



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS

POSGRADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

“SÍNTESIS DE *N,N*-DIBENCILAZIRIDINA Y EVALUACIÓN *IN VITRO* DE SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA”

TESIS

QUE PRESENTA

QFB. EDGAR ALONSO ESTRADA ZAVALA

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO(A) EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

DIRECTOR(ES)

DR. JULIO MONTES ÁVILA

DR. ADRIÁN OCHOA TERÁN

CULIACÁN DE ROSALES, SINALOA, MÉXICO A FEBRERO DE 2024.



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

**UAS-Dirección General de
Bibliotecas Repositorio
Institucional Buelna
Restricciones de uso**

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial Compartir Igual, 4.0 Internacional



DEDICATORIA

El siguiente trabajo está dedicado especialmente para mis padres y hermana: José Benito Estrada Bustamante, Ma. Griselda Zavala Bejarano y Yesenia Lizeth Estrada Zavala, por apoyarme en cada momento de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Al posgrado en Ciencias Biomédicas por haberme aceptado en el programa de maestría.

Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por el financiamiento económico para llevar a cabo este trabajo.

Dr. Julio Montes Ávila por confiar en mí, a sus enseñanzas, los consejos, regaños y tenerme tanta paciencia, durante todo este tiempo.

Dr. Adrián Ochoa Terán, por recibirme en su laboratorio, confiar en mí y hacer tan agradable mi estancia en el ITT.

Dra. Gabriela López Angulo por sus enseñanzas y su paciencia desde mi llegada al Laboratorio de Química de los Productos Naturales.

Dr. Eleazar Alcántara Zavala por ayudarme y estar pendiente siempre de todo, a los regaños, tenerme tanta paciencia a pesar de los fallos.

A los compañeros del laboratorio: Fabricio, Antonio, Kimberly, Judith, Enrique y Damaris por los buenos ratos y el apoyo en este trabajo.

A los de la Unidad de Investigación en Salud Pública “Dra. Kaethe Willms Manning”

A los del ITT: Felipe, Miguel, Cristian, Ángel, Azucena, Luis, Paul, Adilene, Saul, José, Rosalio por el apoyo durante este trabajo.

A mis amigos: Ramiro Tejeda, Ricardo Medina, Gustavo García, José Cruz Macías, Juan Angulo, Mario Leyva, Katia Meza, Joel Eng, Martín Monzón, Leslie Peinado, Minerva Ramírez y Antonio Medina, por los consejos y el apoyo incondicional siempre.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	IV
ÍNDICE DE CUADROS	VI
I. RESUMEN.....	1
II. ABSTRACT	2
III. INTRODUCCIÓN.....	3
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	5
4.1. Bacterias como agentes patógenos	5
4.2. Infecciones nosocomiales	6
4.3. Antibióticos	7
4.4. Resistencia bacteriana	8
4.5. Aminoácidos.....	12
4.6. Antecedentes	13
4.6.1. Aziridinas	13
4.6.2. Actividad antibacteriana de aziridinas.....	18
V. JUSTIFICACIÓN.....	26
VI. HIPÓTESIS	27
VII. OBJETIVOS	28
7.1. Objetivo general.....	28
7.2. Objetivos específicos.....	28
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS	29
8.1. Diseño Experimental	29
8.2. Materiales.....	29
8.2.1 Microorganismos.....	29
8.2.2 Reactivos	30
8.3 Metodología	30
8.3.1. Síntesis de la <i>N,N</i> -dibencilaziridina.....	30
8.3.1.1. Síntesis de éster metílico de serina (37).....	32
8.3.1.2. Síntesis de éster dibencilado de serina (38).....	32
8.3.1.3. Síntesis de 2-(<i>S</i>)-(N,N-dibencil)amino-3- <i>ter</i> butildimetilsililoxipropionato de metilo (39).....	33

8.3.1.4.	Síntesis de 3-(<i>S</i>)-dibencilamino-4- <i>ter</i> butildimetilsililoxi-1-cloro-2-butanona (40)	34
8.3.1.5.	Síntesis de (2 <i>R</i>)-(Z)- <i>N,N</i> -dibencil-3-bencilimin-1- <i>ter</i> butildimetilsililoxi-4-clorobutan-2-amina (41)	34
8.3.1.6.	Síntesis de (2 <i>S</i> ,1' <i>R</i>)-1-becil-2-{1'-(dibencilamino)-2'-[(<i>ter</i> butildimetilsilil)oxi]etil}aziridina (42)	35
8.3.2.	Técnicas de caracterización	36
8.3.3.	Evaluación de la actividad antibacteriana	36
8.3.3.1.	Actividad antibacteriana mediante microdilución en caldo.....	37
8.3.3.2.	Actividad antibacteriana mediante Kirby-Bauer	38
8.3.4.	Bioensayo de toxicidad frente a <i>Artemia salina</i>	38
8.3.4.1	Obtención de larvas (nauplios) de <i>A. salina</i>	39
8.3.4.2	Preparación de los compuestos para el ensayo de toxicidad	39
8.3.4.3	Evaluación de toxicidad de los compuestos	39
8.3.4.4	Determinación de la CL ₅₀ (Concentración Letal media).....	40
IX.	RESULTADOS	42
9.1.	Síntesis de la <i>N,N</i> -dibencilaziridina	42
9.1.1	Síntesis del éster metílico de serina (37)	42
9.1.2	Síntesis del éster dibencilado de serina (38)	43
9.1.3	Síntesis de 2-(<i>S</i>)-(N,N-dibencil)amino-3- <i>ter</i> butildimetilsililoxipropionato de metilo (39)	53
9.1.4	Síntesis de 3-(<i>S</i>)-dibencilamino-4- <i>ter</i> butildimetilsililoxi-1-cloro-2-butanona (40).....	54
9.1.5	Síntesis de (2 <i>R</i>)-(Z)- <i>N,N</i> -dibencil-3-bencilimin-1- <i>ter</i> butildimetilsililoxi-4-clorobutan-2-amina (41)	55
9.1.6.	Síntesis de (2 <i>S</i> ,1' <i>R</i>)-1-becil-2-{1'-(dibencilamino)-2'[(<i>ter</i> butildimetilsilil)oxi]etil}aziridina (42)	66
9.2.	Evaluación de la actividad antibacteriana	72
9.2.	Bioensayo de toxicidad frente a <i>A. salina</i>	72
X.	DISCUSIÓN.....	74
10.1.	Síntesis de la <i>N,N</i> -dibencilaziridina	74

10.1.1	Síntesis del éster metílico de serina (37)	74
10.1.2	Síntesis del éster dibencilado de serina (38)	75
10.1.3	Síntesis de 2-(<i>S</i>)-(N,N-dibencil)amino-3- <i>ter</i> butildimetilsililoxipropionato de metilo (39)	76
10.1.4.	Síntesis de 3-(<i>S</i>)-dibencilamino-4- <i>ter</i> butildimetilsililoxi-1-cloro-2-butanona (40)	77
10.1.5.	Síntesis de (2 <i>R</i>)-(Z)-N,N-dibencil-3-bencilimin-1- <i>ter</i> butildimetilsililoxi-4-clorobutan-2-amina (41)	78
10.1.6.	Síntesis de (2 <i>S</i> ,1' <i>R</i>)-1-bencil-2-{1'-(dibencilamino)-2'[(<i>ter</i> butildimetilsilil)oxi]etil}aziridina (42)	78
10.2	Evaluación de la actividad antibacteriana	79
10.3.	Bioensayo de toxicidad frente a <i>A. salina</i>	81
XI.	CONCLUSIONES	82
XII.	PERSPECTIVAS DEL PROYECTO	83
XIII.	BIBLIOGRAFÍA.....	84
XIV.	ANEXOS.....	93
XV.	SIGLAS Y ABREVIACIONES	95

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Síntesis de aziridinas a partir de los L-aminoácidos alanina y leucina.	15
2. Síntesis de aziridinas a partir de iminas derivadas de sulfonamidas.....	16
3. Síntesis de aziridinas disustituidas (7 – 11) y dipéptidos (12 –16)..	17
4. Aziridinas disustituidas derivadas de ácidos α -aminofosfónicos.	20
5. Dipéptidos con núcleo base de aziridina.	22
6. Aziridinas unidas a derivados de quinolonas.....	24
7. Síntesis propuesta para la obtención de <i>N,N</i> -dibencilaziridina a partir del aminoácido L-serina.....	31
8. Espectro de FTR-IR del éster metílico de serina (37).	45
9. Espectro de masas del éster metílico de serina (37).....	46
10. Espectro de RMN- ¹ H (A) y RMN- ¹³ C (B) del éster metílico de serina (37).	47
11. Espectro de infrarrojo del éster dibencilado de serina (38).	49
12. Espectro de masas del éster dibencilado de serina (38).....	50
13. Espectro de RMN- ¹ H (A) y RMN- ¹³ C (B) del éster dibencilado de serina (38).. ..	51
14. Espectro de IR de la <i>N,N</i> -dibencil- <i>O</i> -(<i>ter</i> -butildimetilsilil)-L- metilserinato (39).	57
15. Espectro de EM-IE de la <i>N,N</i> -dibencil- <i>O</i> -(<i>ter</i> butildimetilsilil)-L-metilserinato (39)..	58
16. Espectro de RMN- ¹ H (A) y RMN- ¹³ C (B) de la <i>N,N</i> -dibencil- <i>O</i> -(<i>ter</i> butildimetilsilil)-L- metilserinato (39).....	59
17. Espectro de EM-IE de la (<i>S</i>)-4-((<i>ter</i> butildimetilsilil)oxi)-1-cloro-3-(dibencilamino)butan-2-ona (40)..	61

18. Espectro de RMN- ¹ H (A) y RMN- ¹³ C (B) de la (S)-4-((<i>ter</i> butildimetilsilil)oxi)-1-cloro-3-(dibencilamino)butan-2-ona (40).	62
19. Espectro de RMN- ¹ H (A) y RMN- ¹³ C (B) de la (2 <i>R</i>)-(Z)- <i>N,N</i> -dibencil-3-bencilimin-1- <i>ter</i> butildimetilsililoxi-4-clorobutan-2-amina (41).	64
20. Espectro de HSQC (A) y HMBC (B) de la (2 <i>S</i> ,1' <i>R</i>)-1-becil-2-{1'-(dibencilamino)-2'[(<i>ter</i> butildimetilsilil)oxi]etil}aziridina (42).	69
21. Espectro de RMN- ¹ H (A) y RMN- ¹³ C (B) de la (2 <i>S</i> ,1' <i>R</i>)-1-becil-2-{1'-(dibencilamino)-2'[(<i>ter</i> butildimetilsilil)oxi]etil}aziridina (42).....	70

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Mecanismo de acción de antibióticos.....	10
2. Lista de bacterias que necesitan el desarrollo de nuevos antibióticos emitida por la OMS.....	11
3. CMLs ($\mu\text{g/mL}$) de aziridinas disustituidas derivadas de ácidos α -aminofosfónicos	21
4. Datos de actividad antimicrobiana de los compuestos sintetizados (30-34) CMLs ($\mu\text{g/mL}$).....	23
5. Resultados de la actividad antibacteriana de aziridinas unidas a quinolonas CMLs ($\mu\text{g/mL}$).....	25
6. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C del éster metílico de serina (37).....	48
7. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C del éster dibencilado de serina (38).....	52
8. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C de la <i>N,N</i> -dibencil- <i>O</i> -(<i>ter</i> butildimetilsilil)- <i>L</i> - metilserinato (39).....	60
9. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C de la (<i>S</i>)-4-((<i>ter</i> butildimetilsilil)oxi)-1-cloro-3-(dibencilamino)butan-2-ona (40).	63
10. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C de la (<i>2R</i>)-(<i>Z</i>)- <i>N,N</i> -dibencil-3-bencilimin-1- <i>ter</i> butildimetilsililoxi-4-clorobutan-2-amina (41)	65
11. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C (<i>2S,1'R</i>)-1-bencil-2-{1'-(dibencilamino)-2'[(<i>ter</i> butildimetilsilil)oxi]etil}aziridina (42)	71
12. Resultados de la actividad antibacteriana del compuesto 40	73

I. RESUMEN

Las enfermedades producidas por bacterias farmacorresistentes son uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial debido al uso desmedido e irracional de los antibióticos en la última década, haciendo que los tratamientos actuales sean ineficientes. Este tipo de enfermedades producen millones de muertes al año. La OMS estimó para el año 2050 sería la primera causa de muerte a nivel mundial. Entre las bacterias resistentes más comunes en humanos se encuentran *Escherichia coli* (*E. coli*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) y *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), siendo esta última aislada con mayor frecuencia observándose que un 20 a 80 % de la población posee una variante de *S. aureus* resistente a meticilina (SARM), que ocasiona infecciones de piel, tejido blandos, neumonía y endocarditis. Esta situación ha generado un gran interés en la comunidad científica en la búsqueda de compuestos nuevos que presenten actividad antibacteriana sin ser tóxicos, obteniendo así alternativas terapéuticas frente al incremento de microorganismos multirresistentes. Una alternativa es la obtención de aziridinas, las cuales se encuentran como estructura base de un gran número de compuestos bioactivos que han mostrado actividad frente a SARM, por lo que la obtención de nuevos compuestos de tipo aziridina pueden llegar a ser candidatos importantes para combatir las infecciones farmacorresistentes producidas por bacterias. En este proyecto se planteó sintetizar la *N,N*-dibencilaziridina a partir de L-serina y evaluar la actividad antibacteriana. Los intermediarios y la aziridina fueron obtenidos con rendimientos del 80 al 93% estos fueron caracterizados por métodos FT-IR y RMN ¹H, RMN ¹³C y EM-IE, observándose que la clorocetona 40 presentó actividad antibacteriana por microdilución en caldo contra once bacterias con CMIs de 25 a 200 µg/mL siendo mayormente activo frente a *S. aureus* inclusive con el fenómeno de resistencia bacteriana (SARM-1, SARM-2, SARM-3, SARM-4, SARM-5) y determinándose una CL₅₀ de 50 µg/mL por el ensayo de *Artemia salina*. Lo que es interesante debido a que hay pocos estudios donde se evalúen clorocetonas esto nos indica que estas también pueden llegar a ser candidatas para combatir bacterias resistentes.

(Palabras clave: *bacterias resistentes, aziridinas, aminoácidos, síntesis*)

II. ABSTRACT

Infectious diseases caused by resistant bacteria are one of the main health problems worldwide due to the excessive and irrational use of antibiotics in the last decade, making current treatments ineffective, and therefore the number of cases has been increasing. These types of diseases cause millions of deaths a year, generating high costs in hospital stays for the patient and the health sector. The WHO estimated that by the year 2050 it would be the first cause of death worldwide. Among the most common resistant bacteria are *E. coli*, *K. pneumoniae* and *S. aureus*, the latter being the most frequently isolated in people where approximately 20 to 80% of the population has a variant of MRSA, said bacteria is causing infections in the skin, soft tissues, pneumonia and endocarditis. This situation has generated an impact in the scientific community by finding new compounds that have high antibacterial activity and in turn have low toxicity. An alternative to this is obtaining heterocyclic compounds from amino acids, which are the base structure of many bioactive compounds. Among these heterocycles are the aziridines, which are the base structure of a large number of bioactive compounds where aziridines have shown activity against MRSA. Therefore, obtaining new aziridine-type compounds may become important candidates to combat drug-resistant bacterial infections. In this project, it was proposed to synthesize *N,N*-dibenzylaziridine from L-serine and evaluate the antibacterial activity. The intermediates and aziridine were obtained with yields of 80 to 93%. These were characterized by FT-IR and ¹H NMR, ¹³C NMR and MS-IE methods, observing that chloroketone 40 presented antibacterial activity by broth microdilution against eleven bacteria with MICs. from 25 to 200 µg/mL, being mostly active against *S. aureus*, including the phenomenon of bacterial resistance (MRSA-1, MRSA-2, MRSA-3, MRSA-4, MRSA-5) and determining an LC₅₀ of 50 µg /mL by the *A. salina* assay. It's interesting that there are few studies evaluating chloroketones, this indicates that they can also be candidates to combat resistant bacteria.

(Keywords: Aziridine, aminoacids, serine, resistant bacteria.)

III. INTRODUCCIÓN

Las bacterias causantes de infecciones nosocomiales han aumentado en los últimos años, generando una duración prolongada en estancias hospitalarias y costos adicionales al sector salud, entre los agentes etiológicos aislados con prevalencia mayor se encuentran: *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter*, *Acinetobacter spp*, *Pseudomonas spp* y *Staphylococcus aureus* (Riedel y col., 2016; Pérez-Verea y col., 2019; Martínez-Leyva y Zavala-Ayala 2022). Las infecciones producidas por estos microorganismos son tratadas con antibióticos, sin embargo, debido al uso inadecuado e irracional de estos ha provocado que las bacterias presenten el fenómeno de resistencia a los diferentes antibióticos, dejando ineficientes los tratamientos tradicionales (Riedel y col., 2016; Pérez-Verea y col., 2019; Martínez-Leyva y Zavala-Ayala 2022). *Staphylococcus aureus* es la bacteria aislada con mayor frecuencia donde un 20 a 80% de la población infectada con *Staphylococcus aureus* posee una variante de SARM (Bloomfield y col., 2020; Chow y col., 2020). Ante a esta condición, es necesario la búsqueda de compuestos nuevos capaces de eliminar a bacterias resistentes (Bloomfield y col., 2020; Chow y col., 2020).

Actualmente el interés de obtener moléculas enantioméricamente puras biológicamente activas está en aumento, sin embargo, su obtención resulta difícil sin la presencia de catalizadores o auxiliares quirales, los α -aminoácidos han sido utilizados como precursores en una gran variedad de moléculas bioactivas, debido al potencial para conservar su centro asimétrico y consecuentemente la formación de nuevos estereocentros por estereoinducción (Bongioanni y col., 2022; Singh y col., 2017).

Entre las moléculas bioactivas sintetizadas a partir de α -aminoácidos se encuentran las aziridinas, las cuales son heterociclos de tres miembros unida a un átomo de nitrógeno (Dank y Lelo, 2023). Las aziridinas son empleadas en química medicinal debido a que la presencia de este anillo ha mostrado actividad antiparasitaria, antitumoral y antibacteriana, siendo esta última de gran interés en la búsqueda de compuestos nuevos frente a bacterias farmacorresistentes, diversos

estudios han mostrado actividad de este tipo de compuestos contra bacterias resistentes entre las que se encuentra SARM (Singh, 2016; Mukherjee y col., 2019; Dank y Lelo, 2023). Debido al potencial de las aziridinas, se planteó como objetivo sintetizar la *N,N*-dibencilaziridina partir del aminoácido L-serina, evaluándose los precursores y la *N,N*-dibencilaziridina (**38**, **39**, **40** y **42**), su estructura molecular fue confirmada por técnicas espectroscópicas (FT-IR, RMN ¹H, RMN ¹³C) y espectrométricas (EM-IE). Además se evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* por microdilución en caldo y Kirby-Bauer y su toxicidad empleando el modelo de *A. salina*.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Bacterias como agentes patógenos

Las bacterias son microorganismos unicelulares ubicuos con tamaños de 0.5 hasta 10 μm (Riedel y col., 2016). Su morfología es variable encontrándose en forma de cocos, bacilos, y espirilos (Riedel y col., 2016).

Las bacterias dependiendo de su tinción de Gram, se clasifican como Grampositivas y Gramnegativas, y se diferencian por su pared celular (Sizar y Unakal, 2022). Las bacterias Gram positiva presentan una capa homogénea de peptidoglucano de 20 a 80 nm presente por fuera de la membrana celular (Sizar y Unakal, 2022). Mientras que la Gramnegativa presenta una capa de peptidoglucano de 2 a 7 nm de grosor rodeada por una membrana externa (Sizar y Unakal, 2022).

Otra manera de clasificarlas es dependiendo el efecto que tienen sobre el ser humano donde las bacterias benéficas pueden ayudar a diversos procesos como es la digestión de alimentos, mientras que las bacterias patógenas provocan enfermedades como: botulismo, sífilis, fascitis necrosante, neumonía, tuberculosis, entre otras (Riedel y col., 2016). Para esto es necesario un reservorio que es la fuente principal de los patógenos, los cuales posteriormente son transmitidos hacia un huésped susceptible ya sea mediante contacto directo, vectores o fómites, una vez infectado el huésped la bacteria patógena lleva a cabo una parte de su ciclo biológico en el huésped generando así la enfermedad (Riedel y col., 2016).

4.2. Infecciones nosocomiales

Las infecciones nosocomiales son adquiridas en el hospital u otra institución de salud y no es la causa correspondiente al internado del paciente (Martínez-Leyva y Zavala-Ayala, 2022; Pérez-Verea y col., 2019). Esto debido a factores tales como: falta de higiene, fómites, contacto entre pacientes (e.g. manos, gotitas de saliva o de otros fluidos corporales) y la concentración de pacientes vulnerables en un área específica, como personas en edad avanzada y con condiciones fisiológicas o en estado patológico que disminuyen su sistema inmune, provocando así que millones de pacientes a nivel mundial se vean afectados generando prolongadas estancias hospitalarias, costos adicionales a sistemas de salud, costos elevados tanto para el paciente como a sus familiares e incluso la muerte del paciente (Martínez-Leyva y Zavala-Ayala, 2022; Pérez-Verea y col., 2019). Entre los patógenos nosocomiales más comunes se encuentran: *E. faecium*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter*, *Acinetobacter spp*, *Pseudomonas spp* y *S. aureus* (Martínez-Leyva y Zavala-Ayala, 2022; Pérez-Verea y col., 2019).

La bacteria Gram positiva *S. aureus* es aislada con frecuencia mayor en el ser humano, provocando infecciones en la piel y tejido blandos, además de neumonía y endocarditis (Bloomfield y col., 2020; Chow y col., 2020; Ortíz-Gil y col., 2020). Actualmente se conoce un número amplio de cepas de *S. aureus* que presentan el fenómeno de resistencia, principalmente a meticilina (SARM) y otros antibióticos de tipo β -lactámico (Bloomfield y col., 2020; Chow y col., 2020; Ortíz-Gil y col., 2020). Aproximadamente un 20 a 80% de la población mundial posee una variante de SARM, en México a través de diversos estudios se conserva esta de relación entre el 24.1 a

80%, siendo una bacteria con un índice alto de mortalidad en el mundo. (Bloomfield y col., 2020; Chow y col., 2020; Ortiz-Gil y col., 2020).

Estas infecciones nosocomiales se han ido incrementando año tras año, donde en Estados Unidos uno de cada 136 pacientes contrae una de estas infecciones, ocasionando más de 80 mil muertes al año además de generar una carga económica de aproximadamente 5000 millones de dólares anuales (Conamed, 2018; Pérez-Verea y col. 2019). Por otro lado, 3.2 millones presentan infecciones farmacorresistentes en Europa, mientras que en México la incidencia es de 450 mil casos al año, provocando muertes y costos de 1500 millones de pesos al sector salud (Conamed, 2018; Pérez-Verea y col. 2019).

4.3. Antibióticos

Los antibióticos son sustancias producidas a partir de compuestos naturales, sintéticos o semisintéticos (Lopardo, 2020; Reygaert, 2018). Estos tienen una acción específica sobre alguna estructura de la bacteria, en concentraciones muy bajas siendo letal para esta y presentando una toxicidad baja para las células de nuestro organismo (Lopardo, 2020; Reygaert, 2018).

Se pueden clasificar de diferentes maneras ya sea por su efecto en las bacterias: bacteriostáticos (inhibición del crecimiento bacteriano) y bactericidas (destruyen directamente la bacteria) o según el tipo de acción que ejercen sobre el microorganismo afectando la morfología de la pared y membrana bacteriana, además alterando producción y generación de proteínas, ácidos nucleicos (ADN) (Cuadro 1) (Lopardo, 2020; Reygaert, 2018).

4.4. Resistencia bacteriana

Es la capacidad que adquiere un agente etiológico a sobrevivir a la dosis de antimicrobiano a la cual antes era sensible. La evolución de la bacteria ha permitido que cepas de interés clínico generen mecanismos de resistencia mediante modificaciones genética, promoviendo la inactivación o modificación de enzimas, alteraciones en el blanco terapéutico, cambios estructurales de la membrana celular y la creación de proteínas para la exclusión del antibiótico, mostrando deficiencias en los tratamientos actuales empleados para infecciones bacterianas (Guevara-Díaz, y col. 2021; Mejía y col., 2019).

Esta problemática genera consecuentemente un aumento de estas infecciones, provocando anualmente un número alto de defunciones en todo el mundo, provocando altos costos para el sistema de salud, datos reportados por el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC), revelaron que más de dos millones de personas son afectadas anualmente por infecciones bacterianas resistente a antibióticos en Estados Unidos, lo que conlleva a la muerte de más de 23000 personas, con gastos de atención médica con un monto cercano a 20 mil millones de dólares por año y en Europa afecta a aproximadamente 670 000 personas al año de las cuales 33 000 mueren, provocando gastos de aproximadamente 9000 millones de euros anualmente (Dadgostar, 2019; ECDC, 2022).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) con miras al año 2030 estimó que la resistencia antibacteriana podría llevar hasta a 24 millones de habitantes a vivir en condiciones precarias mientras que en el año 2050 habrá más muertes por enfermedades generadas por bacterias resistentes superando a otras enfermedades

(e.g. cáncer, diabetes, entre otras) siendo así la primera causa de fallecimientos a nivel mundial (OMS, 2019).

