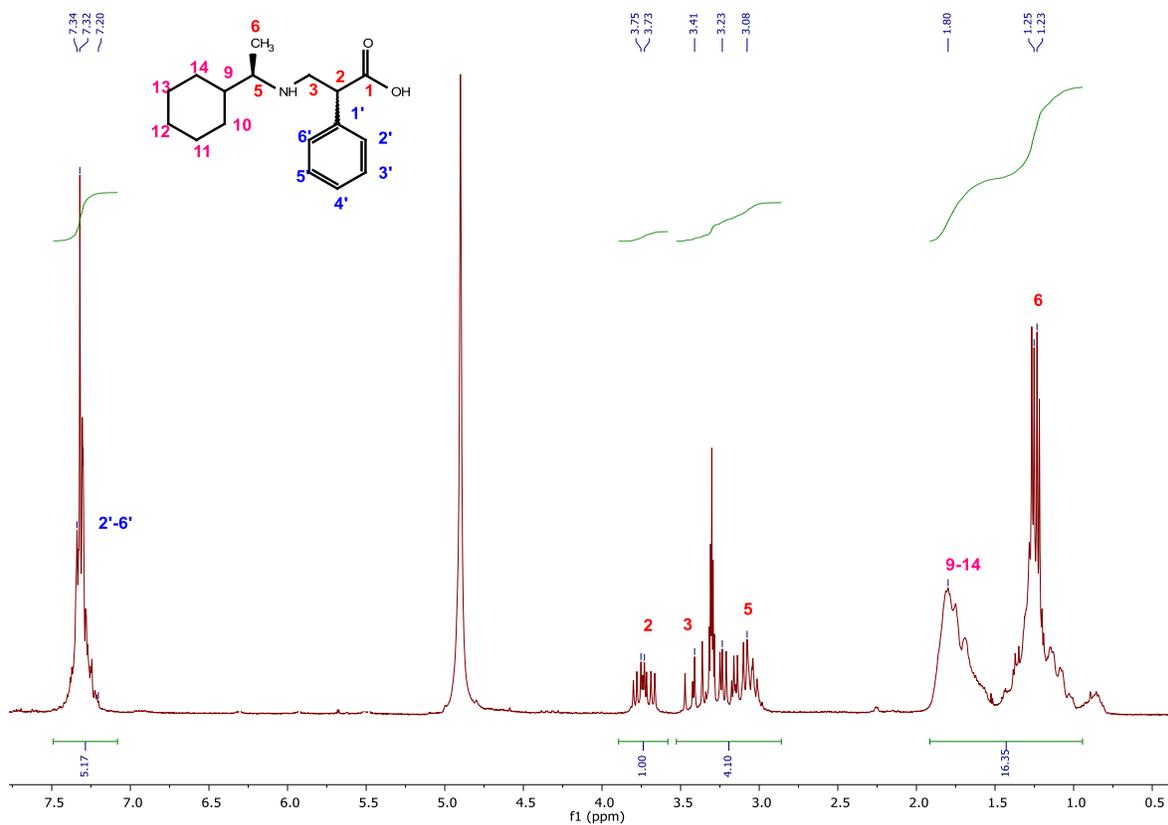
7.1.3.2 Síntesis diastereoisomérica (*R,R*) y (*S,R*) del ácido 3-(((*R*)-1-ciclohexiletil)amino)-fenilpropanóico, **9c**

A continuación, se llevó a cabo la hidrólisis del éster **8c**, empleado agua y MeOH como codisolvente a reflujo durante 25 h. El crudo de reacción no necesitó de purificación ya que se recuperó un sólido blanco con un rendimiento del 84.5% y una temperatura de descomposición de 200-202 °C (**Esquema 29**).



Esquema 29. Síntesis diastereoisomérica del compuesto **9c**

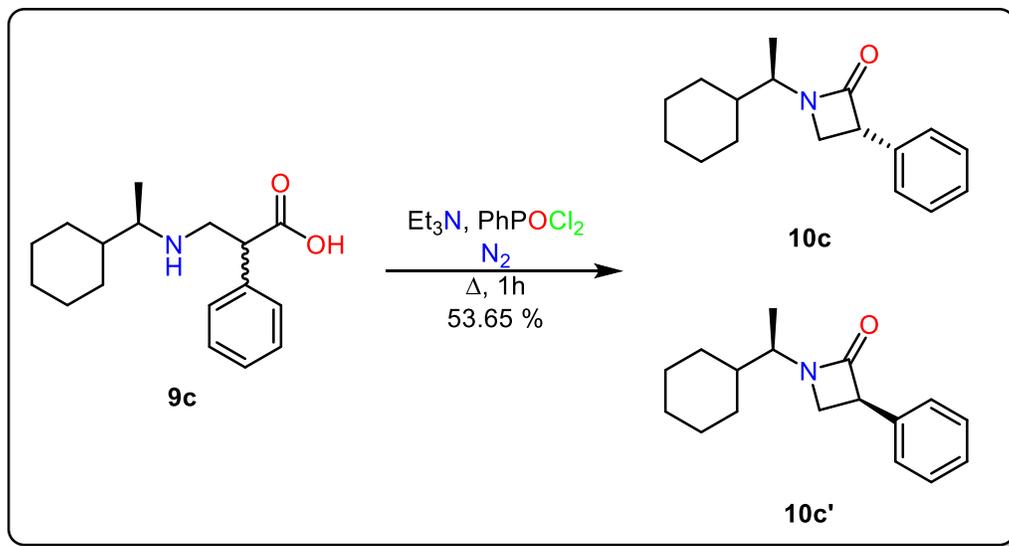
A grandes rasgos se observaron las señales características del ácido **9c** en el **Espectro 17** de RMN ¹H. La región alifática entre 0.55-2.0 ppm, el conjunto de los protones quirales y el de ambos diastereoisómeros entre 3.0-3.80 ppm y los aromáticos en 7.0-7.5 ppm.



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

7.1.3.3 Síntesis diastereoisomérica (*R,R*) y (*S,R*) de 1-((*R*)-1-ciclohexiletil)-3-fenilazetidina-2-ona, **10c** – **10c'**

Continuando con la ruta sintética para la obtención de las β -lactamas con el auxiliar quiral la (*R*)-ciclohexiletilamina, se planteó las condiciones indicadas en el **Esquema 30**.



Esquema 30. Obtención de las β -lactamas usando como auxiliar quiral la (*R*)-ciclohexiletilamina

Después de efectuar la reacción, los compuestos se purificaron por cromatografía en columna, recuperando dos productos, los cuales difieren en su R_f observable en cromatografía en capa fina (TLC) y fueron clasificados como “diastereoisómero más polar” para aquel que tiene un R_f menor y “diastereoisómero menos polar” para aquel que tiene R_f mayor.

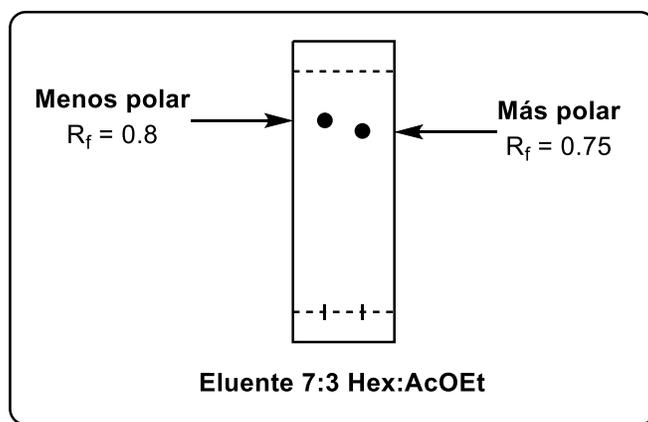
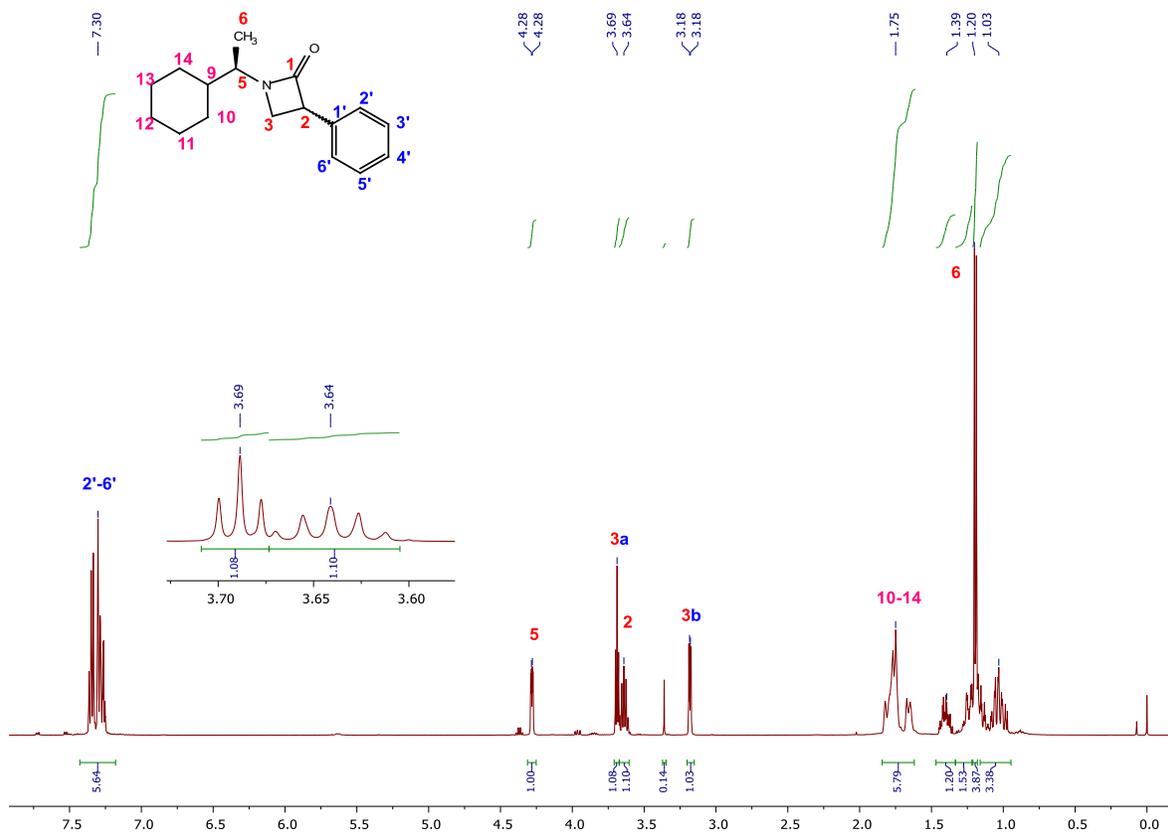


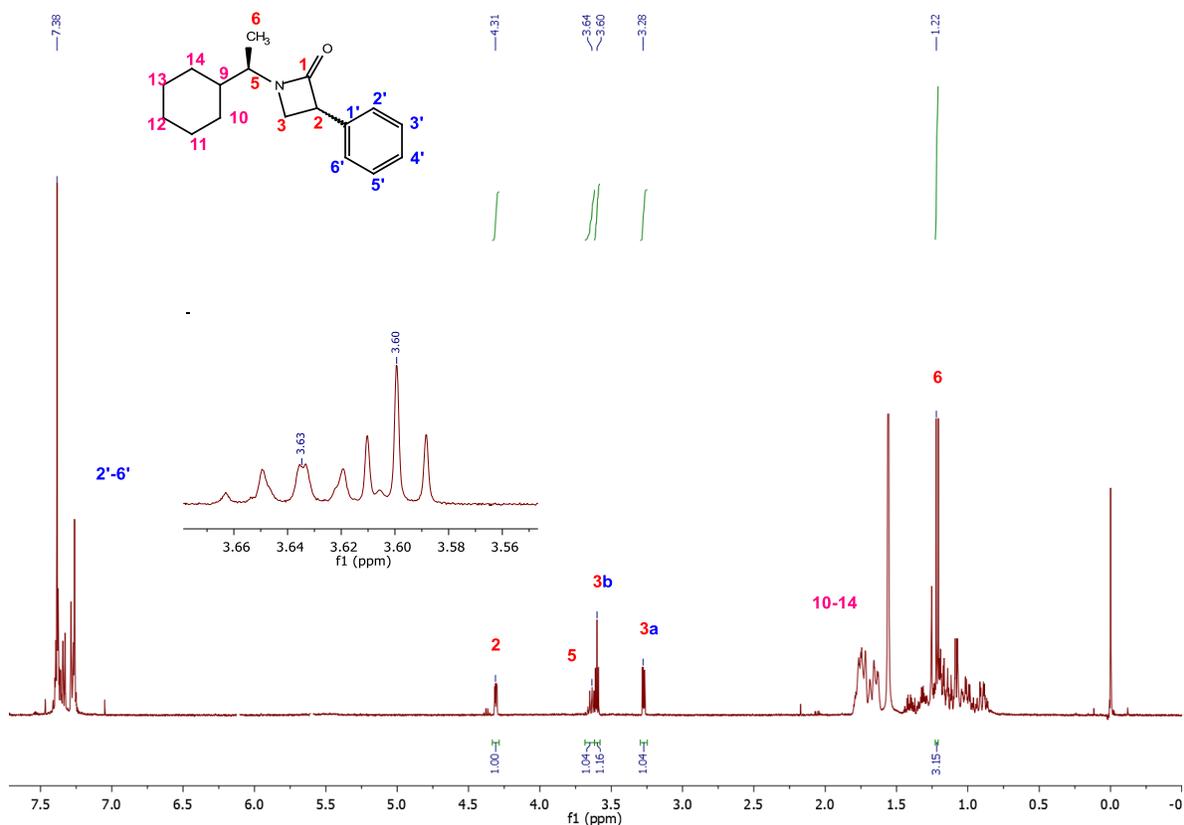
Figura 16. TLC para las β -lactamas diastereoisoméricas **10c** y **10c'**

Se obtuvieron los espectros de RMN ^1H para cada uno de los diastereoisómeros correspondientes.



