



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA**



**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LABORATORIO DE SÍNTESIS ORGÁNICA
INSTITUTO DE CIENCIAS**

***“SÍNTESIS ESTEROCONTROLADA DE ANALOGOS DEL
PIDOTIMOD COMO NUEVOS INMUNOESTIMULANTES”***

**TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIATURA
EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

PRESENTA:

DAVID CORDERO HUEY

DIRECTOR DE TESIS

DR. JOEL LUIS TERÁN VÁZQUEZ

CENTRO DE QUÍMICA ICUAP

CO-DIRECTOR DE TESIS

DR. ANGEL PALILLERO CISNEROS

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Noviembre 2024



**Facultad de
Ciencias Químicas
BUAP**

Este trabajo fue realizado en el laboratorio de Química Orgánica del Centro de Química del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla bajo la dirección del Dr. Joel Terán Vázquez y al Dr. Angel Palillero Cisneros, profesores investigadores de la Facultad de Ciencias Químicas y del Centro de Química de la BUAP.

Agradecimientos al Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología (CONAHCyT, proyecto: A1-S13280) por la beca Otorgada.



CONAHCYT

CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS

Agradecimientos y Dedicatorias.

A mi madre. Gracias por tu guía, consejos, tu amor y tu apoyo incondicional. Por brindar me las oportunidades y las herramientas para poder culminar esta etapa, todo te lo debo a ti.

A mis hermanos. Gracias por su constante apoyo.

A los profesores Investigadores del *Laboratorio de Química Orgánica Básica del ICUAP*, especialmente a mis directores de Tesis el Dr. Joel Terán Vázquez y al Dr. Angel Palillero Cisneros por su apoyo, paciencia, motivación y guía, les agradezco todos los conocimientos compartidos, que han contribuido con mi formación.

A la H. Comisión Revisora por su evaluación, consejos y el tiempo dedicado para la mejora de este trabajo, integrada por los Profesores Investigadores:

Dra. Martha Sosa Rivadeneyra.

Dr. Dino Hernán Gnecco Medina.

Dr. Alan Carrasco Carballo.

Índice.

ABREVIATURA.

RESUMEN.

ÍNDICE DE COMPUESTOS.

1. INTRODUCCIÓN.

2. ANTECEDENTES.

3. OBJETIVOS.

3.1. Objetivo General

3.2. Objetivos Particulares

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

4.1. Síntesis del clorhidrato del éster metílico de la cisteína, **1**.

4.2. Formación de tiazolidinas.

4.2.1. Síntesis del (*R*)-4-metoxicarbonil)-2-feniltiazolidina-3-io, **2a**.

4.2.2. Síntesis del (*R*)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo, **2b**.

4.2.3. Síntesis del ácido (*R*)-2-feniltiazolidina-4-carboxílico, **2c**.

4.3. Reacciones de Protección.

4.3.1. Síntesis de la (*tert*-butoxicarbonilo)-L-prolina, **3a**.

4.3.2. Síntesis del éster bencílico del ácido L-piroglutamico, **6**.

4.3.3. Síntesis del 2-bencilo-1-(*tert*-butilo)(*S*)-5-oxopirrolidin-1,2-dicarboxilato, **7**.

4.3.4. Síntesis del ácido (*2S*)-1-[(*tert*-butoxi)carbonil]-5-oxopirrolidin-2-carboxílico, **3b**.

4.4. Formación de cloruro de acilo.

4.4.1. Síntesis del (*2S*)-2-(carbonocloridoil)pirrolidin-1-carboxilato de *ter*-butilo, **4a**.

4.4.2. Síntesis del (*2S*)-2-(carbonocloridoil)-5-oxopirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo, **4b**.

4.5. Reacciones de acoplamiento.

4.5.1. Síntesis del (*R*)-3-((*tert*-butoxicarbonil)-L-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo, **5a**.

4.5.2. Síntesis del ácido (*R*)-3-((*tert*-butoxicarbonil)-L-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxílico, **5b**.

4.6. Perspectivas reacción para desproteger el grupo amino del anillo de la pirrolidina.

4.6.1. Síntesis del (*R*)-3-(L-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo, **8**.

5. CONCLUSIONES.

6. PARTE EXPERIMENTAL.

6.1. Clorhidrato del éster metílico de la cisteína, **1**.

6.2. (*R*)-4-(metoxicarbonil)-2-feniltiazolidin-3-io, **2a**.

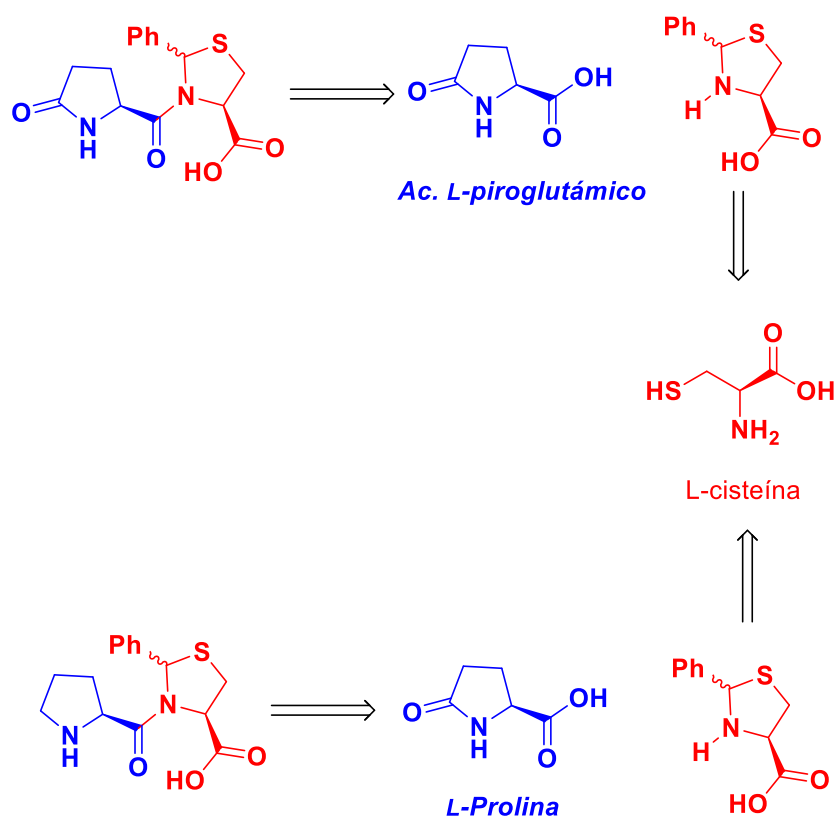
- 6.3. (*R*)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo, **2b**.
- 6.4. Ácido (*R*)-2-feniltiazolidina-4-carboxílico, **2c**.
- 6.5. (*tert*-butoxicarbonil)-L-prolina, **3a**.
- 6.6. (*S*)-5-oxopirrolidin-2-carboxilato de bencilo, **6**.
- 6.7. 2-bencilo-1-(*tert*-butilo)(*S*)-5-oxopirrolidin-1,2-dicarboxilato, **7**.
- 6.8. Ácido (2*S*)-1-[(*tert*-butoxi)carbonil]-5-oxopirrolidin-2-carboxílico, **3b**.
- 6.9. (2*S*)-2-(carbonocloridoil)pirrolidin-1-carboxilato de *ter*-butilo, **4a**.
- 6.10. (2*S*)-2-(carbonocloridoil)-5-oxopirrolidin-1-carboxilato de *ter*-butilo, **4b**.
- 6.11. (*R*)-3-((*tert*-butoxicarbonil)-L-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo, **5a**.
- 6.12. Ácido (*R*)-3-((*tert*-butoxicarbonil)-L-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxílico, **5b**.

Abreviaturas y símbolos.

δ	Desplazamiento químico
°C	Grados Celsius
(BOC) ₂ O	<i>tert</i> -butiloxicarbonil amida
AcOEt	Acetato de etilo
ATC	Ácido tricloroacético
CCF	Cromatografía en capa fina
DCC	<i>N,N</i> -diciclohexilcarbodiimide
DCM	Diclorometano
DCU	<i>N,N'</i> -diciclohexilurea
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
EDC·HCl	<i>N</i> -(3-Dimetilaminopropil)- <i>N'</i> -etilcarbodiimida
Eq	Equivalentes
Et ₃ N	Trietilamina
Fmoc-Cl	Fluorenilmetiloxicarbonil
H	Horas
HCO ₃	Bicarbonato
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
MeCN	Acetonitrilo
MHz	Megahertz
ml	mililitros
mmol	milimol
Pd/C	Paladio sobre carbón
ppm	partes por millón
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono
RMN- ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
t.a.	Temperatura ambiente
THF	Tetrahidrofurano
μl	microlitro

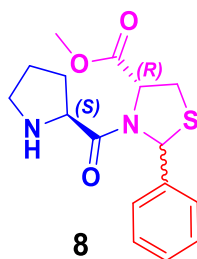
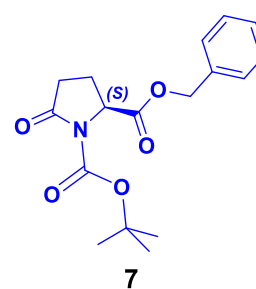
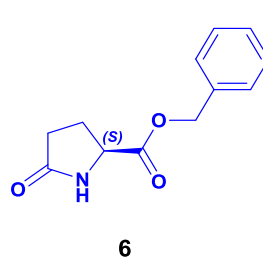
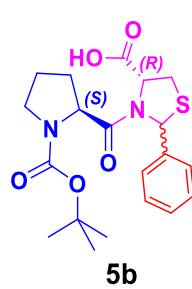
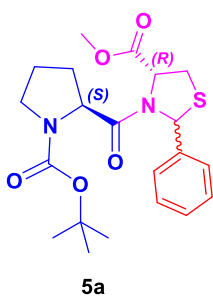
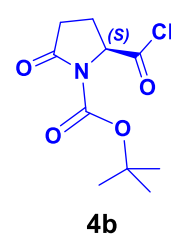
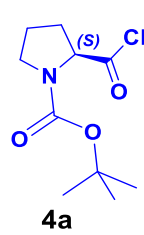
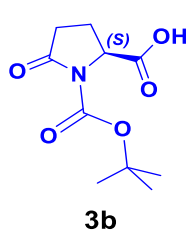
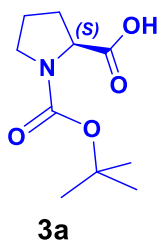
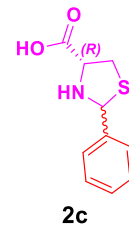
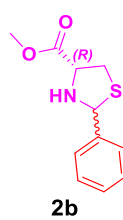
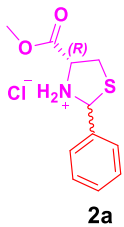
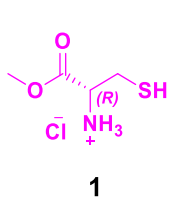
Resumen.

En el presente trabajo se desarrolló la síntesis de dos análogos del pidotimod, un fármaco peptídico sintético con actividad inmunoestimuladora, a partir de la L-cisteína. El intermediario en común fue una tiazolidina derivada de L-cisteína la cual se acopló con la L-prolina o con ácido piroglutámico. Dichos análogos fueron obtenidos en forma de una mezcla diastereomérica inseparable y su caracterización se realizó a través de espectroscopia de RMN-¹H y RMN-¹³C.



SÍNTESIS ESTEROCONTROLADA DE ANÁLOGOS DEL PIDOTIMOD COMO NUEVOS
INMUNOESTIMULANTES

Índice de compuestos sintetizados.



Introducción.

La existencia de un nuevo coronavirus conocido como SARS-CoV-2, el cual ocasiona un síndrome respiratorio agudo severo, se convirtió en una pandemia en 2020. A causa de su alta capacidad de contagio e infectado provocó que el 70-80% de las personas afectadas fueran pacientes que presentan una enfermedad leve con o sin neumonía, sin embargo, un 20-30% requerían ser hospitalizados y muchos de ellos perdieron la vida.¹ Durante la crisis sanitaria se emplearon agentes inmunomoduladores como única alternativa para controlar los síntomas graves causados por esta enfermedad.

La respuesta inmune de los pacientes es crítica para afrontar la infección por SARS-Cov-2, por consiguiente, el uso de fármacos como el pidotimod, el cual presenta propiedades inmunoestimuladoras, fue uno de los fármacos claves para poder mediar el proceso proinflamatorio de los pacientes que presentaban los síntomas más graves y que aún no contaban con la vacuna.²

El pidotimod (ácido 3-L-piroglutamil-L-tiazolidina-4 carboxílico), es un fármaco dipéptido sintético con actividad inmunoestimuladora, dicha actividad está enfocada hacia ambas respuestas inmunitarias (innata y adaptativa), influyendo en la maduración de las células dendríticas, aumentando la actividad de las células NK y aumenta los niveles de inmunoglobulinas IgA salival, promoviendo la fagocitosis entre otras respuestas³ (Figura 1).

¹ Ucciferri, C., Barone, M., Vecchiet, J., y Falasca, K. Pidotimod in Paucisymptomatic SARS-CoV2 Infected Patients. *Mediterr. J. hematol. infec. dis.*, 12(1), **2020** e2020048. <https://doi.org/10.4084/mjhid.2020.048>

² Xu, Z., Shi, L., Wang, Y., Zhang, J., Huang, L., Zhang, C., Liu, S., Zhao, P., Liu, H., Zhu, L., Tai, Y., Bai, C., Gao, T., Song, J., Xia, P., Dong, J., Zhao, J. y Wang, F. S. (2020). Hallazgos patológicos de COVID-19 asociados al síndrome de dificultad respiratoria aguda. *The Lancet Respir Med.* **2020** 8(4), 420–422. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30076-X](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30076-X)

³ Mahashur, A., Thomas, P. K., Mehta, P., Nivangune, K., Muchhala, S. y Jain, R. Pidotimod: In-depth review of current evidence. *Lung India : official organ of Indian Chest Society*, **2019** 36(5), 422–433. https://doi.org/10.4103/lungindia.lungindia_39_19

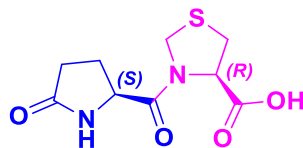


Figura 1. Estructura del pidotimod.

Su estructura consta de un anillo de pirrolidina, que es un heterociclo saturado de cinco miembros en el cual el nitrógeno forma parte de la estructura siendo una amina heterocíclica secundaria. En este sentido, el anillo de la pirrolidina está presente en diversos compuestos biológicamente activos tanto de origen natural como sintético, algunos alcaloides naturales como la nicotina y la atropina presentan un anillo de la pirrolidina. Compuestos biológicamente activos que contienen a esta unidad estructural muestran actividad en la inhibición de radicales libres, actividad antiinflamatoria, antitumoral, hepatoprotectora, entre otras.⁴ Por ejemplo, el levetiracetam el cual es usado en el tratamiento de la epilepsia⁵ (Figura 2).

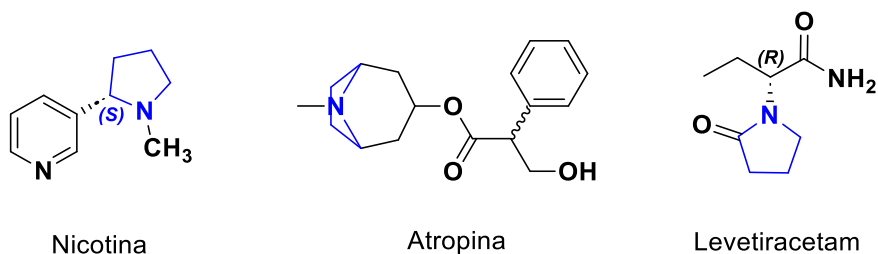


Figura 2. Fármaco con un anillo de pirrolidina en su estructura.

La otra parte de la estructura del pidotimod es un anillo de tiazolidina. Esta unidad estructural se encuentra en múltiples fármacos como la piaglitazona, que es empleado en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, aumentando la sensibilidad a la insulina,

⁴ Ram, V. J., Sethi, A., Nath, M., y Pratap, R. **2019**. *The chemistry of heterocycles: Chemistry of six to eight membered N, O, S, P and Se heterocycles*. Elsevier.

⁵ Contreras-García, IJ, Cárdenas-Rodríguez, N., Romo-Mancillas, A., Bandala, C., Zamudio, SR, Gómez-Manzo, S. y Pichardo-Macias, LA . Mecanismos de acción del levetiracetam: de moléculas a sistemas. *Productos farmacéuticos* ,**2022** 15 (4), 475.

principalmente en tejido muscular y adiposo.⁶ La Rosiglitazona, que es un hipoglucemiante oral que aumenta la sensibilidad a la insulina teniendo actividad en tejido adiposo, músculo esquelético e hígado, es empleada por su capacidad de aumentar la utilización periférica de glucosa.⁷ Otro inmunestimulante es el levamisol, que en un inicio era usado como antiemético pero actualmente se usa como un tratamiento auxiliar en pacientes con cáncer de colon en etapa C.⁸ Antibióticos como la penicilina, descubierta en 1928 por Alexander Fleming, con el cual se trató una infección ocular. Dentro de la familia de las penicilinas podemos encontrar a la nafcilina, oxacilina y dicloxacilina, las cuales son resistentes a la penicilinas. De forma general las penicilinas están constituidas por un anillo de tiazolidina que se encuentra unido a un anillo de β -lactama⁹ (Figura 3).

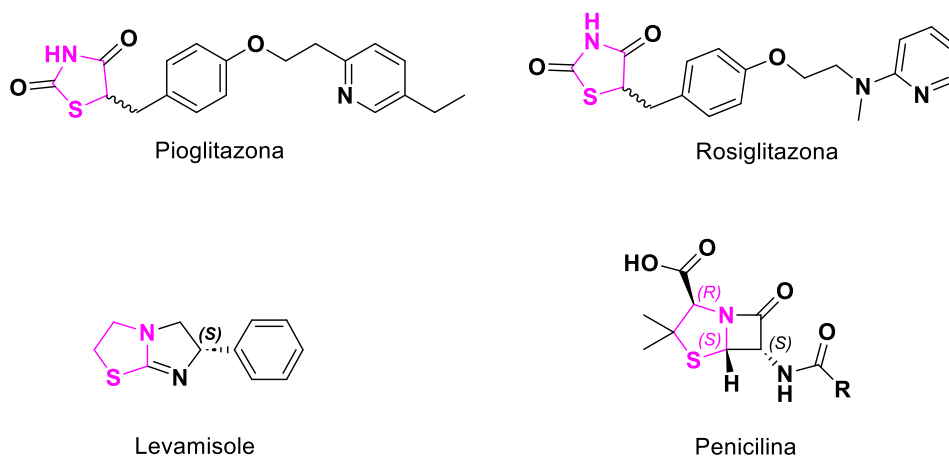


Figura 3 Fármacos con un anillo de tiazolidina en su estructura.

⁶ Masharani U Diabetes mellitus. Papadakis M.A., McPhee S.J., Rabow M.W., y McQuaid K.R.(Eds.), Diagnóstico clínico y tratamiento 2023. McGraw-Hill Education. <https://accessmedicina.bibliotecabuap.elogim.com/content.aspx?bookid=3323§ionid=279066783>

⁷ Rodríguez Carranza R(Ed.), [2015] Vademécum Académico de Medicamentos. Rosiglitazona: antidiabéticos. McGraw-Hill Education. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1552§ionid=90374918>

⁸ Hilal-Dandan R. y Brunton L.L.(Eds.), [2015] Inmunosupresores, tolerógenos e inmunestimulantes. Goodman & Gilman. Manual de farmacología y terapéutica, 2e. McGraw-Hill Education.<https://accessmedicina.bibliotecabuap.elogim.com/content.aspx?bookid=1468§ionid=93495995>

⁹ MacDougall C Fármacos que alteran la envoltura celular: antibacterianos β -lactámicos, glucopéptidos y lipopéptidos. Brunton L.L., & Knollman B.C.(Eds.), [2022] Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica, 14e. McGraw-Hill Education. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=3218§ionid=274047878>

Tomando en cuenta que el pidotimod es un compuesto peptídico constituido por un anillo de pirrolidina y uno de tiazolidina, a continuación, se presentan algunos de los antecedentes más sobresalientes sobre su síntesis.

2 Antecedentes

Los aminoácidos son moléculas bifuncionales conformadas por un grupo amino y un grupo carboxilo. La unión entre aminoácidos forma péptidos o proteínas. Esta unión es posible gracias al enlace covalente entre un grupo $-NH_2$ de un aminoácido con el grupo carbonilo de otro aminoácido conocido como enlace peptídico¹⁰ (Figura 4).

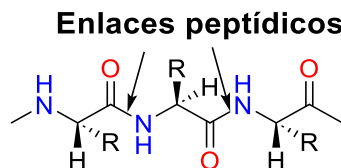


Figura 4 Enlace peptídico.

La síntesis de péptidos requiere llevar a cabo reacciones de protección y desprotección de los grupos funcionales amino y carboxilo. Los grupos carboxilos se protegen al transformarlos en ésteres alquílicos o bencílicos, mientras que los grupos amino se protegen al formar carbamatos con *ter*-butiloxicarbonil amida $(BOC)_2O$ o fluorenilmetiloxicarbonil Fmoc-Cl.¹⁰

Por otra parte, las tiazolidinas son compuestos orgánicos heterocíclicos que presentan un anillo saturado de 5 miembros ubicándose en la posición 1 un grupo tioéter y en la posición 3 un grupo amino, estos compuestos son análogos de las oxazolidinas¹¹ (Figura 5).