Debido a lo antes mencionado, la OMS (2017) emitió una lista prioritaria de bacterias multirresistentes a los antimicrobianos de última generación donde se incluyeron 12 especies bacterianas diferentes consideradas con riesgo mayor para la salud, las cuales tienen mecanismos para evadir la función a los tratamientos actuales. Así como el compartir los genes resistentes a más bacterias, confiriéndoles la insensibilidad a dichos antimicrobianos (OMS, 2017). La lista se encuentra dividida en tres categorías con relación a la necesidad de la búsqueda de nuevos antibióticos: prioridad crítica, alta o media. Ante tal problemática la OMS estimula a la comunidad científica al diseño, síntesis y desarrollo de antibióticos nuevos, para contrarrestar a esta problemática frente a dichas infecciones. (Cuadro 2) (OMS, 2017).

Cuadro 1. Mecanismo de acción de antibióticos.

Mecanismo de acción	Antibiótico
Formación de la pared celular	Penicilinas, cefalosporinas, vancomicina, tercoplanina
Inhibición de la síntesis de proteínas	Tetraciclinas, aminoglucósidos, eritromicina
Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos (ADN)	Quinolonas, sulfonamidas, rafampicina
Alteraciones de la membrana celular	Colistinas, polimixinas, nistatina

Modificado de Reygaert (2018).

Cuadro 2. Lista de bacterias que necesitan el desarrollo de nuevos antibióticos emitida por la OMS.

Prioridad: CRÍTICA

Acinetobacter baumannii

Pseudomonas aeruginosa

Enterobacteriaceae

Prioridad: ELEVADA

Enterococcus faecium

Staphylococcus aureus, resistente a la meticilina

Helicobacter pylori

Campylobacter spp.

Salmonellae

Neisseria gonorrhoeae

Prioridad: MEDIA

Streptococcus pneumoniae

Haemophilus influenzae

Shigella spp.

Adaptado de OMS (2017).

4.5. Aminoácidos

Los aminoácidos son una clase importante de compuestos fisiológica y farmacológicamente activos, estos presentan un grupo -COOH, un grupo -NH₂ y una cadena lateral en su estructura, además de poseer un centro asimétrico (Bongioanni y col., 2022; Saghyan y Langer 2016). En los últimos años se ha incrementado el empleo de aminoácidos, debido a su amplio uso en diferentes campos como biotecnología, alimentos, microbiología, farmacología entre otras (Bongioanni y col., 2022; Saghyan y Langer 2016). Siendo los α -aminoácidos enantioméricamente puros utilizados como precursores en la síntesis asimétrica para la obtención de heterociclos (e.g. isoxazoles, imidazoles oxazolidinonas, pirroles, aziridinas, piperidinas, entre otros) (Bongioanni y col., 2022). En 2019 Kanyiva, y col. sintetizaron imidazoles enantioméricamente puros derivados de L-aminoácidos (glicina, alanina, leucina, valina, ácido glutámico, serina y tirosina) obteniendo rendimientos del 48 al 90% (Kanyiva, y col., 2019). Por otro lado, en 2020 Alcántar-Zavala y col., sintetizaron oxazolidinonas enantioméricamente puras a partir de la L-alanina con rendimientos del 70 al 90% (Alcántar-Zavala y col. 2020).

La síntesis de heterociclos a partir de aminoácidos proporciona la estructura base de una gran variedad de moléculas bioactivas, esto debido al potencial de los α -aminoácidos para conservar su centro asimétrico y consecuentemente a la formación de nuevos estereocentros por estereoinducción (Bongioanni y col., 2022; Singh y col., 2017).

4.6. Antecedentes

4.6.1. Aziridinas

Las aziridinas son un grupo importante de compuestos heterocíclicos altamente empleadas en la química medicinal y en síntesis de productos naturales (Sousa y Alves, 2021; Macha y col 2019; Singh, 2019). Estos son compuestos heterociclos de tres miembros constituidos por un grupo amino y dos metilenos, presentando una fórmula molecular de C_2H_5N , con ángulos de enlace de 60° dando como resultado una tensión angular (Mukherjee y col., 2019; Dank y Lelo 2023). En el pasado las aziridinas eran difíciles de obtener esto debido a su inestabilidad causada por su reactividad (Mukherjee y col., 2019). Sin embargo, actualmente pueden ser obtenidas de forma natural o sintética empleando reacciones de catálisis, cicloadición organocatalisis, ciclación (Dank y Lelo 2023; Delost y Njardarson 2023). Además de ser empleadas como precursores para la síntesis de aminoazúcares, antibióticos β -lactámicos y alcaloides, debido a la facilidad para aperturar el anillo mediante la ruptura del enlace C-N (Mukherjee y col., 2019; Dank y Lelo 2023).

Concellón y col. (2001) sintetizaron aminoaziridinas enantioméricamente puras a partir de la reducción de L-aminocetoiminas **1** derivadas de los aminoácidos alanina, fenilalanina y leucina con $NaBH_4$ o $LiAlH_4$ a diferentes temperaturas (-30 , -15 , 25 °C), los rendimientos fueron del 36 al 95% con e.e. del 63 al 95%, mientras que con $NaBH_3CN$ a temperatura ambiente los rendimientos y e.e. aumentaron del 60 al 91% y del 90 al 95%, respectivamente (Concellón y col., 2001). Se determinó la configuración absoluta (S,S) para los compuestos **3a** y **3b** (Figura 1) (Concellón y col.,

2001). En 2008 Concellón y col., sintetizaron aziridinas **6a – 6e** enantioméricamente puras a partir de iminas derivadas de sulfonamidas **4**, las cuales se hicieron reaccionar con LiCH₂I generado *in situ* a partir de CH₂I₂ y MeLi a -78 °C con rendimientos del 58 al 88% (Figura 2). En otro trabajo llevaron a cabo la síntesis de la (2*R*,1'*S*)-2-(1'-aminoalquil)aziridina **5** a partir de *N,N*-dibencilfenilalaninal con un rendimiento del 61% y e.e. del 98% (Figura 2) (Concellón y col., 2008).

En 2019 Macha y col. reportaron la síntesis de aziridinas disustituidas **7 - 11**, empleando diversos aminoácidos; D-ácido aspártico, L-serina, D-serina y L-alanina a través de una ruta de dos pasos, mediante catálisis ácida o básica empleando como reactivos TsCl, TBDPSC, MsCl con rendimientos que van del 73 al 90% (Figura 3) (Macha y col., 2019).

Recientemente Kuzmič y col. (2022) sintetizaron aziridinas a partir de D-serina con sustituyentes dipéptidos de D-alanina, D-fenilalanina, D-valina y D-glutamina (**12 – 16**), obteniéndose rendimientos del 0 al 98%, se observó que la incorporación de la glutamina vuelve altamente inestable la molécula descomponiéndose rápidamente (Figura 3) (Kuzmič y col., 2022).

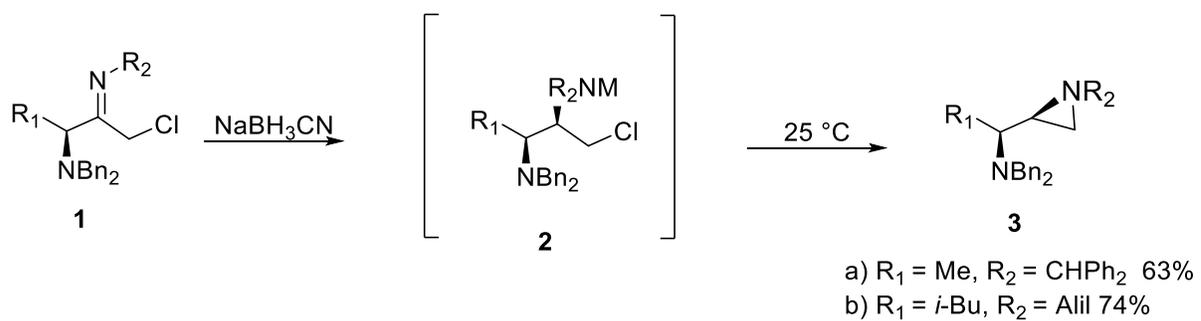


Figura 1. Síntesis de aziridinas a partir de los L-aminoácidos alanina y leucina. Formación de la dibencilaziridina a partir de clorocetonas derivadas de los aminoácidos de alanina y leucina. Tomada de Concellón y col., (2001).

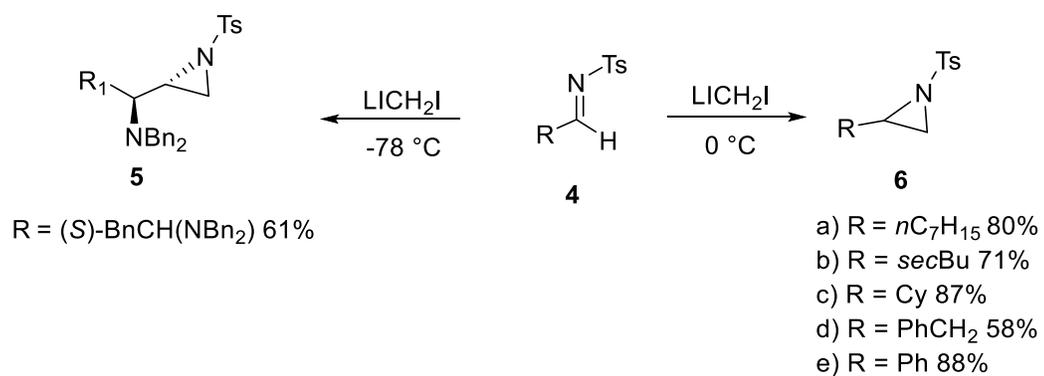


Figura 2. Síntesis de aziridinas a partir de iminas derivadas de sulfonamidas. Obtención de aziridinas quirales a partir de iminas empleando litioyodometano a diferentes temperaturas. Tomada de Concellon y col., (2008).

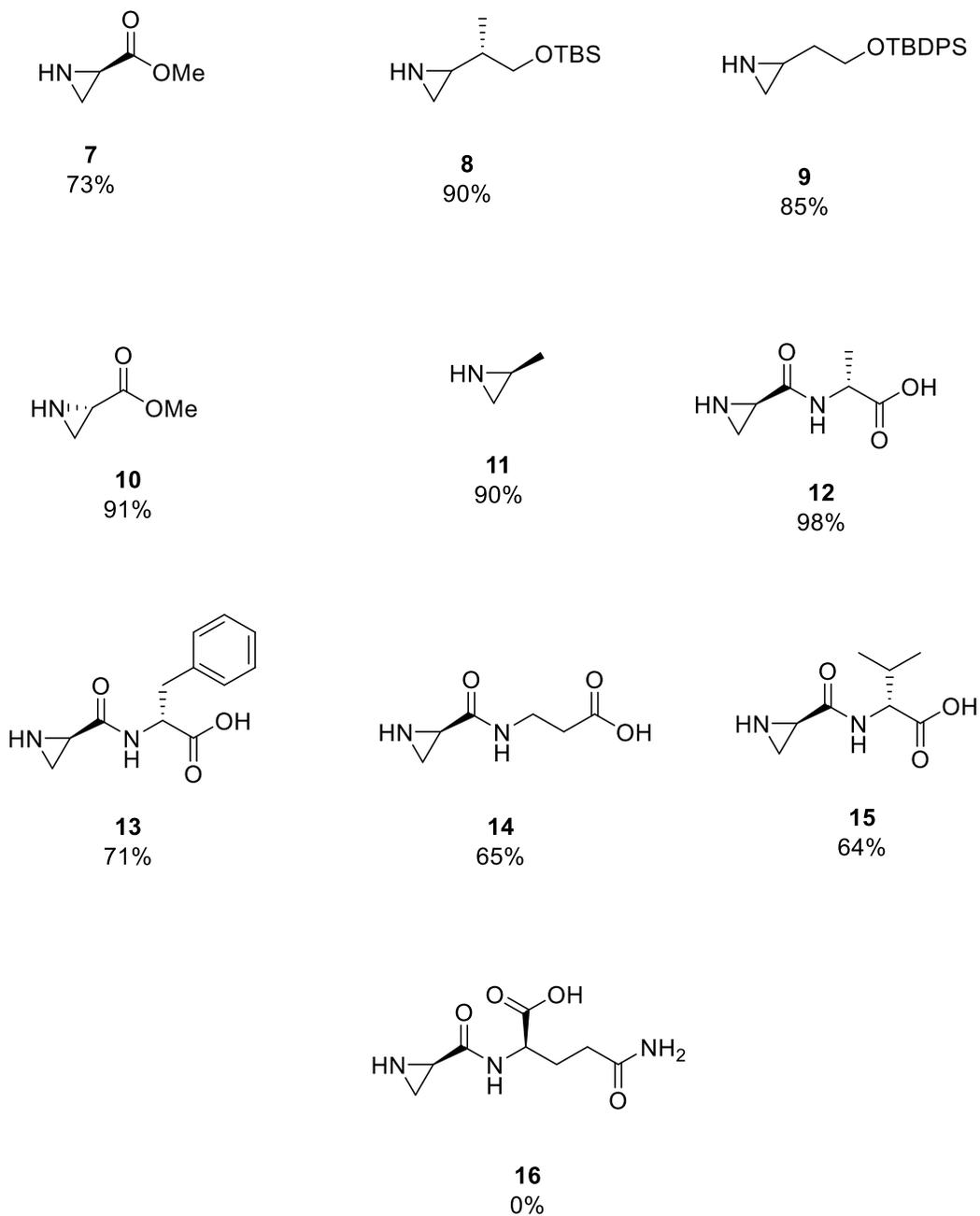


Figura 3. Síntesis de aziridinas disustituidas (7 – 11) y dipéptidos (12 –16). Compuestos de tipo aziridina sustituidas obtenidas con rendimientos del 0 al 98%. Adaptada de Macha y col., (2019) y Kuzmič y col. (2022).

4.6.2. Actividad antibacteriana de aziridinas

Debido a la versatilidad para obtener aziridinas de manera sintética y natural es que son empleados como estructura base de compuestos con propiedades antitumorales, inhibidores de la cisteína proteasa, antifúngicas, antiparasitaria (leishmania, malaria) y antibacteriana (Singh, 2016; Mukherjee y col., 2019; Dank y Lelo, 2023).

Khan y col., (2020) sintetizaron y evaluaron 13 aziridinas disustituidas derivadas del ácido α -aminofosfónico **17 - 29** (Figura 4) empleando microdilución en caldo frente a *E. coli*, *S. aureus* resistente a meticilina, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P.aeruginosa* y *E. aerogenes* donde **17 – 22** y **24 – 29** mostraron actividad moderada, determinándose concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de 125 a 250 $\mu\text{g/mL}$, siendo el compuesto **23** el que mostró mayor actividad frente a *A. baumannii* y *P.aeruginosa*, similar a lo observado para cloranfenicol (125 y 250 $\mu\text{g/mL}$) empleado como fármaco control (Cuadro 3) (Khan y col., 2020).

Rostovskii y col., en 2020 sintetizaron cinco dipéptidos con núcleo base del anillo de la aziridina **30 - 34** (Figura 5), posteriormente evaluaron su actividad *in vitro* contra *E. faecium*, *E. cloacae*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*, empleando los métodos de Kirby-Bauer con halos de inhibición de 3 a 11 mm, y MICs de 9 a 150 $\mu\text{g/mL}$ por microdilución en caldo, los compuestos evaluados mostraron mayor actividad frente a cepas Gram positivas **30 – 34** , donde el compuesto **30** presento una MIC de 9 $\mu\text{g/mL}$ frente a *S. aureus* siendo menores al sulfametazol (16 $\mu\text{g/mL}$), mientras **32** mostró actividad contra *E. faecium* a una CMI de 16 $\mu\text{g/mL}$ (Cuadro 4) (Rostovskii y col., en 2020). Los

autores reportaron que la actividad de dichos compuestos es debido a la presencia del anillo de la aziridina (Rostovskii y col., 2020).

En 2021 Madhuswapnaja y col. sintetizaron diez derivados de quinolonas con anillos de aziridinas **35a - j** (Figura 6) y evaluaron su actividad antibacteriana frente a diversas bacterias patógenas para el ser humano, los compuestos **35a - h** mostraron actividad contra casi todas las bacterias empleadas (*S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Klebsiella planticola*) determinándose MICs entre 3.9 y 62.5 µg/mL, sin embargo, no tuvieron actividad contra *E. coli* MTCC 739 y *P. aeruginosa* MTCC 2453 (Cuadro 5) (Madhuswapnaja y col., 2021). Mientras que **35h** fue el compuesto con mayor actividad frente a cuatro de las siete cepas bacterianas empleadas (*S. aureus* MTCC 96, *S. aureus* MTCC 2940, *B. subtilis* MTCC 121 y *K. Planticola* MTCC 530) con MICs de 3.9 a 7.8 µg/mL y CMBs de 3.9 a 125 µg/mL (Cuadro 5) (Madhuswapnaja y col., 2021).

Debido a lo mencionado anteriormente, nuestro grupo de trabajo ha presentado inquietud sobre la búsqueda de compuestos heterocíclicos a partir de L-aminoácidos, los cuales podrían ser buenos candidatos para combatir bacterias con el fenómeno de resistencia, por ende en este proyecto se realizó la obtención de *N,N*-dibencilaziridina empleando L-serina como precursor. La cual fue caracterizadas por técnicas espectroscopias y espectrométricas, y se evaluó su actividad antibacteriana empleando las metodologías de microdilución en caldo y Kirby-Bauer.

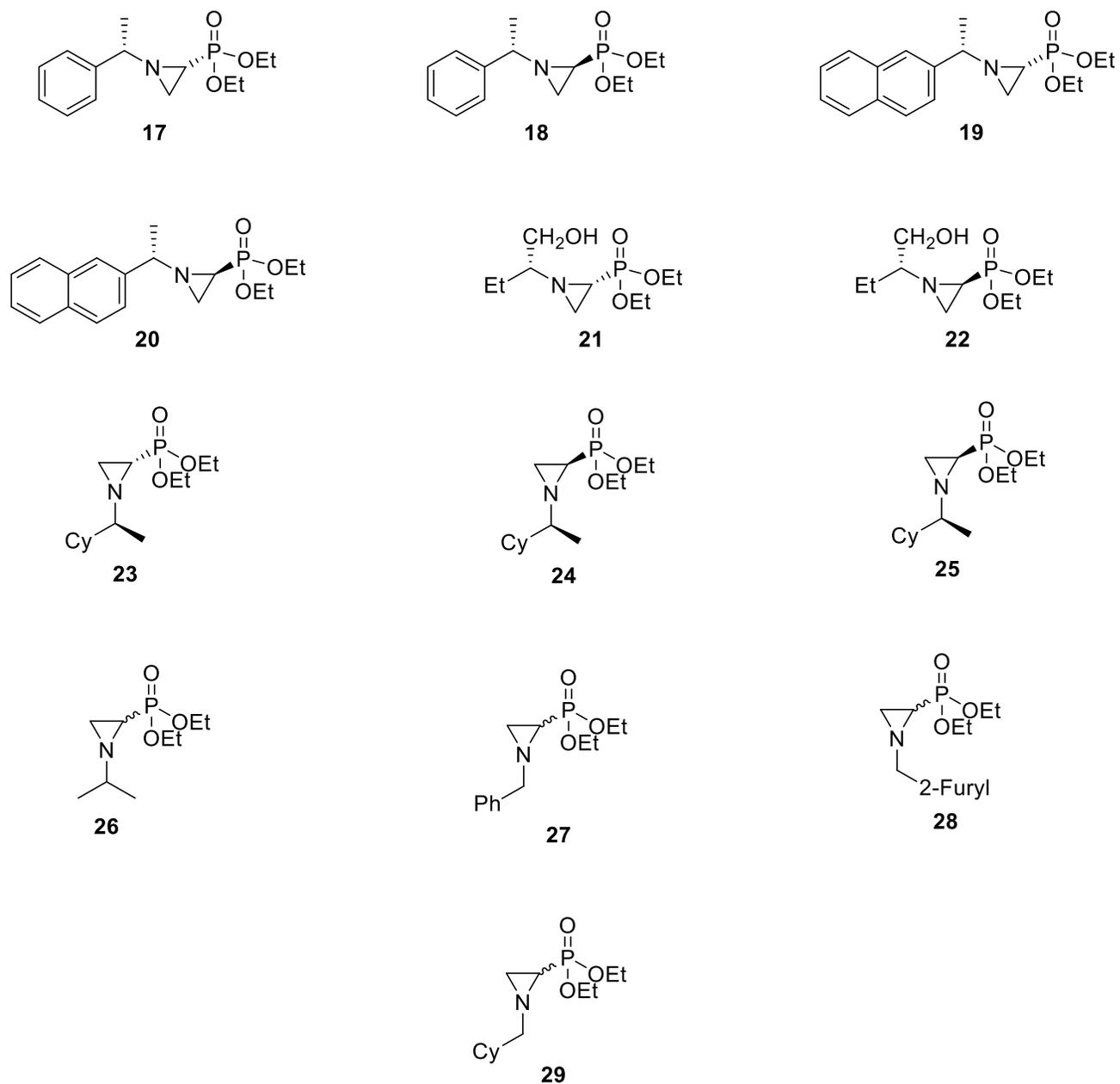
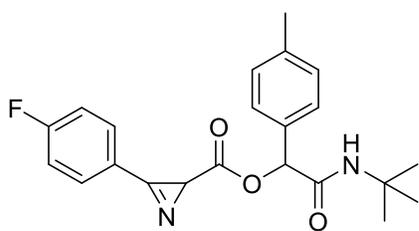


Figura 4. Aziridinas disustituidas derivadas de ácidos α -aminofosfónicos. Aziridinas provenientes de ácidos α -aminofosfónicos con actividad antibacteriana. Adaptada de Khan y col., (2020).

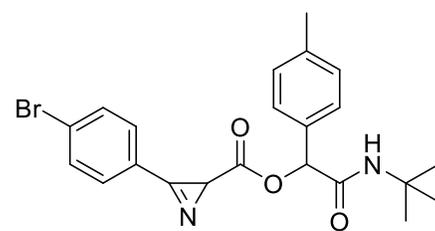
Cuadro 3. CMI's ($\mu\text{g/mL}$) de aziridinas disustituidas derivadas de ácidos α -aminofosfónicos

Compuesto	Cepas Bacterianas					
	S. <i>aureus</i>	E. <i>coli</i>	K. <i>pneumoniae</i>	A. <i>baumannii</i>	P. <i>aeruginosa</i>	E. <i>aerogenes</i>
17	250	250	250	250	250	250
18	250	250	250	250	250	250
19	250	250	250	250	250	250
20	250	250	250	250	250	250
21	250	250	250	250	250	250
22	250	250	250	250	250	250
23	250	250	125	125	250	250
24	250	250	125	250	250	250
25	250	250	250	250	250	250
26	250	250	250	250	250	250
27	250	250	250	250	250	250
28	250	250	250	250	250	250
29	250	250	250	250	250	250
Cloranfenicol	3.9	3.9	1.95	125	250	15.6

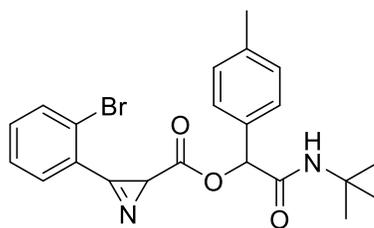
Adaptado de Khan y col., (2020)



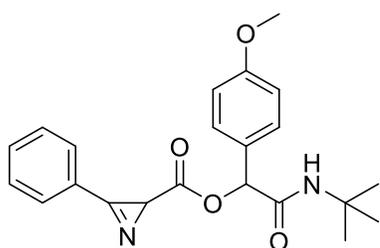
30



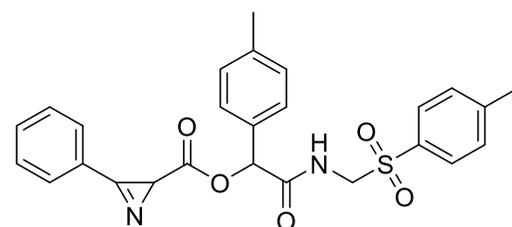
31



32



33



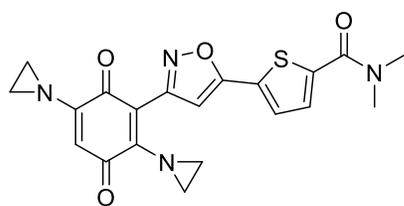
34

Figura 5. Dipéptidos con núcleo base de aziridina. Compuestos empleados en ensayos antibacterianos contra *S. aureus*, *E. cloacae*, *E. faecium*, *P. aeruginosa*. Modificada de Rostovskii y col. (2020).