Espectro 18. RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) del diastereoisómero más polar

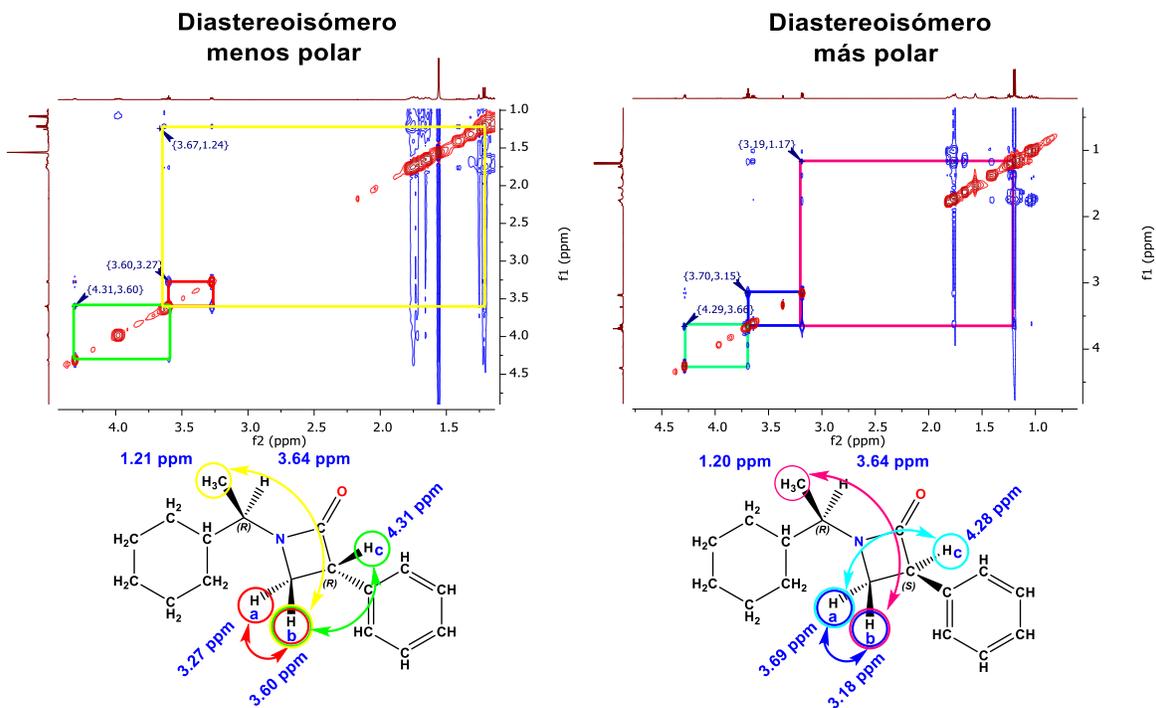
En el **Espectro 18** se muestra el espectro del diastereoisómero más polar. Se observan señales características que nos indican la presencia de la β -lactama; una señal doble en 1.19 ppm ($J = 7.1$ Hz) correspondiente al grupo metilo de la (*R*)-ciclohexiletamina, señales múltiples en un rango de en 1.55-2.00 ppm correspondientes a los hidrógenos del ciclohexilo, una señal doble de doble en 3.18 ppm (*dd*, $J = 5.5, 2.5$ Hz) referente a un hidrógeno diasterotópico, una señal quintuple en 3.64 ppm (*q*, $J = 7.1$ Hz) correspondiente al metino de la (*R*)-ciclohexiletamina, una señal referente a un hidrógeno diasterotópico en 3.69 ppm (*t*, $J = 5.5$, Hz), una señal doble de doble en 4.28 ppm (*dd*, $J = 5.5, 2.5$ Hz) del protón α al carbonilo y finalmente una señal múltiple para los hidrógenos aromáticos en 7.16-7.46 ppm.



Espectro 19. RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) del diastereoisómero menos polar

Se muestra el **Espectro 19** correspondiente para el diastereoisómero menos polar, difiere del **Espectro 18** con respecto a los desplazamientos químicos correspondiente a los hidrógenos diasterotópicos, para el diastereoisómero menos polar están en 3.27 ppm y 3.60 ppm, mientras que para el diastereoisómero más polar están en 3.69 ppm y 3.18 ppm. Los espectros de RMN ^1H muestran señales características de las β -lactamas derivadas, sin embargo, mediante los espectros de RMN de ^1H no es posible asignar la configuración relativa de los diastereoisómeros.

Continuando con la caracterización de los compuestos, se realizaron experimentos de NOESY para cada diastereoisómero.



Espectro 20. NOESY para las β -lactamas **10c** y **10c'**. (A) Diastereoisómero menos polar. (B) Diastereoisómero más polar.

Dentro del experimento correspondiente al diastereoisómero menos polar se muestra la correlación entre la señal a 3.27 ppm y a 3.60 ppm correspondientes a los hidrógenos diasterotópicos, se observa una segunda correlación entre la señal a 4.31 ppm correspondiente al hidrógeno del carbono quiral y la señal del uno de los hidrógenos diasterotópicos a 3.60 ppm, una correlación entre el metilo de (*R*)-CEA con el hidrógeno diasterotópicos a 3.60 ppm. Lo que nos indicaron este tipo de interacciones fue que la posible configuración relativa del diastereoisómero menos polar es (*R,R*).

Se puede observar dentro del experimento correspondiente al diastereoisómero más polar la señal a 3.69 ppm la cual correlaciona con la señal en 3.18 ppm mostrando así la relación entre los hidrógenos diasterotópicos, una segunda correlación entre la señal en 3.69 ppm y 4.28 ppm mostrando la correlación entre un hidrógeno diasterotópicos y el protón alfa al carbonilo, una tercera correlación entre el metilo de (*R*)-CEA y el hidrógeno diasterotópicos clasificado como Hb. Llegando a la conclusión de que la posible configuración relativa para el diastereoisómero menos polar es (*R,S*).

7.1.4 Análisis de resultados de los experimentos NOESY

La **Tabla 2** muestra las diferentes interacciones a través de espacio para cada uno de los diastereoisómeros. En el caso del diastereoisómero menos polar de la β -lactama **10a** con el auxiliar quiral (*S*)-feniletilamina, la configuración relativa del nuevo centro asimétrico ha sido asignado mediante rayos X (**Figura 13**) siendo esta (*R,S*), mientras que la configuración para el diastereoisómero más polar de la β -lactama **10a'** se asume que es opuesto a la de la β -lactama **10a** por lo que sería (*S,S*). Asignando de esta manera la configuración relativa para las β -lactamas **10a** y **10a'**.

Adicionalmente, fue posible observar que para la β -lactama **10a** la diferencia que existe entre los hidrógenos diasterotópicos $\Delta\delta_{|\text{Hb-Ha}|}$ es de 0.21 ppm, en tanto que para la β -lactama **10a'** el $\Delta\delta_{|\text{Hb-Ha}|}$ es de 0.58 ppm.

 Tabla 2. Resultados de los experimentos NOESY para las diferentes β -lactamas

Polaridad	Ha	Hb	Hc	NOESY	$\Delta\delta_{ \text{Hb-Ha} }$
Diastereoisómero menos polar 10a	3.24 ppm (dd, $J= 5.5, 2.5$ Hz, 1H)	3.45 ppm (t, $J= 5.5$ Hz, 1H)	4.25 ppm (dd, $J= 5.5, 2.5$ Hz, 1H)	3.24 ppm-3.45 ppm 3.45 ppm-4.26 ppm 3.24 ppm-1.66 ppm	0.21
Diastereoisómero más polar 10a'	3.65 ppm (t, $J= 5.5$ Hz, 1H)	3.07 ppm (dd, $J= 5.5, 2.5$ Hz, 1H)	4.29 ppm (dd, $J= 5.5, 2.5$ Hz, 1H)	3.07 ppm-3.65 ppm 3.65 ppm-4.29 ppm 3.65 ppm-1.66 ppm	0.58
Diastereoisómero menos polar 10b	3.33 ppm (dd, $J= 5.5, 2.5$ Hz, 1H)	3.52 ppm (t, $J= 5.5$ Hz, 1H)	4.42 ppm (ddd, $J= 5.5,$ 2.5, 0.8 Hz, 1H)	3.33 ppm-3.52 ppm 3.52 ppm-4.42 ppm 3.33 ppm-1.66 ppm	0.19
Diastereoisómero más polar 10b'	3.70 ppm (t, $J= 5.5$ Hz, 1H)	3.18 ppm (dd, $J= 5.5, 2.5$ Hz, 1H)	4.45 ppm (ddd, $J= 5.5,$ 2.5, 0.8 Hz, 1H)	3.18 ppm-3.70 ppm 3.70 ppm-4.45 ppm 3.70 ppm-1.64 ppm	0.52
Diastereoisómero menos polar 10c	3.27 ppm (dd, $J= 5.5, 2.5$ Hz, 1H)	3.60 ppm (t, $J= 5.5$ Hz, 1H)	4.31 ppm (dd, $J= 5.5, 2.5,$ Hz, 1H)	3.27 ppm-3.60 ppm 3.60 ppm-4.31 ppm 3.60 ppm-1.21 ppm	0.33

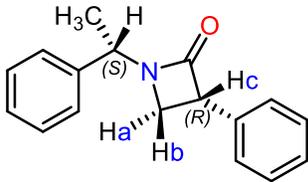
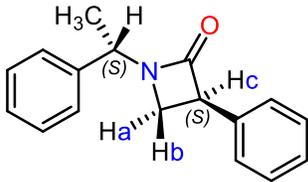
Diastereoisómero más polar 10c'	3.69 ppm (t, $J=5.5$ Hz, 1H)	3.18 ppm (dd, $J=5.5, 2.5$ Hz, 1H)	4.28 ppm (dd, $J=5.5, 2.5$ Hz, 1H)	3.18 ppm-3.69 ppm 3.69 ppm-4.28 ppm 3.18 ppm-1.20 ppm	0.51
-------------------------------------------	---------------------------------	---------------------------------------	---------------------------------------	-------------------------------------------------------------	------

Examinando los resultados obtenidos en la **Tabla 2** para las β -lactamas **10b**, **10b'**, **10c** y **10c'** es posible señalar que existe una posible tendencia con respecto a los $\Delta\delta_{|\text{Hb-Ha}|}$ de las β -lactamas cuya configuración relativa ya ha sido asignada (**10a** y **10a'**). Ya que, en el caso de la β -lactama **10a** había sido clasificada como diastereoisómero “menos polar” y el $\Delta\delta_{|\text{Hb-Ha}|}$ observado es menor (0.21 ppm) con respecto al $\Delta\delta_{|\text{Hb-Ha}|}$ (0.58 ppm) de la β -lactama **10a'** la cual fue establecida como diastereoisómero “más polar”.

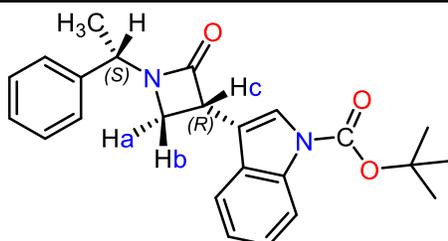
En el caso de la β -lactama **10b** (diastereoisómero menos polar) el $\Delta\delta_{|\text{Hb-Ha}|}$ es de 0.19 ppm y para la β -lactama **10b'** (diastereoisómero más polar) el $\Delta\delta_{|\text{Hb-Ha}|}$ es de 0.52 ppm. Para la β -lactama **10c** (diastereoisómero menos polar) el $\Delta\delta_{|\text{Hb-Ha}|}$ es de 0.33 ppm y para la β -lactama **10c'** (diastereoisómero más polar) el $\Delta\delta_{|\text{Hb-Ha}|}$ es de 0.51. Observando que para ambos pares de diastereoisómeros se sigue la misma tendencia con relación al par de β -lactamas **10a** y **10a'**, el $\Delta\delta_{|\text{Hb-Ha}|}$ del diastereoisómero menos polar será menor que el $\Delta\delta_{|\text{Hb-Ha}|}$ del diastereoisómero más polar.

Proponiendo así una posible asignación de la configuración relativa a partir de una correlación de los $\Delta\delta_{|\text{Hb-Ha}|}$ (**Tabla 3**).

Tabla 3. Posible asignación de la configuración relativa de las β -lactamas

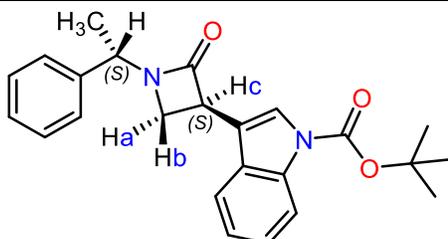
Configuración	β -lactama	Polaridad
(<i>R, S</i>)		Diastereoisómero menos polar 10a
(<i>S, S</i>)		Diastereoisómero más polar 10a'

(*R, S*)



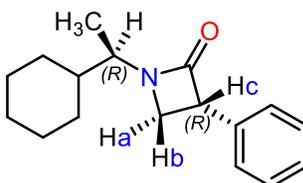
Diastereoisómero
menos polar
10b

(*S, S*)



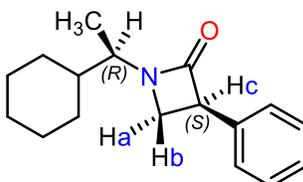
Diastereoisómero
más polar
10b'

(*R, R*)



Diastereoisómero
menos polar
10c

(*S, R*)



Diastereoisómero
más polar
10c'

7.2 Parte Computacional

Basados en los resultados experimentales de este trabajo en la síntesis asimétrica de β -lactamas (**10a-c**), se desarrollaron estudios de acoplamiento molecular que justificaron la unión al receptor 5-HT_{2A}, mediante la descripción de las interacciones ligando-receptor en el sitio de unión.

Los cálculos de acoplamiento molecular se realizaron en AutoDock Vina. AutoDock Vina es uno de los motores de acoplamiento de código abierto más rápido y utilizado, se basa en una función de puntuación simple y una búsqueda conformacional de optimización de gradiente. Se requieren las estructuras de las moléculas que se acoplan y la especificación del espacio de búsqueda, incluido el sitio de unión.

