



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

EVALUACIÓN CATALÍTICA DE HN-L-PROLINA-GLICINA-OMe Y
Cbz-N-L-PROLINA-GLICINA-OH EN LA REACCIÓN DE
MANNICH

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA

GERARDO MORALES HERREJÓN

ASESORA:

D.C. JUDIT ARACELI AVIÑA VERDUZCO

CO-ASESOR:

M.C. RAMÓN GUZMÁN MEJÍA

MORELIA, MICHOACÁN, MARZO 2015



El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Síntesis Orgánica del instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana de san Nicolás de Hidalgo, bajo la dirección de la D.C. Judit Araceli Aviña Verduzco.

Esta tesis se realizó con Financiamiento de los proyectos aprobados por la Coordinación de la Investigación Científica (UMSNH) y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CB-2009-131812-Q).

Parte de este trabajo de tesis se presento en el Programa Interinstitucional para el Fortalecimiento de la Investigación y Posgrado del Pacifico (Delfín) 2014.

Se contó con una beca de titulación del programa SUBES de la Coordinación de Becas De Educación Superior-SEP.

DEDICATORIA

A mis padres, por que sin ellos, jamás hubiese llegado hasta aquí.

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a la D.C. Judit Araceli Aviña Verduzco por darme la oportunidad de Integrarme a su equipo de trabajo, por su asesoría y consejos a lo largo del proyecto.

Agradecer al M.C. Ramón Guzmán Mejía, el D.Q. Mario Armando Gómez Hurtado, la D.C. Rosa Elva del Río Torres, el D.Q. Juan Pablo García Merinos y el D.C. Rafael Herrera Bucío, por sus aportaciones y sugerencias que fueron clave en la creación de este trabajo de tesis.

Con el mismo entusiasmo agradecer las atenciones prestadas por parte de la M.C. Sandra Gabriela Barbosa Muñoz.

De igual manera y por último agradezco a mis compañeros de laboratorio, especialmente a ustedes Juan y May por su ayuda y consejos, los cuales innumerables veces me fueron de gran utilidad en días de oscuridad.

ÍNDICE

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	1
RESUMEN	4
ABSTRACT	5
INTRODUCCIÓN	6
ANTECEDENTES	10
Reacción de Mannich	10
JUSTIFICACIÓN	23
OBJETIVO GENERAL	24
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
Síntesis de dipéptidos	26
Evaluación catalítica de los compuestos 1, 2 y 3 en la reacción de Mannich	29
CONCLUSIONES	41
PARTE EXPERIMENTAL	42
Generalidades	42
Cbz-HN-L-Pro-OH (5)	43
H ₂ N-Gli-OMe (7)	44
Cbz-N-Prolina-Glicina-OMe (8)	44
Cbz-N-Prolina-Glicina-OH (1)	45
HN-L-Prolina-Glicina-OH (2)	46
HN-L-Prolina-Glicina-OMe (3)	47
Reacción de condensación de Mannich	47
Método 1	47
Método 2	48
<i>sin</i> -2-(<i>p</i> -nitrofenil)(piperidin-1-il)ciclohexanona (9a)	49
<i>anti</i> -2-(<i>p</i> -nitrofenil)(piperidin-1-il)ciclohexanona(9b)	49
BIBLIOGRAFÍA	50
ANEXO	53

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

δ	Desplazamiento químico
Å	Angstroms
iPrOH	Isopropanol
$[\alpha]_D$	Rotación específica
α	Alfa
β	Beta
γ	Gamma
°C	Grados Celsius
aa	Aminoácido
AcOEt	Acetato de etilo
Ala	Alanina
Cat	Catalizador
Cbz	Benciloxycarbonilo
CbzCl	Cloroformiato de bencilo
COSY	Correlation Spectroscopy
C-X	Carbono-Heteroátomo
d	Señal doble
dd	Señal doble de dobles
DCM	Diclorometano
DMSO	Dimetilsulfóxido
DIEA	N,N-Diisopropiletilamina
DPP	Difenilfosfinoilo
ee	Exceso enantiomérico
eq	Equivalente químico
Fen	Fenilalanina
GP	Grupo protector
Gli	Glicina

g	Gramo (s)
h	Hora (s)
Hex	Hexano
Hz	Hertz
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
<i>i</i> -BBOI	Cloroformiato de isobutilo
Ile	Isoleucina
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
Leu	Leucina
m	Múltiple
MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
mL	Mililitro (s)
Mmol	Milimol
N	Normalidad
p.f.	Punto de fusión
Pd/C	Paladio sobre carbón activado
pH	Potencial de hidrógeno
<i>p</i> -	<i>Para</i>
PMP	<i>p</i> -metoxifenilo
ppm	Partes por millón
Pro	Prolina
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
rd	Relación diasteromérica
R _f	Factor de retención
Rto.	Rendimiento químico
RSP	Principio de Reactividad Selectividad
s	Señal simple
THF	Tetrahidrofurano
Ts	Tosilo

Evaluación catalítica de HN-L-Prolina-Glicina-OMe y Cbz-N-L-Prolina-Glicina-OH en la reacción de Mannich

t.a. Temperatura ambiente

UV Ultravioleta

Val Valina

RESUMEN

La asimetría molecular representa uno de los aspectos más interesantes y complicados de la naturaleza, un ejemplo importante de ello lo tenemos en las complejas estructuras biológicas llamadas enzimas; macromoléculas dotadas de una enorme especificidad y poder discriminatorio, un trabajo más que llamarse excepcional, representa una obra de arte inigualable, que hasta nuestros días, aún algunos aspectos de ello resultan un misterio para los químicos orgánicos que estudian la síntesis asimétrica.

La importancia de la síntesis asimétrica radica en la farmacología principalmente, ya que una gran proporción de los fármacos usados en el cuidado de la salud humana, contienen al menos un centro quiral dentro de su estructura molecular.

Es debido a la importancia de esta disciplina, que en el presente trabajo se describe la síntesis y aplicación de los derivados peptídicos Cbz-N-L-Prolina-Glicina-OH, HN-L-Prolina-Glicina-OMe y el péptido NH-L-Prolina-Glicina-OH, como catalizadores quirales en la reacción asimétrica indirecta de Mannich para la síntesis de las aminocetonas *syn*-2-(p nitrofenil)(piperidin-1-il)ciclohexanona y *anti*-2-(p-nitrofenil)(piperidin-1-il) ciclohexanona. La estereoselectividad fue determinada por medio de RMN ¹H y Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC).

Palabras clave: Síntesis asimétrica, Mannich, catalizador, exceso enantiómero, diastereoselectividad.

ABSTRACT

The molecular asymmetry is one of the most interesting and complicated aspects of nature, an important example of this are the complex biological structures called enzymes; macromolecules endowed with enormous specificity and discriminatory power, a work that nowadays represents a unique piece of art, from which some aspects still being a mystery for organic chemists who studying asymmetry synthesis.

The importance of asymmetry synthesis lies mainly in pharmacology because a large proportion of the drugs used in human health care, containing at least one chiral center in their molecular structure.

Is due to the importance of this discipline, that in this work was described the synthesis and application of peptide derivates Cbz-N-L-Proline-Glycine-OH, HN-L-Proline-Glycine-OMe and the peptide HN-L-Proline-Glycine-OH as chiral catalyst in the indirect asymmetric Mannich reaction to the synthesis of the aminocetones *syn*-2-(*p*-nitrophenyl)(piperidin-1-yl) cyclohexanone and *anti*-2-(*p*-nitrophenyl)(piperidin-1-yl) cyclohexanone. The stereoselectivity was determined by means of ¹H RMN y HPLC.

Keywords: Asymmetric synthesis, Mannich, enantiomeric excess, diastereoselectivity.

INTRODUCCIÓN

La Química es la disciplina científica que estudia la materia y sus transformaciones, esta connotación ilustra una de las mayores metas de la química para proporcionar de manera controlada y económica, productos valiosos a partir de materias primas disponibles.

En la química orgánica el “valor” de un compuesto está directamente relacionado con su pureza y en área de la síntesis asimétrica de compuestos biológicamente activos, esto se traduce en la búsqueda de compuestos quirales enantioméricamente puros. En este sentido, el desarrollo de diversos procedimientos que llevan a cabo transformaciones enantioselectivas de compuestos orgánicos en altos rendimientos se ha incrementado sustancialmente en los últimos años, siendo la mayoría de estas nuevas metodologías de naturaleza catalítica.¹

Por otra parte, la demanda de productos o intermediarios quirales sintéticos por parte de diversas industrias como la agroquímica, la de los aromas o la farmacéutica ha crecido extraordinariamente, y por ello, el perfeccionamiento de las metodologías para la preparación de estos compuestos tiene una repercusión práctica muy importante.

Un catalizador es un compuesto que incrementa la velocidad a la que se produce una reacción química sin consumirse en la reacción, es capaz de efectuar un sin número de veces una reacción química. De este modo, una pequeña cantidad de catalizador permite la transformación de un elevado número de moléculas.²

Un catalizador quiral además de acelerar una reacción, induce a la formación preferente de uno o varios estereoisómeros todos los posibles (multiplicación de la quiralidad), de un modo análogo a como las enzimas actúan en los seres vivos.³

En este contexto, la catálisis ha sido reconocida como un método versátil para la síntesis orgánica tanto en el sector industrial como académico, ya que conlleva una operación experimental sencilla, condiciones de reacción suave, de bajo costo, reactivos y disolventes ambientalmente amigables, y la posibilidad de preparación a gran escala en procesos químicos.⁴

Hasta hace algunos años los catalizadores quirales empleados en la síntesis enantioselectiva de compuestos orgánicos se dividía en dos grandes categorías: enzimas y complejos metálicos.

A este respecto, en el año 2001 el premio Nobel en Química fue otorgado a los químicos Willian R. Knowles, Ryoji Noyori y K. Barry Sharpless por su contribución en la comprensión de los procesos catalíticos quirales, con metales de transición y su aplicación en la síntesis de moléculas quirales.⁵ Estas aportaciones provocaron un extraordinario desarrollo en la catálisis asimétrica, llegando a convertirse en un área de notable importancia dentro de la química.

Por otra parte, el uso de enzimas como biocatalizadores ha tenido un gran avance en los últimos años debido a la alta especificidad que presentan con los sustratos, la alta estereoselectividad, la reducción de la energía de activación; así como la reducción de etapas en el proceso de síntesis. Sin embargo, el uso de las enzimas está limitado debido a que se requiere una gran cantidad de estas ya que no pueden aumentar su número, pierden su reactividad, no tienen la capacidad de adaptarse y su costo es elevado.^{6,7}

Entre los extremos de catálisis con metales de transición y la transformación enzimática, está la “organocatálisis” como una tercera aproximación a la producción catalítica de compuestos orgánicos enantioméricamente puros. Los organocatalizadores son moléculas puramente “orgánicas” compuestas (en su mayoría) por carbono, hidrógeno, nitrógeno, azufre y fósforo. Opuesto a los ligantes orgánicos en los complejos con metales de transición, la actividad catalítica de los organocatalizadores reside en la molécula orgánica de bajo peso

molecular por lo que no son requeridos metales de transición o cualquier otro metal.

La organocatálisis tiene varias ventajas entre las que destacan que los organocatalizadores son moléculas pequeñas y robustas; son relativamente económicos, fácilmente disponibles y poco tóxicos. Debido a que son inertes a la humedad y el oxígeno, no son requeridas condiciones de reacción demandantes, por ejemplo, atmósfera inerte, baja temperatura, disolventes absolutos, etc. Debido a la ausencia de metales de transición, los métodos organocatalíticos son especialmente atractivos en la preparación de compuestos que no toleran una contaminación por metales como los productos farmacéuticos.

El empleo de organocatalizadores se basa en el uso de compuestos de bajo peso molecular en un intento de entender e imitar la actividad catalítica y selectividad de las enzimas, llevando a cabo una variedad de transformaciones químicas eficazmente y de manera estereoselectiva. Los químicos, en un afán por imitar la eficiencia enzimática en la naturaleza, han transformado diferentes aminoácidos y péptidos en una gran variedad catalizadores quirales.¹

Ejemplo de ello son el uso de la L-prolina (I) (Figura 1), un aminoácido natural, como catalizador en reacciones aldólicas. Esta reacción se lleva a cabo vía la formación de un intermediario enamina o un ión iminio.⁸

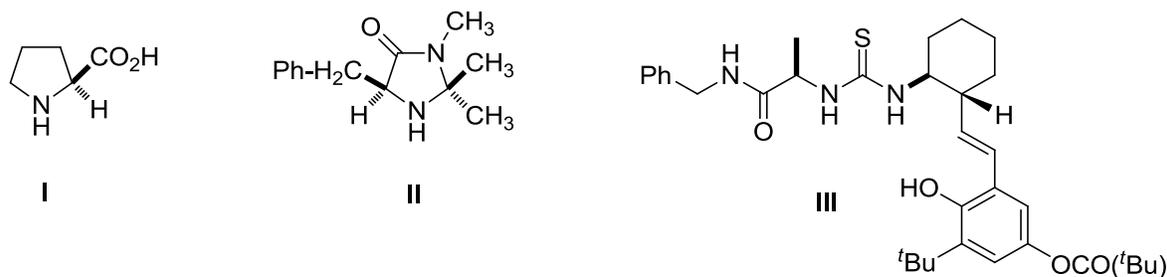
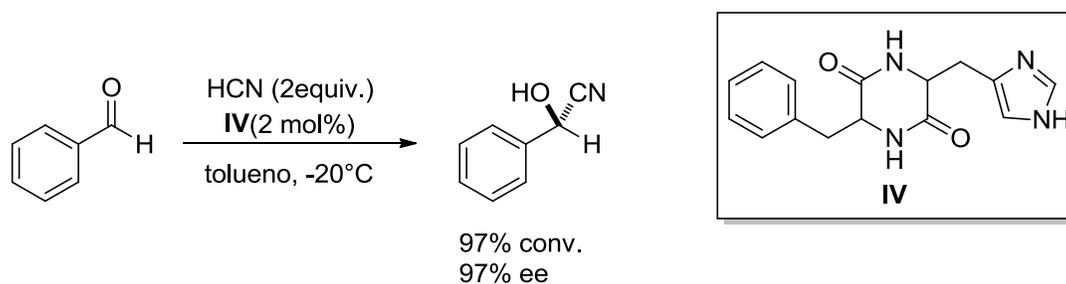


Figura 1. Organocatalizadores quirales.

Organocatalizadores derivados de aminoácidos tales como la imidazolidinona **II** introducida por MacMillan,⁹ o la tiourea quirál **III** descrita por Jacobsen,¹⁰ mostraron una excelente enantioselectividad en reacciones Diels Alder de aldehídos α,β -insaturados o la hidrocianación de iminas respectivamente.

Inoue y Lipton,¹¹ emplearon el ciclo α -dipéptido **IV** como catalizador en la síntesis asimétrica de Strecker de cianohidrinas y α -amino ácidos (Esquema 1).



Esquema 1. Síntesis de cianohidrinas quirales.¹¹

Jacobsen y colaboradores reportaron el catalizador peptídico **V** da una excelente enantioselectividad en la reacción de Strecker con aldiminas alifáticas (Figura 2).¹²

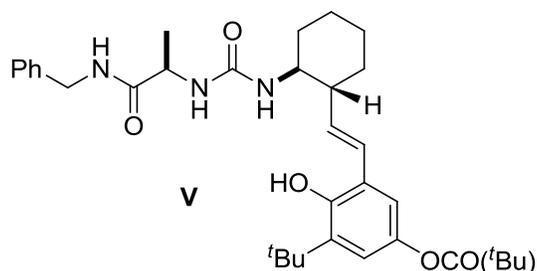


Figura 2. Catalizador peptídico de Jacobsen y col.¹²

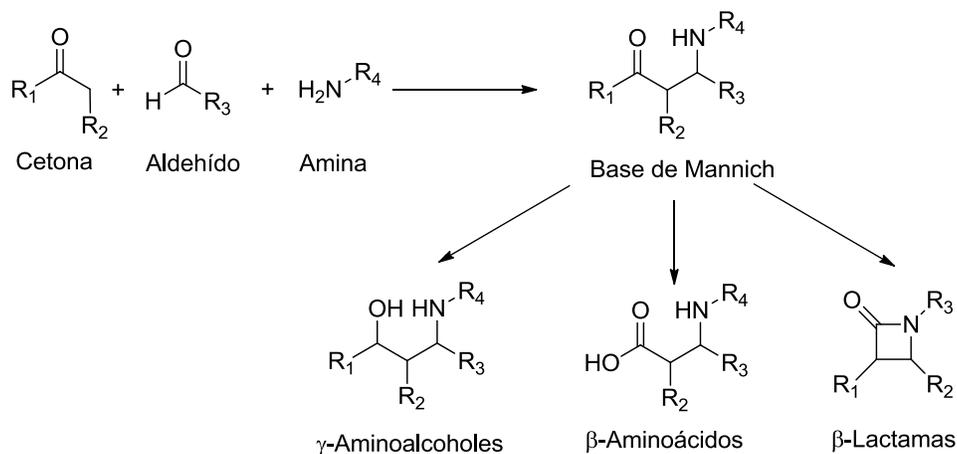
ANTECEDENTES.

Reacción de Mannich

La vasta mayoría de moléculas en la naturaleza, incluyendo las proteínas como los ácidos nucleicos y la mayoría de los compuestos biológicamente activos contienen nitrógeno en su estructura. Consecuentemente el desarrollo de nuevos métodos para la síntesis de moléculas nitrogenadas ha definido las fronteras de la síntesis orgánica desde su comienzo.

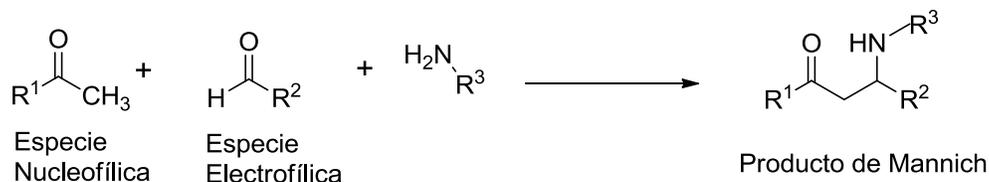
Fue en el año de 1912 cuando el químico Carl Mannich, publicó sus estudios sistemáticos acerca de una reacción que era llevada a cabo con tres componentes un compuesto enolizable (aldehído o cetona), un componente carbonílico no enolizable y una amina primaria o secundaria para producir un compuesto β -aminocarbonílico.¹³

La reacción de Mannich es un método clásico para la preparación de compuestos β -aminocarbonílicos, α y β -aminoácidos, β -lactamas, aminoalcoholes, los cuales son valiosos sintones en la química de polímeros,¹⁴ en la síntesis de productos naturales,¹⁴ en el área de la medicina y en la industria farmacéutica para la producción de fármacos, o dianas farmacéuticas¹⁵ así como en la síntesis de péptidos con propiedades estructurales únicas (Esquema 2).¹⁶



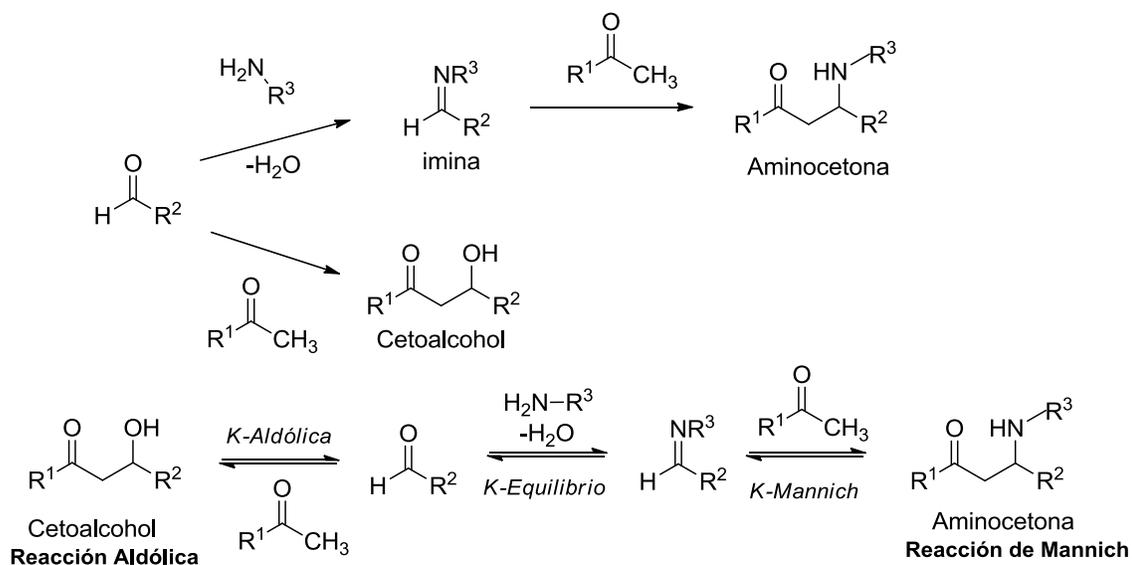
Esquema 2. Aplicación de los productos de la reacción de Mannich.¹⁷

Se han descrito dos vías para la obtención del producto de Mannich, una de ellas es la llamada *reacción directa de Mannich*¹⁸⁻²⁰ la cual se lleva a cabo en un solo paso o “one pot”, esta reacción consiste en la condensación de dos especies carbonílicas con una amina (Esquema 3).