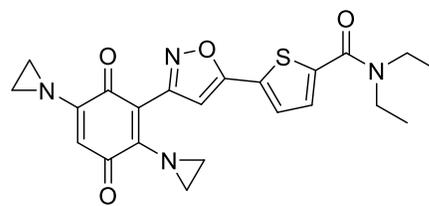
Cuadro 4. Datos de actividad antimicrobiana de los compuestos sintetizados (**30-34**)
CMI_s (µg/mL)

Compuesto	Cepas Bacterianas			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>E. faecium</i>	<i>P. aeruginosa</i>
30	37	150	9	150
31	37	>150	37	150
32	16	75	16	150
33	37	>150	37	75
34	75	>150	37	150
Sulfametaxol	4	8	16	8

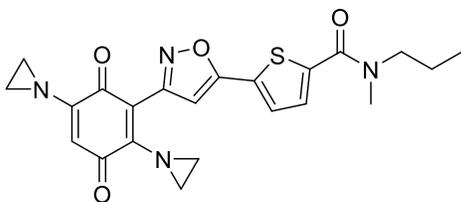
Tomado de Rostovskii y col., (2020).



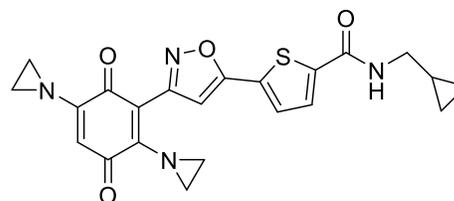
35a



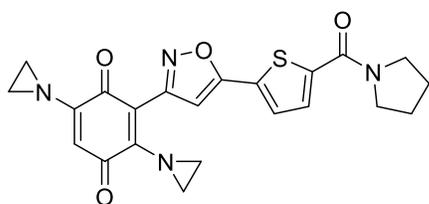
35b



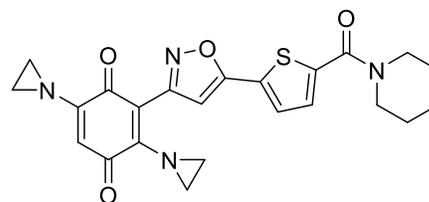
35c



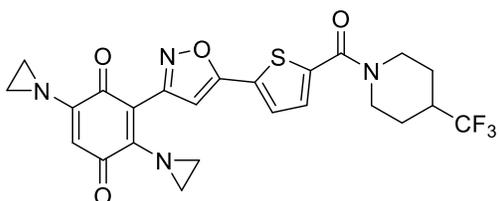
35d



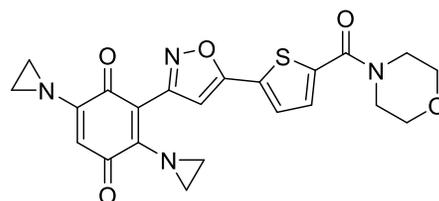
35e



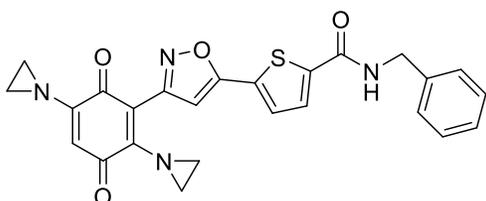
35f



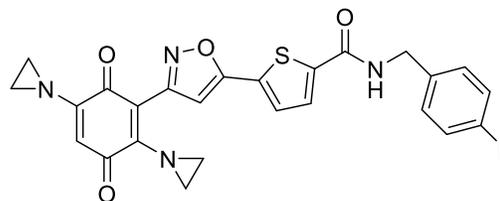
35g



35h



35i



35j

Figura 6. Aziridinas unidas a derivados de quinolonas. Derivados de quinolonas con aziridinas empleados en ensayos antibacterianos por microdilución en caldo. Modificada de Madhuswapnaja y col., (2021).

Cuadro 5. Resultados de la actividad antibacteriana de aziridinas unidas a quinolonas
CMI's ($\mu\text{g/mL}$)

Compuesto 35	Cepas Bacterianas						
	S. <i>aureus</i> ^a	B. <i>subtilis</i> ^b	S. <i>aureus</i> ^c	M. <i>luteus</i> ^d	K. <i>planticola</i> ^e	E. <i>coli</i> ^f	P. <i>aeruginosa</i> ^g
a	15.6	3.9	15.6	62.5	7.8	>125	>125
b	7.8	7.8	7.8	15.6	15.6	>125	>125
c	7.8	3.9	15.6	15.6	7.8	>125	>125
d	>125	15.6	>125	>125	>125	>125	>125
e	15.6	7.8	15.6	31.2	15.6	>125	>125
f	15.6	3.9	15.6	62.5	7.8	>125	>125
g	>125	3.9	>125	31.2	>125	>125	>125
h	3.9	3.9	3.9	15.6	7.8	>125	>125
i	31.2	31.2	62.5	15.6	>125	>125	>125
j	65.5	15.6	31.2	31.2	>125	>125	>125
Ciprofloxacino	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9

a) MTCC 9, b) MTCC 121, c) MTCC 2940, d) MTCC 2470, e) MTCC 530, f) MTCC 739, g) MTCC 2453

Modificado de Madhuswapnaja y col., (2021).

V. JUSTIFICACIÓN

Las infecciones provocadas por bacterias fármaco resistentes han ido en ascenso recientemente, considerándose como un problema serio de salud pública. En miras al año 2050 este fenómeno será el problema principal de muerte, esto debido principalmente al uso irracional e indiscriminado de los antibióticos y la evolución natural del agente etiológico, dejando ineficientes los tratamientos actuales o tradicionales, conllevando subsecuentemente a estancias hospitalarias prolongadas, costos elevados para el gobierno y el paciente, e incluso llevando a la muerte. Dentro de las bacterias farmacorresistentes con prevalencia mayor en humanos se encuentra alguna variante de SARM con un 20 a 80 % de la población mundial infectada, datos similares a los encontrados en México donde se estima en un intervalo de 24 a 80%. Ante tal situación es necesario la investigación y desarrollo de nuevas estructuras químicas que posean actividad contra estas bacterias Gram positivas farmacorresistentes, siendo las aziridinas un grupo de compuestos altamente empleado en la química medicinal debido a sus propiedades antifúngicas, antiparasitarias y sobre todo antibacterianas. Por lo que la síntesis de aziridinas obtenidas a partir de aminoácidos, que presentan baja toxicidad pueden ser posibles candidatos para el tratamiento de estas enfermedades siendo una solución para el problema mencionado anteriormente.

VI. HIPÓTESIS

La *N,N*-dibencilaziridina sintetizada a partir del aminoácido L-serina posee actividad antibacteriana alta frente a cepas farmacorresistentes de importancia clínica (e.g. SARM, *E. coli*, *Streptococcus* spp.)

VII.OBJETIVOS

7.1. **Objetivo general**

Sintetizar la *N,N*-dibencilaziridina y evaluar *in vitro* su actividad antibacteriana frente a cepas de interés clínico (e.g. SARM, *E. coli*, *Streptococcus* spp.)

7.2. **Objetivos específicos**

7.2.1. Sintetizar el anillo de la aziridina a partir del aminoácido L-serina

7.2.2. Caracterizar los intermediarios y la aziridina mediante técnicas analíticas espectroscópicas (FTIR-ATR y RMN) y espectrométricos (EM-IE)

7.2.3. Determinar CMI's de la *N,N*-dibencilaziridina y moléculas precursoras contra bacterias patógenas para el humano mediante métodos *in vitro* como microdilución en caldo y Kirby-Bauer

7.2.4. Evaluar la toxicidad de la *N,N*-dibencilaziridina mediante el bioensayo de *A. salina*

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1. Diseño Experimental

Para cubrir los objetivos propuestos, el trabajo se realizó en dos etapas. La etapa de síntesis se realizó en el Centro Graduados e Investigación en Química, del Instituto Nacional de México Campus Tijuana (ITT Otay) donde se obtuvo la síntesis de la *N,N*-dibencilaziridina a partir del aminoácido L-serina, posteriormente se caracterizaron los compuestos sintetizados mediante RMN ^1H y ^{13}C , EM-IE e IR. La segunda etapa se llevó a cabo en la Unidad de Investigaciones en Salud Pública “Dra. Kaethe Willms” de la Universidad Autónoma de Sinaloa donde se evaluó el potencial antibacteriano por medio de estudios *in vitro* de microdilución en caldo y Kirby-Bauer y los ensayos de toxicidad de los compuestos sintetizados.

8.2. Materiales

8.2.1 Microorganismos

El estudio antibacteriano empleó 11 bacterias de las cuales ocho son aislados clínicos de pacientes menores de cinco años de exudados faríngeos de niños de guarderías de Culiacán, Sinaloa, proporcionadas por el Laboratorio de Bacteriología del Instituto Nacional de Pediatría de México, D.F. (*Streptococcus* grupo A 01, *E. coli* A011, *S. aureus* 05, SARM-01, SARM-03, SARM-04, SARM-05) y tres cepas control ATCC (*S. aureus* ATCC 25923, SARM ATCC 43300, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213) (DIFCO Laboratories, Michigan, U.S.A.).

8.2.2 Reactivos

Todos los reactivos y disolventes fueron adquiridos con la más alta calidad disponible en la compañía Sigma Aldrich (State Louis, MO, USA.). Las sustancias que se utilizarán son: L-aminoácidos (serina, alanina, fenilalanina, leucina, valina y ácido aspártico), metanol (MeOH), cloruro de trimetilsilano (TMSCl), tetrahidrofurano (THF), dimetilsulfóxido (DMSO), bromuro de bencilo (BnBr), acetato de etilo, agua destilada, sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4), cloruro de sodio (NaCl), gel de sílice, éter de petróleo, diclorometano (CH_2Cl_2), cloruro de *terc*butildimetilsililo (TBDMSCl), cloroyodometano, metil litio (MeLi), cloruro de amonio (NH_4Cl), zeolita, borhidruro de sodio (NaBH_4), éter etílico, fluoruro de tetra-*n*-butilamonio (TBAF), hexano, argón, trietilamina (TEA), diyodometano, perclorato de litio (LiClO_4), Agar de Trypticaseína y Soya (TSA), Agar Mueller Hinton, Caldo Mueller Hinton, medio DMEM, Suero Fetal Bovino (FBS)

8.3 Metodología

8.3.1. Síntesis de la *N,N*-dibencilaziridina

La obtención de la *N,N*-dibencilaziridina (Figura 7) siguió la metodología planteada por Ochoa y col., en 2009.

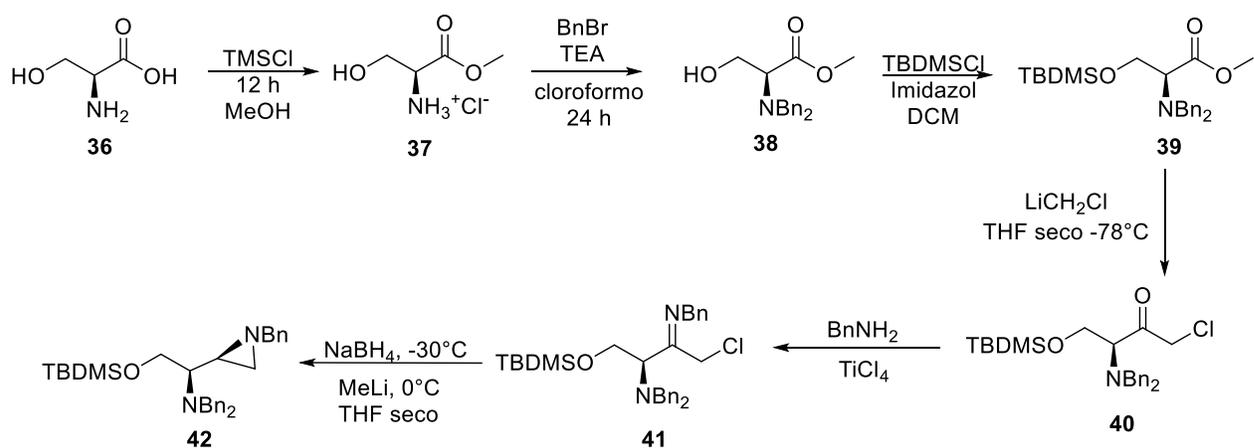


Figura 7. Síntesis propuesta para la obtención de *N,N*-dibencilaziridina a partir del aminoácido L-serina. Ruta de síntesis empleada en este estudio para la formación del anillo de la aziridina empleando el aminoácido de L-serina. Modificada de Ochoa y col., 2009.

8.3.1.1. Síntesis de éster metílico de serina (**37**)

En un matraz bola provisto de agitación magnética se agregaron 5 g (30 mmol) del aminoácido L-serina disueltos en 140 mL de metanol. Acto seguido se adicionó gota a gota 24 mL (5 eq) de cloruro de trimetilsilano (TMSCl) en baño de hielo y se dejó reaccionar por 12 h. Se hicieron lavados con éter etílico (3 × 100 mL) y por último se evaporó el disolvente a presión reducida obteniendo el aminoéster metílico puro.

Éster metílico de serina (**37**). Solido blanco. 90% de rendimiento. RMN ¹H (400 MHz, DMSO) δ 8.62 (s, 3H), 4.08 (s, 1H), 3.83 (d, *J* = 3.7 Hz, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.39 (sa, 1H). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO) δ 168.91, 59.90, 54.87, 53.18.

8.3.1.2. Síntesis de éster dibencilado de serina (**38**)

En un matraz de dos bocas se suspendió clorhidrato de α-aminoéster **18** (2 g, 10 mmol) en 80 mL de cloroformo (CHCl₃) a 0°C. Al matraz se le conectó un embudo de adición con el que se agregó gota a gota 10 mL de trietilamina (TEA) en cloroformo (3 eq. 7.5 mL, 30 mmol). Una vez concluido el goteo de TEA la reacción se llevó a reflujo, posterior a 25 minutos se agregó gota a gota (3 eq., 5 mL, 30 mmol) bromuro de bencilo (BnBr). Pasado el tiempo, la mezcla se llevó a reflujo con agitación constante y atmósfera inerte de argón durante 12 h. Finalmente, se agregaron 80 mL de solución salina saturada y realizaron extracciones con diclorometano (3 × 100 mL), la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄), se filtró y eliminó el disolvente, el *N,N*-dibencilaminoéster fue purificado por cromatografía en columna con gel de sílice (9:1 éter de petróleo/acetato de etilo).

Ester dibencilado de serina (**38**). Aceite amarillo. 89% de rendimiento RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.48 – 7.23 (m, 10H), 3.95 (d, $J = 13.4$ Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.80 (dd, $J = 7.5, 3.2$ Hz, 2H), 3.72 (d, $J = 13.4$ Hz, 2H), 3.60 (t, 1H), 2.53 (sa, 1H). RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 171.78, 138.73, 129.02, 128.57, 127.45, 61.93, 59.45, 54.91, 51.44.

8.3.1.3. Síntesis de 2-(S)-(N,N-dibencil)amino-3-terbutildimetilsililoxipropionato de metilo (**39**)

En un bola de dos bocas se suspendió *N,N*-dibencilaminoéster (1 g, 3.34 mmol) en 50 mL de diclorometano, seguido se agregó imidazol (6 eq. 1.36 g, 20 mmol) y cloruro de *ter*butildimetilsililo (TBDMSCl) (6 eq., 3.02 g, 20 mmol), esta mezcla se dejó en agitación durante 48 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se agregó 100 mL de agua destilada y realizaron extracciones con CH_2Cl_2 (3 \times 100 mL), la solución de diclorometano se secó con sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4), se filtró y se eliminó el disolvente, por último se purificó mediante cromatografía en columna con gel de sílice (8:2 éter de petróleo/acetato de etilo).

2-(S)-(N,N-dibencil)amino-3-*ter*butildimetilsililoxipropionato de metilo (**39**). Aceite amarillo. 93% de rendimiento. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.43 – 7.18 (m, 10H), 4.01 (dd, $J = 10.1, 6.0$ Hz, 1H), 3.95 (d, $J = 14.1$ Hz, 2H), 3.89 (dd, $J = 10.1, 6.0$ Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.70 (d, $J = 14.1$ Hz, 2H), 3.56 (t, $J = 6.2$ Hz, 1H), 0.86 (s, 9H), 0.00 (s, 6H). RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 172.03, 139.90, 128.72, 128.20, 126.90, 126.06, 63.10, 62.73, 55.50, 51.04, 25.79, 18.15, -5.63.

8.3.1.4. Síntesis de 3-(S)-dibencilamino-4-terbutildimetilsililoxi-1-cloro-2-butanona (40)

En un matraz bola provisto de agitación magnética y atmosfera inerte se puso una disolución de (2S)-(N,N-dibencil)amino-3-terbutildimetilsililoxipropionato de metilo (0.2 g, 0.48 mmol) y cloroyodometano (6 eq. 0.23 mL, 2.88 mmol) en 25 mL de THF seco a -78 °C, se colocó gota a gota una disolución de metillitio (MeLi) (6 eq., 2.0 mL de una disolución en éter etílico al 1.5 M, 2.88 mmol) y se agitó durante una hora, posteriormente se añadieron 30 mL de una solución saturada NH₄Cl. Finalmente, se extrajo con CH₂Cl₂. La solución de CH₂Cl₂ se secó con Na₂SO₄, se filtró y se evaporó el disolvente para obtener el producto puro.

3-(S)-dibencilamino-4-terbutildimetilsililoxi-1-cloro-2-butanona (40). Aceite amarillo 90%. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7.26 – 7.15 (m, 10H), 4.23 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 4.00 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 3.99 – 3.91 (m, 2H), 3.72 (d, *J* = 14.0 Hz, 4H), 3.55 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 0.81 (s, 9H), 0.00 (s, 3H), -0.02 (s, 3H). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 201.79, 139.08, 128.93, 128.52, 127.39, 65.53, 60.23, 55.32, 48.27, 25.89, 18.18, -5.52.

8.3.1.5. Síntesis de (2R)-(Z)-N,N-dibencil-3-bencilimin-1-terbutildimetilsililoxi-4-clorobutan-2-amina (41)

En un matraz bola provisto de una disolución de 3S-dibencilamino-4-terbutildimetilsililoxi-1-cloro-2-butanona (1.30 g, 3 mmol) en 30 mL de éter etílico seco a 0 °C, se añadió gota a gota una disolución de tetracloruro de titanio (0.18 mL, 1.65 mmol) y se agitó durante 30 min, seguido se agregó bencilamina (1.31 mL, 12 mmol) y se dejó a temperatura ambiente por 2 h. Finalmente, el crudo de reacción se filtró sobre zeolita y se evaporó el disolvente obteniéndose así la imina.

(2*R*)-(Z)-*N,N*-dibencil-3-bencilimin-1-*ter*butildimetilsililoxi-4-clorobutan-2-amina

(41). Aceite amarillo 95%. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7.23 – 7.06 (m, 15H), 4.48 (dd, *J* = 16.0 Hz, 2H), 4.18 (dd, *J* = 10.9, 7.8 Hz, 1H), 4.04 (dd, *J* = 10.8, 5.3 Hz, 1H), 3.83 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 3.80 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 3.68 (s, 4H), 3.34 (c, *J* = 7.1 Hz, 1H), 0.86 (s, 6H), 0.79 (s, 3H), 0.03 (s, 3H), -0.00 (s, 3H). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 165.76, 140.17, 139.74, 130.92, 129.31, 128.59, 128.32, 127.56, 127.20, 127.07, 126.89, 63.32, 61.28, 46.38, 26.14, 15.36, -5.21.

8.3.1.6. Síntesis de (2*S*,1'*R*)-1-becil-2-{1'-(dibenzilamino)-2'-[(*ter*butildimetilsilil)oxi]etil}aziridina (42)

En un matraz bola con agitación magnética y a -30°C se colocó una disolución de la imina (1.56 g, 3 mmol) en 15 mL de metanol. Posteriormente se agregó lentamente gota a gota borohidruro de sodio (NaBH₄) (0.23 g, 6 mmol) durante tres horas. Después se detuvo la reacción adicionando una disolución de NH₄Cl (15 mL). Al término de la reacción se extrajo con éter etílico (3 x 15 mL), y esta solución se secó con Na₂SO₄, se filtró y evaporó. Por último, el residuo obtenido se suspendió en THF seco y se le adicionó MeLi (4.1 de una disolución en éter etílico 1.5 M, 6.2 mmol) para obtener el producto.

(2*S*,1'*R*)-1-becil-2-{1'-(dibenzilamino)-2'-[(*ter*butildimetilsilil)oxi]etil}aziridina (42). Aceite Amarillo 80%. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7.44 – 7.17 (m, 15H), 3.75 (d, *J* = 13.8 Hz, 2H), 3.72 (d, *J* = 13.8 Hz, 2H), 3.69 (dd, *J* = 5.8, 3.1 Hz, 2H), 3.48 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 3.46 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 2.46 (ddd, *J* = 7.6, 7.6, 7.6 Hz, 1H), 1.80 (m, 1H), 1.67 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 1.34 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 0.88 (s, 9H), 0.00 (s, 6H). RMN ¹³C

(100 MHz, CDCl₃) δ 140.93, 139.36, 128.85, 128.70, 128.37, 127.97, 127.20, 126.47, 65.22, 63.89, 61.55, 55.08, 38.58, 31.76, 25.92, 18.19, -5.57.

8.3.2. Técnicas de caracterización

Los estudios de resonancia magnética nuclear (RMN) de ¹H y ¹³C se llevaron a cabo empleando el equipo RMN BRUKER AVANCE III HD 400 MHz. Los datos de los desplazamientos químicos (δ) fueron expresados en partes por millón (ppm) y se utilizó como referencia interna tetrametilsilano (TMS). Las constantes de acoplamiento (*J*) se expresaron en Hertzios (Hz) en todos los casos. Estos análisis fueron realizados en el Centro Graduados e Investigación en Química, del Instituto Nacional de México Campus Tijuana (ITT Otay). La detección del peso molecular y patrón de fragmentación de los compuestos se realizó en un espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C (EM-IE) y Thermo Scientific, Modelo LTQ-XL equipado con trampa de iones (EM-IES). Los análisis de espectroscopia de infrarrojo (IR) se realizaron en empleando el equipo Perkin Elmer FT-IR Spectrum 400 equipado con el aditamento de ATR donde serán descritas las absorciones más características en cm⁻¹.

8.3.3. Evaluación de la actividad antibacteriana

La determinación de la capacidad antibacteriana se llevó a cabo empleando las metodologías de microdilución en caldo y Kirby-bauer, siguiendo la metodología planteada por el Clinical and Laboratory Standards Institute en 2015.

8.3.3.1. Actividad antibacteriana mediante microdilución en caldo

Las bacterias empleadas se sembraron en medio TSA y se incubaron hasta su fase logarítmica (37°/18 h), se hizo una suspensión del inóculo en solución salina (0.85 %, p/v), ajustando su turbidez a 0.5 del estándar de McFarland (1×10^8 UFC/mL; %T = 62.7 ± 0.5) a una longitud de onda de 530 nm en un espectrofotómetro UV-visible (Spectronic, instruments, INC, E.U.). En tubo de ensayo que contenía 9.9 mL de caldo Mueller Hinton se agregó 0.1 mL de la solución a 1×10^8 UFC/mL para conseguir así el inóculo utilizado (1×10^6 UFC/mL). Para la determinación de la CMI se emplearon placas estériles tipo ELISA de 96 pozos, fondo en U con tapa. Se agregaron 50 μ L de las diferentes diluciones de concentración de los compuestos a evaluar en cada uno de los pozos, así como también se tomó una fila como control de crecimiento de cepas probadas agregándose 50 μ L de inóculo y 50 μ L de caldo Mueller Hinton, se procedió a añadir una cepa por columna, la primera columna se empleó como blanco agregando 50 μ L de caldo Mueller Hinton estéril en vez del inóculo. La aplicación del inóculo se realizó dentro de los 15 minutos posteriores a su preparación. Al agregar los 50 μ L del inóculo en cada uno de los pozos que contienen 50 μ L de compuesto se obtiene una concentración final de bacterias aproximado de 5×10^5 UFC/mL, cada pozo tuvo un volumen final de 100 μ L, y cada cepa se evaluó por triplicado. Al término de la inoculación las placas se taparon y sellaron con Parafilm para evitar que se sequen y se incubaron a 37 °C por un periodo de 18 a 24 h. transcurrido el tiempo de incubación de las placas, la CMI fue determinada en los pozos donde no sea visible ningún tipo de crecimiento.

8.3.3.2. *Actividad antibacteriana mediante Kirby-Bauer*

Las bacterias empleadas se sembraron en medio TSA y se incubaron hasta la fase logarítmica (37°/18h), posteriormente se preparó el inóculo utilizando solución salina (0.85%, p/v), se ajustó la turbidez a 0.5 del estándar del estándar de McFarland (1×10^8 UFC/mL; $\text{abs} = 0.08 - 0.1$) a una longitud de onda de 625 nm en un espectrofotómetro UV-visible (Spectronic, instruments, INC, E.U.). dicha suspensión contenía aproximadamente ($1-2 \times 10^8$ UFC/mL), para la inoculación de la bacteria en el agar se utilizó un hisopo estéril el cual se humedece con la suspensión bacteriana y se estrió en la caja petri en tres direcciones distintas. Cuando el inóculo se secó (3-5 min) se pusieron discos de 6 mm de papel filtro Whatman N°1, estos se tomaron con una pinza estéril, los discos se presionaron ligeramente para asegurar contacto con la superficie y se cargaron con 30 μg de compuesto a emplear para la evaluación, 15 min posteriores a haber cargado los compuestos se invirtió la caja Petri y se incubaron a 35°C por 18 h. La actividad fue dada por la presencia de halos de inhibición los cuales fueron medidos empleando un vernier o regla.