7.2.1 Preparación de las moléculas (ligando y receptor)

7.2.1.1 Preparación de ligandos

Las estructuras de las β -lactamas derivadas del 2-fenilmalonato de dietilo **10a** y **10a'**, las β -lactamas derivadas del ácido 3-indolacético **10b** y **10b'** y las β -lactamas usando como auxiliar quiral la (*R*)-ciclohexiletamina **10c** y **10c'**, fueron construidas utilizando MarvinSketch. La minimización de la energía de los ligandos se llevó a cabo con el campo de fuerza MMFF94 y basado en la matriz de Mikowski en MarvinSketch (**Figura 17**).⁶³

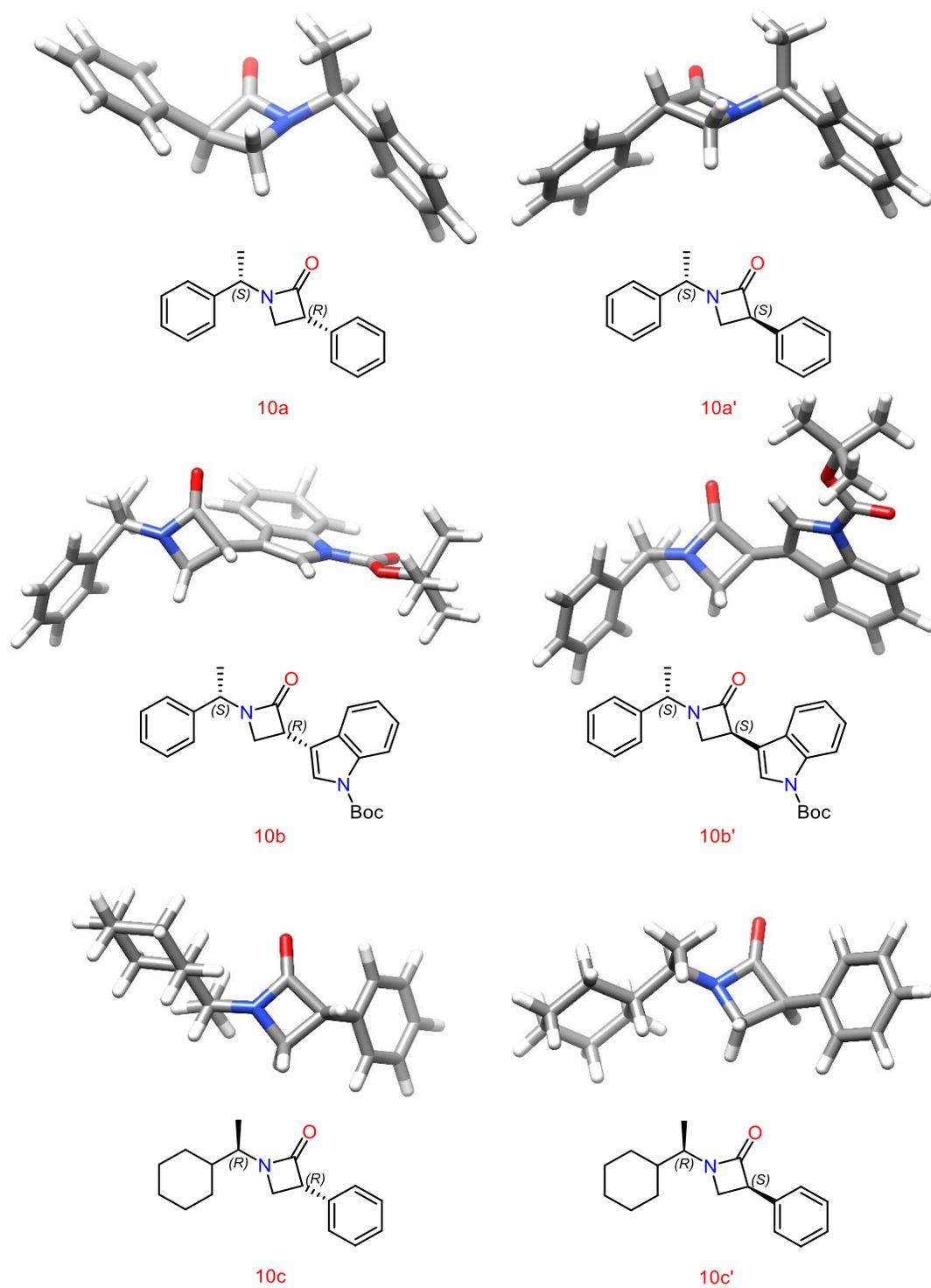


Figura 17. Estructuras de las β -lactamas 10a, 10a', 10b, 10b', 10c y 10c'

7.2.1.2 Análisis estructural del receptor 5-HT_{2A}

Se eligió la estructura cristalina del receptor 5-HT_{2A} (PDB-ID: 6A93) la cual se encuentra cocrystalizado con el ligando Risperidona (8NU), con una resolución de 3.00 Å y fue tomada del Banco de Datos de Proteínas PDB, por sus siglas en inglés *Protein Data Bank*.

La estructura general de 5-HT_{2A}R consiste en la estructura canónica del receptor acoplado a proteína G con siete hélices transmembranales (TM1-7) y una hélice anfipática intracelular H8 (**Figura 18**).⁶⁴

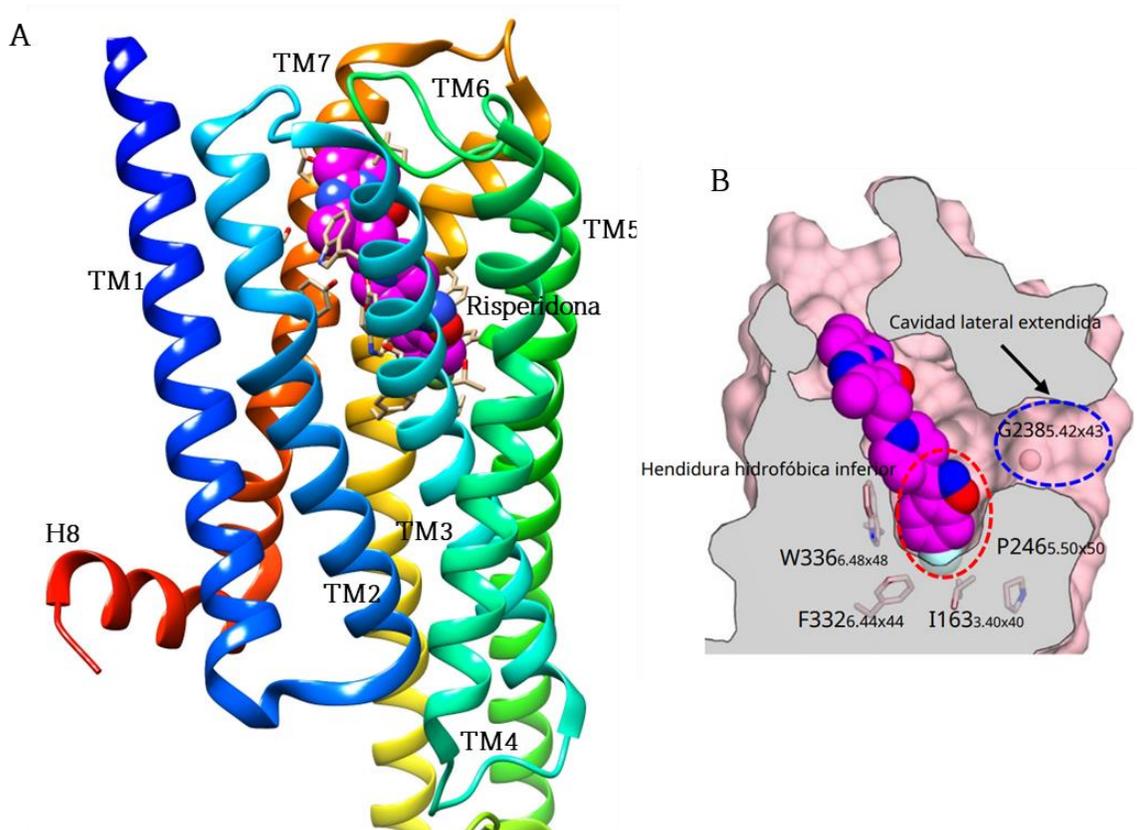


Figura 18. Estructura de 5-HT_{2A}R. (A) La Risperidona se encuentra coloreado de magenta. (B) Sección transversal⁶⁴ de (A). Los círculos punteados azules y rojos indican la cavidad extendida lateralmente y la hendidura hidrofóbica inferior, respectivamente.

La estructura de 5-HT_{2A}R exhibe dos características importantes; la primera es la hendidura hidrofóbica inferior en el bolsillo de unión al ligando (**Figura 18B**), la hendidura hidrofóbica inferior está rodeada por residuos aromáticos altamente conservados o

hidrofóbicos, incluidos la Ile163, Phe332 y Trp336. Los reordenamientos conformacionales de estos residuos son importantes para la activación del receptor.

La segunda característica es la cavidad lateral extendida ubicada entre TM4 y TM5, esta conecta el sitio ortostérico y la membrana plasmática cerca de la hendidura hidrofóbica inferior Asp155, un residuo estrictamente conservado para la interacción con ligandos en receptores aminérgicos. La presencia de Gly238 en la entrada es fundamental para la formación de la cavidad.

7.2.1.3 Sitio de unión de ligandos

La Risperidona adopta una conformación extendida en el sitio de unión al ligando, y forma un puente salino entre Asp155 y los nitrógenos básicos de la molécula, estando estabilizado por los enlaces de hidrógeno entre Asp155 y Tyr370 (**Figura 19**).

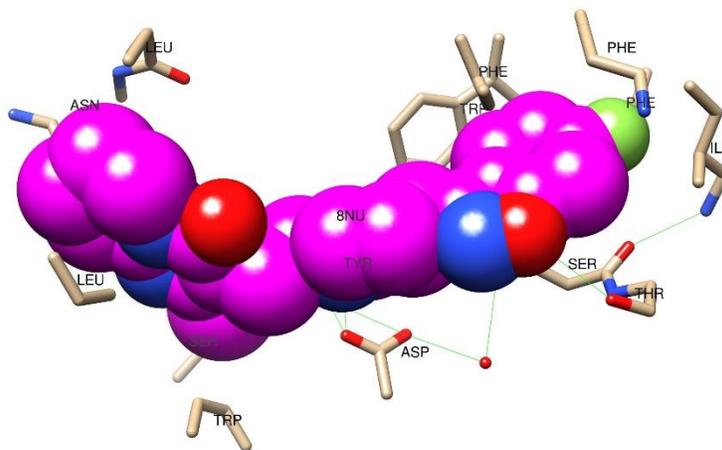


Figura 19. Sitio de unión del ligando a 5-HT_{2A}R. Interacciones entre la Risperidona (magenta) y residuos de aminoácidos en el sitio de unión en 5-HT_{2A}R. Los puentes de hidrógeno se muestran como líneas coloreadas de verde.

La Risperidona coloca el anillo de fluorobencisoxazol en la hendidura hidrofóbica inferior. Este anillo forma interacciones CH- π con Ser159, interacciones hidrofóbicas con Ile163, Phe243 y Phe332, e interacciones π con Trp336 y Phe340.

7.2.2 Acoplamiento Molecular

El acoplamiento molecular, en este trabajo se llevó a cabo sobre el receptor de serotonina 5-HT_{2A}, el cual se encuentra co-cristalizado con el ligando Risperidona (8NU). Para iniciar el proceso de acoplamiento el ligando y el receptor 5-HT_{2A} se importaron a Chimera,⁶⁵ con el fin de separarlos y así introducir sobre el sitio de reconocimiento de fármacos a los compuestos sintetizados.

Se llevaron a cabo 500 corridas independientes para cada β -lactama en el programa AutoDock Vina. Lo anterior con la finalidad de tener una mayor reproducibilidad en cuanto a los datos obtenidos. Se ha utilizado AutoDock Vina tanto para la predicción del modo de unión como para el acoplamiento. Las dimensiones de la malla tridimensional son $15.29 \times 0.152585 \times 62.5126$ Å, situándose centradas en el sitio de unión del ligando y con coordenadas en (29.45, 21.2252, 20.3156).

Al momento de realizar el acoplamiento molecular, se originan una serie de conformaciones (poses) probables, las cuales representan posibles modos de unión del ligando sobre el receptor. Un criterio para saber si la pose es confiable es determinar su desviación cuadrática media de las posiciones atómicas conocido como RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Un valor de RMSD menor a 2 Å implica que es capaz de seleccionar como mejor pose aquella que presenta una gran semejanza con la pose original de aquellos ligandos evaluados dentro del receptor biológico. Este valor determina la diferencia entre las coordenadas de los dos ligandos, es decir, qué tan cerca se encuentra la estructura acoplada a la estructura de rayos X.

7.2.2.1 Validación del Acoplamiento Molecular

La Risperidona (8NU) se reacompló frente a 5-HT_{2A}R para validar la metodología, y posteriormente realizar el acoplamiento de los ligandos sintetizados. Se produjo un RMSD de 0.060 Å (**Figura 20A**), por lo que podría mantener una orientación similar con el ligando cristalográfico.