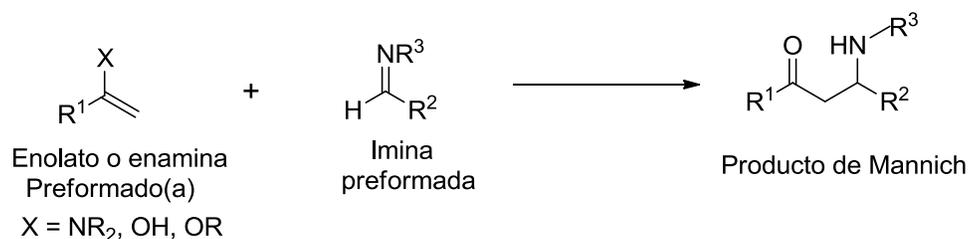
Esquema 3. Reacción directa de Mannich

Esta reacción es poco utilizada debido a que en la mayoría de los casos presenta una baja selectividad, ya que al formar la enamina con la cetona esta puede atacar nucleofílicamente al aldehído o a la imina formada por la condensación de la amina con el aldehído, dando como resultado una mezcla de los productos de la reacción de Mannich, los productos de la reacción aldólica o ambos (Esquema 4).



Esquema 4. Equilibrio entre la reacción de Mannich y aldólica.²⁰

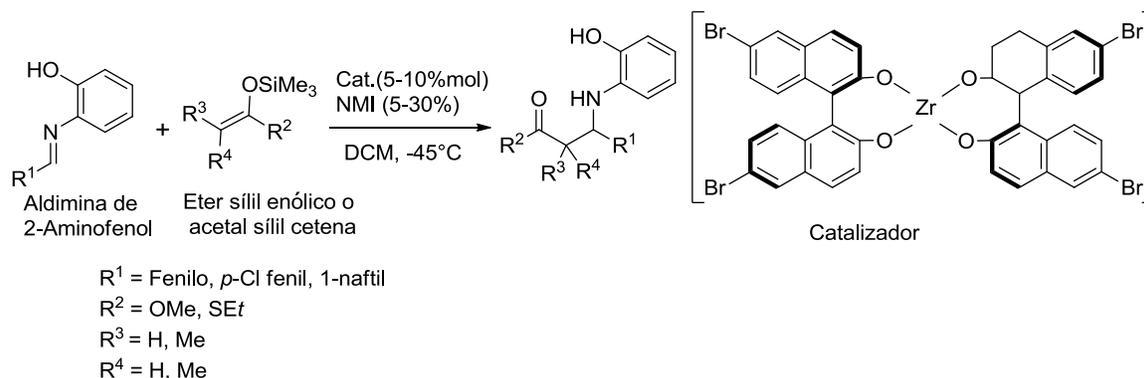
La reacción *indirecta* de Mannich;¹⁹⁻²¹ se caracteriza por el uso de nucleófilos previamente formados como enolatos, éteres silil enólicos, enolatos de boro, enolatos de litio y enaminas, o electrófilos tales como iminas, hidrazonas y sales de iminio (Esquema 5).



Esquema 5. Reacción indirecta de Mannich.

Se ha observado que en esta variante disminuye la formación de subproductos debido a reacciones cruzadas entre los sustratos de la reacción, formando mayoritariamente el producto de Mannich respecto al cetoalcohol aldólico.

Basándose en la reacción indirecta de Mannich, Kobayashi et. al.²¹ reportaron la primera variante asimétrica de esta reacción entre ésteres sílil enólicos y iminas (previamente formadas) derivadas del 2-aminofenol, usando *N*-Metilimidazol (NMI) como aditivo, obteniendo excesos enantioméricos (ee) del 80-98% (Esquema 6).



Esquema 6. Reacción asimétrica de Mannich reportada por Kobayashi.²¹

Desde entonces aparecieron una gran cantidad de metodologías que basaban su actividad catalítica estereoselectiva en ácidos de Lewis acomplejados a moléculas orgánicas (Figura 3), estas moléculas demostraron muy buena capacidad catalítica en la reacción aldólica, por lo cual se decidió probar esa característica en la reacción de Mannich, el inconveniente en estos primeros reportes de reacción radicaba en que estaba restringida solo para la adición de unos cuantos compuestos donadores tales como, cetonas aromáticas no cíclicas, hidroxicetonas y derivados del piruvato, así como unos cuantos compuestos como aceptores tales como aminometiléteres en combinación con triflato metálicos, iminas protegidas; como las *N*-Difenilfosfinoil-iminas (DPP), *N-p*-metoxifenil-iminas (PMP) y *N*-Tosil-iminas (Ts).²²⁻²⁵

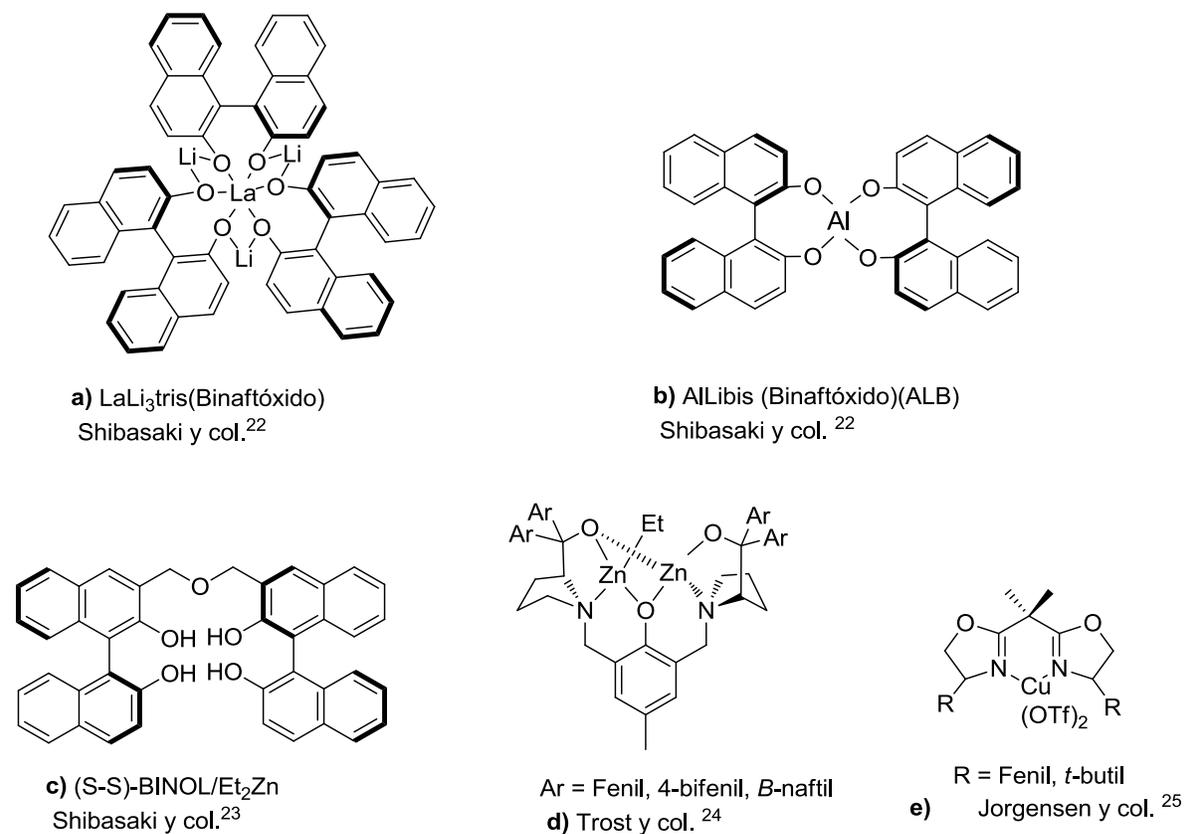
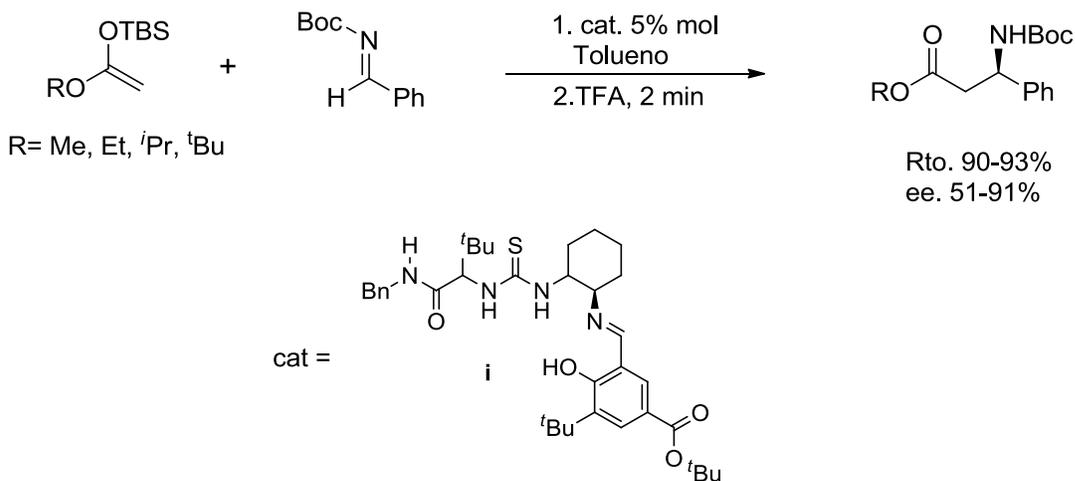


Figura 3. Catalizadores quirales usados en la reacción asimétrica de Mannich.

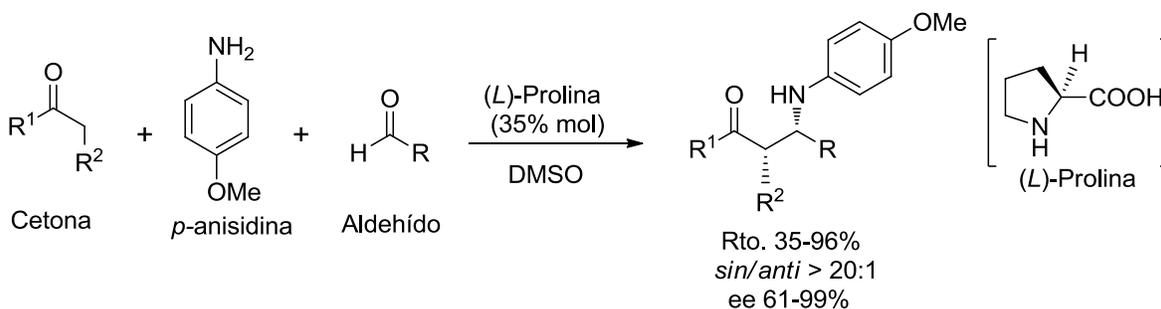
Poco tiempo después se demostró que la reacción también podía ser promovida por organocatalizadores quirales libres de metal, tales como moléculas derivadas de urea (i) sintetizados por Jacobsen y col., mostrando rendimientos del 90-93 % y ee desde 51 hasta 91% (Esquema 7).²⁶

Evaluación catalítica de HN-L-Prolina-Glicina-OMe y Cbz-N-L-Prolina-Glicina-OH en la reacción de Mannich



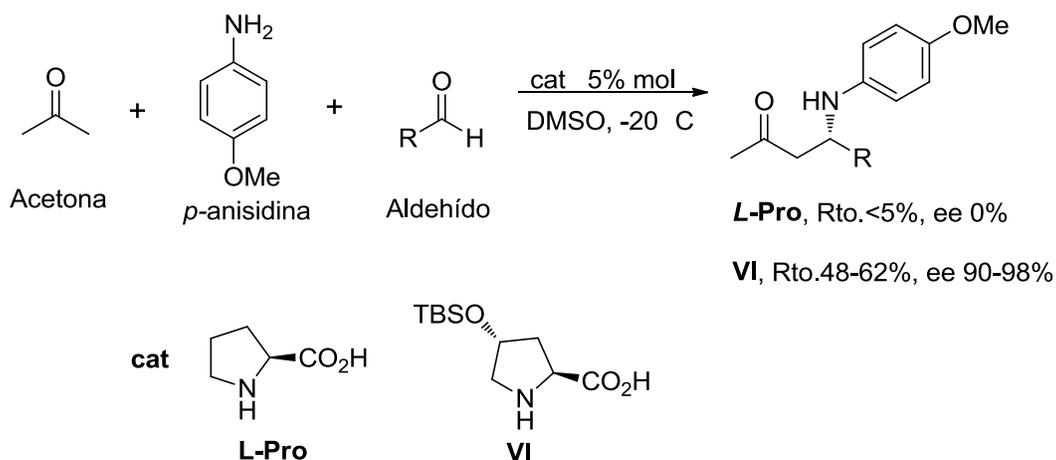
Esquema 7. Derivado de tiourea de Jacobsen y col.

En el año 2000 List y col.²⁷ llevaron a cabo la primera reacción asimétrica de Mannich de tres componentes catalizada por prolina (Pro), siendo este el primer trabajo en el cual se utilizan aminoácidos como catalizadores quirales. Ellos utilizaron *p*-anisidina, cetonas acíclicas, aldehídos aromáticos y alifáticos α-sustituidos en DMSO, dando como resultado los productos β-amino carbonílicos como productos mayoritarios en configuración *sin* en una proporción (*sin/anti*) 20:1, con un ee del 99%, haciendo notar que los mejores resultados se observaron cuando se usaron aldehídos alifáticos (Esquema 8).



Esquema 8. Reacción de Mannich catalizada por L-Prolina.²⁷

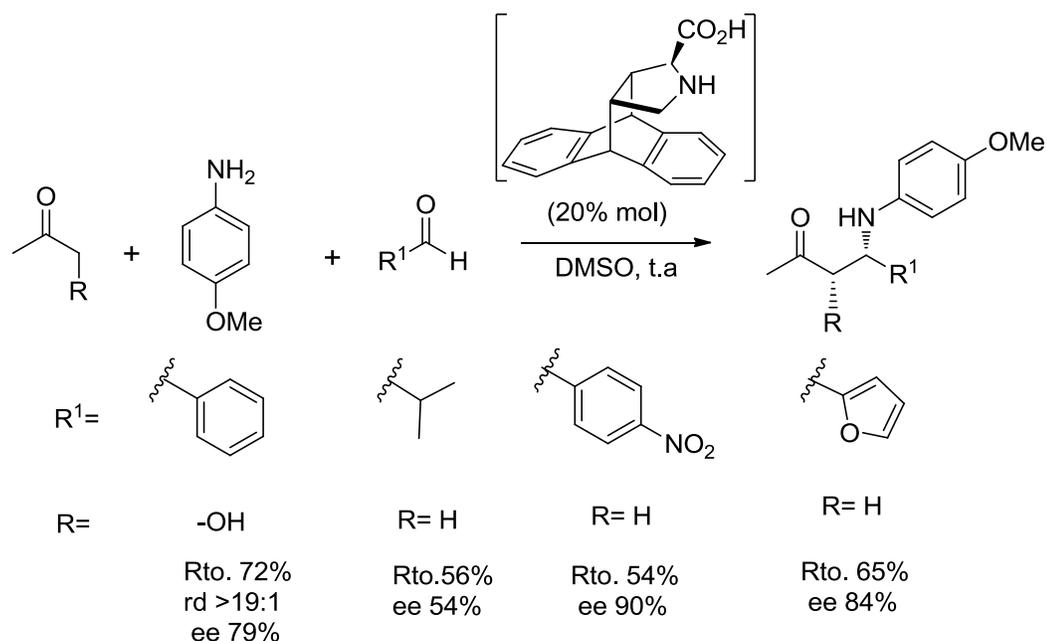
Unos años más tarde Hayashi y colaboradores reportaron una reacción de Mannich asimétrica con un derivado de la Pro, la *trans*-4-siloxiprolina (**VI**). En este trabajo se comparó la eficiencia de la *L*-prolina con su derivado (**VI**) usando acetona, *p*-metoxianilina y aldehídos ricos en electrones como el *p*-anisaldehído y el 3,4-dimetoxibenzaldehído (Esquema 9).^{28,29}



Esquema 9. Reacción de Mannich catalizada con *L*-Pro y *trans*-4-siloxiprolina.^{28,29}

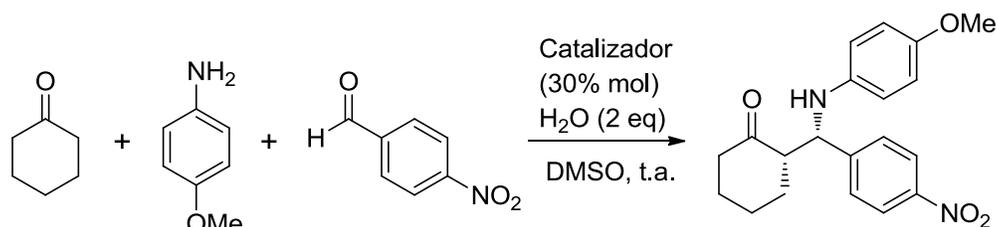
Los resultados indicaron que la *trans*-4-siloxiprolina (**VI**) muestra una mayor eficiencia que la *L*-Pro, obteniendo los productos correspondientes en rendimientos del 48 al 62% y un ee del 90 al 98% comparados con el 5% de rendimiento y 0% ee de la *L*-Pro.

Por su parte Kotzuki y col. desarrollaron un catalizador quiral de *L*-prolina fusionado a un anillo de antraceno el cual usaron en una reacción directa asimétrica de Mannich entre aldehídos, *p*-anisidina y metilcetonas. La formación de las β -aminocetonas *N*-PMP-protegidas se dio en rendimientos del 54 al 76% y ee del 54% al 90% (Esquema 10).³⁰

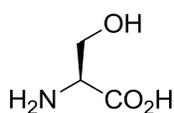


Esquema 10. Reacción asimétrica de Mannich reportada por Kotzuki.³⁰

Cordova y col.³¹ utilizaron aminoácidos primarios acíclicos quirales como serina (Ser), valina (Val), isoleucina (Ile), leucina (Leu), alanina (Ala) y alanina-tetrazol (Ala-tetrazol) para catalizar la reacción directa de Mannich con altas quimio-, diastero-, y enantió-selectividades. Ellos obtienen rendimientos del 18-74% y ee del 91 al 99%, siendo la alanina-tetrazol el catalizador que mostró la más alta eficiencia en la reacción (Esquema 11).