8.3.4. **Bioensayo de toxicidad frente a *Artemia salina***

La evaluación de la toxicidad se realizó empleando el modelo de de *A. salina* empleando la metodología de Meyer y col., 1982 y Solís y col., 1993, en el que se emplearon microcrustáceos de *A. salina* (nauplios), que tienen alta sensibilidad a compuestos exógenos, considerándose como organismos indicadores de toxicidad (Michael y col., 1956; Vanhaecke y col., 1981).

8.3.4.1 Obtención de larvas (nauplios) de A. salina.

La obtención de los nauplios se realizó primeramente preparando medio salino en el cual eclosionaran los quistes de *A. salina*, para el medio se pesaron 38 gr de sal comercial (sales para pecera tropical ®) y se disolvieron en 1 L de agua desionizada en un vaso de precipitado, después se pesaron 300 mg de los quistes y fueron agregados al vaso al cual se le colocó una bomba para que circulara oxígeno hasta el interior del recipiente, manteniéndose temperaturas entre 25-30 °C y con una fuente de luz. (Michael y col., 1956; Vanhaecke y col., 1981). A las 24 h los nauplios fototrópicos se separaron de los huevos sin eclosionar y se pusieron en otro recipiente que contenía medio nuevo (solución salina) durante 24 h bajo las condiciones antes mencionadas para la obtención de nauplios estadio II (Michael y col., 1956; Vanhaecke y col., 1981).

8.3.4.2 Preparación de los compuestos para el ensayo de toxicidad

Los compuestos se disolvieron en solución salina con DMSO al 5% las concentraciones a evaluar fueron de 200, 100, 50 y 25 µg/mL (Michael y col., 1956; Vanhaecke y col., 1981).

8.3.4.3 Evaluación de toxicidad de los compuestos

Para el ensayo de toxicidad se usaron tubos de ensayo de 4 mL, en cada tubo se colocaron 10 nauplios en un volumen no mayor a 0.5 mL utilizando una pipeta Pasteur de vidrio (Michael y col., 1956; Vanhaecke y col., 1981). A los tubos con nauplios se le agregaron 100 µL de los compuestos evaluados a concentraciones de 200, 100, 50 y 25 ug/mL y se llevó a un volumen de 2 mL con solución salina (Michael y col., 1956;

Vanhaecke y col., 1981). Se utilizó como control negativo DMSO al 5% v/v. Los tubos fueron incubados a temperatura ambiente 25-30 °C durante 24 h y con luz continúa (Michael y col., 1956; Vanhaecke y col., 1981). Una vez transcurrido el tiempo de incubación se contaron los nauplios muertos en cada tubo y los vivos en los blancos, una vez contadas las larvas muertas por acción del compuesto, se agregó 50 µL de formol al 10% v/v a cada uno de los tubos y se dejó en reposo por 15 min, posteriormente se realizó el conteo del total de nauplios en cada tubo, cada experimento se realizó por triplicado (Michael y col., 1956; Vanhaecke y col., 1981). Los resultados se presentaron como porcentaje de mortalidad (%M), utilizando la fórmula de Abbott (Abbott, 1987):

$$\%M = \frac{LMm}{LVc} \times 100$$

%M= Porcentaje de mortalidad

LMm= larvas muertas en la muestra

LVc= larvas vivas en el control

8.3.4.4 Determinación de la CL₅₀ (Concentración Letal media)

Los resultados de toxicidad obtenidos en la prueba de *A. salina* se expresan como concentración letal media (CL₅₀), es decir, la concentración que mata a la mitad (50 %) de los microcrustáceos (Michael y col., 1956; Vanhaecke y col., 1981). Siendo este un estudio preeliminar, el número de larvas muertas en 24 h se emplea para calcular la concentración letal media (CL₅₀) por medio del análisis Probit con 95% de confiabilidad, empleando el paquete estadístico SPSS Statistics v21, el grado de toxicidad del compuesto se definió en función del intervalo en que se encontraron los valores de

CL₅₀ (Michael y col., 1956; Vanhaecke y col., 1981). La escala de toxicidad de *A. salina* es registrada como elevada (0.1 - 100 ug/mL), moderada (100 - 300 ug/mL), baja (300 – 640 ug/mL), mínima (mayor a 640 ug/mL) y no toxica si es mayor a 2000 ug/mL (Meyer y col 1982).

IX. RESULTADOS

9.1. Síntesis de la *N,N*-dibencilaziridina

9.1.1 Síntesis del éster metílico de serina (**37**)

La ruta de síntesis inició con la esterificación del aminoácido L-serina con cloruro de trimetilsilano (TMSCl), obteniéndose así el éster metílico **37** como un polvo blanco con un rendimiento del 90%.

El espectro de infrarrojo del éster metílico **37** (Figura 8) presentó las vibraciones de estiramiento siguiente: 3343 cm^{-1} (N-H), 2918 cm^{-1} (C-H alifático), 3069 cm^{-1} (O-H), 1743 cm^{-1} (C=O del éster), 1508 cm^{-1} (C-C alifático), 1243 cm^{-1} (C-O del éster) y 1038 cm^{-1} (C-O del grupo hidroxilo). En el espectro de EM-IE de **37** (Figura 9) se observó el ion molecular en 120.1 uma correspondiente al peso del compuesto, así también se observó un fragmento en 88.1 uma correspondiente a la pérdida del metoxilo y en 60.02 uma se apreció la ruptura α del carbonilo siendo este último el pico base.

El espectro de RMN ^1H para **37** (Figura 10A) mostró un singulete en 8.62 ppm perteneciente a los hidrógenos del amino, en 4.08 ppm un singulete correspondiente al hidrógeno del metino, en 3.83 ppm un doblete con $J = 3.7\text{ Hz}$ perteneciente a los dos hidrógenos del metileno, en 3.74 ppm un singulete perteneciente a los tres hidrógenos del metilo del éster y por último en 3.42 ppm una señal ancha correspondiente al hidrógeno del hidroxilo (Cuadro 6). Por otro lado el espectro de RMN ^{13}C de **37** (Figura 10B) se apreciaron las siguientes señales: en 168.91 ppm el carbonilo del éster, en 59.90 ppm el metino, en 54.87 ppm el metileno y por último en 53.18 ppm la señal del metoxilo (Cuadro 6).

9.1.2 Síntesis del éster dibencilado de serina (**38**)

En la segunda reacción se realizó la dibencilación del grupo amino empleando bromuro de bencilo en presencia de trietilamina (TEA), la mezcla obtenida se purificó a través de cromatografía en gel de sílice (9:1 éter de petróleo/acetato de etilo) obteniéndose el éster dibencilado **38** como un aceite amarillo con un rendimiento del 89%

El espectro infrarrojo del compuesto **38** (Figura 11) presentó las vibraciones de estiramiento siguiente: 3457 cm^{-1} (O-H del grupo hidroxilo), 3027 cm^{-1} (C-H aromático), 2947 cm^{-1} (C-H alifático), 1730 cm^{-1} (C=O del éster), 1494 cm^{-1} (C-O del éster) y en 1454 cm^{-1} (C-O del hidroxilo).

En el espectro de EM-IE de **38** (Figura 12) se observó el ion molecular en 299 uma correspondiente al peso del compuesto, así también se observaron tres fragmentos en 268 uma la pérdida del metoxilo del éster, en 240 uma la ruptura α y en 91 uma la formación del ion tropilio debido a la ruptura β del nitrógeno con respecto al bencilo.

En el espectro de RMN ^1H de **38** (Figura 13A) se mostró un multiplete entre 7.48-7.23 ppm perteneciente a los diez hidrógenos aromáticos, en 3.95 y 3.72 ppm se encuentran dos sistemas AB alifáticos visto como dos dobletes con $J = 13.4\text{ Hz}$ correspondientes a los metilenos bencílicos unidos a la amina, en 3.83 ppm se apreció un singlete perteneciente al metoxilo, en 3.80 se observó un doble de dobles con $J = 7.5\text{ Hz}$ perteneciente a los dos hidrógenos del metileno, en 3.60 ppm se vio un triplete correspondiente al metino el cual integra para un hidrógeno perteneciente al carbono asimétrico, por último en 2.53 ppm se observó un singlete perteneciente al hidrógeno

del hidroxilo (Cuadro 7). En el espectro de RMN ^{13}C de **38** (Figura 13B) se obseraron las señales correspondientes: en 171.78 ppm el carbonilo del éster, en 138.7, 129.0, 128.6, 127.4 a los carbonos aromáticos, en 61.9 ppm del carbono asimétrico, en 59.45 ppm el metileno, en 58.2 ppm de los metilenos bencílicos y en 51.4 ppm el metoxilo (Cuadro 7).

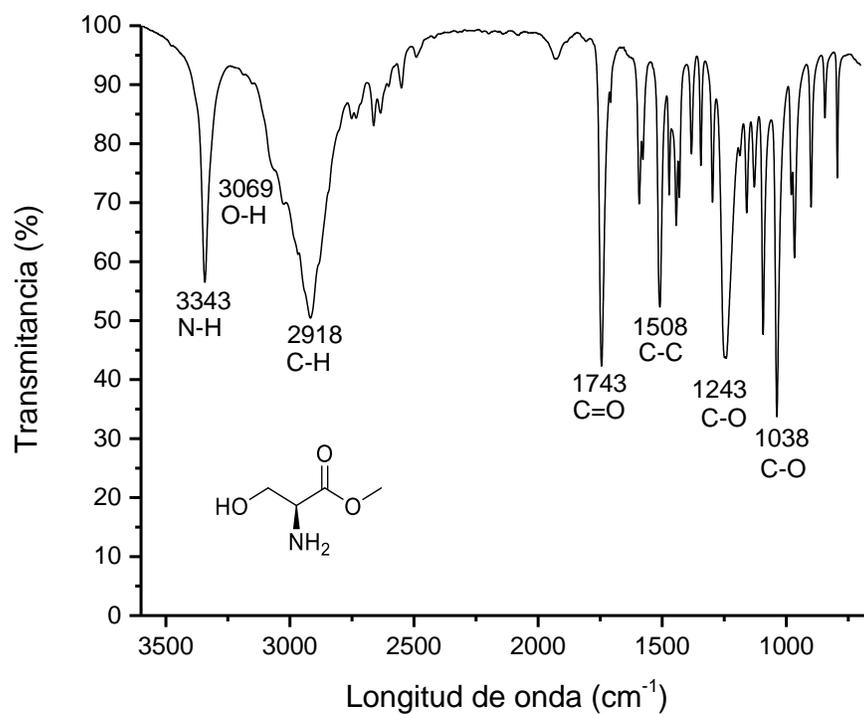


Figura 8. Espectro de FTR-IR del éster metílico de serina (37). En el que se muestran los estiramientos N-H y C=O en 3343 y 1743 cm⁻¹ del aminoéster

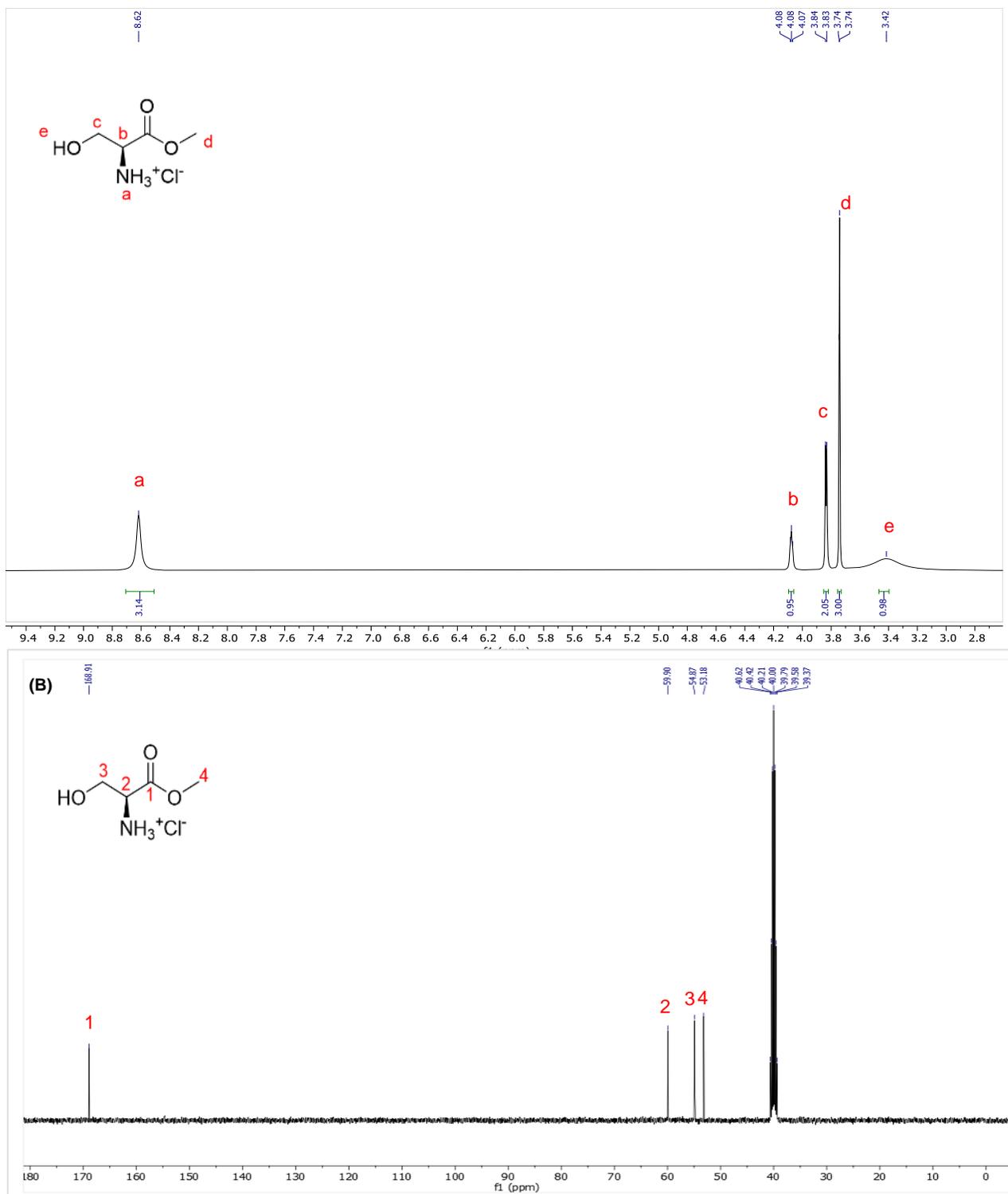
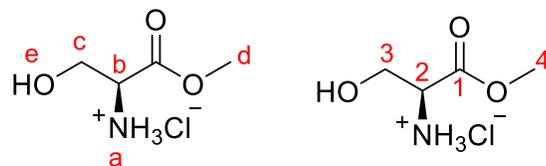


Figura 10. Espectro de RMN- ^1H (A) y RMN- ^{13}C (B) del éster metílico de serina (37). En el que se muestran las señales de hidrogeno y carbono correspondientes a la síntesis del aminoéster



Cuadro 6. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C del éster metílico de serina (**37**).

^1H		^{13}C	
Señal	δ ($J = \text{Hz}$)	Señal	δ
Ha	8.62 (s)	C1	168.91
Hb	4.08 (s)	C2	59.90
Hc	3.83 (d, 3.7)	C3	54.87
Hd	3.74 (s)	C4	53.18
He	3.42 (sa)		

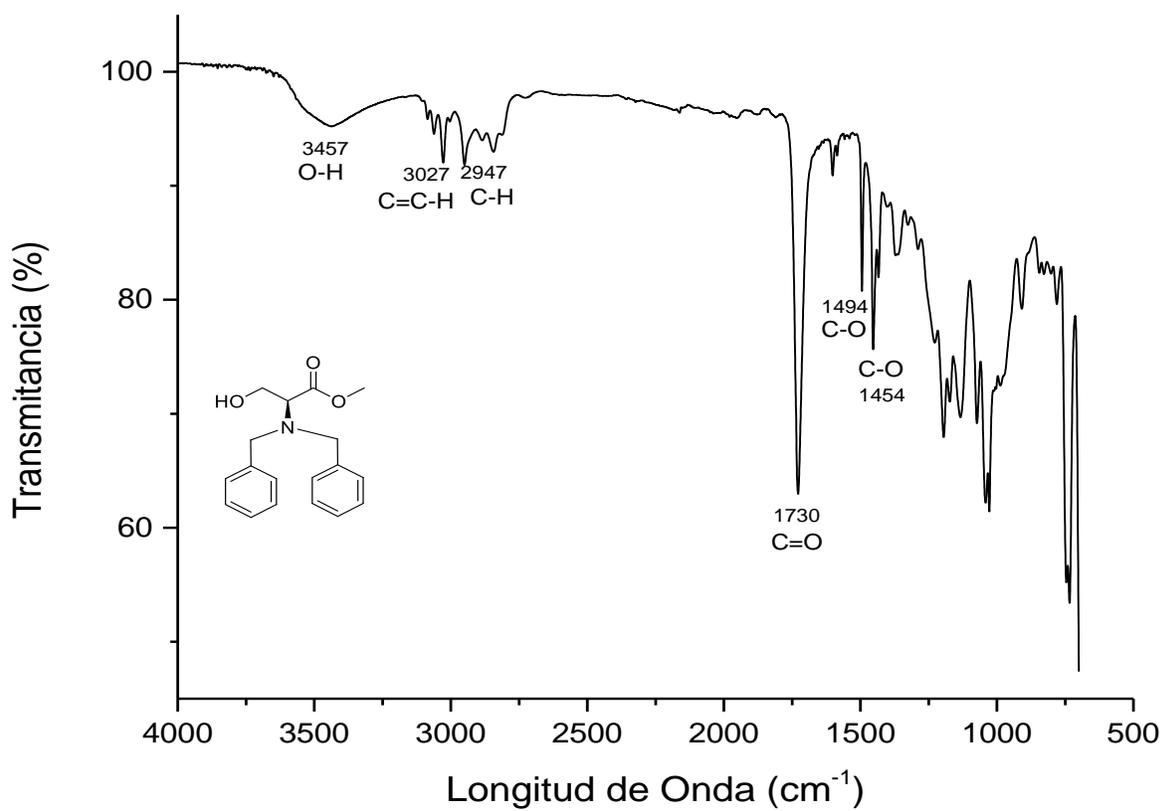
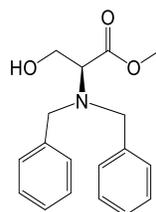


Figura 11. Espectro de infrarrojo del éster dibencilado de serina (38). En el que se observa el estiramiento del enlace C=C-H aromático a 3027 cm⁻¹ del aminoéster-dibencilado

Abundance



M= 299 uma

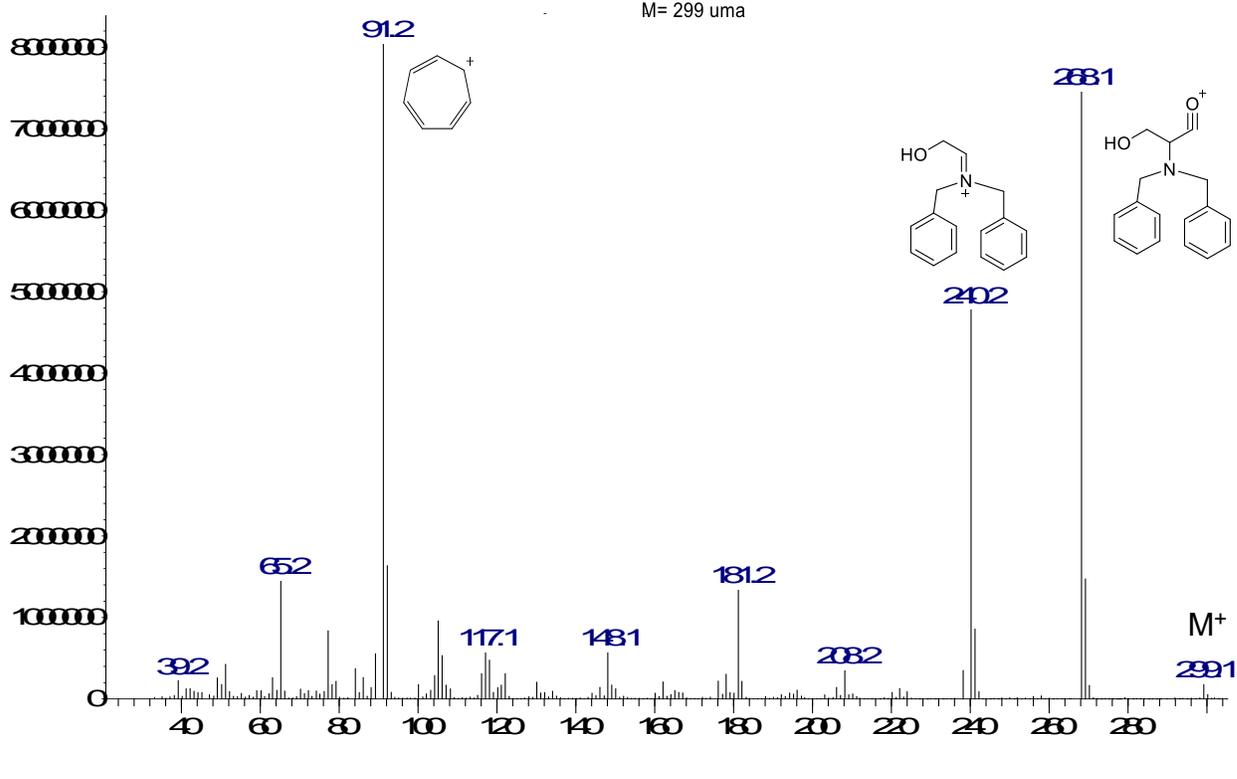


Figura 12. Espectro de masas del éster dibencilado de serina (38). Que muestra el ion molecular a 299 uma y tres fragmentos mayoritarios en 268, 240 y 91 uma.

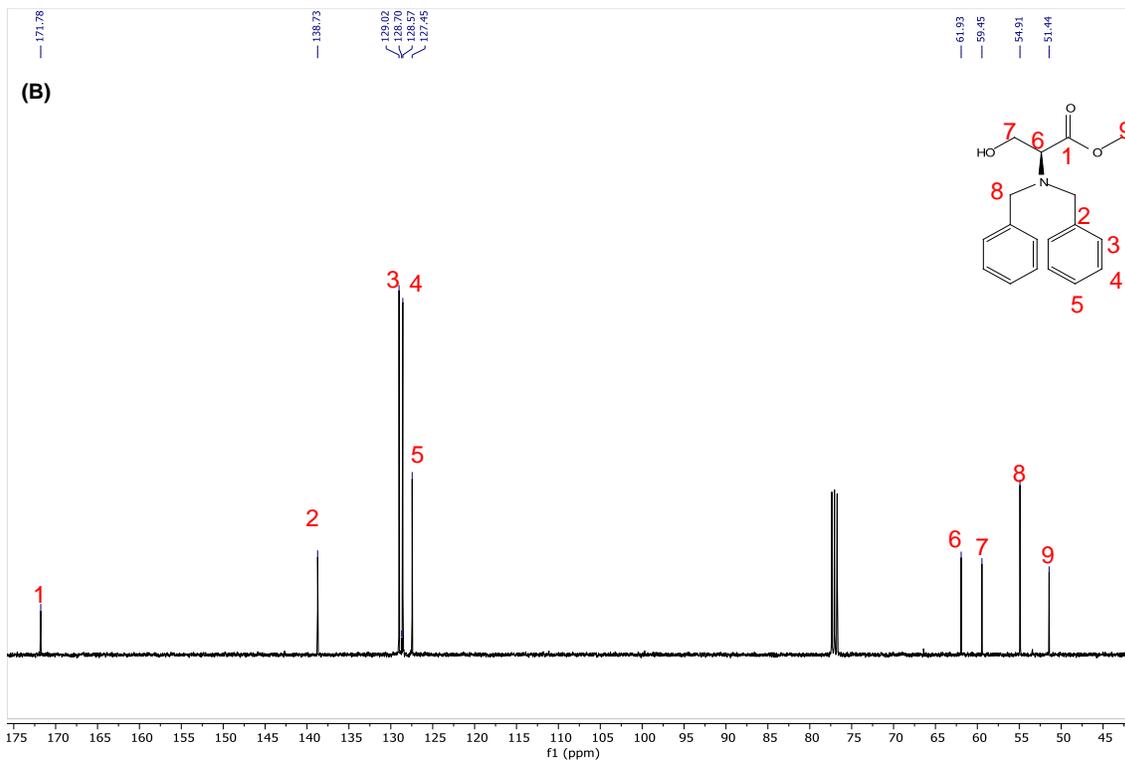
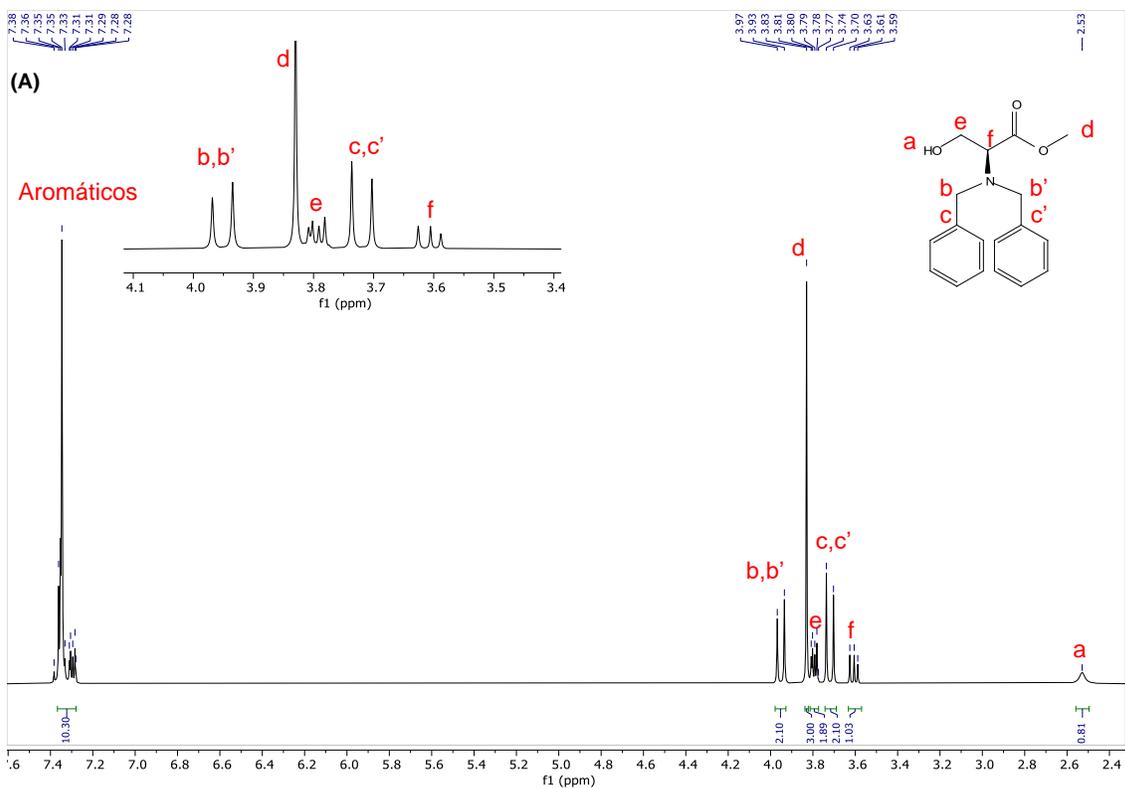
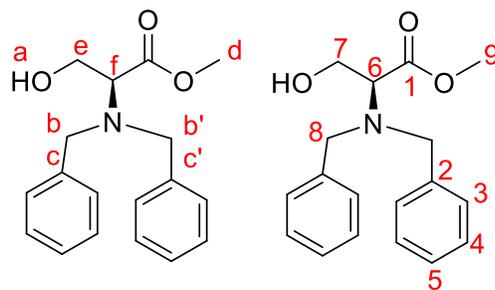


Figura 13. Espectro de RMN- ^1H (A) y RMN- ^{13}C (B) del éster dibencilado de serina (38). En el que se muestran las señales de hidrogeno y carbono correspondientes a la formación del aminoéster-dibencilado.