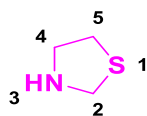


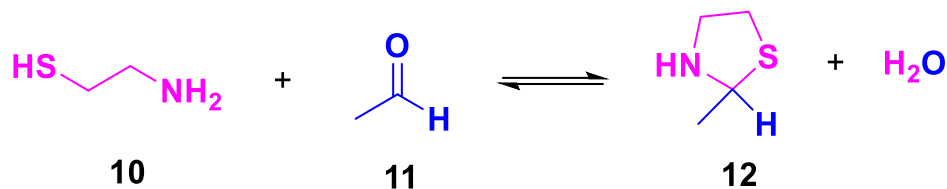
Figura 5. Estructura del anillo de tiazolidina

Normalmente, una tiazolidina **12** se prepara a través de la reacción entre un 2-aminoetanotiol **10** y un aldehído **11** o cetona, sin embargo la reacción es reversible al

¹⁰ Mac Murry, J. E. (2018). Biomoléculas: Aminoácidos, Péptidos y Proteínas (9ª ed.) Química orgánica (pp.888-890). Cengage Learning.

¹¹ Pandey, Y., Singh, A., Sharma, P. K. y Kumar, N. Biological activities of thiazolidine-a review. Journal of Current Pharma Research, (2011). 1(2), 192-196.

presentarse una hidrólisis en solución acuosa, es por ello que requiere eliminar el agua que se genera durante dicha reacción¹¹(Esquema 1).



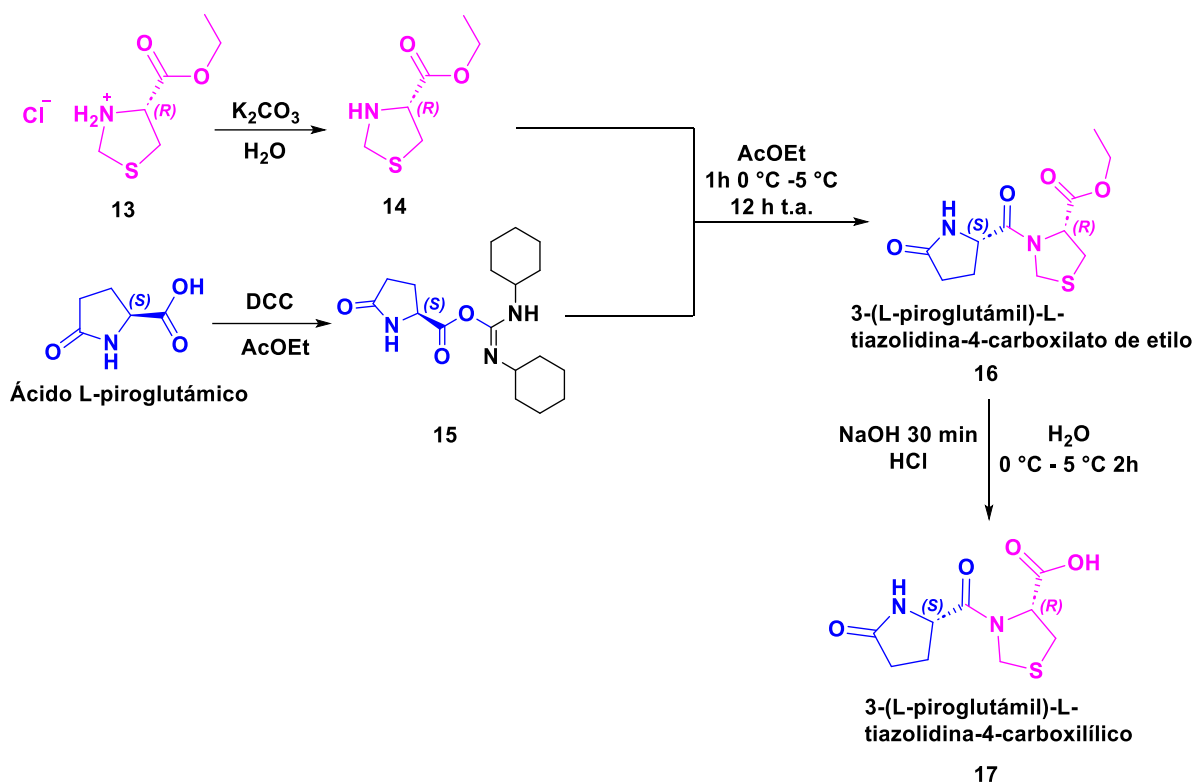
Esquema 1. Equilibrio de reacción entre aminoetanotiol y un aldehído.

En este sentido, Polis S. & Corona L.¹² en una patente de 1990 reportaron una estrategia sintética para la obtención de derivados del ácido 3-(L-piroglutamil)-L-tiazolidina-4-carboxílico, empleando metodologías que eliminan el uso de sustancias tóxicas tales como: halofenoles. Sin embargo, la desventaja de esta estrategia son los bajos rendimientos reportados.

En la primera metodología reportada, primero neutralizaron el clorhidrato de L-tiazolidina-4-carboxilato de etilo en una solución acuosa de carbonato de potasio y realizaron extracciones. Posteriormente, a una solución del aminoéster libre, le adicionaron dicitclohexilcarbodiimida, ácido L-piroglutámico y la mezcla resultante la mantuvieron en agitación por una hora a una temperatura de 0 - 5 °C. La mezcla resultante, la dejaron en agitación a temperatura ambiente por 12 horas y posteriormente filtraron la dicitclohexilurea, y el filtrado lo evaporan a vacío obteniendo un residuo aceitoso.¹²

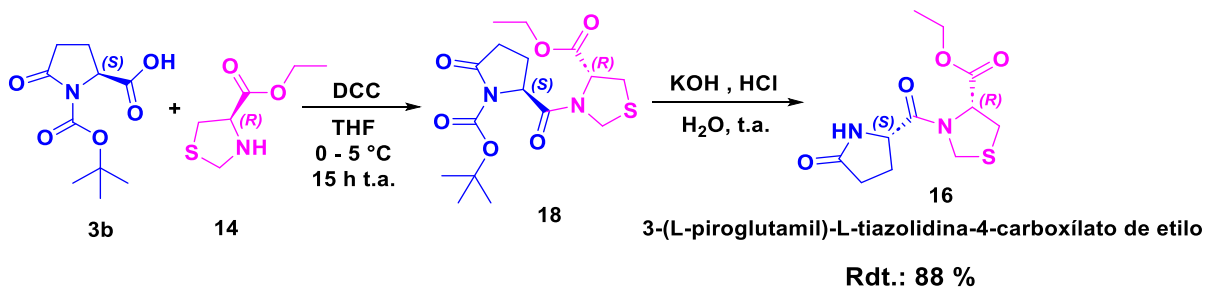
Finalmente, al L-tiazolidin-4-carboxilato lo disolvieron en agua, y le añadieron una solución de hidróxido de sodio que dejaron en agitación por 3 horas. Posteriormente, llevaron a cabo la reacción de acidificación con ácido clorhídrico concentrado de 0 – 5 °C, por un tiempo de reacción de 2 horas. Finalizaron la reacción y evaporaron el disolvente para obtener el ácido 3-(L-piroglutamil)-L-tiazolidina-4-carboxílico¹² (Esquema 2).

¹² Poli, S. y Corona, L. D. Process for the preparation of 3-(lpyroglutamyl)-l-thiazolidine-4-carboxylic acid derivatives (Patent No. US5110936A). 1992. <https://patents.google.com/patent/US5110936A/en>



Esquema 2. Metodología 1 para el proceso de preparación de derivados del ácido 3-(L-pirolutamil)-L-tiazolidina-4-carboxilico.

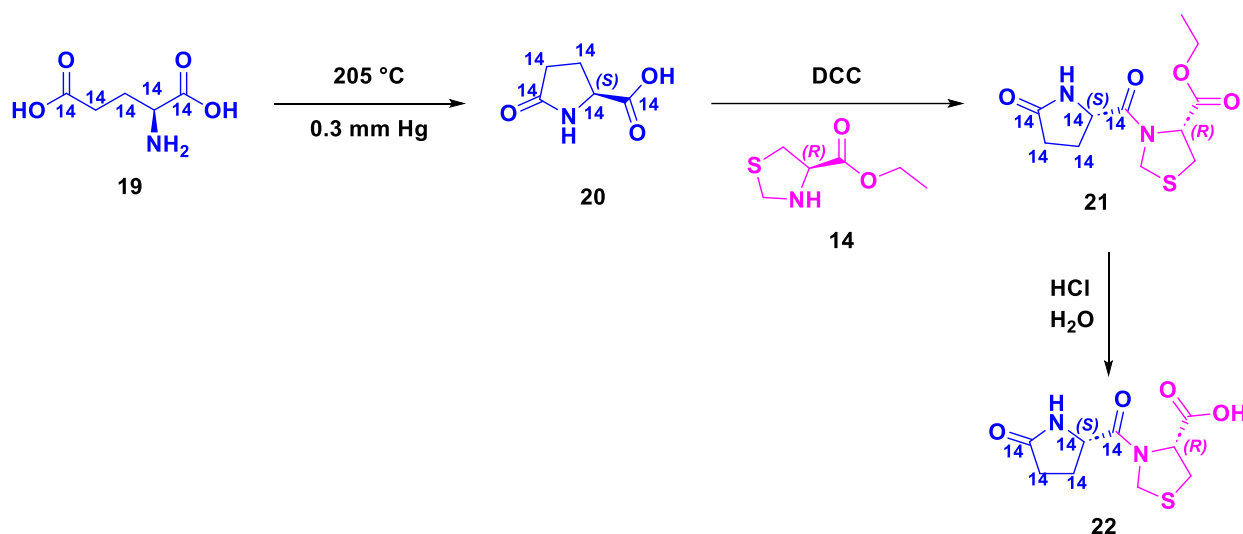
En la segunda metodología el ácido L-pirolutámico *N*-Boc **3b**, protegido lo hicieron reaccionar con el etil-L-tiazolidin-4-carboxilato **14** en una solución de THF que contenía *N,N*-diclohexilcarbodiimida (DCC). La mezcla resultante la mantuvieron en agitación a una temperatura de $0 - 5\text{ }^\circ\text{C}$ por un período de 15 h. Posteriormente, la diciclohexilurea fue filtrada y al filtrado **19** lo trataron con soluciones de KOH y HCl. Después de 2 h de agitación el producto deseado precipitó. Finalmente, su rendimiento experimental fue de 88%¹² (Esquema 3).



Esquema 3. Metodología 2 para el proceso de preparación de derivados del ácido 3-(L-pirolutamil)-L-tiazolidina-4-carboxilato de etilo **17**

En 1992 Ferraboschi y colaboradores publicaron una estrategia para la síntesis del Pidotimod. La síntesis del fármaco la llevaron a cabo marcando con los isótopos ^{14}C y ^{35}S , partiendo del L-[U- ^{14}C] ácido glutámico y del L-[^{35}S]-clorhidrato de cisteína.¹³

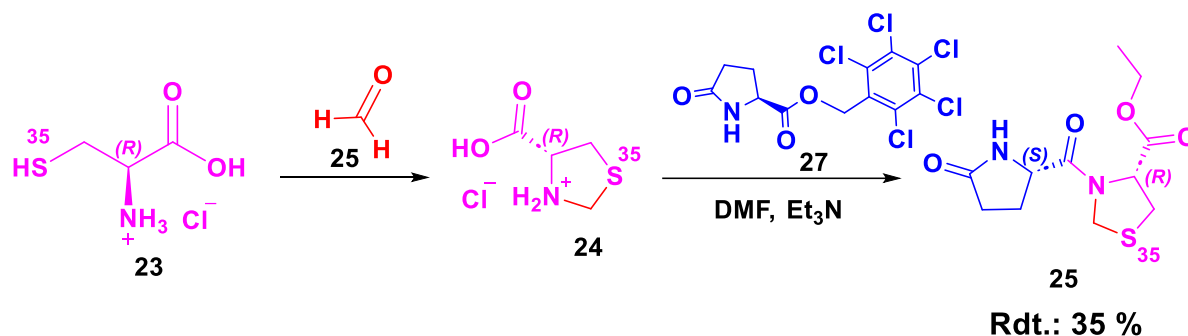
La síntesis la llevaron a cabo por dos métodos. En el primer método, el ácido marcado isotópicamente L-[U- ^{14}C] glutámico lo trataron con un exceso de (DCC), y la correspondiente tiazolidina derivada de la cisteína. La mezcla resultante la trataron con una solución ácida para acceder al compuesto deseado en un rendimiento menor al 10%, lo que dejó en evidencia que este no es un buen método sintético¹³ (Esquema 4).



Esquema 4. Síntesis del pidotimod empleando como marcador el isótopo ^{14}C .

En el segundo método emplearon el clorhidrato de L-[^{35}S]-cisteína que fue condensado con el formaldehído para acceder al ácido L-[^{35}S]-tiazolidina-4-carboxílico. Luego, llevaron a cabo la condensación con piroglutamato de pentaclorofenilo, adicionando trietilamina (Et₃N) y DMF como disolvente, reportaron un rendimiento del 35 % del compuesto deseado¹³ (Esquema 5).

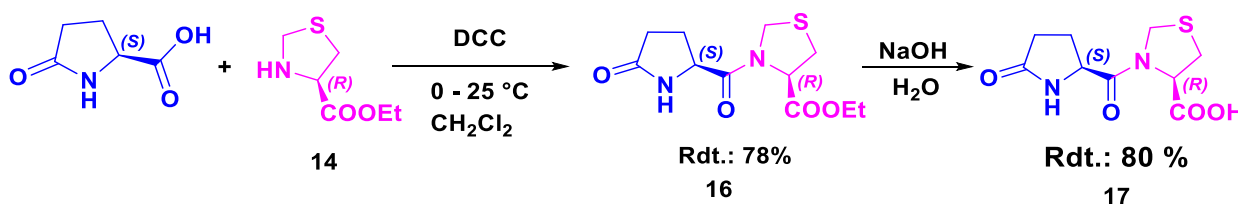
¹³ Ferraboschi, P., Grisenti, P., Santaniello, E., Giachetti, C., Zanolo, G., Signorelli, G., y Coppi, G. Synthesis of the new immunostimulating agent pidotimod (3-L-pyroglutamyl-L-thiazolidine-4-carboxylic acid) labelled with ^{14}C - and ^{35}S -isotopes. *J Label Compd Radiopharm*, **1992** 31(12), 973-980. <https://doi.org/10.1002/jlcr.2580311203>



Esquema 5. Síntesis del pidotimod empleando como marcador el isótopo ^{35}S .

En 1995 Magni, A. y colaboradores¹⁴ reportaron la síntesis del pidotimod a través de dos metodologías:

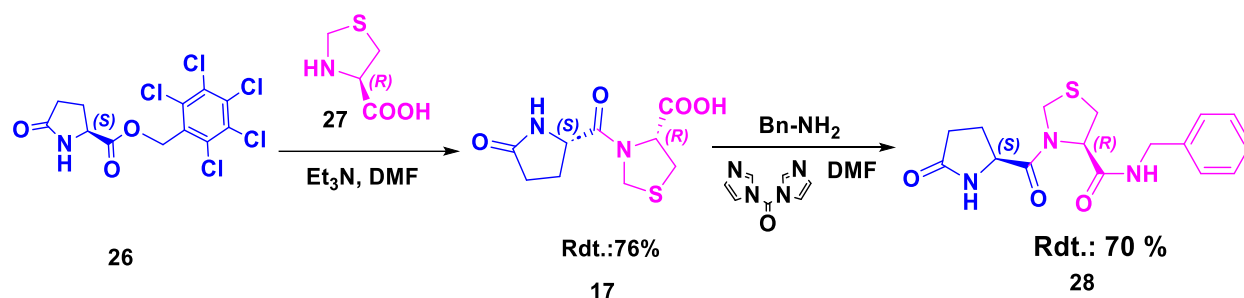
- En la primera metodología el ácido L-pirolglutámico y la tiazolidina los acoplaron empleando DCC, obteniendo el compuesto deseado III en un rendimiento del 78%. Posteriormente, una hidrólisis les permitió acceder al ácido carboxílico IV en un rendimiento del 80%¹⁴(Esquema 6).



Esquema 6. Síntesis del pidotimod empleando DCC en diclorometano como disolvente.

- La segunda ruta requirió de la activación del ácido L-pirolglutámico hacia el pirolglutamato de pentaclorofenilo. En este caso, el acoplamiento lo llevaron a cabo emplearon Et_3N y DMF. Luego de eliminar el grupo carboxilo obtuvieron el compuesto VIII en un rendimiento del 70%¹⁴ (Esquema 7).

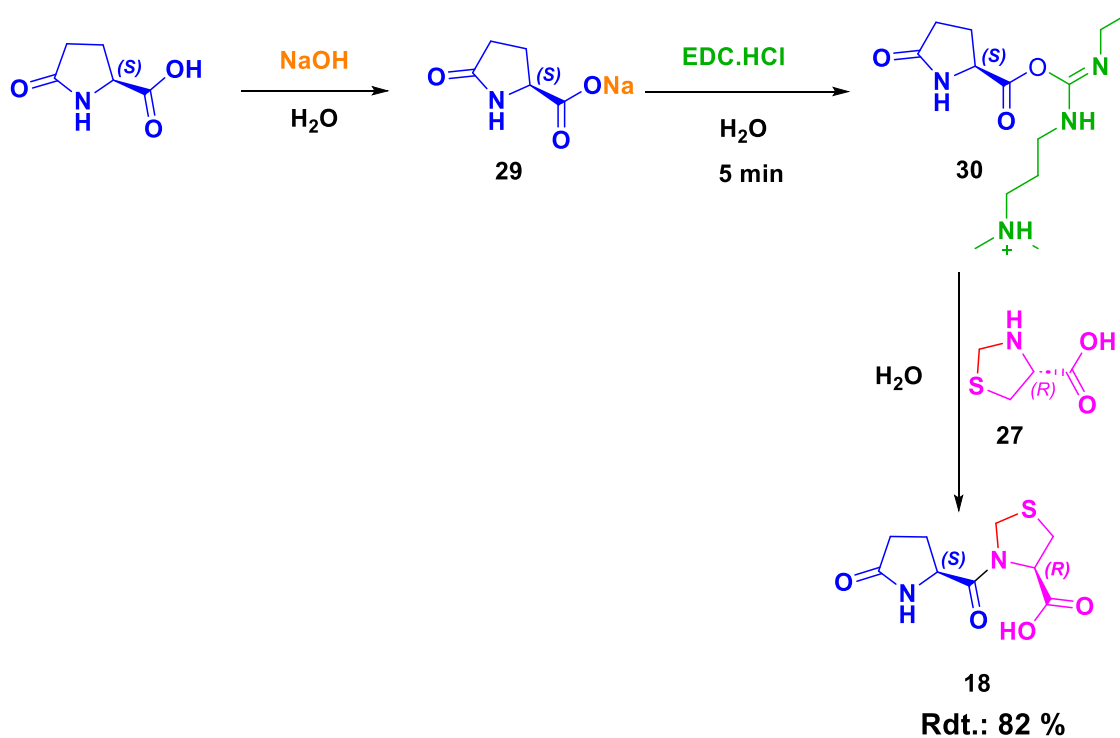
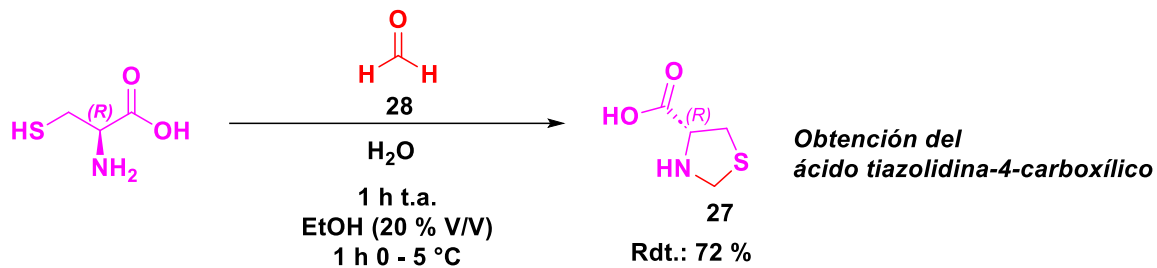
¹⁴ Magni, A., Signorelli, G. y Bocchiola, G. ChemInform Abstract: Synthesis and Preliminary Pharmacological Evaluation of Pidotimod, Its Enantiomer, Diastereomers and Carboxamido Derivatives. *ChemInform*, 1995, 26(24), <https://doi.org/10.1002/chin.199524213>



Esquema 7. Síntesis del pidotimod empleando Et₃N y DMF.

En enero de 2024 Tung y colaboradores reportaron una nueva metodología para la síntesis del pidotimod enfocada en la química verde y como una reacción one-pot. El método elimina la etapa de esterificación del ácido carboxílico, disminuyendo en dos pasos las síntesis previamente reportadas. La metodología parte de la L-cisteína, y una solución acuosa de formadehído al 37%. La mezcla de reacción la agitaron a temperatura ambiente por 1 h. Posteriormente, adicionaron EtOH (20 % V/V), y la mezcla la agitaron a temperatura de 0 – 5 °C por 1 h hasta la formación de un precipitado blanco. Obtuvieron el ácido tiazolidina-4-carboxílico en un rendimiento del 72%¹⁵ Por otra parte, al ácido L-pirolglutámico lo trataron con hidróxido de sodio en agua y le adicionaron EDC·HCl en agitación por 5 min. Agregaron el ácido tiazolidina-4-carboxílico y la reacción la siguieron por CCF. Finalmente, obtuvieron el pidotimod por cristalización agregándole a la mezcla de reacción 10% V/V de MeCN¹⁶ (Esquema 8).

¹⁵ Tung, T.-T., Yen, N. T. H., Phuong, P. B., et al. One-pot green synthesis of pidotimod in water. *Chem. Pap.* **2024** 78, 3381–3387. <https://doi.org/10.1007/s11696-023-03278-1>



Esquema 8 Tratamiento del ácido L-pirolglutámico y formación del pidotimod.

De acuerdo con los antecedentes antes mencionados se plantean los siguientes objetivos en este proyecto de tesis.

3 Objetivos.

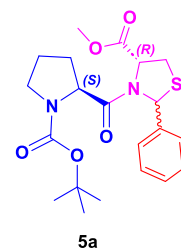
3.1 Objetivo General.

Aprender a utilizar correctamente el método científico, los diversos métodos de separación y purificación de mezclas, así como utilizar los métodos espectroscópicos como herramientas en la caracterización estructural.