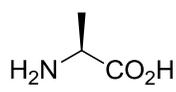


CATALIZADORES



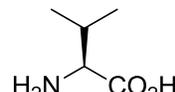
Ser

Rto. 60%
rd 6:1, ee 94%



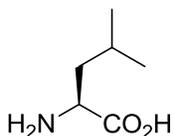
Ala

Rto. 30%
rd 3:1, ee >99%



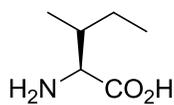
Val

Rto. 65%
rd 2:1, ee 91%



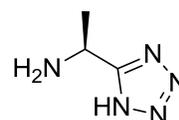
Leu

Rto. 38%
rd 6:1, ee 94%



Ile

Rto. 18%
rd 3:1, ee 91%

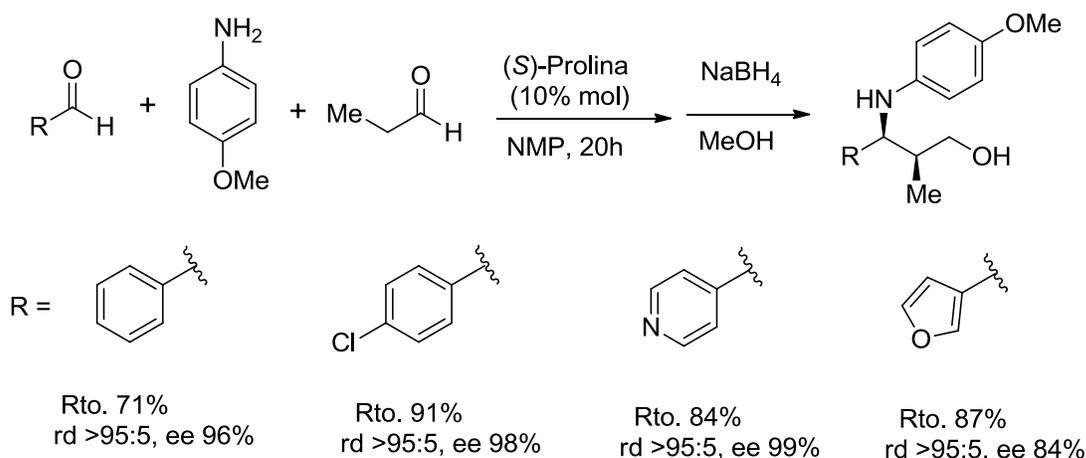


Ala-Tetrazol

Rto. 74%
rd 3:1, ee 94%

Esquema 11. Reacción con catalizadores quirales acíclicos, Córdoba y col.³¹

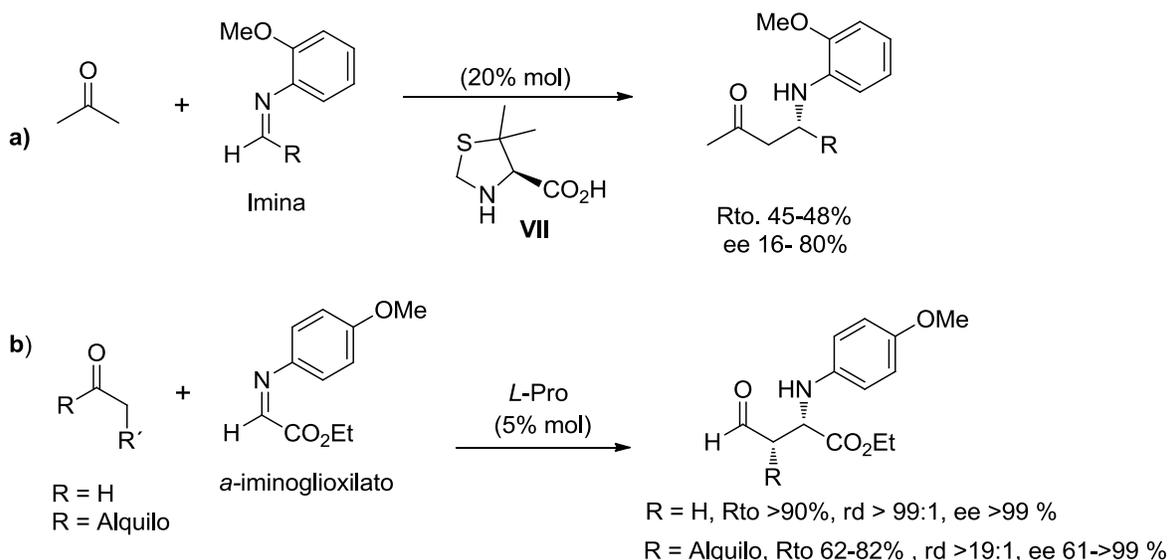
Por su parte, Hayashi y col.³² reportaron una reacción *one-pot* con *p*-anisidina y diferentes aldehídos, generándose los correspondientes aminoalcoholes en buenos rendimientos y enantioselectividades por arriba del 84 % (Esquema 12).



Esquema 12. Reacción directa de Mannich reportada por Hayashi y col.³²

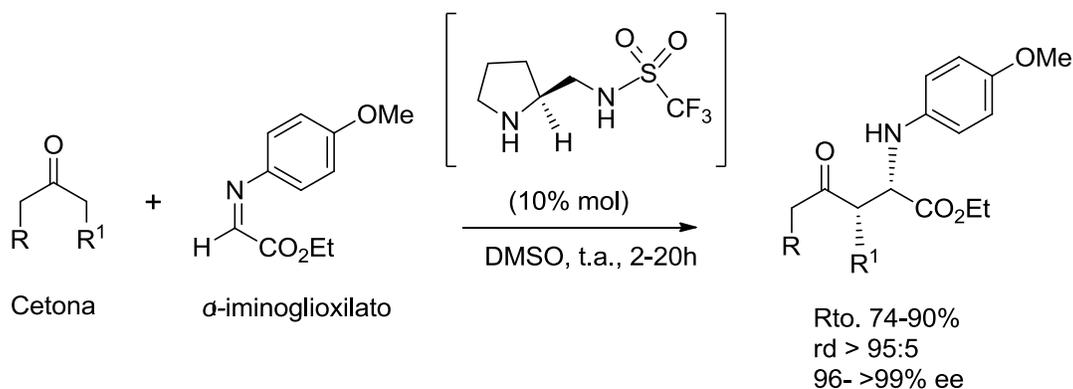
Barbas y col. han hecho una extensa investigación usando una gran variedad de catalizadores derivados de aminoácidos. Uno de los ensayos más representativos es la reacción de Mannich catalizada por el Ácido (S)-5,5-dimetiltiazolidin-4-carboxílico (VII), con acetona y iminas derivadas de la *o*-anisidina (Esquema 13a).^{33,34}

Además reportaron la reacción entre el α -iminogloxilato de etilo como aceptor en presencia de *L*-Pro como catalizador quiral. La reacción se llevó a cabo con una gran variedad de aldehídos y cetonas mostrando diastereoselectividades por arriba del 99 % y un ee del 99 % (Esquema 13b).³⁵⁻⁴⁰



Esquema 13. Reacción indirecta de Mannich realizada por Barbas y col.

Por su parte, Wang *et al.* probaron una pirrolidina-sulfonamida, un derivado de la prolina, resultando ser un excelente catalizador quiral de la reacción de Mannich de cetonas con α -imino ésteres obteniendo los productos β -aminocarbónicos en rendimientos moderados y con buen exceso enantiomérico (96-99%) (Esquema 14).⁴¹



Esquema 14. Reacción indirecta catalizada por un derivado de prolina.⁴¹

Ley y col. sintetizaron el derivado 5-pirrolidin-2-iltetrazol para ser usado como catalizador de la reacción de Mannich, obteniéndose rendimientos del 66 % y ee's mayores del 99 % (figura 4).⁴²

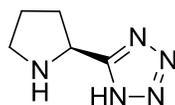
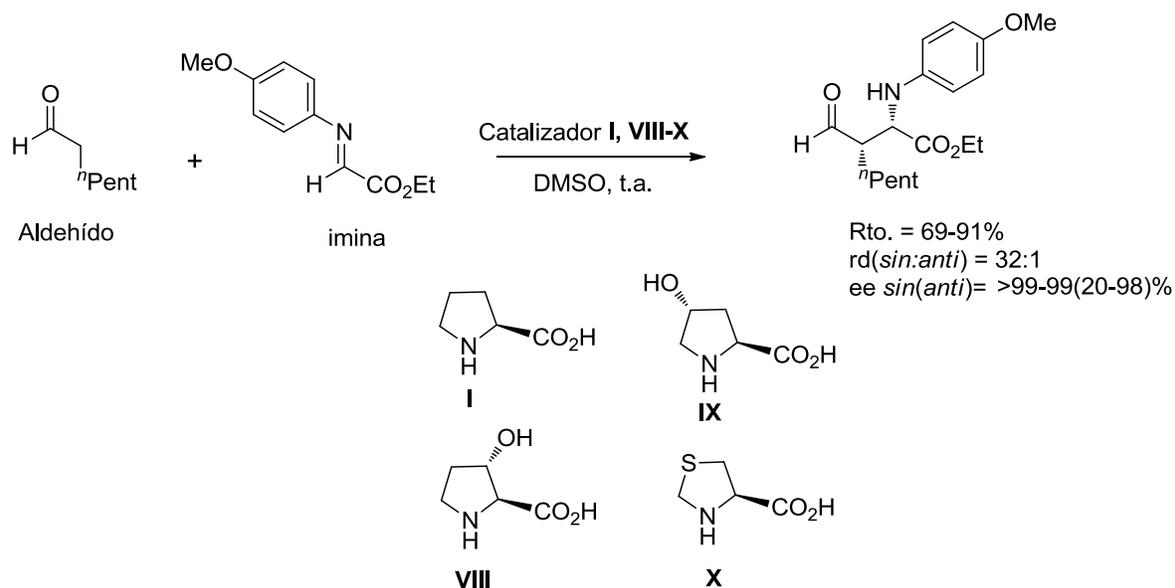


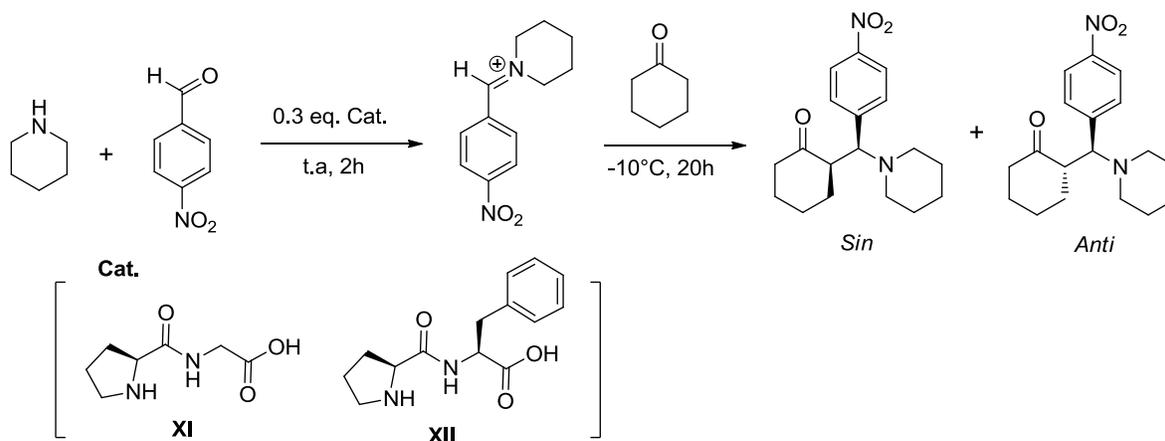
Figura 4. Catalizador de Ley y col.⁴²

Wolfgang y col. llevaron a cabo la reacción indirecta de Mannich entre heptanal y el α -iminogloxilato de etilo usando como catalizadores derivados de la prolina con modificaciones estructurales en torno al anillo pirrolidinico. Solo la prolina (**I**), hidroxiprolina (**VIII-IX**), produjeron los productos deseados en rendimientos aceptables y muy alta estereoselectividad del 99 % (Esquema 15).¹⁴



Esquema 15. Derivados de prolina utilizados como catalizadores.¹⁴

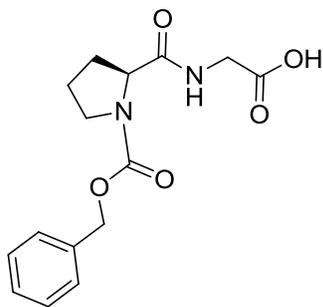
Recientemente nuestro grupo de investigación reportó el uso de los dipéptidos L-Pro-Gli (**XI**) y L-Pro-L-Fen (**XII**) como catalizadores en la reacción indirecta asimétrica de Mannich, en ausencia de disolvente, obteniéndose un rendimiento del 67% y una diastereoselectividad de 9:1 *sin/anti* con el catalizador quiral (**XI**) (Esquema 16).¹⁷



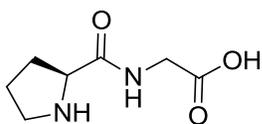
Esquema 16. Reacción Mannich catalizada por Pro-Gli (**XI**) y Pro-Fen (**XII**).¹⁷

JUSTIFICACIÓN

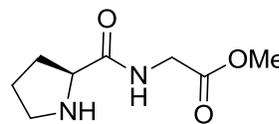
Teniendo como base los estudios desarrollados sobre la capacidad y versatilidad catalítica de la prolina y derivados de *L*-prolina al ser utilizados en la formación de enlaces C-C mediante reacciones de adición Mannich, en el presente trabajo se propuso evaluar la influencia del grupo protector en el péptido *L*-prolina-glicina al ser utilizado como catalizador quiral en la reacción de adición de Mannich indirecta con ciclohexanona, piperidina y *p*-nitrobenzaldehído.



Cbz-*N*-*L*-Pro-Gli-OH (1)



HN-*L*-Pro-Gli-OH (2)

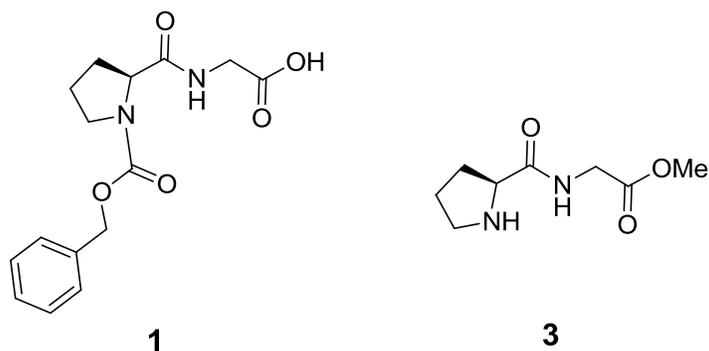


HN-*L*-Pro-Gli-OMe (3)

OBJETIVOS

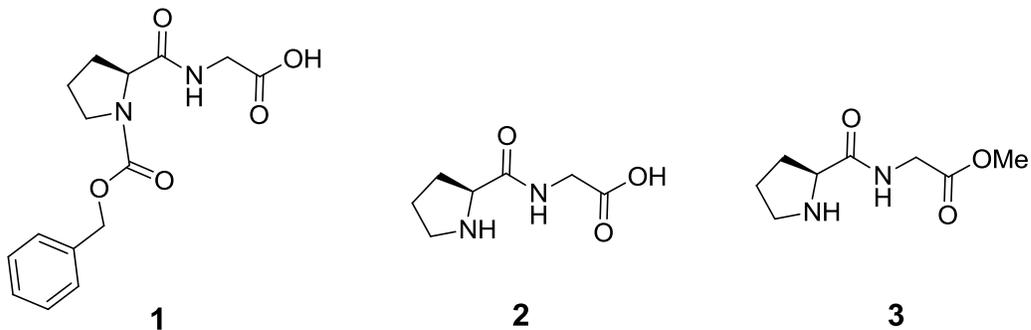
OBJETIVO GENERAL

Sintetizar y evaluar la capacidad catalítica de los dipéptidos Cbz-N-L-Prolina-Glicina-OH (**1**) y HN-L-Prolina-glicina-OMe (**3**) en la formación estereoselectiva de enlaces Carbono-Nitrógeno mediante la reacción de condensación de Mannich.



OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.- Preparar el compuestos peptídicos **1**, **2** y **3**.



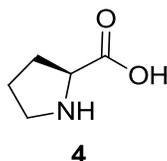
2.- Realizar la elucidación estructural de los compuestos preparados.

3.- Llevar a cabo las reacciones de Mannich utilizando los dipéptidos Cbz-*N-L*-Prolina-Glicina-OH (**1**) y HN-*L*-Prolina-Glicina-OMe (**3**) como catalizadores quirales y como sustrato de reacción, ciclohexanona, piperidina y *p*-nitrobenzaldehído.

4.- Determinar la estereoselectividad de los aductos de Mannich obtenidos mediante espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear y Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

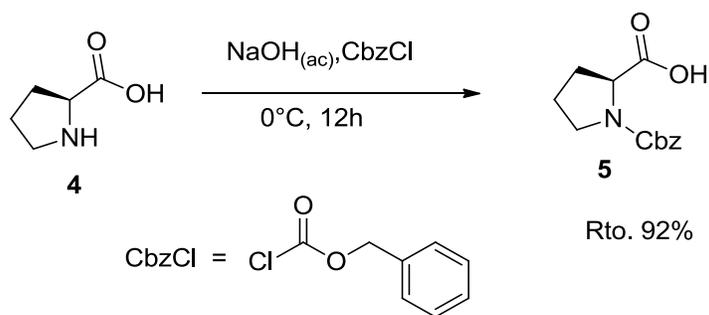
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de los estudios desarrollados por el grupo de investigación se optó como el primer paso del presente proyecto la preparación de los catalizadores a estudiar. Los tres catalizadores propuestos contienen en su estructura a la L-prolina (*L-Pro*) (**4**), ya que es el aminoácido que ha mostrado la mayor capacidad catalítica y estereoselectiva, respecto a otros aminoácidos y sus derivados, en innumerables reacciones asimétricas, entre las que figura la reacción de Mannich.



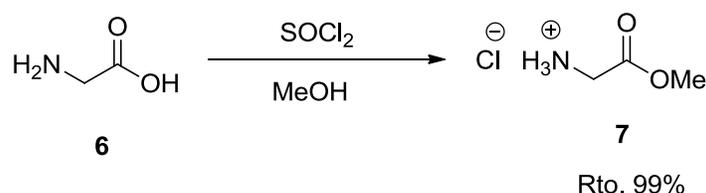
Para llevar a cabo la síntesis del catalizador **1**, es decir, el péptido Cbz-*N-L-Pro*-Gli-OH (**1**), se comenzó con la protección de los aminoácidos **4** y **6** como se muestra en los (esquemas 17 Y 18).

Primeramente se protegió el grupo amino de la *L-Pro* **4** mediante la reacción con cloroformiato de bencilo (CbzCl) en medio básico acuoso y a una temperatura de 0°C por un periodo de tiempo de 12 h, obteniéndose el carbamato **5** como un aceite denso amarillo y con un rendimiento del 92 % (Esquema 17).



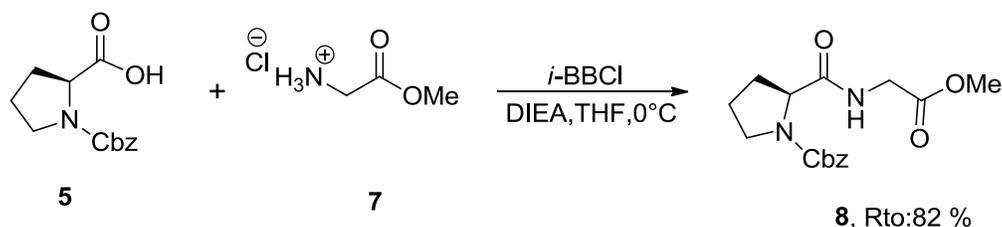
Esquema 17. Protección del grupo amino de la *L*-Prolina (**4**).

Al mismo tiempo se protegió el grupo carboxilo de la Glicina **6** mediante una reacción de esterificación con alcohol metílico (MeOH) a 0°C, usando como catalizador cloruro de tionilo (SOCl₂), obteniendo con un rendimiento del 99 % el aminoéster **7** en forma de clorhidrato. (Esquema 18)



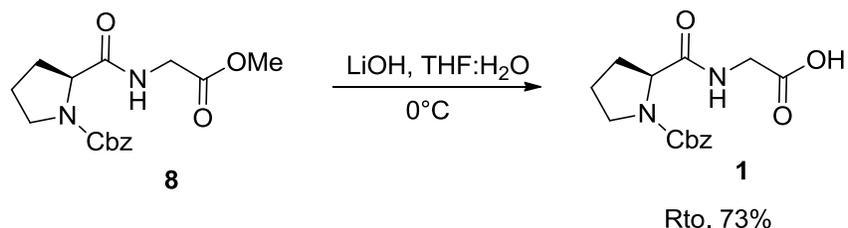
Esquema 18. O-protección de la glicina (**6**).