Cuadro 7. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C del éster dibencilado de serina (38).

^1H		^{13}C	
Señal	δ ($J = \text{Hz}$)	Señal	δ
Aromáticos	7.48-7.23 (m)	C1	171.78
Ha	2.53 (s)	C2	138.73
Hb, Hb'	3.95 (d, 13.4)	C3	129.02
Hc, Hc'	3.72 (d, 13.4)	C4	128.57
Hd	3.83 (s)	C5	127.45
He	3.80 (dd, 7.5)	C6	61.93
Hf	3.60 (t)	C7	59.45
		C8	54.91
		C9	51.44

9.1.3 Síntesis de 2-(S)-(N,N-dibencil)amino-3-*ter*butildimetilsililoxipropionato de metilo (39)

Durante el tercer paso de reacción se realizó la protección del grupo hidroxilo del compuesto **38** empleando cloruro de *ter*butildimetilsilano (TBDMSCl) en presencia de imidazol en diclorometano, lográndose aislar un aceite amarillo con rendimiento del 93% (**39**).

El espectro infrarrojo del compuesto **39** (Figura 14) presentó las vibraciones de estiramiento siguiente: 3046 cm^{-1} (C-H aromático), 2842 cm^{-1} (C-H alifático), 1744 cm^{-1} (C=O del éster) y en 822 cm^{-1} se observó una señal muy pronunciada perteneciente al enlace C-Si

En el espectro de EM-IE de **39** (Figura 15) se observó el ion molecular en 412 uma correspondiente al peso del compuesto, así también se observaron cuatro fragmentos mayoritarios, en 354 uma la ruptura del carbono α correspondiente al carbonilo del éster, en 322 un fragmento proveniente de la ruptura α del bencilo, 268 uma el fragmento correspondiente a la pérdida del metoxilo unido al silicio y 91 uma se mostró la formación del ión tropilio.

En el espectro de RMN ^1H de **39** (Figura 16A) mostró la señal perteneciente a los 10 hidrógenos aromáticos entre 7.43- 7.18 ppm, en 4.01 y 3.89 se mostraron dos dobles de dobles con $J = 10.16.0\text{ Hz}$ correspondientes a los metilenos unido al oxígeno, en 3.95 y 3.70 ppm apreciaron dos dobletes con $J = 13.4\text{ Hz}$ correspondientes a los metilenos bencílicos, en 3.75 ppm se observó un singulete que integra para tres hidrógenos pertenecientes al metoxilo, en 3.56 ppm se observó un triplete con $J = 6.2\text{ Hz}$ correspondiente al metino, en 0.86 ppm se mostró un singulete que integra para 9

hidrógenos pertenecientes al grupo *ter*butilo unido al silicio, por último en 0 ppm se observó un singulete perteneciente a los 6 hidrógenos de los metilos unidos al silicio (Cuadro 8). En el espectro de RMN ¹³C de **39** (Figura 16B) se observó carbonilo del éster en 172.0 ppm, en 139.9, 120.7, 128.2, 126.9 se mostraron los carbonos del sistema aromático, en 63.1 ppm el metileno unido al oxígeno, en 62.7 ppm metino, en 55.5 ppm los metilenos bencílicos, en 51.0 ppm el metoxilo, en 25.8 ppm el carbono cuaternario del *ter*butilo, en 18.1 ppm los metilos del *ter*butilo, y en -5.63 ppm los metilos unidos al silicio (Cuadro 8).

9.1.4 Síntesis de 3-(S)-dibencilamino-4-*ter*butildimetilsililoxi-1-cloro-2-butanona (40)

En la cuarta etapa se realizó la formación de la clorometilcetona **40** partiendo del compuesto **39** en presencia de clorometillitio (LiCH₂Cl) generado *in situ* a partir de cloroyodometano y metillitio (MeLi), obteniéndose la clorocetona como un aceite amarillo con 90% rendimiento.

En el espectro de EM-IE de **40** (Figura 17) no se observó el ion molecular, sin embargo, se aprecian tres fragmentos mayoritarios: en 354 uma se observó el fragmento debido a la ruptura α al carbonilo, en 210 uma el fragmento por la ausencia del metoxilo unido al silicio y en 91 uma la formación del ion tropilio debido a la ruptura β del aromático.

En el espectro de RMN ¹H de **40** (Figura 18A) se observó un multiplete entre 7.26-7.15 ppm correspondiente a los diez hidrógenos aromáticos, en 4.23 y 4.00 ppm se mostró un doblete con una $J = 16.0$ Hz correspondientes a los hidrógenos del

metileno unido al cloro, entre 3.99 y 3.91 ppm se observó un doble de dobles colapsado en un multiplete que integra para los dos hidrógenos del metileno unido al oxígeno, en 3.72 ppm se mostró un doblete con una $J = 14.0$ Hz que integra para los cuatro hidrógenos pertenecientes a los metilenos bencílicos, 3.55 ppm se apreció un triplete con una $J = 6.3$ Hz perteneciente al hidrógeno del carbono asimétrico, en 0.81 ppm se observó un singulete que integra para nueve hidrógenos pertenecientes al *ter*butilo unido al silicio y por último en 0.00 y -0.02 se mostraron dos singuletes correspondientes a los metilos unidos al silicio respectivamente (Cuadro 9). En el espectro de RMN ^{13}C de **40** (Figura 18B) se mostró las siguientes señales: en 201.8 ppm la señal correspondiente al carbonilo de la clorocetona, entre 139.0 y 127.4 ppm la de los carbonos aromáticos, en 65.5 ppm la del metileno unido al cloro, en 60.2 ppm la del metileno unido al oxígeno, en 55.3 ppm la de los metilenos bencílicos, en 48.3 ppm la carbono asimétrico, en 25.9 ppm la de los metilos pertenecientes al *ter*butilo, en 18.2 ppm la del *ter*butilo unido al silicio y en -5.52 ppm la de los metilos unidos al silicio (Cuadro 9).

9.1.5 Síntesis de (2*R*)-(Z)-*N,N*-dibencil-3-bencilimin-1-*ter*butildimetilsililoxi-4-clorobutan-2-amina (41**)**

La penúltima etapa de reacción para la formación de la imina **41** se hizo reaccionar la clorocetona **40** en presencia de tetracloruro de titanio y bencilamina, obteniéndose **41** como un aceite amarillo con 95% de rendimiento. Debido a la inestabilidad de este compuesto solo fue caracterizado por RMN además de emplearse directamente la siguiente etapa de reacción.

En el espectro de RMN ^1H de **41** (Figura 19A) se apreció la señal correspondiente a los 15 hidrógenos aromáticos entre 7.23-7.06 ppm, en 4.48 ppm se mostró un doble de dobles con una $J = 16.0$ Hz correspondientes a los hidrógenos del $\text{CH}_2\text{-Cl}$, en 4.18 se observó un doble de dobles con $J =$ de 10.9 y 7.8 Hz y en 4.04 se mostró otro doble de dobles con una $J =$ de 10.8 y 5.3 Hz dichas señales integran para los dos hidrógenos del metileno unido al oxígeno, en 3.83 y 3.80 ppm se mostraron dos dobletes con una $J = 3.7$ y 5.4 Hz respectivamente que integra para los dos hidrógenos pertenecientes a los metilenos bencílicos de la imina, en 3.68 ppm se apreció un singulete perteneciente a los metilenos bencílicos, en 3.55 ppm se apreció un cuadruplete con una $J =$ de 7.1 Hz perteneciente hidrogeno del centro asimétrico, en 0.86 y 0.79 ppm se mostraron las señales pertenecientes al *ter*butilo unido al silicio y por último en 0.03 y 0.00 se mostraron dos singuletes correspondientes a los metilos unidos al silicio respectivamente (Cuadro 10). En el espectro de RMN ^{13}C de **41** (Figura 19B) se mostró las siguientes señales: en 165.7 ppm la señal perteneciente a la imina, entre 140.2 y 126.9 ppm la de los carbonos aromáticos, en 65.8 ppm la del metileno unido al cloro, en 63.3 ppm la del metileno unido al oxígeno, en 61.3 ppm la del carbono asimétrico, 46.4 ppm la de los metilenos bencílicos, en 26.1 ppm la de los metilos pertenecientes al *ter*butilo, en 15.36 ppm la del *ter*butilo unido al silicio y en -5.21 ppm la de los metilos unidos al silicio (Cuadro 10).

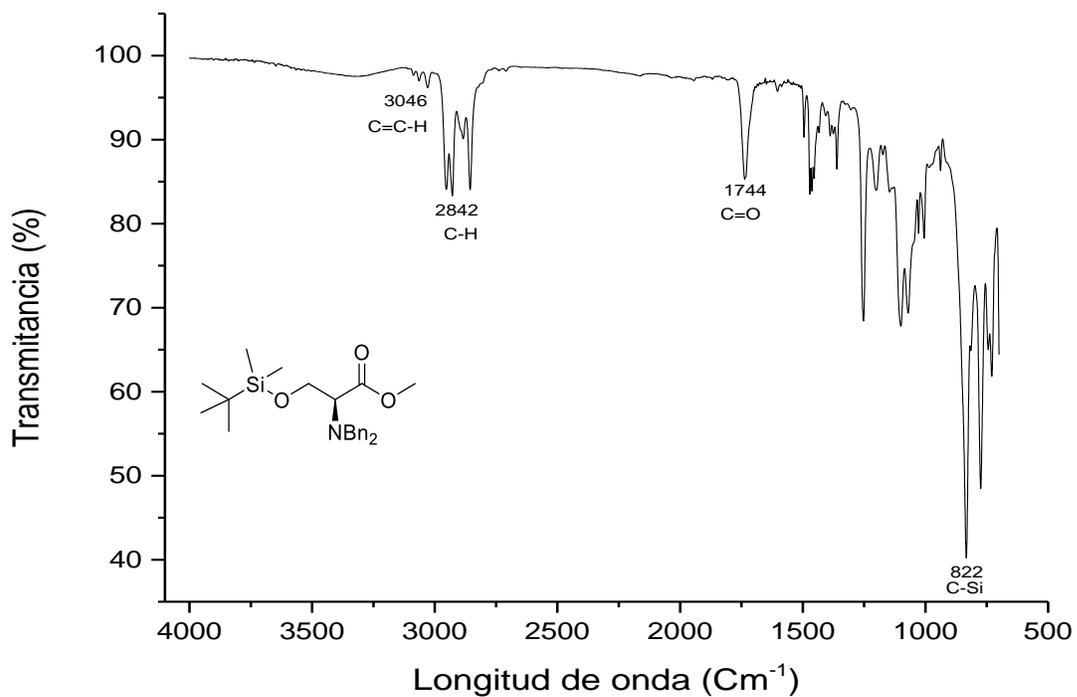


Figura 14. Espectro de IR de la *N,N*-dibencil-*O*-(*ter*-butildimetilsilil)-*L*- metilserinato (39). Donde se aprecia la señal del enlace C-Si a 822 cm⁻¹.

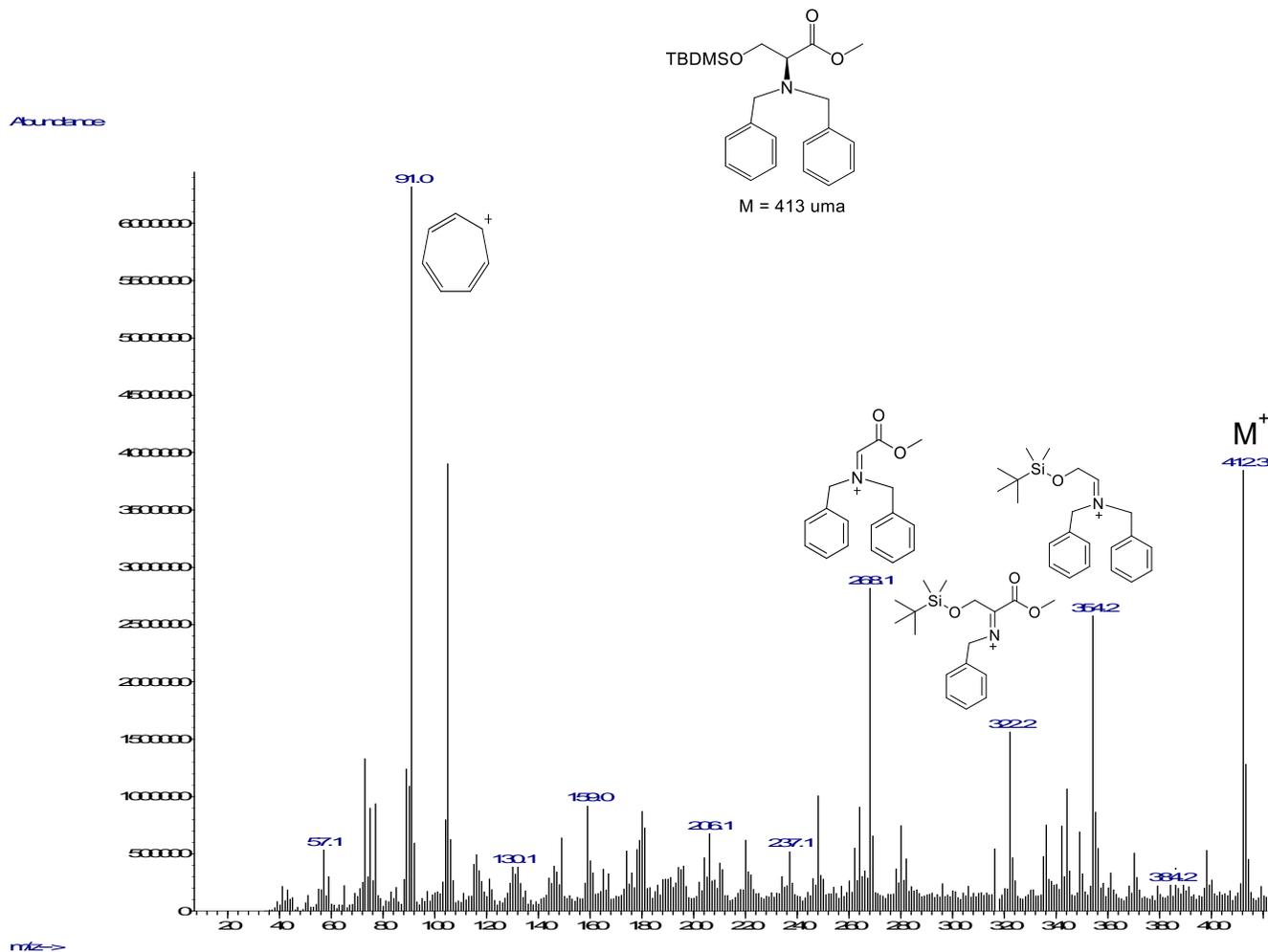


Figura 15. Espectro de EM-IE de la *N,N*-dibencil-*O*-(*ter*butildimetilsilil)-*L*-metilserinato (39). En el que se aprecia el ion molecular a 412 uma y cuatro fragmentos mayoritarios en 354, 322, 268 y 91 uma.

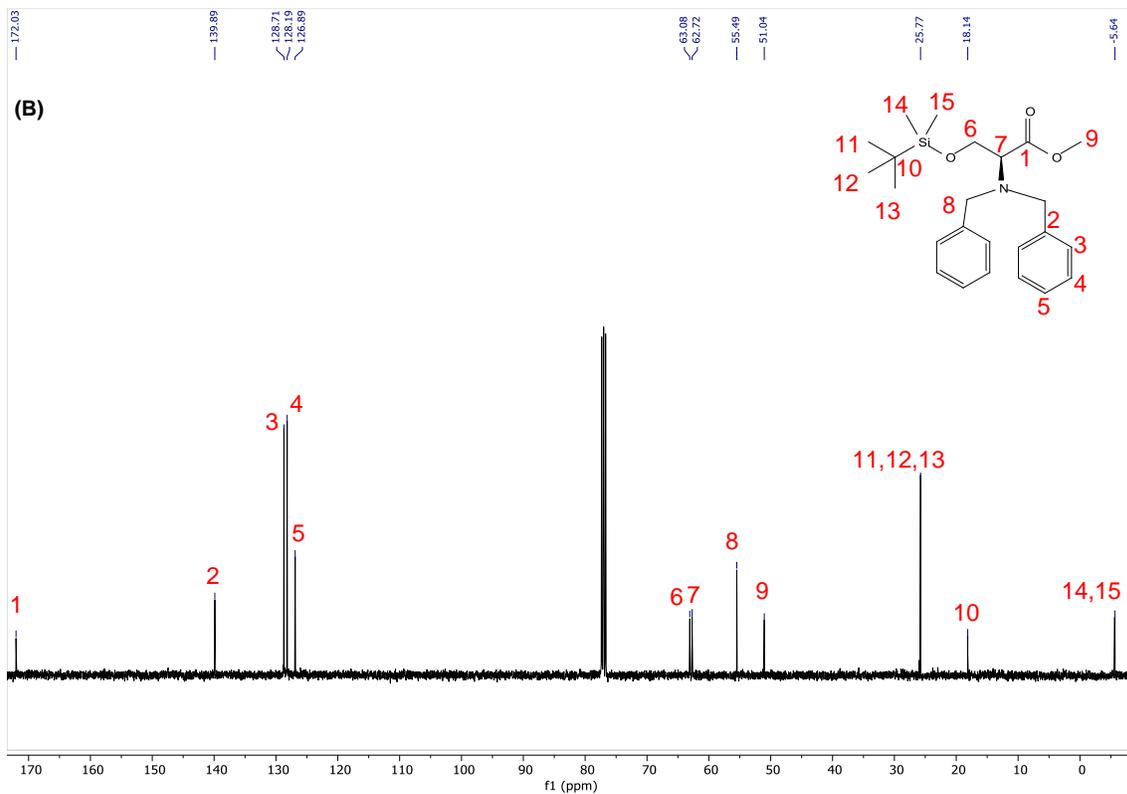
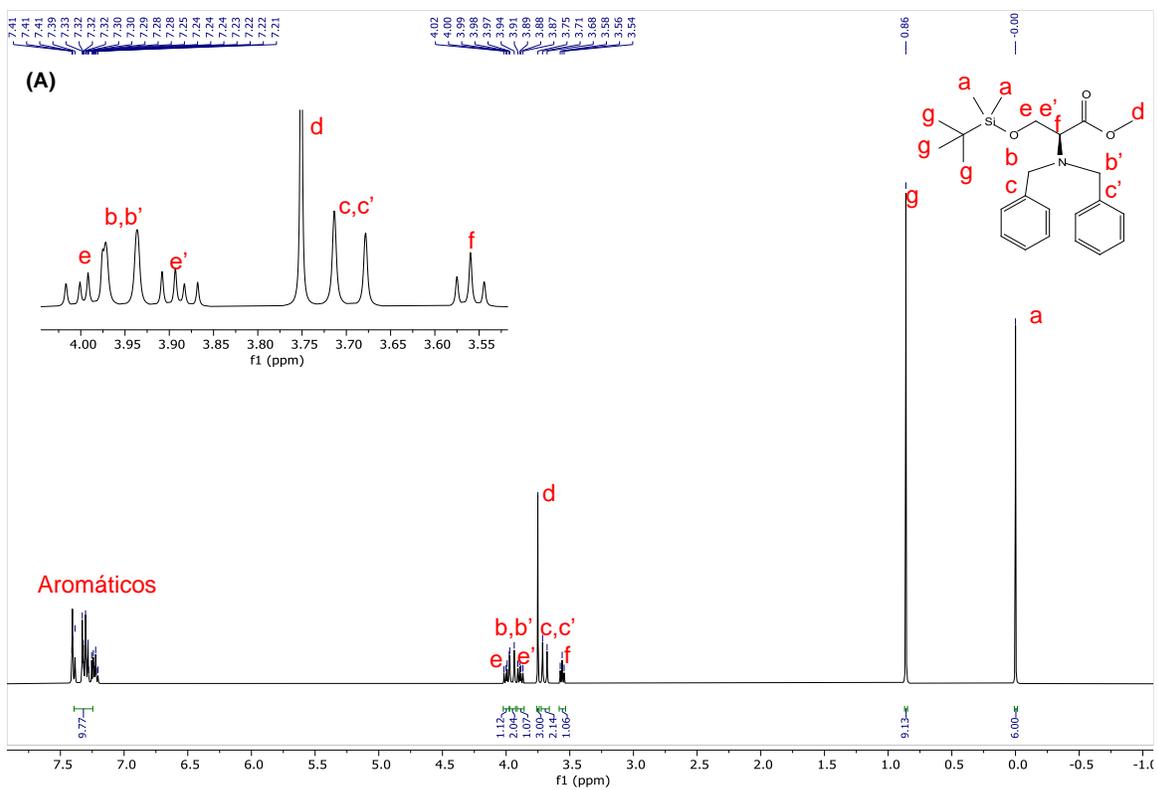
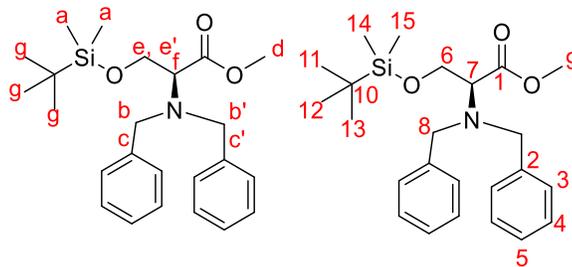


Figura 16. Espectro de RMN- ^1H (A) y RMN- ^{13}C (B) de la *N,N*-dibencil-*O*-(*ter*butildimetilsilil)-*L*-metilserinato (39). Donde se aprecian las señales derivadas de la protección del hidroxilo con TBDMSi (^1H : a,g y ^{13}C : 10-15).



Cuadro 8. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C de la *N,N*-dibencil-*O*-(*tert*butildimetilsilil)-*L*-metilserinato (**39**).