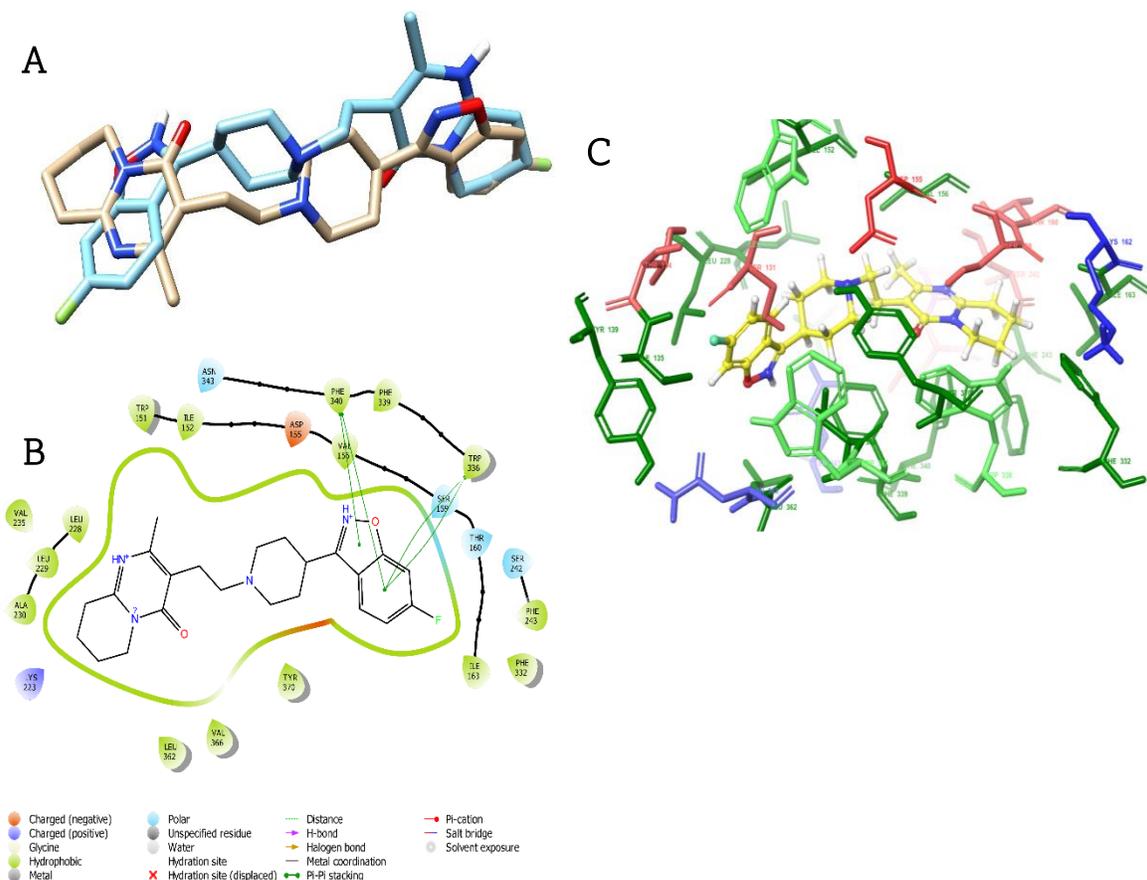


Figura 20. Resultados de acoplamiento de la Risperidona y 5-HT_{2A}R. (A) Acoplamiento de la Risperidona; (B) Representación gráfica en 2D del acoplamiento entre la Risperidona; (C) Representación gráfica en 3D. A lo largo de la tesis se usará el mismo código de colores, en el cual el ligando esta coloreado de color amarillo en las representaciones en 2D y las demás estructuras coloreadas en el sitio de unión dependen del tipo de residuo de aminoácido al que corresponden.

Al obtener un valor de RMSD menor a 2.0 Å, se considera que los parámetros empleados para el acoplamiento molecular son reproducibles, mismo que se observa al comparar el conformero obtenido con el ligando cocrystalizado observando que mantienen la misma posición dentro de la cavidad de 5-HT_{2A}R. Con base en los resultados, el procedimiento de validación del acoplamiento molecular es aceptable y con esto, es posible utilizarse para los siguientes ligandos.

7.2.2.2 Análisis de la interacción ligando-receptor de las β -lactamas de interés

A continuación, se visualizaron los resultados de acoplamiento para determinar las interacciones y el modo de unión del complejo receptor-ligando, estos resultados se muestran en la **Figura 21** y las **Tabla 4** y **5**.

Tabla 4. Valores de RMSD y Energía de Afinidad para los compuestos finales

Compuestos	RMSD		Energía de Afinidad	
	Promedio	Desviación Estándar	Promedio	Desviación Estándar
β -lactama 10a	0.024	0.016	-8.999	0.013
β -lactama 10a'	0.109	0.076	-9.396	0.022
β -lactama 10b	0.278	0.030	-10.199	0.087
β -lactama 10b'	0.556	0.356	-10.575	0.137
β -lactama 10c	0.022	0.003	-9.102	0.018
β -lactama 10c'	0.033	0.002	-8.961	0.064
Risperidona	0.060	0.018	-11.270	0.045

Los valores de Energía de Afinidad están dados en kcal/mol

Los valores de RMSD están dados en Å

El análisis de los resultados reveló que la **β -lactama 10a** interactúa formando un enlace de hidrógeno con el residuo de Ser159, así como interacciones π con Trp336 y Phe340; la **β -lactama 10a** coloca el fenilo en la hendidura hidrofóbica, interactuando con Ile163, Phe339.

Para la **β -lactama 10a'** se observa la interacción por enlace de hidrógeno entre el grupo carbonilo del anillo β -lactámico y la Ser159, interacciones π con Trp336 y Phe340 e interacciones hidrofóbicas con Val336, Tyr370 y Phe339.

La **β -lactama 10b** muestra interacciones π entre el fenilo y los residuos Trp336 y Phe340, del mismo modo interacciones π entre el anillo indólico y Phe339, enlace de hidrógeno con Asp155 e interacciones hidrofóbicas con Val156, Ile163, Leu229 y Leu228.

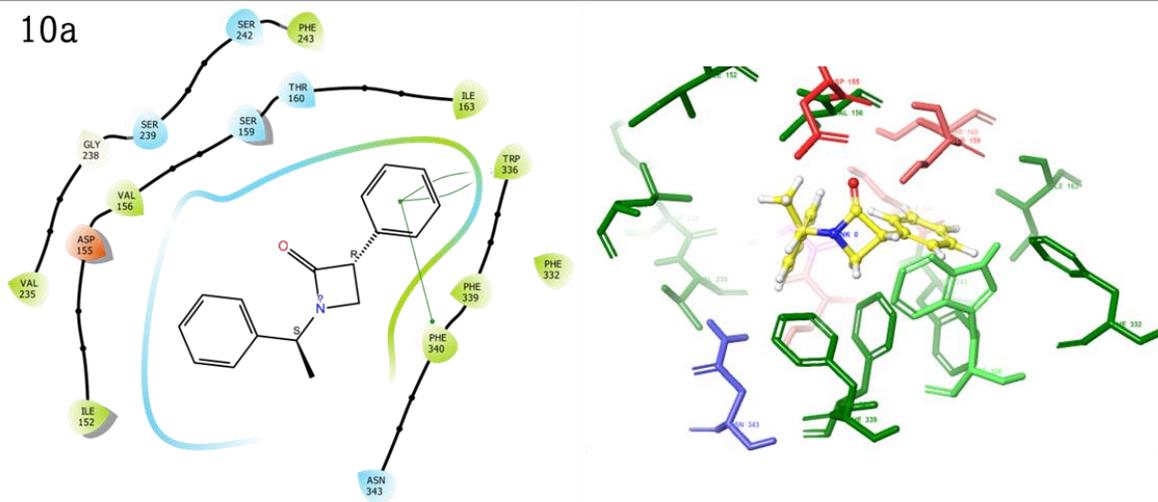
El análisis de los resultados para la **β -lactama 10b'** mostró un perfil de afinidad similar al de la Risperidona (Tabla 4) al igual que interacciones similares. El análisis reveló que este ligando tuvo la mejor conformación de unión con el receptor 5-HT_{2A} con una energía de unión de -10.575 kcal/mol, formando interacciones de enlace de hidrógeno con Val156, interacciones π con Phe340 y Trp336, e interacciones hidrofóbicas con Ile163, Phe339. Está podría representar una clase de bioisostero con respecto a la Risperidona, por su anillo de tipo indol.

Tabla 5. Interacción de las β -lactamas y el receptor 5-HT_{2A}

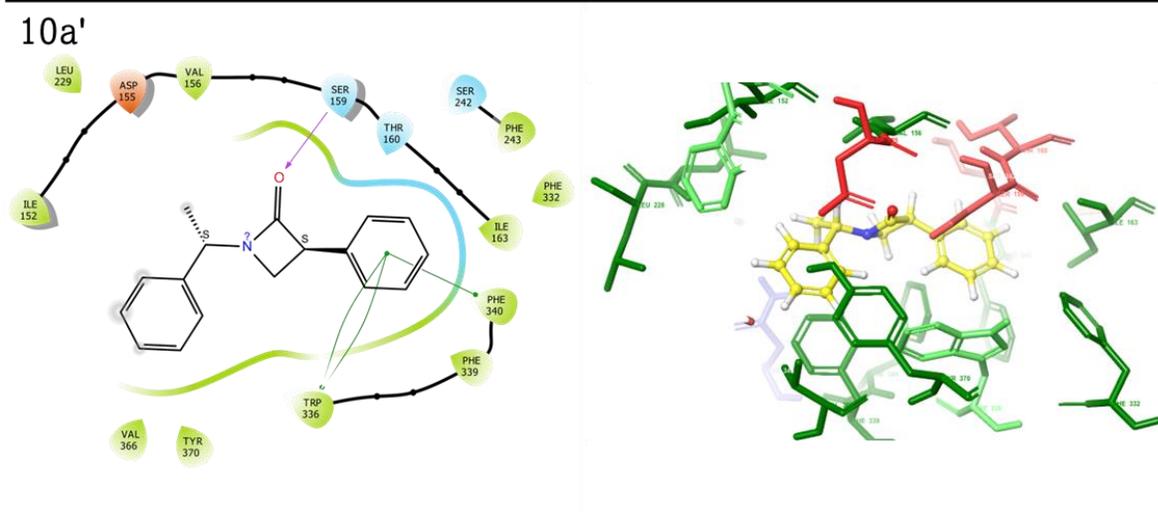
Ligandos	Residuos que interactúan		
	Enlaces de hidrógeno	π - π	Hidrofóbicas
β-lactama 10a	Ser159	Trp336, Phe340	Ile163, Phe339
β-lactama 10a'	Ser159	Trp336, Phe340	Val366, Tyr370, Phe339
β-lactama 10b	Asp155	Trp336, Phe339, Phe340	Val156, Ile163, Leu229, Leu228
β-lactama 10b'	Val156	Trp336, Phe340	Ile163, Phe339
β-lactama 10c		Trp336, Phe340	Phe243, Phe339
β-lactama 10c'			Val156, Ile163, Trp336, Phe340
Risperidona	Asp155, Tyr370	Ser159, Trp336, Phe340	Ile163, Phe243, Phe332

Las **β -lactama 10c** interacciones π con Trp336 y Phe340 e interacciones hidrofóbicas con Phe243 y Phe339. La **β -lactama 10c'** es el ligando que muestra las menores interacciones con respecto al sitio activo de receptor 5-HT_{2A}, al colocar el ciclohexilo en la hendidura hidrofóbica, se observan interacciones con Val156, Ile163, Trp336, Phe340.

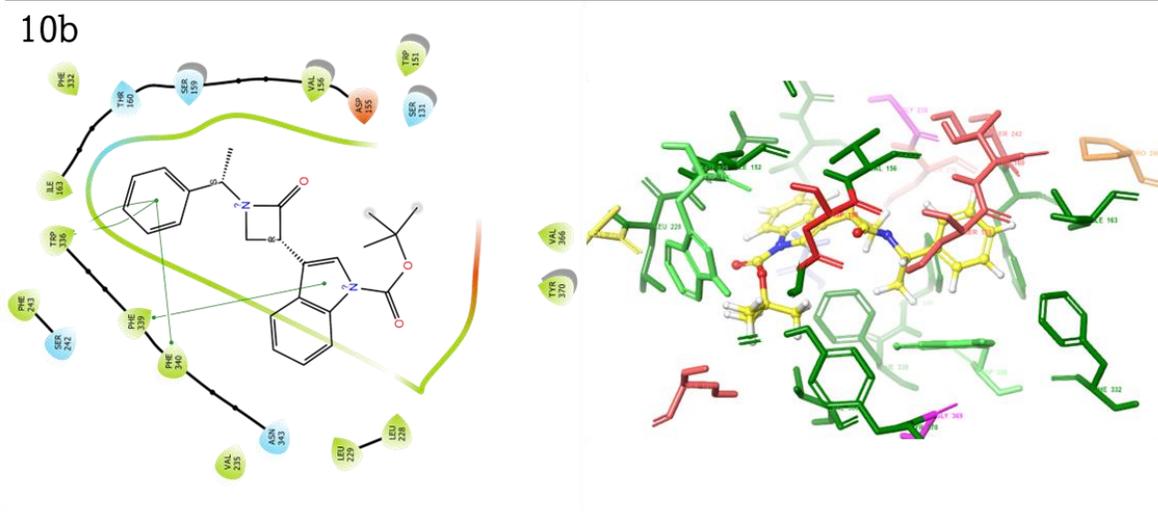
10a



10a'