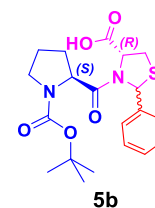
Desarrollar una metodología para la obtención de análogos del pidotimod, a partir de la L-cisteína.

3.2 Objetivos Particulares.

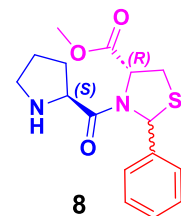
- ❖ Realizar la síntesis del (*R*)-3-((*tert*-butoxicarbonil)-L-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo, **5a**.



- ❖ Realizar la síntesis del ácido (*R*)-3-((*tert*-butoxicarbonil)-L-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxílico, **5b**.



- ❖ Realizar la síntesis del (*R*)-3-(L-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo, **8**.



- ❖ Determinar por diversos métodos espectroscópicos la estructura de los compuestos sintetizados.

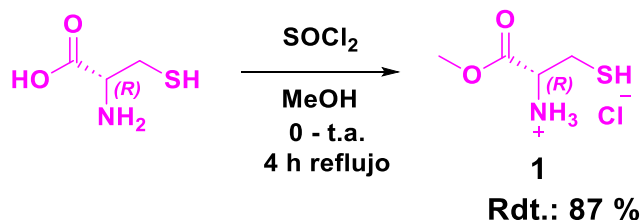
4 Discusión de Resultados

En este capítulo se presentan y se discuten los resultados obtenidos en cada etapa de reacción para la síntesis de los análogos de PIDOTIMOD.

4.1 Síntesis del clorhidrato del éster metílico de la cisteína 1.

En la primera etapa, el clorhidrato del éster metílico de L-cisteína, fue preparado mediante una reacción de esterificación a partir de la L-cisteína. Dicho proceso consiste en la conversión de un ácido carboxílico en un éster, que requiere el uso de un alcohol.

Las condiciones empleadas para esta reacción fueron las reportadas por Guduru.¹⁶ A una solución metanólica de L-cisteína en agitación vigorosa y a temperatura ambiente se adicionó lentamente SOCl_2 . La mezcla resultante se calentó a temperatura de reflujo hasta la comprobación del consumo total de las materias primas por cromatografía en placa fina. Finalmente, el disolvente fue eliminado por destilación y el residuo se secó al vacío para obtener un sólido blanco que fue analizado por RMN, con un rendimiento del 87% (Esquema 9).

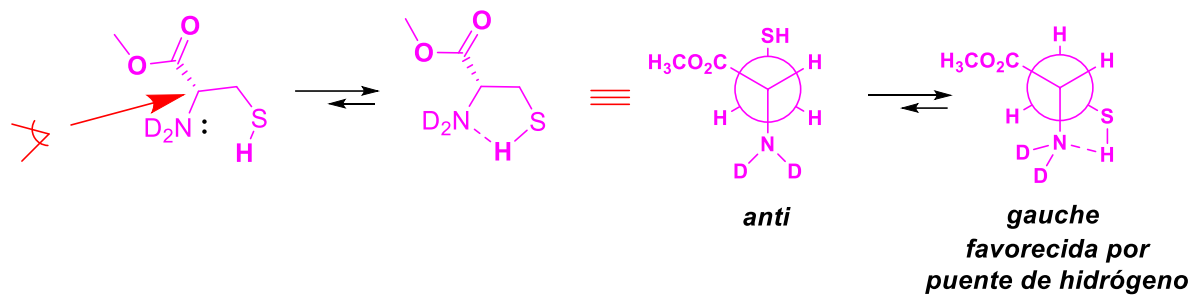


Esquema 9 Formación del clorhidrato del éster metílico de la cisteína **1**.

En el espectro de RMN^{-1}H que corrido en CD_3OD podemos destacar que todas las señales para el compuesto **1** se encuentran duplicadas en diferente proporción debido a que en solución este aminoéster presenta un equilibrio dinámico de diferente energía lo que explicaría este comportamiento. Es posible, que uno de estos rotámeros presente

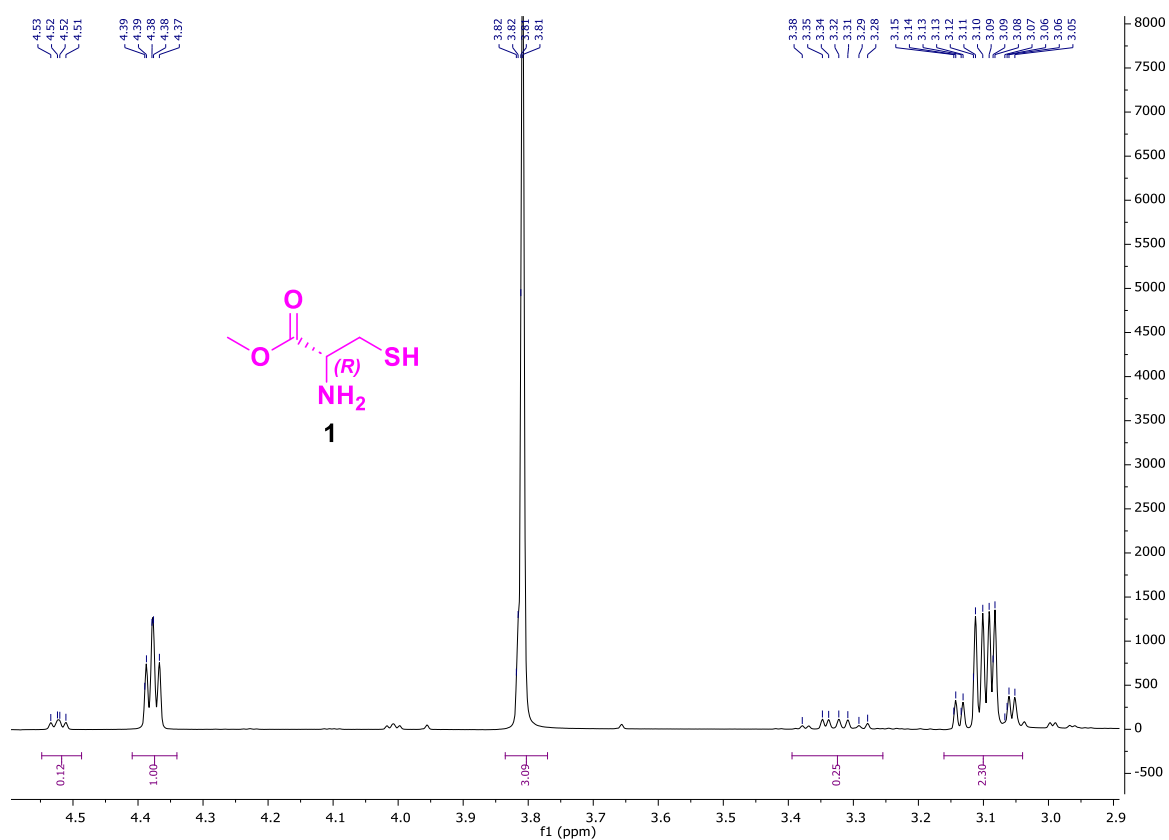
¹⁶ Guduru, V., Hurh, E., Dalton, J. T. y Miller, D. D. Discovery of 2-Arylthiazolidine-4-carboxylic Acid Amides as a New Class of Cytotoxic Agents for Prostate Cancer. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 7, 2584–2588. <https://doi.org/10.1021/jm049208b>

un puente de hidrógeno entre el grupo amino y el protón del grupo sulfhidrilo lo que impide la libre rotación del enlace carbono—carbono (Esquema 10).



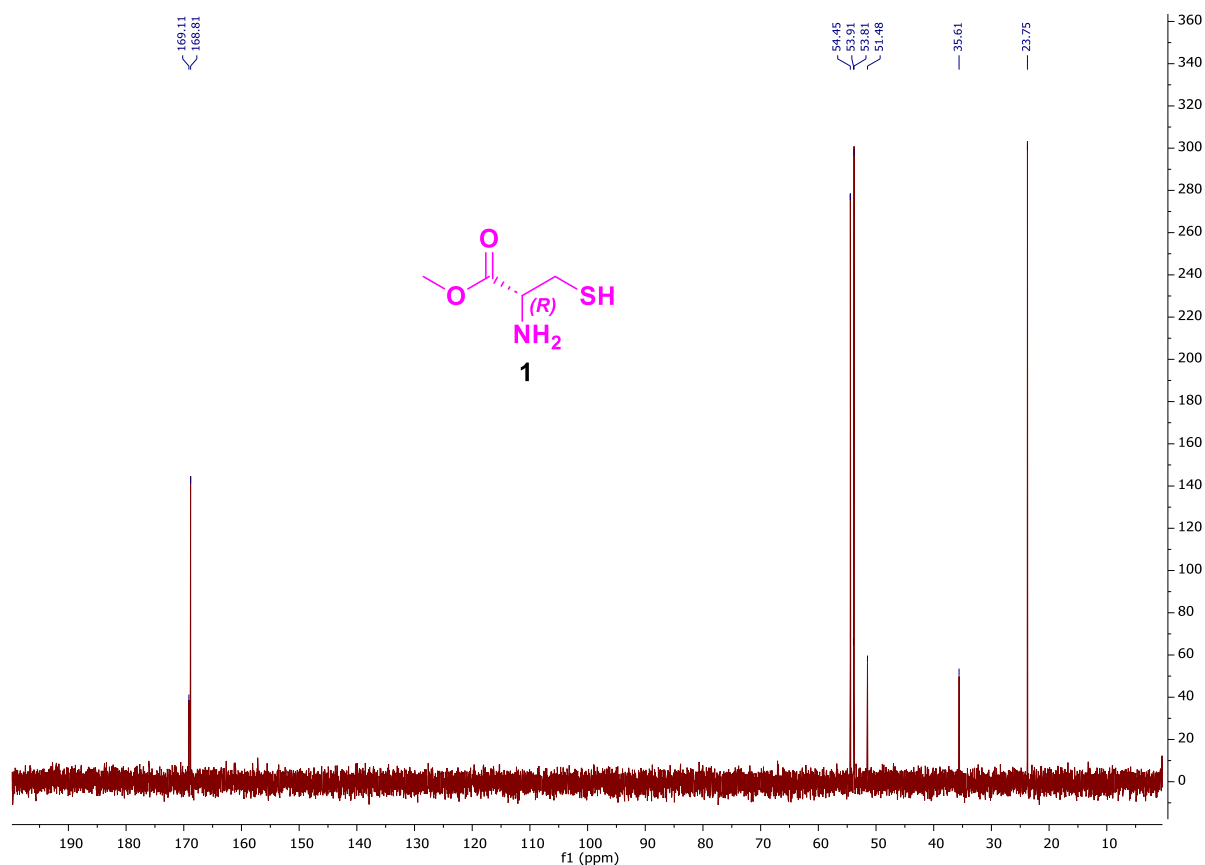
Esquema 10. Equilibrio dinámico en solución del cisteinato de metilo.

Por ello, en 4.53 ppm y 4.38 ppm se observa una señal doble de dobles y una señal que colapsa para formar una triple, ambas pertenecen a un hidrógeno del C-H unido directamente con la amina y que se acopla con los hidrógenos del C-H unido directamente con el azufre. Destacan también, dos señales dobles de dobles en 3.99 ppm y 3.80 ppm asignadas a los hidrógenos del metilo del éster. Finalmente, en 3.33 ppm se observa una señal múltiple y en 3.10 ppm un doble de dobles asignadas a los dos hidrógenos del metileno que está unido directamente con azufre (Espectro 1).



Espectro 1. RMN-¹H (500 MHz, CD₃OD) del compuesto 1.

Al igual que en espectro de RMN-¹H, en el espectro de RMN-¹³C, todas las señales están duplicadas, esto confirma la presencia de un equilibrio dinámico en solución para el cisteinato de metilo **1**. Destacan, dos señales en 169.1 y 168.8 ppm asignadas al carbono de carbonilo del éster, en 54.4 y 53.9 ppm las señales asignadas al carbono unido al grupo amino y en 53.8 y 51.4 ppm el carbono del metilo del éster. Finalmente, dos señales en 35.6 y 23.7 ppm asignadas el carbono que está unido al azufre (Espectro 2).

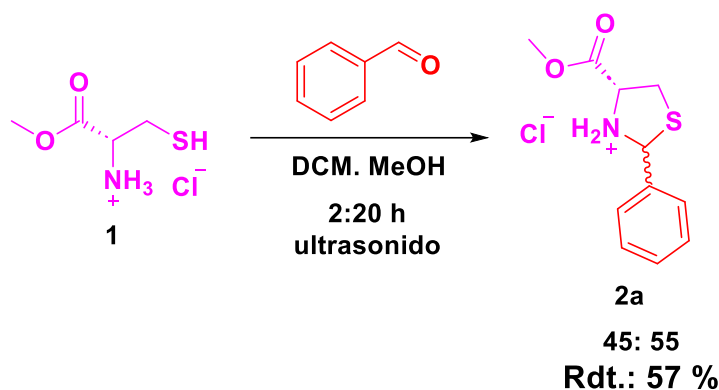


Espectro 2. RMN-¹³C (125 MHz, CD₃OD) del compuesto **1**.

4.2 Formación de la tiazolidina derivada de la L-cisteína y el benzaldehído.

4.2.1 Síntesis del (*R*)-4-metoxicarbonil-2-feniltiazolidina-3-io, **2a**.

En un primer experimento, la formación de la tiazolidina a partir del clorhidrato del cisteinato de metilo **1** y benzaldehído se llevó a cabo de acuerdo con la siguiente metodología. Se preparó una mezcla del cisteinato de metilo **1** con benzaldehído disueltos en diclorometano:metanol (V/V, 1/1). La mezcla resultante se colocó en un baño ultrasónico por espacio de 2 h, tiempo en el cual se confirmó el consumo de las materias primas por cromatografía en capa fina. La mezcla diastereomérica de tiazolidinas se obtuvo en una conversión del 57 % y en una relación diastereomérica de 45:55 y que fue determinada a partir del espectro de RMN-¹H del crudo de la reacción (Esquema 11).

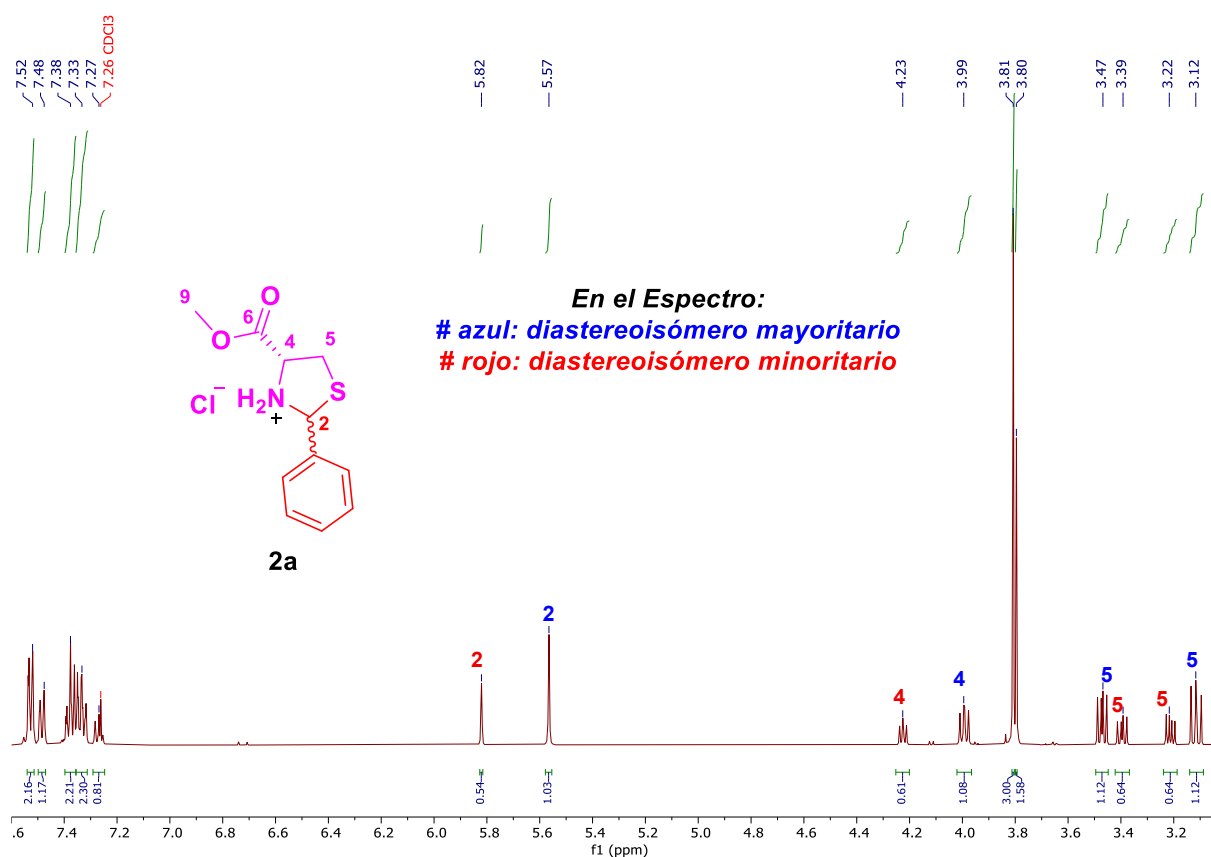


Esquema 11. Síntesis del (*R*)-4-metoxicarbonil)-2-feniltiazolidina-3-io **2a**.

En el espectro de RMN-¹H las señales que nos indican la formación de la tiazolidina y que corresponderían al diastereoisómero mayoritario son las siguientes: una señal simple que aparece en 5.57 ppm asignada al hidrógeno tiominal y que integra para un hidrógeno. La señal simple en 3.81 ppm asignada a los hidrógenos del OMe y que integra para 3 hidrógenos. El hidrógeno 4 aparece como una señal doble de doble en 3.99 ppm con una $J = 7$ Hz que integra para un hidrógeno. Para los hidrógenos diastereotópicos 5, un hidrógeno se ubica en 3.12 ppm que aparece como una señal doble de doble con una $J = 9$ Hz el cual integra para un hidrógeno, el otro hidrogeno H-5 aparece en 3.47 ppm como una señal doble de doble con una $J = 7$ Hz que integra

para un hidrógeno. El resto de las señales corresponden con la estructura propuesta (Espectro 3).

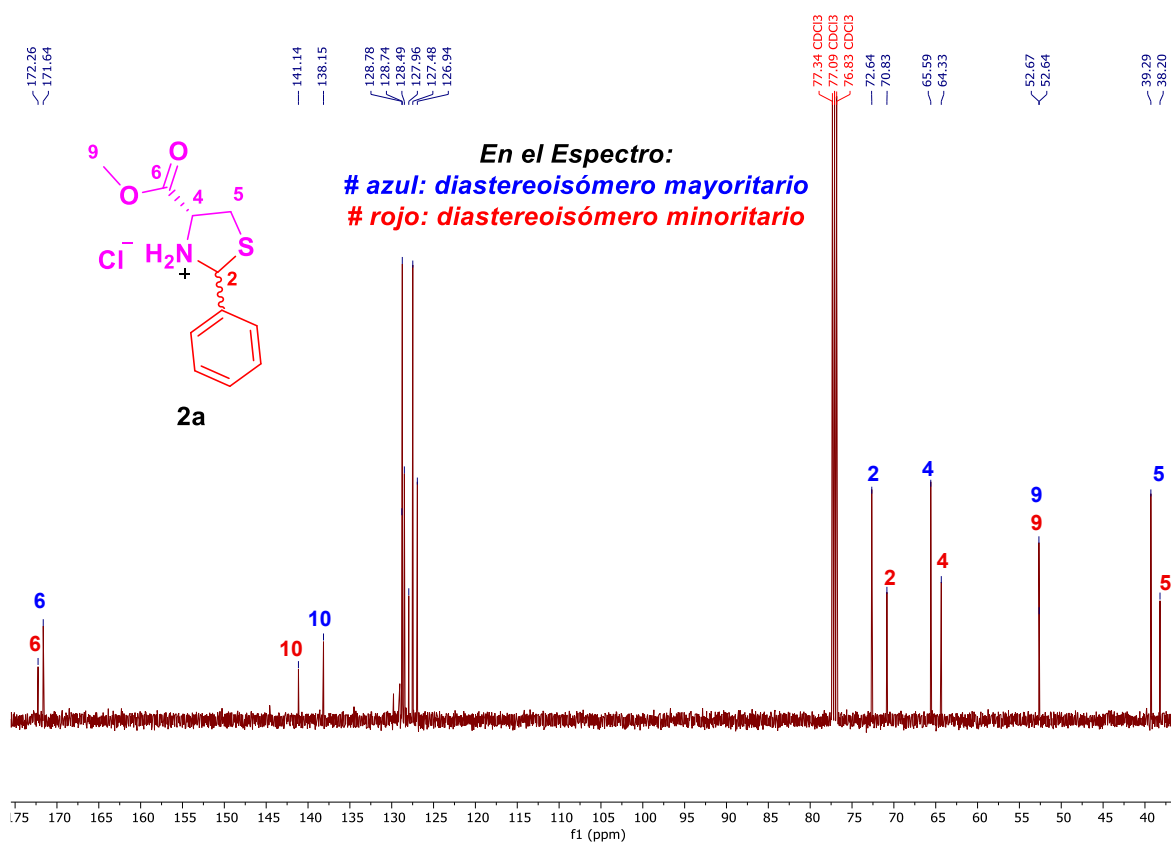
En tanto que, las señales asignadas al diastereoisómero minoritario son las siguientes: En 5.82 ppm una señal simple que integra para un hidrógeno el cual fue asignado al hidrógeno tioaminal. Una señal simple en 3.8 ppm asignada a los hidrógenos del OMe. El hidrógeno 4 se observa en 4.23 ppm como una señal doble de doble con una $J = 6$ Hz la cual integra para un hidrógeno. Uno de los hidrógenos diastereotópicos H-5 aparece en 3.22 ppm como una señal doble de doble con una $J = 5.8$ Hz integrando para un hidrógeno. el otro hidrógeno H-5 se observa en 3.39 ppm como una señal doble de doble con una $J = 7$ Hz que integra para un hidrógeno. El resto de las señales corresponde con la estructura propuesta (Espectro 3).