^1H		^{13}C	
Señal	δ ($J = \text{Hz}$)	Señal	δ
Aromáticos	7.43 – 7.18 (m)	C1	172.03
Ha	0.00 (s)	C2	139.90
Hb, Hb'	3.95 (d, 14.1)	C3	120.72
Hc, Hc'	3.70 (d, 14.1)	C4	128.20
Hd	3.75 (s)	C5	126.90
He	4.01 (dd 10.1, 6.0)	C6	63.08
He'	3.89 (dd, 10.1, 6.0)	C7	62.72
Hf	3.56 (t, 6.2)	C8	55.49
Hg	0.86 (s)	C9	51.04
		C10	25.77
		C11,12,13	18.14
		C14,15	-5.64

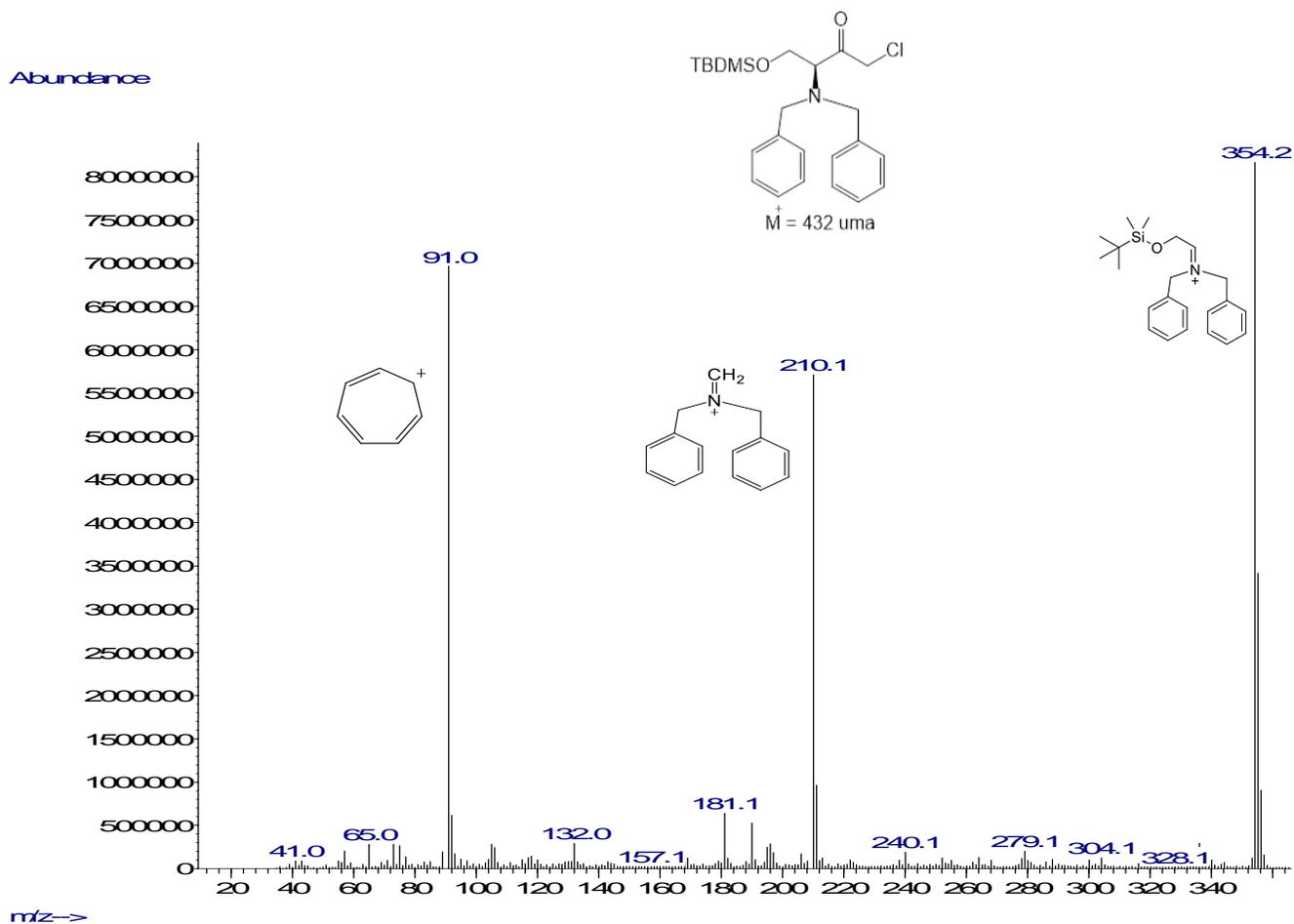


Figura 17. Espectro de EM-IE de la (S)-4-((*ter*butildimetilsilil)oxi)-1-cloro-3-(dibencilamino)butan-2-ona (40). En el que se aprecian 3 fragmentos mayoritarios en 354 y 210 uma derivados de la ruptura α del carbonilo y 91 uma de la formación del ion tropylio.

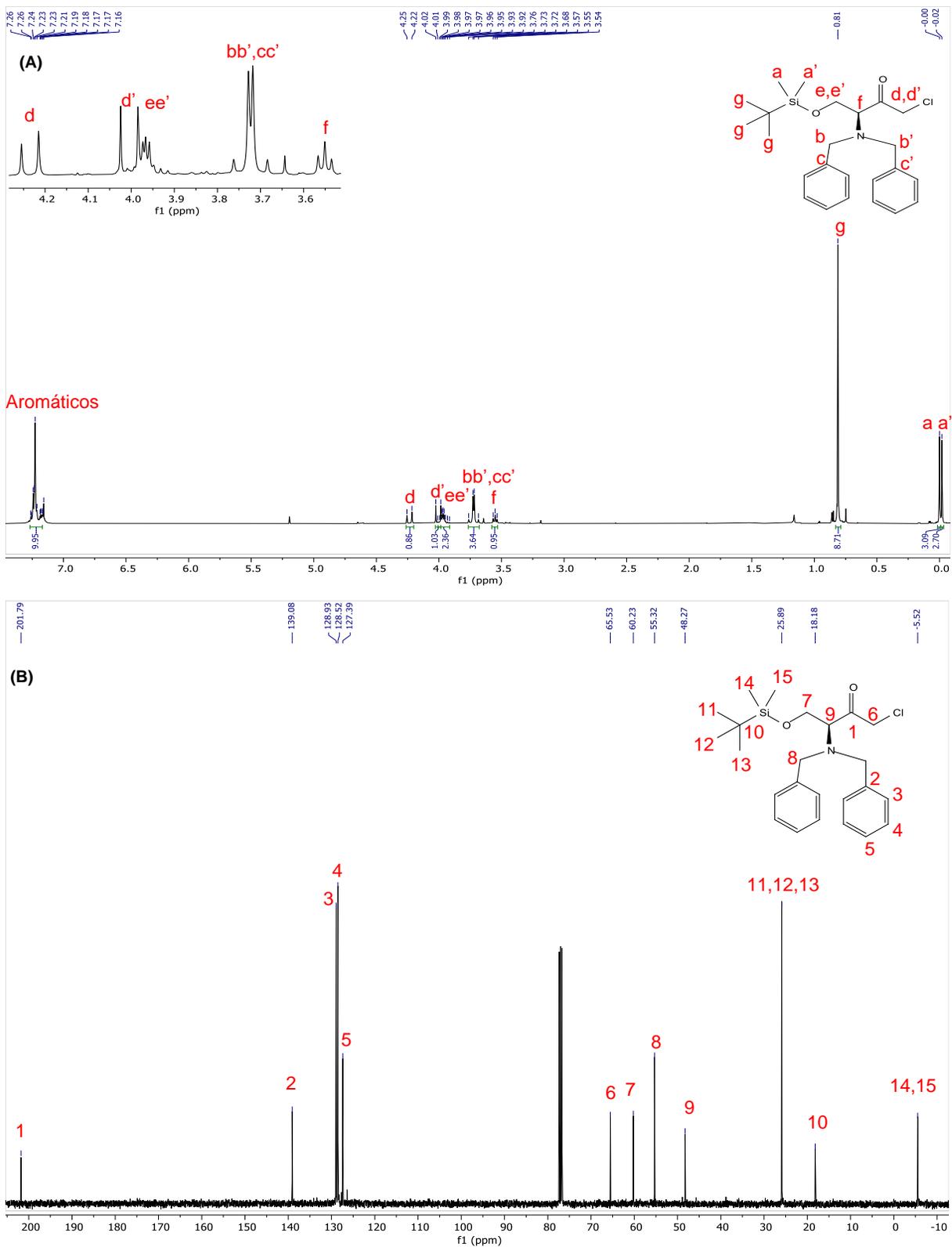
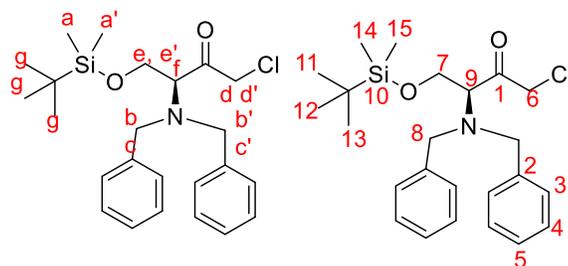


Figura 18. Espectro de RMN- ^1H (A) y RMN- ^{13}C (B) de la (*S*)-4-((*ter*butildimetilsilil)oxi)-1-cloro-3-(dibencilamino)butan-2-ona (40). En el que se observan las nuevas señales provenientes del metileno y carbonilo de la clorocetona (^1H : d,d' y ^{13}C : 1, 6)



Cuadro 9. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C de la (*S*)-4-((*tert*butildimetilsilil)oxi)-1-cloro-3-(dibencilamino)butan-2-ona (**40**).

^1H		^{13}C	
Señal	δ ($J = \text{Hz}$)	Señal	δ
Aromáticos	7.26 – 7.15 (m)	C1	201.79
Ha	0.00 (s)	C2	139.08
Ha'	-0.02 (s)	C3	128.93
Hb, Hb', Hc, Hc'	3.72 (d, 14.0)	C4	128.52
Hd	4.23 (d, 16.0)	C5	127.39
Hd'	4.00 (d, 16.0)	C6	65.53
He, He'	3.99 – 3.91 (m)	C7	60.23
Hf	3.55 (t, 6.3)	C8	55.32
Hg	0.81 (s)	C9	48.27
		C10	25.89
		C11,12,13	18.18
		C14,15	-5.52

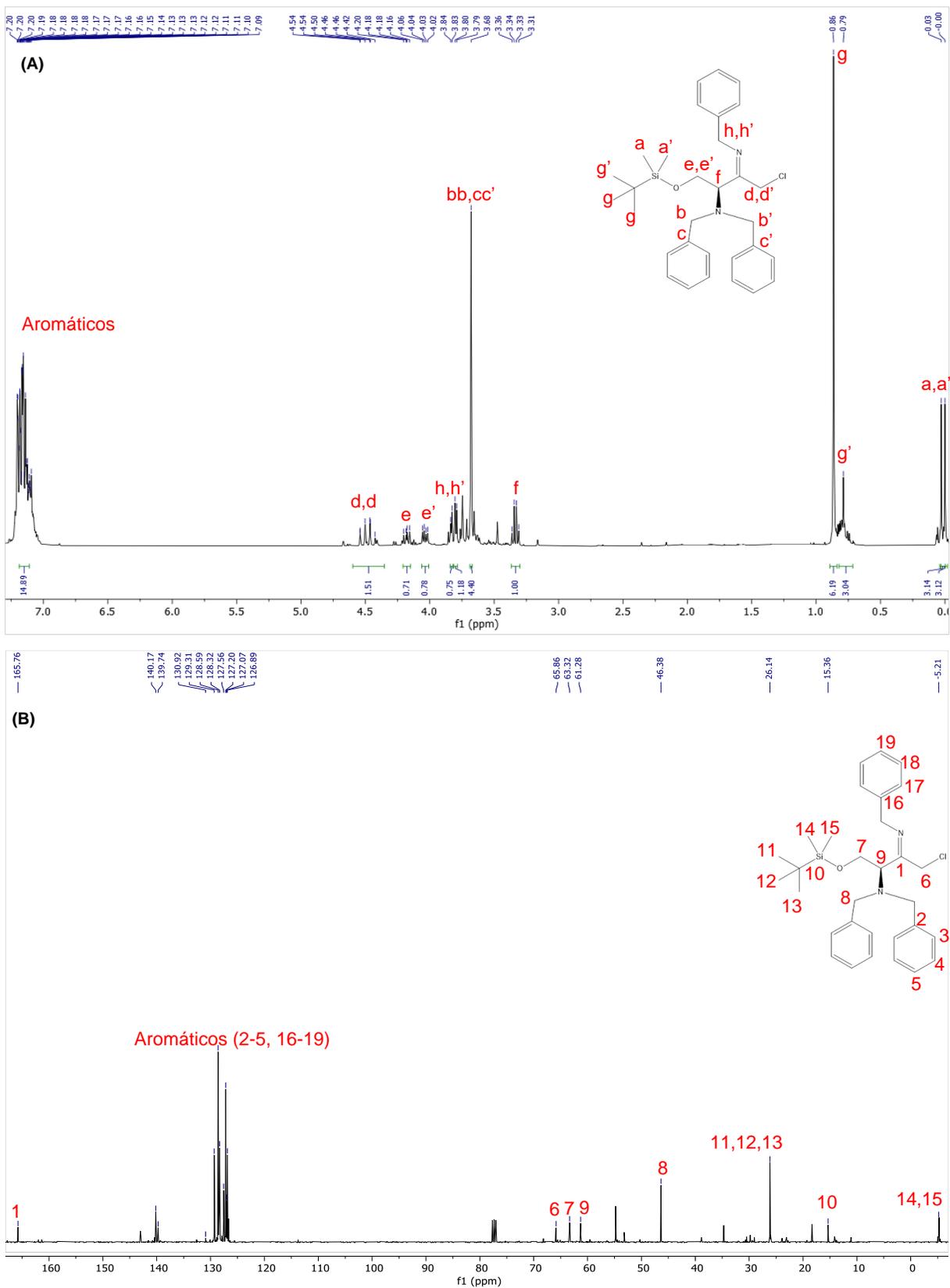
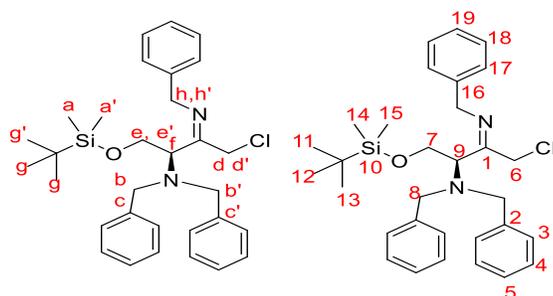


Figura 19. Espectro de RMN- ^1H (A) y RMN- ^{13}C (B) de la (2*R*)-(Z)-*N,N*-dibencil-3-bencilimin-1-terbutildimetilsililoxi-4-clorobutan-2-amina (41). Donde se ven las señales de la imina (^1H : h,h' y ^{13}C : 1).



Cuadro 10. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C de la (2R)-(Z)-N,N-dibencil-3-bencilimin-1-tertbutildimetilsililoxi-4-clorobutan-2-amina (**41**)

^1H		^{13}C	
Señal	δ (J = Hz)	Señal	δ
Aromáticos	7.23 – 7.06 (m)	C1	165.76
Ha	0.03 (s)	C2	140.17
Ha'	-0.00 (s)	C3	139.74
Hb, Hb', Hc, Hc'	3.68 (s)	C4	130.92
Hd, Hd'	4.48 (dd, 16.0)	C5	128.59
He	4.18 (dd, 10.9, 7.8)	C6	65.86
He'	4.04 (dd, 10.8, 5.3)	C7	63.32
Hf	3.34 (c, 7.1)	C8	46.38,
Hg	0.86 (s)	C9	61.28
Hg'	0.79 (s)	C10	15.36
Hh	3.80 (d, 5.4)	C11,12,13	26.14
Hh'	3.83 (d, 3.7)	C14,15	-5.21
		C16-C19	128.32-126.89

9.1.6. Síntesis de (2*S*,1'*R*)-1-becil-2-{1'-(dibenzilamino)-2'[(*ter*butildimetilsilil)oxi]etil}aziridina (**42**)

La última etapa de síntesis consistió en la formación del anillo de aziridina para esto se redujo la amina **41** en presencia de NaBH₄ para la obtención de la amina, posteriormente mediante una reacción de ciclación empleando MeLi. Obteniéndose el producto **42** se observó como un aceite amarillo con un rendimiento del 80% dicho compuesto solo fue caracterizado empleando RMN donde se emplearon estudios adicionales de HSQC y HMBC (Figura 20) para la inequívoca asignación de las señales.

En el espectro HSQC (Figura 20A) se observaron las siguientes correlaciones hidrógeno-carbono, los hidrógenos aromáticos en 7.44–7.17 ppm correlaciona con las señales entre 140.9 y 126.5 ppm, el doblete de los metilenos bencílicos en 3.75 y 3.72 ppm correlaciona con la de 55.1 ppm, el doble de dobles del metileno unido al oxígeno en 3.69 ppm correlaciona con la de 63.9 ppm, los dobletes en 3.48 y 3.46 ppm correlación con la de 65.2 ppm correspondiente al metileno bencílico del anillo de la aziridina, el doble de doble de dobles perteneciente al primer carbono asimétrico en 2.46 ppm correlaciona en 61.5 ppm, el multiplete del centro asimétrico del anillo de la aziridina en 1.80 ppm correlaciona en 38.6 ppm, los dobles perteneciente al metileno del anillo de la aziridina en 1.67 y 1.34 ppm correlaciona con 31.7 ppm, el singulete pertenecientes a los metilos del *ter*butilo en 0.88 ppm correlaciona en 25.9 ppm y el singulete perteneciente a los metilos unidos directamente al silicio en 0.00 ppm correlaciona en -5.57 ppm. Por otra parte en el espectro de correlación a dos y tres enlaces hidrógeno-carbono (HMBC) (Figura 20B) se tomó como señal conocida al

primer centro asimétrico en 2.46 ppm, donde se observó una interacción a dos enlaces en 55.1 ppm correspondiente al centro asimétrico de la aziridina y en 65.3 ppm del metileno unido al oxígeno, mientras que a tres enlaces se apreció la interacción del metileno del anillo de la aziridina en 31.8 ppm y en 38.6 ppm con los metilenos bencílicos, gracias a estos estudios se pudo hacer la correcta asignación de las nuevas señales lo que nos indica la formación y caracterización del heterociclo de aziridina inequívocamente.

El espectro de RMN ^1H de **42** (Figura 21A) mostró la señal correspondiente a los 15 hidrógenos aromáticos entre 7.44-7.17 ppm, en 3.75 y 3.72 ppm se apreció un doblete con una $J = 13.8$ Hz correspondientes a los hidrógenos de los metilenos bencílicos, en 3.69 ppm se mostró un doble de dobles con una $J = 5.8$ y 3.1 Hz, en 3.48 y 3.46 ppm se observó un doblete con una $J = 13.1$ dichas señales integran para los dos hidrógenos del metileno bencílico unido al anillo de la aziridina, en 2.46 ppm se apreció un doble de doble de dobles una $J = 7.6$ perteneciente al primer centro asimétrico, en 1.80 ppm la señal del hidrógeno del centro asimétrico del anillo de la aziridina, en 1.67 y 1.34 ppm se observó un dobolete con una $J = 3.4$ y 6.6 Hz respectivamente perteneciente al metileno del anillo de la aziridina, en 0.88 ppm apreció la señale perteneciente a los hidrógenos del *ter*butilo unido al silicio y por último en 0.00 ppm se mostró un singulete correspondiente a los hidrógenos de los metilos unidos al silicio (Cuadro 11). En el espectro de RMN ^{13}C de **42** (Figura 21B) mostró las siguientes señales: en 140.9 y 126.5 ppm derivada de los carbonos aromáticos, en 65.2 ppm la del metileno bencílico del anillo de la aziridina, en 63.9 ppm la del metileno unido al oxígeno, en 61.5 ppm la del carbono asimétrico, 55.1 ppm la de los metilenos

bencílicos, en 31.7 ppm la del metileno del anillo de la aziridina, en 25.9 ppm la de los metilos pertenecientes al *ter*butilo, en 18.2 ppm la del *ter*butilo unido al silicio y en - 5.57 ppm la de los metilos unidos al silicio (Cuadro 11).

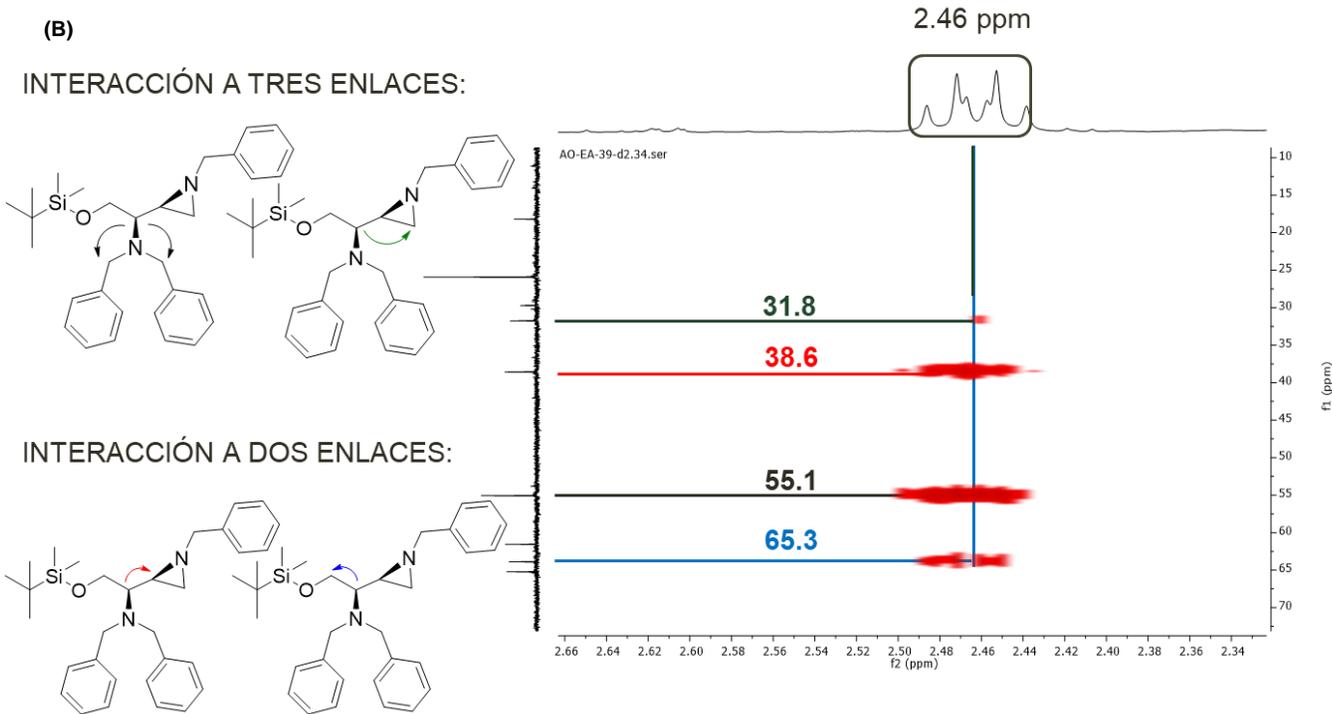
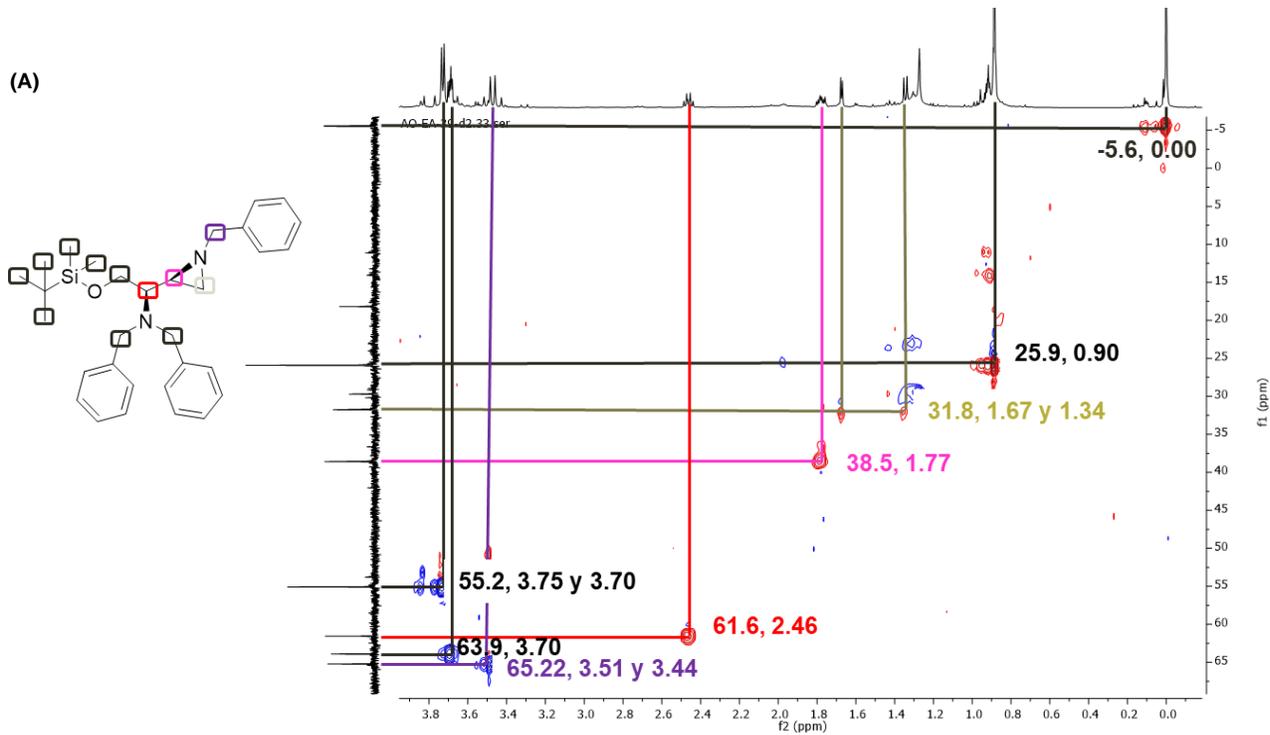


Figura 20. Espectro de HSQC (A) y HMBC (B) de la (2*S*,1'*R*)-1-becil-2-{1'-(dibenzilamino)-2'[(*ter*butildimetilsilil)oxi]etil}aziridina (42). Estudios de correlación realizados para la asignación de las nuevas señales provenientes del anillo de la aziridina.