El siguiente paso fue el acoplamiento de los aminoácidos protegidos **5** y **7**, usando como agente activante cloroformiato de isobutilo (*i*-BBOCI), usando tetrahidrofurano (THF) como medio de reacción y N,N-Diisopropiletilamina (DIEA) como base, obteniendo el dipéptido diprotegido **8** con un rendimiento del 82% (Esquema 19).



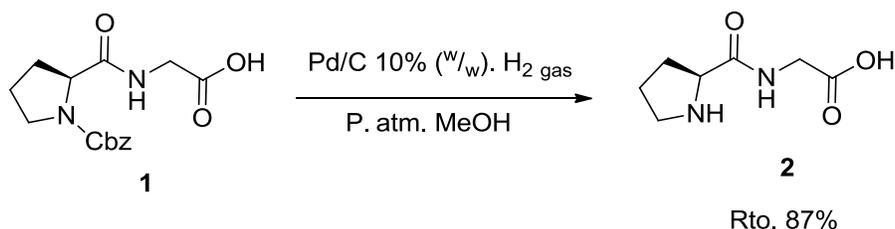
Esquema 19. Reacción de acoplamiento.

El dipéptido diprotegido **8**, fue sometido a una reacción de O-desprotección, mediante una hidrólisis básica usando como base LiOH y una mezcla THF/H₂O en una relación 2:1 como medio de reacción. El catalizador **1** se obtuvo en forma de miel ámbar con un rendimiento del 73 % (Esquema 20).



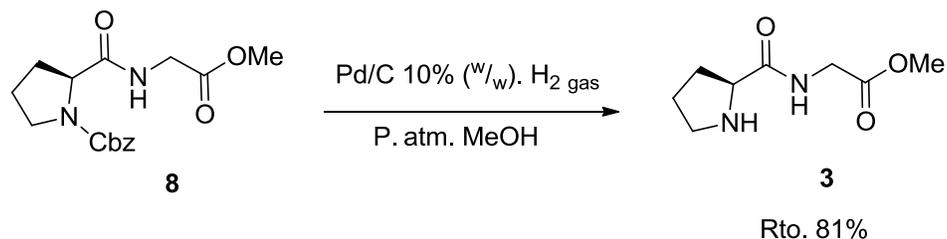
Esquema 20. Hidrólisis básica de Cbz-N-L-Pro-Gli-OMe (**8**).

Para la obtención del catalizador **2**, el compuesto **1** fue sometido a una reacción de hidrogenólisis teniendo como fin la desprotección del grupo amino, para tal efecto se hizo reaccionar con H₂ gas, Pd/C 10% (w/w) y metanol como disolvente. La reacción se llevó a cabo a presión atmosférica y temperatura ambiente, obteniendo así el péptido HN-L-Pro-Gli-OH **2** con un rendimiento del 87% (Esquema 21).



Esquema 21. Hidrogenólisis del compuesto **1**.

El catalizador **3** fue obtenido a partir de la hidrogenólisis de Cbz-HN-L-Pro-Gli-OMe **8**, para esto el compuesto **8** se hizo reaccionar a temperatura ambiente y presión atmosférica con H₂, usando como catalizador Pd/C al 10% (w/w), y metanol, obteniendo el éster **3** con un rendimiento del 81% . (Esquema 22).

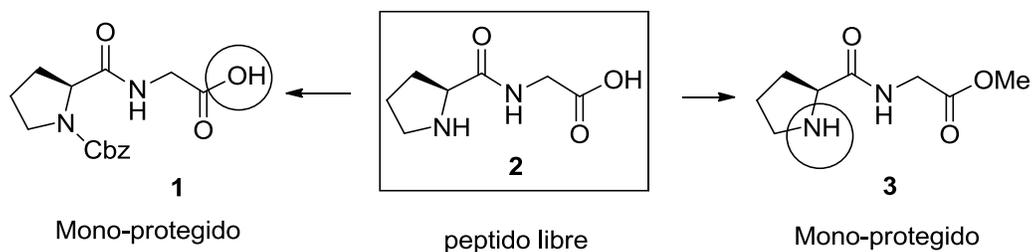


Esquema 22. Preparación del catalizador **3**.

Evaluación catalítica de los compuestos **1**, **2** y **3** en reacciones de Mannich

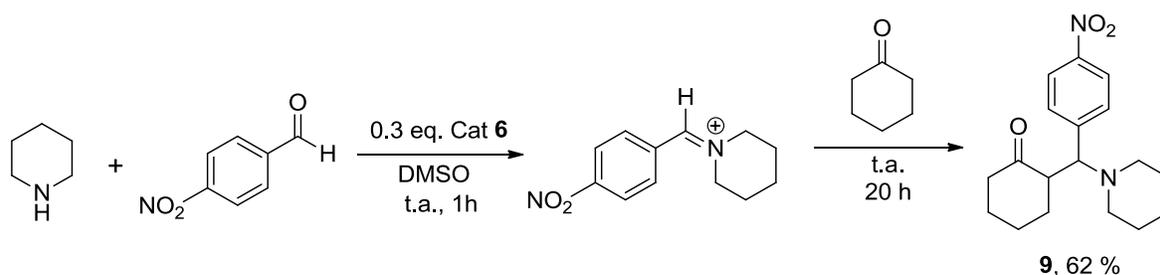
Una vez vista la buena actividad catalítica y estereoselectiva que mostraron los dipéptidos libres NH-L-Pro-Gli-OH (**XI**) y H₂N-L-Pro-Fen-OH (**XII**) (Esquema 16) al ser utilizados como catalizadores quirales en reacciones de Mannich con *p*-nitrobenzaldehído, ciclohexanona y piperidina como sustratos de reacción,¹⁷ se formuló la siguiente pregunta:

¿Qué sucedería al emplear como catalizador un péptido en el que uno de los grupos terminales (carboxilo o amino) estuviera bloqueado o protegido, dejando solo uno de sus grupos reactivos de forma libre; es decir, utilizar los compuestos *N*-carbamoil-peptídico **1** o el metil éster **3**? (Esquema 23).



Esquema 23. Catalizadores quirales en la reacción de Mannich.

Para contestar esta pregunta primeramente se hizo reaccionar *p*-nitrobenzaldehído y piperidina con Gli **6** como catalizador, en DMSO como disolvente durante una hora a temperatura ambiente para formar la imina correspondiente, posteriormente se adicionó ciclohexanona a temperatura ambiente dejando reaccionar por 20 h más, obteniendo la aminocetona o aducto de Mannich **9**. (Esquema 24)



Esquema 24. Reacción de Mannich catalizada con Gli **6**.

Debido a que la Gli **6** no es un aminoácido quiral, este catalizador solo promueve la reacción de adición, pero no se espera que presente ninguna estereoselectividad obteniéndose los cuatro posibles estereoisómeros del aducto **9** en una proporción equimolar; esto es, la mezcla racémica del diastereómero *syn* y la mezcla racémica del diastereómero *anti* (figura 5).

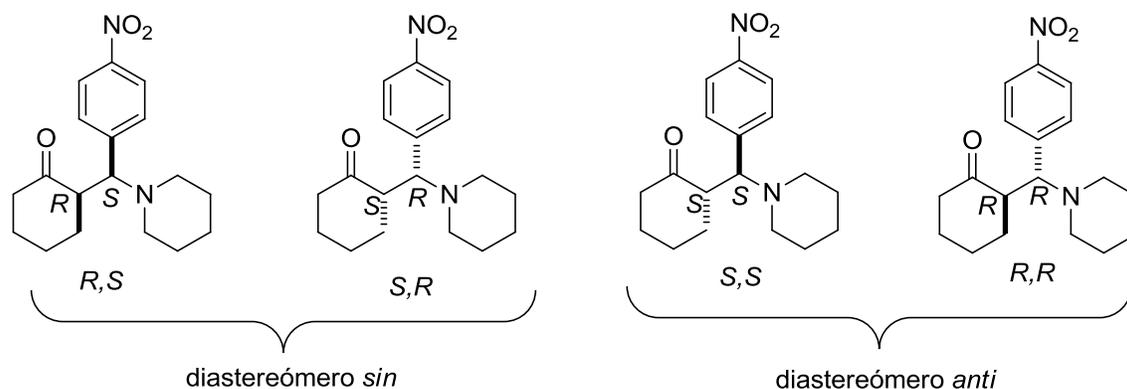


Figura 5. Estereoisómeros de la aminocetona **9**.

La mezcla diastereomérica se purificó por medio de cromatografía en columna, empleando gel de sílice como fase estacionaria y como fase móvil una mezcla de hexano/acetato de etilo (8:2).

En la figura 6 se muestra el espectro de RMN de ^1H del distereómero *sin*, en el que se pueden observar una señal doble en 3.18 ppm la cual se le asignó al protón base de nitrógeno 7 con una $J = 3\text{Hz}$ y una señal simple en 5.49 ppm correspondiente al protón del metino 6, estas señales son sumamente importantes ya que corresponden a los CH's responsables de la formación de los dos nuevos enlaces C-N y C-C.¹⁷

Adicionalmente se aprecia una señal múltiple en 1.5 ppm que integra para 2 hidrógenos asignada a H-16, también se puede apreciar en 1.7 ppm una señal múltiple que integra para 2 protones correspondiente a H-4, con un desplazamiento químico de 1.75 ppm se observa una señal múltiple que integra para 4 protones correspondiente a los H-15 y H-17 del anillo de la piperidina, en 2.1 ppm se observa una señal múltiple que integra para 2 protones asignado para H-3, en 2.14 ppm se aprecia una señal múltiple que integra para 4 protones y corresponde a H-14 y H-18, en 2.49 ppm se observa una señal múltiple que integra para 2 hidrógenos la cual corresponde a H-2, en 2.64 ppm se observa una señal múltiple que integra para 2 protones y fue asignada a H-5, por último en 7.4 y 8.2 ppm se observan dos señales dobles características de un sistema aromático *p*-sustituido con $J = 7.8\text{ Hz}$.

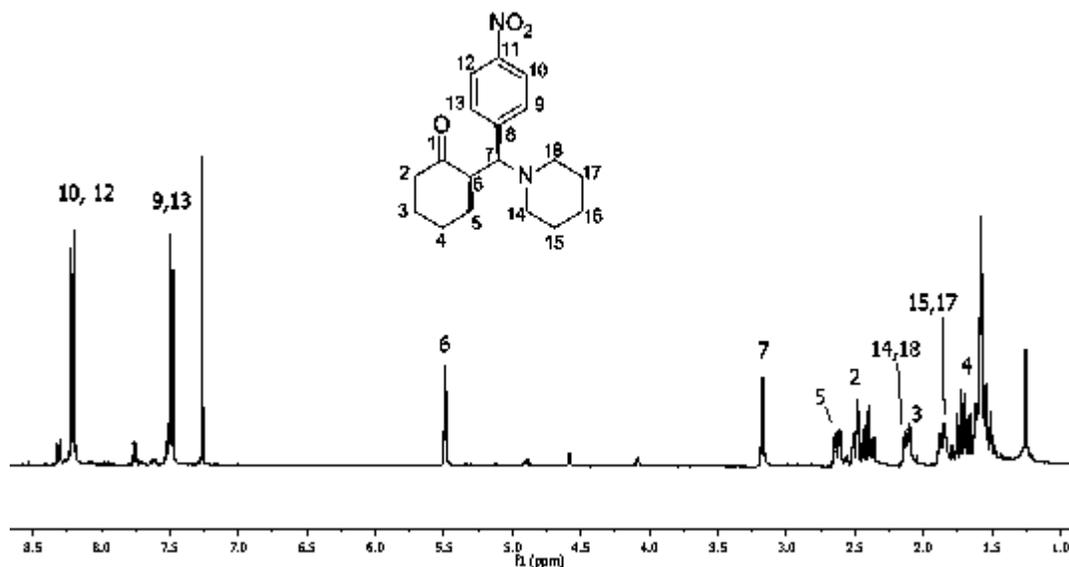


Figura 6. Espectro de RMN ^1H del diastereómero *sin* de la aminocetona **9**.

Como se puede observar en el espectro de RMN ^1H mostrado en la figura 7, no fue posible obtener el diastereómero *anti* de forma pura por lo que se caracterizó de una mezcla enriquecida de este estereoisómero.

En este espectro se pueden observar señales con desplazamientos químicos muy cercanos a los mostrados en el espectro del diastereoisómero *sin*. Se aprecian las dos señales correspondientes a los hidrógenos metínicos de los centros estereogénicos formados H-6 y H-7; la primera es una señal doble en 4.9 ppm con una $J = 8.7$ Hz, la cual se asignó al protón base de metino H-6, de igual manera se observa una señal simple en 4.05 ppm, correspondiente al protón base de nitrógeno H-7.

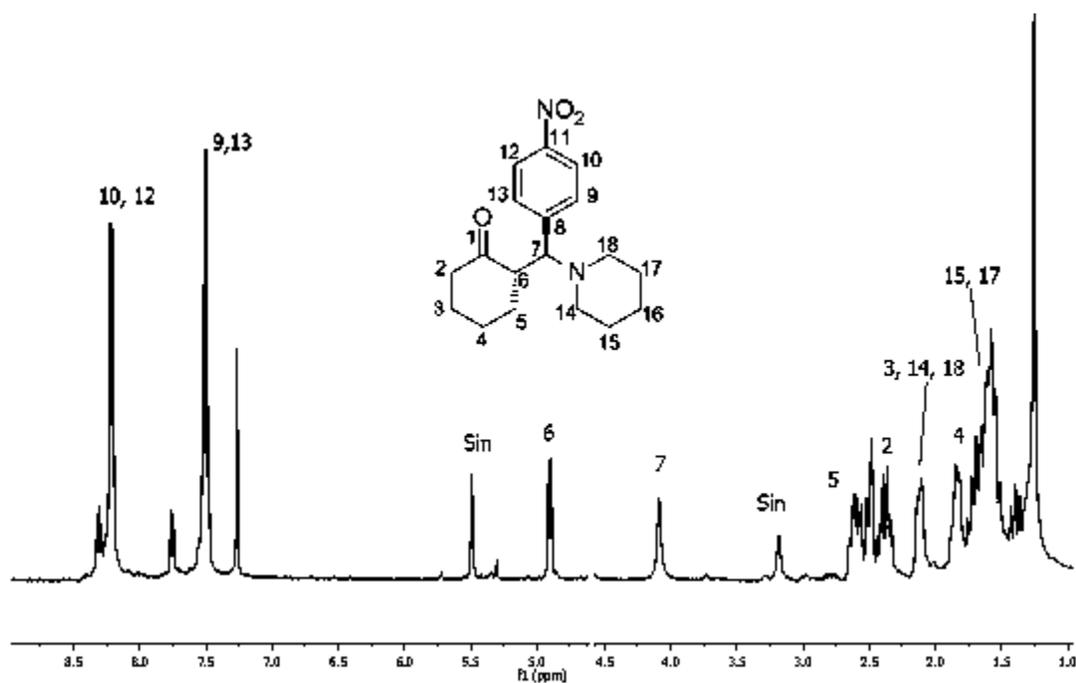


Figura 7. Espectro de RMN ¹H del diastereómero *anti* de la aminocetona **9**.

Adicionalmente se realizó la identificación de los cuatro enantiómeros (dos de estereoquímica *sin* y dos *anti*) por medio de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC) con detector ultravioleta, utilizando columna analítica quiral, y como fase móvil mezclas de hexano/isopropanol (Figuras 8, 9 y 10).

En la figura 8 se observan los picos correspondientes a la mezcla de los cuatro estereoisómeros del aducto **9**, con tiempos de retención (t_R) de 20.79, 23.08, 24.74 y 31.61 minutos.

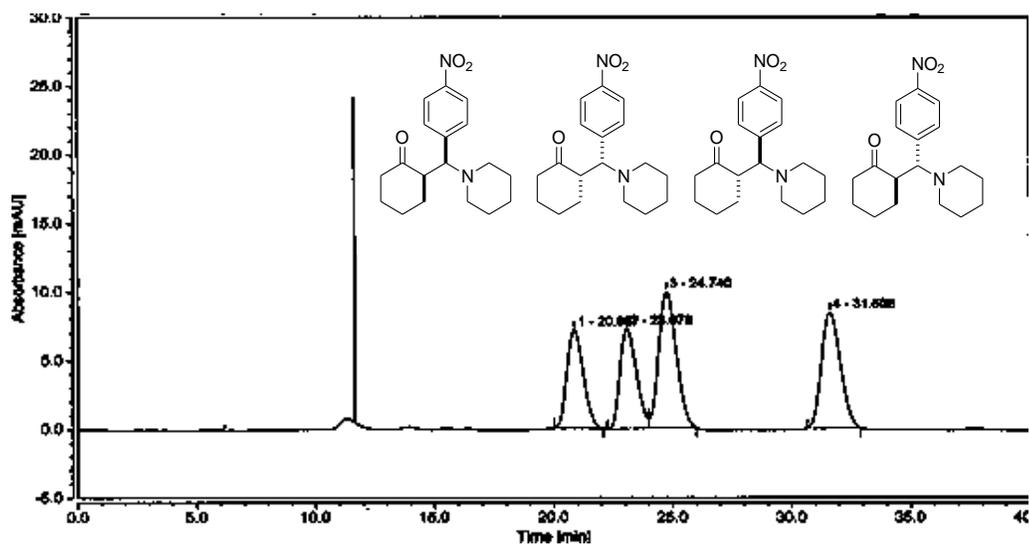


Figura 8. Cromatograma de HPLC del aducto 9.

Para identificar cada uno de los estereoisómeros se inyectaron al equipo de HPLC los dos diastereómeros por separado. Como se observa en la figura 9 la mezcla racémica del diastereómero *sin* presenta dos picos con tiempos de retención (t_R) de 20.79, 23.03 minutos.

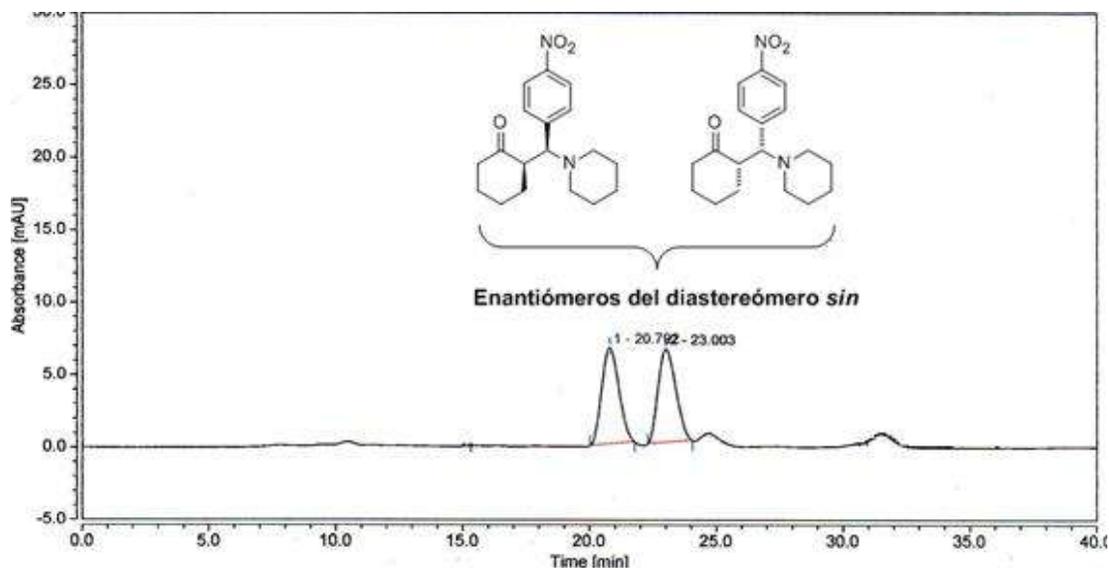


Figura 9. Cromatograma de HPLC de la mezcla racémica, diastereoisómero *sin*.