10b



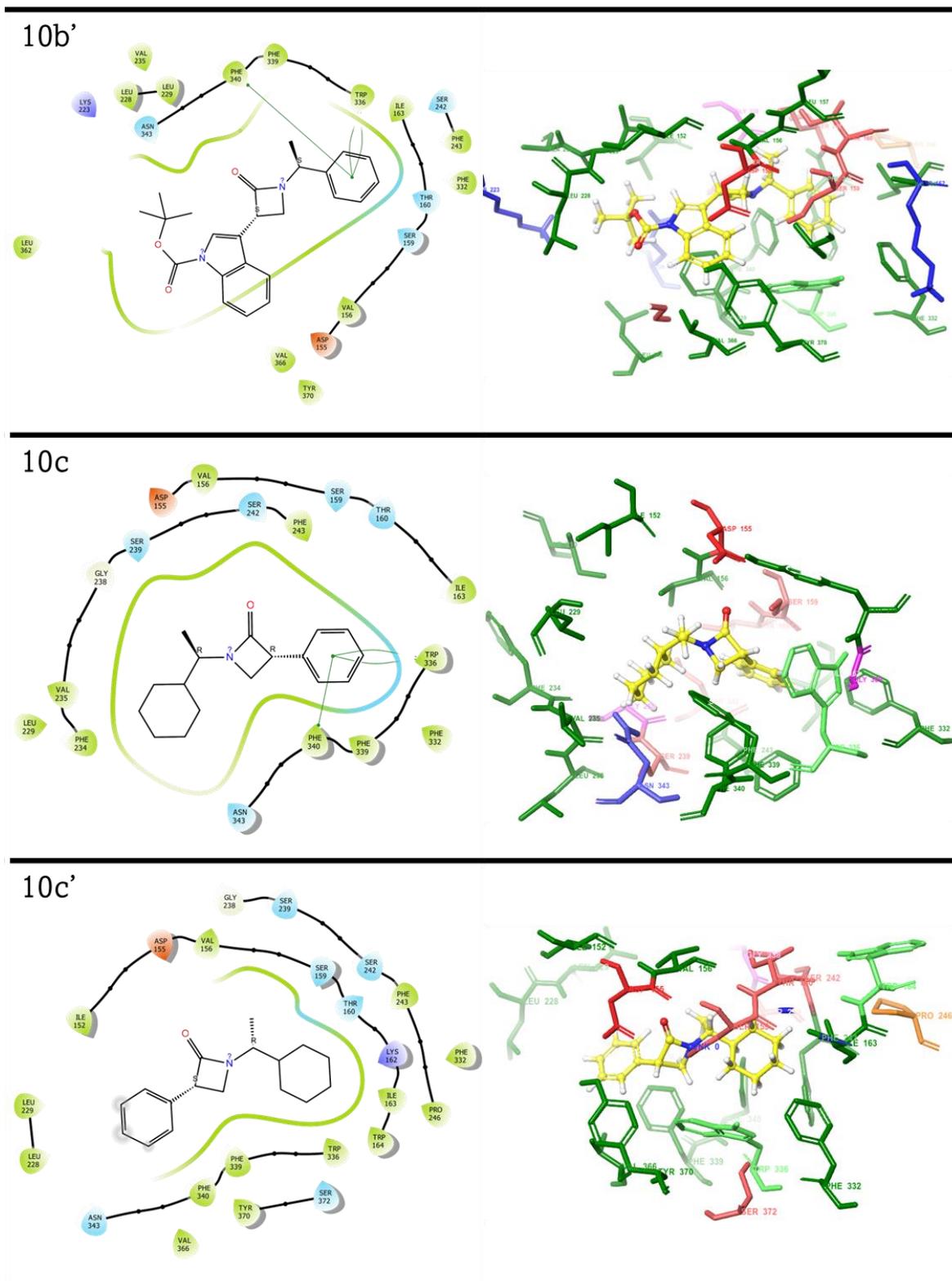


Figura 21. Interacciones y modo de unión de las β -lactamas y el receptor 5-HT_{2A}

Conclusiones

Se desarrolló una estrategia general de síntesis para obtener tres pares de diastereoisómeros de β -lactamas derivadas del 2-fenilmalonato de dietilo y del ácido 3-indolacético, usando como auxiliares quirales a la (*S*)-feniletilamina y la (*R*)-ciclohexiletilamina.

Se caracterizaron cada par diastereoisomérico de β -lactamas mediante experimentos de RMN ^1H y ^{13}C , y mediante las correlaciones vistas dentro de los diferentes experimentos NOESY. Se observó una posible tendencia con respecto a la diferencia de desplazamiento ($\Delta\delta_{|\text{Hb-Ha}|}$) de los hidrógenos diastereotópicos de las β -lactamas $\Delta\delta_{|\text{Hb-Ha}|}$, el $\Delta\delta_{|\text{Hb-Ha}|}$ del diastereoisómero menos polar será menor que el $\Delta\delta_{|\text{Hb-Ha}|}$ del diastereoisómero más polar, proponiendo mediante esta tendencia su posible configuración relativa.

El acoplamiento molecular se realizó utilizando AutoDock Vina junto con el software Maestro para visualizar las interacciones entre los ligandos y el receptor 5-HT_{2A}. La β -lactama **10b'** mostró una energía de unión de -10.575 kcal/mol e interacciones similares a las de la Risperidona con los residuos de aminoácidos. Por lo tanto, esta investigación podría actuar como una ruta para el descubrimiento de fármacos. De este modo, los estudios *in-silico* proporcionan conocimientos que facilitarán el diseño racional de nuevos antipsicóticos altamente selectivos.

Por lo tanto, se cumple la hipótesis planteada, dado que las β -lactamas diastereoisoméricamente puras fueron preparadas a través del uso de auxiliares quirales con una estructura similar a la serotonina, lo que les confiere características apropiadas para acoplarse al sitio de unión del receptor 5-HT_{2A} de un modo consistente, por lo que resultaron ser un punto de partida para el diseño de fármacos basado en la estructura para atender enfermedades neurodegenerativas (esquizofrenia).

Metodología

9.1 Parte Experimental

El material de vidrio se secó en una estufa a 100 °C y todos los disolventes fueron destilados.

El tetrahidrofurano (THF) fue empleado en condiciones de extrema sequedad, la eliminación de la humedad se realizó empleando sodio metálico y benzofenona como indicador, a reflujo y bajo atmósfera de nitrógeno.

Las reacciones fueron monitoreadas a través de la técnica de cromatografía en capa fina (TLC, por sus siglas en inglés), empleando como fase estacionaria gel de sílice 60 F₂₅₄ y como agentes reveladores luz ultravioleta (físico), vapores de yodo, ninhidrina y permanganato de potasio (químicos).

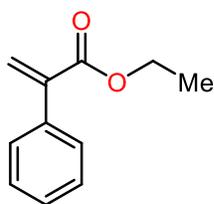
Los puntos de fusión se detectaron en un aparato Melt-temp Electrothermal en tubos capilares abiertos con temperaturas no corregidas.

Los espectros de RMN ¹H, RMN ¹³C y NOESY se obtuvieron en equipos Varían Mercury a 200 MHz (4.7 T), Varían Inova a 400 MHz (9.39 T), Bruker AVANCE III HD a 500 MHz (11.7 T) y Varían VNMR5 600 MHz (14.1 T) empleando como disolvente cloroformo deuterado (CDCl₃) con trimetilsilano como referencia interna y metanol deuterado (CD₃OD); las constantes de acoplamiento (*J*) están reportadas en Hz y para indicar la multiplicidad de las señales se utilizaron las siguientes abreviaturas: (a) ancha, (d) doble o doblete, (dd) doble de dobles, (dt) doble de triples, (t) triplete, (td) triple de dobles, (c) cuarteto y (m) multiplete. En los casos en los que no se consiguió determinar la multiplicidad de la señal se reporta el intervalo de desplazamiento químico en el que aparecen.

9.1.1 Obtención de las β -lactamas distereoisoméricamente puras derivadas del 2-fenilmalonato de dietilo (10a, 10a')

9.1.1.1 Síntesis del 2-fenilacrilato de etilo 6a

En un matraz de 100 mL provisto de agitación magnética y atmósfera de nitrógeno, se colocaron 3 g (12.7 mmol) de 2-fenilmalonato de dietilo y se adicionaron 50 mL de THF anhidro, se enfrió en un baño de hielo a 0 °C. Se adicionó 1.42 g (12.7 mmol) de t-BuOK y se mantuvo a 0 °C durante 10 min. A continuación, se adicionó 0.46 g (15.3 mmol) de paraformaldehído y se mantuvo en baño de hielo durante 20 min. El crudo de reacción se dejó reaccionar durante 3 h. La reacción fue monitoreada por TLC, observándose la desaparición parcial o total de la materia prima. Posteriormente se adicionaron 10 mL de agua destilada. La fase orgánica se extrajo con AcOEt (3X 10 mL) y se saturó la fase acuosa con NaCl, se secó sobre Na₂SO₄, la solución fue filtrada y el disolvente evaporado a presión reducida. El crudo de reacción fue purificado por columna, obteniéndose un aceite amarillo claro con un rendimiento de 52.26%, el cual fue caracterizado por RMN ¹H y RMN ¹³C.



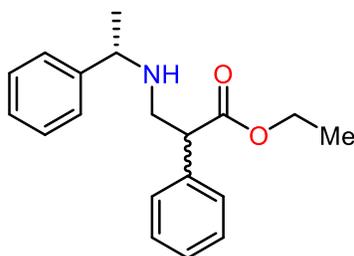
6a

RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.33 (*t*, $J = 7.1$ Hz, 3H, OCH₂CH₃), 4.29 (*q*, $J = 7.1$ Hz, 2H, OCH₂CH₃), 5.88 (*d*, $J = 1.3$ Hz, 1H, CCH_aH_b), 6.34 (*d*, $J = 1.3$ Hz, 1H, CH₂CH_aH_b), 7.24-7.52 (*m*, 5H, H-Ar).

RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 14.2 (OCH₂CH₃), 61.1 (OCH₂CH₃), 126.5 (CH₂CH_aH_b), 128.0 (C-Ar), 128.0 (C-Ar), 128.3 (C-Ar), 136.8 (CC), 141.6 (CH₂CH_aH_b), 166.8 (CO₂Et).

9.1.1.2 Síntesis de (*R,S*)-2-fenil-3-(((*S*)-1-fenietil)amino)propanoato de etilo 8a

En un matraz de 50 mL provisto de agitación magnética se colocaron 0.78 g (4.44 mmol) del compuesto α,β -insaturado 6a, seguido de la adición de 0.54 g (4.44 mmol) de la (*S*)-feniletilamina y 5% mol de DBU, la mezcla de reacción se introdujo en un baño de aceite a 60 °C, todo esto sin el uso de disolvente. Se dejó reaccionar a la mezcla durante 2 h. El crudo de reacción se sometió a cromatografía en columna, obteniéndose un aceite amarillo con un 95.5 % de rendimiento. No fue posible separar los diastereoisómeros presentes en la mezcla mediante cromatografía en columna.



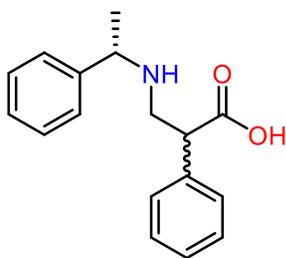
8a

RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 1.20 (*m*, 3H, OCH_2CH_3), 1.29 (*dd*, $J = 6.6, 2.5$ Hz, 3H, NHCHCH_3), 1.71 (*sa*, 1H, NHCHCH_3), 2.73 (*m*, 1H, CHCH_2NH), 3.12 (*m*, 1H, CHCH_2NH), 3.70 (*m*, 1H, CHCH_2NH), 3.77 (*m*, 1H, NHCHCH_3), 4.12 (*m*, 2H, OCH_2CH_3), 7.04-7.48 (*m*, 10H, **H-Ar**).

RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 13.9 (OCH_2CH_3), 21.0 (NHCHCH_3), 46.0 (CHCH_2NH), 50.9 (CHCH_2NH), 57.2 (NHCHCH_3), 60.7 (OCH_2CH_3), 127.3 (**C-Ar**), 127.4 (**C-Ar**), 127.5 (**C-Ar**), 128.3 (**C-Ar**), 128.7 (**C-Ar**), 137.6 (CH_2CHC), 143.5 (NHCHC), 171.8 (CO_2Et).

9.1.1.3 Síntesis del ácido (*R,S*)-2-fenil-3-(((*S*)-1-fenietil)amino)propanoico 9a

En un matraz de 250 mL se colocan 1.26 g (4.24 mmol) del éster etílico **8a**, agua y metanol como codisolvente. La mezcla de reacción se reflujo durante 25 h hasta la desaparición total de la materia prima. Se evaporó a presión reducida el disolvente hasta sequedad, no fue necesaria la purificación del producto. Se recuperó un sólido blanco con un rendimiento de 87.8 % y un punto de fusión de 179-181 °C.



9a

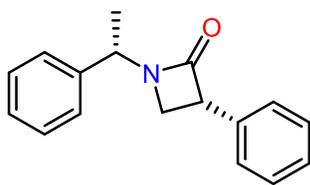
RMN ^1H (200 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 1.47(*dd*, $J = 4.7, 1.6$ Hz, 3H, NHCHCH_3), 2.75 (*m*, 1H, CHCH_2NH), 3.14 (*m*, 1H, CHCH_2NH), 3.67 (*m*, 1H, CHCH_2NH), 4.06 (*qt*, $J = 6.9, 1.4$ Hz, 1H, NHCHCH_3), 7.08-7.54 (*m*, 10H **H-Ar**).

RMN ^{13}C (50 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 22.0 (NHCHCH_3), 46.4 (CHCH_2NH), 49.4 (CHCH_2NH), 57.2 (NHCHCH_3), 128.0 (**C-Ar**), 129.3 (**C-Ar**), 130.1(**C-Ar**), 141.2 (CH_2CHC), 142.7 (NHCHC), 179.6

(**CCO**).

9.1.1.4 Síntesis de (*R*)-3-fenil-1-((*S*)-1-fenietil)azetidín-2-ona **10a** y (*S*)-3-fenil-1-((*S*)-1-fenietil)azetidín-2-ona **10a'**

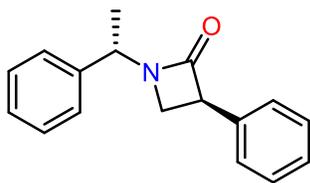
En un matraz redondo de 100 mL provisto de agitación magnética, se añadieron 0.77 g (2.87 mmol) del ácido carboxílico **9a**, seguido se agregaron 20 mL de benceno; la mezcla de reacción fue purgada con N₂. Posteriormente se añadieron 0.80 mL (5.75 mmol) de Et₃N para después adicionar 0.61 mL (4.31 mmol) de dicloruro fenilfosforilo. Se dejó reaccionar 1 h a reflujo hasta observar se agotará la materia prima. Se purificó el crudo de reacción por cromatografía en columna, se lograron aislar dos sólidos en relación 1:1 de cada lactama, con un 77.9 % de rendimiento. El diastereoisómero **10a'** se recuperó como un sólido ceroso blanco con un punto de fusión de 49-51 °C. El diastereoisómero **10a** se recuperó en forma de agujas cristalinas con un punto de fusión de 64-65 °C.