Espectro 3. RMN-¹H (500 MHz CDCl₃) (*R*)-4-(metoxicarbonil)-2-feniltiazolidin-3-io **2a**.

En el espectro de RMN-¹³C las señales asignadas al diastereoisómero mayoritario son: una señal en 72.6 ppm asignada al carbono tioaminal, el carbono 5 se observa en 39.2 ppm, el carbono 9 que corresponde al OMe se observa en 52.6 ppm, el carbono 4 se observa en 65.5 ppm. El resto de las señales corresponden con la estructura propuesta (Espectro 4).

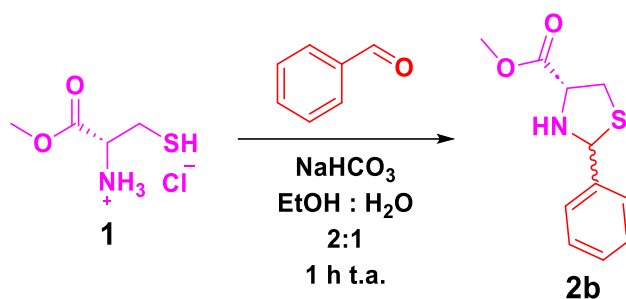
En el espectro de RMN-¹³C las señales asignadas al diastereoisómero minoritario son las siguientes: Una señal en 70.8 ppm asignada al carbono tioaminal, el carbono 5 se observa en 38.2 ppm, el carbono 9 corresponde al OMe y se observa en 52.6 ppm, el carbono 4 se observa en 64.3 ppm. El resto de las señales corresponden con la estructura propuesta (Espectro 4).



Espectro 4. RMN-¹³C (125 MHz CDCl₃) (R)-4-(metoxicarbonil)-2-feniltiazolidin-3-io **2a**.

4.2.2 Síntesis del (*R*)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo **2b**.

Con el fin de aumentar el rendimiento obtenido en el primer experimento, decidimos probar otras condiciones de reacción. En este caso, la reacción se llevó a cabo en condiciones básicas, empleando como base NaHCO₃, en un sistema EtOH:H₂O 2:1 (V/V), y un tiempo de reacción de 1 h en donde se comprobó por CCF el consumo total de las materias primas. Esta reacción no se pudo purificar ya que cuando este crudo de reacción se pasó por columna cromatográfica la tiazolidina se hidrolizó y se recuperaron los materiales de partida, en consecuencia, solo se realizaron extracciones y la fase orgánica se llevó a sequedad y así se obtuvo la mezcla diastereomérica de tiazolidinas en su forma libre¹⁶ sin posibilidad de cuantificar el rendimiento de esta reacción (Esquema 12).



Esquema 12 Síntesis del (*R*)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo **2b**.

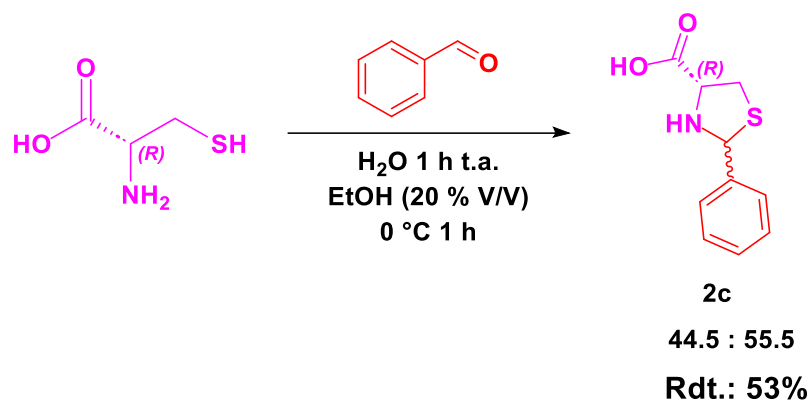
4.2.3 Síntesis del ácido (*R*)-2-feniltiazolidina-4-carboxílico **2c**.

Con el fin de eliminar los pasos esterificación y posterior hidrólisis del ácido carboxílico de la L-cisteína, además de buscar aumentar el rendimiento químico, se llevó a cabo directamente el acoplamiento de la L-cisteína con el benzaldehído para acceder a la correspondiente tiazolidina **2c**. En este caso se utilizaron las condiciones de reacción reportadas por Tung y colaboradores.¹⁷ Para tal fin, a una solución acuosa de L-cisteína

¹⁶Gududuru, V., Hurh, E., Dalton, J. T. y Miller, D. D. Discovery of 2-Arylthiazolidine-4-carboxylic Acid Amides as a New Class of Cytotoxic Agents for Prostate Cancer. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 7, 2584–2588. <https://doi.org/10.1021/jm049208b>

¹⁷Tung, T.-T., Yen, N. T. H., Phuong, P.B. et al. One-pot green synthesis of pidotimod in water. *Chem. Pap.*, **2024** 78(5), 3381–3387. <https://doi.org/10.1007/s11696-023-03278-1>

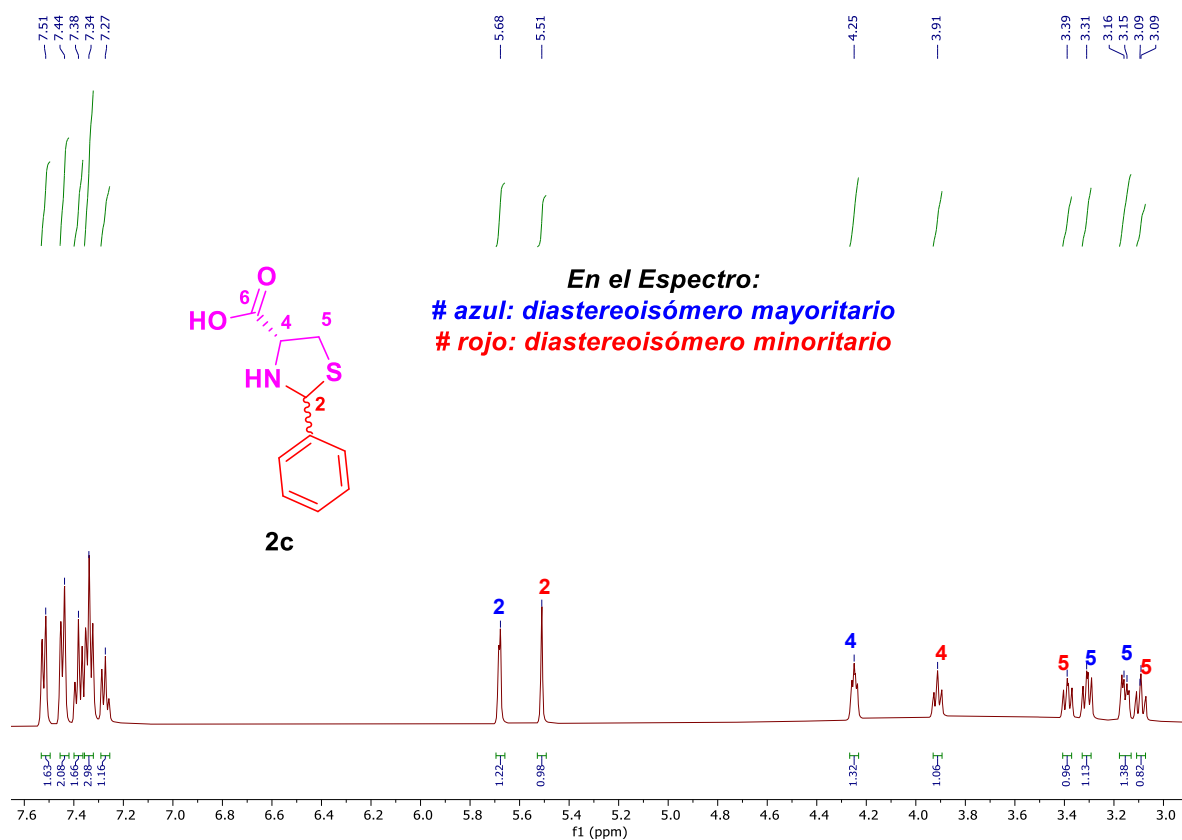
en agitación vigorosa y a temperatura ambiente se adicionó el benzaldehído. Al cabo de 1 h se formó un precipitado blanco. Finalmente, se adicionó EtOH 20% V a una temperatura de 0 °C con el fin de que terminara de precipitar la mezcla diastereomérica de tiazolidinas. Luego de filtrar y secar el precipitado blanco, se obtuvo la mezcla de tiazolidinas con una conversión del 53% y en una relación diastereomérica de 44.5:55.5 y que fue determinada a partir del espectro de RMN-¹H del crudo de la reacción Esquema 13).



Esquema 13. Síntesis del ácido (*R*)-2-feniltiazolidina-4-carboxílico **2c**.

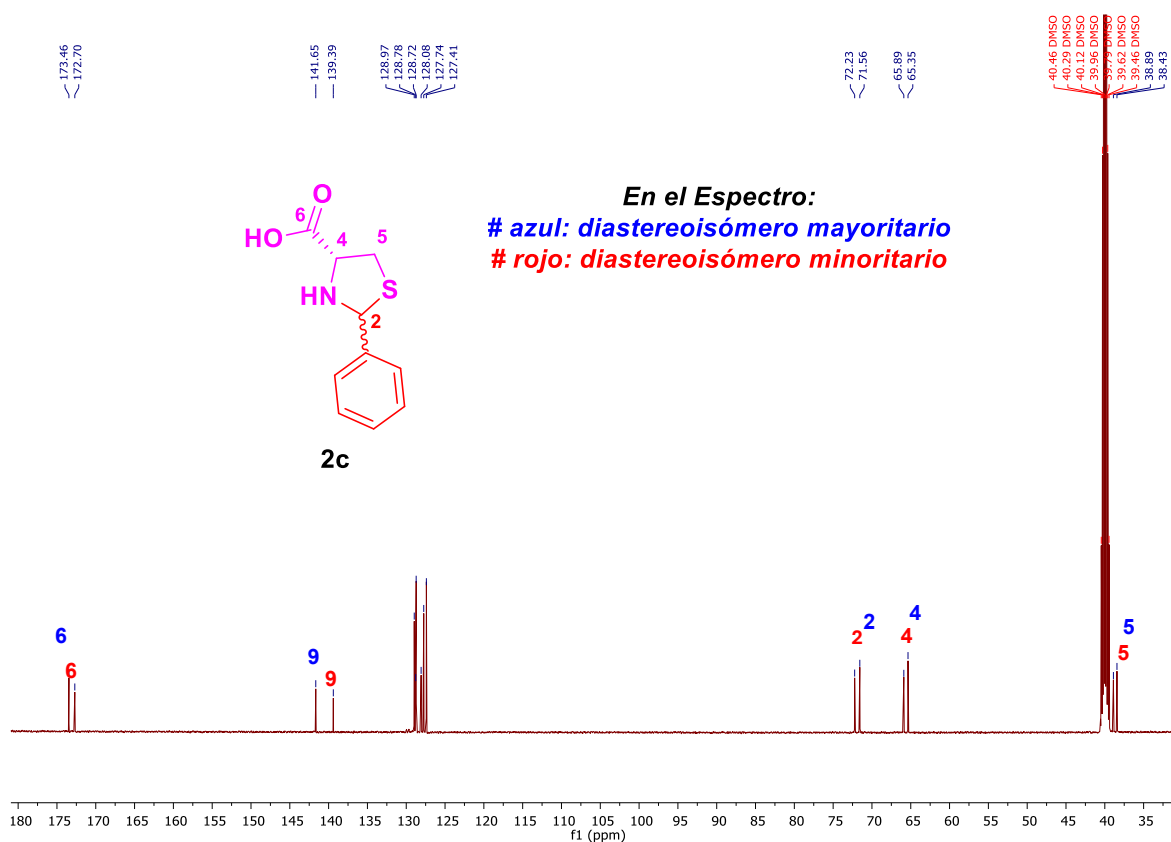
En el espectro de RMN-¹H se observa la presencia de la mezcla de diastereoisómeros. Las señales asignadas al diastereoisómero mayoritario son: una señal que se ubica en 5.68 ppm asignada al hidrógeno 2 que es el hidrógeno tioaminal, dos señales asignadas a los hidrógenos diastereotópicos H-5, la primera se observa en 3.09 ppm con una $J = 6.5$ Hz, que integra para un hidrógeno, la segunda se observa en 3.16 ppm con una $J = 4.5$ Hz que integra para un hidrógeno, la señal asignada al hidrogeno 4 se observa como una señal triple que integra para un hidrógeno con una $J = 5.5$ Hz en 4.25 ppm. El resto de las señales corresponden con la estructura propuesta.

Mientras las señales asignadas a diastereoisómero minoritario son las siguientes: Una señal simple en 5.51 ppm asignada al hidrógeno 2 y que integra para un hidrogeno. La señal asignada al hidrógeno diastereotópico 5 se observa 3.31 ppm como una señal doble de doble que integra para un hidrógeno con una $J = 7.5$ Hz, el otro hidrogeno 5 se observa en 3.39 ppm como una señal doble de doble que integra para un hidrógeno con una $J = 7.5$ Hz. La señal del hidrógeno 4 se observa en 3.91 ppm como una señal triple que integra para un hidrógeno con una $J = 7.5$ Hz. El resto de las señales confirman la estructura propuesta (Espectro 5).



En el espectro de RMN-¹³C las señales asignadas al diastereoisómero mayoritario son: la señal que aparece en 71.5 ppm asignada al carbono tioaminal 2, el carbono 5 se observa en 38.4 ppm, el carbono 4 se encuentra en 65.3 ppm, el carbono 6 que corresponde al carbono del ácido carboxílico aparece en 173.4 ppm.

En el espectro de RMN-¹³C las señales asignadas al diastereoisómero minoritario son: la señal asignada al carbono 2' en 72.2 ppm, la señal asignada al carbono 5' se encuentra en 38.9 ppm, la señal asignada al carbono 6' se observa en 172.2 ppm (Espectro 6).



Espectro 6. RMN-¹³C (500 MHz DMSO-d₆) ácido (*R*)-2-feniltiazolidina-4-carboxílico **2c**.

Respecto a los tres métodos empleados para la formación de la tiazolidina derivada de la L-cisteína y el benzaldehído, en la Tabla 1 se resumen los resultados experimentales. De acuerdo con la tabla, el mejor resultado se obtuvo cuando empleamos como disolvente diclorometano, a temperatura ambiente y con activación por ultrasonido.

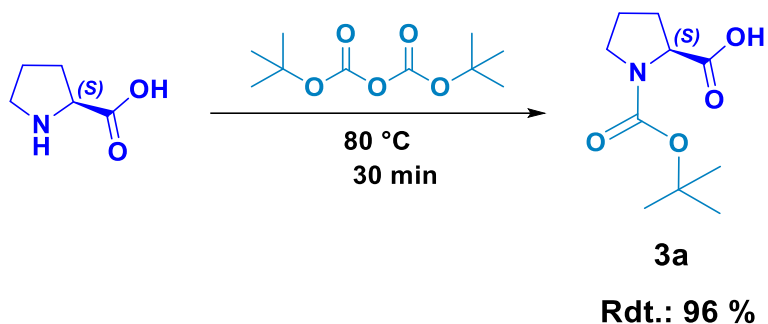
Tabla 1. Condiciones de reacción para la formación de tiazolidinas.

Experimento	Disolvente	T (°C)	T (h)	Condiciones	Rendimiento (%)
1	DCM MeOH	t.a.	2:20	Ultrasonido	57
2	Me₂CO	t.a.	1	Base: NaHCO ₃	---
3	H₂O EtOH 20% V	0 → t.a.	1		53

4.3 Reacciones de N-protección de la L-prolina y (Boc₂O).

4.3.1 Síntesis de la (tert-butoxicarbonilo)-L-prolina, 3a.

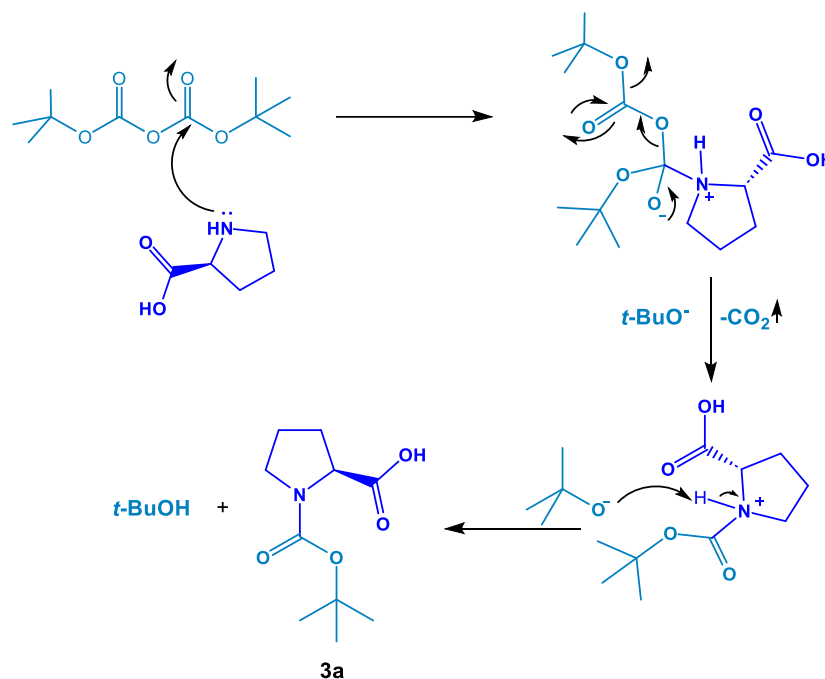
Para el acoplamiento peptídico de la L-prolina con la tiazolidina, primero se requiere de la protección del grupo amino con el grupo (Boc)₂O. En este caso, empleamos las condiciones de reacción reportadas en 2016 por Balaga y colaboradores,¹⁸ quienes propusieron condiciones de reacción enfocadas en la química verde, para poder evitar el uso de catalizadores, como ácidos de Lewis o de Brønsted. La reacción se realizó en ausencia de disolvente y sólo se mezclaron la L-prolina y el (Boc)₂O y se llevó a una temperatura de 80 °C (Esquema 14).



Esquema 14. Síntesis de la (tert-butoxicarbonilo)-L-prolina, 3a.

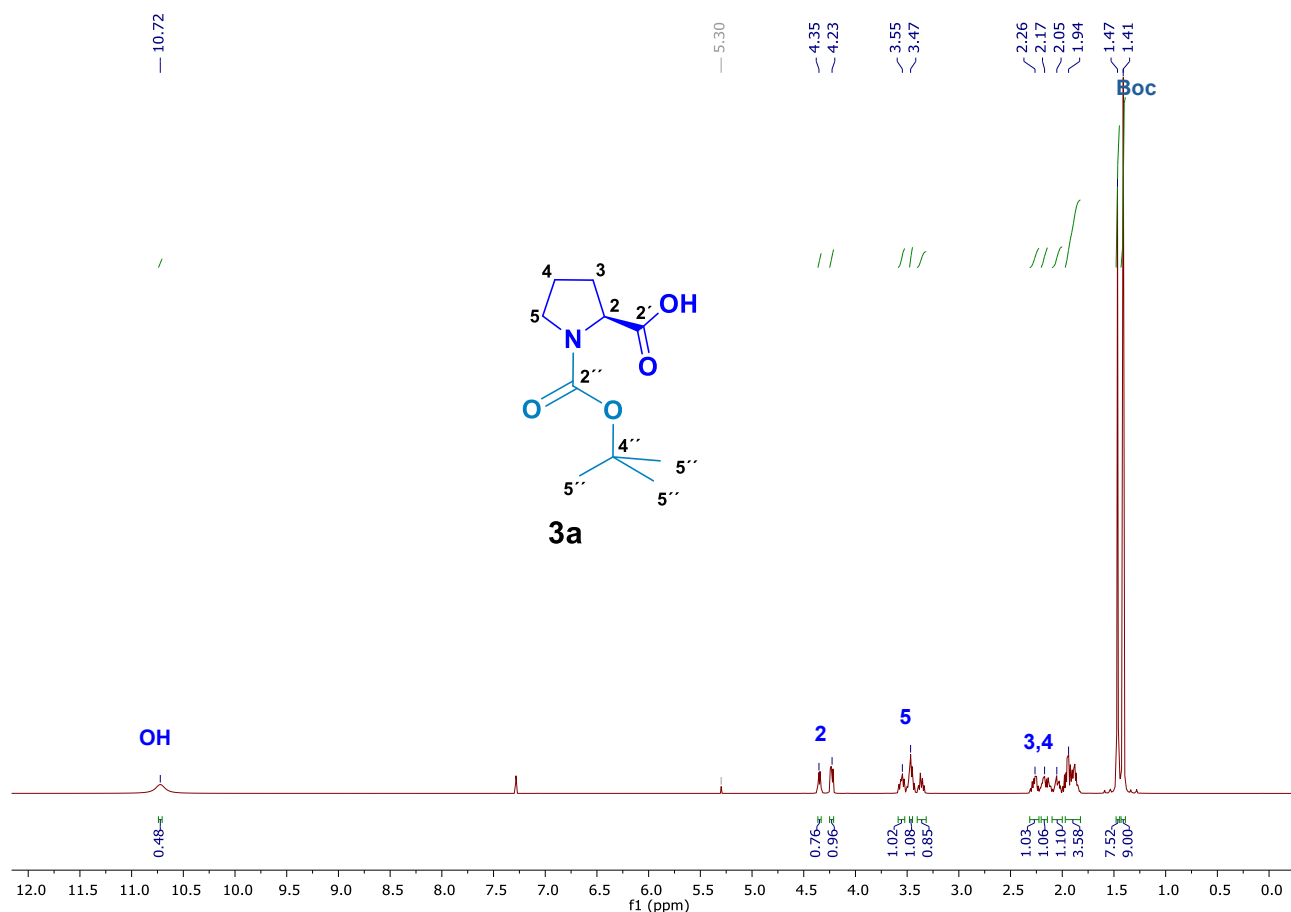
¹⁸ Viswanadham, B., Mahomed, A. S., Friedrich, H. B., y Singh, S. Efficient and expeditious chemoselective BOC protection of amines in catalyst and solvent-free media. *Res. Chem. Intermed.* **2017**, 43(3), 1355–1363. <https://doi.org/10.1007/s11164-016-2702-9>

El mecanismo propuesto para la reacción de *N* protección es el siguiente. El ataque del par de electrones del nitrógeno del grupo amino al carbonilo del carbono en el anhídrido Boc₂O ocasiona la formación de CO₂ y el ión *tert*-butoxido. Este último, a través de una reacción ácido-base genera el *tert*-butanol y el producto *N*-Boc **3a**. La ventaja de este método es que el CO₂ y el *tert*-butanol son eliminados durante el proceso evaporación, sin la necesidad de purificar el producto, por lo que la reacción es cuantitativa¹⁸ (Esquema 15).