En la figura 10 se observan los picos para la mezcla racémica del diastereómero *anti* con t_R de 24.68 y 31.52 minutos. Como se recordará el diastereómero *anti* no se obtuvo de forma pura por lo que se inyectó una mezcla enriquecida.

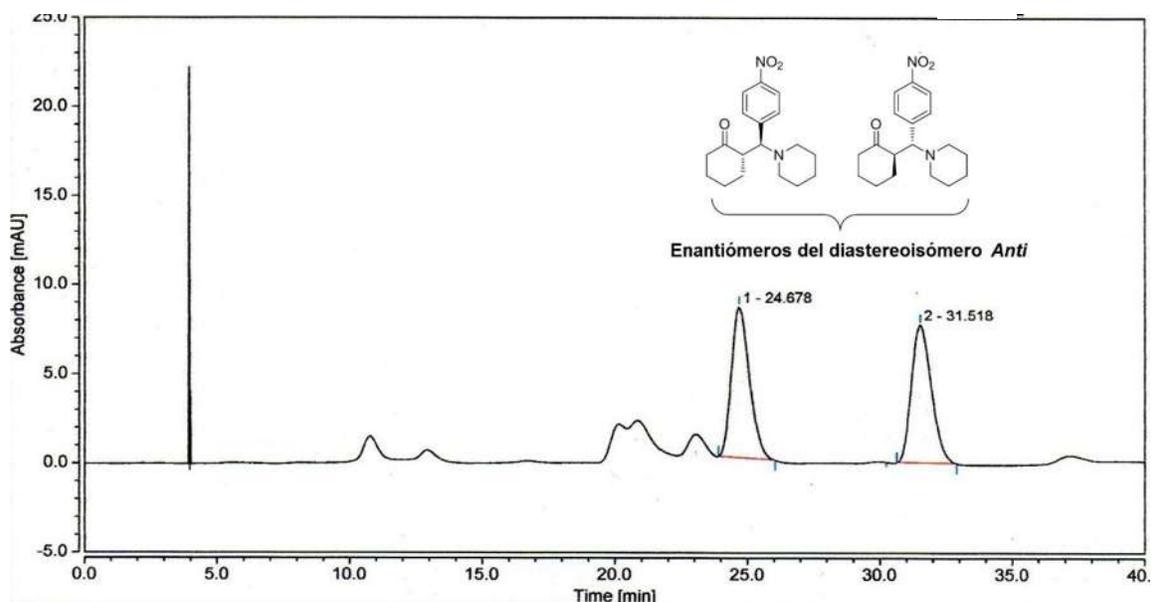
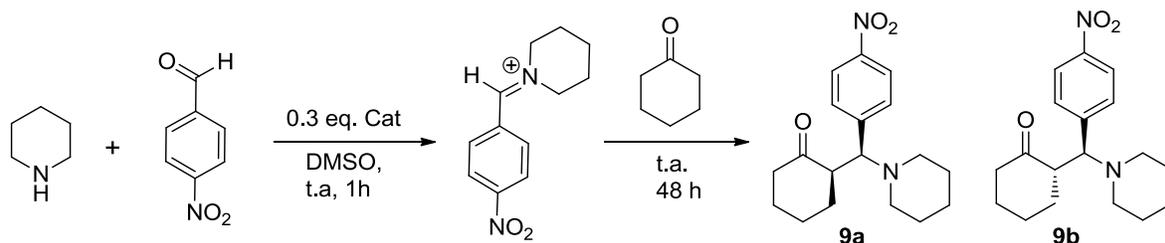


Figura 10. Cromatograma de HPLC de la mezcla racémica, diastereoisómero *anti*.

Una vez identificados los dos diastereoisómeros *sin* y *anti* por RMN ¹H y sus respectivos racematos por HPLC, se llevaron a cabo los primeros ensayos usando como catalizadores quirales los dipéptidos **1**, **2** y **3**. Para esto se hizo reaccionar la piperidina con el *p*-nitrobenzaldehído durante una hora en agitación para formar la imina correspondiente, utilizando como disolvente DMSO en presencia del catalizador a temperatura ambiente. Pasado el tiempo se agregó la ciclohexanona y se dejó reaccionar a la misma temperatura de 20-48 h (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados de la reacción de Mannich.

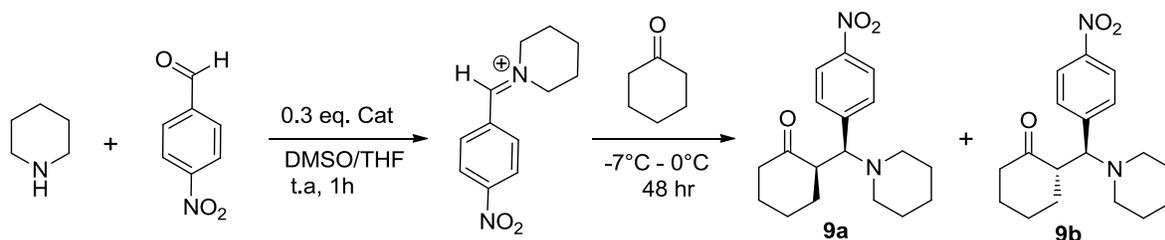


Ensayo	Catalizador	Rto (%)	rd (<i>sin/anti</i>)	% ee
1	1	34	1:1	3
2	2	28	1:1	0
3	3	35	1:1	3

Como puede observarse en la tabla 1, la formación de la β -aminocetona procedió con rendimientos muy pobres (28-35 %). La reacción no mostró diastereoselectividad y los excesos enantioméricos no superaron el 3 %.

Por tal motivo se decidió llevar a cabo formación de la imina a temperatura ambiente y la adición de la ciclohexanona a una temperatura de -7 a 0°C dejando reaccionar a esa temperatura por un periodo de 48 h, para alcanzar dicha temperatura fue necesario utilizar como medio de reacción una mezcla de DMSO/THF (Tabla 2).

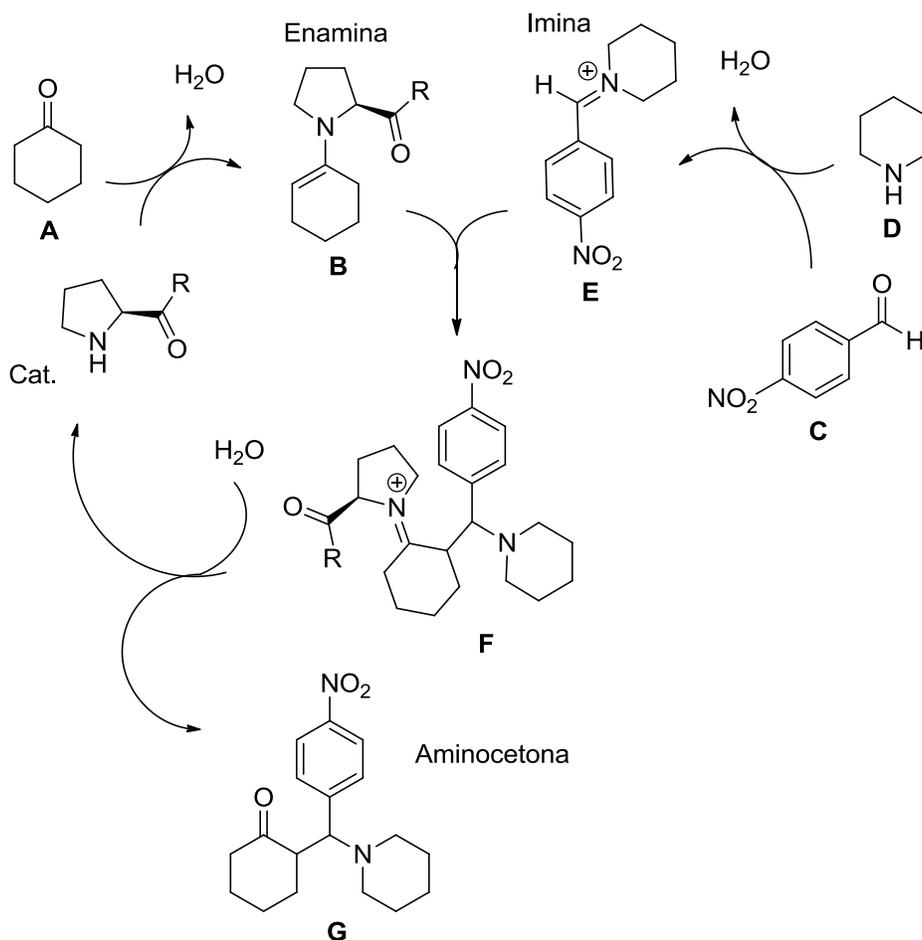
Tabla 2. Resultados de la reacción de Mannich a baja temperatura.



Ensayo	Catalizador	Rto (%)	rd (<i>sin/anti</i>)	% ee
1	1	80	1:1	3
2	2	85	1:1	16
3	3	75	1:1	6

Como se puede observar en la tabla 2 los rendimientos de reacción se incrementaron sustancialmente, alcanzando hasta un 85 % (ensayo 2). Las diastereoselectividades permanecieron sin cambio no ocurriendo lo mismo con el exceso enantiomérico el cual se incrementó, siendo el mejor resultado el observado al utilizar la Pro-Gli **2** como catalizador (ensayo 2).

Como se mencionó anteriormente la reacción indirecta de Mannich consiste en formar previamente la imina por reacción entre el aldehído **C** y la amina **D** para reaccionar posteriormente con la cetona **A**, la cual debe de formar previamente un intermediario enamina **B** con el catalizador para poder llevar a cabo la reacción de condensación de Mannich como se muestra en el esquema 25.

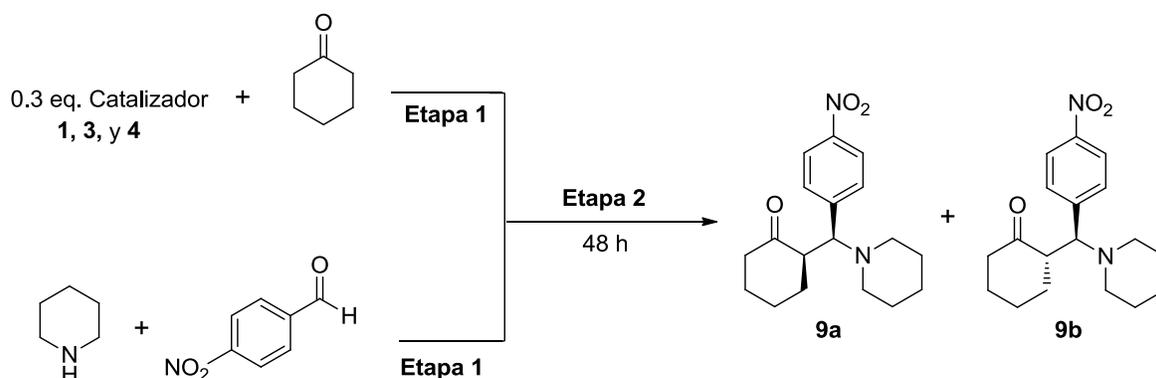


Esquema 25. Mecanismo de la reacción de Mannich vía intermediario enamina.

Tomando en consideración lo anterior, la reacción se repitió nuevamente pero ahora se efectuó en dos etapas. En la primera se adicionaron a un matraz de reacción el *p*-nitrobenzaldehído, la piperidina y el disolvente o mezcla de disolventes (formación de la imina). En un segundo matraz se mezclaron el catalizador, la ciclohexanona y el disolvente. Ambos matraces se dejaron reaccionar por un periodo de 3 h bajo la temperatura mostrada en la tabla 2.

En la segunda etapa se mezcló el contenido de los matraces y la mezcla se dejó reaccionar por un periodo de 48 h bajo las condiciones descritas en la tabla 3.

Tabla 3. Resultados de la reacción de Mannich por el método 2.



Ensayo	Cat	Disolvente	Etapa 1		Etapa 2	Rto (%)	rd <i>sin/anti</i>	ee(%)
			Temp °C	T (h)	Temp °C			
1	4	DMSO/THF	ambiente	1	0	20	1:1	34
2	1	DMSO/THF	ambiente	3	-7	10	2:1	26
3	1	DMSO/THF	ambiente	7	-7	50	1:1	1
4	1	DMSO	ambiente	3	ambiente	77	1:1	0
5	1	DMSO/THF	-7	3	-7	18	1:1	5
6	1	DMSO/THF	-7	5	-7	50	2:1	1
7	1	DMSO/THF	-7	7	-7	29	2:1	2
8	3	DMSO/THF	ambiente	3	-7	48	1:1	1
9	3	DMSO/THF	-7	3	-7	3	2:1	14

Los resultados mostrados en la tabla 3 hacen notar una mejoría en estereoselectividad de la reacción y los rendimientos son buenos. La mejor enantioselectividad mostrada se dio cuando la reacción de adición de Mannich se realiza con el catalizador L-Pro 4, siendo esta del 34 % ee (ensayo 1). Esta misma reacción no muestra diastereoselectividad y en rendimiento de reacción es del 20 %.

Los mejores resultados se observaron con el catalizador Cbz-Pro-Gli 1 (ensayo 2) en el cual se generó la amino cetona 10 en una relación diastereomérica 2:1

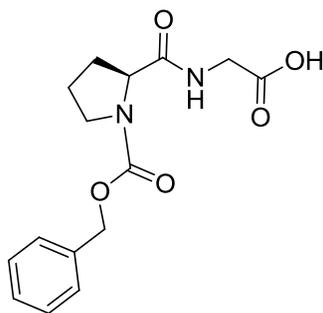
(*sin:anti*), un e.e. del 26 %. El mejor rendimiento se obtuvo al realizar la reacción a temperatura ambiente (76.6 %, ensayo 4), sin embargo el procedimiento no mostró ninguna estereoselectividad. Por todo lo anterior se concluye que a temperatura ambiente las especies intermediarias son más reactivas pero menos selectivas (control termodinámico) y al bajar la temperatura estas especies son menos reactivas y por ende más selectivas (control cinético).

CONCLUSIONES

La formación de la aminocetona **9** se llevo a cabo mediante la reacción indirecta de Mannich, con una diastereoselectividad 2:1 (*sin:anti*), un ee del 26% y un rendimiento de reacción del 80 %, concluyendo que a temperatura ambiente las especies intermediarias son más reactivas pero menos selectivas (control termodinámico) y al bajar la temperatura estas especies son menos reactivas y por ende más selectivas (control cinético), lo cual está de acuerdo con el principio de reactividad selectividad (RSP).

La identificación de los estereoisómeros así como la medición de la estereoselectividad en la reacción asimétrica de Mannich se realizó por medio de RMN de ¹H y HPLC.

El compuesto Cbz-N-L-Pro-Gli-OH (**1**) resulto ser el mejor catalizador en la formación de las aminocetonas **9**, pues al ser usado como catalizador de la reacción de Mannich mostró la mayor estereoselectividad en comparación con los demás catalizadores que dieron valores por debajo de este.



1

PARTE EXPERIMENTAL

generalidades

El material de laboratorio utilizado fue lavado, enjuagado con Isopropanol y secado en la estufa por 24 h.

Los reactivos se utilizaron sin purificación previa, los disolventes utilizados (Hexano, CH₂Cl₂, AcOEt, MeOH) fueron destilados en el laboratorio, el DMSO se secó utilizando tamiz molecular.

La purificación de compuestos se realizó por cromatografía en columna utilizando como fase estacionaria sílica gel (230-400 Mesh) y como sistema eluyente mezclas compuestas por Hexano, AcOEt, MeOH y CH₂Cl₂. El monitoreo de las reacciones se realizó en cromatografía en capa fina (CCF) sobre placas de sílica gel 60-F₂₅₄ y se revelaron utilizando radiación ultravioleta y vapores de yodo.

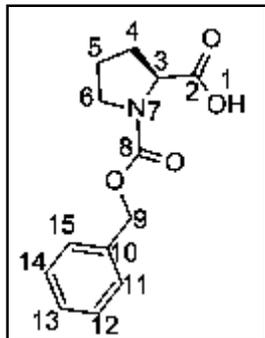
Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de protón (¹H RMN) y carbono (¹³C RMN) se realizaron en un equipo Varian Mercury Plus 400. Los disolventes deuterados utilizados para la obtención de los espectros fueron Cloroformo (CDCl₃), Metanol (CD₃OD) y Dimetilsulfóxido (DMSO-d₆) utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos se reportan en partes por millón (ppm), las constantes de acoplamiento (*J*) se obtienen en Hertz y para indicar la multiplicidad de las señales obtenidas en espectro de ¹H se utilizan las abreviaturas: s, d, dd, ddd, y m.

Los cromatogramas de HPLC se realizaron en un equipo Thermo Cientific Dionex modelo Ultimate 3000 en una columna CHIRAL PACK, AD-H con un tamaño de partícula de 5 µm, y dimensiones de 4.6 mm X 250 mm.

Los espectros de infrarrojo fueron realizados un equipo Thermo Scientific, modelo Nicolet iS10, empleando la técnica ATR.

Los puntos de fusión se determinaron por el método de Fisher en un equipo marca Fisher-Johns modelo 4121 y no están corregidos.

Cbz-HN-L-Pro-OH 5



En un matraz provisto de agitación magnética se suspendió 1g del aminoácido libre *L*-Prolina **4** (8.68 mmol), sobre NaOH 1N a 0°C y posteriormente se agregaron 1.37 mL (9.73 mmol), de cloroformiato de bencilo (CbzCl), manteniendo el pH de reacción en 10. Dejando reaccionar por 12 h a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo,

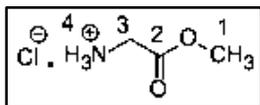
la mezcla de reacción se llevó a 0°C, y se le realizaron 3 lavados con AcOEt (3x50 mL), la fase acuosa se acidificó con HCl 1N hasta pH menor a 4. Posteriormente el producto se extrajo con AcOEt (3x50 mL), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró por gravedad y se concentró a presión reducida, obteniéndose 1.98 g de producto como un aceite denso color amarillo, en un rendimiento del 91.5 %, con un R_f = 0.195 (Hex/AcOEt, 1:1).

RMN ¹H (400MHz, CDCl₃) δ: 1.81 (m, 2H, H-5), 2.05-2.35 (m, 2H, H-4), 3.43-3.66 (m, 2H, H-6), 4.50 (m, 1H, H-3), 5.1-5.22 (2d, *J* = 10.4 Hz, 2H, H-9), 7.07-7.53 (m, 5H, H-11-15).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 23.4-24.3 (C-5), 29.3-31.0 (C-4), 46.6-46.9 (C-6), 58.6-59.3(C-3) 67.1-67.5 (C-9), 127.6-128.4 (C's 11-15), 136.3-136.4 (C-10), 154.5-155.8 (C-8), 176.1-177.9 (C-2).

IR (U_{máx} cm⁻¹): 1674, 1486, 1498, 768, 695.

H₂N-Glicina-OMe 7

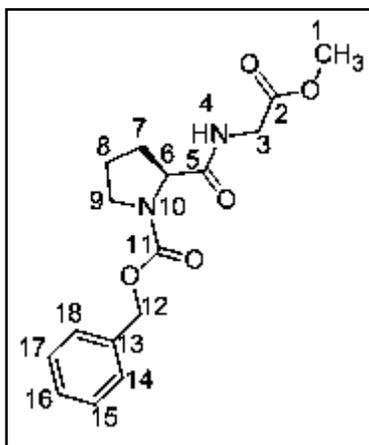


Se colocó en un matraz provisto de agitación magnética y en baño de hielo 1g (13.32 mmol) de Gli suspendido en MeOH al cual se adicionaron 1.26 mL de SOCl₂ (17.31 mmol), se dejó en agitación 1 h a 0°C y posteriormente 12 h a temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo, se eliminó el disolvente en rotavapor utilizando una trampa de NaOH para neutralizar el HCl formado y se hicieron lavados con HCl. Los cristales obtenidos se purificaron por recristalización utilizando los disolventes MeOH: CH₂Cl₂ (1:9), obteniéndose 1.66 g del producto en forma de clorhidrato como un sólido blanco, en un rendimiento del 99%, con un p.f. de 179 C°, con un R_f = 0.45 (DCM/MeOH, 8:2).