**10a**

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.66 (*d*, *J* = 1.0 Hz, 3H, NCHCH₃), 3.24 (*dd*, *J* = 5.5, 2.5 Hz, 1H, CHCH_aH_b), 3.45 (*t*, *J* = 5.5, 2.5 Hz, 1H, CHCH_aH_b), 4.25 (*dd*, *J* = 5.5, 2.5 Hz, 1H, CHCH_aH_b), 5.04 (*q* *J* = 7.1 Hz, 1H, NCHCH₃), 7.18-7.59 (*m*, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 20.7 (NCHCH₃), 48.3 (CHCH₂), 53.2 (CHCH₂), 64.8 (NCHCH₃), 126.8 (C-Ar), 127.3 (C-Ar), 127.6 (C-Ar), 127.9 (C-Ar), 137.4 (CH₂CHC), 141.5 (NCHC), 166.8 (CO₂Et).

Rotación Óptica Específica: [α]₅₈₉ = -24.75 (c 1.0, CH₂Cl₂)

**10a'**

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.65 (*d*, *J* = 1.0 Hz, 3H, NCHCH₃), 3.07 (*dd*, *J* = 5.5, 2.5 Hz, 1H, CHCH_aH_b), 3.65 (*t*, *J* = 5.5, 2.5 Hz, 1H, CHCH_aH_b), 4.29 (*dd*, *J* = 5.5, 2.5 Hz, 1H, CHCH_aH_b), 5.05 (*q* *J* = 7.1 Hz, 1H, NCHCH₃), 7.12-7.48 (*m*, 10H, H-Ar).

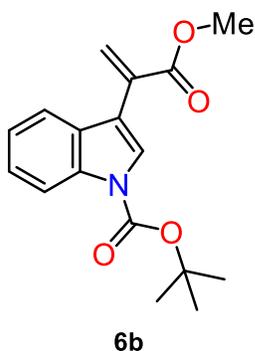
RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 20.3 (NCHCH₃), 47.1 (CHCH₂), 53.6 (CHCH₂), 65.5 (NCHCH₃), 126.7 (C-Ar), 127.6 (C-Ar), 128.3 (C-Ar), 128.4 (C-Ar), 137.9 (CH₂CHC), 141.1 (NCHC), 166.5 (CO₂Et).

Rotación Óptica Específica: [α]₅₈₉ = -128.30 (c 1.0, CH₂Cl₂)

9.1.2 Obtención de las β -lactamas distereoisoméricamente puras derivadas del ácido 3-indolacético (10b, 10b')

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

En un matraz de 100 mL provisto de agitación magnética, y atmósfera inerte se colocó 0.195 g NaH (8.05 mmol) previamente lavado con hexano y a continuación se adicionaron 20 mL de THF anhidro. La solución anterior fue sumergida en un baño a 0 °C durante 5 min para después adicionar 0.2 g de 3-(2-benciloxi-2-oxoetil)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo (0.7 mmol) y 0.18 g de paraformaldehído (6.03 mmol), respectivamente. La reacción se mantuvo a 50 °C por 1.5 h, fue monitoreada por TLC, observándose la desaparición parcial o total de la materia prima. Posteriormente, se adicionaron 10 mL de agua destilada. La fase acuosa se extrajo con AcOEt (3 X 10 mL) y se saturó la fase acuosa con NaCl, se secó sobre Na₂SO₄, la solución fue filtrada y el disolvente evaporado a presión reducida. El crudo de reacción fue purificado por columna obteniéndose un 56.45% de rendimiento como un aceite amarillo claro.



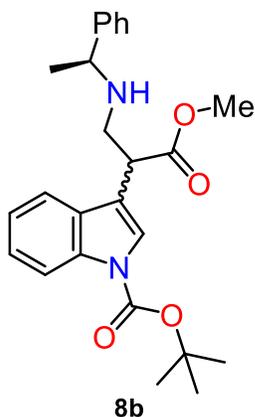
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.28 (s, 9H, OC(CH₃)₃), 3.35 (s, 3H, OCH₃), 5.85 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, CCH₂), 6.37 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, CCH₂), 7.11 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, CH-Ar), 7.22 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, CH-Ar), 7.54 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, CH-Ar), 8.08 (s, 1H, NCH), 8.46 (sa, 1H, CH-Ar).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 28.4 (OC(CH₃)₃), 31.0 (OCH₃); 52.5 (CH₂CO); 84.1 (OC(CH₃)₃), 115.6-149.4 (C-Ar), 167.0 (CH₂CO).

9.1.1.2 Síntesis del 3-((*R,S*)-1-metoxi-1-oxo-3-(((*S*)-1-feniletil)amino)propan-2-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo 8b

En un matraz de 50 mL provisto de agitación magnética se colocaron 0.12 g (0.39 mmol) del sistema α,β -insaturado **6b**, seguido de la adición de 0.49 g (0.39 mmol) de la (*S*)-feniletilamina y 5% mol de DBU, la mezcla de reacción se introdujo en un baño de aceite a 60 °C, todo esto sin el uso de disolvente. Se dejó reaccionar a la mezcla durante 3 h. El crudo de reacción se somete a cromatografía en columna, obteniéndose un aceite amarillo

con un 62 % de rendimiento. No fue posible separar los diastereoisómeros presentes en la mezcla mediante cromatografía en columna.

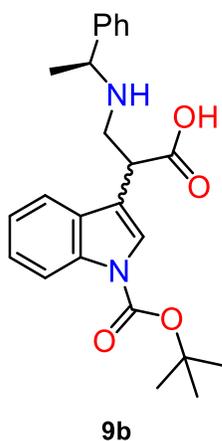


RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 1.28 (*s*, 9H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 3.35 (*s*, 3H, OCH_3), 5.85 (*d*, $J = 8.0$ Hz, 1H, CCH_2), 6.37 (*d*, $J = 8.0$ Hz, 1H, CCH_2), 7.11 (*t*, $J = 8.0$ Hz, 1H, CH-Ar), 7.22 (*t*, $J = 8.0$ Hz, 1H, CH-Ar), 7.54 (*d*, $J = 8.0$ Hz, H, CH-Ar), 8.08 (*s*, 1H, NCH), 8.46 (*sa*, 1H, CH-Ar).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 28.4 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 31.0 (OCH_3); 52.5 (CH_2CO); 84.1 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 115.6-149.4 (C-Ar), 167.0 (CH_2CO).

9.1.1.3 Síntesis del ácido (*R,S*)-2-(1-(*tert*-butoxicarbonil)-1*H*-indol-3-il)-3-(((*S*)-1-feniletíl)amino)propanóico 9b

En un matraz de 50 mL se colocaron 0.102 g (0.24 mmol) del éster etílico **8a**, agua y metanol como codisolvente. La mezcla de reacción se reflujo durante 25 h hasta la desaparición total de la materia prima. Se evaporó a presión reducida el disolvente hasta sequedad, no fue necesaria la purificación del producto. Se recuperó un sólido blanco con un rendimiento de 90.97 %.

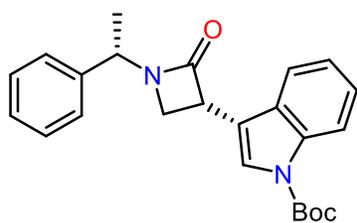


RMN ^1H (200 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 1.29 (*s*, 3H, NHCHCH_3), 1.65 (*s*, 9H, $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 3.31 (*m*, 2H, CHCH_2NH), 3.75 (*m*, 1H, CHCH_2NH), 4.03 (*m*, 1H, NHCHCH_3), 7.08-7.54 (*m*, 10H H-Ar).

RMN ^{13}C (50 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 22.7 (NHCHCH_3), 27.9 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 38.0 (CHCH_2NH), 51.8 (NHCHCH_3), 59.5 (CHCH_2NH), 128.3 (C-Ar), 129.5 (C-Ar), 129.7 (C-Ar), 141.2 (CH_2CHC), 142.2 (NHCHC), 149.8 (CH_2CHCO), 179.6 (NCO).

9.1.1.4 Síntesis de 3-((*R*)-2-oxo-1-((*S*)-1-feniletil)azetidín-3-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo **10b** y 3-((*S*)-2-oxo-1-((*S*)-1-feniletil)azetidín-3-il)-1*H*-indol-1-carboxilato de *tert*-butilo **10b'**

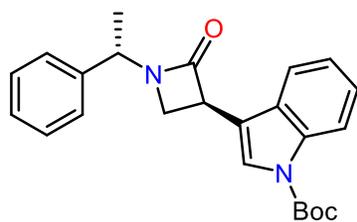
En un matraz redondo de 50 mL provisto de agitación magnética, se añadieron 0.09 g (0.21 mmol) del ácido carboxílico **9b**, seguido se agregaron 20 mL de acetonitrilo; la mezcla de reacción fue purgada con N₂. A la mezcla se le adicionaron 0.07 mL (0.54 mmol) de Et₃N y 0.061 g (0.24 mmol) del reactivo de Mukaiyama se dejó reaccionar 3 h a reflujo hasta observar se agotará la materia prima. Se purifica el crudo de reacción por cromatografía en columna, se lograron aislar dos aceites en relación 1:1 de cada lactama, con un 40 % de rendimiento.

**10b**

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.65 (*s*, 9H, OC(CH₃)₃), 1.66 (*s*, 3H, NCHCH₃), 3.34 (*dd*, *J* = 5.5, 2.5 Hz, 1H, CHCH_aH_b), 3.51 (*t*, *J* = 5.5 Hz, 1H, CHCH_aH_b), 4.42 (*ddd*, *J* = 5.5, 2.5, 0.8, 1H, CHCH_aH_b), 5.07 (*q*, *J* = 7.1 Hz, 1H, NCHCH₃), 7.18-7.59 (*m*, 10H, H-Ar).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 18.2 (NCHCH₃), 28.2 (OC(CH₃)₃), 43.9 (CHCH_aH_b), 45.3 (CHCH_aH_b), 51.6 (NCHCH₃), 115.4 (C-Ar), 118.9 (C-Ar), 122.7 (C-Ar), 123.2 (C-Ar), 124.7 (C-Ar), 135.7 (CH₂CHC), 140.2 (NHCHC), 167.1 (CH₂CHCO), 172.9 (NCO).

Rotación Óptica Específica: [α]₅₈₉ = -4.0 (c 1.0, CH₂Cl₂)

**10b'**

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 1.64 (*s*, 9H, OC(CH₃)₃), 1.69 (*s*, 3H, NCHCH₃), 3.18 (*dd*, *J* = 5.5, 2.5 Hz, 1H, CHCH_aH_b), 3.70 (*t*, *J* = 5.5 Hz, 1H, CHCH_aH_b), 4.45 (*ddd*, *J* = 5.5, 2.5, 0.8, 1H, CHCH_aH_b), 5.09 (*q*, *J* = 7.1 Hz, 1H, NCHCH₃), 7.18-7.59 (*m*, 10H, H-Ar).

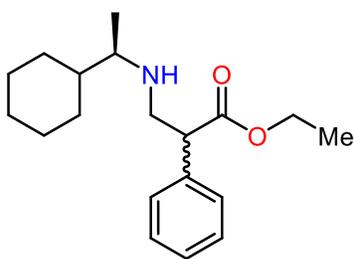
RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 18.1 (NCHCH₃), 28.2 (OC(CH₃)₃), 43.7 (CHCH_aH_b), 45.4 (CHCH_aH_b), 51.6 (NCHCH₃), 115.3 (C-Ar), 119.0 (C-Ar), 122.6 (C-Ar), 123.2 (C-Ar), 124.7 (C-Ar), 135.7 (CH₂CHC), 140.5 (NHCHC), 167.6 (CH₂CHCO), 171.9 (NCO).

Rotación Óptica Específica: [α]₅₈₉ = -13.0 (c 1.0, CH₂Cl₂)

9.1.3 Obtención de las β -lactamas diastereoisoméricamente puras usando como auxiliar quiral la (*R*)-ciclohexiletilamina (10c, 10c')

9.1.3.1 Síntesis de 3-(((*R*)-1-ciclohexiletil)amino)-(*R,S*)-2-fenilpropanoato de etilo **8c**

En un matraz de 50 mL provisto de agitación magnética se colocaron 0.2 g (1.13 mmol) del sistema α,β -insaturado **6a**, seguido de la adición de 0.16 mL (1.13 mmol) de la (*R*)-ciclohexiletilamina y 5% mol de DBU, la mezcla de reacción se introdujo en un baño de aceite a 60 °C, todo esto sin el uso de disolvente. Se dejó reaccionar a la mezcla durante 2 h. El crudo de reacción se sometió a cromatografía en columna, obteniéndose un aceite amarillo con un 69.4 % de rendimiento. No fue posible separar los diastereoisómeros presentes en la mezcla mediante cromatografía en columna.



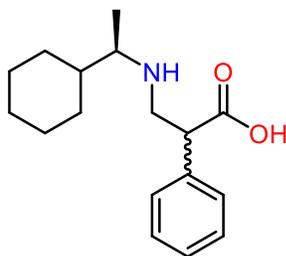
8c

RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 0.96 (*m*, 3H, OCH_2CH_3), 1.21 (*t*, $J = 7.1$ Hz, 3H, NHCHCH_3), 0.95-1.72 (*m*, 10H, NHCHCy), 2.45 (*m*, 1H, NHCHCH_3), 2.92 (*m*, 1H, CHCH_2NH), 3.30 (*m*, 1H, CHCH_2NH), 3.76 (*m*, 1H, CHCH_2NH), 4.14 (*m*, 3H, OCH_2CH_3), 7.15-7.40 (*m*, 5H, COCHC-Ar).

RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 13.0 (OCH_2CH_3), 17.1 (NHCHCH_3), 25.7 (**C-Cy**), 26.2 (**C-Cy**), 28.9 (**C-Cy**), 41.6 (**C-Cy**), 47.2 (CHCH_2NH), 51.2 (CHCH_2NH), 56.7 (NHCHCH_3), 60.7 (OCH_2CH_3), 127.6 (**C-Ar**), 127.7 (**C-Ar**), 137.6 (COCHC-Ar), 171.8 (COCHC-Ar).