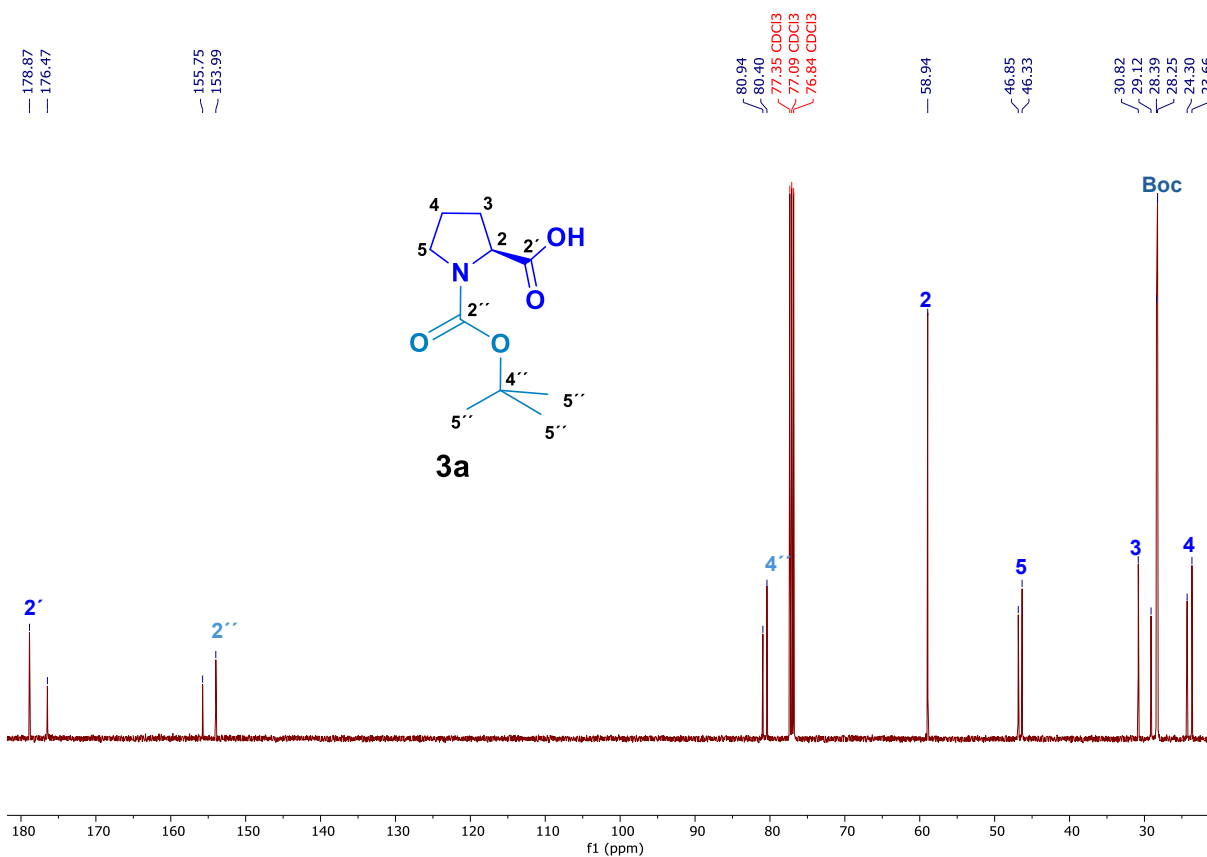
Esquema 15. Mecanismo de reacción para la formación de amina Boc **3a**.

En el espectro de RMN-¹H se aprecia que el producto *N*-Boc **3a** presenta un equilibrio dinámico en solución, resultado de la presencia del grupo voluminoso Boc. Solo se describe el confórmero mayoritario. En 1.41 ppm aparece una señal simple que integra para 9 hidrógenos asignada a los hidrógenos del grupo *tert*-butil. De 1.94 a 2.26 ppm una señal múltiple asignada a los hidrógenos 3 y 4. De 3.47 a 3.55 ppm la señal asignada a los hidrógenos 5. En 4.23 ppm la señal asignada al hidrógeno 2. En 10.72 ppm una señal ancha asignada al hidrógeno del grupo OH (Espectro 7).



Espectro 7. RMN-¹H (500 MHz CDCl₃) (*tert*-butoxicarbonilo)-L-prolina **3a**.

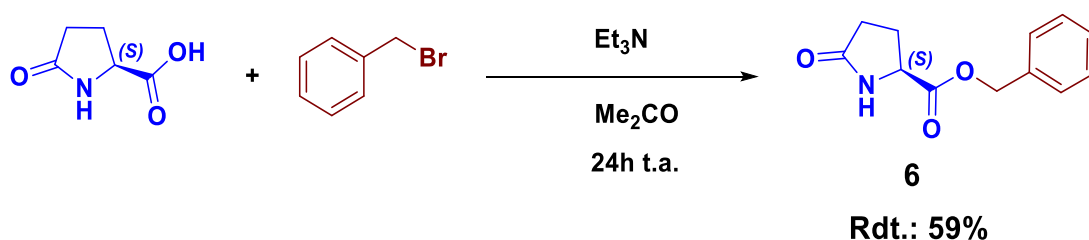
En espectro de RMN-¹³C las señales que confirman la formación del compuesto se observan en 23.6 ppm para el carbono 4, en 28.2ppm la señal de los metilos del grupo *tert*-butil, en 30.8 ppm la señal del carbono 3, en 46.3 ppm la señal asignada al carbono 5. En 58.9 ppm la señal asignada al carbono 2. En 80.4 ppm la señal asignada al carbono 4''. En 153.9 ppm la señal asignada al carbono 2'' y en 178.8 ppm la señal asignada al carbono del carbonilo de ácido carboxílico (Espectro 8).



Espectro 8. RMN-¹³C (125 MHz CDCl₃) (*tert*-butoxycarbonyl)-L-prolina **3a**.

4.3.2 Síntesis del éster bencílico del ácido L-piroglutámico 6.

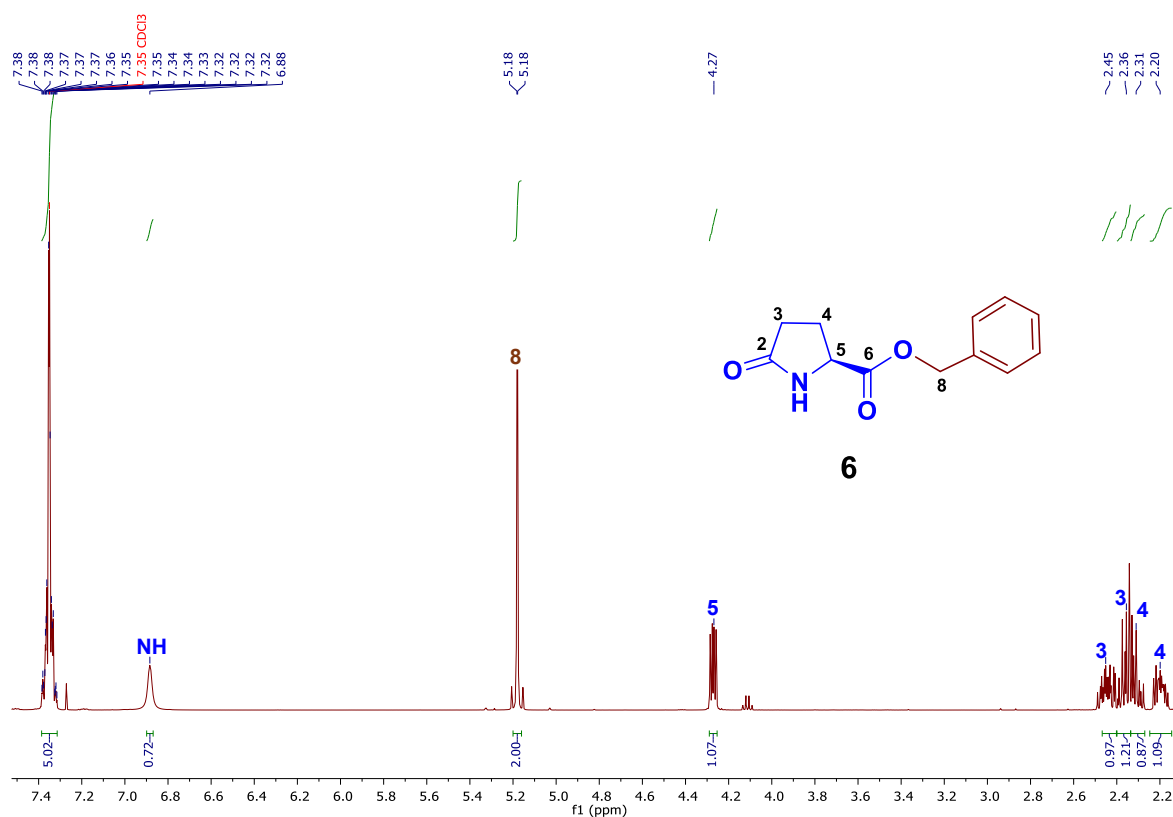
Para el caso de la síntesis del derivado del ácido L-piroglutámico, fue necesario llevar a cabo la esterificación del ácido carboxílico con el fin de que no interfiriera en la reacción de *N*-Boc protección, en consecuencia llevamos a cabo la esterificación con bromuro de bencilo. En este sentido empleamos las condiciones reportadas por Bernardi y colaboradores en 2002¹⁹, reportaron un rendimiento del 88 % la metodología consistió en preparar una solución del ácido L-piroglutámico en acetona. Esta solución se colocó en agitación vigorosa a temperatura ambiente y se adicionó bromuro de bencilo y trietilamina. La mezcla resultante se dejó en agitación por espacio de 24 horas tiempo en el que se comprobó por cromatografía en capa fina el consumo total de las materias primas. Luego, se realizaron extracciones con acetona y AcOEt. Después de evaporar el disolvente, el crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna y se obtuvo el producto bencilado **6** en un rendimiento del 59% (Esquema 16).



Esquema 16. Formación del éster bencílico del ácido L-piroglutamico 6.

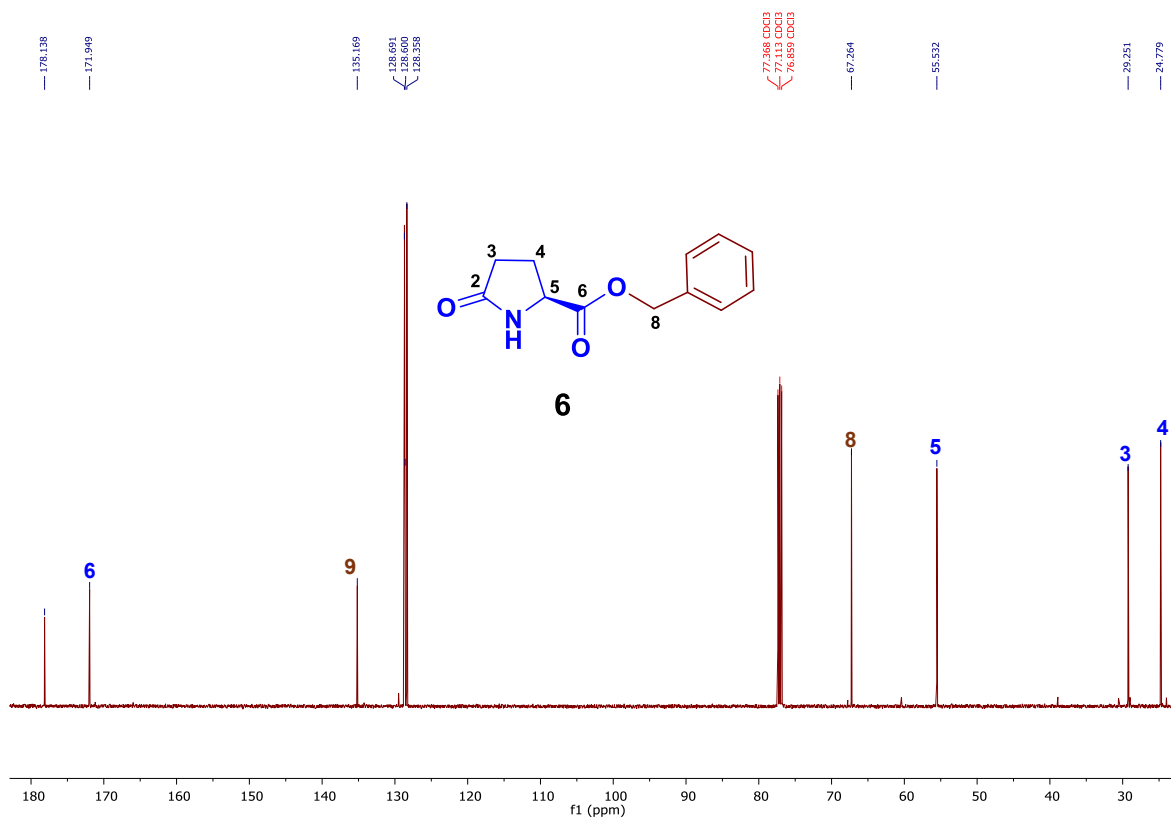
¹⁹ Bernardi, F., Garavelli, M., Scatizzi, M., Tomasini, C., Trigari, V., Crisma, M., Formaggio, F., Peggion, C., y Toniolo, C. Pseudopeptide Foldamers: The Homo-Oligomers of Pyroglutamic Acid. **2002** . *Chem - A European J.*, 8(11), 2516-2525. [https://doi.org/10.1002/1521-3765\(20020603\)8:11<2516::AID-CHEM2516>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/1521-3765(20020603)8:11<2516::AID-CHEM2516>3.0.CO;2-K)

En el espectro de RMN-¹H las señales que nos confirman la formación del compuesto **6** son: de 2.20 a 2.45 ppm una señal múltiple asignada a los hidrógenos 3 y 4. En 4.27 ppm una señal doble de doble que integra para un hidrógeno con una $J = 5$ Hz asignada al hidrógeno 5. En 5.18 ppm una señal simple que integra para dos hidrógenos asignada a los hidrógenos 8. En 6.90 ppm una señal ancha que integra para un hidrógeno asignada al hidrógeno N-H. El resto de las señales confirman la estructura propuesta (Espectro 9).



Espectro 9. RMN-¹H (500 MHz CDCl₃) (S)-5-oxopirrolidina-2-carboxilato de bencilo **6**.

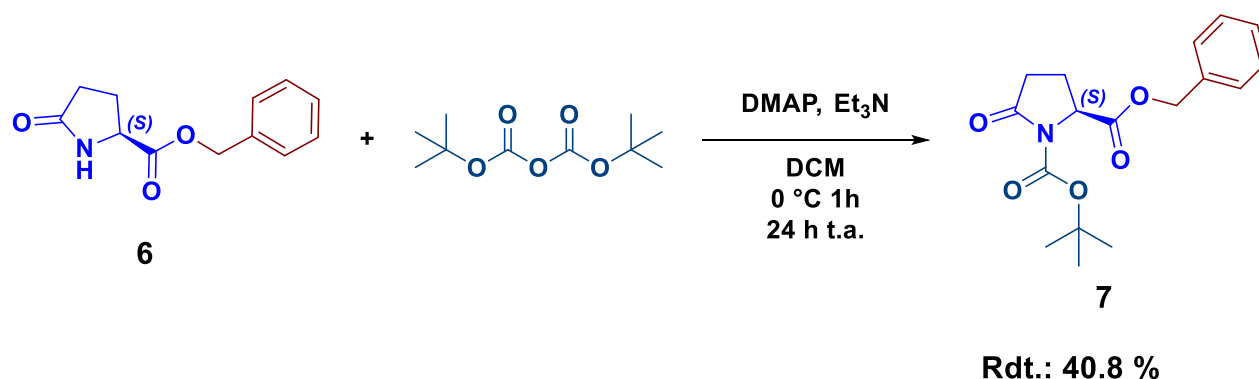
En el espectro de RMN-¹³C las señales que nos confirman la formación del producto son: en 24.7 ppm la señal asignada al carbono 4, en 29.2 ppm la señal asignada al carbono 3, en 67.2 la señal asignada al carbono bencílico 8, en 171.9 ppm la señal asignada al carbono de carbonilo de amida 2 y en 178.1 ppm la señal asignada al carbono de carbonilo del éster 6 (Espectro 10).



Espectro 10. RMN-¹³C (125 MHz CDCl₃) (S)-5-oxopirrolidina-2-carboxilato de bencilo **6**.

4.3.3 Síntesis del 2-bencilo-1-(*tert*-butilo)(*S*)-5-oxopirrolidin-1,2-dicarboxilato 7.

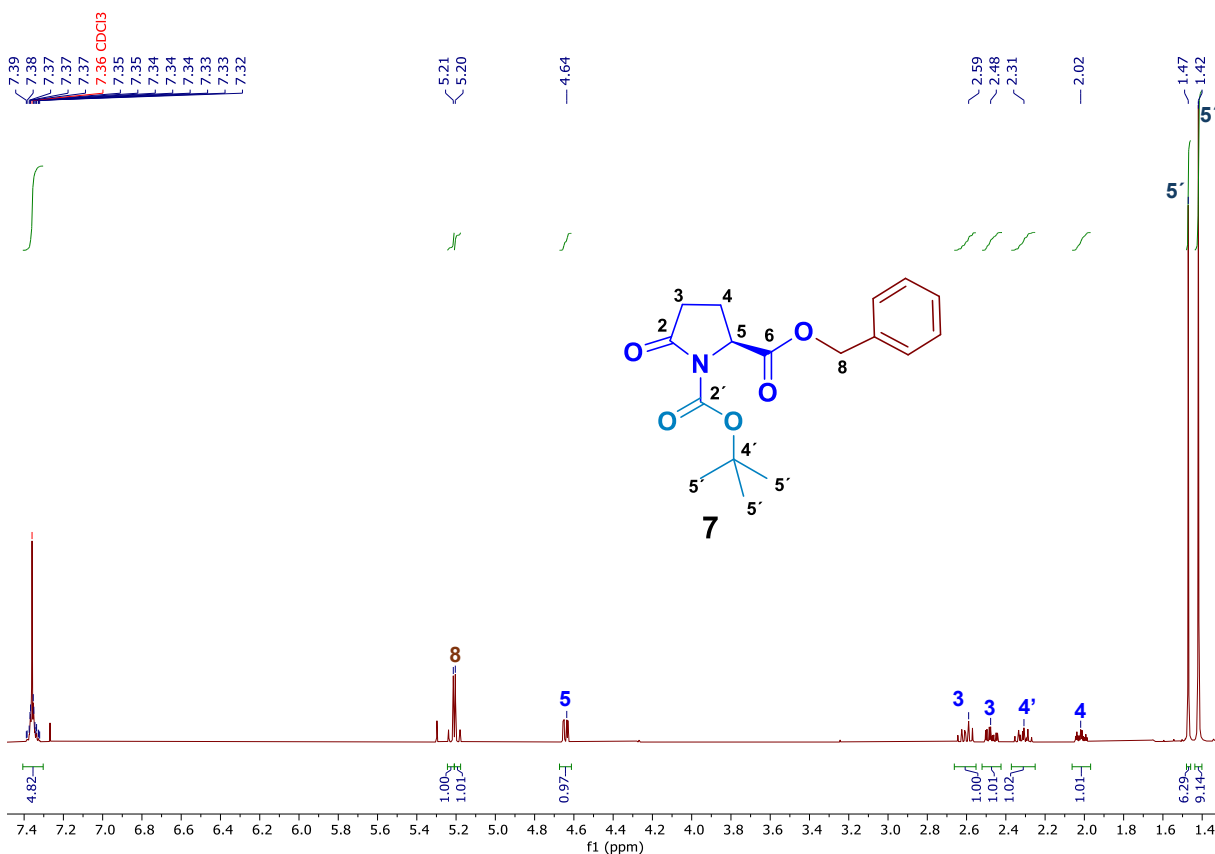
Posteriormente, la reacción de protección del grupo -NH con (Boc)₂O se realizó siguiendo las condiciones reportadas por Suaifan y colaboradores, los cuales reportaron un rendimiento del 72 %²⁰ dichas condiciones consistieron en preparar una solución del compuesto **6** en diclorometano. Esta solución se mantuvo en agitación vigorosa y se llevó a una temperatura de 0 °C y se adicionó Boc₂O, seguido de la adición de DMAP como catalizador y finalmente se agregó trietilamina. La mezcla resultante se dejó en agitación a t.a. por 24h, tiempo en el que se comprobó el consumo total de las materias primas. Después de purificar el crudo de reacción por cromatografía en columna se obtuvo el compuesto deseado **7** en un rendimiento de 40.8% (Esquema 17).



Esquema 17. Síntesis del 2-bencilo 1-(*tert*-butilo) (*S*)-5-oxopirrolidin-1,2-dicarboxilato, **7**.