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ: 3.83 (s, 3H, H-1,), 3.85 (s, 1H, H-3), 4.85 (s, 3H, H-4).

RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ: 40.8 (C-3), 53.4 (C-1), 168.9 (C-2).

IR (U_{máx} cm⁻¹): 2968, 2883, 1742.



Cbz-HN-Prolina-Glicina-OMe 8

En un matraz balón provisto de agitación magnética, atmósfera de nitrógeno y baño de hielo, se colocaron 1.5 g de Cbz-HN-L-Pro-OH 5 (6.02 mmol), disueltos en 30 mL de THF, la mezcla de reacción se trató con 2.1 mL de DIEA (12.04 mmol) y posteriormente se agregó una solución de 0.88 mL de *i*-BBCI (6.74 mmol) en 32.2 mL de THF, con embudo de adición (goteo lento); la mezcla de reacción se dejó en agitación por 20 min. Terminando este tiempo, se le agregó lentamente (aproximadamente 60 min) con embudo de adición en atmósfera de nitrógeno, una solución compuesta por 0.756 g de H₂N-Gli-OMe 7 (6.02 mmol) disuelta en 30 mL de THF y 1.5 mL de

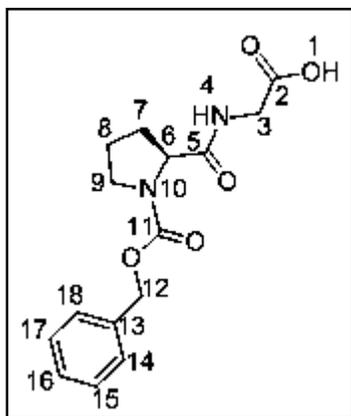
DMSO, tratada con 2.1 mL de DIEA (12.04 mmol). Una vez terminada la adición se dejó en agitación una hora en baño de hielo y posteriormente a temperatura ambiente toda la noche.

La mezcla se concentró en rotavapor a presión reducida, el residuo se resuspendió en AcOEt y se realizaron 2 lavados con solución de HCl 10% y 2 lavados NaHCO₃, la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El producto obtenido se purificó con columna cromatográfica utilizando como fase móvil un sistema 1:1 (Hex/AcOEt), usando como fase estacionaria silica gel, obteniendo 1.58 g del producto en un 82% de rendimiento, en forma de un aceite denso, con un R_f = 0.170 (Hex/AcOEt, 1:1).

RMN ¹H (400MHz, CDCl₃) δ: 1.85 (a, 2H, H-8), 2.10-2.35 (2a, 2H, H-7), 3.40-3.62 (2s, H-9), 3.7 (s, 3H, H-1), 3.95 (a, 2H, H-3), 4.3 (a, 1H, H-6), 5.15 (m, 2H, H-12), 6.55 (s, 1H, H-4), 7.3 (m, 5H, H-14-18).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 24.0 (C-8), 28.0 (C-7), 41.0 (C-3), 47.0 (C-9), 52.2 (C-1), 60.9 (C-6), 67.8 (C-12), 127.9-128.9 (C's 14-18), 136.0 (C-13), 155.20 (C-11), 170.3 (C-5), 172.1 (C-2).

IR (U_{máx} cm⁻¹): 3324, 3066, 3033, 1751, 1671.



Cbz-N-L-Prolina-Glicina-OH 1

En un matraz balón provisto de agitación magnética se colocaron 1.5 g de Cbz-NH-L-Prolina-Glicina-OMe (**8**) (4.68 mmol) disuelto en 15 mL de THF/H₂O (2:1). Posteriormente se adicionaron 0.61 g de LiOH (14.64 mmol) directamente en la mezcla de reacción. La mezcla se llevó a baño de hielo y se dejó en agitación durante 20 minutos. Terminado el tiempo de reacción se acidificó con una solución de HCl 1N, se concentró a presión reducida, se extrajo con AcOEt, la

fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y se evaporó en rotavapor, obteniéndose 1.15 g del producto impuro en forma de aceite denso traslucido.

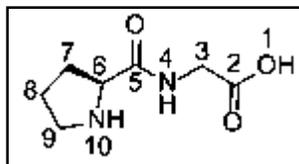
El producto obtenido se purificó en columna cromatográfica utilizando como fase móvil un sistema 9:1 (CH₂Cl₂/MeOH), usando como fase estacionaria silica gel, obteniéndose 1.05 g del producto en forma de aceite de alta densidad, incoloro, en un rendimiento del 73%. $[\alpha]_D^{20} = -5.22$ (c = 0.032, MeOH), con un R_f = 0.32 (AcOEt).

RMN ¹H (400MHz, CD₃OD) δ : 1.85 -2.10 (m, 3H, H-7a, H-8), 2.25 (m, 1H, H-7b), 3.42 (d, J = 10.3 Hz, 2H, H-9), 3.85 (m, 2H, H-3), 4.31 (dd, J = 8.4, 3.1 Hz, 1H, H-6), 5.05 (2d, J = 12.4 Hz, 2H, H-12), 6.55, 7.32 (m, 5H, 14-18).

RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ : 24.5 (C-8), 31.4 (C-7), 41.8 (C-3), 48.3 (C-9), 61.6 (C-6), 68.3 (C-12), 128.8-129.5 (14-18), 137.9 (C-13), 156.5 (C-11), 175.77 (C-8).

IR ($\nu_{\text{máx cm}^{-1}}$): 3325, 3066, 3033, 1660.

HN-L-Prolina-L-Glicina-OH 2



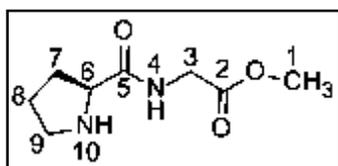
En un matraz balón provisto de agitación magnética se colocó 1g de Cbz-HN-L-Prolina-Glicina-OH (1) (3.25 mmol) y 0.10 g de Pd/C al 10% (w/w), en 25 mL de

MeOH, esta mezcla se saturó con atmósfera de hidrógeno y se dejó reaccionar por 3 horas a presión atmosférica. Terminado el tiempo de reacción se filtró y concentró en rotavapor a presión reducida. Se obtuvieron 0.49 g del producto puro en forma de polvo blanco muy fino en un rendimiento del 87%, con p.f. de 261°C y con un R_f = 0.157 (MeOH/iPrOH/NH₄OH, 9:1:0.1).

RMN ¹H (400MHz, D₂O) δ : 1.88-2.00 (m, 3H, H-7a, H-8), 2.30 (m, 1H, H-7b), 3.26 (m, 2H, H-9), 3.59 (d, J = 17.2 Hz, 1H, H-3a), 3.69 (d, J = 17.2 Hz, 1H, H-3b), 4.25 (m, 1H, H-6).

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O) δ : 24.1 (C-8), 32.9 (C-7), 43.9 (C-3), 46.8 (C-9), 60.3 (C-6), 169.7 (C-5), 176.4 (C-2).

IR ($\nu_{\text{máx}} \text{cm}^{-1}$): 3420, 3231, 1679.



HN-L-Prolina-L-Glicina-OMe 3

En un matraz balón provisto de agitación magnética se colocaron 0.7 g de Cbz-N-L-Prolina-Glicina-OMe 8 (2.18 mmol) con 0.07 g de Pd/C al 10% (w/w), en 18 ml de MeOH. Esta mezcla se saturó con atmosfera de hidrógeno y se dejó reaccionar por 3 horas a presión atmosférica. Terminado el tiempo de reacción se filtró y concentró en rotavapor a presión reducida. Se obtuvieron 0.33 g del producto puro en forma de cristales transparentes, en un rendimiento del 81%, con p.f. de 194-195°C. $[\alpha]^{20}\text{D} = -33.03$ ($c = 0.05370$, MeOH), con un $R_f = 0.825$ (DCM/MeOH, 8:2).

RMN ^1H (400MHz, CD_3OD) δ : 1.89-2.05 (m, 3H, H-7a, H-8), 2.25 (m, 1H, H-7b), 3.53 (m, 2H, H-9), 3.71 (s, 3H, H-1), 4.09 (d, $J = 16.8$ Hz, 2H, H-3), 4.23 (m, 1H, H-6), 4.62 (1H, H-10).

RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) δ : 23.3 (C-8), 39.4 (C-7), 46.3 (C-3), 47.0 (C-9), 59.8 (C-6), 166.4 (C-5), 172.0 (C-2).

IR ($\nu_{\text{máx}} \text{cm}^{-1}$): 3200, 3163, 1674, 1740.

Reacción de condensación de Mannich.

Método 1

En un matraz provisto de agitación magnética se colocó la mezcla de 1eq del aldehído correspondiente, 1.1 eq de la amina 0.3 eq del catalizador en 1 ml de disolvente dejándose en agitación por 1 hora a temperatura ambiente.

Transcurrido el tiempo, la mezcla de reacción se llevó a una temperatura de 0°C a -10°C para la posterior adición de 5 eq de la cetona, dejándose reaccionar a esta temperatura durante 20 a 48 horas más. Posteriormente la mezcla se neutralizó con una solución sobresaturada de NH₄Cl. El material orgánico fue extraído con CH₂Cl₂ (3x50ml) y secado con NaSO₄ anhidro, el disolvente fue eliminado en rotavapor a presión reducida.

Método 2

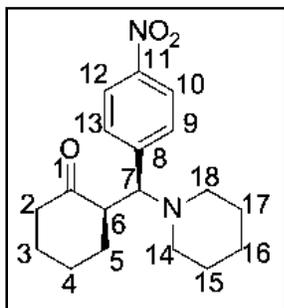
En un matraz (1) provisto de agitación magnética se colocó la mezcla de 1 eq del aldehído correspondiente y 1.1 eq de la amina en 1 mL de disolvente dejándose en agitación por 1 hora a temperatura ambiente. Por otro lado en un segundo matraz (2) provisto de agitación magnética se colocó la mezcla de 5 eq de la cetona y 0.3 eq del catalizador en 1 mL de disolvente dejándose en agitación por 1 hora a temperatura ambiente.

Transcurrido el tiempo de reacción, se llevó el matraz 2 a baño de hielo (0°C a -10°C) y se le agregó el matraz 1, la mezcla se dejó reaccionar a esta temperatura durante 48 horas más.

Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se neutralizó con una solución sobresaturada de NH₄Cl, el material orgánico fue extraído con CH₂Cl₂ (3x50mL) y se secó con NaSO₄ anhidro, el disolvente fue eliminado en rotavapor a presión reducida.

En ambos métodos el crudo de reacción fue enviado a RMN de H¹ para la obtención de la relación diasteromérica y posteriormente se purificó en columna cromatográfica con un sistema (8:2) Hex: AcOEt.

Se hizo uso del método 1 en los primeros 8 ensayos y del método 2 en los ensayos 9-17.

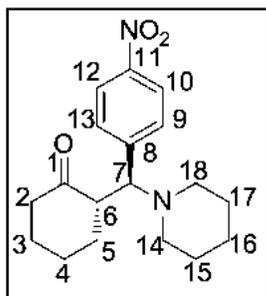


sin-2-(p-nitrofenil)(piperidin-1-il)ciclohexanona 9a

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.62 – 1.52 (m, 2H, H-16), 1.68-1.80 (ddd, $J = 13.0, 8.6, 3.7$ Hz, 2H, H-4), 1.83-1.90 (m, 4H, H-15 Y H-17), 2.17-2.08 (m, 2H, H-3), 2.2 (m, 4H, H-14 Y H-18), 2.41 (m, 2H, H-2), 2.60-2.67 (m, 2H, H-5), 3.1 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H, H-7), 5.48 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H, H-6), 7.51-8.2 (2d, $J = 8.65$ Hz, 4H, H's 9-10,12-13).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 24.7 (C-16), 27.1 (C-14 Y C-18), 38.5 (C-15 y C-17), 38.7 (C-4), 42.5 (C-2), 56.8 (C-5), 68.3 (C-7), 71.2 (C-6), 123.5, 126.5, 128.1 (C's 9-13), 131 (C-8), 149.1 (C-11), 214,8 (C-1).

IR ($\nu_{\text{máx}} \text{cm}^{-1}$): 3111, 3079, 1690, 1600.



anti-2-(p-nitrofenil)(piperidin-1-il)ciclohexanona. 9b

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : (1.62 – 1.52 (m, 2H, H-16), 1.69 (ddd, $J = 13.0, 8.6, 3.7$ Hz, 2H, H-4), 1.89-1.91 (M, 4H, H-15 y H-17), 30.1 (m, 2H, H-3), 2.2 (m, 4H, H-14 y H-18), 2.4 (m, 2H, H-2), 2.59 (m, 2H, H-5), 4.09 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H, H-7), 4.90(dd, $J = 8.5, 3.0$ Hz, 1H, H-6), 7.51-8.2 (2d, $J = 8.65$ Hz, 4H, H's 9-10 y 12-13).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 24.7 (C-16), 25.15 (C-3), 28 (C-15 y C-17), 30.1 (C-14 y C-18), 41.3 (C-2), 55.1 (C-4 y C-5), 70.1 (C-7), 74.0 (C-6), 123.5, 126.5, 128.1 (C's 9-10,12-13), 148.1 (C-11), 214,8 (C-1).

IR ($\nu_{\text{máx}} \text{cm}^{-1}$): 3111, 3079, 1690, 1600.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Berkessel, A. Gröger, H., *Asymmetric Organocatalysis*, Ed. Wiley-VCH, 1ra. Edición, **2005**.
- ² Jacobsen, E.N. Pfaltz, A. Yamamoto, H., *Comprehensive Asymmetric Catalysis*, Ed. Springer-Verlag, 1ra. Edición, **1999**.
- ³ Juaristi E. *Introducción a la Estereoquímica y al análisis conformacional*, México; Ed. Rosa Campos de la Rosa, **2010**.
- ⁴ Shirakawa, S. Maruoka, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, **52**, 4312.
- ⁵ Carmen Avendaño, *Anal. Real. Acad. Farm.* **2001**, **67**, 521.
- ⁶ Nakayama, G. *Current Opinion in Chemical Biology*, **2002**, **6**, 121.
- ⁷ Reetz, M.T. Haver, B. *Current Opinion in Chemical Biology*, **2007**, **11**, 172.
- ⁸ Espinosa J., *Tesis de Maestría*; Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, **2013**.
- ⁹ Ahrendt, K. A., Borths, C. J., MacMillan, D. W. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, **122**, 4243.
- ¹⁰ Sigman, M.S. Vachal, P. Jacobsen, E.N., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, **39**, 1279
- ¹¹ a) K.; Mori, A. Inoue, S.; *J. Org. Chem.* **1990**, **55**, 181. b) Iyer, M.S.; Gigstad, K.M. Namdev, N.D. Lipton, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, **118**, 4910. c) Iyer, M.S. Gigstad, K.M.; Namdev, N.D. Lipton, M., *Amino Acids* **1996**, **11**, 259.
- ¹² Sigman, Matthew S., and Erick N. Jacobsen. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, **120**, 4901.
- ¹³ Mannich, C. Krosche, W. *Arch. Pharm.* **1912**, **250**, 647.
- ¹⁴ Notz, W.F. Tanaka, S.W.; Naidu, S. Chowdari, J.M.; Turner, R. Thayumanavan, C. F. Barbas III. *Journal of Organic Chemistry*, **2003**, **68**, 9624.
- ¹⁵ Juaristi E. *Enantioselective Synthesis of β -Amino Acids*; Editorial Wiley-VCH, New York; **1997**.
- ¹⁶ T. Hintermann, D. Seebach, *Chimia*, **1997**, **50**, 244.

- ¹⁷Jiménez J. Carlos, *Tesis de Licenciatura*, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, **2013**.
- ¹⁸S. Yamasaki, T. Iida, M. Shibasaki, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 307.
- ¹⁹B. List, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9336.
- ²⁰List, B. Pojarliev, P. William, t.; Martin, H. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 827.
- ²¹Ishitani, M. H. Ueno, S. M.; Kobayashi, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 7153.
- ²²N. Yoshikawa, Y. M. A. Yamada, J. Das, H. Sasai, M. Shibasaki, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4168-4178.
- ²³M. Matsunaga, N. Kumagai, N. Harada, M. Shibasaki, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4712.
- ²⁴K. Juhl, N. Gathergood, K. A. Jørgensen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2995.
- ²⁵B. M. Trost, L. M. Terrell, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 338.
- ²⁶A. G. Wenzel, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12964.
- ²⁷B. List, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9336.
- ²⁸Ohtake, H. Imada, Y. Murahashi, S.-I. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1999**, *72*, 2737
- ²⁹Hayashi, Y. Yamaguchi, J. Hibino, K. Sumiya, T. Urushima, T. Shoji, M. Hashizume, D. Koshino, H. *Adv. Synth. Catal.* **2004**, *346*, 1435.
- ³⁰Sasaoka, A. Uddin, M. I. Shimomoto, A.; Ichikawa, Y. Shiro, M. Kotsuki, H. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 2963.
- ³¹Ibrahem, I. Zou, W. Engqvist, M. Xu, Y. Córdova, A. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 7024.
- ³²Hayashi, Y. Tsuboi, W. Ashimine, I. Urushima, T. Shoji, M. Sakai, K. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 3677.
- ³³Sakthivel, K. Notz, W. Bui, T. Barbas, C. F., III. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5260.
- ³⁴Notz, W. Sakthivel, K. Bui, T. Zhong, G. Barbas, C. F., III. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 199.
- ³⁵Duthaler, R. O. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 975.

³⁶ Cordova A., Notz W., Zhong, G. Betancort, J. M.; Barbas, C. F., III. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1842.

³⁷ Duthaler, R. O. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 975.

³⁸ Notz, W. Tanaka, F. Watanabe, S. Chowdari, N. S. Turner, J. M.; Thayumanavan, R. Barbas, C. F., III. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 9624.

³⁹ Córdoba, A. Watanabe, S. Tanaka, F. Notz, W. Barbas, C. F., III. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1866.

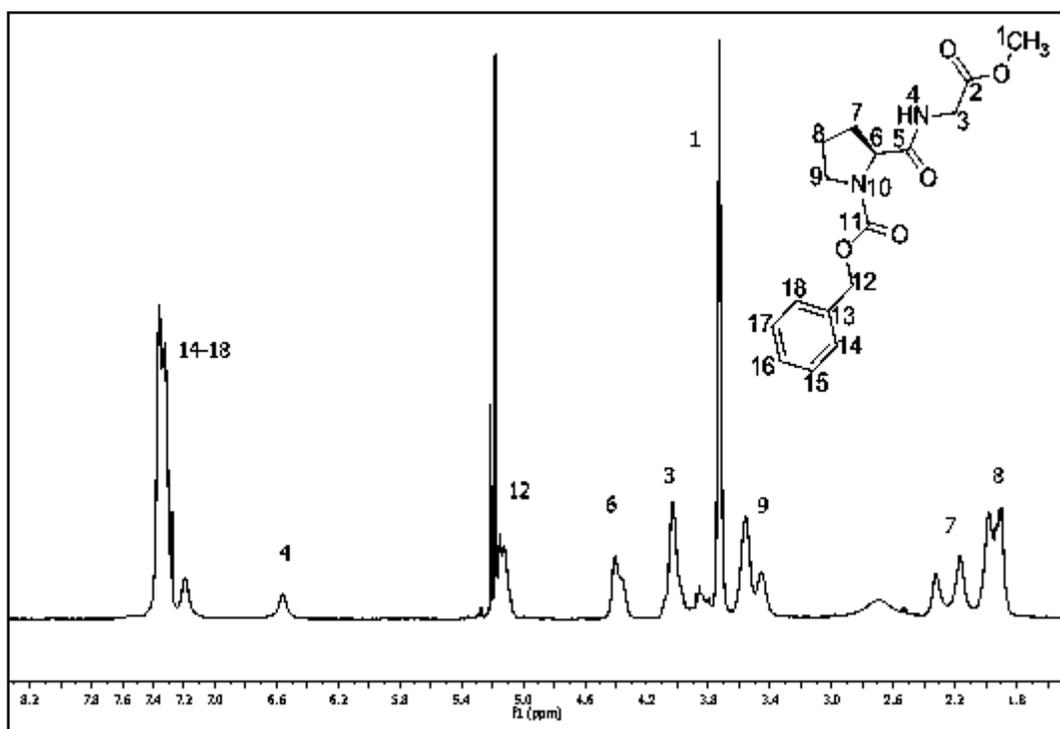
⁴⁰ Córdoba, A. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 1987.