9.1.3.2 Síntesis del ácido 3-(((*R*)-1-ciclohexiletil)amino)-(*R,S*)-2-fenilpropanoico **9c**

En un matraz de 100 mL se colocaron 0.202 g (0.66 mmol) del éster etílico **8c**, agua y metanol como codisolvente. La mezcla de reacción se reflujo durante 25 h hasta la desaparición total de la materia prima. Se evaporó a presión reducida el disolvente hasta sequedad, no fue necesaria la purificación del producto. Se recuperó un sólido blanco con un rendimiento de 84.5 % y un punto de fusión de 200-202 °C.

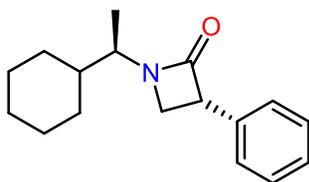
**9c**

RMN ^1H (200 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 1.24 (*m*, 3H, NHCHCH_3), 0.94-1.80 (*m*, 10H, NHCHCy), 3.08 (*m*, 1H, NHCHCH_3), 3.41 (*m*, 2H, CHCH_2NH), 7.08-7.54 (*m*, 10H **H-Ar**).

RMN ^{13}C (50 MHz, CD_3OD), δ (ppm): 17.4 (NHCHCH_3), 25.8 (**C-Cy**), 26.2 (**C-Cy**), 28.8 (**C-Cy**), 41.6 (**C-Cy**), 47.5 (CHCH_2NH), 49.2 (CHCH_2NH), 56.5 (NHCHCH_3), 128.4 (**C-Ar**), 128.7 (**C-Ar**), 137.5 (**COCHC-Ar**), 175.6 (**COCHC-Ar**).

9.1.3.3 Síntesis de (*R*)-1-((*R*)-1-ciclohexiletil)-3-fenilazetidín-2-ona 10c y (*S*)-1-((*R*)-1-ciclohexiletil)-3-fenilazetidín-2-ona 10c'

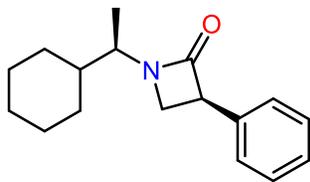
En un matraz redondo de 100 mL provisto de agitación magnética, se añadieron 0.135 g (0.49 mmol) del ácido carboxílico **9c**, seguido se agregaron 10 mL de benceno; la mezcla de reacción fue purgada con N_2 . Posteriormente se añadieron 0.13 mL (0.98 mmol) de Et_3N para después adicionar 0.10 mL (0.53 mmol) de dicloruro fenilfosforilo. Se dejó reaccionar 1 h a reflujo hasta observar se agotará la materia prima. Se purificó el crudo de reacción por cromatografía en columna, se lograron aislar dos aceites en relación 1:1 de cada β -lactama, con un 53.65 % de rendimiento.

**10c**

RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 1.22 (*d*, $J = 7.221$ Hz, 3H, NHCHCH_3), 0.94-1.80 (*m*, 10H, NHCHCy), 3.28 (*dd*, $J = 5.5, 2.5$ Hz, 1H, CHCH_aH_b), 3.52 ppm (*t*, $J = 5.5$ Hz, 1H, CHCH_aH_b), 3.64 (*q*, $J = 7.1$ Hz, 1H, NCHCH_3), 4.31 (*dd*, $J = 5.5, 2.5$ Hz, 1H), 7.08-7.54 (*m*, 10H **H-Ar**).

RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 17.5 (NHCHCH_3), 25.7 (**C-Cy**), 26.2 (**C-Cy**), 28.1 (**C-Cy**), 40.4 (**C-Cy**), 45.4 (CHCH_aH_b), 50.7 (CHCH_aH_b), 60.4 (NCHCH_3), 127.4 (**C-Ar**), 128.1 (**C-Ar**), 128.7 (**C-Ar**), 137.3 (**C-Ar**), 170.6 (**CHCON**).

Rotación Óptica Específica: $[\alpha]_{589} = -1.4$ (c 1.0, CH_2Cl_2)

**10c'**

RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 1.19 (*d*, $J = 7.221$ Hz, 3H, NHCHCH_3), 0.94-1.80 (*m*, 10H, NHCHCy), 3.18 (*t*, $J = 5.5$ Hz, 1H, CHCH_aH_b), 3.64 (*p*, $J = 7.1$ Hz, 1H, NCHCH_3), 3.69 (*dd*, $J = 5.5, 2.5$ Hz, 1H, CHCH_aH_b), 4.28 (*dd*, $J = 5.5, 2.5$ Hz, 1H), 7.08-7.54 (*m*, 10H **H-Ar**).

RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 18.1 (NHCHCH_3), 26.4 (**C-Cy**), 26.6 (**C-Cy**), 28.5 (**C-Cy**), 41.4 (**C-Cy**), 44.6 (CHCH_aH_b), 50.9 (CHCH_aH_b), 61.9 (NCHCH_3), 126.9 (**C-Ar**), 127.1 (**C-Ar**), 128.1 (**C-Ar**), 137.4 (**C-Ar**), 171.3 (CHCON).

Rotación Óptica Específica: $[\alpha]_{589} = -4.9$ (c 1.0, CH_2Cl_2)

Bibliografía

- ¹ Staudinger, H. (1908). Zur kenntniss der Ketene. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 356(1-2), 51-123.
- ² Morin, R. B. & Gorman, M. (1982). Chemistry and Biology of β -Lactam Antibiotics. *Academic Press: New York*, 1-3.
- ³ Crowfoot, D., Bunn, C. W., Rogers-Low, B. W. & Turner-Jones, A. (1949). The Chemistry of Penicillin. *Princeton University Press: Princeton, NJ*, 310-367.
- ⁴ Wilmouth, R. C., Kassamally, S., Westwood, N. J., Sheppard, R. J., Claridge, T. D., Alpin, R. T., Wright, P. A., Pritchard, G. J. & Schofield, C. J. (1999). Mechanistic Insights into the Inhibition of Serine Proteases by Monocyclic Lactams. *Biochemistry*, 38, 7989-7998. <https://doi.org/10.1021/bi990098y>
- ⁵ France, S., Weatherwax, A., Taggi, A. & Lectka, T. (2004). Advances in the Catalytic, Asymmetric Synthesis of β -Lactams. *Accounts of Chemical Research*, 37(8), 592-600. <https://doi.org/10.1021/ar030055g>
- ⁶ Sánchez-Montero, J.M. (2016). Molecular modeling methodologies in the design, synthesis and rational explanation of results. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, 82, 168-184.
- ⁷ Beck, G. (2001). Synthesis of Chiral Drug Substances. *SynLett*, 6, 837-850. <https://doi.org/10.1055/s-2002-31890>
- ⁸ Szostak, M. & Aube, J. (2013). Chemistry of Bridged Lactams and Related Heterocycles. *Chemical Reviews*, 113(8), 5701–5765. <https://doi.org/10.1021/cr4000144>
- ⁹ Oki, M. (1985). Applications of dynamic NMR spectroscopy to organic chemistry. *VCH Publishers, Inc.: Deerfield Beach, FL*.
- ¹⁰ Johnson, J. R., Clarke, H.T. & Robinson, R. (1949). *Princeton University Press: Princeton, NJ*, 1042.
- ¹¹ Hosseyni, S. & Jarrahpour, A. (2018). Recent advances in β -lactam synthesis. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 16, 6840-6852. <https://doi.org/10.1039/C8OB01833B>

- ¹² Kaur, R., Tripathi, D., Singh, K. & Singh R. (2018). Recent advances in β -lactam chemistry. *Journal of Integrated Science & Technology*, 6(2), 46-51.
- ¹³ Singh, G. S. (2005). Reactions of Organic Nitrogen Compounds with Carbenoids and Diarylketenes from Diazoalkanes and Diazocarbonyls. *Current Organic Synthesis*, 2, 377-391. <https://doi.org/10.2174/1570179054368536>
- ¹⁴ Qi, H., Yang, Z. & Xu, J. (2011). Synthesis of 3-Alkoxy/Aryloxy- β -lactams Using Diazoacetate Esters as Ketene Precursors Under Photoirradiation. *Synthesis*, 5, 723-730. 10.1055/s-0030-1259485
- ¹⁵ Kirmse, W. (2002). 100 Years of the Wolff Rearrangement. *European Journal of Organic Chemistry*, 14, 2193-2256. [https://doi.org/10.1002/1099-0690\(200207\)2002:14<2193::AID-EJOC2193>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/1099-0690(200207)2002:14<2193::AID-EJOC2193>3.0.CO;2-D)
- ¹⁶ Escalante, J., González-Tototzin, M.A., Aviña, J., Muñoz-Muñiz, O. & Juaristi, E. (2001). Synthesis of β -lactams and cyclo- β -dipeptides from β -amino acids: experimental observations and theoretical analysis. *Tetrahedron*, 57, 1883-1890. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(00\)01169-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(00)01169-8)
- ¹⁷ Pandey, G., Dumbre, S.G., Khan, M.I., Shabab, M. & Puranik, V.G. (2006). A β -lactam-azasugar hybrid as a competitive potent galactosidase inhibitor. *Tetrahedron Letters*, 47, 7923-7926. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2006.09.005>
- ¹⁸ Angelaud, R. Zhong, Y.-L., Maligres, P., Lee, J. & Askin, D. (2005). Synthesis of a β -Amino Acid Pharmacophore via a β -Lactam Intermediate. *The Journal of Organic Chemistry*, 70(5), 1949-1952. <https://doi.org/10.1021/jo048249c>
- ¹⁹ Pérez-Faginas, P., Aranda, M.T., García-López, M.T., Francesch, A., Cuevas, C. & González-Muñiz, R. (2011). Optically active 1,3,4,4-tetrasubstituted β -lactams: Synthesis and evaluation as tumor cell growth inhibitors. *European Journal of Organic Chemistry*, 46, 5108-5119. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.08.025>
- ²⁰ Blaney, J. (2012). A very short history of structure-based design: How did we get here and where do we need to go?. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 26, 13-14. <https://doi.org/10.1007/s10822-011-9518-x>
- ²¹ Mandal, S., Moudgil, M.N. & Mandal, S.K. (2009). Rational drug design. *European Journal of Pharmacology*, 625, 90-100. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.06.065>

- ²² Wilson, G.L. & Lill, M.A. (2011). Integrating structure-based and ligand-based approaches for computational drug design. *Future Medicinal Chemistry*, 3, 735–750. <https://doi.org/10.4155/fmc.11.18>
- ²³ Kahsai, A.W., Xiao, K., Rajagopal, S., Ahn, S., Shukla, A.K., Sun, J., Oas, T.G. & Lefkowitz, R.J. (2011). Multiple ligand-specific conformations of the β_2 -adrenergic receptor. *Nature Chemical Biology*, 7, 692–700. <https://doi.org/10.1038/nchembio.634>
- ²⁴ Meng, X.Y., Zhang, H.X., Mezei, M. & Cui, M. (2011) Molecular docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7, 146–157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
- ²⁵ López-Vallejo, F., Caulfield, T., Martínez-Mayorga, K., Giulianotti, M.A., Houghten, R.A., Nefzi, A. & Medina-Franco, J.L. (2011). Integrating virtual screening and combinatorial chemistry for accelerated drug discovery. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 14, 475–487. <https://doi.org/10.2174/138620711795767866>
- ²⁶ Pozzan, A. (2006). Molecular descriptors and methods for ligand based virtual high throughput screening in drug discovery. *Current Pharmaceutical Design*, 12(17), 2099–2110. <https://doi.org/10.2174/138161206777585247>
- ²⁷ Kapetanovic, I.M. (2008). Computer-aided drug discovery and development (CADD): *In silico*-chemicobiological approach. *Chemico-Biological Interactions*. 171, 165–176. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2006.12.006>
- ²⁸ Huang, S.Y. & Zou, X. (2010). Advances and challenges in protein-ligand docking. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 3016–3034. <https://doi.org/10.3390/ijms11083016>
- ²⁹ Agrafiotis, D.K., Gibbs, A.C., Zhu, F., Izrailev, S. & Martin, E. (2007). Conformational sampling of bioactive molecules: A comparative study. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 47, 1067–1086. <https://doi.org/10.1021/ci6005454>
- ³⁰ Sousa, S.F., Fernandes, P.A. & Ramos, M.J. (2006). Protein-ligand docking: Current status and future challenges. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 65, 15–26. <https://doi.org/10.1002/prot.21082>

- ³¹ Gorelik, B. & Goldblum, A. (2008). High quality binding modes in docking ligands to proteins. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 71, 1373–1386. <https://doi.org/10.1002/prot.21847>
- ³² Zsoldos, Z., Reid, D., Simon, A., Sadjad, S.B. & Johnson, A.P. (2007). eHiTS: A new fast, exhaustive flexible ligand docking system. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 26, 198–212. <https://doi.org/10.1016/j.jmglm.2006.06.002>
- ³³ Ferreira, L.G., dos Santos, R.N., Oliva, G. & Andricopulo, A.D. (2015). Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules*, 20, 13384-13421. [10.3390/molecules200713384](https://doi.org/10.3390/molecules200713384)
- ³⁴ Mohan, V., Gibbs, A.C., Cummings, M.D., Jaeger, E.P., & DesJarlais, R.L. (2005). Docking: successes and challenges. *Current Pharmaceutical Design*, 11(3), 323–333. <https://doi.org/10.2174/1381612053382106>
- ³⁵ Cornell, W.D., Cieplak, P., Bayly, C.I., Gould, I.R., Merz, J., Kenneth M., Ferguson, D.M., Spellmeyer, D.C., Fox, T., Caldwell, J.W., & Kollman, P.A. (1995). A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules. *Journal of the American Chemical Society*, 117, 5179–5197. <https://doi.org/10.1021/ja955032e>
- ³⁶ Rothstein, J. D., Patel, S., Regan, M. R., Haenggeli, C., Huang, Y. H., Bergles, D. E. & Fisher, P. B. (2005). β -Lactam antibiotics offer neuroprotection by increasing glutamate transporter expression. *Nature*, 433(7021), 73–77. <https://doi.org/10.1038/nature03180>
- ³⁷ Miller, T.M & Cleveland, D.W. (2005). Treating Neurodegenerative Diseases with Antibiotics. *Science*, 307(5708), 361–362. [doi:10.1126/science.1109027](https://doi.org/10.1126/science.1109027)
- ³⁸ Hazell, A.S., Itzhak, Y., Liu, H. & Norenberg, M.D. (1997). 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) decreases glutamate uptake in cultured astrocytes. *Journal of Neurochem*, 68, 2216-2219. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1997.68052216.x>
- ³⁹ Rowley, M., Bristow, L.J. & Huston, P.H. (2001). Current and Novel Approaches to the Drug Treatment of Schizophrenia. *Journal of Chemistry*, 44(4), 477-501. <https://doi.org/10.1021/jm0002432>
- ⁴⁰ Tamminga, C.A. & Holcomb, H.H., (2005). Phenotype of schizophrenia: a review and formulation. *Molecular Psychiatry*, 10, 27-39. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001563>