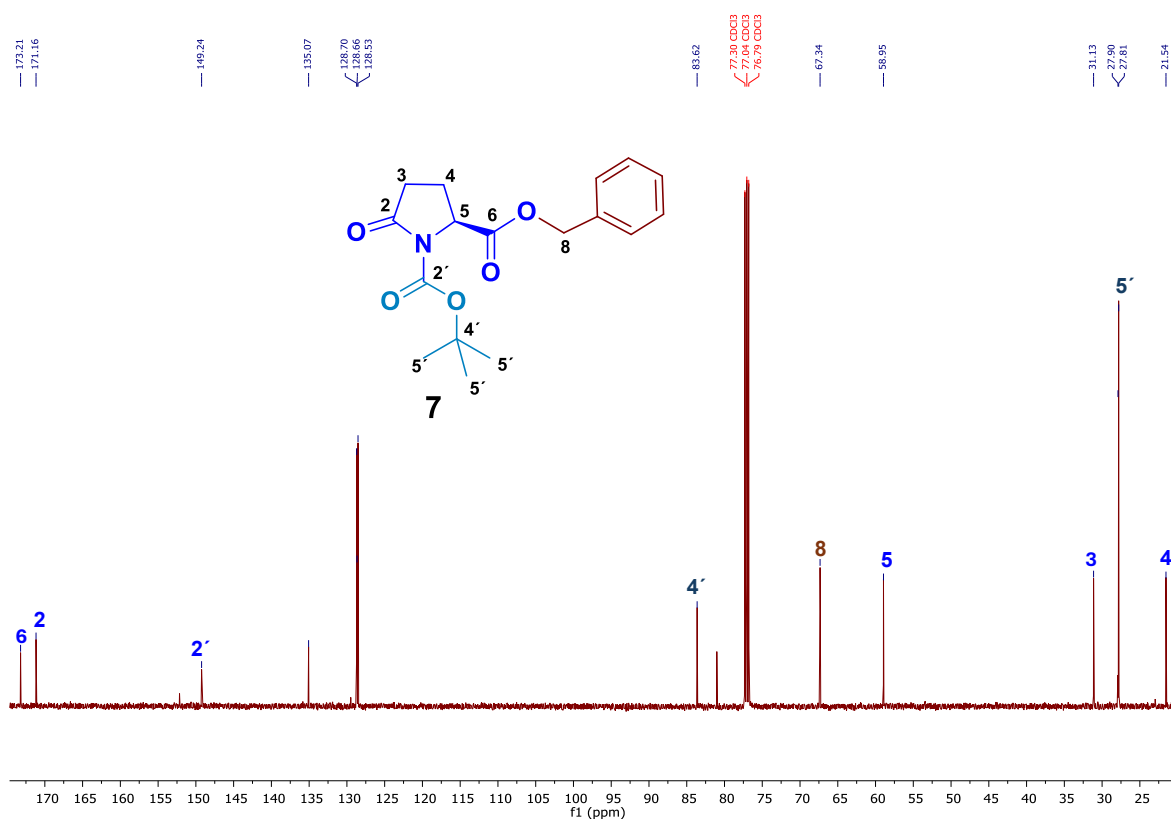
²⁰ Suaifan, G. A. R. Y., Arafat, T. y Threadgill, M. D. Synthetic approaches to peptides containing the l-Gln-l-Val-D(S)-Dmt motif. *Bioor. Med. Chem.*, **2007** 15(10), 3474–3488. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.03.005>

En el espectro de RMN-¹H todas las señales aparecen duplicadas nuevamente por el efecto que causa la presencia del grupo protector Boc en solución. Solo se describen las señales de uno de los rotámeros. En 1.42 ppm aparece una señal simple asignada a los hidrógenos de los metilo del grupo *tert*-butil. El hidrógeno 4 se observa en 2.02 ppm como una señal múltiple que integra para un hidrógeno, el otro hidrógeno 4 se observa en 2.31 ppm como una señal múltiple, el hidrógeno 3 se observa en 2.48 ppm como una señal múltiple, el otro hidrógeno 3 se observa en 2.59 ppm como una señal múltiple, el hidrógeno 5 se observa en 4.64 ppm como una señal triple con una $J = 4.5$ Hz, los hidrógenos bencílicos 8 aparecen en 5.2 ppm como una señal AB, que integra para dos hidrógenos. El resto de las señales corresponden con la estructura propuesta (Espectro 11).



Espectro 11. RMN-¹H (500 MHz CDCl₃) 2-bencilo 1-(*tert*-butilo) (S)-5-oxopirrolidin-1,2-dicarboxilato **7**.

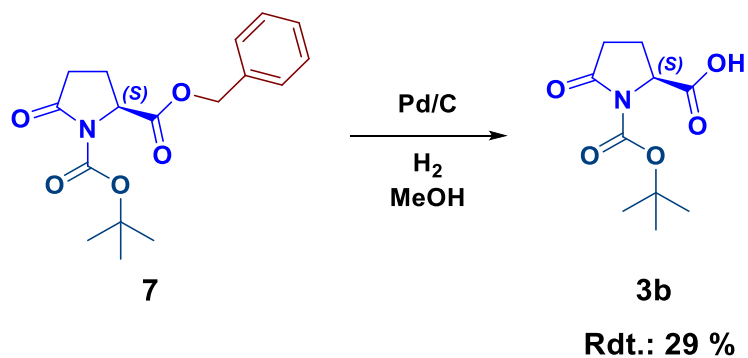
En el espectro de RMN-¹³C las señales que nos indican la obtención del producto **7** son: en 21.5 ppm la señal asignada al carbono 4, en 27.8 ppm la señal asignada a los carbonos de los metilos del grupo *tert*-butil, en 31.1 ppm la señal asignada al carbono 3, en 58.9 ppm la señal asignada al carbono 5, en 67.3 ppm la señal asignada al carbono bencílico 8, en 83.62 ppm la señal asignada al carbono cuaternario 4', en 149.2 ppm la señal asignada al carbonilo del carbamato 2', en 171.1 ppm la señal asignada al carbonilo de amida y en 173.2 ppm la señal asignada al carbonilo del éster (Espectro 12).



Espectro 12. RMN-¹³C (125 MHz CDCl₃) 2-bencilo 1-(*tert*-butilo) (*S*)-5-oxopirrolidin-1,2-dicarboxilato **7**.

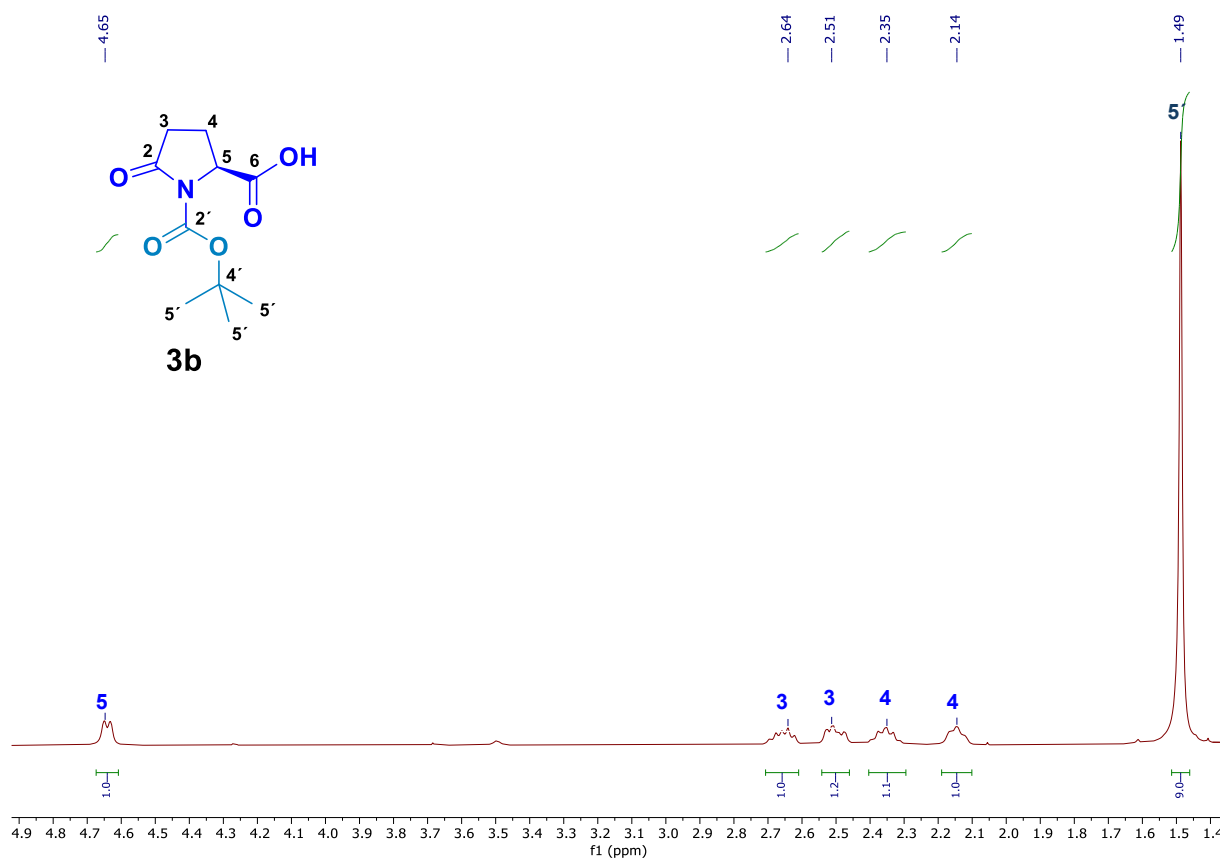
4.3.4 Síntesis del ácido (2S)-1-[(*tert*-butoxi)carbonil]-5-oxopirrolidin-2-carboxílico **3b**.

La siguiente etapa consistió en llevar a cabo la desbencilación del éster, para ello se trató el compuesto **7** bajo condiciones de hidrogenación catalítica¹⁹¹⁹, empleando como catalizador Pd/C (10% mol), en MeOH como disolvente y bajo atmósfera de hidrógeno. El producto deseado se obtuvo en un rendimiento del 29 % (Esquema 18).



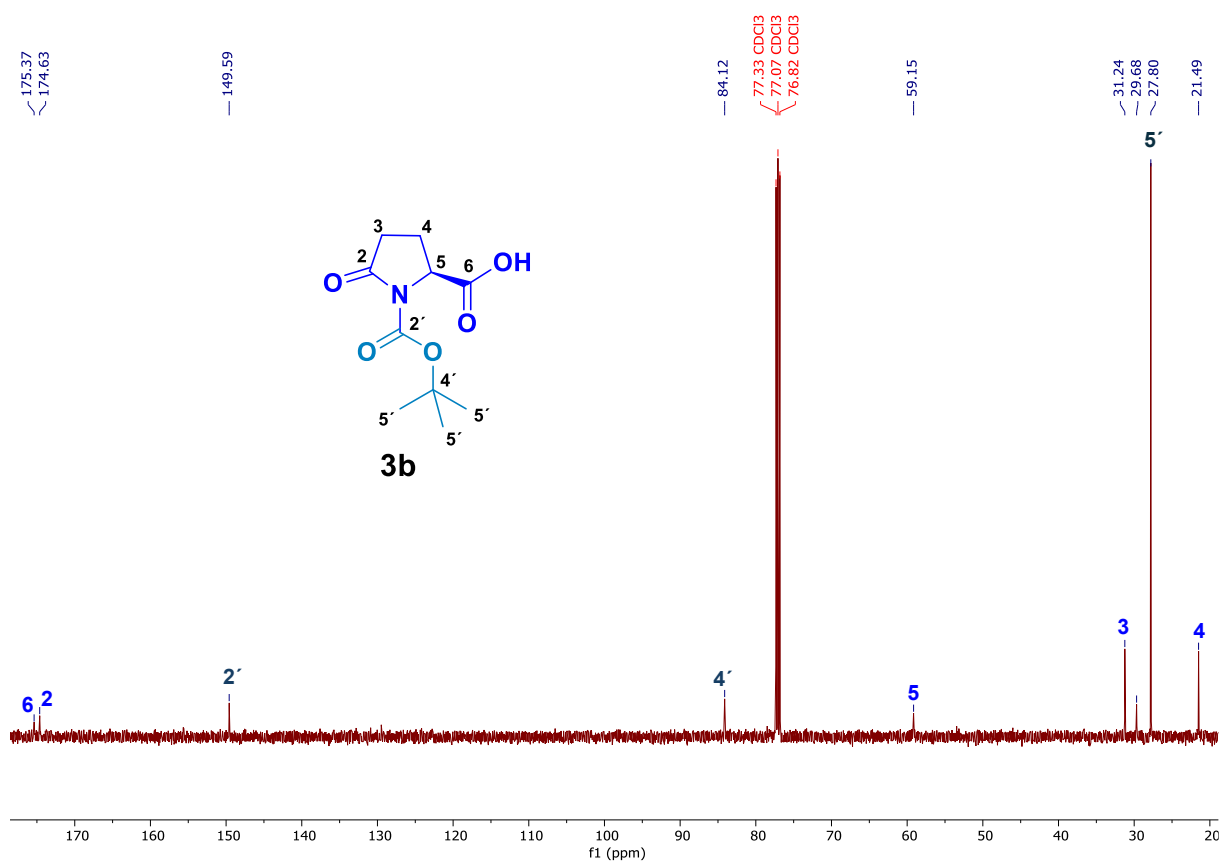
Esquema 18. Hidrólisis para obtener el ácido carboxílico **3b**.

En el espectro de RMN-¹H del compuesto **3b** las señales que nos indican la formación del producto deseado son las siguientes. Una señal simple que integra para 9 hidrógenos asignada a los hidrógenos 5', en 2.14 ppm una señal múltiple que integra para un hidrógeno asignada a uno de los hidrógenos H-4, en 2.35 ppm una señal múltiple asignada al otro hidrógeno diastereotópico H-4. En 2.51 y 2.64 ppm dos señales múltiples cada una integrando para un hidrógeno asignadas a los hidrógenos 3 y finalmente en 4.65 ppm una señal doble con $J = 9.5$ Hz que integra para un hidrógeno asignada al hidrógeno 5 (Espectro 13).



Espectro 13. RMN-¹H (500 MHz CDCl₃) ácido (S)-1-(terc-butoxicarbonil)-5-oxopirrolidina-2-carboxílico **3b**.

En el espectro de RMN-¹³C las señales que nos indican la formación del compuesto deseado son: en 21.4 ppm la señal asignada al carbono 4, en 27.8 ppm la señal para los carbonos 5', en 31.2 ppm la señal para el carbono 3, en 59.1 ppm la señal asignada al carbono 5, en 84.1 ppm la señal para el carbono cuaternario 4', en 149.5 ppm la señal asignada al carbono del carbamato 2', en 174.6 ppm la señal asignada al carbono de amida 2 y en 175.3 ppm la señal asignada al carbono del ácido carboxílico 6 (Espectro 14).

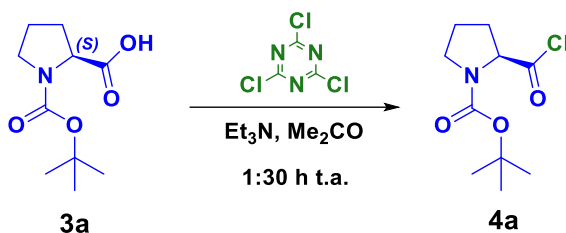


Espectro 14. RMN-¹³C (125 MHz CDCl₃) ácido (S)-1-(*tert*-butoxicarbonil)-5-oxopirrolidina-2-carboxílico **3b**.

4.4 Formación de cloruro de acilo 4a y 4b.

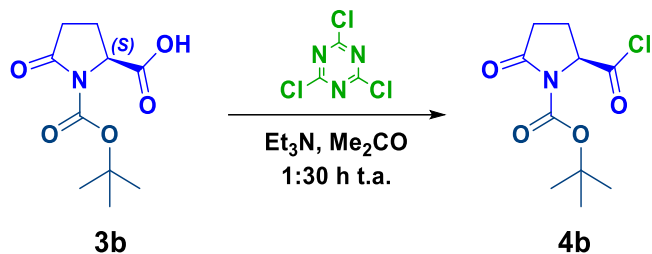
Para poder realizar el acoplamiento entre el fragmento de la pirrolidina correspondiente con la tiazolidina se requiere de la activación del ácido carboxílico de la pirrolidina, para ello se debe llevar a cabo la formación de un halogenuro de acilo. Aunque de manera general esta reacción se realiza con cloruro de tionilo la venta de este reactivo ha sido prohibida en México, es por ello que buscamos otro método que nos permitiera obtener el halogenuro de acilo deseado.

Las condiciones que utilizamos para formar el cloruro de acilo a partir de la correspondiente *N*-Boc- pirrolidina fueron las reportadas por Venkataraman & Wagle²¹. A una solución de **3a** o **3b** en acetona con agitación vigorosa y a temperatura ambiente, se adicionó triclorotriazina y trietilamina. La mezcla resultante se dejó en agitación por espacio de 1:30 h, tiempo en el cual se formó un precipitado blanco y se comprobó el consumo total de la materia prima por CCF. Finalmente, la reacción solo se filtró y el correspondiente cloruro de acilo **4a** o **4b** se utilizó sin purificar para la siguiente reacción (Esquemas 19 y 20).



Esquema 19. Formación del cloruro de acilo **4a**.

²¹ Venkataraman, K., y Wagle, D. R. Cyanuric chloride : a useful reagent for converting carboxylic acids into chlorides, esters, amides and peptides. *Tetrahedron Letters*, **1979** 20(32), 3037–3040. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)71006-9](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)71006-9)

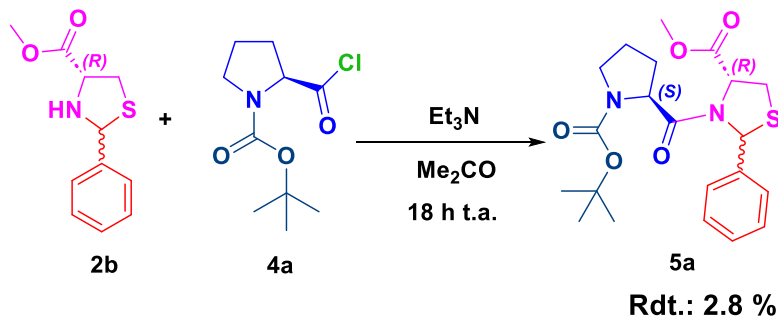


Esquema 20. Formación del cloruro de acilo **4b**.

4.5 Reacciones de acoplamiento

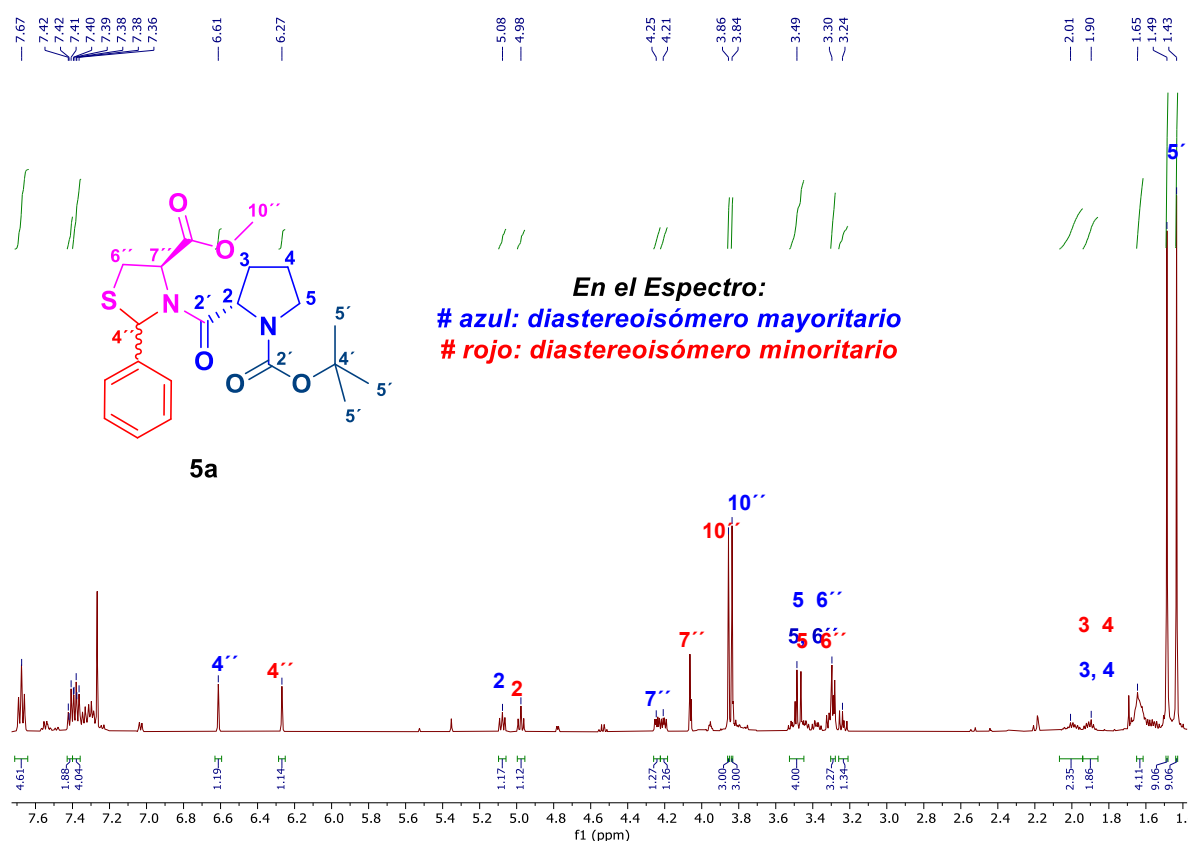
4.5.1 Síntesis del (*R*)-3-((*tert*-butoxicarbonil)-L-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo, **5a**.