⁴¹ Wang, W. Wang, J. Li. H. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 7243.

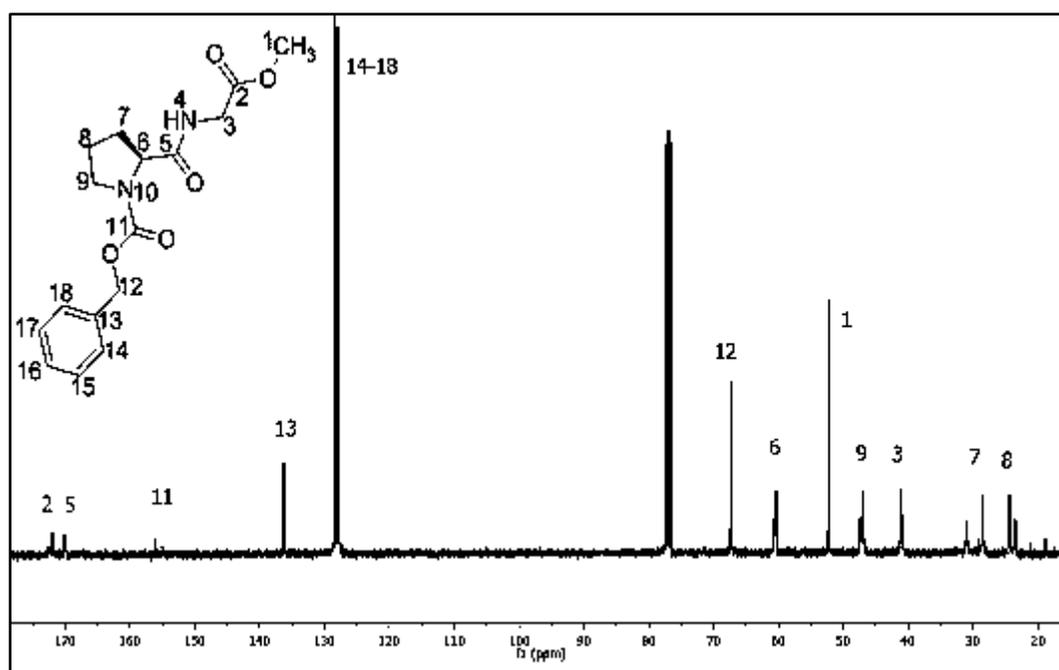
⁴² A. J. A. Cobb, D. M. Shaw, S. V. Ley, *Synlett* **2004**, 558.

Anexos

Evaluación catalítica de HN-L-Prolina-Glicina-OMe y Cbz-N-L-Prolina-Glicina-OH en la reacción de Mannich

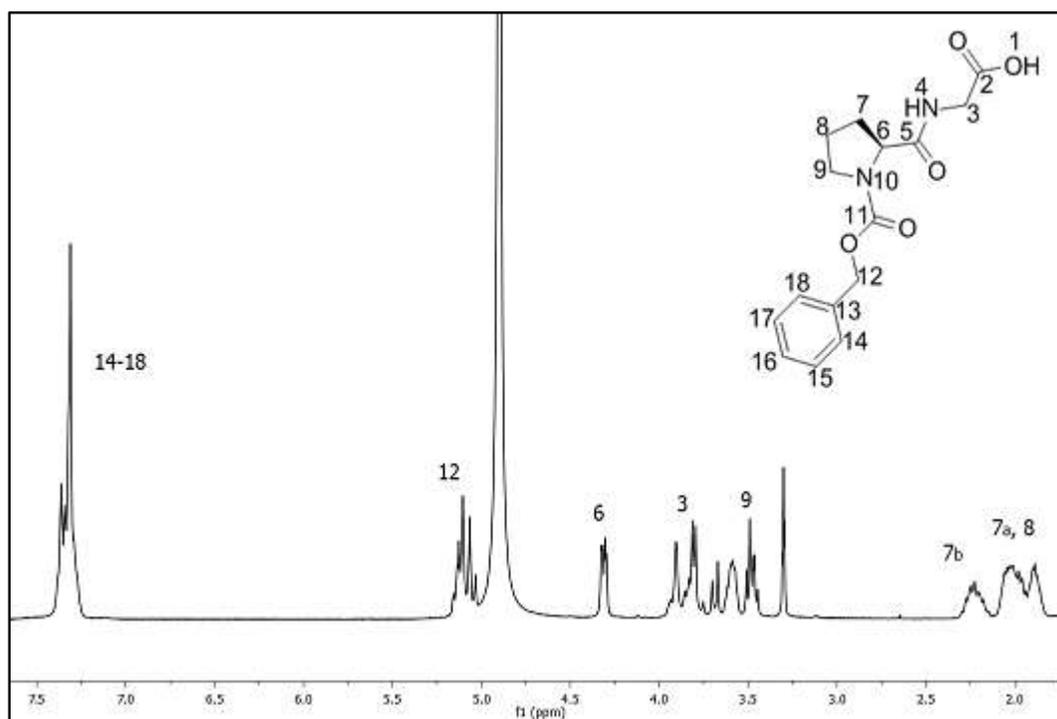


Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 de **8**.

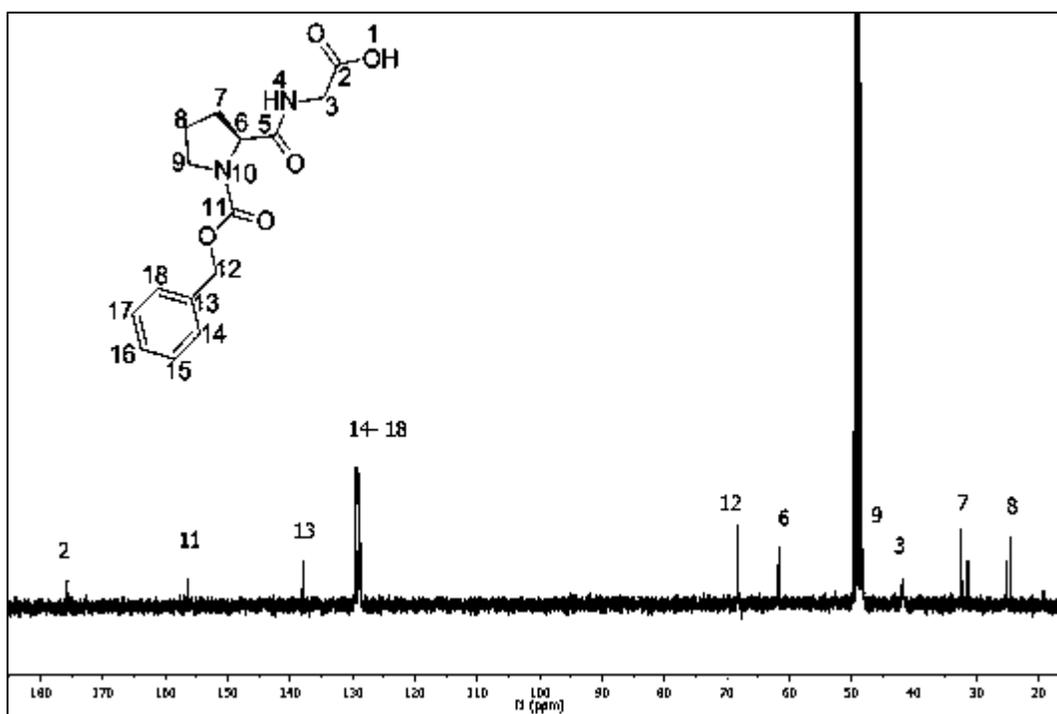


Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 de **8**.

Evaluación catalítica de HN-L-Prolina-Glicina-OMe y Cbz-N-L-Prolina-Glicina-OH en la reacción de Mannich

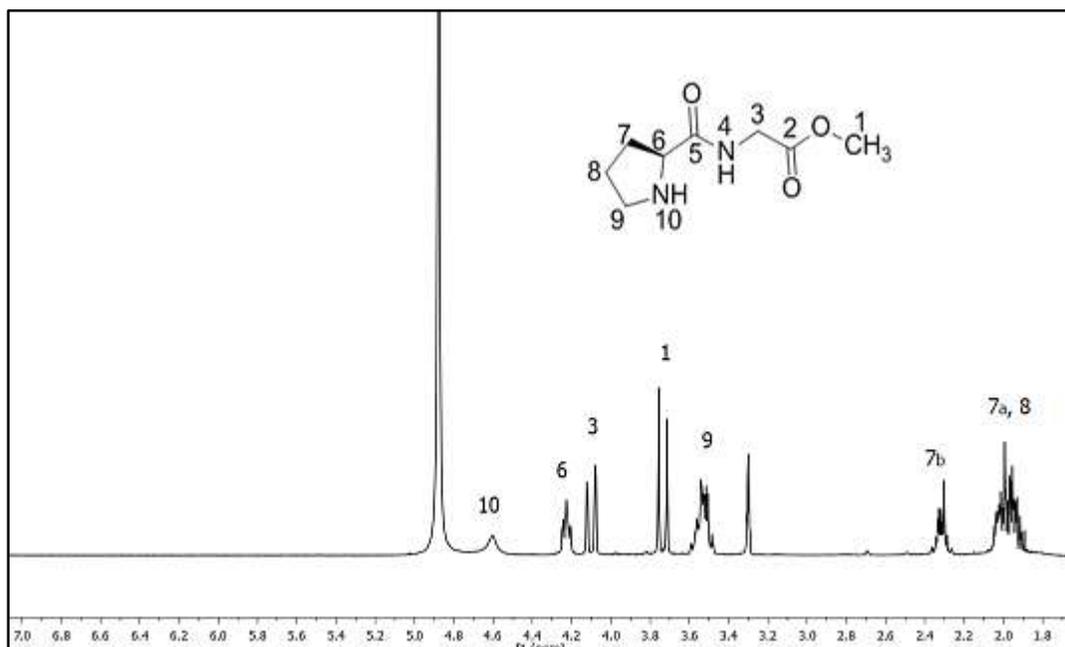


Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz en CD₃OD de 1.

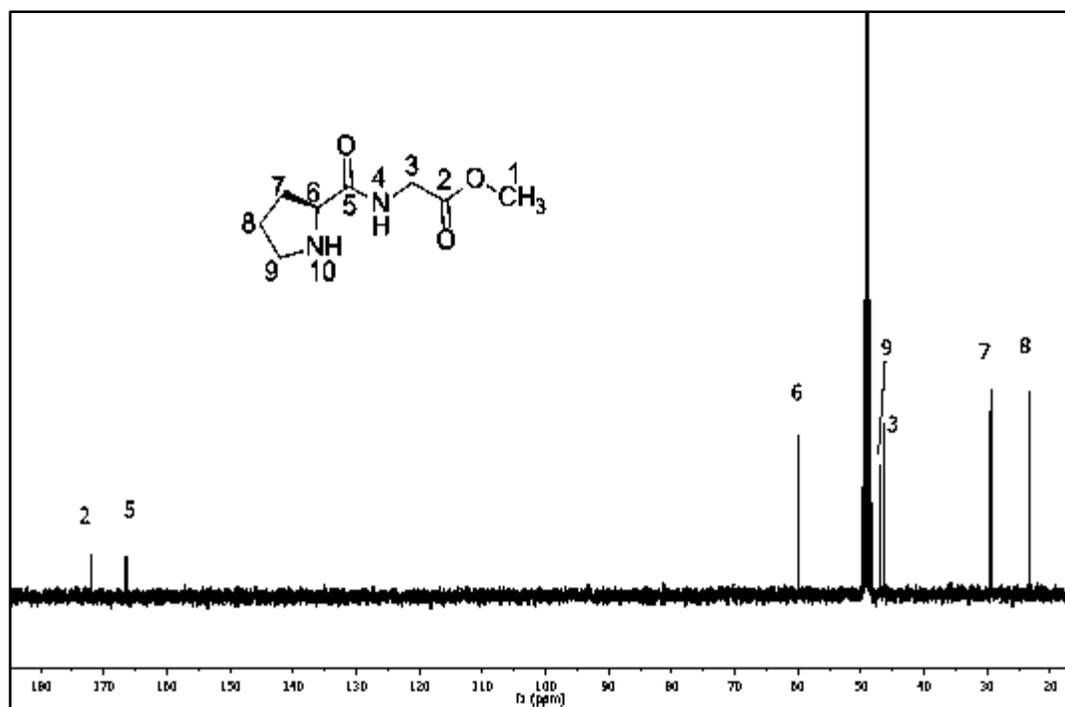


Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz en CD₃OD de 1.

Evaluación catalítica de HN-L-Prolina-Glicina-OMe y Cbz-N-L-Prolina-Glicina-OH en la reacción de Mannich

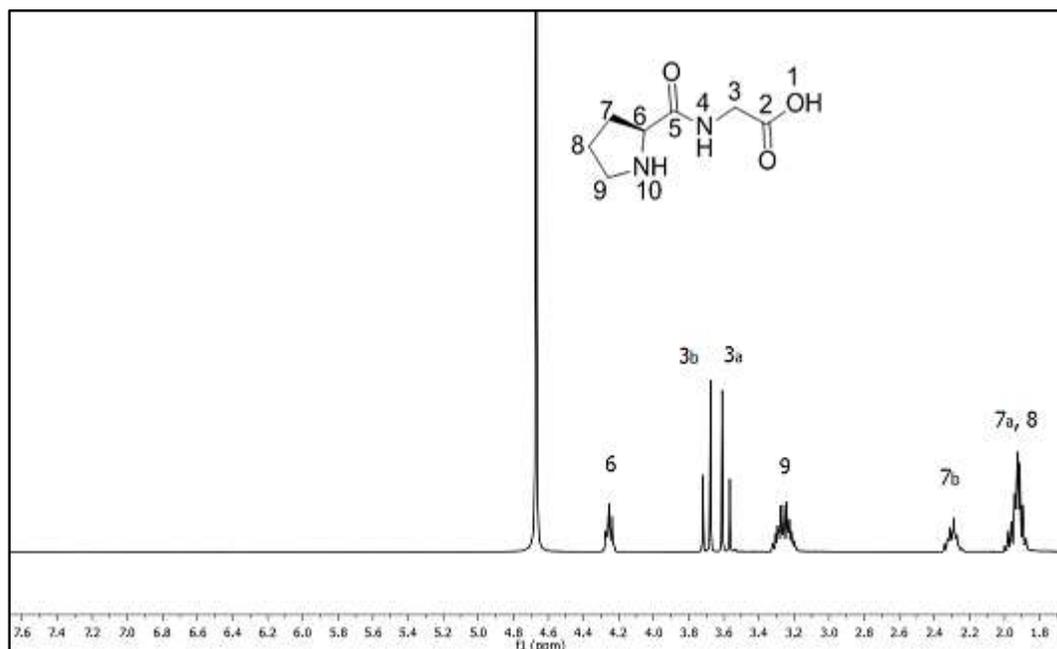


Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CD_3OD de **3**.

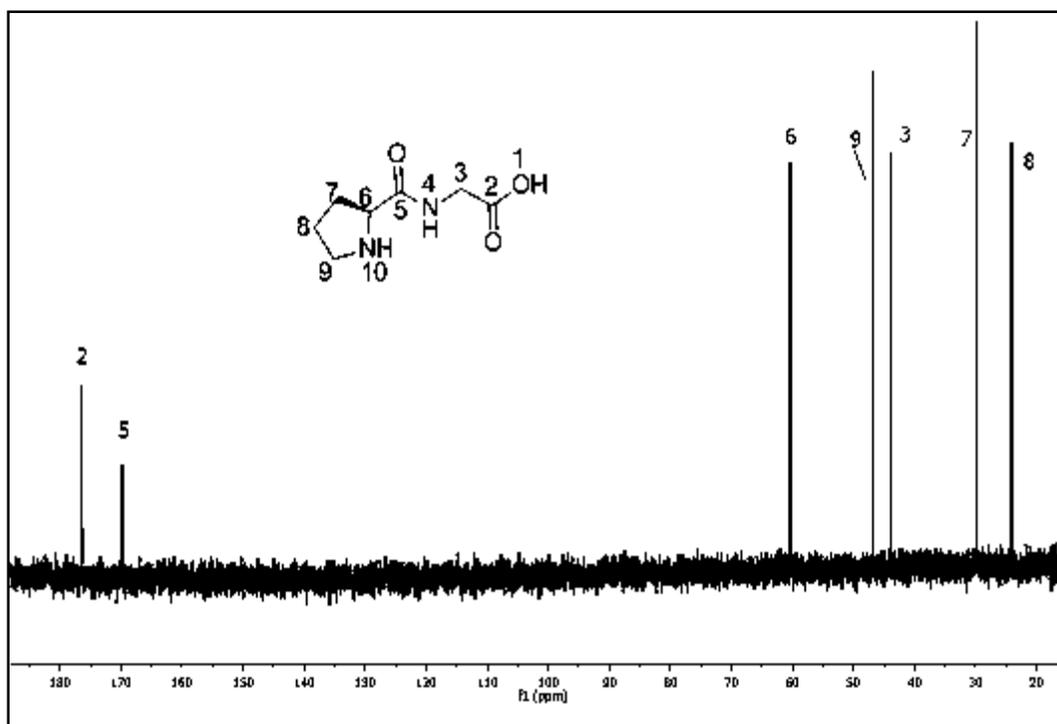


Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CD_3OD de **3**.