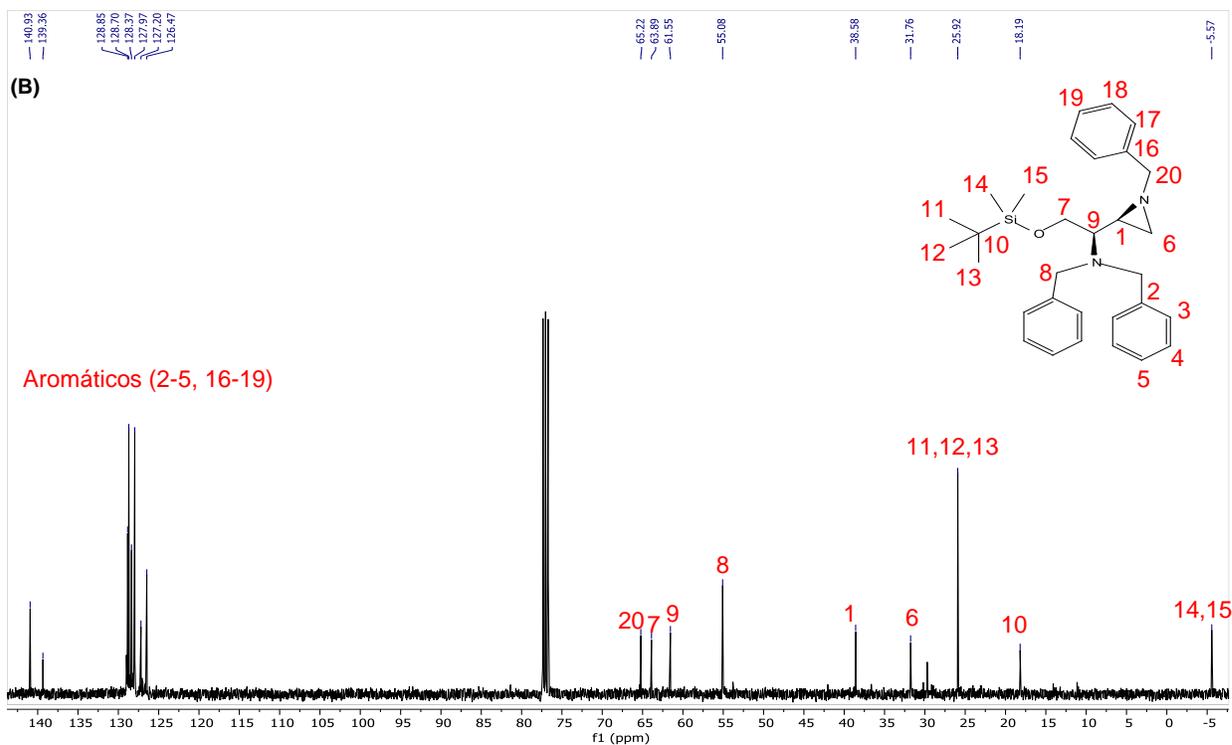
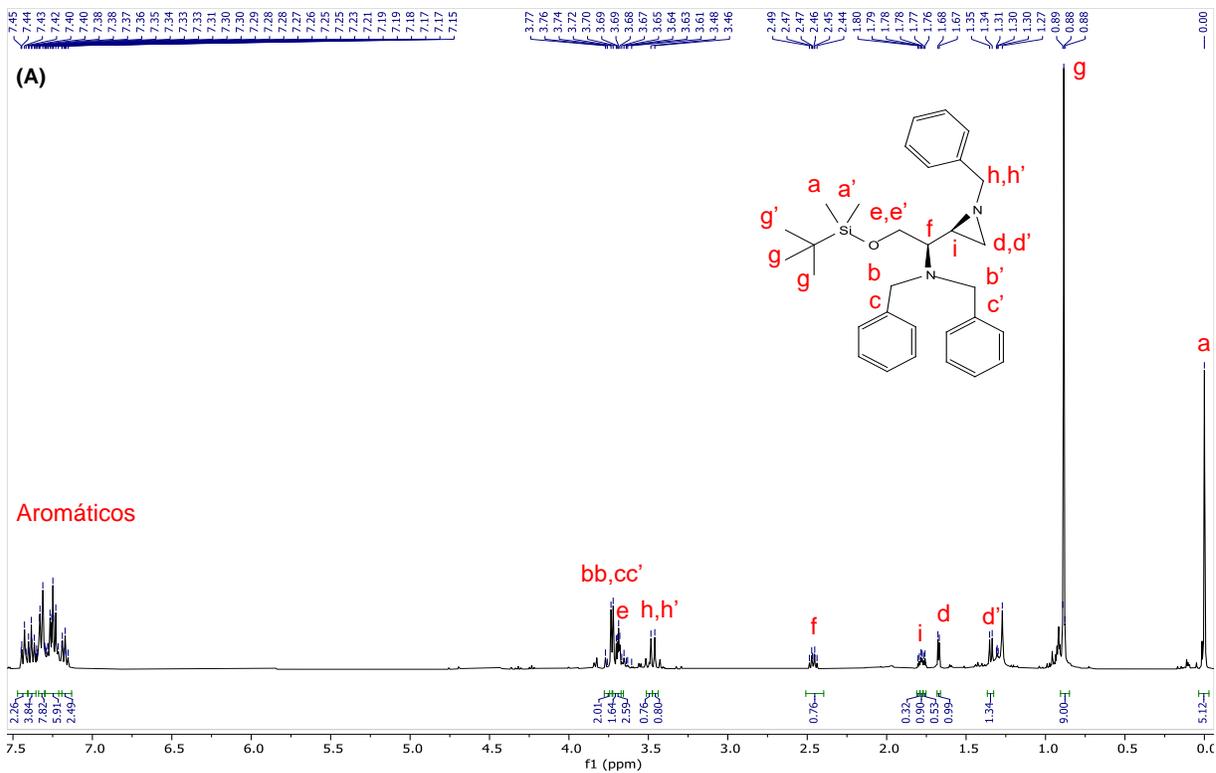
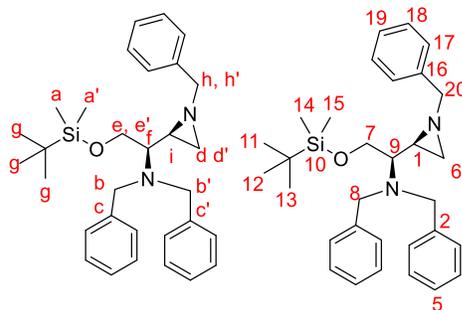


Figura 21. Espectro de RMN-¹H (A) y RMN-¹³C (B) de la (2*S*,1'*R*)-1-becil-2-{1'-(dibenzilamino)- 2'[(*ter*butildimetilsilil)oxi]etil}aziridina (42). En el que se aprecian las señales provenientes a la formación del anillo de la aziridina (¹H: d, h, i y ¹³C: 1, 6, 17-20).



Cuadro 11. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C (2*S*,1'*R*)-1-becil-2-{1'-(dibenzilamino)-2'[(*terbutildimetilsilil*)oxi]etil}aziridina (**42**)

^1H		^{13}C	
Señal	δ ($J = \text{Hz}$)	Señal	δ
Aromáticos	7.44 – 7.17 (m)	C1	38.58
Ha	0.00 (s)	C2 - C5	140.93 – 128.70
Hb, Hb'	3.75 (d, 13.8)	C6	31.76
Hc, Hc'	3.72 (d, 13.8)	C7	63.89
Hd	1.67 (d, 3.4)	C8	55.08
Hd'	1.34 (d, 6.6)	C9	61.55
He, He'	3.69 (dd, 5.8, 3.1)	C10	18.19
Hf	2.46 (ddd, 7.6, 7.6, 7.6)	C11,12,13	25.92
Hg	0.88 (s)	C14,15	-5.57
Hh	3.48 (d, 13.1)	C16 - C19	128.37 – 126.47
Hh'	3.46 (d, 13.1)	C20	65.22
Hi	1.80 (m)		

9.2. Evaluación de la actividad antibacteriana

Se evaluaron tres compuestos intermediarios y la *N,N*-dibencilaziridina (**38**, **39**, **40** y **42**) empleando las metodologías de microdilución en caldo y Kirby-bauer, contra 11 cepas bacterianas nueve Gram positivas y dos Gram negativas, de las cuales seis son aislados clínicos multirresistentes. Los compuestos evaluados (**38**, **39** y **42**) por microdilución en caldo no fueron capaces de inhibir el crecimiento bacteriano frente las bacterias empleadas a la máxima concentración evaluada de 200 µg/mL, mientras que el compuesto **40** presentó actividad contra las 11 bacterias. Las CMI de este compuesto fueron de 25 µg/mL frente a las cepas Gram positivas multirresistentes (SARM-01, SARM-02, SARM-03, SARM-04), mientras que para las Gram negativas (*E. coli* 25922 y *E. coli* A011) las CMI fueron de 200 µg/mL. Así también, se observó que **40** presentó actividad bacteriostática para la mayoría de las bacterias y solamente se apreció acción bactericida contra *streptococcus* grupo A a 100 µg/mL (Cuadro 15). Sin embargo, las CMI obtenidas fueron superiores a los presentados por el control linezólida (0.5 - 0.8 µg/mL) (Cuadro 12). Por otra parte, mediante la metodología de Kirby-bauer con una carga de 30 µg ninguno de los compuestos evaluados presentó actividad.

9.2. Bioensayo de toxicidad frente a *A. salina*

Se evaluó la toxicidad *in vitro* del compuesto **40** empleando el modelo de *A. salina* siendo este el único compuesto activo frente a las bacterias evaluadas. Para esto se en donde se pusieron en un tubo de ensayo diez nauplios fototrópicos en estadio II a los cuales se les dio una dosis del compuesto a concentraciones de 200, 100, 50 y 25 µg/mL, determinándose la CL₅₀ a 50 µg/mL.

Cuadro 12. Resultados de la actividad antibacteriana del compuesto **40**

Bacteria	CMIs ($\mu\text{g/mL}$)	CMB ($\mu\text{g/mL}$)
<i>S. aureus</i> 05	50	50
<i>Streptococcus grupo A</i> 01	100	100*
<i>S. aureus</i> 25923	25	25
<i>E. coli</i> A011	200	200
SARM 43300	25	25
<i>E. coli</i> 25922	200	200
SARM-01	25	50
SARM-02	25	25
SARM-03	25	25
SARM-04	25	25
SARM-05	50	50

* Presentó actividad bactericida, CMI: concentración mínima inhibitoria, CMB: concentración mínima bacteriostática

X. DISCUSIÓN

10.1. Síntesis de la *N,N*-dibencilaziridina

10.1.1 Síntesis del éster metílico de serina (37)

La ruta de síntesis inicio con la esterificación del aminoácido L-serina **36**, en primera instancia se propuso iniciar empleando el método tradicional con cloruro de tionilo (SOCl_2) en metanol (Ochoa, 2004). Sin embargo, este reactivo ya no se encuentra disponible comercialmente, por lo que se optó por emplear bromuro de tionilo (SOBr_2) o cloruro de trimetilsilano (TMSCl) a concentraciones de 1.5 a 5 eq., donde el TMSCl procedió con la completa esterificación del aminoácido con 5 eq. mientras que con el SOBr_2 se apreció una mezcla en proporción 70:30 producto/reactivo, esto fue confirmado por RMN ^{13}C . En el Anexo 1 se aprecia la desaparición de la señal en 169.7 del carbono del ácido carboxílico y la aparición de la señal del carbonilo del éster en aproximadamente 168.7 ppm, así también se confirmó por EM-IE donde se observó el ion molecular a 120 uma correspondiente al peso del producto y un fragmento mayoritario de 60 uma correspondiente a la pérdida del carbonilo del éster siendo este el pico base. Obteniéndose así el compuesto **37** como un polvo blanco con rendimiento del 93%, siendo mayor a lo encontrado en la literatura por Pang y col. en 2018, donde obtuvieron un rendimiento del 80% empleando SOCl_2 y similar a lo reportado Yamamoto y Ramakrishna en 2021 donde sintetizaron aminoésteres de alanina y fenilalanina con rendimientos del 91% utilizando TMSCl. Por lo que el TMSCl puede ser usado como una alternativa para la síntesis de aminoésteres (Ochoa, 2004; Pang y col. 2018; Yamamoto y Ramakrishna, 2021).

10.1.2 Síntesis del éster dibencilado de serina (38)

Para la obtención del compuesto **38** se hizo reaccionar **37** en presencia de bromuro de bencilo y trietilamina (TEA) en cloroformo como solvente a reflujo durante 12 h., obteniéndose con rendimiento del 89% posterior a la etapa de purificación con gel de sílice, este rendimiento fue superior a lo reportado por Ochoa en 2004 y similar a lo reportado por Ordoñez y col. en 2010 con un rendimiento de 92%. (Ochoa, 2004, Ordoñez y col. 2010). En la caracterización por EM-IE se mostró M^+ de 299 uma y tres fragmentos abundantes correspondientes: a la ruptura del carbono α del éster mostrándose la pérdida del metoxilo a 268 uma, la pérdida de monóxido de carbono a 240 uma, y la formación del ion tropilio a 91 uma debido a la ruptura β del nitrógeno. Por otra parte, en el espectro de FT-IR en 3027 cm^{-1} se observó la señal de estiramiento C=CH aromático. El espectro de RMN ^1H mostró la señal correspondiente a los hidrógenos aromáticos entre 7.48 y 7.23 ppm correspondiente a los hidrógenos aromáticos, así como dos dobles en 3.95 y 3.72 ppm con $J = 13.4\text{ Hz}$ las cuales pertenecen a los metilenos bencílicos. En el espectro de RMN de ^{13}C se apreciaron los carbonos aromáticos entre 138.73 y 127.45 ppm y en 54.91 ppm se mostró la señal perteneciente a los metilenos bencílicos, confirmándose así la obtención de **38**.

Aunado a esto, durante la búsqueda de las condiciones de síntesis y purificación de **38** se logró aislar a la serina tribencilada, la cual solo fue caracterizada por medio de RMN ^1H donde se observaron dos multipletes entre 7.41 y 7.26 ppm correspondientes a los 15 hidrógenos aromáticos, así también se observaron dos dobles en 5.29 y 5.13 ppm para los metilenos bencílicos, mientras que en el espectro

de RMN ^{13}C se observaron las señales aromáticas entre 136.8 y 127.4 ppm y en 66.4 la señal del metileno bencílico del éster (Anexo 2).

10.1.3 Síntesis de 2-(S)-(N,N-dibencil)amino-3-*ter*butildimetilsililoxipropionato de metilo (39)

La tercera etapa consistió en la protección del hidroxilo del aminoéster dibencilado **38**, para esto se hizo reaccionar con cloruro de *ter*butildimetilsilano (TBDMSCl) e imidazol en DCM, obteniéndose un 93% de rendimiento.

La caracterización por FT-IR mostró una vibración de estiramiento del enlace C-Si pronunciada a 822 cm^{-1} , mientras que en el espectro de EM-IE se mostró el ion molecular en 412 uma correspondiente al peso molecular del compuesto, en 354 uma la pérdida del carbonilo del éster, en 268 uma la pérdida del metoxilo unido al silicio y 91 uma la formación del ión *tropilio* siendo este el pico base. En el espectro de RMN ^1H se observó un singulete en 0.86 ppm correspondiente a los metilos unidos al *ter*butilo y en 0.00 ppm otro singulete que integra para los metilos unidos al silicio, el doble de dobles perteneciente al metileno unido al oxígeno se observó como dos dobles de dobles en 4.03 y 3.91 ppm con $J = 10.1$ y 6.0 Hz. En el espectro de RMN ^{13}C se observó en 25.9 ppm la señal correspondiente a los metilos unidos al *ter*butilo, en 18.2 ppm la señal del carbono cuaternario, en 5.5 ppm la señal de los metilos unidos al silicio, así también se observó el desplazamiento del carbono asimétrico a 60.2 ppm y en 65.5 ppm la del metileno unido al oxígeno.

10.1.4. Síntesis de 3-(S)-dibencilamino-4-*ter*butildimetilsililoxi-1-cloro-2-butanona (40)

Para la síntesis de **40** se hizo reaccionar **39** en presencia de LiCH_2Cl generado *in situ* a partir de cloroyodometano (ICH_2Cl) y metililitio (MeLi), empleando como solvente THF a $-78\text{ }^\circ\text{C}$, obteniéndose con 90% de rendimiento, siendo semejante a lo realizado por pace y col. en 2013 quienes sintetizaron clorocetonas a partir de derivados del aminoácido glicina en presencia ICH_2Cl y meLi a diferentes concentraciones obteniendo rendimientos del 36 al 92% (Pace, y col. 2013).

El espectro de EM-IE no mostró el ion molecular del compuesto, pero si tres fragmentos mayoritarios en 354 uma se dio la ruptura α del carbonilo de la clorocetona, en 210 uma la pérdida del metoxilo unido al silicio y en 91 uma la formación del ion tropilio siendo este último el pico base. En el espectro de RMN ^1H se observó la ausencia de la señal del metoxilo del éster, así también se observaron la aparición de nuevas señales derivadas de los metilenos unidos al cloro vistos como dos dobles en 4.23 y 4.00 ppm con $J = 16.0\text{ Hz}$ respectivamente, en 3.72 ppm se apreció un doblete correspondiente a los metilenos bencílicos con una $J = 14.0\text{ Hz}$, entre 3.99 y 3.91 ppm se observaron dos dobles de dobles colapsados como un multiplete pertenecientes al metileno unido al oxígeno, por último en 0.00 y -0.02 ppm se observaron dos singuletes pertenecientes a los metilos unidos al silicio. Por otra parte, el espectro de RMN ^{13}C mostró nuevas señales derivadas del carbonilo de cetona en 201.8 ppm y en 48.3 ppm del metileno unido al cloro.

10.1.5. Síntesis de (2*R*)-(*Z*)-*N,N*-dibencil-3-bencilimin-1-*ter*butildimetilsililoxi-4-clorobutan-2-amina (41)

La quinta etapa consistió en la síntesis de la imina **41** a partir de **40** en presencia bencilamina y TiCl₄ como catalizador en éter etílico seco, obteniéndose con un rendimiento del 95%, siendo igual a lo reportado por Concellón y col. en 2001 donde sintetizaron iminas a partir de clorocetonas derivadas de los aminoácidos de L-alanina, L-leucina y L-fenilalanina con rendimientos que fueron del 73 al 94%, así también se observó que esta clase de compuestos son térmicamente inestables los cuales se pueden hidrolizar fácilmente con ácidos por lo que sólo pueden almacenarse durante un tiempo limitado (sin disolventes, 24 h a -10 °C). Debido a esto se empleó directamente sin alguna purificación, siendo solo ser caracterizado por RMN.

En el espectro de RMN ¹H se apreció un multiplete para 15 hidrógenos derivado de la adición del anillo aromático de la imina, así también se mostraron dos dobletes, en 3.80 con *J* = 5.4 Hz y en 3.83 ppm con *J* = 3.7 Hz perteneciente a los hidrógenos bencílicos de la imina. Mientras que en el espectro de ¹³C se apreció la ausencia de la señal del carbonilo de la clorocetona y se mostró la presencia del carbono imínico en 165.76 ppm.

10.1.6. Síntesis de (2*S*,1'*R*)-1-becil-2-{1'-(dibenzilamino)-2'[(*ter*butildimetilsilil)oxi]etil}aziridina (42)

El último paso de reacción consistió en la formación del anillo de la aziridina para esto se hizo la reducción de la imina **41** empleando NaBH₄ para formar la amina y posteriormente se hizo reaccionar con MeLi en THF seco a 0 °C obteniéndose así **42** con un rendimiento del 80% siendo superior a lo reportado por Concellón y col. en

2001 para la síntesis de aziridinas a partir de iminas donde obtuvieron un 60% rendimiento y semejante a lo presentado por Ochoa en 2004 donde sintetizó el anillo de la aziridina a partir de la cloroimina a partir del aminoácido L-serina con un 86% de rendimiento.

Para la caracterización de la aziridina **42** solo se realizó por medio de RMN en una y dos dimensiones para asignación correcta de las señales, mostrándose así en espectro de HSQC las correlaciones a un enlace C-H de las nuevas señales procedentes de la formación del anillo de la aziridina, mientras que en el espectro de HMBC se observó la correlación del primer centro asimétrico a dos enlaces con el centro asimétrico de la aziridina y con el metileno unido al heteroátomo de oxígeno, mientras que a tres enlaces se observó la correlación con el metileno del anillo de la aziridina y con los metilenos bencílicos, gracias estos estudios permitiendo asignar las nuevas señales de un manera inequívoca en los espectros de ^1H y ^{13}C corroborando la obtención del compuesto **42**.

10.2 Evaluación de la actividad antibacteriana

El estudio de la actividad antibacteriana fue realizada empleando las metodologías de microdilución en caldo y Kirby-Bauer, donde se evaluaron los compuestos **38**, **39**, **40** y **42** frente a once cepas bacterianas, nueve Gram positivas y dos Gram negativas, de las cuales seis son aislados clínicos multirresistentes, donde los compuestos **38**, **39**, y **42** no mostraron actividad por el ensayo de microdilución en caldo los compuestos contra ninguna cepa a la máxima concentración evaluada, mientras que el compuesto **40** mostró actividad contra todas las cepas evaluadas, observandose CMI de 25 a 100 $\mu\text{g/mL}$ frente a las nueve bacterias Gram postivas de

las cuales seis de ellas son bacterias resistentes (*S. aureus* 05, *Streptococcus* grupo A 01, *S. aureus* 25923, SARM 43300, SARM-01, SARM-02, SARM-03, SARM-04, SARM-05), mientras que las CMI's de las bacterias Gram negativas (*E. coli* A011, *E. coli* 25922) fueron de 200 µg/mL, así también se observó que **40** presentó actividad bactericida contra *Streptococcus* grupo A 01, mientras que para las otras bacterias mostró actividad bacteriostática. Por otra parte, en los ensayos realizados empleando la metodología de Kirby-Bauer no se observó la actividad antibacteriana de ninguno de los compuestos a una concentración de 30 µg.

La evaluación **38**, **39**, **40** y **42** en este trabajo son empleados como precursores de otras moléculas (e.g. pirazoles, benzoxazoles, piperidinas, epóxidos) (Abdelgawad y col. 2021; Capua, M. y col., 2016). La clorocetona **40** presentó actividad contra todas las bacterias evaluadas en este estudio, siendo esto similar a lo reportado por Abdelgawad y col. 2021, en donde evaluaron la actividad antibacteriana y antifúngica de benzoxazoles siendo los derivados de clorocetonas los que mostraron actividad frente a las bacterias *S. aureus* 29213, SARM 33591 y *E. coli* 35218 a CMI's de 20 µg/mL y contra el hongo *Cryptococcus neoformans* con una IC₅₀ de 22.3 µM.

La actividad de **40** podría atribuirse a la presencia del grupo cloro, la cual puede generar alteraciones en la membrana permitiendo así la difusión del compuesto hacia el interior de la bacteria favoreciendo así la actividad contra bacterias Gram positivas esto según lo reportado por Rishikesan y col. en 2021 los cuales sintetizaron compuestos piperidinas unidas a tiazoles a los que les añadieron halógenos, sin embargo, es necesario realizar otros estudios (e.g. modelado molecular) para poder inferir el mecanismo de acción que presenta.

10.3. Bioensayo de toxicidad frente a *A. salina*

Durante la búsqueda de compuestos biológicamente activos, es necesario que los efectos tóxicos que estos puedan presentar sean bajos o nulos, por lo tanto, es necesario el uso de ensayos para determinar la toxicidad, en este sentido el modelo de *A. salina* es altamente empleado para determinar la toxicidad de manera general, permitiéndonos obtener la CL₅₀ del compuesto evaluado (Meyer y col., 1982; Solís y col., 1993).

El ensayo de *A. salina* mostró que el compuesto **40** presentó una CL₅₀ = 50 µg/mL lo cual es considerado como toxicidad elevada según lo estipulado por la escala de toxicidad de *A. salina*: elevada (0.1-100 µg/mL), moderada (100 - 300 µg/mL), baja (300 – 640 µg/mL), mínima (mayor a 640 µg/mL) (Sanabria-Galindo y Col 1997), si bien esta clase de ensayos nos permite evaluar de manera preliminar si los compuestos presentan o no toxicidad es necesario el uso de otros modelos para poder corroborar la toxicidad de **40**.

XI. CONCLUSIONES

11.1. Se sintetizó el éster metílico de serina con un rendimiento del 90% demostrándose así que el TMSCI puede ser utilizado como alternativa en la síntesis de aminoesteres donde se emplea SOCl_2 .