Para el acoplamiento de la tiazolidina derivada de la cisteína y el cloruro de acilo piroglutámico **4a** empleamos el siguiente método experimental.²¹ El cloruro de acilo **4a** se adicionó, a una solución de la tiazolidina **2b** en Me₂CO a temperatura ambiente. Posteriormente, se adicionó trietilamina y la mezcla resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente por espacio de 18 horas tiempo en el cual se comprobó por CCF el consumo de las materias primas. Finalmente, se realizaron extracciones con CH₂Cl₂ (3 x 10 ml) y la fase orgánica se lavó con H₂O (1 x 15 ml), solución salina (1x15 ml) y se secó con Na₂SO₄ anhidro. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica empacada en sílice, en un sistema (AcOEt: Hexano, 60:40) y la mezcla diastereomérica de **5a** se obtuvo con una conversión del 2.8 %. Es importante mencionar que este experimento solo se probó una vez (Esquema 21).



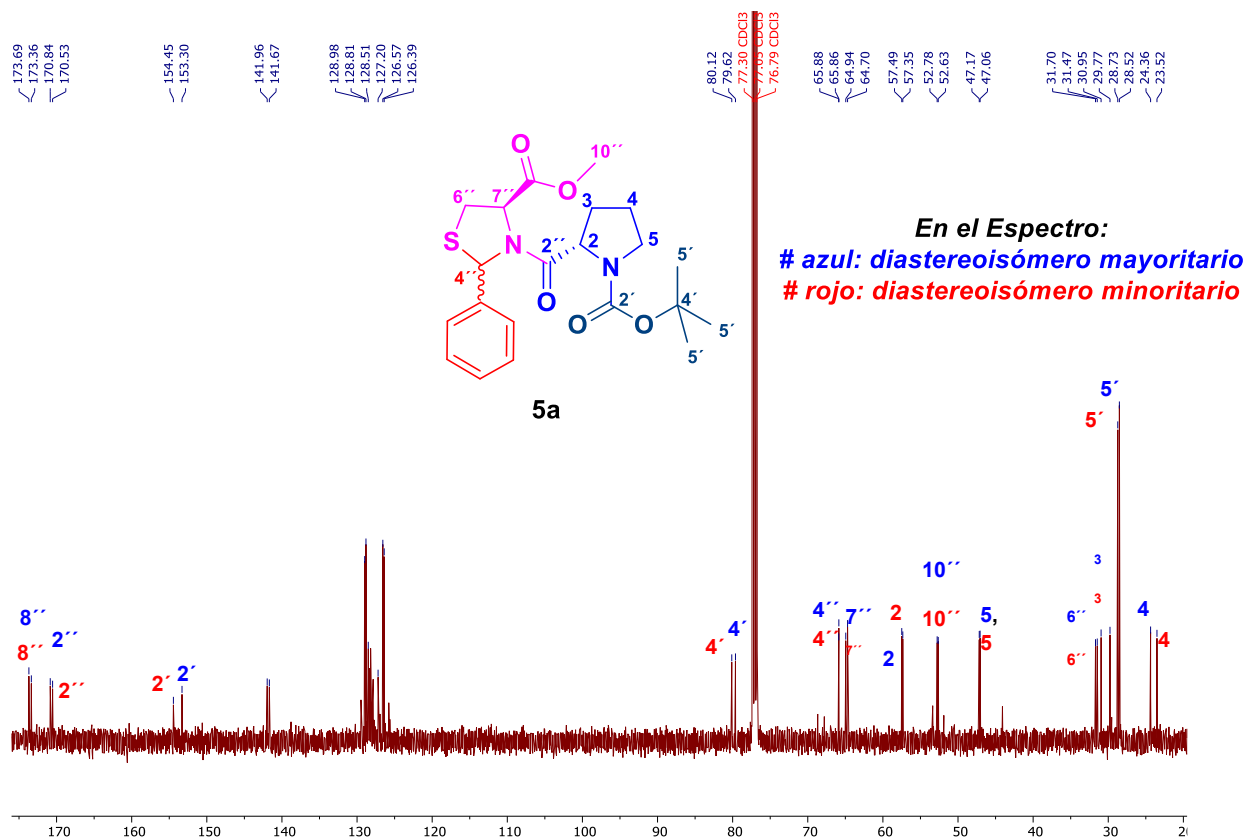
Esquema 21. Síntesis de la (*R*)-3-((*tert*-butoxicarbonil)-L-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo, **5a**.

En el espectro de RMN-¹H podemos comprobar la formación de la mezcla diastereomérica del análogo de pidotimod **5a**. Sólo se describe el diastereoisómero mayoritario. En 1.43 ppm se observa una señal simple que integra para 9 hidrógenos que fue asignada a los hidrógenos del grupo *tert*-butil, de 1.65 a 2.10 ppm una señal múltiple que fue asignada a los hidrógenos 3 y 4. De 3.24 a 3.49 ppm una señal múltiple que fue asignada a los hidrógenos 5 y 6''. En 5.08 ppm como una señal triple que integra para un hidrógeno que tiene una $J = 3.25$ Hz asignada al hidrógeno 2. En 6.61 ppm una señal simple asignada al hidrógeno 4''. El resto de las señales confirman la obtención del compuesto **5a** (Espectro 15).



Espectro 15. de RMN-¹H (500 MHz CDCl₃) (*R*)-3-((*tert*-butoxycarbonyl)-L-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo **5a**.

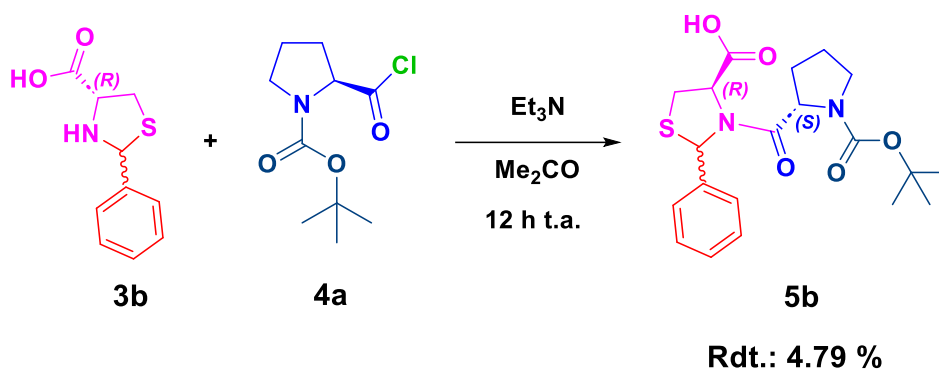
En el espectro de RMN-¹³C las señales que indican la formación del producto mayoritario deseado corresponden a los tres carbonilos, la señal del carbonilo de la amida en 170.8 ppm, el carbonilo del Boc de se observa en 153.3 ppm y el carbonilo del éster se encuentra en 173.6 ppm, el carbono 4'' (tioaminal) se observa en 65.8 ppm, la señal asignada a los carbonos de metilo del *tert*-butil 27, 28, 29 en 28.5 ppm. El metilo del éster se observa en 52.6 ppm (Espectro 16).



Espectro 16 de RMN-¹³C (125 MHz CDCl₃) (*R*)-3-((*tert*-butoxicarbonil)-L-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo **5a**.

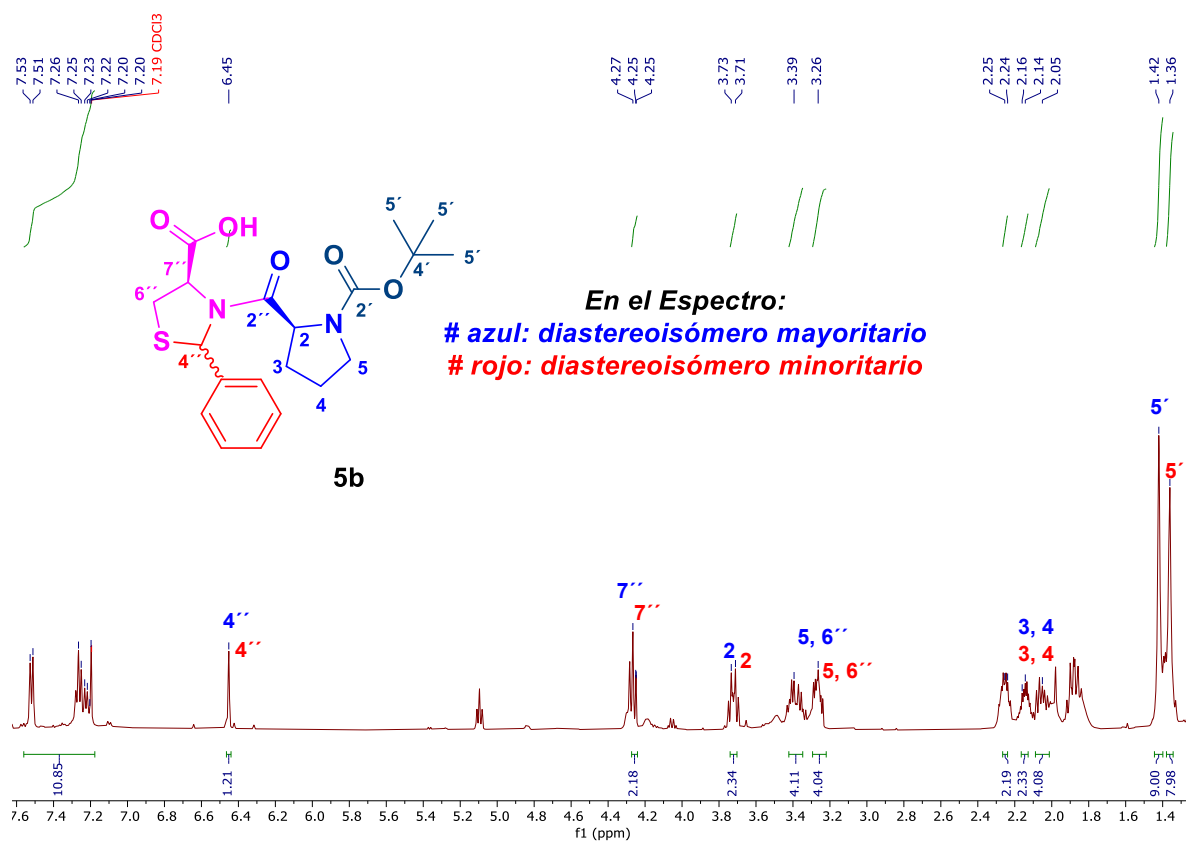
4.5.2 Síntesis del compuesto ácido (*R*)-3-((*tert*-butoxicarbonil)-L-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxílico **5b**.

A una solución de la mezcla diastereomérica **3b** en acetona a temperatura ambiente y con agitación vigorosa se adicionó el cloruro de acilo **4a** y trietilamina. La mezcla resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente por espacio de 12 horas tiempo en el que se comprobó el consumo total de las materias primas. Para terminar la reacción se adicionó una solución salina y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica en un sistema (AcOEt: 100), se obtuvieron 4.3 mg de la mezcla diastereomérica del compuesto deseado **5b** y que corresponde a una conversión combinado de 4.79 % (Esquema 22).²¹



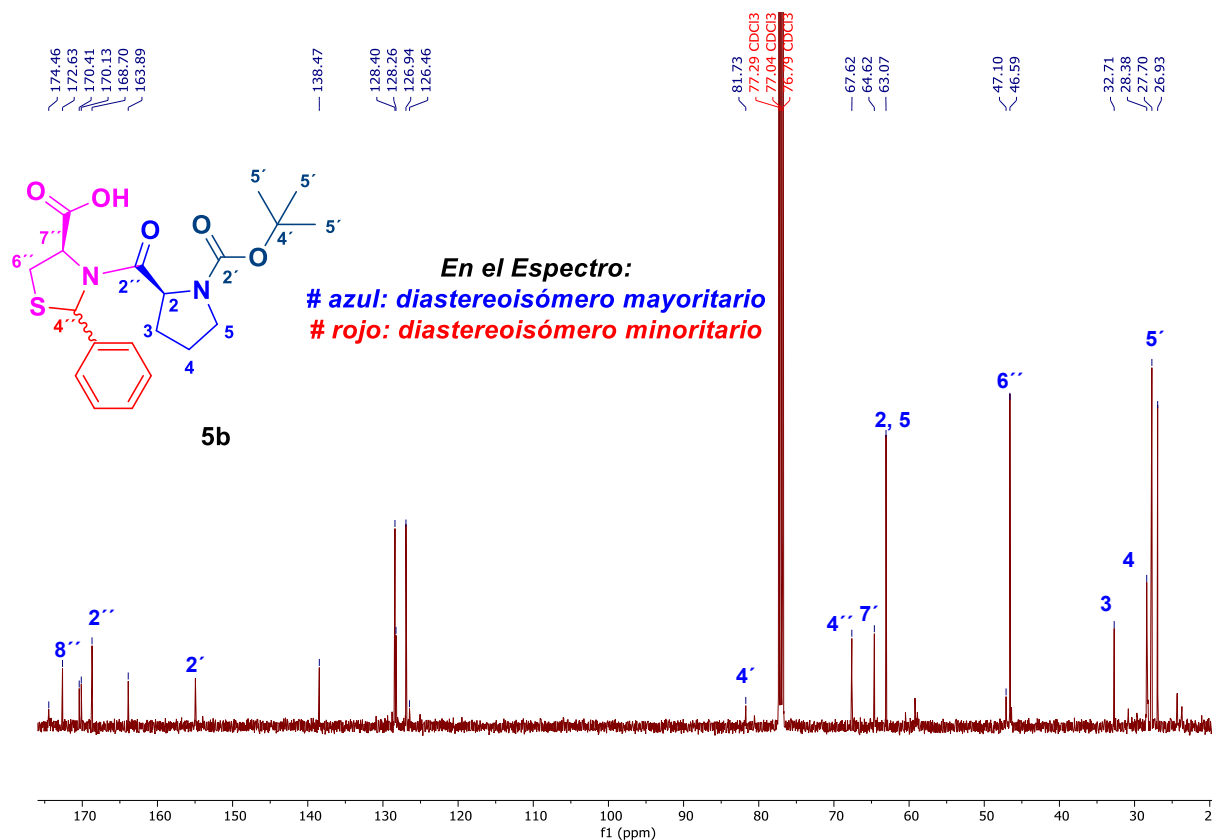
Esquema 22. Síntesis del ácido (*R*)-3-((*tert*-butoxicarbonil)-L-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxílico **5b**.

En el espectro de RMN-¹H solo se describen las señales para el diastereoisómero mayoritario. Las señales que nos indican la obtención del compuesto son las siguientes: En 1.42 ppm aparece una señal simple asignada a los nueve hidrógenos de los metilos del grupo *tert*-butil 5'. De 2.05 a 2.25 ppm una señal múltiple asignada a los hidrógenos 3 y 4. De 3.26 a 3.39 ppm una señal múltiple asignada a los hidrógenos 5 y 6''. En 3.72 ppm la señal asignada al hidrógeno 2. En 4.25 ppm la señal asignada al hidrógeno 7''. En 6.45 ppm una señal simple asignada al hidrógeno H-4'' (Espectro 17).



Espectro 17. de RMN-¹H (500 MHz CDCl₃) ácido (*R*)-3-((*tert*-butoxicarbonil)-L-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxílico **5b**.

Del espectro de RMN-¹³C solo se describen las señales de diastereoisómero mayoritario. En 27.7 ppm aparece la señal asignada a los carbonos de metilo del grupo *tert*-butil. En 28.3 y 32.7 ppm las señales asignadas a los carbonos 4 y 3 respectivamente. En 46.5 ppm la señal asignada al carbono 6''. En 64.6 ppm colapsan las señales para los carbonos 2 y 5. En 64.6 y 67.6 ppm dos señales asignadas a 7' y 4'' respectivamente. En 81.7 ppm la señal asignada al carbono cuaternario del grupo *tert*-butil 4'. En 155.1 ppm la señal asignada al carbono 2'. En 168.7 ppm la señal asignada al carbono 2''. En 172.6 ppm la señal asignada al carbono 8'' (Espectro 18).

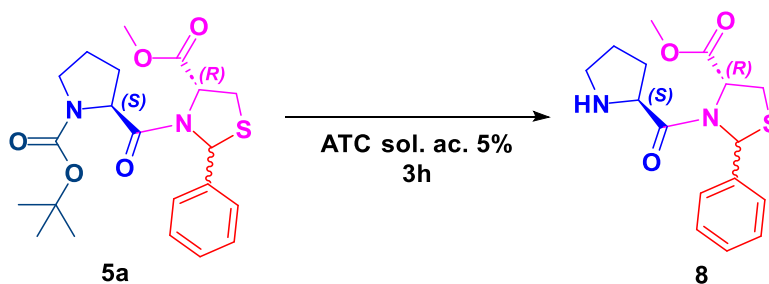


Espectro 18. de RMN-¹³C (125 MHz CDCl₃) ácido (*R*)-3-((*tert*-butoxicarbonil)-L-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxílico **5b**.

4.6 Perspectivas reacción para la desprotección del grupo amino del anillo de la pirrolidina.

4.6.1 Síntesis de (*R*)-3-(*L*-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo **8**.

La reacción remover el grupo Boc, ya no se realizó debido a falta de tiempo, sin embargo se pretende seguir con ese paso cuando se logre mejorar el rendimiento en las reacciones de acoplamiento para la formación de análogo, dicha reacción se plantea realizar siguiendo las condiciones de reacción reportadas por Baldwin.²² A una solución del compuesto **5a** disuelto en diclorometano con agitación vigorosa y a temperatura ambiente se adicionara una solución acuosa de ATC al 5% y la mezcla resultante se dejara en agitación a temperatura ambiente por espacio de 3 h. (Esquema 23).



Esquema 23. Síntesis de (*R*)-3-(*L*-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo, **8**.

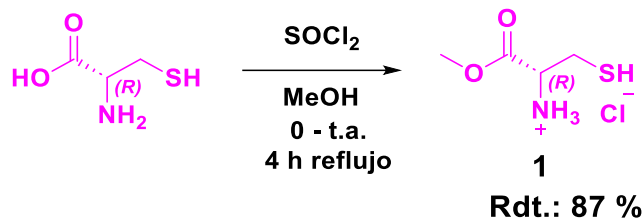
²² Baldwin, J. E., Field, R. A., Lawrence, C. C., Merritt, K. D., y Schofield, C. J. Proline 4-hydroxylase: Stereochemical course of the reaction. *Tetrahedron Letters*, **1993** 34(46), 7489–7492. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)60161-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)60161-2)

5 Conclusiones

- Se obtuvieron dos análogos del pidotimod derivados de la L-prolina y sustituidos en la posición tioaminal por un grupo fenilo. La metodología desarrollada no necesito el uso de DCC, que de acuerdo con los antecedentes estos residuos son difíciles de eliminar del crudo de las reacciones. Se requiere buscar condiciones que permitan elevar el rendimiento de reacción.
- A pesar de que los análogos del pidotimod obtenidos en este proyecto **5a**, **5b** y **8** se obtuvieron como mezcla diastereomérica inseparable, abren una nueva posibilidad para obtener estos y más análogos que sean potencialmente más útiles que el reportado a la fecha.

6 Parte experimental.

6.1 Clorhidrato del éster metílico de la cisteína 1.



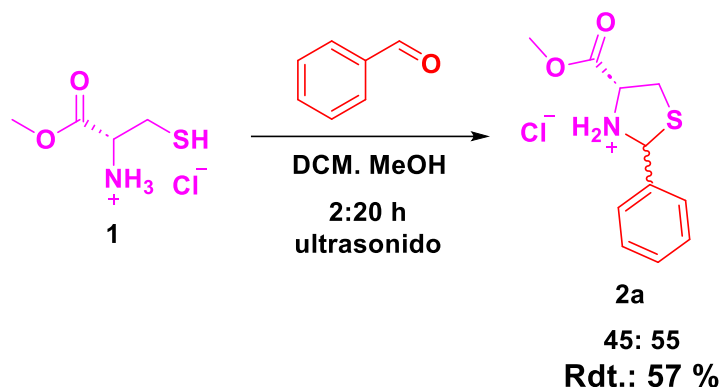
Se disuelve (3 g, 24.76 mmol) la L-cisteína en 50 ml de MeOH anhidrido, posteriormente se adiciona SOCl₂ (2.69 ml, 37.14 mmol) a 0 – t.a. °C, la reacción se mantiene a temperatura ambiente, y después se coloca a reflujo durante 4 h. La mezcla es concentrada al vacío, se realizan 3 lavados con éter etílico (3 x 15 ml), para precipitar el producto, se obtiene un sólido blanco en un rendimiento del 87%.

Característica física: Sólido Color: Blanco Rdt.: 87%

RMN-¹H (500 MHz, CD₃OD) δ: 3.13 (t, *J* = 3 Hz, 1H), 3.22 (s, 1H), 3.51 (s, 1H), 3.89 (s, 3H), 4.40 (t, *J* = 5 Hz, 1H).

RMN-¹³C (125 MHz, CD₃OD) δ: 23.7, 35.61, 51.4, 168.8.

6.2 (R)-4-(metoxicarbonil)-2-feniltiazolidin-3-io 2a.



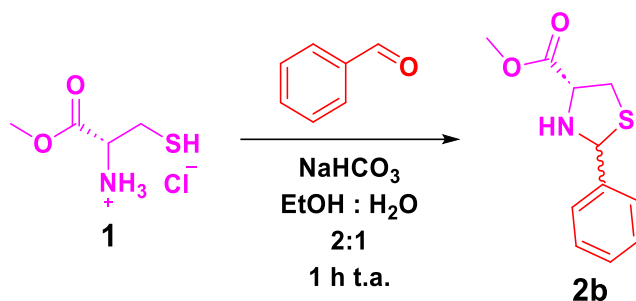
Se pesan 0.5 g del clorhidrato del éster metílico de cisteína en un matraz de bola de 100 ml y se adicionan 15 ml de DCM y 1.3 ml de MeOH, se agregan 0.33 ml de benzaldehído y se deja 2:20 h en ultrasonido, el producto se seca, y se realizan 2 extracciones en DCM (2 x 15 ml) y solución salina (2 x 15 ml), el producto se seca con NaSO₄ y es purificado por cromatografía en columna usando como fase estacionaria alúmina en un sistema hexano: AcOEt 60:40, el producto se obtiene en un rendimiento del 57 %.

Característica física: Aceite Color: Naranja Rdt.: 57 %

Producto mayoritario RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 3.12 (dd, *J* = 9 Hz, 1H), 3.47 (dd, *J* = 7 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.99 (dd, *J* = 7 Hz, 1H), 5.57 (s, 1H), 7.27 (t, *J* = 7.25 Hz, 1H), 7.33 (t, *J* = 8.25 Hz, 2H), 7.52 (dd, *J* = 8.5 Hz, 2H). RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 38.2, 52.6, 65.5, 72.6, 127.4, 128.7, 128.7, 138.1, 171.6.

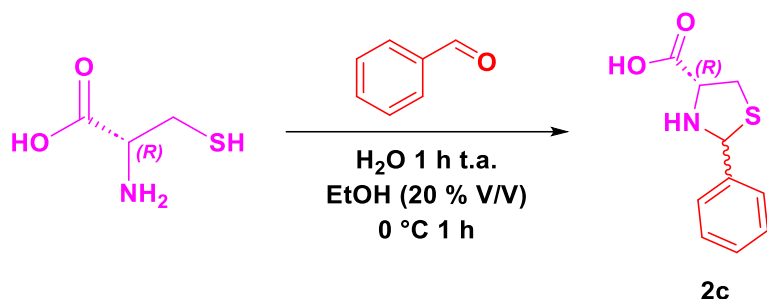
Producto minoritario RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 3.22 (dd, *J* = 5.8 Hz, 0.64 H), 3.39 (dd, *J* = 7 Hz, 0.64 H) 3.8 (s, 1.58H), 4.23 (dd, *J* = 6 Hz, 0.61H), 5.82 (s, 0.54), 7.27 (t, *J* = 7.25 Hz, 1H), 7.38 (t, *J* = 7 Hz, 2.21H), 7.48 (dd, *J* = 7.5 Hz). RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 38.2, 52.6, 64.3, 70.8, 126.9, 127.9, 128.4, 141.1, 172.2.

6.3 (R)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo 2b.



A una solución del clorhidrato de L-cisteinato de metilo (150 mg, 0.87 mmol, 1 equiv.) en un sistema EtOH:H₂O 2:1 V/V (3 ml) se adicionan bicarbonato de sodio (80.7 mg, 0.96 mmol, 1.1 equiv.) y el aldehído (0.18 ml, 1 mmol, 2 equiv.) se continua agitando por 1 h a temperatura ambiente, el progreso de la reacción se sigue por CCF, al terminar la reacción se adiciona cloroformo (4 ml) y se separa la fase orgánica, extrayendo con DCM (3 x 10 ml) después se lavan con 15 ml de H₂O y 15 ml de solución salina saturada y se seca con Na₂SO₄ se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida, se obtiene un producto aceitoso que es la mezcla de las tiazolidinas.

6.4 Ácido (*R*)-2-feniltiazolidina-4-carboxílico 2c.



Rdt.: 53%

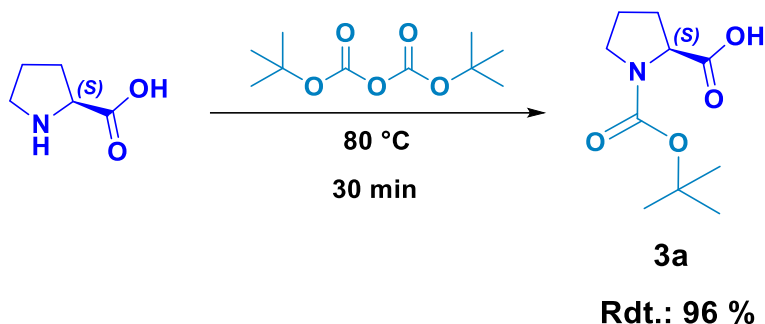
En un matraz de 5 ml se agrega la L-cisteína (50 mg, 41 mmol, 1 equiv.), y se disuelve en 1ml de agua destilada, se adiciona el benzaldehído (42 μ l, 1 mmol, 1 equiv.) y la mezcla de reacción se deja en agitación por 1 h a temperatura ambiente, la reacción se sigue por CCF, posteriormente se agrega EtOH (0.26 ml, 20% V/V) a una temperatura de 0 °C por una 1 h mas en agitación vigorosa, se forma un precipitado blanco el cual es filtrado y lavado con 5 ml EtOH, para posteriormente ser secado a vacío en el rotavapor, el producto se obtiene en un rendimiento del 53 %.

Característica física: Sólido Color: Blanco Rdt.: 53 %

Producto mayoritario RMN-¹H (500 MHz DMSO-d₆) δ : 3.09 (dd, J = 6.5 Hz, 1H), 3.16 (dd, J = 4.5 Hz, 1H), 4.25 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 5.68 (s, 1H), 7.27 (t, J = 7 Hz, 1H), 7.34 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.44 (d, J = 6.5 Hz, 2H) RMN-¹³C (125 MHz, DMSO-d₆) δ : 38.4, 65.3, 71.5, 127.4, 127.7, 128.1, 141.6, 173.4.

Producto minoritario RMN-¹H (500 MHz DMSO-d₆): δ 3.31 (dd, J = 7.5 Hz, 1H) 3.39 (dd, J = 7.5 Hz, 1H) 3.91 (t; J = 7.5 Hz, 1H), 5.51 (s, 1H), 7.27 (t, J = 7 Hz, 1H), 7.38 (t, J = 7 Hz, 2H) 7.51 (d, J = 6.5 Hz, 2H) RMN-¹³C (125 MHz, DMSO-d₆) δ : 38.9, 65.9, 72.2, 128.7, 128.7, 128.9, 139.3, 172.7.

6.5 (tert-butoxicarbonil)-L-prolina 3a.

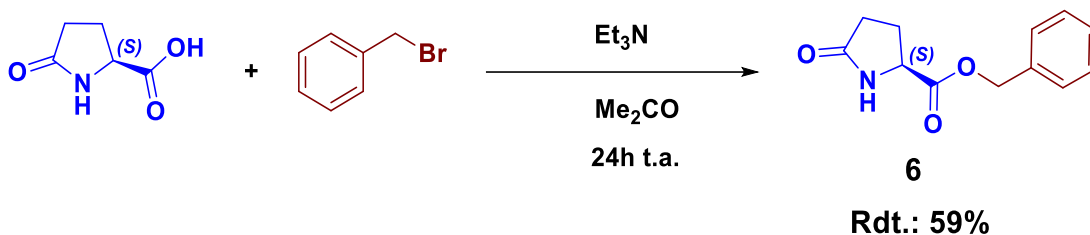


La reacción se realiza en un matraz de corazón, en un baño maría a 80 °C, se adiciona la L-Prolina (143.5 mg, 1.25 mmol, 1 equiv.), y el (Boc)₂O (0.315 ml, 1.35 mmol, 1.1 equiv.), la reacción dura 30 min, al terminar se lava 3 veces con hexano (3 x 10 ml) frío, eliminando los restos de Boc, al secar el producto se obtiene un solido blanco en un rendimiento de 96 %.

Característica física: Sólido Color: Blanco Punto de fusión: 150-152 °C Rdt.: 96 %
 $[\alpha]_{D^{20}} = 103.5^{\circ}$.

RMN-¹H (500 MHz CDCl₃) δ: 1.41 (s, 18H), 1.94 (m, 4H), 2.05 (m, 2H), 2.17 (m, 2H), 2.26 (m, 2H), 3.47 (m, 2H), 3.55 (m, 2H), 4.23 (dd, 4.5 J = 4.5 Hz, 1H) 4.35 (dd, J = 3.5 Hz, 1H) **RMN-¹³C** (125 MHz CDCl₃) δ: 23.6, 28.2, 30.8, 46.3, 58.9, 80.4, 153.9, 178.8.

6.6 (S)-5-oxopirrolidin-2-carboxilato de bencilo 6.

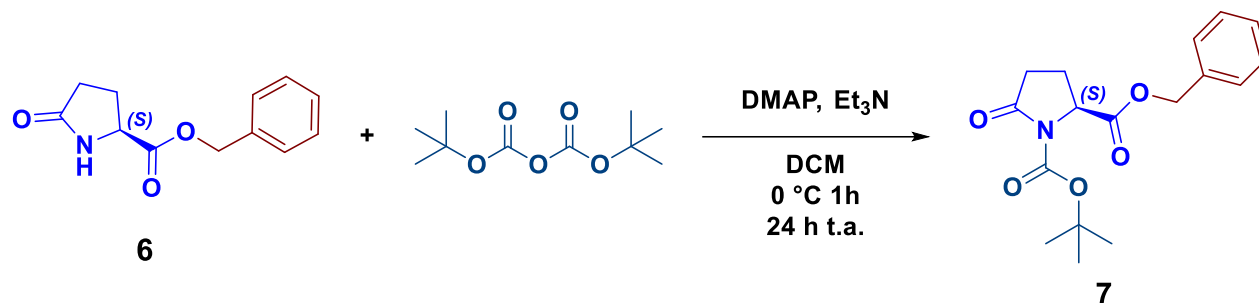


Se desuelve (1.29 g, 9.9 mmol, 1 equiv.) el ácido L-piroglutámico en 6 ml de acetona grado reactivo en agitación a temperatura ambiente, agregar bromuro de bencilo (1.3 ml, 10.99 mmol, 1.1 equiv.) y añadir trietilamina (2.5 ml, 18.21 mmol, 1.8 equiv.), la reacción se deja en agitación a temperatura ambiente por 24 h, se obtiene un precipitado blanco, se filtra el sólido, se realiza 2 extracciones con agua (2 x 20 ml) para remover la acetona, la fase orgánica es separada y secada con Na₂SO₄. La purificación del producto se realiza por cromatografía en un sistema AcOEt el producto se obtiene en un rendimiento del 59 %.

Característica física: Aceite Color: Naranja Rdt.: 59 %

RMN-¹H (500 MHz CDCl₃) δ: 2.20 (m, 1H), 2.3 (m, 1H), 2.36, (m, 1H), 2.45 (m, 1H), 4.27 (dd, *J* = 5 Hz, 1H), 5.18 (s, 2H), 7.32-7.38 (m 5H).
RMN-¹³C (125 MHz CDCl₃) δ: 24.7, 29.2, 55.5, 67.2, 128.3, 128.6 128.6, 135.1, 171.9, 178.1.

6.7 2-bencilo-1-(*tert*-butilo)(*S*)-5-oxopirrolidin-1,2-dicarboxilato 7.



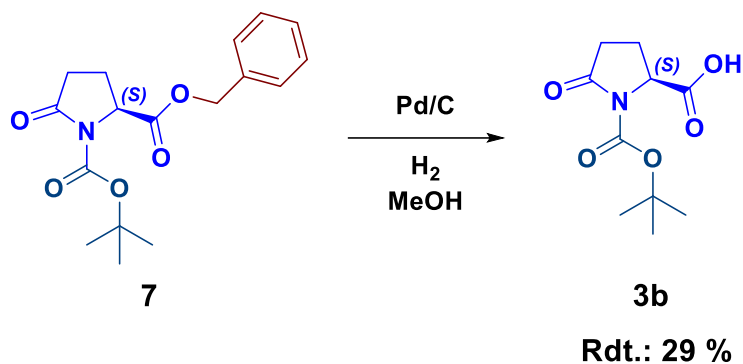
Se disuelve (796.4 mg, 3.63 mmol, 1 equiv.), del compuesto **6** en 14.53 ml de DCM grado reactivo agregar (Boc)₂O (1.67 ml, 7.27 mmol, 2 equiv.) a una temperatura de 0 °C en agitación por 1 h se adiciona DMAP (443.47 mg, 3.63 mmol, 1 equiv.), después se añade trietilamina (0.5 ml, 3.63 mmol, 1 equiv.), la reacción continua a temperatura ambiente por 24 h. La reacción fue lavada con una solución al 5% de ácido cítrico frío (2 x15 ml) y DCM (1 x 15 ml) y un segundo lavado con solución salina (1x 15 ml).

El producto fue purificado mediante cromatografía en columna flash en un sistema 70:30 Hexano: AcOEt, se obtiene un sólido blanco en un rendimiento del 40.8 %

Característica física: Sólido Color: Blanco Rdt.: 40.8 %

RMN-¹H (500 MHz CDCl₃) δ: 1.42,(s, 9H), 1.47 (s, 6.29H), 2.02 (m, 1H), 2.31 (m, 1H), 2.48, (m,1H), 2.59 (m, 1H), 4.64 (t, J = 4.5 Hz, 1H), 5.2 (s, 1H), 5.21 (s, 1H), 7.32-7.39 (m, 5H). RMN-¹³C(125 MHz CDCl₃) δ: 21.5, 27.8, 31.1, 58.9, 67.3, 83.6, 128.5, 128.6, 128.7, 135.1, 149.2, 171.1, 173.2.

6.8 Ácido (2S)-1-[(*tert*-butoxi)carbonil]-5-oxopirrolidin-2-carboxílico 3b.

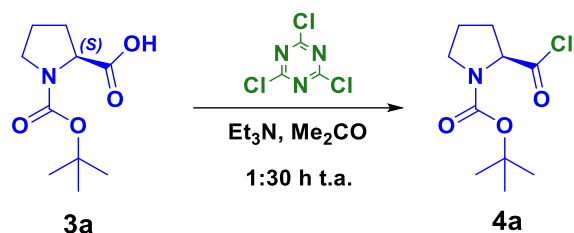


En un matraz de 25 ml disolver **7** (474 mg, 1.48 mmol, 1 equiv.) con 9.8 ml de MeOH grado reactivo y adicionar el Pd/C (14 mg, 1.32 mmol 0.089 equiv.) se colocó una atmósfera de hidrógeno, dejando la reacción en agitación a temperatura ambiente toda la noche. Al terminar la reacción se filtró por diatomita empleando MeOH, el disolvente se retiró evaporando lo en el rotavapor para ser secado *in vacuo*, se obtuvo un rendimiento del 29 %.

Característica física: Aceite Color: Blanco Rdt.: 29 %.

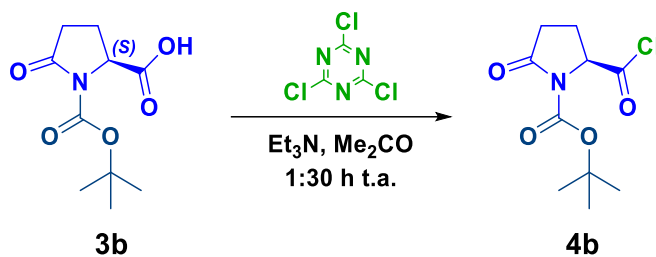
RMN-¹H (500 MHz CDCl₃) δ: 1.49 (s, 9H), 2.14 (m, 1H), 2.35 (s, 1H), 2.51 (m, 1H), 2.64 (m, 1H), 4.65 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H). RMN-¹³C (125 MHz CDCl₃) δ: 21.5, 27.8, 31.2, 59.1, 84.1, 149.5, 174.6, 175.8.

6.9 Síntesis del (2S)-2-(carbonocloridoil)pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo 4a.



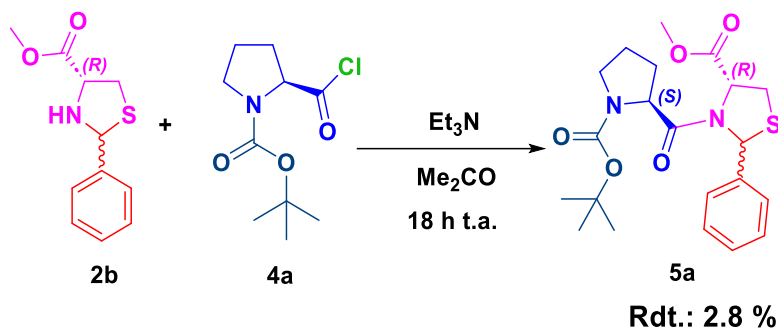
Se disuelve (107.62 mg, 0.5 mmol, 1 equiv.) de **3a** en 2 ml acetona grado reactivo, posteriormente se adiciona triclorotriacina (92.2 mg, 0.5 mmol, 1 equiv.) y al final adicionar trietilamina (70 μL , 0.5 mmol, 1 equiv.), la reacción se lleva a cabo en agitación a temperatura ambiente por 1:30 h la reacción se sigue por CCF al terminar la reacción se filtra para pasar a la siguiente reacción.

6.10 Síntesis del (2S)-2-(carbonocloridoil)-5-oxopirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo 4b.



Se disuelve (114.62 mg, 0.5 mmol, 1 equiv.) **3b** en 2 ml acetona grado reactivo posteriormente se agrega triclorotriazina (92.2 mg, 0.5 mmol, 1 equiv.) y al final se adiciona trietilamina (70 μ l , 0.5 mmol, 1 equiv.), la reacción se lleva a cabo en agitación a temperatura ambiente por 1:30 h la reacción se sigue por CCF al terminar la reacción se filtra para pasar a la siguiente reacción.

6.11 Síntesis del (*R*)-3-((*tert*-butoxicarbonil)-*L*-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxilato de metilo **5a**.



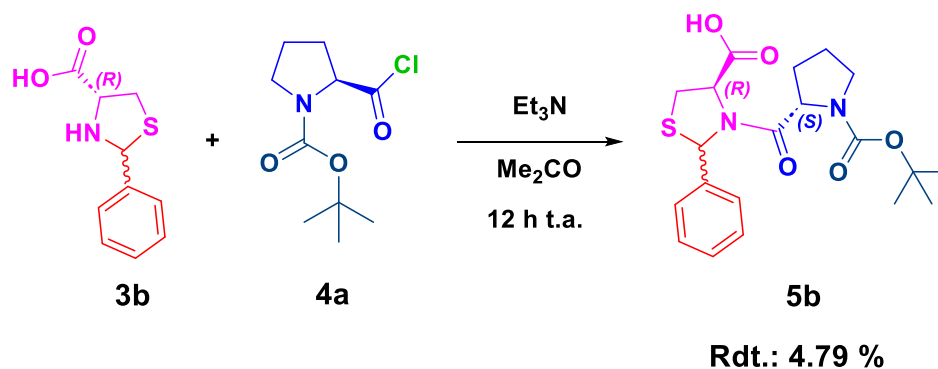
El filtrado de la reacción del producto **4a** es adicionado a la mezcla de tiazolidinas **2b** en 2 ml de acetona a la mezcla se adiciona trietilamina (Et_3N 70 μL 1 equiv.) la reacción se deja en agitación toda la noche, la reacción es purificada por cromatografía en columna, empleando un sistema Hexano: AcOEt 60:40 obteniendo 10.1 mg con un rendimiento de 2.8 %.

Característica física: Aceite Color: naranja Rdt.: 2.8 %

Producto mayoritario RMN- ^1H (500 MHz CDCl_3) δ : 1.43 (s, 9H), 1.65 (m, 2H), 1.9 (m, 1H), 2.01 (m, 1H), 3.3 (m, 2H), 3.49 (m, 2H), 3.84 (s, 3H), 4.25 (s, 1H), 5.08 (t, $J = 7$ Hz 1H), 6.61 (s, 1H), 7.36 – 7.67 (m, 5H). RMN- ^{13}C (125 MHz CDCl_3) δ : 24.3, 28.5, 29.7, 31.4, 47.06, 52.6, 57.4, 64.7, 65.8, 79.6, 126.3, 126.5, 127.2, 141.96, 153.30, 170.8, 173.6.

Producto minoritario RMN- ^1H (500 MHz CDCl_3) δ : 1.49 (s, 9H), 1.65 (m, 2H), 1.9 (m, 1H), 2.01 (m, 1H), 3.24 (m, 1H), 3.30 (m, 1H), 3.49 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 4.21 (m, 1H), 4.98 (t, $J = 3.75$ Hz, 1H), 6.27 (s, 1H), 7.36 – 7.67 (m, 5H). RMN- ^{13}C (125 MHz CDCl_3) δ : 23.5, 28.7, 30.9, 31.7, 47.1, 52.7, 57.3, 64.9, 65.8, 80.1, 128.5, 128.8, 128.9, 141.6, 154.4, 170.5, 173.3.

6.12 Síntesis del ácido(*R*)-3-((*tert*-butoxicarbonil)-*L*-prolil)-2-feniltiazolidina-4-carboxílico **5b**.



El filtrado de la reacción del producto **4a** (51.41 mg, 0.249 mmol, 1.1 equiv.) es adicionado a la mezcla de tiazolidinas **3b** (46.2 mg, 0.22 mmol, 1equiv.) en 2 ml de acetona a la mezcla se adiciona trietilamina (Et_3N 31 μL , 0.22 mmol, 1 equiv.) la reacción se deja en agitación toda la noche, la reacción es purificada por cromatografía en un sistema AcOEt obteniendo un rendimiento de 4.79 % (4.3 mg).

Característica física: Aceite Color: Amarillo Rdt.: 4.79 %

Producto mayoritario RMN- ^1H (500 MHz CDCl_3) δ : 1.42 (s, 9H), 2.05 (m, 2H), 2.14 (m, 1H), 2.24 (m, 1H), 3.26 (m, 2H), 3.39 (m, 2H), 3.71 (m, 2H), 6.45 (s, 1H), 7.20 – 7.53 (m, 5H) RMN- ^{13}C (125 MHz CDCl_3) δ : 26.9, 27.7, 28.3, 32.7, 46.5, 63.1, 64.6, 67.6, 81.7, 126.4 – 128.4, 138.4, 163.8, 168.7, 172.6.

Producto minoritario RMN- ^1H (500 MHz CDCl_3) δ : 1.36 (m, 8H), 2.05 (m, 2H), 2.16 (m, 1H), 2.25 (m, 1H), 3.26 (m, 2H), 3.39 (m, 2H), 4.25 (m, 2H), 6.45 (s, 1H), 7.20 – 7.53 (m, 5H) RMN- ^{13}C (125 MHz CDCl_3) δ : 26.9, 27.7, 28.3, 32.7, 46.5, 63.07, 64.6, 67.6, 81.7, 126.4 – 128.4, 138.4, 163.8, 168.7, 172.6.