- ⁴¹ Goldstein, J.M., Tsuang, M.T. & Faraone, S.V. (1989). Gender and schizophrenia: implications for understanding the heterogeneity of the illness. *Psychiatry Research*, 28, 243-253. [https://doi.org/10.1016/0165-1781\(89\)90205-9](https://doi.org/10.1016/0165-1781(89)90205-9)
- ⁴² Faraone, S.V., Chen, W.J., Goldstein, J.M. & Tsuang, M.T. (1994). Gender Differences in Age at Onset of Schizophrenia. *The British Journal of Psychiatry*, 164, 625-629. <https://doi.org/10.1192/bjp.164.5.625>
- ⁴³ Howes, O.D. & Kapur, S. (2009). The Dopamine Hypothesis of Schizophrenia: Version III-The Final Common Pathway. *Schizophrenia Bulletin*, 35, 549-562. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbp006>
- ⁴⁴ Harrison, P.J. (2004). The hippocampus in schizophrenia: a review of the neuropathological evidence and its pathophysiological implications. *Psychopharmacology*, 174, 151-162. <https://doi.org/10.1007/s00213-003-1761-y>
- ⁴⁵ Kapur, S. & Remington, G. (1996). Serotonin-Dopamine Interaction and Its Relevance to Schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, 153(4), 466-476.
- ⁴⁶ Williams, R.B., Marchuk, A.D., Gadde, M.K., Barefoot, C.J., Grichnik, K., Helms, J.M., Kuhn, M.C., Lewis, G.J., Schanberg, M.S., Stafford-Smith, M., Suarez, C.E, Clary, L.G., Svenson, K.I. & Siegler, C.I. (2003). Serotonin-Related Gene Polymorphisms and Central Nervous System Serotonin Function. *Neuropsychopharmacology*, 28, 533-541. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300054>
- ⁴⁷ Williams, R.B. (1998). Lower Socioeconomic Status and Increased Mortality, Early Childhood Roots and the Potential for Successful Interventions. *The Journal of the American Medical Association*, 279(21), 1745-1746. [10.1001/jama.279.21.1745](https://doi.org/10.1001/jama.279.21.1745)
- ⁴⁸ Beringer, K. (1923). Experimentelle Psychosen durch Mescaline. *Zeitschrift für die Gesamte Neurologie und Psychiatrie*, 84(1), 426-433.
- ⁴⁹ Stoll, W.A. (1947). Lysergic Acid Diethylamide, a Phantastikum from the ergot Group. *Schweizer Archiv für Neurologie und Psychiatrie*, 60(1-2), 279-323.
- ⁵⁰ Rapport, M.M. (1949). Serum vasoconstrictor (serotonin): V. The presence of creatinine in the complex a proposed structure of the vasoconstrictor principle. *Journal of Biological Chemistry*, 180, 961-969. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)51208-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)51208-X)

- ⁵¹ Crow, T.J., Baker, H.F., Cross, A.J., Joseph, M.H., Lofthouse, R., Longden, A., Owen, F., Riley, G.J., Glover, V. & Killpack, W.S. (1979). Monoamine Mechanisms in Chronic Schizophrenia: Post-Mortem Neurochemical Findings. *The British Journal of Psychiatry*, 134, 249-256. <https://doi.org/10.1192/bjp.134.3.249>
- ⁵² Winblad, B., Bucht, G., Gottfries, C.G. & Roos, B.E. (1979). Monoamines and monoamine metabolites in brains from demented schizophrenics. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 60, 17-28. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.1979.tb00261.x>
- ⁵³ Ebdrup, H.B., Rasmussen, H., Arnt, J. & Glenthøj, B. (2011). Serotonin 2A receptor antagonists for treatment of schizophrenia. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 20(9), 1211-1223. <https://doi.org/10.1517/13543784.2011.601738>
- ⁵⁴ Berger, M., Gray, J.A. & Roth, B.L. (2009). The Expanded Biology of Serotonin. *Annual Review of Medicine*, 60, 355-366. [10.1146/annurev.med.60.042307.110802](https://doi.org/10.1146/annurev.med.60.042307.110802)
- ⁵⁵ Gray, J.A. & Roth, B.L. (2001). Paradoxical trafficking and regulation of 5-HT_{2A} receptors by agonists and antagonists. *Brain Research Bulletin*, 56, 441-51. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(01\)00623-2](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(01)00623-2)
- ⁵⁶ Aznar, S. & Hervig, M.E. (2016). The 5-HT_{2A} serotonin receptor in executive function: Implications for neuropsychiatric and neurodegenerative diseases. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 64, 63-82. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.02.008>
- ⁵⁷ Arora, R.C. & Meltzer, H.Y. (1991). Serotonin₂ (5-HT_{2A}) receptor binding in the frontal cortex of schizophrenic patients. *Journal of Neural Transmission*, 85, 19-29. <https://doi.org/10.1007/BF01244654>
- ⁵⁸ Dean, B. (2003). The cortical serotonin_{2A} receptor and the pathology of schizophrenia: a likely accomplice. *Journal of Neurochemistry*, 85, 1-13. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01693.x>
- ⁵⁹ Valdéz-Camacho, J.R., Rivera-Ramírez, J.D. & Escalante, J. (2018). Studies and Mechanism of Olefination Reaction in Aryl-Enolates with Paraformaldehyde. *International Journal of Organic Chemistry*, 9, 10-22.
- ⁶⁰ Chavelas, H.L. & Escalante, J. (2021). Síntesis y caracterización estructural de complejos de Cu(II) con β² aminoácidos (Avances de tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias). Universidad Autónoma de Morelos, Cuernavaca, Morelos.

- ⁶¹ Valdez-Camacho, J.R. & Escalante, J. (2013). Estudio experimental y teórico de la reacción espontánea de cicloadición tipo Diels-Alder en ésteres α,β -insaturados (Tesis para obtener el grado de Licenciado en Ciencias). Universidad Autónoma de Morelos, Cuernavaca, Morelos.
- ⁶² Valdez-Camacho, J.R.; Cortés-Guzmán, K.P.; Torrés-Gómez, H.; Flores, R.; Leyva, M.A. & Escalante, J. (2019). Kinetics, Thermodynamics, and Theoretical Studies in Diels-Alder Dimerization Process of 3-Vinylindole Derivate of the 3-Indoleacetic Acid: an Auxin. *ChemistrySelect*, 4, 8311-8316.
- ⁶³ Novichikhina, N., Ilin, I., Taschilova, A., Sulimov, A., Kutov, D., Ledenyova, I., Krysin, M., Shikhaliev, K., Gantseva, A., Gantseva, E., Podoploleva, N. & Sulimov, V. (2020). Synthesis, docking, and in vitro anticoagulant activity assay of hybrid derivatives of pyrrolo[3,2,1-ij]quinolin-2(1*H*)-one as new inhibitors of factor Xa and factor Xia. *Molecules*, 25, 1889. 10.3390/molecules25081889
- ⁶⁴ Kimura, K.T., Asada, H., Inoue, A., Kadji, F.M.N., Im, D., Mori, C., Arakawa, T., Hirata, K., Nomura, Y., Nomura, N., Aoki, J., Iwata, S. & Shimamura, T. (2019). Structures of the 5-HT_{2A} receptor in complex with the antipsychotics risperidone and zotepine. *Nature structural & molecular biology*, 26, 121-128. <https://doi.org/10.1038/s41594-018-0180-z>
- ⁶⁵ Pettersen, E.F., Goddard, T.D., Huang, C.C., Couch, G.S., Greenblatt, D.M., Meng, E.C. & Ferrin, T.E. (2004). UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25(13), 1605-1612. 10.1002/jcc.20084


INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS

Coordinación de Programas Educativos

Posgrado en Ciencias

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

Atendiendo a la solicitud para emitir DICTAMEN sobre la revisión de la TESIS titulada: **Síntesis asimétrica de pares diastereoisoméricos de β -lactamas, caracterización y modelado molecular**, que presenta la alumna **Mitzi Rodríguez Reyes (10046086)** para obtener el título de **Maestro en Ciencias**.

Nos permitimos informarle que nuestro voto es:

NOMBRE	DICTAMEN	FIRMA
Dra. Laura Patricia Alvarez Berber CIQ-UAEM	APROBADO	
Dra. María Luisa del Carmen Garduño Ramírez CIQ-UAEM	APROBADO	
Dr. David Miguel Aparicio Solano BUAP	APROBADO	
Dr. Adelfo Natalio Reyes Ramírez FES-Zaragoza-UNAM	APROBADO	
Dr. Jaime Escalante García CIQ-UAEM	APROBADO	

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209
 Tel. (777) 329 70 00, Ext. 6011 posgradoenciencias@uaem.mx
 dvs!*

Una universidad de excelencia

 RECTORÍA
 2017-2023



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 ELECTRONICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JAIME ESCALANTE GARCIA | Fecha:2023-01-02 12:26:44 | Firmante
 OLLAFAB06uHBIYKJ7IGM9Tm6FjZBlgv9ekzq9WFB4M8i83G0zzu7sK2JUQIOZAS5oillg4vNFYwzSfF2W6Uf9IC2bFNwmCKGZHZDgatPeeclVofchaXa1wT3fWjz8ewukgGvbu
 AJed5OwZXrCahmvKalZgEzAPaRBYsreo5tiFtGUTHfXhKYU0oYUAVh1i1M3WfH8ScwFVKQJlo27AvqgkBKjQuSGdD+968alaumAcrfWKYyOYVY6WYz0dlyBKb0gCurwBcW4Q
 M+0y4Or52Yzax4+9a59gxWmauiBj995DnVrJGL9yFk9LcO7vg8YZRTT7Ov4agamCjJh3pQ==

LAURA PATRICIA ALVAREZ BERBER | Fecha:2023-01-02 12:31:28 | Firmante
 Phzc8Z02eDgscXg6fuoo75hKgDC+Bo426nDCW4lub49GFBDfJviPUBTpGievwwuONcK5wc7wpMDj6W4bnOov4oifwEE1YQpmqsUnQQ93+1eUw0N5ZKWYvkg9DzLAMBonx7
 5X61OigASX0z0i/rOXEYJskbac+HlgqLKuuPizslvzOQXelruW0w4gSDTnCoVQQB8QVYWNBa2oBJDP8081/pfTjZywwWoqF/alMlsQmfAdUZuVXj3Nily+3MW915rRu9hHNeSd
 GONtsE+/kKJZvnCMrhodzVrAotnjir3r7kDYTYbXStnX6SuyJlcOzblxnEfe90W3UyPaq1t6KzW==

ADELFO NATALIO REYES RAMÍREZ | Fecha:2023-01-02 15:34:33 | Firmante
 GUIne2hr+IDpnialk5F6xcVd8PieoBimrebB++gie1NdVjdpHDLX+I8ASOCcYrKocgh6NCThclmrs8zP7GB8YWPfFAhAnAvRg3ZThdkYtK5uQHmJRFBo+e2DDw2QUu/5Wo4
 wRBX4u16iNcdKv1a5om+dZDchdZqCAZnvui236GdNlOnTNVW8B2aAutfB1ZPLDsb5VtiMzYCJVb2nkugQt26KWHCv1mwnJnpMwaluMXgz7vmyCnHolNOFKJtZxSNHs9Lx9g
 tPGOCjpkp5hzDv6klkWzEvZ1f3TW22HpokLDuHbRqG4h3QKk33JHwaTNVzHL106dJKU8/qO/FQ==

MARIA LUISA DEL CARMEN GARDUÑO RAMÍREZ | Fecha:2023-01-03 09:57:28 | Firmante
 tfrqSPQveO0IR9STIYNYO9MV3WYaBvWlkyVlXUo2aQ4ztSfMcV9bVCAb+sRutrXv/ds/gwDAPboyRiRvJ+vPifGoApyDa9p3KT4NKkqNlMfuVzo74vNj+YjPHvzRtKdu3uJLs6C
 oeg/8SuN11p8AbyPoDracr23vcHjOmGcPhRllg00kps9yx1fwrwbGGZGCPJFVL9/n4e/vd1rHS6P7BcoPcL3N6l1xgGlgvICe0Uz1Vt9ElvSSIFAwRfniNk8M7q3r9hZDE4zQO69hN4
 paF+RkYdYtd9P+O0IZH0vaJOnnicp1yUssOw7F1+1bk+y92mvaA7ZwkpMed0cw==

DAVID MIGUEL APARICIO SOLANO | Fecha:2023-01-06 12:05:08 | Firmante
 qbuUtzUZzAKQ9LabORW0sFY177wC5GB8bOSU5bPozMGcXqmU9xjCoughFwl8pxh1Jlce+qhv2tDwrXksWnYm7e1GaKXNuAac1+ryr9kjCXizIB3NVsDcoVwFechlvV889y7s3J
 K/9SxZloT/3yxxy3aKouALOMAJFqX1tmyDpbzDbj7ssAT1gCp0G9JZRICi6WLCQbEUZQ21IGhLAEezcOIHuBY3WoqCufssfRJu82nwXy1bvtYCbEYrvioAu3822DPX32JERojjVO
 KMJpjrPrMPDnCsncju1mrPrQu+56F4OwUROkBW65WZkNF8zLbuDpb5dKtSw==

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



FXjacJqK2

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/8A6rADyEjhzFiebWv90f6O3QZIVVjg>



Una universidad de excelencia

RECTORÍA
 2017-2023