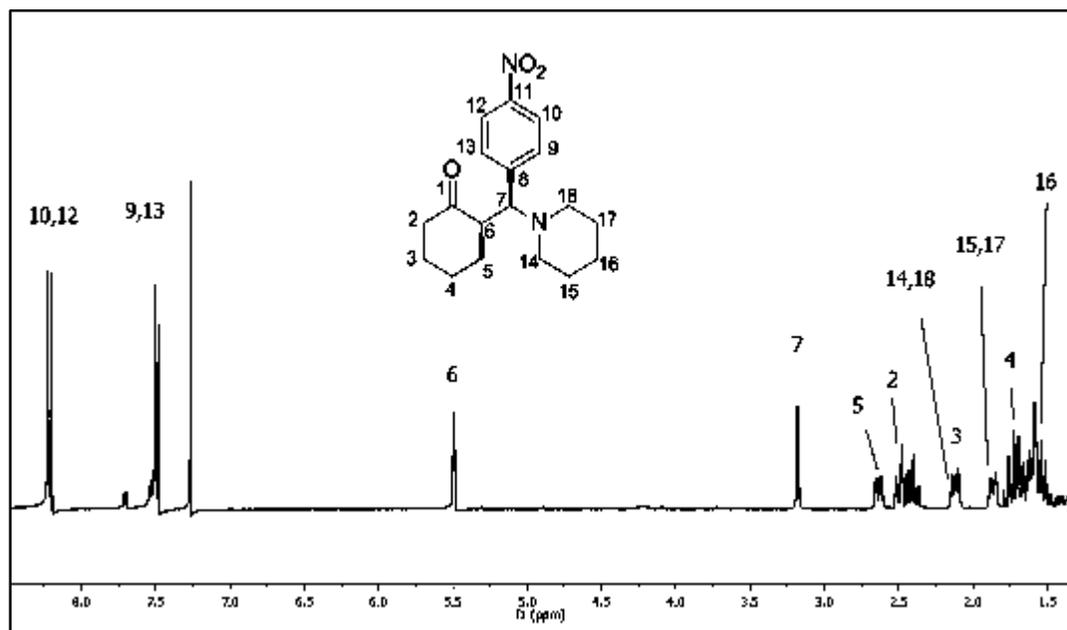
Evaluación catalítica de HN-L-Prolina-Glicina-OMe y Cbz-N-L-Prolina-Glicina-OH en la reacción de Mannich



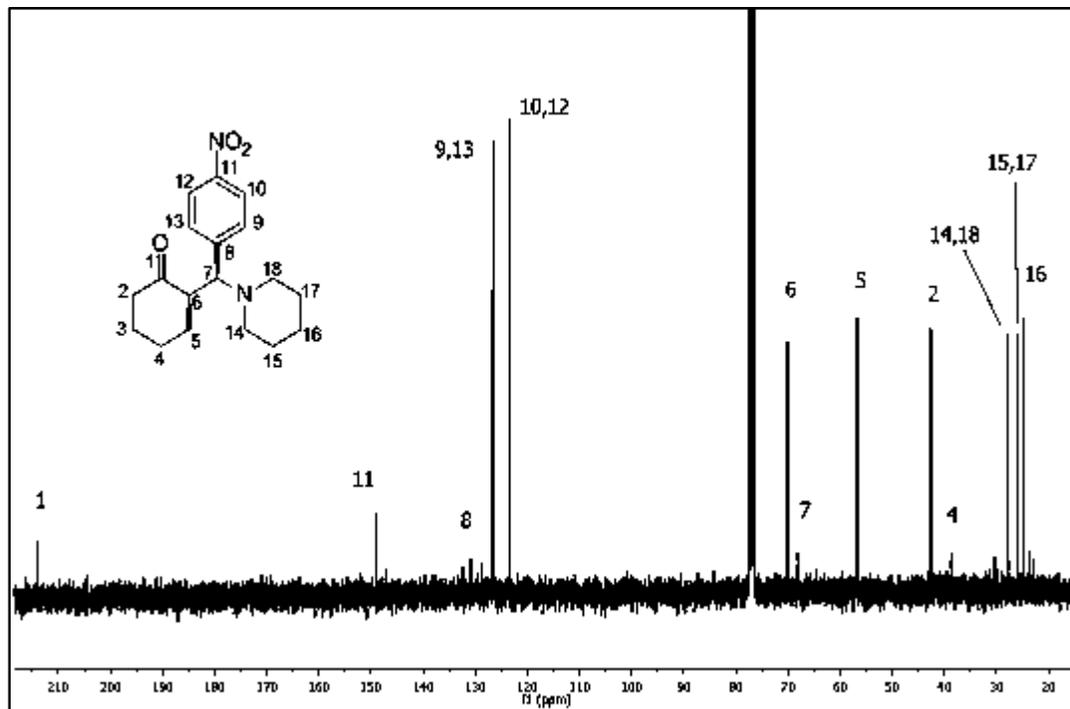
Espectro ^1H RMN a 400 MHz en D_2O de **2**.



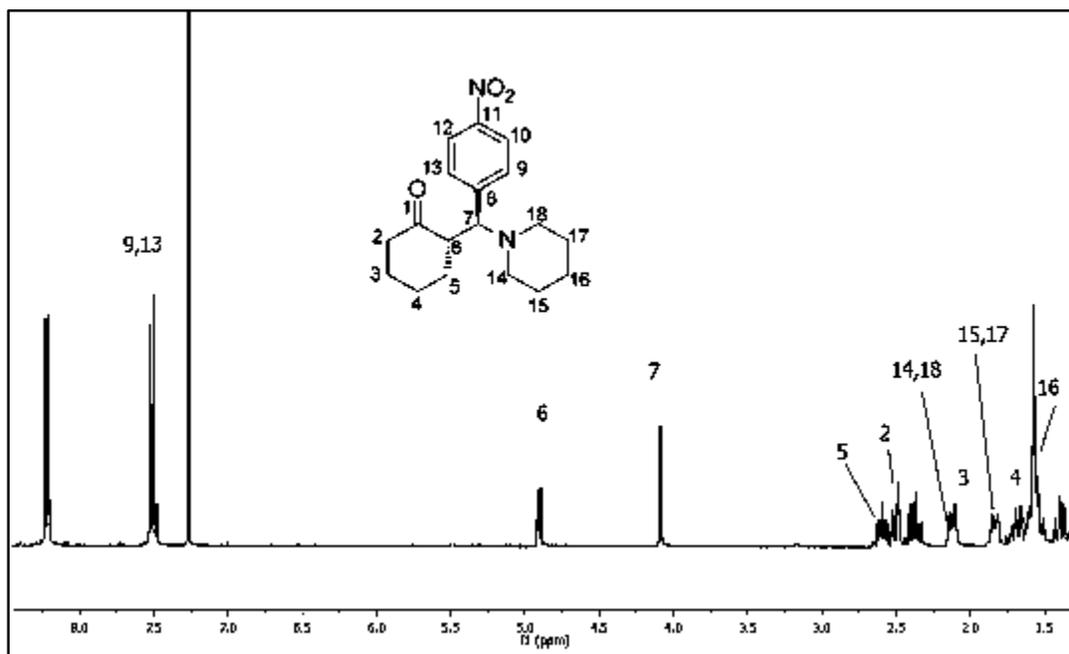
Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en D_2O de **2**.



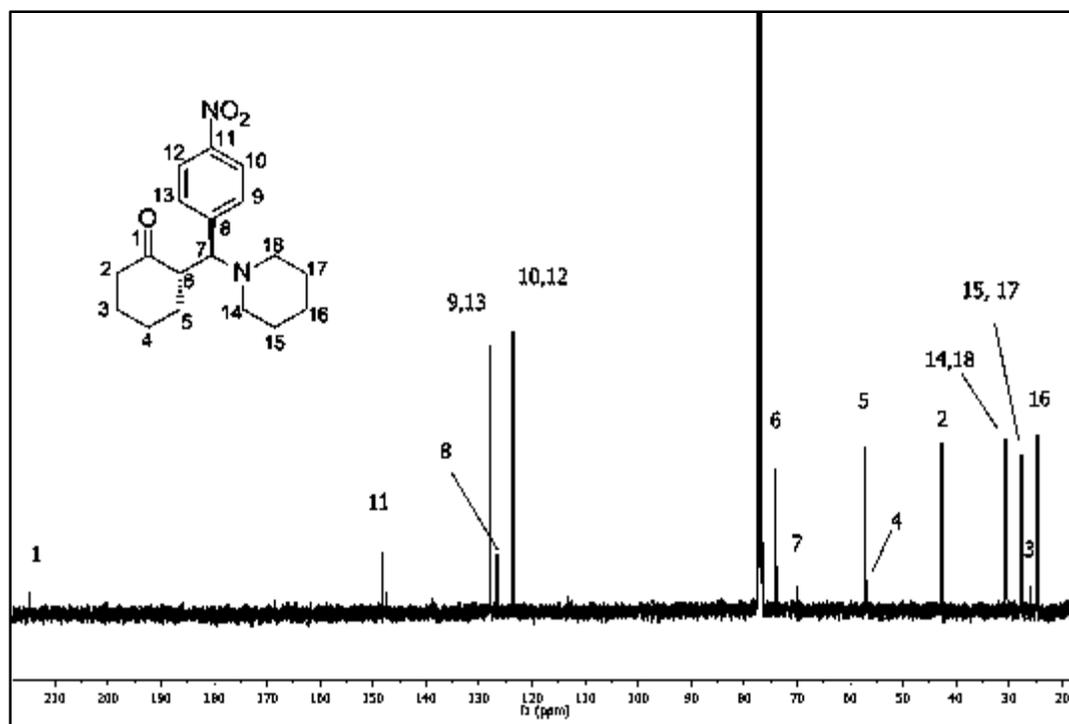
Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz en CDCl₃ de **9a**.



Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz en CDCl₃ de **9a**.

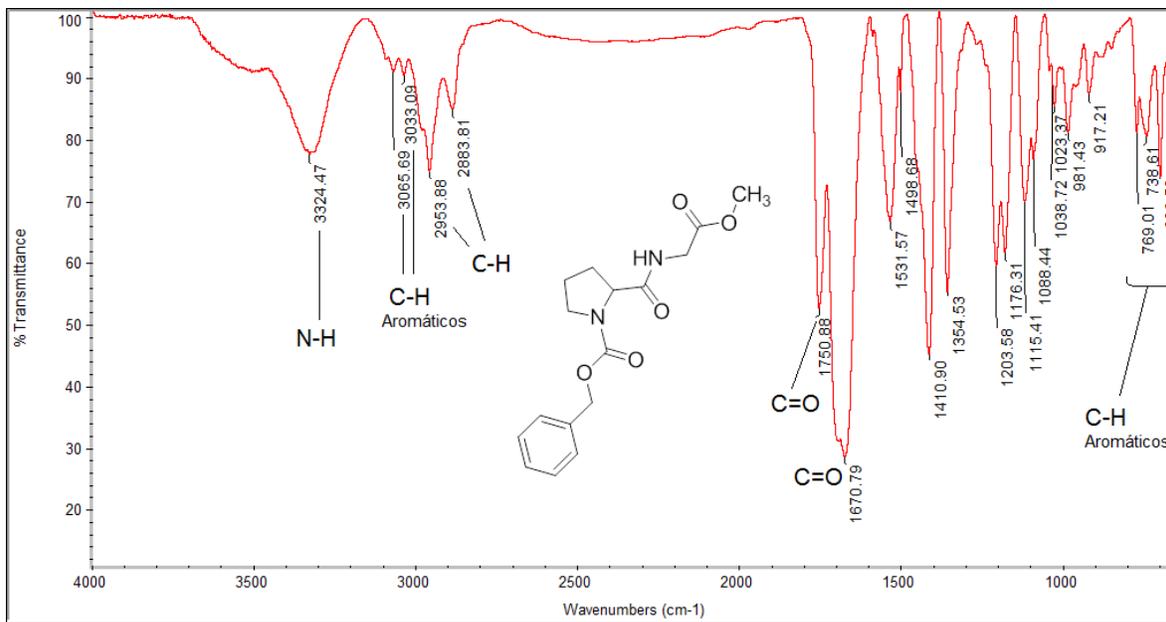


Espectro de RMN de ^1H a 400MHz en CDCl_3 de **9b**.

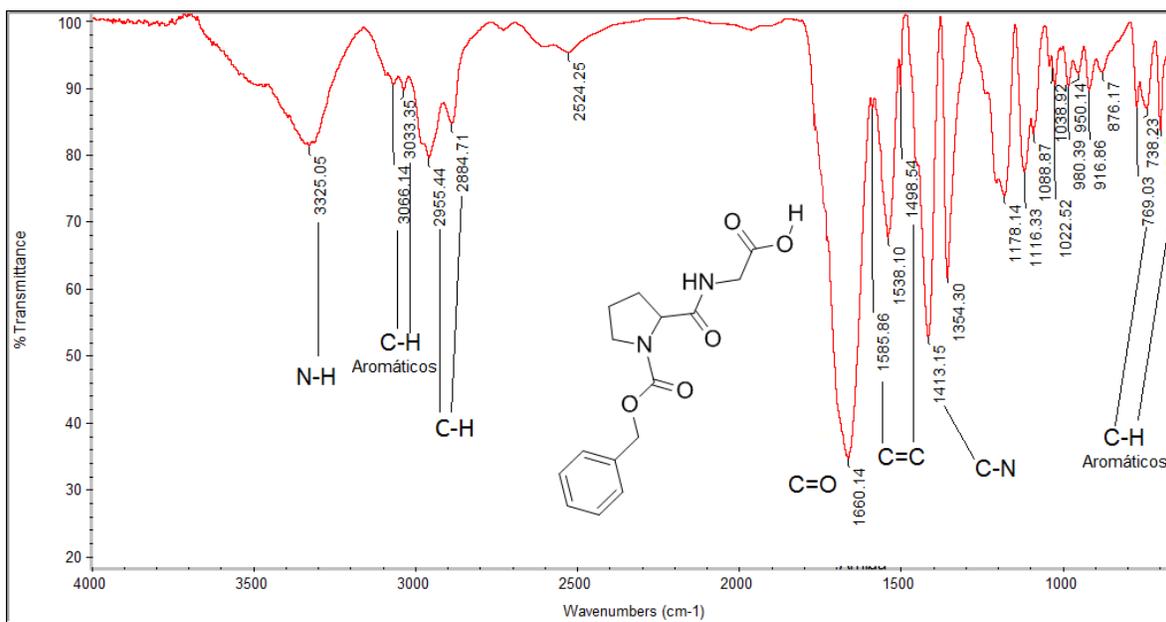


Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 de **9b**.

Evaluación catalítica de HN-L-Prolina-Glicina-OMe y Cbz-N-L-Prolina-Glicina-OH en la reacción de Mannich

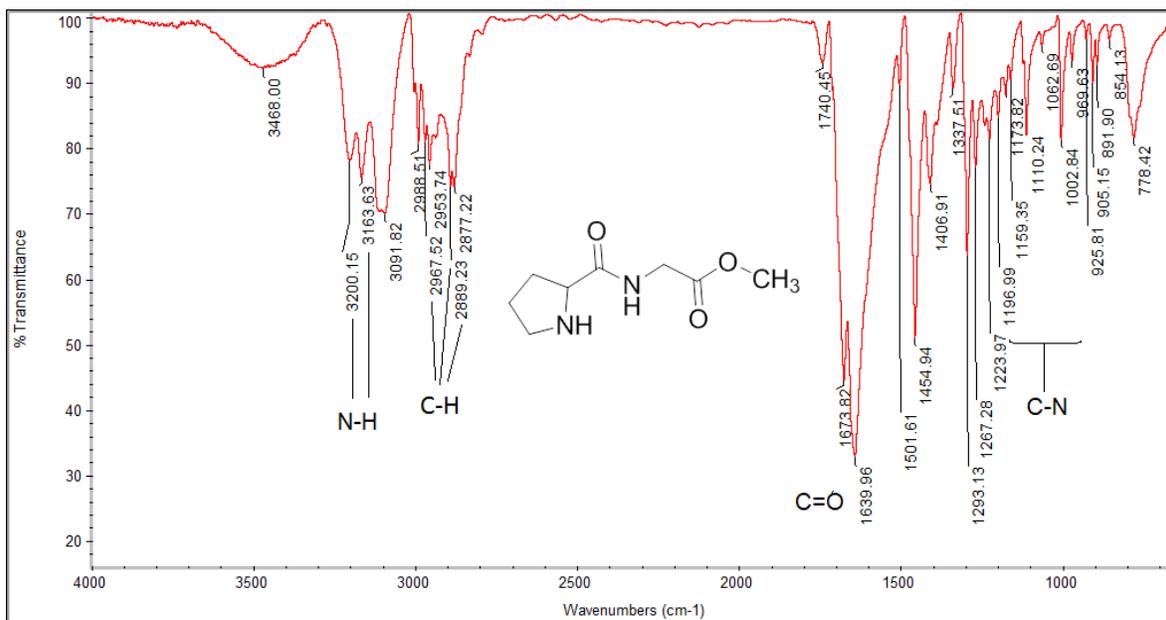


Espectro de infrarrojo de 8.

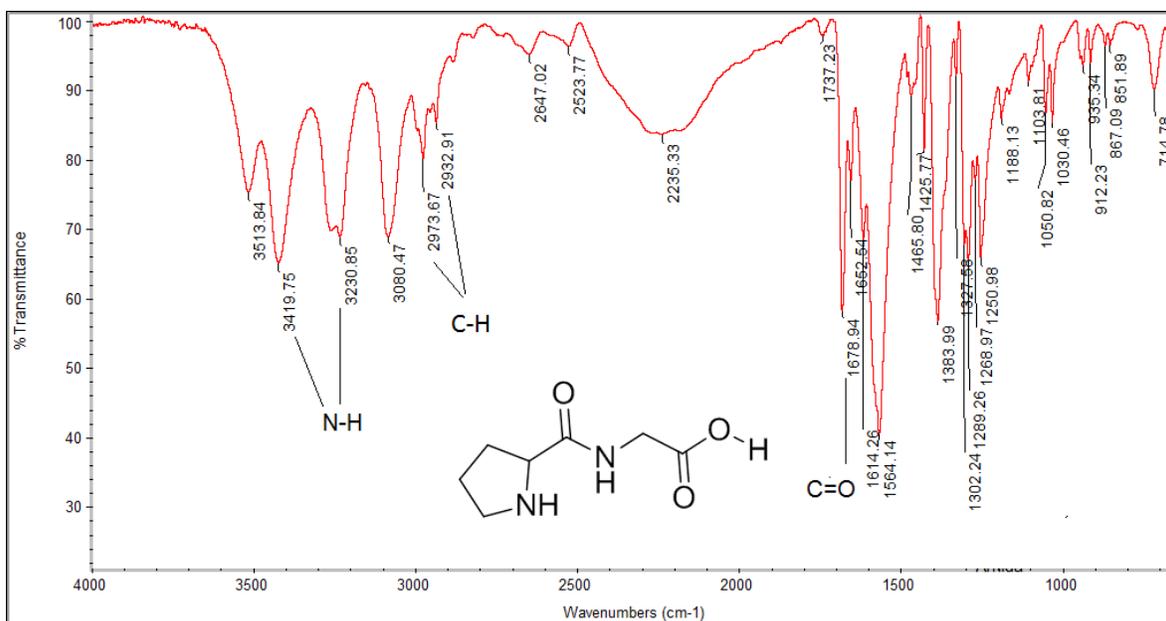


Espectro de infrarrojo de 1.

Evaluación catalítica de HN-L-Prolina-Glicina-OMe y Cbz-N-L-Prolina-Glicina-OH en la reacción de Mannich

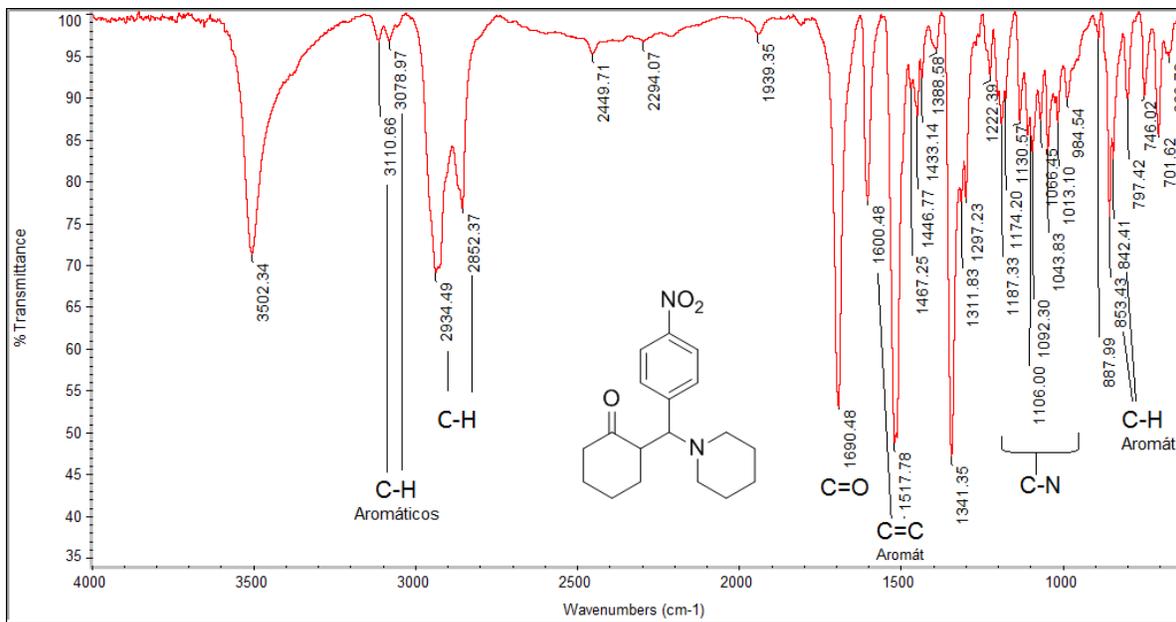


Espectro de infrarrojo de 3.



Espectro de infrarrojo de 2.

Evaluación catalítica de HN-L-Prolina-Glicina-OMe y Cbz-N-L-Prolina-Glicina-OH en la reacción de Mannich



Espectro de infrarrojo de 9.