11.2. Los intermediarios sintetizados y la *N,N*-dibencilaziridina fueron caracterizados por FTIR-ATR, EM-IE y RMN además de obtenerse con rendimiento altos de 80-93%.

11.3. El compuesto 40 presentó actividad por microdilución en caldo frente a las 11 bacterias empleadas en este estudio, las cuales cinco de ellas son aislados clínicos Gram positivas multirresistentes (SARM-1, SARM-2, SARM-3, SARM-4, SARM-5) a una concentración de 25 $\mu\text{g/mL}$.

11.4 El biosensayo preliminar de *A. salina* para el compuesto 40 mostró una $\text{CL}_{50} = 50 \mu\text{g/mL}$ siendo está el doble de su CMI. En este sentido es pertinente realizar estudios de toxicidad in vitro con línea celular.

XII.PERSPECTIVAS DEL PROYECTO

1. Realizar el modelado molecular de la clorocetona.
2. Realizar ensayos de toxicidad celular de la clorocetona.
3. Realizar la desprotección de los grupos hidroxilo y amino de la *N,N*-dibencilaziridina.
4. Evaluar la actividad antibacteriana de los compuestos desprotegidos.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

Alcántar-Zavala, E., Hernández-Guevara, E., Ochoa-Terán, A., Montes-Ávila, J., Estrada-Zavala, E. A., Salazar-Medina, A. J., Alberto-Cabrera E. A., Aguirre, G., Miranda-Soto, V., Velazquez, C., Díaz-Camacho, S. P. y Medina-Franco, J. L. (2020). Novel Linezolid Analogues with Antiparasitic Activity against *Hymenolepis nana*. *Bioorganic Chemistry*, 105, 104359. doi:10.1016/j.bioorg.2020.104359

Bloomfield L. E., Coombs G. W., Tempone S., y Armstrong P.K. 2020. Marked increase in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections, Western Australia, 2004–2018. *Epidemiology and Infection*, 148, 1–19. doi: 10.1017/S0950268820000849

Bongioanni, A., Bueno, M. S., Mezzano B. A., Longhi, M. R y Garnero, C. (2022). Amino acids and its pharmaceutical applications: A mini review. *International Journal of Pharmaceutics*, 613, 121375. doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.121375.

Capua, M., Granito, C., Perrone, S., Salomone, A., y Troisi, L. (2016). Palladium-catalyzed carbonylative coupling of α -chloroketones with hydrazines: a simple route to pyrazolone derivatives. *Tetrahedron Letters*, 57(30), 3363-3367.

Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC). (2022). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022 – 2020 data. Recuperado de: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2022-2020-data>

Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). (2015). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-fifth Informational Supplement. CLSI document M100-S24. Wayne, P. A.: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Comisión Nacional de Arbitraje Médico (CONAMED). (2018). *Boletín acerca de frecuencia de infecciones*. México. 3 (17). Recuperado de http://www.conamed.gob.mx/gobmx/boletin/pdf/boletin17/frecuencia_infecciones.pdf

Concellón, J. M., Bernad, P. L., Riego, E., García-Granda, S., y Forcén-Acebal, Á. (2001). The First Synthesis of Enantiopure α -Amino Ketimines and Amino Aziridines. *The Journal of Organic Chemistry*, 66(8), 2764–2768. doi:10.1021/jo005741x

Concellón, J. M., Bernad, P. L., Riego, E., García-Granda, S., y Forcén-Acebal, Á. (2001). The First Synthesis of Enantiopure α -Amino Ketimines and Amino Aziridines. *The Journal of Organic Chemistry*, 66(8), 2764–2768. doi:10.1021/jo005741x

Concellón, J. M., Rivero, I. A., Rodríguez-Solla, H., Concellón, C., España, E., García-Granda, S., y Díaz, M. R. (2008). Totally selective synthesis of enantiopure (3*S*,5*S*)- and (3*R*,5*R*)-4-amino-3,5-dihydropiperidines from aminodiepoxides derived from serine. *The Journal of Organic Chemistry*, 73(15), 6048–6051. doi:10.1021/jo801058c

Concellón, J. M., Rodríguez-Solla, H., y Simal, C. (2008). Addition Reactions of Iodomethylithium to Imines. A Direct and Efficient Synthesis of Aziridines and Enantiopure Amino Aziridines. *Organic Letters*, 10(20), 4457–4460. doi:10.1021/ol801607r

- Chow A., Htun H. L., Hon, P. Y., Ang, B., Kanagasabai K., Koh, J., y Hsu L. Y. (2020). Comparative epidemiology and factors associated with major healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones among interconnected acute, intermediate- and long-term healthcare facilities in Singapore. *Clinical Microbiology and Infection*, 27(5), 785-e9. doi: 10.1016/j.cmi.2020.07.034
- D'hooghe, M., Ha, H.-J., y Macha, L. (2019). Deployment of Aziridines for the Synthesis of Alkaloids and Their Derivatives. *Synthesis*, 51(07), 1491–1515. doi:10.1055/s-0037-1611715
- Dadgostar P. (2019). Antimicrobial resistance: implications and costs. *Infection and drug resistance*, 12, 3903–3910. doi: 10.2147/IDR.S234610
- Dank, C., y Ielo, L. (2023). Recent advances in the accessibility, synthetic utility, and biological applications of aziridines. *Organic & Biomolecular Chemistry*. 21, 4553-4573. doi:10.1039/D3OB00424D
- Delost, M. D., y Njardarson, J. T. (2023). Synthesis of Oxiranes and Aziridines from Aldehydes and Imines Using Anionic Homologation Approaches. *Homologation Reactions: Reagents, Applications, and Mechanisms*, 2, 619-660. doi: 10.1002/9783527830237.ch17
- Guevara-Díaz, J. A., Maldonado, M. R., Valadez-Padilla, D. E., Muro-Díaz, R., y Palomares-Matsumoto, I., R. (2021). Resistencia bacteriana: organismos del grupo ESKAPE. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 41(3), 111-117. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=101461>

- Hernandez, J., Goycoolea, F., Quintero, J., Acosta, A., Castañeda, M., Dominguez, Z., Robles, R., Vazquez-Moreno, L., Velazquez, E., Astiazaran, H., Lugo, E., y Velazquez, C. (2007). Sonoran propolis: chemical composition and antiproliferative activity on cancer cell lines. *Planta Medica*, 73(14), 1469-1474. doi:10.1055/s-2007-990244
- Hoekstra, J. A. (1987). Acute bioassays with control mortality. *Water, Air, and Soil Pollution*, 35, 311-317.
- Kanyiva, K. S., Tane, M., y Shibata, T. (2019). Iodine-catalyzed synthesis of chiral 4-imidazolidinones using α -amino acid derivatives via dehydrogenative N-H/C(sp³)-H coupling. *The Journal of Organic Chemistry*, 84(20), 12773–12783. doi: 10.1021/acs.joc.9b01154
- Khan, R., Dogan, O. y Guven, K. (2020). N-Substituted aziridine-2-phosphonic acids and their antibacterial activities. *ORGANIC COMMUNICATIONS*, 13(2), 51–56. doi:10.25135/acg.oc.77.20.03.1594
- Kuzmič, S., Hrast, M., y Frlan, R. (2022). The Synthesis of (2*R*)-Aziridine-2-carboxylic Acid Containing Dipeptides. *Acta Chimica Slovenica*, 69(2). doi: 10.17344/acsi.2021.6673
- Lopardo, H. A. Antibióticos: clasificación, estructura, mecanismos de acción y resistencia. Recuperado de <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/103061>
- Macha, L., D'hooghe, M., y Ha, H. J. (2019). Deployment of aziridines for the synthesis of alkaloids and their derivatives. *Synthesis*, 51(07), 1491-1515. doi: 10.1055/s-0037-1611715

- Madhuswapnaja, K. J., Yennam, S., y Chavali, M. (2021). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Aziridynyl Quinone Derivatives. *Chemistry of Biologically Potent Natural Products and Synthetic Compounds*, 205–250. doi:10.1002/9781119640929.ch8
- Mahamad, T., y Yibrah, A. (2020). Synthesis and evaluation of antimicrobial activities of new piperidine derivatives. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 10(6), 7177-7186. doi: 10.33263/BRIAC106.71777186.
- Martínez-Leyva, K. M., y Zavala-Ayala, M. (2022). Infecciones asociadas a la atención de la salud. *TEPEXI Boletín Científico De La Escuela Superior Tepeji Del Río*, 9(17), 10-17. doi: 10.29057/estr.v9i17.7943
- Mejía, M. F. A., Arcos, O. V., y Villegas, J. A. A. (2020). Resistencia a antibióticos; una perspectiva. *Números*, 7(2), 67-72. Recuperado de: <https://rmi.diauaemex.com/index.php/numeros/ano-2019/julio-diciembre-2019/181-resistencia-a-antibioticos-una-perspectiva>
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. J., y McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Médica*, 45(05), 31-34.
- Michael, A. S., Thompson, C. G., y Abramovitz, M. (1956). *Artemia salina* as a test organism for bioassay. *Science*, 123(3194), 464-464.

Mukherjee, A., Ghosal, N. C., Zyryanov, G. V., Majee, A., y Santra, S. (2019). An Updated Library on the Synthesis of Aziridines. *Current Green Chemistry*, 06. doi:10.2174/2213346106666191024123452

Ochoa-Terán, A., (2004). Síntesis y aplicaciones de amino bisepóxidos quirales soportados en fase solida [Tesis de doctorado, Instituto Tecnológico de Tijuana].

Ordóñez, M., Lagunas-Rivera, S., Hernández-Núñez, E., y Labastida-Galván, V. (2010). Synthesis of syn- γ -Amino- β -hydroxyphosphonates by Reduction of β -Ketophosphonates Derived from L-Proline and L-Serine. *Molecules*, 15(3), 1291-1301. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules15031291>

Organización mundial de la Salud (OMS). (2017). La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. OMS. Disponible de: <https://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

Organización mundial de la Salud (OMS). (2019). New report calls for urgent action to avert antimicrobial resistance crisis. OMS. Recuperado de: <https://www.who.int/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>

Ortíz-Gil M. Á., Velazquez-Meza M. E., Echániz-Aviles G, Mora-Domínguez J. P., Carnalla-Barajas M. N., y Mendiola Del Moral E. L. 2020. Tracking methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in a hospital in Southern México. *Salud Publica de Mexico*. 62, 186-191. doi: 10.21149/10786

- Pace, V., Holzer, W., Verniest, G., Alcántara, A. R., y De Kimpe, N. (2013). Chemoselective Synthesis of N-Substituted α -Amino- α' -chloro Ketones via Chloromethylation of Glycine-Derived Weinreb Amides. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 355(5), 919–926. doi: 10.1002/adsc.201201043
- Pang, C., Luo, J., Liu, C., Wu, X., y Wang, D. (2018). Synthesis and Biological Evaluation of a Series of Novel Celastrol Derivatives with Amino Acid Chain. *Chemistry & Biodiversity*, 15(5), e1800059. doi: 10.1002/cbdv.201800059
- Pérez-Verea, L., Fernández-Ferrer, A., Olivera-Reyes, Y., Puig-Miranda, J., y Rodríguez-Méndez, A. (2019). Infecciones nosocomiales y resistencia antimicrobiana. *Revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias*, 18(1), 1-17. Recuperado de <http://www.revmie.sld.cu/index.php/mie/article/view/475>
- Reygaert W. C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS microbiology*, 4(3), 482–501. doi: 10.3934/microbiol.2018.3.482
- Riedel, S., Hobden, J.A., Miller, S., Morse, S. A., Mietzner T. A., Detrick, B., Mitchell, T. G., Sakanari, J. A., Hotez, P. y Mejia R. (2016). *Jawetz, Melnick & Adelberg Microbiología Médica*. D.F. México. McGRAW-HILL.
- Rostovskii, N. V., Koronotov, A. N., Sakharov, P. A., Agafonova, A. V., Novikov, M. S., Khlebnikov, A. F., y Kraeva, L. A. (2020). Azirine-containing dipeptides and depsipeptides: synthesis, transformations and antibacterial activity. *Organic & Biomolecular Chemistry*. doi:10.1039/d0ob02023k

Saghyan, A.S. & Langer, P. (2016). *Asymmetric synthesis of non-proteinogenic amino acids*.

Recuperado de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9783527804498>

Singh G. S. (2016). Synthetic Aziridines in Medicinal Chemistry: A Mini-Review. *Mini reviews*

in medicinal chemistry, 16(11), 892–904. doi:10.2174/1389557515666150709122244

Singh, G. S. (2019). Advances in synthesis and chemistry of aziridines. *Advances in*

Heterocyclic Chemistry. doi:10.1016/bs.aihch.2018.12.003

Singh, P., Manda, S. L. K., Samanta, K., y Panda, G. (2017). α -Amino acids with electrically

charged and polar uncharged side chains as chiral synthon: Application to the synthesis

of bioactive alkaloids (1996-Dec, 2013). *Tetrahedron*, 73(15), 1911–2008. doi:

10.1016/j.tet.2017.02.029

Sizar, O., y Unakal C. G. (2022). Bacterias Gram Positivas. Recuperado de:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470553/>

Solis, P. N., Wright, C. W., Anderson, M. M., Gupta, M. P., & Phillipson, J. D. (1993). A

microwell cytotoxicity assay using *Artemia salina* (brine shrimp). *Planta Médica*, 59(03),

250-252.

Sousa, C. E. A., y Alves, M. J. (2021). Synthesis of novel sugar derived aziridines, as starting

materials giving access to sugar amino acid derivatives. *Amino Acids*, 53(7), 1123–1134.

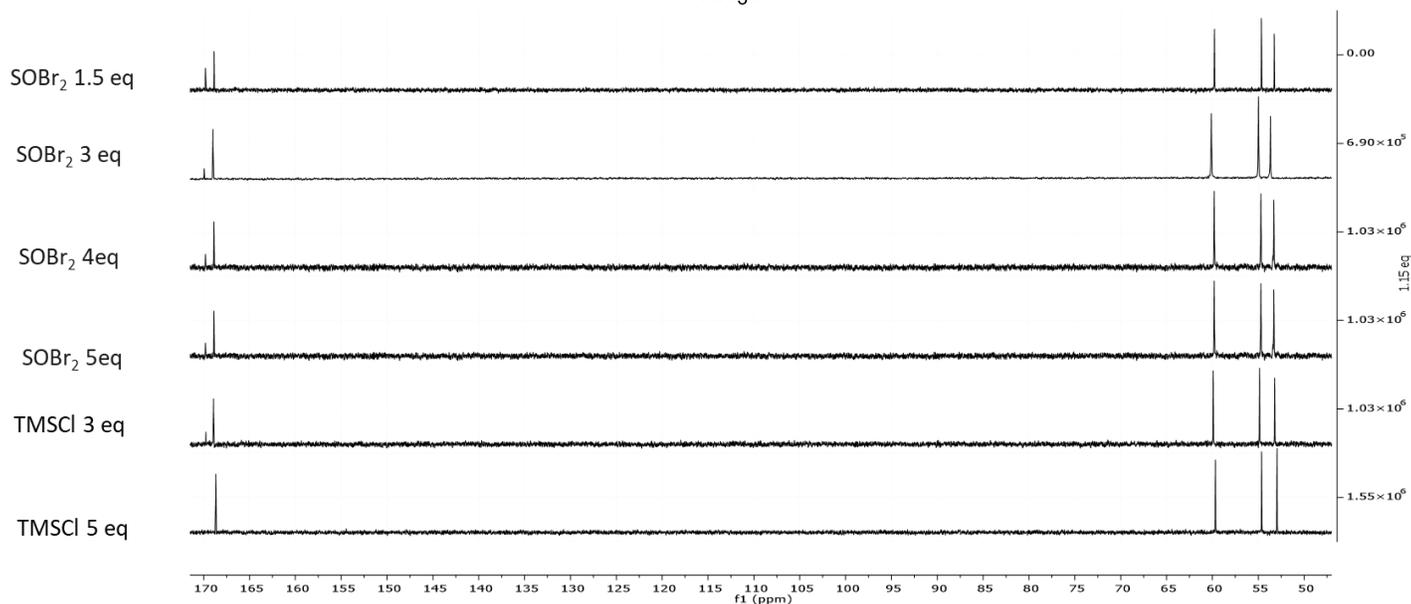
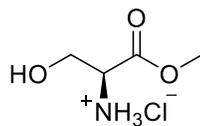
doi:10.1007/s00726-021-03017-4

Vanhaecke, P., y Persoone, G. (1981). Report on an intercalibration exercise on a short-term

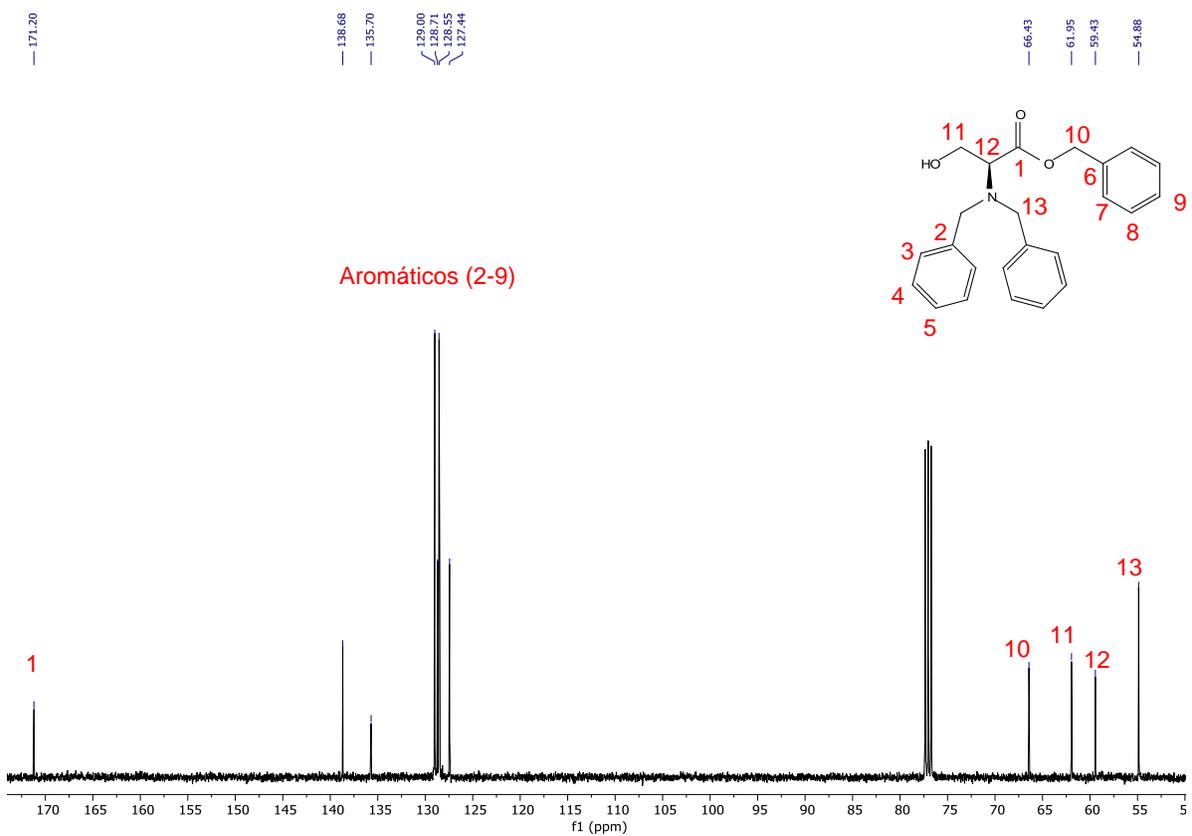
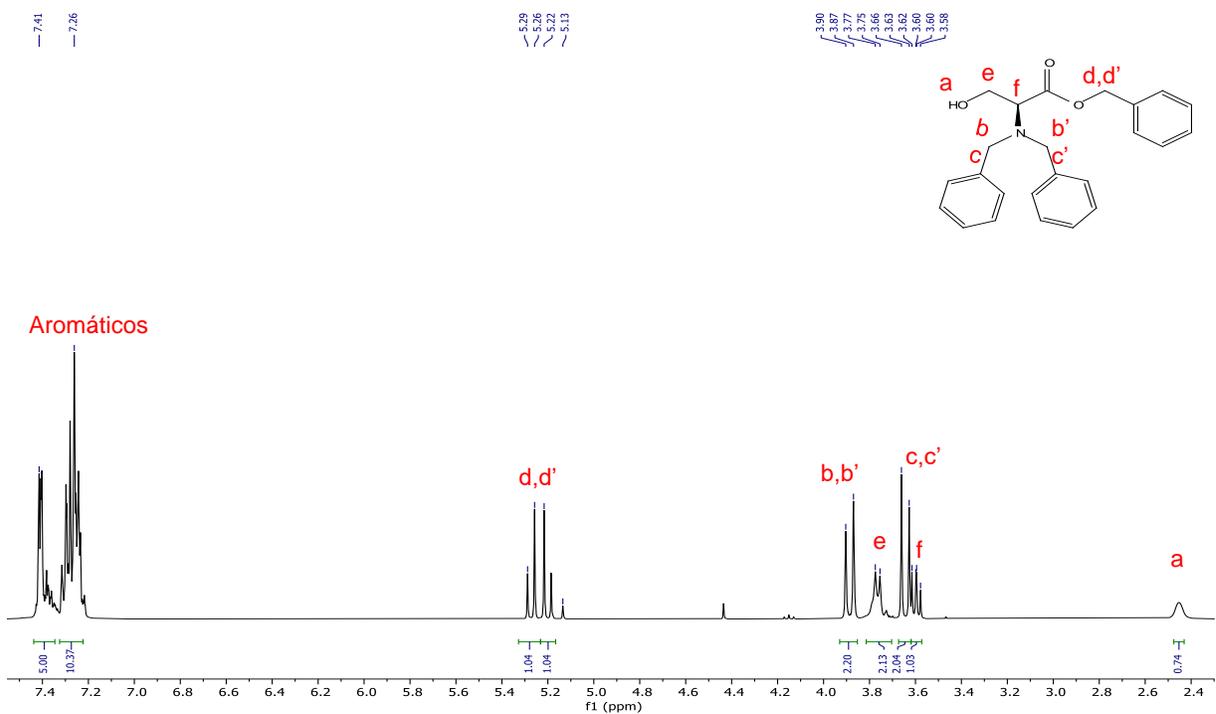
standard toxicity test with *Artemia nauplii* (ARC-test). *Inserm*, 106, 359-376.

Yamamoto, H., Ramakrishna, I. (2021). Synthesis of N-Unprotected α -Amino Acid Methyl Esters. *Synfacts*, 17(07), 0833. doi: 10.1055/s-0040-1706223

XIV. ANEXOS



Anexo 1. Comparación de espectros de RMN de ¹³C a diferentes concentraciones de SOBr₂ y TMSCl para la obtención del éster metílico de serina (37). Espectros de ¹³C a diferentes concentraciones para la formación del aminoéster empleando SOBr₂ y TMSCl.



Anexo 2. Espectro de RMN-¹H (A) y RMN-¹³C (B) de la L-serina tribencilada. Compuesto aislado durante la síntesis del aminoéster-dibencilado

XV. SIGLAS Y ABREVIACIONES

%M= Porcentaje de mortalidad

°C: Grados centígrados

µg: Microgramo

µL: Microlitro

µm: micrómetro

ADN: Ácido desoxirribonucleico

BnBr: Bromuro de bencilo

CDC: Centro de Control y Prevención de Enfermedades

CF₃: Trifluorometilo

CHCl₃: cloroformo

CL₅₀: Concentración letal media

cm: Centímetro

CMIs: Concentraciones mínimas inhibitorias

DCM: Diclorometano

DMSO: Dimetilsulfóxido

EM-IE: Espectrometría de masas por impacto electrónico

eq: Equivalentes

FBS: Suero fetal bovino

FT-IR: Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

g: Gramo

h: Horas

HMBC: Conectividad heteronuclear a enlaces múltiples

HSQC: Coherencia heteronuclear cuántica simple

LiCH₂Cl: Clorometilitio

LiClO₄: Perclorato de litio

LMm= larvas muertas en la muestra

LVc= larvas vivas en el control

M⁺: Ion molecular

MeCN: Acetonitrilo

MeLi: Metilitio

MHz: Mega Hertz

min: Minutos

mL: Mililitro

mm: Milímetro

Na₂SO₄: Sulfato de sodio

NaBH₄: Borhidruro de sodio

NaCl: Cloruro de sodio

NH₄Cl: Cloruro de amonio

nm: nanómetro

OMS: Organización Mundial de la Salud

p/v: Peso-volumen

ppm: Partes por millón

RMN ¹³C: Resonancia magnética nuclear de carbono

RMN ¹H: Resonancia magnética nuclear de hidrogeno

RMN: Resonancia magnética nuclear

SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

SOBr₂: Bromuro de tionilo

TBAF: Fluoruro de tetra-*n*-butilamonio

TBDMSCl: Tercbutildimetilsililo

TEA: Trietilamina

THF: Tetrahidrofurano

TMS: Trimetilsilano

TMSCl: Cloruro de trimetilsilano

TSA: Agar de tripticaseina y soya

UFC: Unidad formadora de colonia

uma: Unidad de masa atómica

VISA: *Staphylococcus aureus* con resistencia intermedia a vancomicina

VRSA: *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina