



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“SÍNTESIS DE NUEVOS DERIVADOS DE PIPERIDINONAS
CON POSIBLE POTENCIAL ANTIEPILÉPTICO”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

ALEJANDRO FARID AMÉZQUITA ESPINO

DIRIGIDA POR

Dr. RUBÉN ANTONIO ROMO MANCILLAS

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2026

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“SÍNTESIS DE NUEVOS DERIVADOS DE PIPERIDINONAS
CON POSIBLE POTENCIAL ANTIEPILÉPTICO”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

ALEJANDRO FARID AMÉZQUITA ESPINO

DIRIGIDA POR

Dr. RUBÉN ANTONIO ROMO MANCILLAS

SINODALES

Dr. RUBÉN ANTONIO ROMO MANCILLAS

DIRECTOR

M en C. JOSE MANUEL ALVAREZ BALTAZAR

SINODAL

Dr. GIOVANNY AGUILERA DURÁN

SINODAL

Dr. JOSÉ ALEJANDRO ARREDONDO GARCÍA

SINODAL

Dr. FRANCISCO JAVIER LUNA VÁZQUEZ

SINODAL

AGRADECIMIENTOS

- Profundamente agradecido con mi director de tesis y los integrantes de mi comité sinodal, que, con su orientación y observaciones, me brindaron las herramientas y conocimientos necesarios para culminar este trabajo.
- A todos los integrantes del grupo DACSiF, por recibirme con los brazos abiertos, compartir sus conocimientos y brindarme su apoyo a lo largo de todo este tiempo, sin su ayuda, nunca podría haber logrado ni aprendido tanto.
- A Manuel, por brindarme asesoramiento y motivarme tanto a no desistir a este trabajo, sin ti, nada de esto habría sido posible. Eternamente agradecido.
- A mi familia, por su apoyo incondicional que me permitió continuar con mis estudios y concluir esta etapa de mi formación profesional. Siempre estaré eternamente agradecido por todo lo que han hecho por mí.
- A todos los amigos que me acompañaron durante mi formación universitaria, y por hacer de esta etapa la más enriquecedora de mi vida, su presencia ha sido fundamental para mi desarrollo profesional y personal, tanto como para la realización de este trabajo.
- A las M. en C. Nayeli López Balbiaux y Rosa Isela del Villar Morales de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAI) de la Facultad de Química de la UNAM por las facilidades brindadas en la realización de los experimentos de Resonancia Magnética Nuclear.

DEDICATORIA

A MI FAMILIA... JULIA, OMAR Y ELÍAS... POR CADA ESFUERZO, CADA
SACRIFICIO Y CADA MUESTRA DE CONFIANZA QUE ME PERMITIÓ LOGRAR
TODO LO QUE HE HECHO HASTA HOY.

A MIS AMIGOS, DENÍ, KAROL, EMILY, ANGEL Y BETTY. POR LLENAR DE
COLOR ESOS DÍAS MÁS GRISES Y POR ACOMPAÑARME EN MIS MOMENTOS
MÁS BAJOS...

Y A MÍ MISMO, POR NO RENDIRME, POR APRENDER DE CADA TROPIEZO Y
POR CONTINUAR... SIN DAR MARCHA ATRÁS... HASTA CONCLUIR ESTA
ETAPA.

CON CARÍÑO, LES DEDICO ESTE LOGRO.

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE: Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

Atentamente:

Alejandro Farid Amézquita Espino

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
II.1 Generalidades de la epilepsia	3
II.2 Etiología de la enfermedad	4
II.3 Tipos de convulsiones	6
II.4 Tratamiento farmacológico para la epilepsia	6
II.5 Fármacos antiepilépticos (FAEs)	8
II.6 Levetiracetam	11
II.7 Síntesis de levetiracetam	12
II.8 Proteínas de vesículas sinápticas 2 (SV2)	14
II.9 Proteína de vesículas sinápticas 2 A (SV2A)	16
II.10 Antecedentes del grupo de trabajo	18
III. JUSTIFICACIÓN	22
IV. HIPÓTESIS	23
V. OBJETIVOS	23
VI. METODOLOGÍA	24
VI.1 Síntesis orgánica y caracterización química de las moléculas análogas del levetiracetam	24
VI.2 Estrategia sintética	25
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
VII.1 Síntesis y caracterización de las bases de Schiff	29
VII.2 Síntesis de los ácidos 1-aril-6-oxopiperidin-3-carboxílicos	30
VII.3 Activación del grupo carboxilo mediante 1,1'-carbonildiimidazol (CDI)	33
VII.4 Síntesis de las 1-aril-6-oxopiperidin-3-carboxamidas	33
VIII. CONCLUSIONES	38
IX. PERSPECTIVAS	39
X. BIBLIOGRAFÍA	40
XI. ANEXOS	46

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Clasificación de las crisis convulsivas.	7
2	Medicamentos anticonvulsivos en el mercado desde 1853 hasta 2019, divididos por generaciones	9
3	Dianas biológicas de los FAEs en el uso clínico	10
4	Docking score de las moléculas de referencia y las diseñadas para el presente trabajo.	20
5	Rendimientos de las bases de Schiff sintetizadas.	29
6	Rendimientos y punto de fusión de los ácidos carboxílicos sintetizados.	31
7	Rendimientos y parámetros físicos de las amidas sintetizadas.	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Etiologías de las epilepsias en una región europea rica en recursos	4
2	Distribución geográfica de México donde se realizaron estudios de prevalencia de epilepsia	5
3	Mecanismos de acción principales de los FAEs.	10
4	Estructura molecular de los principales racetams anticonvulsivos.	11
5	Ruta quimioenzimática para la obtención de levetiracetam	13
6	Síntesis por obtención sustentable de levetiracetam	14
7	Familia de proteínas SV2.	15
8	Diagrama de topología de SV2A.	17
9	Modelado del sitio activo de SV2A	17
10	Moléculas sintetizadas análogas del levetiracetam y su efecto anticonvulsivo en el modelo de Litio-pilocarpina	18
11	Base de piperidinona sobre la cual se realizará la síntesis de la serie AFAE01-AFAE05.	19
12	Diagrama de “huevo cocido” (SwissADME) de los cinco compuestos con mejor docking score.	21
13	Ruta de síntesis para la formación de AFAE-1 a AFAE-5	25
14	Esquema general de reacción para la obtención de las bases de Schiff (iminas) de los compuestos AFAE-1 a AFAE-5.	25
15	Esquema general de reacción para la obtención de los ácidos 1-aril-6-oxopiperidin-3-carboxílicos.	27
16	Activación del grupo carboxílico mediante CDI para la generación del intermediario imidazólico	27
17	Esquema general para la obtención de 1-aril-6-oxopiperidin-3-carboxamidas.	28
18	Comparación de los espectros de RMN de ^1H de las amidas AFAE-1, AFAE-3 y AFAE-4, registrados a 600 MHz en DMSO- d_6 .	36
A1	Mapas de interacción de los derivados con SV2A.	46

A2	Ruta sintética para la obtención de las bases de Schiff (iminas)	47
A3	Síntesis de ácidos mediante la Reacción de Castagnoli-Cushman	48
A4	Espectro de RMN de ^1H de AFAE-2..	49
A4.2	Espectro HSQC ^1H – ^{13}C correspondiente a AFAE-2.	50
A5	Activación carboxílica mediante 1,1'-Carbonildiimidazol	51
A6	Síntesis de las amidas mediante sustitución nucleofílica	52
A7.1	Espectro de RMN de ^1H de AFAE-1.	53
A7.2	Espectro HSQC ^1H – ^{13}C correspondiente a AFAE-1.	54
A7.3	Espectro de RMN de ^1H de AFAE-3.	55
A7.4	Espectro HSQC ^1H – ^{13}C correspondiente a AFAE-3.	56
A7.5	Espectro de RMN de ^1H de AFAE-4.	57
A7.6	Espectro HSQC ^1H – ^{13}C correspondiente a AFAE-2..	58
A8.1	Espectro predicho para el enantiómero S de AFAE-1	59
A8.2	Espectro predicho para el enantiómero R de AFAE-1	59

RESUMEN

La epilepsia es un trastorno neurológico que afecta del 0.5 % al 1.5 % de la población mundial, sin distinción de edad, sexo o condición social. Como tratamiento ante esta problemática de salud, se han desarrollado hasta la fecha tres generaciones de fármacos antiepilépticos; no obstante, no siempre se logra controlar por completo la enfermedad ni eliminar los efectos secundarios de la terapia, entre los que se encuentran alteraciones psiquiátricas, como irritabilidad y depresión; síntomas neurológicos, como somnolencia y ataxia; y, en algunos casos, reacciones de hipersensibilidad. Uno de los fármacos de primera línea es el levetiracetam (LEV), una molécula anticonvulsiva que presenta un mecanismo de acción diferente al de otros fármacos utilizados para tratar esta enfermedad. LEV interactúa con la proteína de la vesícula sináptica 2A (SV2A), modulando la liberación de neurotransmisores al espacio sináptico, lo que lo convierte en una opción eficaz para el tratamiento de la epilepsia. A pesar de ello, existen pacientes que no responden adecuadamente al tratamiento con LEV, por lo que resulta importante ampliar las opciones de fármacos antiepilépticos que tengan como blanco farmacológico a SV2A. Ante esta problemática, en el presente trabajo se llevó a cabo la síntesis orgánica de nuevos análogos estructurales del LEV, previamente diseñados por el grupo de investigación y seleccionados por presentar valores favorables de *docking score* con SV2A y un perfil ADME-Tox teórico adecuado. La estrategia sintética constó de la formación de bases de Schiff, seguida de una reacción de Castagnoli–Cushman para la obtención de los ácidos 1-aril-6-oxopiperidin-3-carboxílicos y su posterior transformación en las carboxamidas correspondientes mediante activación con 1,1'-carbonildiimidazol y reacción con amoníaco. Se obtuvieron las cinco bases de Schiff propuestas, cuatro derivados de ácido carboxílico y tres carboxamidas, correspondientes a AFAE-1, AFAE-3 y AFAE-4. Los productos obtenidos fueron analizados mediante resonancia magnética nuclear de protón y experimentos HSQC, cuyos resultados fueron compatibles con la transformación del grupo ácido carboxílico en carboxamida. En conjunto, los resultados permitieron establecer una metodología preliminar para la síntesis de esta serie de derivados de piperidinona; no obstante, es necesario ampliar su caracterización estructural y evaluar su actividad anticonvulsiva en estudios posteriores.

Palabras clave:

Epilepsia, Levetiracetam, SV2A, Síntesis orgánica, Caracterización química.

I. INTRODUCCIÓN

La epilepsia es un trastorno neurológico en donde ocurren, de manera recurrente, crisis convulsivas en cortos periodos de tiempo, debido a descargas eléctricas altas en las células cerebrales, afectando distintas zonas de la corteza cerebral, como el lóbulo temporal, frontal, parietal y occipital. Afecta entre el 0.5% y el 1.5% de la población mundial, sin hacer ninguna distinción. No obstante, se ha observado como los países desarrollados siguen una tendencia a mostrar una menor incidencia en la aparición de esta enfermedad, y su etiología en la mayor parte de los casos es desconocida; por otro lado, en los países en desarrollo se muestra una tendencia contraria en la aparición de esta enfermedad, donde la incidencia es mayor, y las principales causas son traumatismos craneoencefálicos o a infecciones parasitarias tales como cisticercosis. En México, alrededor de 2 millones de personas padecen de este trastorno, siendo el grupo más propenso a desarrollarlo los adultos mayores y los infantes.

La terapéutica actual recurre a los fármacos antiepilépticos (FAEs) para batallar contra esta enfermedad, pero a pesar de los esfuerzos por mitigar el trastorno, cerca del 20% de los pacientes desarrollan farmacorresistencia, por lo que esto lleva a la necesidad de desarrollar nuevas moléculas que sean más efectivas y generen menos efectos adversos.

El desarrollo de nuevos fármacos está estrechamente relacionado con la comprensión de la patología, así como de los mecanismos moleculares y vías de señalización involucradas en la aparición de la enfermedad. En la epilepsia, los canales iónicos dependientes de voltaje regulan la excitabilidad neuronal, y su disfunción puede generar descargas atípicas. Las vías glutamatérgicas, a través de los receptores NMDA y AMPA, promueven la excitación sináptica y, cuando están sobreactivadas, aumenta la hiperexcitabilidad neuronal. Por otra parte, las vías GABAérgicas median la inhibición neuronal mediante los receptores GABA_A y GABA_B; su deterioro reduce el control de la actividad eléctrica. Sumado a estas vías, las proteínas de la familia SV2 también participan en la regulación de la liberación de

neurotransmisores, principalmente SV2A; influyendo en el equilibrio entre excitación e inhibición. El entendimiento y modulación de estas dianas biológicas son cruciales para reducir la excitabilidad neuronal característica de este trastorno y prevenir la propagación de las convulsiones.

Un fármaco con un mecanismo de acción diferente a otros antiepilépticos es el Levetiracetam (LEV), un FAEs de segunda generación capaz de interactuar con las proteínas de la vesícula sináptica 2A (SV2A) para producir su efecto anticonvulsivo.

Resulta de gran importancia tomar al LEV como un punto de partida para realizar modificaciones estructurales con el fin de desarrollar nuevas moléculas con mayor afinidad a SV2A y que ayuden a resolver el problema de resistencia. Esta estrategia de optimización estructural se ha aplicado exitosamente en otros grupos de fármacos y se obtuvieron fármacos más eficaces, con mejores perfiles ADME-Tox y menor riesgo de interacciones. Por lo que también podría contribuir a reducir interacciones asociadas con inductores enzimáticos que disminuyen la eficacia terapéutica o con depresores del sistema nervioso central que potencian los efectos adversos.

El LEV también es un ejemplo de cómo la modificación racional puede conducir a moléculas con mejores propiedades farmacológicas. A partir de su núcleo de 2-pirrolidona y su función carboxamida, se han explorado modificaciones dirigidas a incrementar las interacciones con SV2A. Uno de los resultados más relevantes de este proceso fue el desarrollo de brivaracetam (BRV), donde se incorporó un grupo propilo en el anillo de pirrolidona, lo que aumentó su afinidad por SV2A en comparación con el LEV. Esto demostró que las modificaciones sobre el anillo lactámico pueden modificar la actividad de estos compuestos. Con base en este principio, en el presente trabajo se tomó al LEV como punto de partida para el diseño de la serie AFAE, conservando las funciones lactama (amida cíclica) y carboxamida, pero expandiendo el anillo de 5 miembros a un sistema de piperidinona de 6 miembros e incorporando sustituyentes de distinta naturaleza electrónica. Con el fin de explorar un nuevo espacio químico y analizar su influencia sobre la interacción con SV2A.

II. ANTECEDENTES

II.1 Generalidades de la epilepsia

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), así como con la Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE, por sus siglas en inglés), la epilepsia se define como una enfermedad cerebral crónica no transmisible, que afecta a cerca de 50 millones de personas alrededor del mundo, esta se puede identificar por la presencia de convulsiones recurrentes, los cuales son episodios breves de movimiento involuntario que pueden ser parciales (que involucran a una parte del cuerpo), o generalizadas (que involucran a todo el cuerpo), estas, por lo general, vienen acompañadas de una pérdida de la conciencia y del control de la motilidad intestinal (OMS, 2024). Las convulsiones provocadas por esta enfermedad son generadas por descargas eléctricas anormalmente altas de las células cerebrales en diferentes zonas de este, principalmente en el lóbulo temporal, frontal, parietal y occipital; así como una serie de interacciones entre diferentes células del cerebro y la periferia, como los astrocitos, la microglía, oligodendrocitos y células endoteliales de la barrera hematoencefálica. Pueden abarcar episodios muy breves de ausencia o de contracciones musculares hasta convulsiones prolongadas y graves. La frecuencia de aparición de estos episodios puede variar desde al menos una vez al año hasta varias al día. Puesto que hasta un 10% de la población mundial puede presentar una convulsión o más a lo largo de su vida, estas no necesariamente son un indicativo de epilepsia, por lo que una epilepsia bien catalogada se define por dos o más convulsiones no provocadas en un lapso no mayor a 24 horas entre los episodios (Fisher y col., 2017; OMS, 2024).

En países desarrollados, se ha calculado que cada año se diagnostican con epilepsia a 49 de cada 100 000 habitantes, mientras que en países de ingresos bajos o en vías de desarrollo las proporciones son mucho más altas, pudiendo llegar hasta 139 por cada 100 000 habitantes, esto debido a la existencia de un riesgo mayor de enfermedades endémicas como el paludismo o la neurocisticercosis, pero la mayor incidencia, sin lugar a duda, es debido a accidentes de tránsito, que provocan

traumatismos. Cerca del 80% de los pacientes diagnosticados con esta enfermedad viven en países de ingresos bajos y medianos (OMS, 2024).

II.2 Etiología de la enfermedad

La etiología de la epilepsia puede clasificarse en 6 categorías distintas: Estructural, genética, infecciosa, metabólica, inmunitaria y neurodegenerativa. Dichas clasificaciones no son mutuamente excluyentes y muchas caen en más de una categoría, como los factores genéticos, que probablemente desempeñan un papel, en diversos grados. Las causas infecciosas, en particular las infecciones parasitarias como la cisticercosis, son la causa de aproximadamente un tercio de todas las epilepsias activas, principalmente en países con pocos recursos. Mientras que, en países de recursos altos, como se observa en el gráfico de la Figura 1, las causas más comunes son fallas estructurales y causas desconocidas (Balestrini y col., 2021).

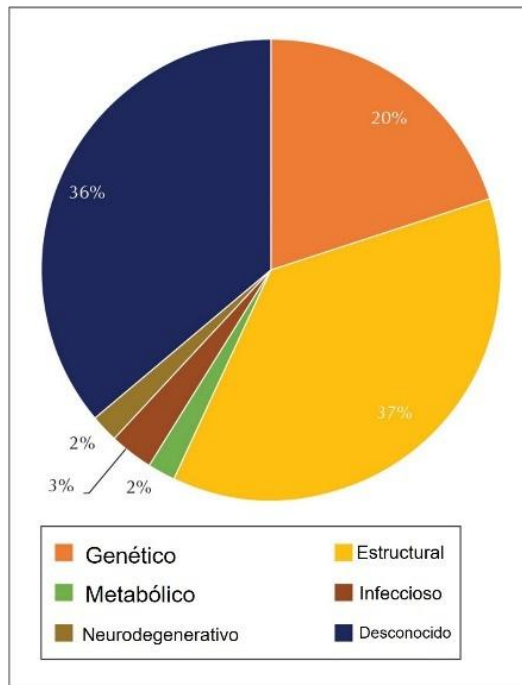


Figura 1. Etiologías de las epilepsias en una región europea rica en recursos (adaptado de Balestrini y col., 2021).

Por otra parte, en México, según estudios más recientes. Se ha encontrado una prevalencia de epilepsia, tanto en zonas urbanas como rurales, con un valor de 3.9 a 41 por cada 1000 habitantes para zonas rurales y 3.49 a 44.3 por cada 1000 habitantes en regiones urbanas. En la Figura 2 se observa como esta tendencia se ha mantenido durante las últimas 5 décadas y muestra índices más altos en comparación con los países más desarrollados del mundo. La etiología actual sigue asociando a la neurocisticercosis (NCC) como factor principal en el 17.3% de los estudios epidemiológicos del país, así como de otras regiones de Latino américa y el Caribe (LAC) (Pesqueira y col., 2023).



Figura 2. Distribución geográfica de México donde se realizaron estudios de prevalencia de epilepsia (adaptado de Pesqueira y col., 2023).

Cualquier lesión estructural que afecte la corteza cerebral puede producir convulsiones y epilepsia, no obstante, la semiología de las convulsiones dependerá de la localización de la lesión y no del tipo de lesión. Las lesiones estructurales que se asocian a la epilepsia focal (un tipo de epilepsia en la que las crisis epilépticas se originan en un área específica del cerebro, sin involucrar ambos hemisferios cerebrales desde el principio, como ocurre en la epilepsia generalizada) se pueden dividir en 6 categorías principales de enfermedades: esclerosis hipocampal, tumores

cerebrales, malformaciones del desarrollo cortical, malformaciones vasculares, cicatrización glial e inflamación cerebral (Balestrini y col., 2021).

II.3 Tipos de convulsiones

Las crisis epilépticas son el resultado clínico de una descarga brusca, anormal por su intensidad e hipersincronía, de un agregado neuronal del cerebro. Existe una clasificación internacional de las crisis epilépticas. La epilepsia puede causar diferentes crisis en el mismo paciente y cualquier tipo de crisis focal puede secundariamente generalizarse. Para poder diagnosticar epilepsia a partir de las crisis convulsivas, se requiere de al menos 2 convulsiones no provocadas en un lapso no mayor a 24 horas entre ambos episodios, no obstante, cuando una persona sufre la primera convulsión, hay un riesgo anormalmente alto de tener una segunda convulsión dentro de las próximas 24 horas. Los diferentes tipos de crisis epilépticas se mencionan a detalle en la Cuadro 1 (Scheffer y col., 2017).

Dentro de las diferentes crisis convulsivas que se pueden presentar en una persona con esta patología es la epilepsia del lóbulo temporal (ELT), un tipo de epilepsia focal que es la más frecuente y afecta a aproximadamente el 40% de los pacientes diagnosticados con esta enfermedad. Se caracteriza por presentar crisis convulsivas recurrentes, hiperexcitabilidad neuronal y pérdida selectiva de ciertas poblaciones neuronales en el hipocampo, la corteza entorrinal o la amígdala muchos años después de una lesión cerebral inicial que puede ser provocada por un estado epiléptico, encefalitis o convulsiones febriles (Henning y col., 2023).

II.4 Tratamiento farmacológico para la epilepsia

La elección de un tratamiento farmacológico se basa en la clasificación de las convulsiones, variables específicas del paciente, como su edad o trastornos médicos recurrentes y su estilo de vida, así como las características del fármaco. Las convulsiones de inicio focal suelen tratarse con una serie diferente de medicamentos que las convulsiones primarias generalizadas. En pacientes recién diagnosticados, se instituye monoterapia, con un solo agente, hasta que las convulsiones se controlen u ocurre toxicidad (Whalen, 2019).

Cuadro 1. Clasificación de las crisis convulsivas (adaptado de Scheffer y col.,2017).

Tipo de crisis	Descripción	Subtipos	Síntomas
Parciales (focales o localizadas)	Tienen origen en una región específica del cerebro y afectan solo a una parte del cuerpo o a una función en particular. Estas crisis pueden o no propagarse a otras áreas del cerebro. Este tipo de crisis puede propagarse a todo el cerebro (generalización secundaria). Es necesaria la localización precisa del foco epiléptico para poder dar un tratamiento.	<u>Crisis focales simples</u> : No existe ninguna alteración de la conciencia. <u>Crisis focales complejas</u> : Hay una alteración de la conciencia, así como comportamientos o movimientos automáticos.	<u>Focales simples</u> : Movimientos anormales en una parte del cuerpo, como alguna extremidad, así como la sensación constante de hormigueo y emociones repentinas. <u>Focales complejas</u> : Comportamientos repetitivos (como masticar, por ejemplo), desconexión del entorno, mirada fija y confusión postictal.
Generalizadas	Involucran ambos hemisferios cerebrales desde el inicio, afectando generalmente todo el cuerpo. Estas suelen requerir un tratamiento farmacológico específico y pueden ser desencadenadas por factores como la falta de sueño, estrés o estímulos visuales. La pérdida de la conciencia es común.	<u>Tónico-Clónicas (gran mal)</u> : Se presenta una fase tónica (rigidez muscular) seguida de una fase clónica (sacudidas rítmicas) <u>De ausencia (pequeño mal)</u> : Breves episodios de desconexión con el entorno, sin pérdida de tono postural. <u>Mioclónicas</u> : Sacudidas musculares breves y repentinas, pueden afectar todo el cuerpo o solo una parte. <u>Atónicas</u> : Pérdida repentina del tono muscular, lo que puede causar caídas.	<u>Tónico-Clónicas</u> : Hay una pérdida de conciencia, rigidez muscular seguida de movimientos sacádicos, mordedura de lengua e incontinencia urinaria. <u>De ausencia</u> : Hay episodios de mirada fija, parpadeo rápido, cese de actividad, sin respuesta, pero con un retorno rápido a la normalidad. <u>Mioclónicas</u> : Sacudidas musculares rápidas, breves, sin pérdida de la conciencia. <u>Atónicas</u> : Colapso repentino, cero actividad muscular, pero con recuperación rápida.
De inicio desconocido	No es posible determinar de manera inicial si son crisis focales o generalizadas, puede ser debido a la falta de información o a que la crisis ocurre sin testigos.	N/A	Pueden incluir características de crisis focales o generalizadas, pero no se pueden clasificar adecuadamente en el momento.

N/A: No aplica.

En comparación con quienes reciben tratamiento de combinación, los pacientes que reciben monoterapia exhiben mejor cumplimiento con el tratamiento y menos efectos secundarios. Si las convulsiones no se controlan con el primer medicamento, se debe considerar la monoterapia con un medicamento alternativo o la adición de otros medicamentos; y si esto no funciona, se debe llevar otro manejo médico, como la cirugía (Whalen, 2019). Las principales problemáticas presentadas en el tratamiento adecuado son la disponibilidad de los diferentes FAEs en el sector salud y los costos de los medicamentos, esto lleva a que los fármacos de primera elección sean fenobarbital, fenitoína, carbamazepina y valproato, para la región de LAC.

Mientras que en México algunos de los medicamentos adicionales a los antes mencionados son la gabapentina, oxycarbamazepina y topiramato (Patsalos y col., 2008).

II.5 Fármacos antiepilépticos (FAEs)

Los FAEs, anteriormente también denominados fármacos anticonvulsivos, son la principal forma de tratamiento sintomático de las personas diagnosticadas con epilepsia. En la actualidad se han aprobado alrededor de 30 FAEs, de los cuales la mayoría se aprobaron en los últimos 30 años. Casi todos se descubrieron por la demostración inicial de su actividad anticonvulsiva en modelos de convulsiones de roedores simples y clásicos, como las pruebas de electrochoque máximo y pentilentetrazol, que son altamente predictivos de la eficacia clínica en la epilepsia, pero no en la epilepsia resistente a fármacos (López-González, 2016).

Hasta la fecha, se han desarrollado tres generaciones de FAEs. La primera, introducida entre 1857 y 1969, mostró una alta eficacia inicial, pero con efectos secundarios significativos, como sedación, riesgo de teratogenicidad e interacciones medicamentosas, principalmente debido a la inducción enzimática de diversas isoformas del citocromo P450, lo que aceleraba el proceso de metabolismo de otros fármacos. La segunda generación, desarrollada entre 1970 y 1999, redujo drásticamente la aparición de efectos adversos y riesgos a la salud, incluyendo la introducción de fármacos con menos impacto en el metabolismo hepático, como el levetiracetam. Finalmente, la tercera generación comenzó a desarrollarse en la década de los 2000 con un enfoque más racional basado en dianas biológicas, lo que permitió una mayor especificidad en los mecanismos de acción y mejores perfiles farmacocinéticos. Dentro de esta generación se encuentra el brivaracetam, un análogo del levetiracetam con mayor afinidad por la proteína SV2A y un perfil de efectos adversos mejorado. En la Cuadro 2 se aprecia el año de introducción de fármacos que pertenecen a cada generación (Löscher y col., 2020).

Cuadro 2. Medicamentos anticonvulsivos en el mercado desde 1853 hasta 2019, divididos por generaciones (Alvarez-Baltazar, 2022; Löscher y col., 2020).

Primera generación (1857-1969)	Segunda generación (1970-1999)	Tercera generación (2000-Actualidad)
Bromo	Clordiazepoxido	Eslicarbacepina
Fenobarbital	Diazepam	Lacosamida
Acetazolamida	Carbamazepina	Retigabina
Trimetadiona	Valproato	Vigabatrina
Parametadiona	Clonazepam	Fosfenitoína
Pirimidona	Topiramato	Clobazam
Corticosteroides	Tiagabina	Perampanel
Fenitoína	Levetiracetam	Brivaracetam
Primidona	Pregabalina	Cannabidiol
Carbamazepina	Zonisamida	Everolimus
Ácido Valproico	Estiripentol	Oxacarbazepina
Etosuximida	Levetiracetam	

Los FAEs se administran crónicamente con la intención de prevenir la aparición de convulsiones epilépticas en una persona con epilepsia ya diagnosticada, el alivio sintomático de las convulsiones por este grupo de fármacos se produce a través de las interacciones con una variedad de dianas biológicas. Los principales blancos moleculares de estos fármacos se pueden dividir en 4 grandes grupos, los cuales se mencionan más detalladamente en la Cuadro 3 y sus mecanismos de acción resumidos se expresan en la Figura 3 (Löscher y col., 2020).

El resultado de las interacciones con estas dianas biológicas es una modificación de las propiedades de excitabilidad intrínseca de las neuronas y/o alterar la neurotransmisión inhibitoria o excitatoria rápida. Esto conlleva a una reducción de la probabilidad de ocurrencia de convulsiones al modificar las propiedades de ráfaga de las neuronas, es decir, su capacidad de generar descargas repetitivas de potenciales de acción en un corto período de tiempo, y reducir la sincronización en conjuntos neuronales localizados. Además, los FAEs inhiben la propagación de la activación anormal a sitios cerebrales adyacentes y distantes (Rogawski y col., 2016).

Cuadro 3. Dianas biológicas de los FAEs en el uso clínico (Löscher y col., 2020).

Canales iónicos dependientes de voltaje	
Canales de sodio dependientes de voltaje	Fenitoína, fosfenitoína, carbamazepina, etc.
Canales de calcio dependientes de voltaje (tipo T)	Etosuximida
Canales de potasio dependientes de voltaje (K _v 7)	Retigabina
Inhibición mediada por GABA	
Receptores GABA _A	Fenobarbital, primidona, estiripentol, benzodiazepinas, (incluyendo diazepam, lorazepam, midazolam y clonazepam), topiramato, etc.
Transportador de GABA (GAT1)	Tiagabina
GABA transaminasa	Vigabatrina
Ácido glutámico descarboxilasa	Valproato, gabapentina y pregabalina
Maquinaria de liberación presináptica	
SV2A	Levetiracetam y brivaracetam
Subunidad $\alpha_2\delta$ de los canales de calcio	Gabapentina y pregabalina
Receptores ionotrópicos de glutamato	
Receptor AMPA	Perampanel
Inhibición de la anhidrasa carbónica	Acetazolamida, topiramato, zonisamida y lacosamida
Específico de la enfermedad	
Señalización mTORC1	Everolimus
Reemplazo de enzimas lisosomales	Cerliponasa alfa
Mixto/desconocido	Valproato, felbamato, topiramato y zonisamida

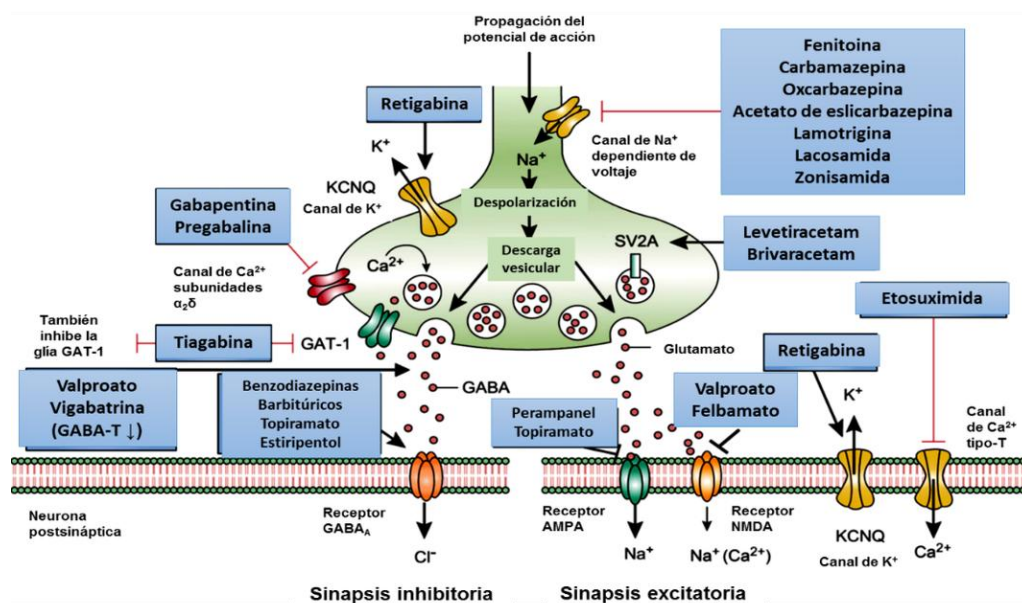


Figura 3. Mecanismos de acción principales de los FAEs. Las líneas sin punta indican una inhibición y las flechas indican una activación de la proteína (Imagen adaptada de (Chávez-Elías, 2018; Löscher y col., 2020)).

II.6 Levetiracetam

El levetiracetam ((2*S*)-2-(2-oxopirrolidin-1-il) butanamida, LEV) es un fármaco de tipo recetam de segunda generación y de primera línea de uso frecuente para las convulsiones en cuidados paliativos. Se trata de un derivado de pirrolidina, es el enantiómero (*S*) del compuesto racémico etiracetam, está indicado para las convulsiones causadas por lesiones cerebrales focales y, por lo tanto, para crisis convulsivas de inicio focal. Desde su aprobación en 1999 por la FDA se ha convertido en una de las terapias más exitosas de las nuevas clases de fármacos antiepilépticos (FAEs), principalmente para el tratamiento en adultos y niños. Dentro de sus características benéficas tenemos un potente efecto antiepiléptico, ausencia de efectos adversos graves y un bajo potencial de interacciones farmacológicas (Alrabiah, 2019).

El levetiracetam, así como su análogo estructural, el brivaracetam, mostrados en la Figura 4; son fármacos pertenecientes a la familia de los racetams, un grupo de fármacos estructuralmente diferentes a la mayoría de fármacos antiepilépticos, estos compuestos han demostrado sus actividades neuro protectoras y nootrópicas en diversos estudios, así como efectos secundarios mínimos, entre ellos incluidos mareos (52.8%), somnolencia (33.3%), fatiga (11.1%) y cefalea (8.3%) (Howard y col., 2018).

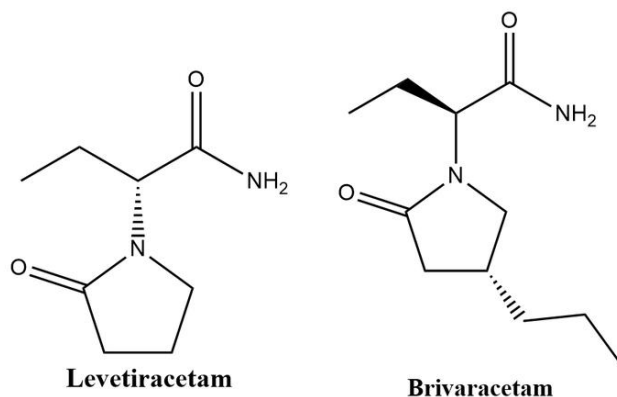


Figura 4. Estructura molecular de los principales racetams anticonvulsivos. Se trata de una lactama de 5 miembros unidos a la *n*-butanamida en posición 1 en el caso de LEV, y se aprecia una estructura de *n*-propilo en el carbono 4 del brivaracetam.

El levetiracetam, a diferencia de otros FAEs, se une a la proteína de la vesícula sináptica SV2A, oponiéndose a la actividad de los moduladores negativos de las corrientes reguladas por GABA y glicina, lo que interfiere con la liberación del neurotransmisor almacenado dentro de la vesícula. Accede a ella después de la liberación del neurotransmisor a medida que se reciclan las vesículas. Por lo tanto, se acumula selectivamente en las neuronas que se activan rápidamente y las inhibe. El levetiracetam también inhibe los canales de potasio y calcio de tipo N (Howard y col., 2018).

LEV posee propiedades ADME-Tox aceptables, con una absorción rápida y completa, una alta biodisponibilidad oral y un metabolismo mínimo que se caracteriza por la hidrólisis del grupo acetamida y su eliminación es principalmente por vía renal. Carece de potencial inductor de isoenzimas del citocromo P450 y no se asocia con interacciones medicamentosas clínicamente significativas con otros fármacos, entre ellos incluidos otros tipos de FAEs (Wright y col., 2013). A pesar de esto, aproximadamente un 20% de los pacientes desarrollan resistencia a su efecto terapéutico, el cual se ha relacionado con alteraciones en la expresión o función de SV2A. Esto puede llevar a reducir la capacidad del LEV para modular la liberación sináptica de neurotransmisores, disminuyendo su efecto anticonvulsivo. Además, cambios en la homeostasis neuronal y en la plasticidad sináptica pueden contribuir a la falta de respuesta en algunos pacientes (Rodríguez & Guevara-Hernández, 2010; Vavoulis y col., 2019).

II.7 Síntesis de levetiracetam

Se ha demostrado que la fracción amida, así como la cadena alifática C4 son esenciales para la actividad farmacológica del brivaracetam. Además, el centro asimétrico en la cadena de la posición 1 debe tener una configuración absoluta (S) y la pirrolidinona es preferible a la piperazina o los derivados *N*-alifáticos. Sin embargo, muchos de estos procesos son largos, requieren un exceso de productos químicos y disolventes que suelen provocar la pérdida de material y el uso de reactivos peligrosos. También pueden implicar temperaturas extremas (de -78 a 200 °C),

pasos de protección/desprotección y la necesidad de separación cromatográfica o resolución química, lo que da lugar a procesos de baja eficiencia desde el punto de vista económico y medioambiental (de Freitas Milagre y col., 2022).

Hoy en día, las alternativas catalíticas complementarias a los reactivos estequiométricos para las transformaciones químicas, como las estrategias sintéticas quimioenzimáticas, son maduras y ampliamente adoptadas en la fabricación industrial de ingredientes farmacéuticos activos, con el objetivo de hacer que la síntesis orgánica sea más ecológica. En el ámbito comercial, el levetiracetam se produce actualmente mediante un proceso quimioenzimático, donde el paso biocatalítico corresponde a la resolución cinética de un 2-pirrolidinonilnitrilo racémico catalizado por una nitrilo hidratasa diseñada (exceso enantiomérico del 94%, rendimiento del 43%), seguido de un enriquecimiento enantiomérico (>99%) mediante recristalización y reciclaje del enantiómero (R) no deseado mediante racemización mediada por bases (de Freitas Milagre y col., 2022).

Para la síntesis industrial de este API (*Active Pharmaceutical Ingredient*, o principio activo farmacéutico), se han propuesto 2 rutas, una quimioenzimática (Figura 5) y otra con química orgánica sustentable (Figura 6) (Tucker, 2009).

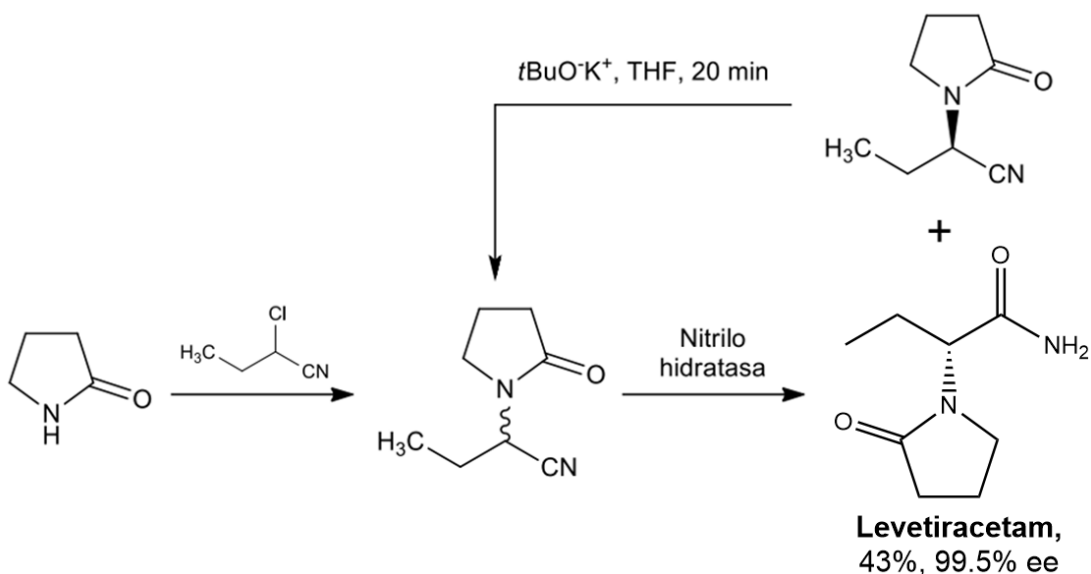


Figura 5. Ruta quimioenzimática para la obtención de levetiracetam (Tucker, 2009).

En esta primera ruta, se parte de la pirrolidona y el 2-clorobutanonitrilo, los cuales reaccionan para dar el 2-(2-oxopirrolidin-1-il) butanonitrilo. Éste se resuelve mediante la enzima nitrilo hidratasa (EC 4.2.1.84) (provenientes de microorganismos de los géneros *Rhodococcus* y *Agrobacter*). Después de purificado, se da un rendimiento del 43% y un alto grado de pureza enantiomérica, mientras que el isómero R se recicla por racemización en medio básico aumentando el rendimiento final del procedimiento (Tucker, 2009).

En la Figura 6 se observa la segunda ruta sintética para la obtención del levetiracetam por química verde o química sustentable, en este caso se realiza una condensación de la butirolactona con (S)-2-aminobutanol sin disolvente, esto aumenta la sustentabilidad del proceso. El resultado es una pirrolidona que actúa como grupo protector ante la oxidación catalítica del alcohol para obtener el ácido y posteriormente su amidación para obtener el fármaco (Mylavarapu y col., 2010; Neelakandan & Chavan, 2013).

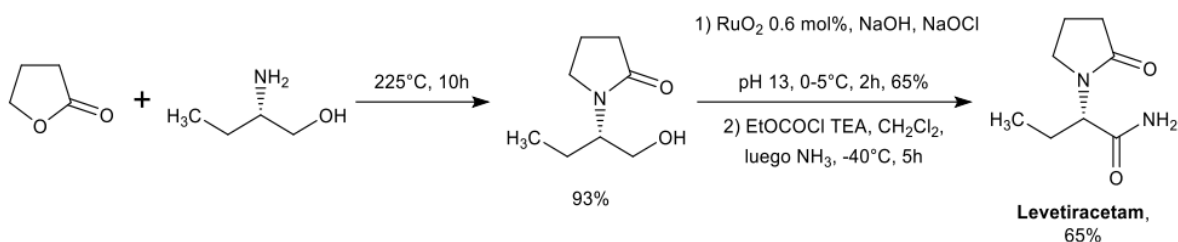


Figura 6. Síntesis por obtención sustentable de levetiracetam (Mylavarapu y col., 2010; Neelakandan & Chavan, 2013).

II.8 Proteínas de vesículas sinápticas 2 (SV2)

La familia de proteínas SV2 desempeña un papel fundamental en la regulación de la secreción de vesículas tanto en neuronas como en células endócrinas. La conservación significativa de SV2 en especies eucariotas subraya su importancia en la regulación de la dinámica vesicular (Bavarsad & Grinberg, 2024). Las SV2 tienen 12 dominios transmembranales, con una gran cantidad de *N*-glicosilaciones en el

bucle intraluminal entre los dominios transmembrana 7 y 8. Esta familia de proteínas comparte aproximadamente el 60% de sus secuencias, especialmente alrededor de las regiones transmembranales y C-terminal. Aunque los bucles luminales difieren entre las proteínas SV2, siempre contienen al menos tres sitios de *N*-glicosilación y presentan una estructura repetida de aminoácidos hidrofóbicos. La familia SV2 se conserva bien entre los vertebrados, pero no se ha encontrado ninguna isoforma en invertebrados. Sin embargo, las proteínas SV2 exhiben una topología relacionada con otras proteínas transportadoras, ya que sus primeros seis dominios transmembranales son homólogos a la superfamilia de facilitadores principales (MFS), a la que pertenece el transportador de glucosa humano, mientras que los otros seis están más cerca de los transportadores de neurotransmisores (Bartholome y col., 2017).

Entre las tres isoformas de la proteína SV2, SV2A se destaca como la variante predominante, exhibiendo una expresión generalizada en todas las estructuras de materia gris. Por otro lado, SV2B se encuentra en regiones neocorticales y el hipocampo, y SV2C se localiza exclusivamente en regiones subcorticales como el cuerpo estriado, pálido, mesencéfalo, tronco encefálico, sustancia negra y bulbo olfatorio. En la Figura 7 se observa un esquema detallado de las isoformas de esta familia de proteínas (Bavarsad & Grinberg, 2024).

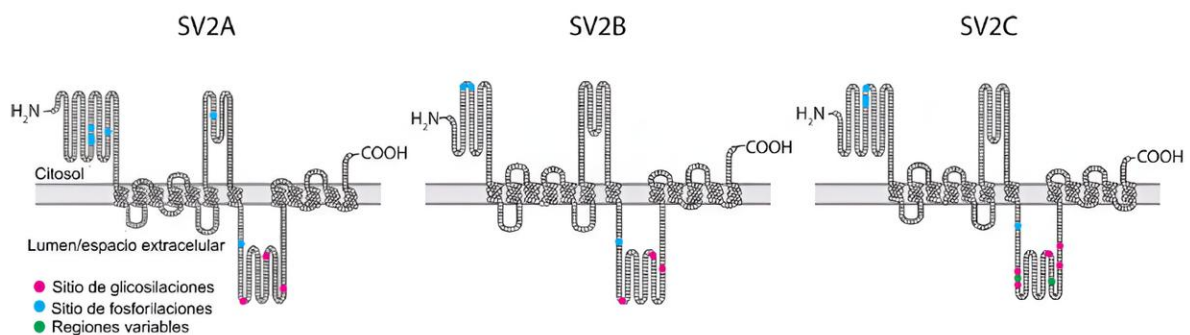


Figura 7. Familia de proteínas SV2. Las regiones N-terminales son las más variables entre las 3 proteínas. (adaptado de Stout y col., 2019).

La mayoría de los estudios sobre la localización de SV2 en el cerebro se realizaron en ratas y aún no se ha logrado un mapeo completo en el cerebro humano. SV2A es la única diana de unión al LEV y BRV, y en la actualidad es el único objetivo farmacológico anticonvulsivo en las vesículas sinápticas (Yao y col., 2010).

II.9 Proteína de vesículas sinápticas 2 A (SV2A)

La proteína SV2A pesa alrededor de 83 kDa, conformada por 742 aminoácidos. Su estructura no había podido ser resuelta hasta abril de 2024, donde se han reportado 12 dominios transmembranales con estructura de α -hélices, un dominio intraluminal el cual contiene 3 sitios de glicosilación (N498, N548 y N573); una región amino terminal relativamente larga con un sitio de unión a SYT-1 más una unión a ATP (la T84 está involucrada en la interacción entre SV2A y el dominio C2B de la SYT-1) y un asa grande entre los dominios transmembranales 6-7 con otra región de unión a ATP en la región citoplasmática. Esta proteína es el sitio de unión al LEV y dicha interacción está implicada en su mecanismo de acción. En la Figura 8 se observa un mapa de la topología de SV2A (Correa-Basurto y col., 2015; Yamagata y col., 2024)

El gen que codifica a SV2A se encuentra en los cromosomas 1 (1q21.2), 2 (2q34) y 3 (3qF2.1) en humanos, ratas y ratones, respectivamente. Su bucle intraluminal, donde contiene los sitios de glicosilación sirve también como sitio de unión para las neurotoxinas botulínicas (BoNT/A y BoNT/E) que inhiben la liberación de neurotransmisores desde los terminales de los axones (Lee, y otros, 2015). Por otra parte, el modelado estructural de la proteína, mostrado en la Figura 9, permite identificar las principales interacciones que existen entre la proteína y sus principales ligandos de interés: LEV y BRV. Estas interacciones son hidrofóbicas y de puentes de hidrógeno, siendo los principales residuos que presentan estas interacciones la W666, D670, Y462, y W300 (Correa-Basurto y col., 2015; Shi y col., 2011).

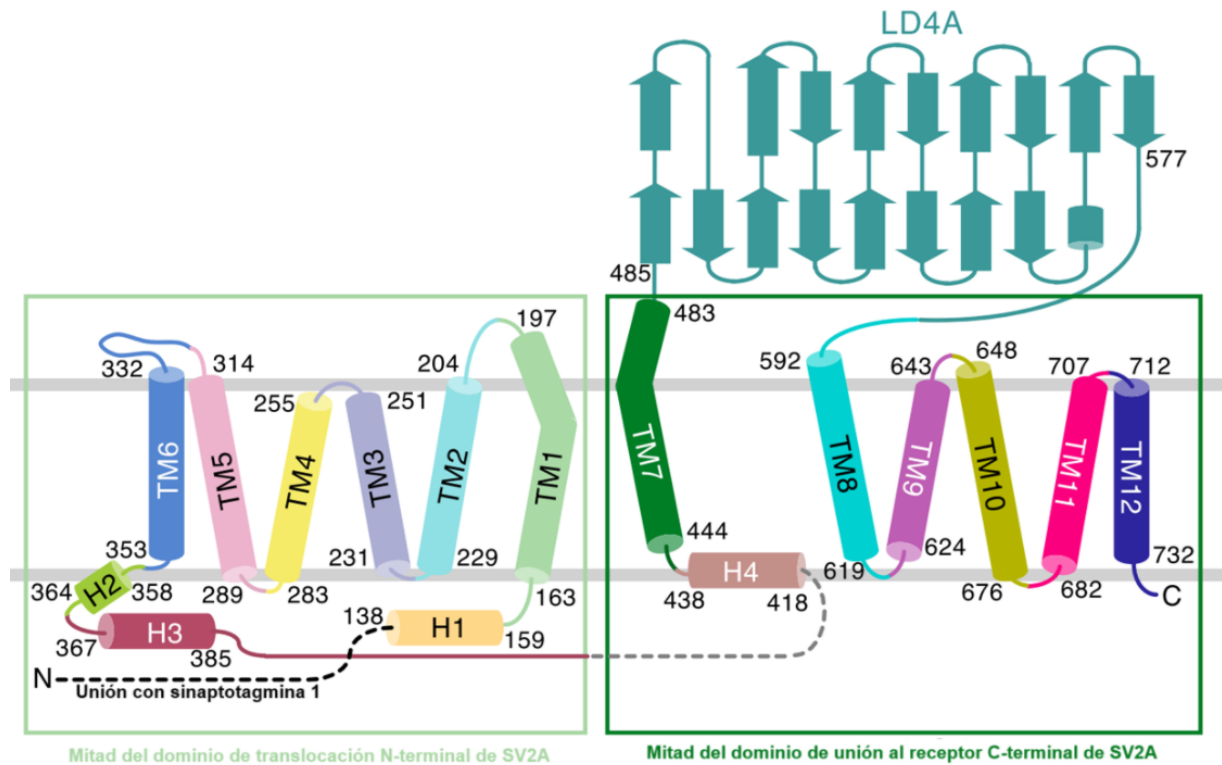


Figura 8. Diagrama de topología de SV2A. El comienzo y el final de cada elemento de la estructura secundaria están numerados (adaptado de Yamagata y col., 2024).

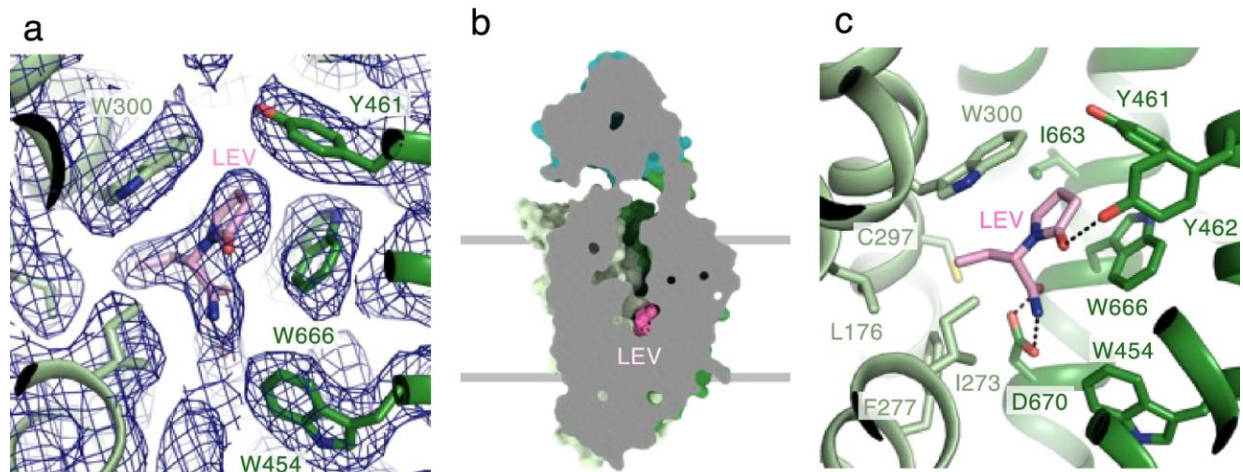


Figura 9. Modelado del sitio activo de SV2A. (a) Mapa de criomicroscopía electrónica del sitio de unión a LEV. (b) Representación de la superficie en corte de SV2A en complejo con LEV. (c) Vista en primer plano del sitio de unión a LEV (tomado de Yamagata y col., 2024).

II.10 Antecedentes del grupo de trabajo

En el grupo de trabajo de Diseño Asistido por Computadora y Síntesis de Fármacos de la Facultad de Química en la Universidad Autónoma de Querétaro (DACSIF-UAQ), se realizaron estudios basados en ligando, con el fin de generar moléculas análogas a los racetams y proponer nuevas estructuras para candidatos a compuestos líder. Se analizaron 89 compuestos análogos a LEV para construir un nuevo modelo. Con esto, se lograron diseñar más de 300 nuevas estructuras que presentaban el anillo de pirrolidona (Chávez-Elías, 2018).

En el estudio realizado por Chávez-Elías en 2018, se lograron sintetizar 2 moléculas análogas del levetiracetam (AFCE-01 y AFCE-03), donde AFCE-01 presentó actividad anticonvulsiva muy similar al LEV, además de que se incrementó el tiempo de latencia para el desarrollo de crisis convulsivas por el modelo de crisis inducidas por litio-pilocarpina; los resultados de este estudio se observan en la Figura 10. Esto significó una probabilidad más alta de que las moléculas análogas a LEV presenten actividad anticonvulsiva (Chávez-Elías, 2018).

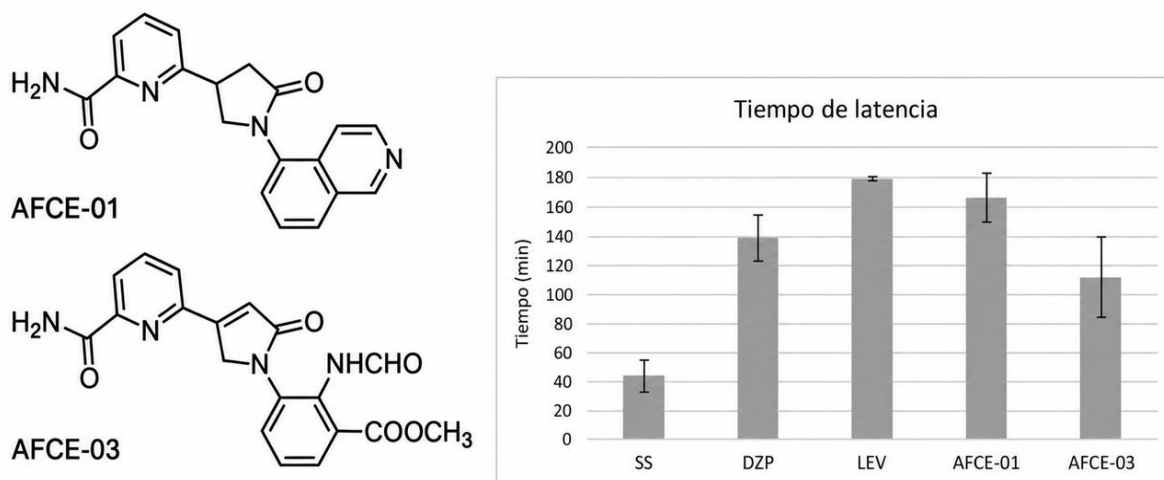


Figura 10. Moléculas sintetizadas análogas del levetiracetam y su efecto anticonvulsivo en el modelo de Litio-pilocarpina (adaptado de Chávez-Elías, 2018).

Sumado a esto, el estudio realizado por Alvarez-Baltazar en 2022 continuó trabajando con análogos del LEV. Creando un modelado por homología de SV2A, después, se realizó un *docking* consenso y posterior a esto la creación de una nueva generación de moléculas. Se consideró la predicción de las propiedades fisicoquímicas ideales haciendo uso de SwissADME, y con ello, se eligieron 8 nuevas moléculas con un *docking score* similar a LEV y se sintetizaron (Alvarez-Baltazar, 2022).

Posterior al trabajo de Alvarez-Baltazar en 2022, se propuso ampliar el anillo de pirrolidona por un anillo de piperidinona, se diseñaron 5 moléculas nuevas (AFAE-01/AFAE-05) y se hicieron modificaciones estructurales basadas en el diseño racional, generando un total de 30 moléculas. Se realizó un *docking* de las 5 mejores moléculas estudiadas por Alvarez-Baltazar, las 3 moléculas de Chavez-Elías, las 3 moléculas de referencia y las nuevas moléculas previamente diseñadas. Los resultados de docking score se muestran en la Tabla 4.

Tomando en cuenta los resultados de *docking score*, se seleccionaron las mejores moléculas para llevar a cabo su síntesis. Las estructuras seleccionadas presentan un grupo amida en posición 4 de la base de piperidinona. La estructura base se puede apreciar en la Figura 11.

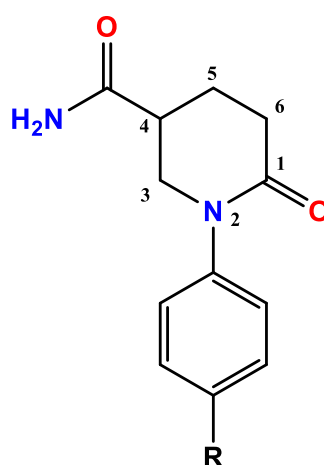


Figura 11. Base de piperidinona sobre la cual se realizará la síntesis de la serie AFAE01-AFAE05.

Cuadro 4. *Docking score* de las moléculas de referencia y las diseñadas para el presente trabajo.

Clave Docking	R ₁	R ₂	n	Docking score (kcal/mol)
SV2A_C1-JMAB-02-B2	benzotiazol-5-il	n-Pr	0	-7.60
SV2A_C1-JMAB-02-D2	indol-4-il	n-Pr	0	-7.49
SV2A_C1-JMAB-02-E2	1 <i>H</i> -indazol-4-il	n-Pr	0	-7.43
SV2A_C1-JMAB-02-A2	1 <i>H</i> -benzimidazol-7-il	n-Pr	0	-7.41
SV2A_C1-JMAB-02-C1	isoquinolin-5-il	H	0	-7.36
SV2A_C1-JMAB-02-C2	isoquinolin-5-il	n-Pr	0	-7.26
SV2A_C1-BRV	brivaracetam		0	-7.10
SV2A_C1-JMAB-02-B1	benzotiazol-5-il	H	0	-7.10
SV2A_C1-JMAB-02-E1	1 <i>H</i> -indazol-4-il	H	0	-6.67
SV2A_C1-JMAB-02-D1	indol-4-il	H	0	-6.61
SV2A_C1-PAD	padsenovil		0	-6.61
SV2A_C1-JMAB-02-A1	1 <i>H</i> -bencimidazol-4-il	H	0	-6.58
SV2A_C1-LEV	2-butanamida	H	0	-6.40
SV2A_C1-AFCE-02-03	benzotiazol-5-il	4-(aminocarbonil)piridin-2-il	0	-6.25
SV2A_C1-AFCE-02-02	1 <i>H</i> -benzimidazol-4(7)-il	4-(aminocarbonil) piridin-2-il	0	-5.43
SV2A_C1-AFCE-02-01	Isoquinolin-5-il	4-(aminocarbonil) piridin-2-il	0	-5.27
SV2A_C1-AFAE_01_04S*	H	-CONH ₂	1	-8.56
SV2A_C1-AFAE_01_02S*	Cl	-CONH ₂	1	-8.50
SV2A_C1-AFAE_01_01R*	OMe	-CONH ₂	1	-8.16
SV2A_C1-AFAE_01_03R*	Me	-CONH ₂	1	-7.77
SV2A_C1-AFAE_01_05R*	NO ₂	-CONH ₂	1	-7.72
SV2A_C1-AFAE_01_02R	Cl	-CONH ₂	1	-7.90
SV2A_C1-AFAE_01_03S	Me	-CONH ₂	1	-7.72
SV2A_C1-AFAE_01_04R	H	-CONH ₂	1	-7.66
SV2A_C1-AFAE_01_14S	H	1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il	1	-7.56
SV2A_C1-AFAE_01_01S	OMe	-CONH ₂	1	-7.56
SV2A_C1-AFAE_01_15R	NO ₂	1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il	1	-7.55
SV2A_C1-AFAE_01_14S_2	H	1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il	1	-7.42
SV2A_C1-AFAE_01_05S	NO ₂	-CONH ₂	1	-7.41
SV2A_C1-AFAE_01_13S	Me	1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il	1	-7.05
SV2A_C1-AFAE_01_14R_2	H	1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il	1	-6.95
SV2A_C1-AFAE_01_12S	Cl	1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il	1	-6.86
SV2A_C1-AFAE_01_15S	NO ₂	1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il	1	-6.51
SV2A_C1-AFAE_01_11R	Ome	1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il	1	-5.86
SV2A_C1-AFAE_01_13R_2	Me	1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il	1	-5.74
SV2A_C1-AFAE_01_12R_2	Cl	1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il	1	-5.37
SV2A_C1-AFAE_01_13S_2	Me	1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il	1	-5.26
SV2A_C1-AFAE_01_11S	OMe	1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il	1	-5.2
SV2A_C1-AFAE_01_15R_2	NO ₂	1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il	1	-5.17
SV2A_C1-AFAE_01_12S_2	Cl	1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il	1	-4.92
SV2A_C1-AFAE_01_15S_2	NO ₂	1 <i>H</i> -benzimidazol-2-il	1	-4.51

*: Mejores 5 puntuaciones *Docking score*.

En función de los resultados obtenidos en la Cuadro 4, los análogos AFAE01_01-04S, AFAE01_01-02S, AFAE01_01-03R, AFAE01_01-05R y AFAE01_01-01R mostraron los mejores valores de *docking score*, se evaluaron sus propiedades farmacocinéticas y de penetración de barrera hematoencefálica empleando el diagrama de “huevo cocido” de SwissADME. La Figura 12 muestra la distribución de cada uno de estos cinco derivados en el espacio de permeabilidad intestinal pasiva (área blanca) y permeabilidad al sistema nervioso central (área amarilla).

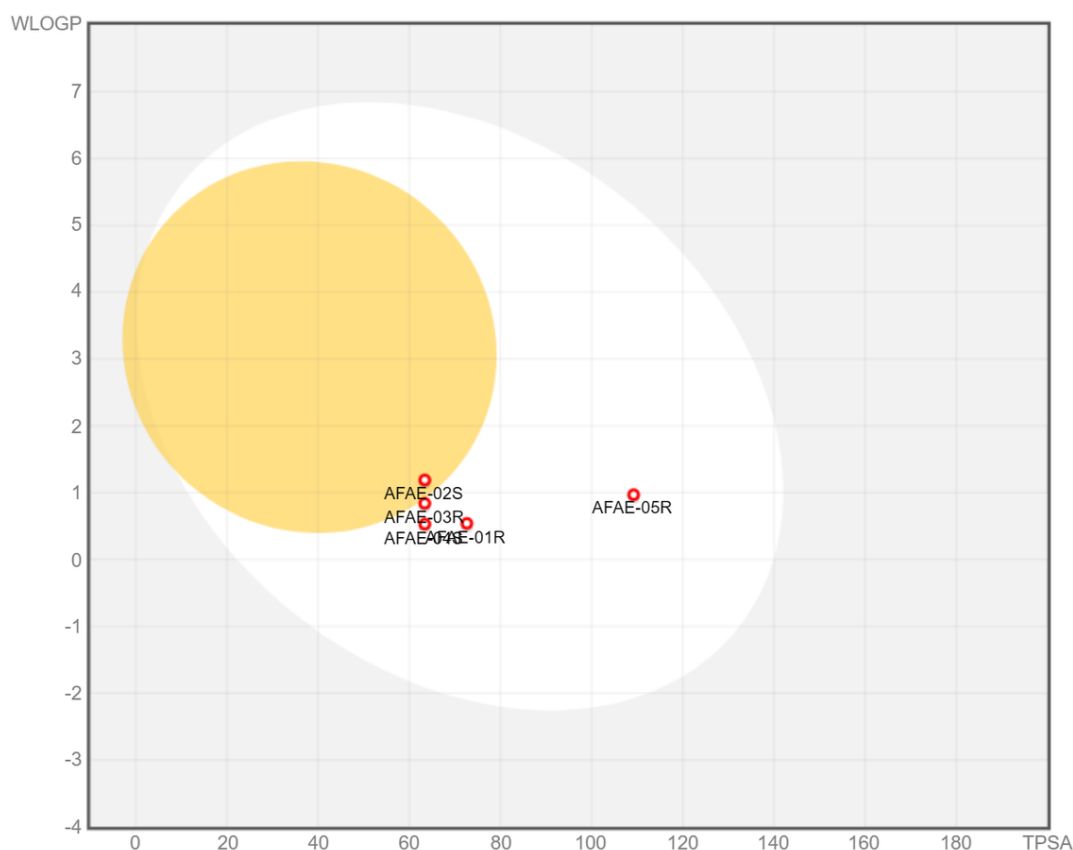


Figura 12. Diagrama de “huevo cocido” (SwissADME) de los cinco compuestos con mejor docking score.

Se espera sintetizar las 5 moléculas y evaluar que dichas modificaciones permitan aumentar o conservar la actividad anticonvulsiva manteniendo los beneficios del LEV como antiepiléptico, pero con un mejor perfil, y que las moléculas sintetizadas puedan servir como modelo para nuevos fármacos que puedan ser usados en pacientes con resistencia a LEV.

III. JUSTIFICACIÓN

La epilepsia es un trastorno neurológico que afecta a cerca del 0.5% y 1.5% de la población mundial, sin hacer ningún tipo de distinción entre los individuos que la padecen. Hasta la actualidad, existen 3 generaciones de FAEs, estos suelen administrarse en un principio como monoterapia o pueden llegar a administrarse en casos más graves en conjunto, para un mayor efecto anticonvulsivo, lo que puede traer consigo una serie de efectos adversos, así como interacciones medicamentosas no deseadas. Por lo que hoy no existen FAEs ideales; no obstante, el LEV es un fármaco anticonvulsivo de segunda generación, usado principalmente para tratar a pacientes con epilepsia del lóbulo temporal; posee un mecanismo de acción no tan recurrido en la terapéutica, tiene buena biodisponibilidad, buen perfil ADME y pocas interacciones con otros fármacos, lo que lo convierte en un punto de partida estructural para el desarrollo de nuevas moléculas con potencial de convertirse en un buen FAEs.

A pesar de los beneficios que tiene el LEV en la terapéutica actual, este no está exento de interacciones con otros fármacos y, además, se ha observado que cerca del 20% de los pacientes tratados con este fármaco desarrollan resistencia. Esta resistencia se ha asociado con la alteración en la expresión y función de SV2A, su principal proteína diana, así como con cambios en la neurotransmisión que reducen la eficacia del fármaco. Y como la resistencia al LEV limita las opciones terapéuticas en estos pacientes, es importante continuar con el diseño y síntesis de análogos estructurales que mantengan o mejoren su afinidad por SV2A y que puedan ser una alternativa para aquellos que han desarrollado dicha resistencia.

Por lo cual, en el presente trabajo, se propone la síntesis de nuevas moléculas análogas al levetiracetam con una alta afinidad a su diana biológica, la proteína SV2A, con el fin de obtener más fármacos con un mecanismo de acción parecido

que puedan servir como nuevas opciones terapéuticas para aquellos pacientes que muestren resistencia a la familia de los racetams ya disponibles en el mercado.

IV. HIPÓTESIS

Los compuestos AFAE01-AFAE05 se obtienen por una ruta de síntesis de 3 pasos y se caracterizan correctamente por técnicas analíticas, como parte del desarrollo de nuevos derivados con posible potencial antiepiléptico.

V. OBJETIVOS

General

- Obtener y caracterizar 5 análogos de piperidinona diseñados por estrategias computacionales.

Específicos

- Sintetizar los análogos de piperidinona propuestos mediante rutas sintéticas optimizadas.
- Purificar las moléculas diseñadas mediante recristalización y extracciones líquido-líquido.
- Identificar las moléculas purificadas por medio de Resonancia Magnética Nuclear unidimensional y bidimensional.

VI. METODOLOGÍA

La síntesis orgánica de las moléculas, se llevó a cabo en el laboratorio de Química Medicinal del edificio 10 de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro, bajo la supervisión del Dr. Rubén Antonio Romo-Mancillas y el M. en C. Jose Manuel Alvarez-Baltazar. Los reactivos usados para la síntesis fueron de grado reactivo para síntesis, con pureza arriba del 95% marca Sigma-Aldrich. Los disolventes utilizados en las reacciones y en la purificación también eran de la marca Sigma-Aldrich y J. T. Baker. El progreso de las reacciones se inspeccionó mediante cromatografía en capa fina, empleando placas de gel de sílice con indicador de fluorescencia de la marca Sigma-Aldrich. La visualización de las muestras se llevó a cabo en una cámara UV-Vis a 254 nm.

La caracterización química de las moléculas sintetizadas se llevó a cabo en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAI) de la Facultad de Química de la UNAM. Para los análisis de resonancia magnética nuclear (RMN) unidimensional, se empleó un espectrómetro Agilent DD2, registrando los espectros de ^1H y HSQC a 600 MHz. Como disolvente se utilizó DMSO-d_6 . El procesamiento de los datos se realizó con el software MestReNova, y los resultados se expresaron en partes por millón (ppm) para los desplazamientos químicos (δ), en Hertz (Hz) para las constantes de acoplamiento y en las siguientes notaciones para las multiplicidades: singulete (s), doblete (d), doble de doble (dd), triplete (t) y multiplete (m).

VI.1 Síntesis orgánica y caracterización química de las moléculas análogas del levetiracetam

La ruta sintética propuesta se observa en la Figura 13, y los detalles de cada paso de reacción se abordan en la sección 6.2

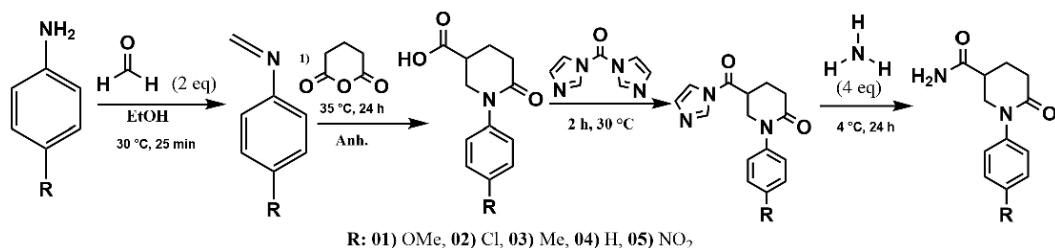


Figura 13. Ruta para la síntesis de los compuestos AFAE-01 a AFAE-05.

VI.2 Estrategia sintética

La síntesis de las bases de Schiff se realizó mediante una condensación nucleofílica entre anilinas *para*-sustituidas y formaldehído en exceso (1.2 Eq). El esquema de reacción se muestra en la Figura 14. El procedimiento general consistió en la trituration de las anilinas sólidas, su completa disolución en etanol y la adición de formaldehído a temperatura ambiente, tras la formación de una suspensión espesa, se añadió más disolvente y se aumentó la temperatura hasta ebullición para desplazar el equilibrio termodinámico hacia la formación del producto mediante la eliminación de agua. Posteriormente se aplicó un choque térmico con un baño de hielo para solidificar el producto, el cual se recuperó mediante filtración al vacío y lavados con etanol frío, la purificación se realizó mediante recristalización con acetonitrilo y carbón activado (López Alejandra y col., 2020).

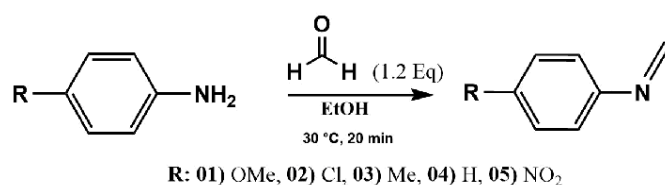


Figura 14. Esquema general de reacción para la obtención de las bases de Schiff (iminas) de los compuestos AFAE-1 a AFAE-5.

La formación de los ácidos derivados de piperidinona se realizaron mediante una reacción tipo Castagnoli-Cushman, frecuentemente descrita como una cicloadición formal [4+2] (Luis Ramiro y col., 2023) entre las bases de Schiff obtenidas en el paso anterior y anhídrido glutárico, como se observa en la Figura 15. Este paso en la ruta sintética es crítico debido a la susceptibilidad de los intermediarios hacia la hidrólisis

(Luis Ramiro y col., 2023), por lo que se priorizó el mantenimiento de condiciones anhidras durante todo el proceso; para asegurar esto, el tolueno empleado como disolvente fue secado con sulfato de sodio anhidro a 50 °C, seguido de una filtración inmediata, adicionalmente a esto también se incorporaron al medio de reacción mallas moleculares de 4 Å, con una proporción del 10% del peso de los sólidos usados.

Para evitar reacciones secundarias indeseadas, la síntesis se llevó a cabo en condiciones muy diluidas (Luis Ramiro y col., 2023), empleando de 20 a 30 mL de tolueno seco por cada gramo de sólido. Una vez que la imina estuvo completamente disuelta, se adicionó lentamente el anhídrido glutárico hasta su completa disolución. El tiempo de reacción óptimo fue desde 18 hasta un máximo de 24 horas para evitar concentraciones más altas de productos secundarios en el medio de reacción.

Transcurrido el tiempo, la solución se filtra y se retiran las mallas moleculares, el disolvente se elimina mediante evaporación a presión reducida y, el residuo resultante, una masa amorfa de consistencia plástica, se volvió a disolver en la cantidad mínima necesaria de metanol caliente, en los casos donde se observó la presencia de impurezas mediante TLC, esta solución se trató con carbón activado y filtración en caliente. La purificación final se realizó de la misma manera tanto para el filtrado sólido como para el líquido recuperado. Mediante una recrystalización por par de disolventes, calentando el metanol previamente filtrado hasta ebullición seguido de la adición de tolueno, también en ebullición, gota a gota, hasta que se apreció una turbidez persistente. El enfriamiento lento del sistema permitió una mejor nucleación y un mayor crecimiento de los cristales del ácido, los cuales fueron recuperados por filtración al vacío, lavados con tolueno frío y secados para su posterior caracterización.

La activación de los ácidos carboxílicos derivados de la piperidinona se llevó a cabo mediante el uso de 1.2 equivalentes de 1,1'-carbonildiimidazol (CDI) (Paul & Anderson, 2002), tal como se muestra en la Figura 16. El CDI permite la formación de un intermediario imidazólico suficientemente electrofílico para permitir el ataque

de algunos nucleófilos, pero con una mayor estabilidad química y facilidad de manejo en comparación con los halogenuros de acilo (Rodda y col., 2026). Después de la adición de CDI, se observó efervescencia, correspondiente al CO₂ liberado por este último al reaccionar. El cual actúa como una fuerza impulsora, desplazando el equilibrio químico hacia la formación del producto.

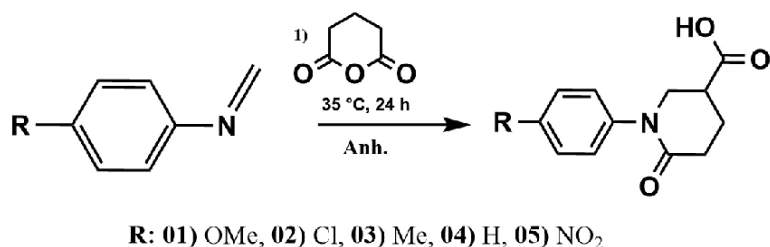


Figura 15. Esquema general de reacción para la obtención de los ácidos 1-aril-6-oxopiperidin-3-carboxílicos.

A partir de la formación de gas el sistema es cerrado en una atmósfera inerte de Argón a 30°C por 2 horas. Para garantizar el máximo rendimiento, se optó por un protocolo de reacción *in situ* para la etapa siguiente, dada la susceptibilidad del derivado imidazólico a regresar a su estado de menor energía (ácido carboxílico) al entrar en contacto con el agua del ambiente.

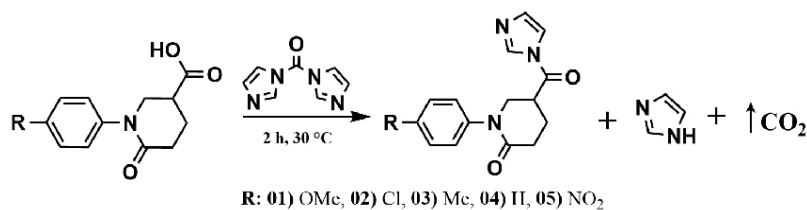


Figura 16. Activación del grupo carboxílico mediante CDI para la generación del intermediario imidazólico

El último paso de la síntesis fue la formación de las amidas correspondientes mediante una sustitución nucleofílica sobre el intermediario imidazólico (Rodda y col., 2026). El esquema de reacción se muestra en la Figura 17 y este paso se realizó *in situ*, en el mismo matraz empleado para la activación con CDI. Posterior a la activación del ácido, el sistema se enfrió externamente con un baño de hielo, se

adicionaron lentamente 4 equivalentes de una solución 7 N de amoníaco en metanol (Woodman y col., 2009). La mezcla se mantuvo bajo agitación constante a 4 °C durante al menos 24 horas o hasta que el monitoreo por TLC indique la mayor conversión posible del intermediario imidazólico a la amida.

La purificación se realizó por 2 métodos diferentes, dependiendo del sustituyente R de cada molécula. Para el derivado AFAE-01 (R: -OMe), la mezcla de reacción se filtró para eliminar las impurezas insolubles, este filtrado fue evaporado a presión reducida y el residuo resultante se volvió a disolver en etanol caliente, el sistema se dejó enfriar lentamente y luego se pasó a refrigeración para permitir la nucleación de cristales de mayor tamaño, los cuales fueron filtrados al vacío y lavados con etanol frío y seco. Por otra parte, para los demás derivados (R: -CH₃, AFAE-03 y R: -H, AFAE-04) se optó por una estrategia de purificación mediante cambios en el pH; primero el disolvente se evaporó a presión reducida y el sólido restante fue suspendido en una solución acuosa de hidróxido de sodio (NaOH) ajustada a pH de 13, esta solución se filtró al vacío y el residuo sólido se lavó con agua destilada. Finalmente, el producto seco se volvió a disolver en etanol caliente y se enfrió lentamente hasta llegar a 0°C para maximizar la formación de cristales, los cuales son lavados con etanol frío y secados hasta peso constante.

Una vez que los compuestos fueron sintetizados y purificados, se tomaron muestras de 50 mg en viales limpios y secos, los cuales fueron usados para la posterior caracterización por RMN unidimensional y bidimensional.

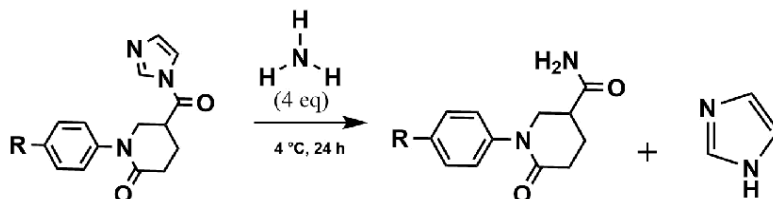


Figura 17. Esquema general para la obtención de 1-aryl-6-oxopiperidin-3-carboxamidas.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este apartado se mencionan los resultados obtenidos de cada una de las moléculas sintetizadas durante este proyecto, además de la caracterización química de las mismas obtenidas mediante los espectros de RMN. Las condiciones y métodos específicos para cada reacción se mencionan en el apartado de anexos, al igual que los espectros de RMN.

7.1 Síntesis y caracterización de las bases de Schiff

La primera etapa de la estrategia sintética consistió en la obtención de una serie de bases de Schiff (iminas) mediante la condensación nucleofílica de anilinas *para*-sustituídas con formaldehído en exceso, como se observa en la Figura 14. Esta reacción es un proceso reversible que necesita un desplazamiento del equilibrio termodinámico hacia la formación del producto mediante la eliminación de agua (Hie & Yeh, 1967). Los rendimientos obtenidos para la serie de iminas se presentan en la Cuadro 5. Se observó una variación en la eficiencia de la reacción dependiendo de la naturaleza del sustituyente R en el anillo aromático.

Cuadro 5. Rendimientos de las bases de Schiff sintetizadas.

Compuesto	Sustituyente (R)	Rendimiento (%)	Peso obtenido (g)
AFAE-1	- OCH ₃	72.54	4.90
AFAE-2	- Cl	40.88	2.85
AFAE-3	- CH ₃	58.84	3.50
AFAE-4	- H	67.12	3.56
AFAE-5	- NO ₂	54.41	4.08

El rendimiento más alto se obtuvo en el derivado AFAE-1 (R: -OMe, 72.54%). Este rendimiento mayor que los otros reportados podría atribuirse al efecto de resonancia del grupo metoxilo, el cual incrementa la densidad electrónica en el nitrógeno de la anilina, aumentando así su nucleofilia y favoreciendo el ataque al carbono del formaldehído (López Alejandra y col., 2020). Por el contrario, la

sustitución de este grupo R por grupos funcionales de una naturaleza química opuesta, como el caso del derivado halogenado AFAE-2 (R: -Cl, 40.88%) y el derivado desactivado AFAE-5 (R: -NO₂, 54.41%), denotan la importancia de las propiedades electrónicas en la síntesis orgánica, donde los grupos electro atractores disminuyen la capacidad nucleofílica de las anilinas, dificultando así el ataque inicial necesario para la condensación, lo que se traduce en rendimientos más bajos (Unacademy, 2024).

Físicamente, los productos AFAE 1-4 se obtuvieron como sólidos blancos de aspecto cristalino, mientras que el derivado AFAE-5 presentó una morfología distintiva de cristales algodonosos de un color amarillo intenso. Para la caracterización, el seguimiento por cromatografía en capa fina (TLC, por sus siglas en ingles) en un sistema de elución AcOEt/Hexano 50:50, mostró que todos los derivados presentaron un R_f de aproximadamente 0.85, valor consistente con una menor polaridad en comparación con la anilina de partida, debido a la pérdida de la capacidad de formar puentes de hidrógeno del grupo amino primario (Đilović y col., 2025). Se determinó el punto de fusión únicamente para el derivado AFAE-2 (149.1 - 149.4 °C) en esta parte de la síntesis, con el fin de priorizar la caracterización de los derivados de la reacción de Castagnoli-Cushman, al ser esta la etapa donde se establece el núcleo heterocíclico de interés farmacológico.

VII.2 Síntesis de los ácidos 1-aril-6-oxopiperidin-3-carboxílicos

La construcción del núcleo de piperidinona se llevó a cabo mediante la cicloadición formal [4+2] entre las iminas sintetizadas y el anhídrido glutárico (Luis Ramiro y col., 2023). Los resultados obtenidos se resumen en la Cuadro 6.

El seguimiento de la reacción mediante TLC, en un sistema AcOEt/Hexano (50:50) adicionado con ácido fórmico, mostró un descenso significativo en la movilidad cromatográfica. Mientras que la imina presentó un factor de retención de 0.50, el producto ácido mostró un R_f de 0.10. Este comportamiento concuerda con el aumento de polaridad en el ácido carboxílico y su mayor interacción con el gel de sílice, lo que reduce su desplazamiento respecto a compuestos menos polares.

Cuadro 6. Rendimientos y punto de fusión de los ácidos carboxílicos sintetizados.

Compuesto	R	Rendimiento (%)	Peso obtenido (g)	Punto de fusión (°C)
AFAE-1	- OCH ₃	51.63	3.86	159.9 – 160.4
AFAE-2	- Cl	44.65	3.39	134.5 – 135.2
AFAE-3	- CH ₃	47.07	3.29	173.4 – 174.5
AFAE-4	- H	47.63	3.13	120.1 – 120.4
AFAE-5	- NO ₂	---	---	---

---: No obtenidos

Se identificó la formación de una resina ámbar viscosa (posible oligomerización) durante las pruebas iniciales de la reacción. La implementación de condiciones de alta dilución y el uso de mallas moleculares de 4 Å fueron críticos para mitigar este problema. Esto es coherente con el principio de alta dilución, que favorece la reacción intramolecular frente a procesos intermoleculares competitivos y oligomerización de las iminas utilizadas (Rodda y col., 2026).

Físicamente, los fragmentos ácidos con grupo R: Cl, CH₃ y H resultaron ser sólidos blancos de apariencia cristalina, mientras que la apariencia del derivado AFAE-1 consistía en un sólido cristalino color rosa. Los rendimientos moderados y relativamente constantes (44 - 51 %) sugieren que la eficiencia de la reacción no depende exclusivamente de la reactividad del nucleófilo, sino también de factores competitivos en el medio de reacción. En este sentido, el efecto de los sustituyentes sobre la nucleofilicidad del sistema es relevante, ya que los grupos donadores de electrones tienden a favorecer la formación del aducto en la reacción de Castagnoli Cushman (Luis Ramiro y col., 2023).

Respecto a las propiedades físicas, los puntos de fusión muestran como el derivado metilado (AFAE-3, 173.4 °C), presenta una estabilidad térmica significativamente mayor al derivado no sustituido (AFAE-4, 120.1 °C). Este

incremento puede deberse a las diferencias en el empaquetamiento cristalino, donde el derivado metilado posee una red cristalina cuya estabilidad térmica más elevada al estar más empaquetada en la estructura cristalina. Los rangos estrechos de temperatura en el punto de fusión son consistentes con productos puros y homogéneos (Đilović y col., 2025).

Para el producto AFAE-5 (R: -NO₂), la desactivación electrónica fue suficiente para que, durante el calentamiento, la muestra se ennegreciera; sin embargo, por TLC conservó el mismo R_f, lo que sugiere un deterioro térmico visible sin un cambio detectable en la especie química bajo las condiciones empleadas. La fuerte influencia electrónica del grupo nitro también concuerda con una disminución de la nucleofilicidad del sistema y, por tanto, con una menor facilidad para avanzar en la cicloadición. Esto sugiere que la barrera energética impuesta por el grupo nitro no puede superarse solo mediante la temperatura, lo que apunta a la necesidad de emplear ácidos de Lewis de acidez moderada para disminuir la energía del orbital LUMO del anhídrido y permitir que la reacción proceda bajo condiciones que no comprometan la integridad de los reactivos, tales como ZnCl₂ o Yb(OTf)₃ (Fu, 1982).

La identidad de los productos se confirmó mediante espectroscopía de RMN. El espectro de ¹H de AFAE-2, analizado en un equipo de 600 MHz en DMSO-*d*₆, permitió corroborar la formación del ácido carboxílico y el cierre del ciclo. Las señales más representativas, como la señal en δ 12.10 ppm corresponden al protón intercambiable del ácido carboxílico, la señal en δ 10.03 ppm correspondió al protón altamente desprotegido del grupo metino en el anillo de la piperidinona. En la zona aromática se observan dos señales en δ 7.61 y 7.33 ppm, ambas como multipletes e integrando para dos protones cada una, consistentes con el patrón de sustitución del anillo aromático *para*-clorado. En la región alifática se observaron las otras señales características de la formación del anillo de piperidinona en δ 2.34 ppm, δ 2.27 ppm y δ 1.80 ppm, asignadas a los protones. Dependiendo del grado de desprotección estas señales aparecen a campo más bajo, mientras que las menos desprotegidas aparecen a campo más alto.

VII.3 Activación del grupo carboxilo mediante 1,1'-carbonildiimidazol (CDI)

Se evaluaron diversas estrategias de activación para los ácidos carboxílicos. Inicialmente, se exploró la síntesis de halogenuros de acilo mediante el uso de triclorotriazina (TCT) y cloruro de sulfurilo. No obstante, estas rutas arrojaron mezclas de varios productos muy sensibles a la hidrólisis, lo que dificultó su manipulación y purificación. En consecuencia, se optó por el uso de 1,1'-carbonildiimidazol (CDI) como agente acoplante, el cual permitió la generación *in situ* de un intermediario acil-imidazólico que facilita la sustitución nucleofílica en condiciones controladas (Rodda y col., 2026).

La formación del aducto acil-imidazólico se llevó a cabo en un sistema *one-pot*, donde la activación y la posterior amidación ocurren secuencialmente en el mismo sistema. Se optó por esta estrategia para evitar el aislamiento de intermediarios reactivos que podrían haber sufrido descomposición durante su manipulación. Experimentalmente, el proceso se monitoreó a través del desprendimiento de CO₂, el cese del burbujeo fue un indicativo cualitativo de que la formación del intermediario había terminado, y los productos secundarios (imidazol y CO₂) no tendrían que interferir con el paso siguiente.

VII.4 Síntesis de las 1-aryl-6-ocopiperidin-3-carboxamidas

La etapa final de la ruta sintética consistió en la amidación de los intermediarios acil-imidazólicos generados *in situ*. La reacción se llevó a cabo bajo atmósfera de argón, empleando una solución 7N de amoníaco en metanol. Debido a la naturaleza volátil del nucleófilo, la potencial exotermicidad de la sustitución y al riesgo latente de la formación de un éster metílico por la presencia de metanol, la adición se realizó a bajas temperaturas (4 °C) mediante un baño de hielo, los resultados se presentan en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Rendimientos y parámetros físicos de las amidas sintetizadas.

Compuesto	R	Tiempo	Rendimiento (%)	Peso obtenido (g)	Punto de fusión (°C)
AFAE-1	- OCH ₃	24 h	49.77	0.248	171.9 – 172.3
AFAE-3	- CH ₃	7 días	42.60	0.213	179.6 – 180.0
AFAE-4	- H	3 días	37.40	0.137	144.1 – 144.9

Un hallazgo significativo fue la elevada estabilidad del intermediario acil-imidazólico. A pesar de haber usado un exceso estequiométrico del nucleófilo (hasta 10 eq de NH₃), el seguimiento por TLC (sistema AcOEt/Tolueno/ACN/HCOOH 73:20:5:2) reveló la persistencia del intermediario incluso después de periodos prolongados de agitación (hasta una semana para el derivado AFAE-3). En el perfil cromatográfico se identificaron tres señales principales; el producto de interés (amida, R_f 0.15), el intermediario acil-imidazólico (R_f 0.46) y el éster metílico (R_f 0.65) generado por la competencia nucleofílica del metanol presente en el reactivo. La baja reactividad se puede atribuir a la estabilización por resonancia del sistema acil-imidazólico, donde el par de electrones del nitrógeno del anillo se deslocaliza hacia el carbonilo, disminuyendo su carácter electrofílico. Los rendimientos moderados (37 - 49 %) son consecuencia directa, entre otros factores, de esta notable estabilidad del intermediario, que impidió una conversión total hacia la amida. Para futuras optimizaciones, se propone el uso de ácidos de Lewis como MgBr₂ o la adición de catalizadores nucleofílicos como DMAP, los cuales pueden incrementar la electrofilia del carbonilo mediante la formación de complejos de coordinación o intermediarios más reactivos, reduciendo así los tiempos de reacción y aumentando el rendimiento global (HighFive Biotech, 2021).

Las purificaciones se diferenciaron según la solubilidad de los derivados. Para el compuesto AFAE-1, se empleó recristalización simple con EtOH caliente tras la eliminación del disolvente. En contraste, para los derivados AFAE-3 y AFAE-4, se implementó la re suspensión del crudo en una solución acuosa de NaOH a pH de 13.

A este valor de pH, la amida primaria permanece en su forma neutra y precipita debido a su baja solubilidad en agua, mientras que las impurezas ácidas residuales y el imidazol libre se solubilizan en la fase acuosa.

Los productos purificados resultaron ser sólidos blancos, de apariencia cristalina. Para los puntos de fusión, se observó un incremento generalizado respecto a sus ácidos precursores. Este fenómeno es característico de las amidas primarias, las cuales establecen redes de puentes de hidrógeno intermoleculares muy ordenadas. El derivado metilado (AFAE-3) presentó el punto de fusión más elevado (180.0 °C), lo cual sugiere un empaquetamiento cristalino más compacto y eficiente en comparación con el no sustituido, confirmando nuevamente la influencia de los sustituyentes en la estabilidad termodinámica del cristal (Đilović y col., 2025).

La identidad de los productos se pudo corroborar mediante espectroscopía de RMN ^1H . En la Figura 18 se muestra la comparación de las 3 amidas obtenidas (AFAE-1, AFAE-3 y AFAE-4). En los 3 espectros se puede observar un patrón muy semejante, el cual se atribuye a la conservación del núcleo de piperidinona y del sistema aromático. Las diferencias principales entre los desplazamientos químicos de las señales se deben al efecto electrónico del sustituyente en el anillo aromático, el cual modifica el ambiente químico de los protones vecinos (Hans Reich's Collection, 2026). Asimismo cada compuesto presenta una señal única correspondiente a su sustituyente; mientras que AFAE-1 presenta la señal característica del grupo metoxilo, un singulete que integra para 3 protones en δ 3.77 ppm, en AFAE-3 se muestra otro singulete correspondiente al grupo metilo en δ 2.23 que integra para 3 protones, y AFAE-4 muestra un patrón aromático correspondiente a un anillo fenilo no sustituido. Los dos singuletes independientes se atribuyen a la no equivalencia química de los protones del grupo $-\text{CONH}_2$, que experimentan ambientes magnéticos distintos debido al carácter parcial de doble enlace del enlace C–N, por tautomería, y a la restricción de la rotación del grupo amida. Esta asignación se respaldó complementariamente mediante predicciones computacionales realizadas con el software Wavefunction Spartan 24. Para ello, las moléculas se sometieron a un cálculo de geometría de equilibrio mediante teoría del funcional de

la densidad, empleando el funcional B3LYP y el conjunto de bases 6-31G*, en fase gaseosa. En las geometrías optimizadas se calcularon los parámetros de RMN; los espectros predichos se presentan en el Anexo 8. Asimismo, la desaparición de la señal del protón del ácido carboxílico, y la aparición de las dos señales asignables a los protones del grupo $-\text{CONH}_2$ respaldan la conversión del ácido carboxílico en la amida correspondiente.

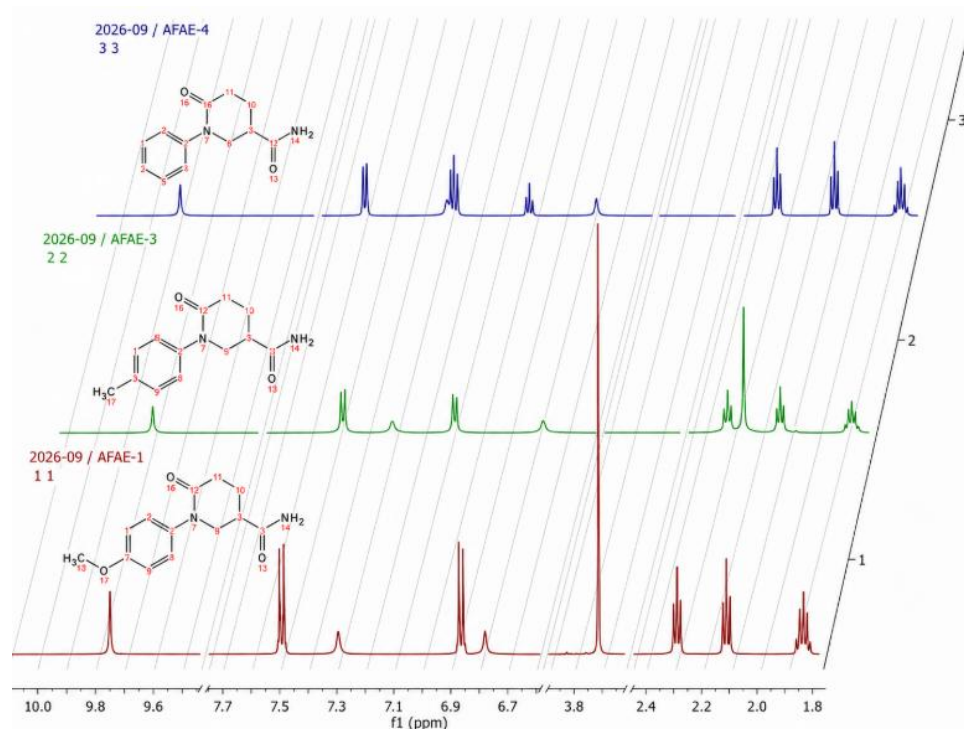


Figura 18. Comparación de los espectros de RMN de ^1H de las amidas AFAE-1, AFAE-3 y AFAE-4, registrados a 600 MHz en $\text{DMSO}-d_6$.

Para el caso de los espectros bidimensionales, en HSQC se detectan correlaciones $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ a un enlace de distancia, esto ayuda mucho para resolver señales difíciles de asignar en espectros unidimensionales. No obstante, si se presenta una ausencia de correlación no descarta por completo la existencia de un enlace C-H. Ya que la intensidad de los cruces en HSQC no depende únicamente de la conectividad entre ambos núcleos, sino también de factores experimentales, como la optimización de la secuencia de pulsos, la constante de acoplamiento $^1J_{\text{CH}}$ y los procesos de relajación de cada señal. Por eso es que, algunas correlaciones pueden

observarse con menor intensidad o incluso quedar por debajo del límite de detección, aun cuando el protón y el carbono estén directamente unidos (Mandal & Majumdar, 2015; Peterson & Loening, 2007).

Para el caso de la serie AFAE, la señal asignada al protón metínico aparece a un desplazamiento químico inusual para un protón alifático, lo que sugiere un ambiente muy desprotegido. Esto puede estar relacionado con la orientación conformacional del protón respecto al grupo carbonilo, ya que estos grupos pueden generar efectos anisotrópicos capaces de modificar el desplazamiento químico de protones cercanos. Bajo estas condiciones, es posible que dicho protón aparezca en una zona distinta a la de los protones alifáticos, incluyendo también una menor intensidad. Esto puede sugerir que la falta de una correlación para este protón en HSQC no invalida su asignación, especialmente si la señal se observa en el espectro de ^1H y su desplazamiento puede justificarse mediante el entorno conformacional propuesto (Hans Reich's Collection, 2026).

Este comportamiento concuerda con reportes donde se ha observado que ciertas señales presentes en RMN pueden disminuir o incluso desaparecer en espectros HSQC debido a fenómenos conformacionales. Por ejemplo, Maeno y col. observaron que, en espectros HSQC de una proteína, algunas señales de grupos metilo disminuyeron progresivamente con el aumento de presión, llegando a desaparecer sin que surjan nuevas señales. Lo cual fue atribuido a la heterogeneidad conformacional e intercambio entre estados conformacionales. Aunque dicho estudio corresponde a un sistema proteico bajo condiciones de alta presión, demuestra que la desaparición de una señal en HSQC puede estar relacionada con pérdida de intensidad o la conformación, y no necesariamente con la ausencia de un enlace C-H (Maeno y col., 2015).

VIII. CONCLUSIONES

Fue posible obtener una base metodológica sólida para la obtención de este tipo de heterociclos, sugiriendo que para futuras optimizaciones se puede implementar la adición de catalizadores como ácidos de Lewis o el uso de disolventes no nucleofílicos durante pasos críticos de la síntesis para incrementar el rendimiento global del proceso.

Implementar una estrategia de purificación basada en la precipitación selectiva a pH 13 permitió el aislamiento eficiente de las amidas finales, aprovechando la estabilidad química de estas frente a hidrólisis básica.

Se logró identificar la elevada estabilidad del intermediario acil-imidazol, el cual actuó como factor limitante en la cinética de la amidación, sumado a la competencia nucleofílica del metanol para formar ésteres metílicos, explica los rendimientos moderados obtenidos en la parte final de la síntesis.

IX. PERSPECTIVAS

- Evaluar el uso de ácidos de Lewis como MgBr_2 o ZnCl_2 , los cuales podrían actuar como compuestos de coordinación sobre el intermediario acil imidazólico, incrementando su electrofilia y reduciendo los tiempos de reacción y aumentando los rendimientos.
- Implementar el uso de microondas para alcanzar temperaturas más elevadas en tiempos muy cortos, así como la adición de ácidos de Lewis más fuertes como TiCl_4 o $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ para forzar la formación de todos los derivados desactivados en la reacción de Castagnoli-Cushman.
- Elaborar una evaluación biológica en distintos modelos para verificar y medir la actividad antiepiléptica de las moléculas diseñadas y sintetizadas en el presente trabajo.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Alrabiah, H. (2019). Levetiracetam. *Profiles of drug substances, excipients, and related methodology*, 44, 167–204.
<https://doi.org/10.1016/BS.PODRM.2019.02.003>
- Alvarez-Baltazar, J. M. (2022). *ESTUDIO COMPUTACIONAL DE LA PROTEÍNA SV2A Y SÍNTESIS DE NUEVAS PIRROLIDONAS ANÁLOGAS A LEVETIRACETAM*.
- Balestrini, S., Arzimanoglou, A., Blümcke, I., Scheffer, I. E., Wiebe, S., Zelano, J., & Walker, M. C. (2021). The aetiologies of epilepsy. *Epileptic disorders: international epilepsy journal with videotape*, 23(1), 1–16.
<https://doi.org/10.1684/EPD.2021.1255>
- Bartholome, O., Van Den Ackerveken, P., Gil, J. S., Bonardeaux, O. de la B., Leprince, P., Franzen, R., & Rogister, B. (2017). Puzzling Out Synaptic Vesicle 2 Family Members Functions. *Frontiers in molecular neuroscience*, 10.
<https://doi.org/10.3389/FNMOL.2017.00148>
- Bavarsad, M. S., & Grinberg, L. T. (2024). SV2A PET imaging in human neurodegenerative diseases. *Frontiers in aging neuroscience*, 16.
<https://doi.org/10.3389/FNAGI.2024.1380561>
- Chávez-Elías, A. F. (2018). *Síntesis y actividad antiepiléptica de pirrolidonas 1,4-disustituidas*. UAQ.
- Correa-Basurto, J., Cuevas-Hernández, R. I., Phillips-Farfán, B. V., Martínez-Archundia, M., Romo-Mancillas, A., Ramírez-Salinas, G. L., Pérez-González, Ó. A., Trujillo-Ferrara, J., & Mendoza-Torreblanca, J. G. (2015). Identification of the antiepileptic racetam binding site in the synaptic vesicle protein 2A by molecular dynamics and docking simulations. *Frontiers in cellular neuroscience*, 9(APR).
<https://doi.org/10.3389/FNCEL.2015.00125>

- de Freitas Milagre, C. D., do Amaral, B. S., Junior, J. M. B., Vilela, A. F. L., Cardoso, C. L., & Milagre, H. M. S. (2022). Levetiracetam analogs: chemoenzymatic synthesis, absolute configuration assignment and evaluation of cholinesterase inhibitory activities. *Eclética Química*, 47(2), 17–35. <https://doi.org/10.26850/1678-4618EQJ.V47.2.2022.P17-35>
- Đilović, I., Judaš, N., Komar, M., Molnar, M., Počkaj, M., & Balić, T. (2025). Impact of Molecular and Crystal Structure on the Melting Points in Halo-Substituted Phenyl-Quinazolinones. *Crystals*, 15(1), 39. <https://doi.org/10.3390/CRYST15010039/S1>
- Fisher, R. S., Cross, J. H., French, J. A., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F. E., Lagae, L., Moshé, S. L., Peltola, J., Roulet Perez, E., Scheffer, I. E., & Zuberi, S. M. (2017). Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58(4), 522–530. <https://doi.org/10.1111/EPI.13670>
- Fu, K. (1982). *Role of Frontier Orbitals Chemical Reactioi*. 218, 4574. www.sciencemag.org
- Hans Reich's Collection. (2026). *NMR Info/Data — Hans Reich Collection — OrganicChemistryData.org*. ACS. https://organicchemistrydata.org/hansreich/resources/nmr/?page=05-hmr-02-delta%2F&utm_source=chatgpt.com
- Henning, O., Heuser, K., Larsen, V. S., Kyte, E. B., Kostov, H., Marthinsen, P. B., Egge, A., Alfstad, K., & Nakken, K. O. (2023). Temporal lobe epilepsy. *Tidsskrift for den Norske laegeforening: tidsskrift for praktisk medicin, ny raekke*, 143(2). <https://doi.org/10.4045/TIDSSKR.22.0369>
- Hie, J., & Yeh, C. Y. (1967). Equilibrium In Formation And Conformational Isomerization Of Imines Derived From Isobutyraldehyde And Saturated Aliphatic Primary Amines. *Journal of the American Chemical Society*, 89(11), 2669–2676. <https://doi.org/10.1021/JA00987A030>

- HighFive Biotech. (2021). *Application of Efficient Catalyst DMAP*.
<https://en.highfine.com/news/application-of-efficient-catalyst-dmap.html>
- Howard, P., Remi, J., Remi, C., Charlesworth, S., Whalley, H., Bhatia, R., Hitchens, M., Mihalyo, M., & Wilcock, A. (2018). Levetiracetam. *Journal of pain and symptom management*, 56(4), 645–649.
<https://doi.org/10.1016/J.JPAINSYMMAN.2018.07.012>
- López Alejandra, N., Buseli Joseph, A., Quirós Yara, R., Romero Vargas María Elba, O., & Peláez Mónica Liliana, S. (2020). Estudio teórico de la síntesis de iminas a partir de aldehídos y anilina. *Universidad Autónoma Metropolitana Revista tediq*, 6(6), 2020.
- López-González, R. (2016). EPILEPSY, PHARMACOLOGICAL TREATMENT AND MONITORING. *Revista Cópula*, 30.
- Löscher, W., Potschka, H., Sisodiya, S. M., & Vezzani, A. (2020). Drug Resistance in Epilepsy: Clinical Impact, Potential Mechanisms, and New Innovative Treatment Options. *Pharmacological Reviews*, 72(3), 606–638.
<https://doi.org/10.1124/PR.120.019539>
- Luis Ramiro, J., Martínez-Caballero, S., Neo, A. G., Díaz, J., & Marcos, C. F. (2023). The Castagnoli-Cushman Reaction. *Molecules*, 28, 2654.
<https://doi.org/10.3390/molecules28062654>
- Maeno, A., Sindhikara, D., Hirata, F., Otten, R., Dahlquist, F. W., Yokoyama, S., Akasaka, K., Mulder, F. A. A., & Kitahara, R. (2015). Cavity as a source of conformational fluctuation and high-energy state: High-pressure NMR study of a cavity-enlarged mutant of T4lysozyme. *Biophysical Journal*, 108(1), 133–145.
<https://doi.org/10.1016/j.bpj.2014.11.012>
- Mandal, P. K., & Majumdar, A. (2015). *A Comprehensive Discussion of HSQC and HMQC Pulse Sequences*. <https://doi.org/10.1002/cmr.a.10095>

- Mylavarapu, R., Anand, R. V., Kondaiah, G. C. M., Reddy, L. A., Reddy, G. S., Roy, A., Bhattacharya, A., Mukkanti, K., & Bandichhor, R. (2010). An alternate synthesis of levetiracetam. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 3(3), 225–230. <https://doi.org/10.1080/17518251003716568>
- Neelakandan, K., & Chavan, A. (2013). *An efficient process of racemization of alpha-ethyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic acid: A levetiracetam intermediate*. <https://www.imedpub.com/articles/an-efficient-process-of-racemization-of-alphaethyl2oxo1pyrrolidineaceticacid-a-levetiracetam-intermediate.pdf>
- OMS. (2024, febrero 7). *Epilepsy*. Epilepsy.
- Patsalos, P. N., Berry, D. J., Bourgeois, B. F. D., Cloyd, J. C., Glauser, T. A., Johannessen, S. I., Leppik, I. E., Tomson, T., & Perucca, E. (2008). Antiepileptic drugs—best practice guidelines for therapeutic drug monitoring: A position paper by the subcommission on therapeutic drug monitoring, ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*, 49(7), 1239–1276. <https://doi.org/10.1111/J.1528-1167.2008.01561.X>
- Paul, R., & Anderson, G. W. (2002). N,N'-Carbonyldiimidazole, a New Peptide Forming Reagent¹. *Journal of the American Chemical Society*, 82(17), 4596–4600. <https://doi.org/10.1021/JA01502A038>
- Pesqueira, G. Q., San-Juan, D., Albarrán, R. H., Vazquez, M. L., Canales, G. Q., & Pesqueira, J. G. (2023). A systematic review of the epidemiology of epilepsy in Mexico during 1970 to 2020. *Archivos de neuro-psiquiatria*, 81(1), 74–80. <https://doi.org/10.1055/S-0042-1758647>
- Peterson, D. J., & Loening, N. M. (2007). QQ-HSQC: a quick, quantitative heteronuclear correlation experiment for NMR spectroscopy. *MAGNETIC RESONANCE IN CHEMISTRY Magn. Reson. Chem*, 45, 937–941. <https://doi.org/10.1002/mrc.2073>

- Rodda, S., Mandhiram, D. S., Murali, P., Balasubramanian, D., & Devadoss, T. (2026). A systematic review on synthetic utilities of 1,1'-carbonyldiimidazole. *Tetrahedron*, 195, 135229. <https://doi.org/10.1016/J.TET.2026.135229>
- Rodríguez, C., & Guevara-Hernández, B. (2010, enero). (PDF) *Mecanismos de Resistencia a los Fármacos Antiepilépticos*. https://www.researchgate.net/publication/235769354_Mecanismos_de_Resistencia_a_los_Farmacos_Antiepilepticos
- Rogawski, M. A., Löscher, W., & Rho, J. M. (2016). Mechanisms of Action of Antiseizure Drugs and the Ketogenic Diet. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6(5), 28. <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A022780>
- Scheffer, I. E., Berkovic, S., Capovilla, G., Connolly, M. B., French, J., Guilhoto, L., Hirsch, E., Jain, S., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Nordli, D. R., Perucca, E., Tomson, T., Wiebe, S., Zhang, Y. H., & Zuberi, S. M. (2017). ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58(4), 512–521. <https://doi.org/10.1111/EPI.13709>
- Shi, J., Anderson, D., Lynch, B. A., Castaigne, J. G., Foerch, P., & Lebon, F. (2011). Combining modelling and mutagenesis studies of synaptic vesicle protein 2A to identify a series of residues involved in racetam binding. *Biochemical Society transactions*, 39(5), 1341–1347. <https://doi.org/10.1042/BST0391341>
- Stout, K. A., Dunn, A. R., Hoffman, C., & Miller, G. W. (2019). The Synaptic Vesicle Glycoprotein 2: Structure, Function, and Disease Relevance. *ACS chemical neuroscience*, 10(9), 3927. <https://doi.org/10.1021/ACSCHEMNEURO.9B00351>
- Tucker, J. X. L. S. R. (2009). *Chemoenzymatic processes for preparation of Levetiracetam* (Patent US WO2009009117).
- Unacademy. (2024). *Relative Reactivities of Aldehyde and Ketones. Note on Relative reactivities of Aldehyde and Ketones*. <https://unacademy.com/content/jee/study-material/chemistry/relative-reactivities-of-aldehydes-and-ketones/>

- Vavoulis, D., Pagnamenta, A., Knight, S., Pentony, M., Armstrong, M., Galizia, E., Balestrini, S., Sisodiya, S., & Taylor, J. (2019). *Whole genome sequencing identifies putative associations between genomic polymorphisms and clinical response to the antiepileptic drug levetiracetam.* <https://arxiv.org/abs/1909.10580v1>
- Whalen, K. (2019). *Pharmacology* (6a ed.). Wolters Kluwer.
- Woodman, E. K., Chaffey, J. G. K., Hopes, P. A., Hose, D. R. J., & Gilday, J. P. (2009). *N,N'-Carbonyldiimidazole-Mediated Amide Coupling: Significant Rate Enhancement Achieved by Acid Catalysis with Imidazole · HCl.* <https://doi.org/10.1021/op800226b>
- Wright, C., Downing, J., Mungall, D., Khan, O., Williams, A., Fonkem, E., Garrett, D., Aceves, J., & Kirmani, B. (2013). Clinical pharmacology and pharmacokinetics of levetiracetam. *Frontiers in neurology*, 4. <https://doi.org/10.3389/FNEUR.2013.00192>
- Yamagata, A., Ito, K., Suzuki, T., Dohmae, N., Terada, T., & Shirouzu, M. (2024). Structural basis for antiepileptic drugs and botulinum neurotoxin recognition of SV2A. *Nature Communications* 2024 15:1, 15(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-47322-4>
- Yao, J., Nowack, A., Kensel-Hammes, P., Gardner, R. G., & Bajjalieh, S. M. (2010). Cotrafficking of SV2 and synaptotagmin at the synapse. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(16), 5569–5578. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4781-09.2010>

XI. ANEXOS

Anexo 1

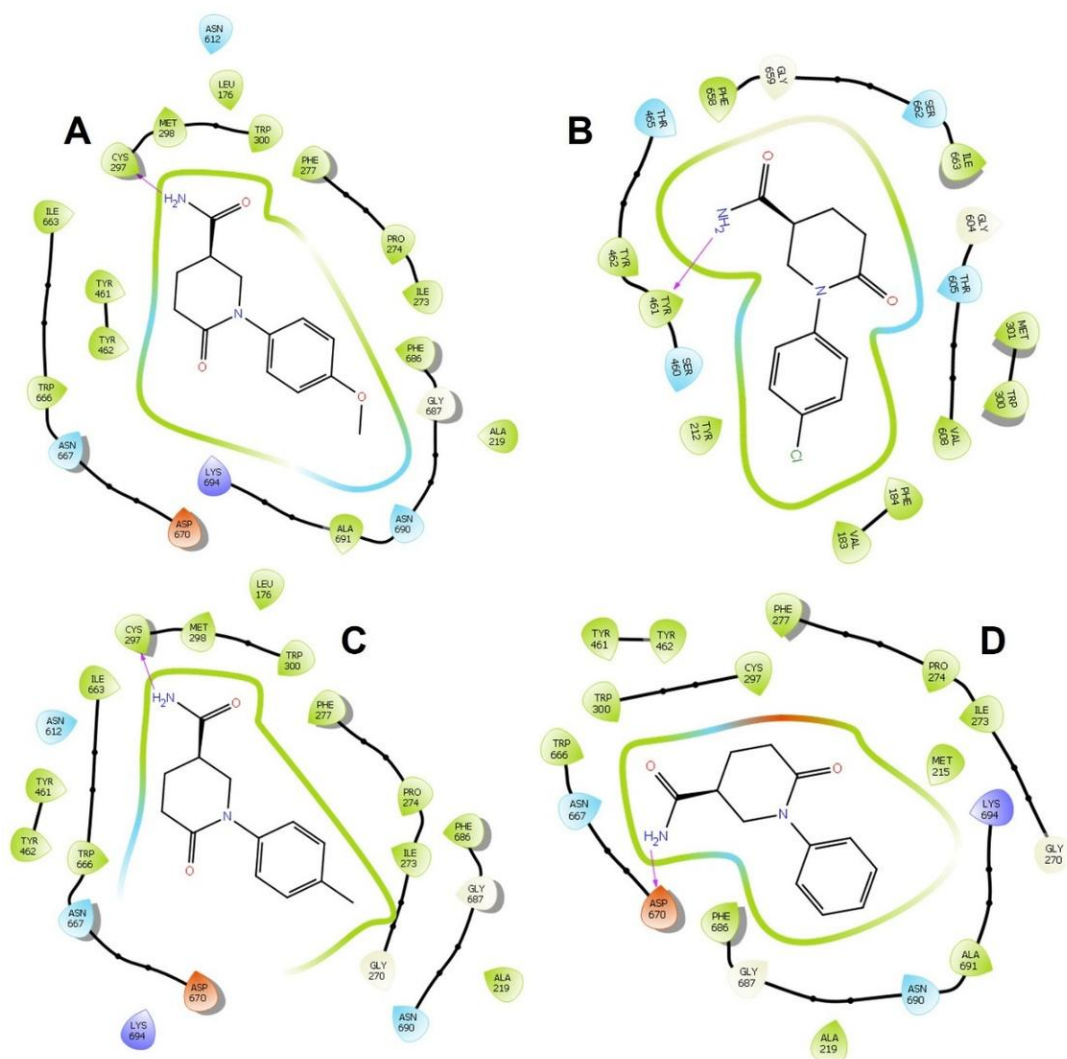


Figura A1. Mapas de interacción de los derivados A: AFAE-01, B: AFAE-02. C: AFAE-03, D: AFAE-04, con SV2A. Se observan interacciones hidrofóbicas con los residuos W300, F277, I273 y P274, que rodean el núcleo de piperidinona. Se identifican también otras interacciones importantes entre la amida y los residuos C297, Y461 o D670, variando según la conformación de cada derivado, asimismo, el sistema se estabiliza mediante ambientes polares y electrostáticos definidos por K694 y N667, los cuales aseguran la orientación del anillo aromático dentro de la cavidad donde se ha propuesto el sitio de unión de racetams.

Anexo 2

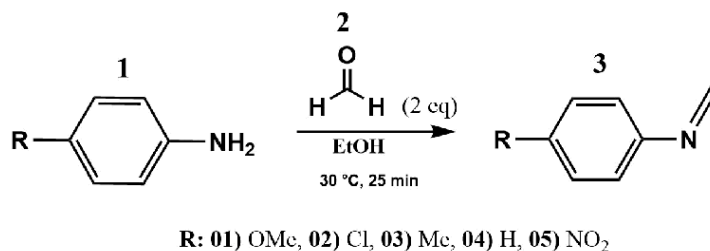


Figura A2. Ruta sintética para la obtención de las bases de Schiff (iminas)

En un vaso de precipitado de 150 mL se disolvieron 50 mmol de **1** en 20 mL de EtOH absoluto. Tras la homogeneización completa, se adicionaron 60 mmol (5.075 g) de **2**. La mezcla se mantuvo en agitación constante hasta la aparición de un precipitado (aprox. 15 min). Posteriormente, el sistema se llevó a temperatura de ebullición bajo agitación vigorosa, añadiendo 18 mL de EtOH adicionales para mantener la fluidez de la suspensión. La mezcla de reacción se enfrió bruscamente en un baño de hielo-agua para favorecer la cristalización. El sólido obtenido se recuperó mediante filtración al vacío y se lavó con EtOH frío. La pureza del producto se monitoreó por cromatografía en capa fina (TLC) utilizando una fase móvil de AcOEt/Hexano (50:50). El compuesto **3** se obtuvo como un sólido cristalino blanco con un rendimiento del 72.5% (36.27 mmol) (PM: 135.07 g/mol).

Anexo 3

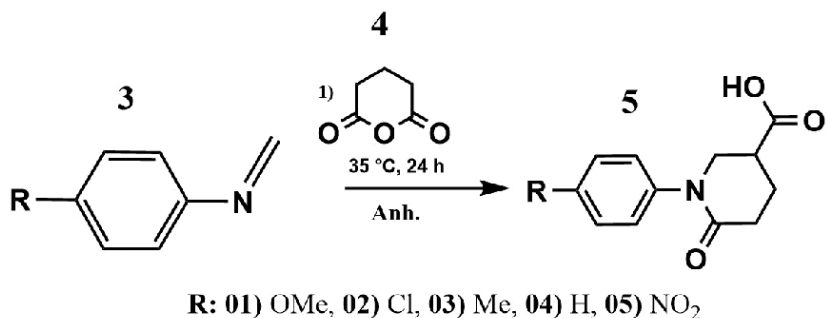


Figura A3. Síntesis de ácidos mediante la Reacción de Castagnoli-Cushman

En un matraz bola de fondo plano de 250 mL, se vertieron 240 mL de tolueno anhidro (secado previamente con Na₂SO₄ y mallas moleculares de 4 Å. Se disolvieron 35 mmol (7.727 g) **3** y, posteriormente, se adicionaron 42 mmol (4.792 g) de **4**. La mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación y se monitoreó mediante TLC; el tiempo de reacción se limitó a un máximo de 24 h para evitar la formación de productos de degradación. Pasado este periodo, la suspensión se filtró al vacío para separar las mallas moleculares y el sólido precipitado.

El filtrado se concentró hasta obtener un residuo amorfo de coloración rosácea. Tanto este residuo como el sólido precipitado se sometieron a un proceso de purificación por recristalización mediante un sistema par de disolventes (MeOH/Tolueno). En caso de haberse detectado impurezas por TLC (fase móvil AcOEt/Hexano 50:50 con 1% de HCOOH), se realizó un tratamiento con carbón activado y filtración en caliente. La recristalización se efectuó disolviendo el producto en el mínimo volumen de MeOH a ebullición, adicionando tolueno caliente gota a gota hasta la aparición de turbidez persistente y permitiendo el enfriamiento gradual para la formación de cristales. Las mallas moleculares se lavaron con MeOH caliente para recuperar trazas de **5**, las cuales fueron purificadas bajo las mismas condiciones. **5** se obtuvo como un sólido cristalino de color rosa (AFAE-1) o blanco (AFAE-2 a AFAE-4), con un rendimiento del 51.6% (18.07 mmol, 4.501 g) (PM: 249.10 g/mol).

Anexo 4

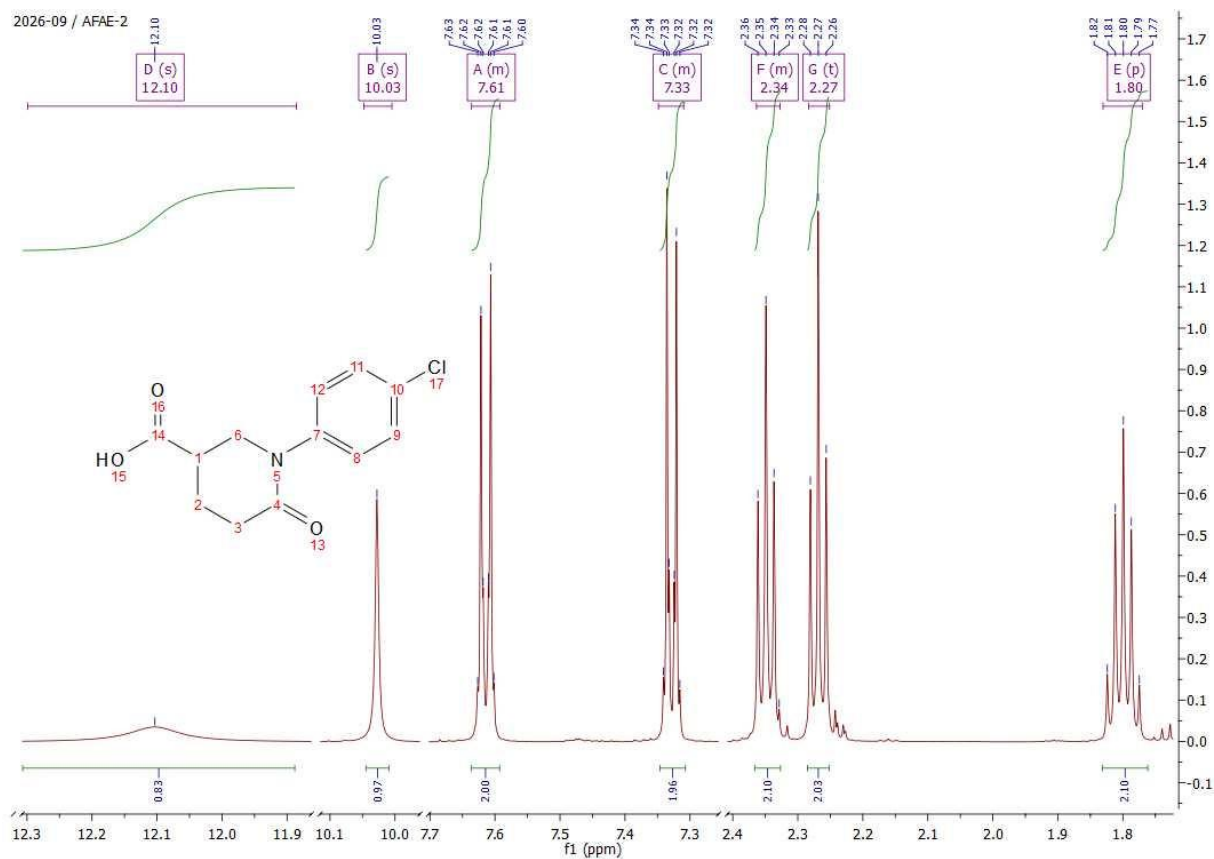


Figura A4. Espectro de RMN de ^1H de AFAE-2. Las señales asignadas al compuesto: δ 12.10 ppm (1H, -COOH), δ 10.03 ppm (1H, H metínico del anillo), δ 7.61 ppm (2H, aromáticos), δ 7.33 ppm (2H, H aromáticos), δ 2.34, δ 2.27 y δ 1.80 ppm correspondientes a los CH_2 del anillo de piperidinona.

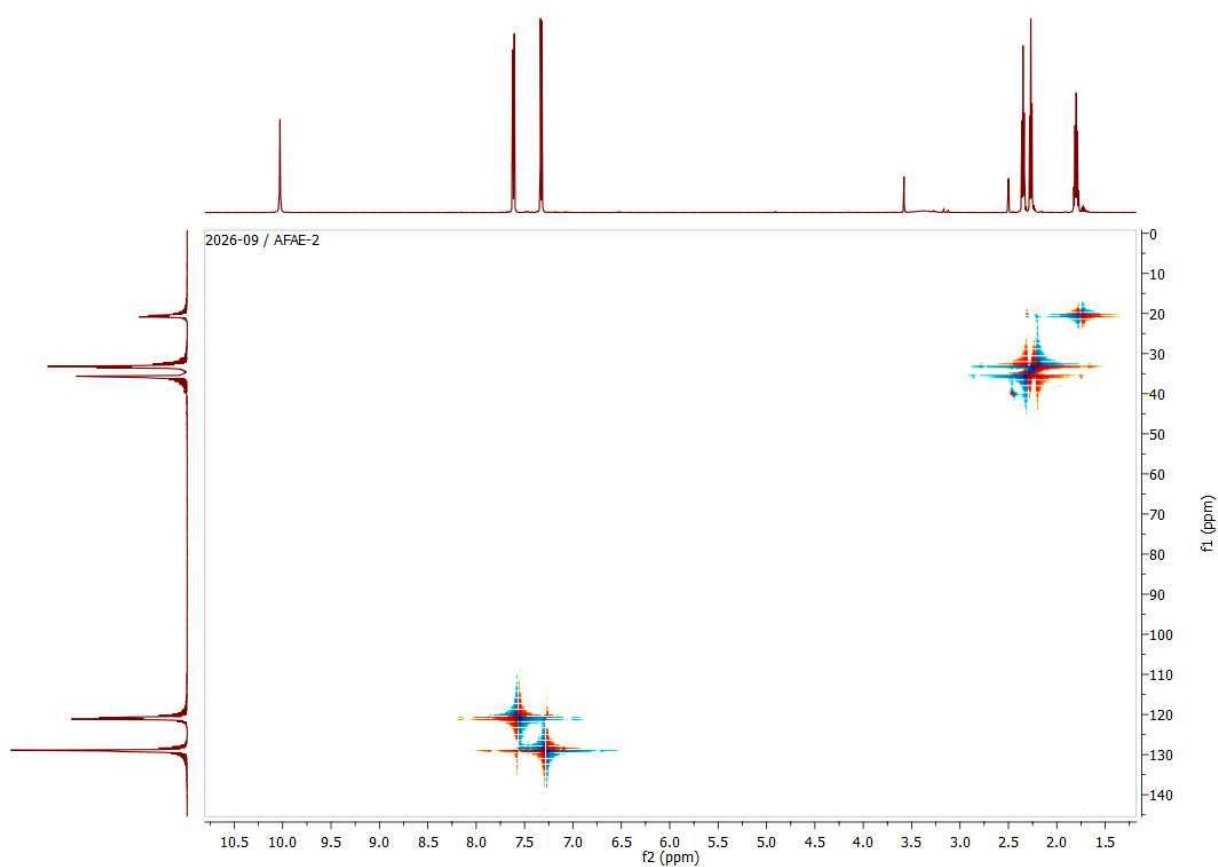


Figura A4.2. Espectro HSQC ^1H – ^{13}C correspondiente a AFAE-2. Se muestran las correlaciones heteronucleares directas entre protones y carbonos unidos a un enlace, empleadas como apoyo para la asignación estructural del compuesto.

Anexo 5

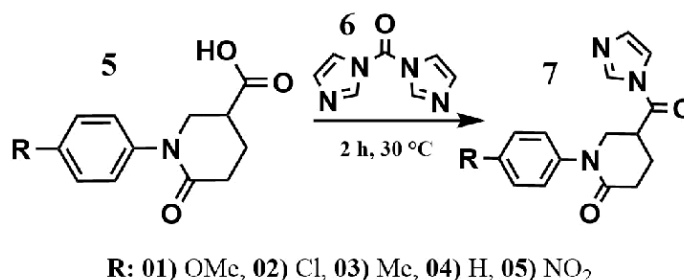


Figura A5. Activación carboxílica mediante 1,1'-Carbonildiimidazol

En un matraz bola de fondo plano de 50 mL, se disolvieron 5 mmol (1.2455 g) de **5** en 7 mL de THF anhidro bajo atmósfera inerte. Una vez obtenida una solución homogénea, se adicionaron 6 mmol (0.9827 g) de **6**. La mezcla se mantuvo bajo agitación vigorosa, observándose de inmediato el desprendimiento de CO₂. La reacción se prolongó durante 2 h tras el término del burbujeo para asegurar la formación completa de **7**. Debido a su reactividad, **7** no fue purificado, empleándose *in situ* para el siguiente paso; la interrupción del burbujeo se tomó como indicador de la conversión.

Anexo 6

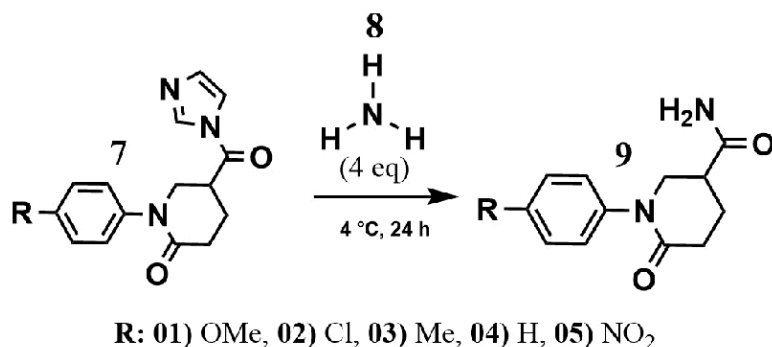


Figura A6. Síntesis de las amidas mediante sustitución nucleofílica

El matraz que contenía a **7** se enfrió externamente en un baño de hielo hasta alcanzar una temperatura aproximada de 4 °C. Posteriormente, se adicionaron lentamente 4 equivalentes (5 mL) de **8**. La baja temperatura se mantuvo durante la adición para minimizar la competencia nucleofílica del disolvente (MeOH). El progreso de la reacción se monitoreó mediante TLC utilizando el sistema de elución AcOEt/Tolueno/ACN/HCOOH (73:20:5:2) hasta observar la conversión máxima de **7** hacia **9**.

La purificación cambió según el derivado obtenido, para AFAE-1 se realizó una filtración simple para remover impurezas, seguida de una recrystalización con EtOH caliente. Para AFAE-3 y AFAE-4, se empleó una resuspensión en una solución acuosa de NaOH (pH 13), seguida de una filtración y posterior recrystalización en EtOH caliente. **9** se obtuvo como un producto blanco, con morfología cristalina y un rendimiento del producto purificado de 49.77% (2.48 mmol, 0.6174g) (PM: 248.12 g/mol).

Anexo 7

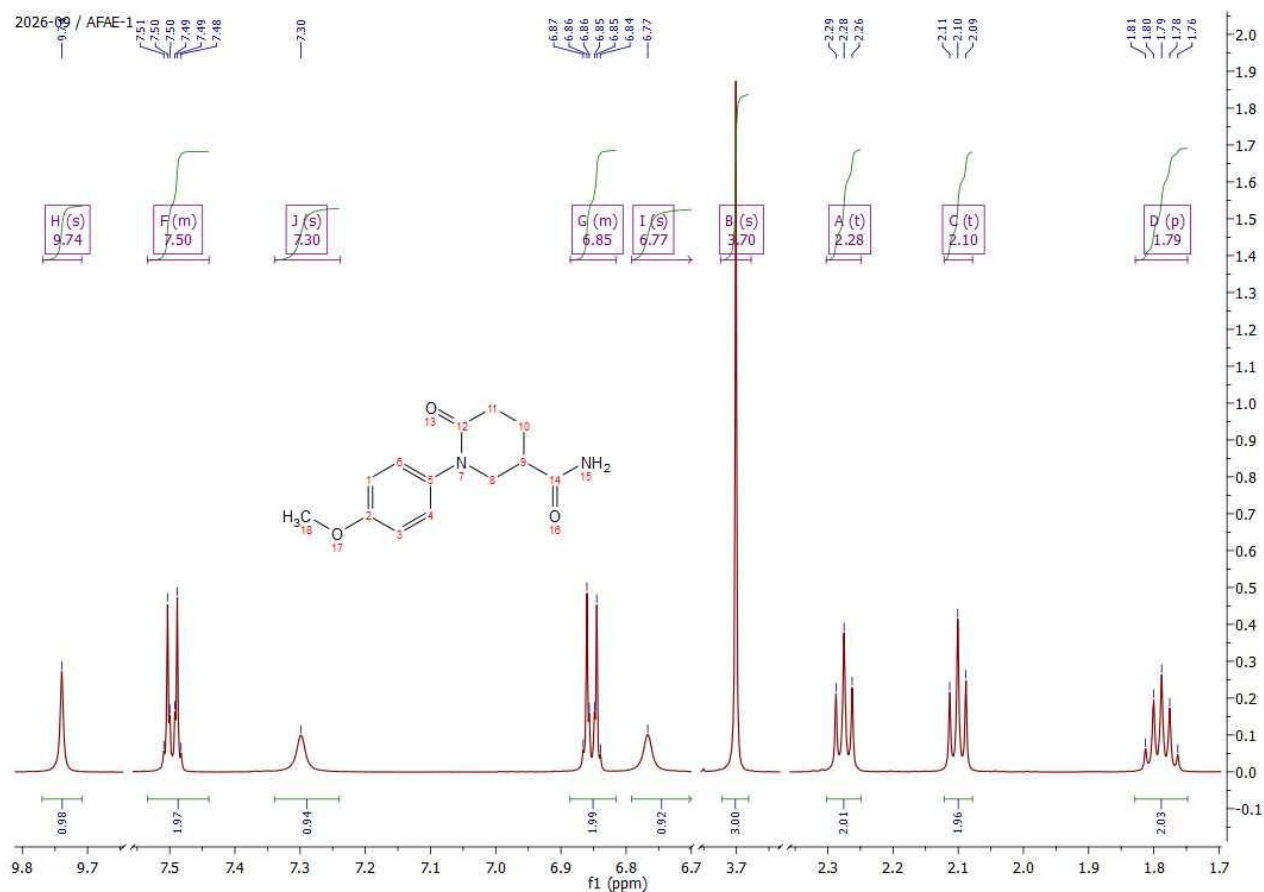


Figura A7.1. Espectro de RMN de ¹H de AFAE-1. Las señales asignadas al compuesto: δ 9.74 ppm (1H, H metínico del anillo), δ 7.5 ppm (2H, aromáticos), δ 6.85 ppm (2H, H aromáticos), δ 7.30 y δ 6.77 (2H, -CONH₂) δ 3.7 ppm (3H, -OCH₃) y δ 2.28, δ 2.10 y δ 1.68 ppm correspondientes a los CH₂ del anillo de piperidinona.

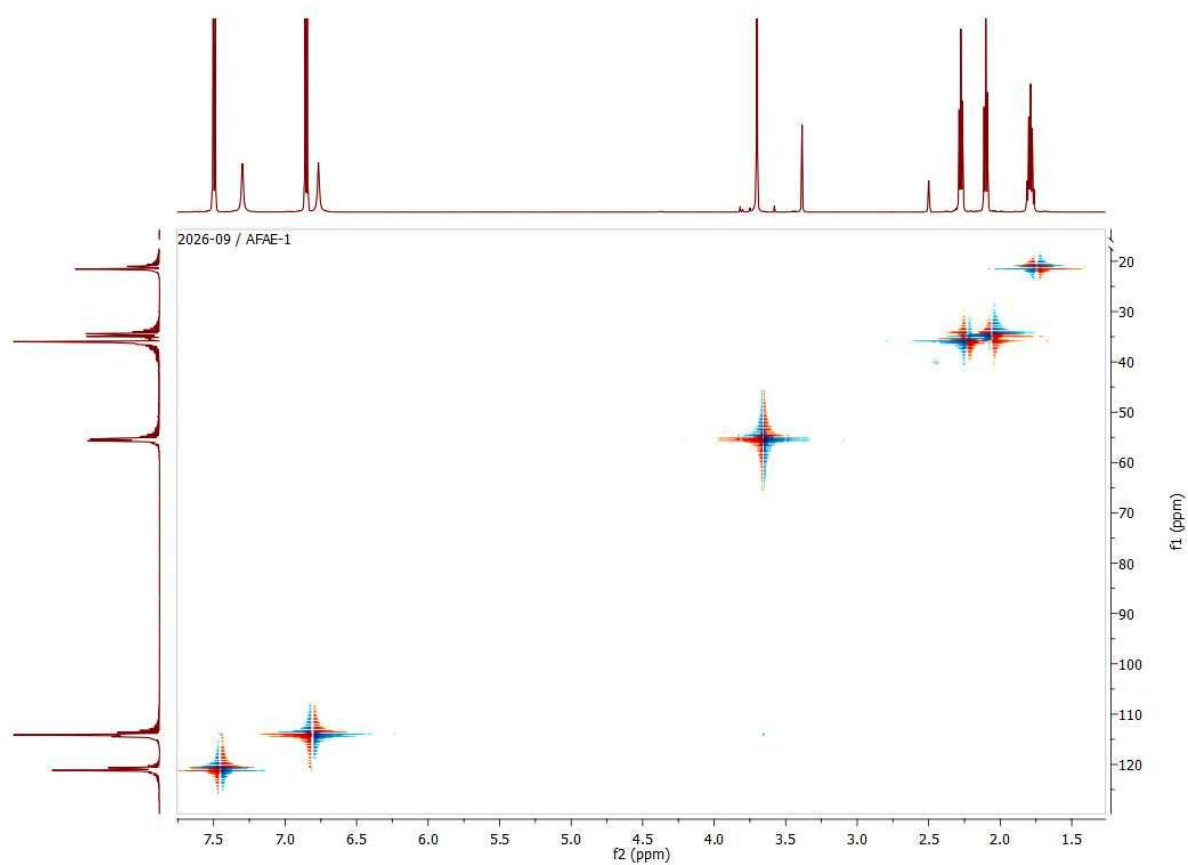


Figura A7.2. Espectro HSQC ^1H – ^{13}C correspondiente a AFAE-1. Se muestran las correlaciones heteronucleares directas entre protones y carbonos unidos a un enlace, empleadas como apoyo para la asignación estructural del compuesto.

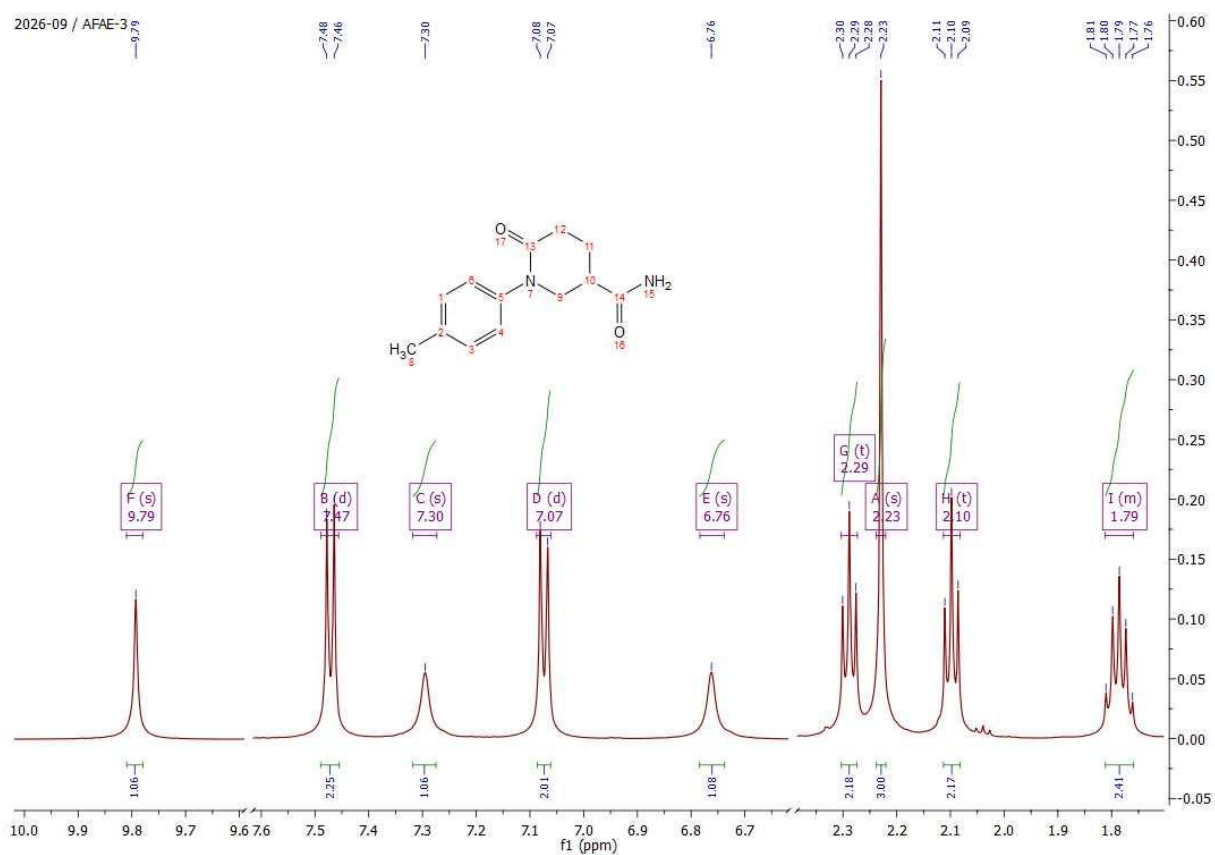


Figura A7.3 Espectro de RMN de ¹H de AFAE-3. Las señales asignadas al compuesto: δ 9.79 ppm (1H, H metínico del anillo), δ 7.47 ppm (2H, aromáticos), δ 7.07 ppm (2H, H aromáticos), δ 7.30 y δ 6.76 (2H, -CONH₂) δ 2.23 ppm (3H, -CH₃) y δ 2.29, δ 2.10 y δ 1.79 ppm correspondientes a los CH₂ del anillo de piperidinona.

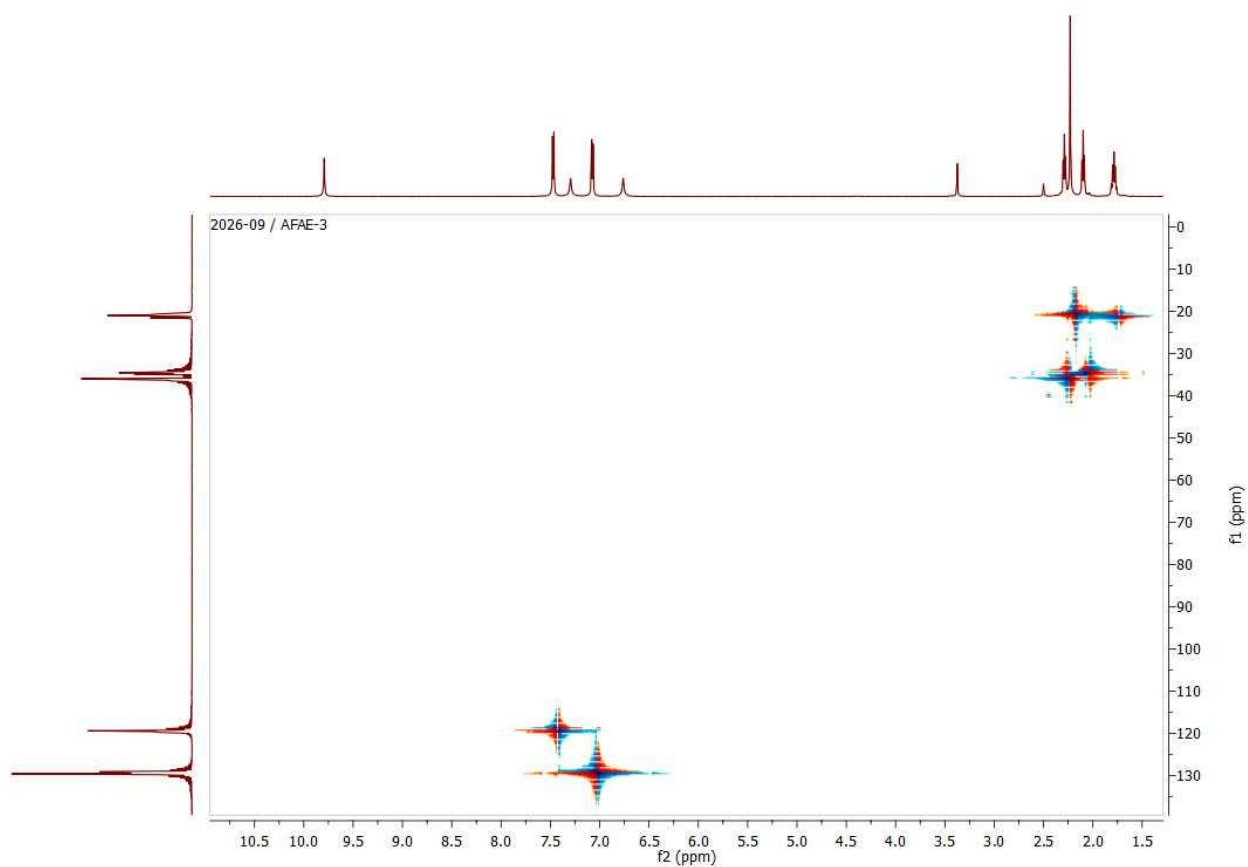


Figura A7.4. Espectro HSQC ^1H – ^{13}C correspondiente a AFAE-3. Se muestran las correlaciones heteronucleares directas entre protones y carbonos unidos a un enlace, empleadas como apoyo para la asignación estructural del compuesto.

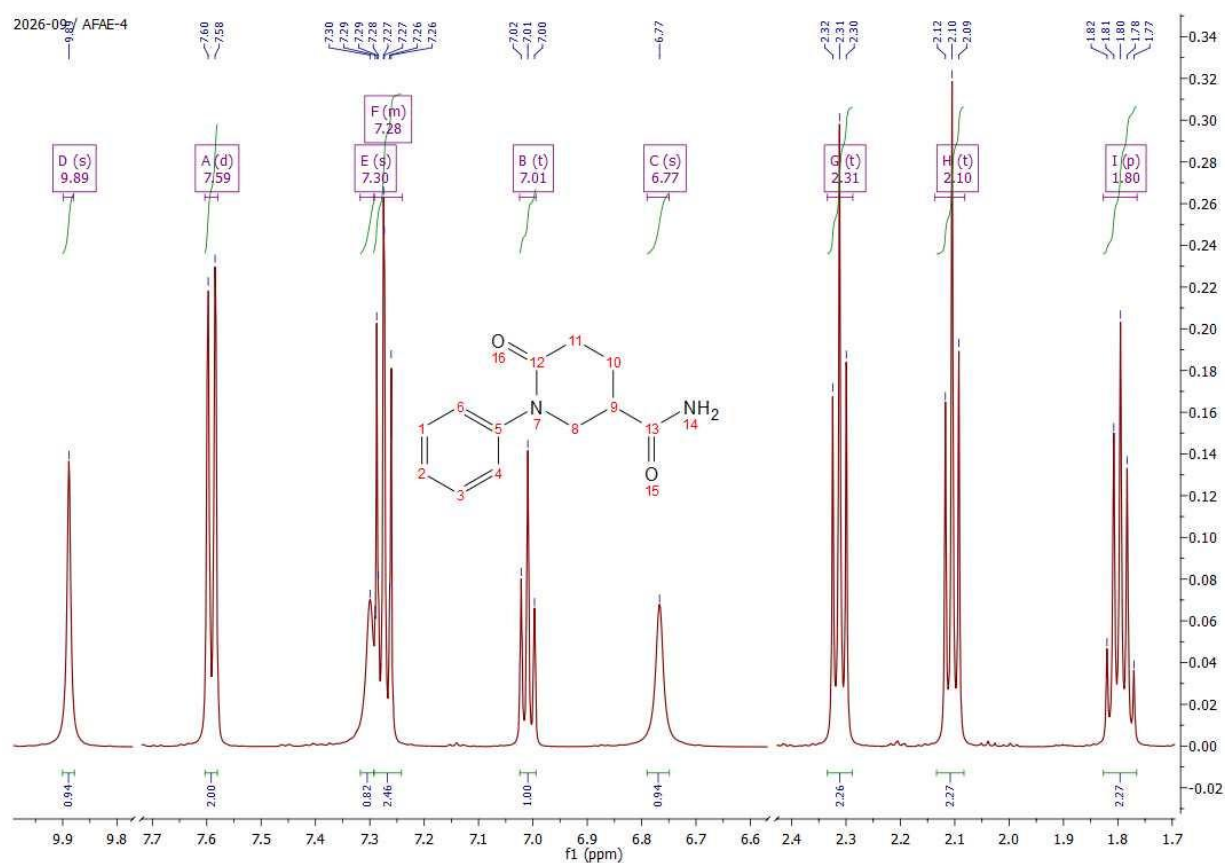


Figura A7.5. Espectro de RMN de ^1H de AFAE-4. Las señales asignadas al compuesto: δ 9.89 ppm (1H, H metínico del anillo), δ 7.59 ppm (2H, aromáticos), δ 7.28 ppm (2H, H aromáticos), δ 7.30 y δ 6.77 (2H, -CONH₂), δ 7.28 ppm (1H, aromático), δ 2.31, δ 2.10 y δ 1.80 ppm correspondientes a los CH₂ del anillo de piperidinona.

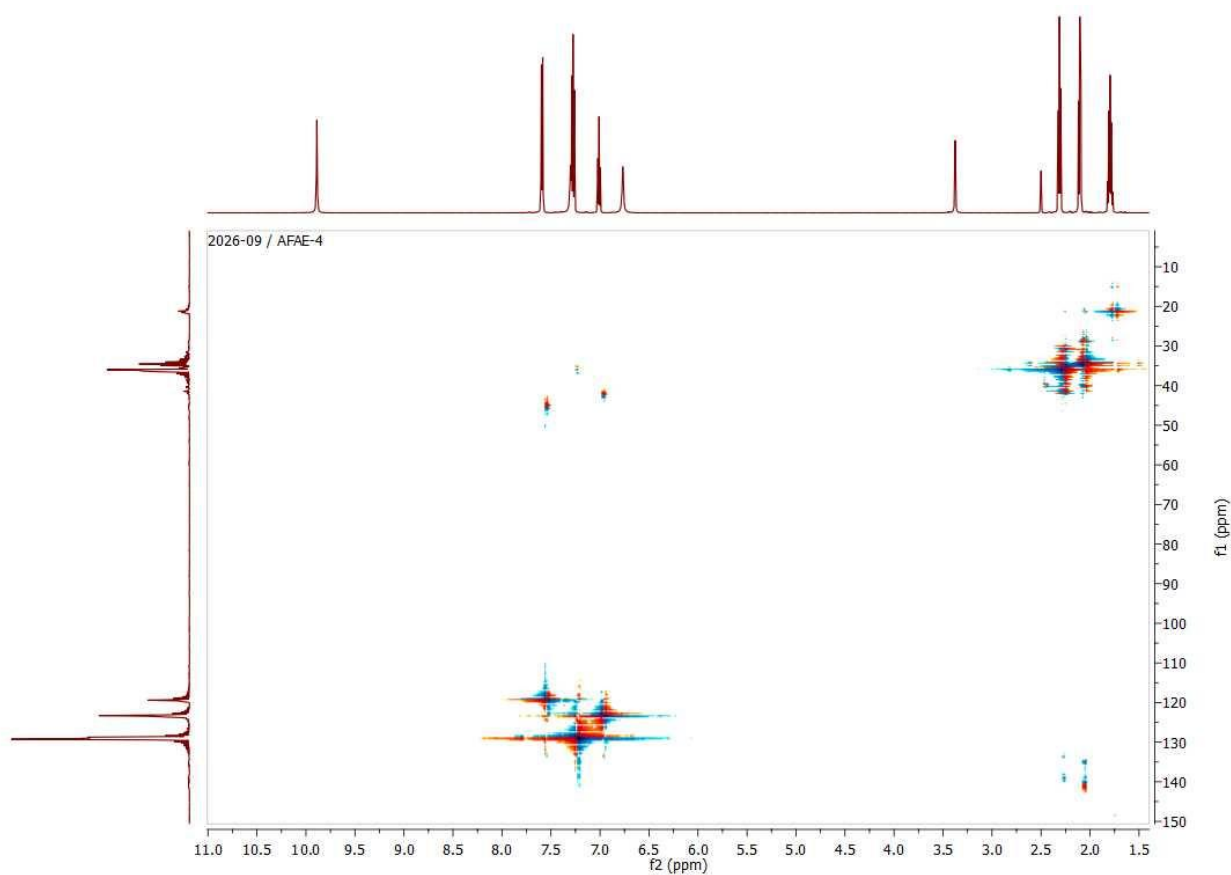


Figura A7.6. Espectro HSQC ^1H – ^{13}C correspondiente a AFAE-2. Se muestran las correlaciones heteronucleares directas entre protones y carbonos unidos a un enlace, empleadas como apoyo para la asignación estructural del compuesto.

Anexo 8

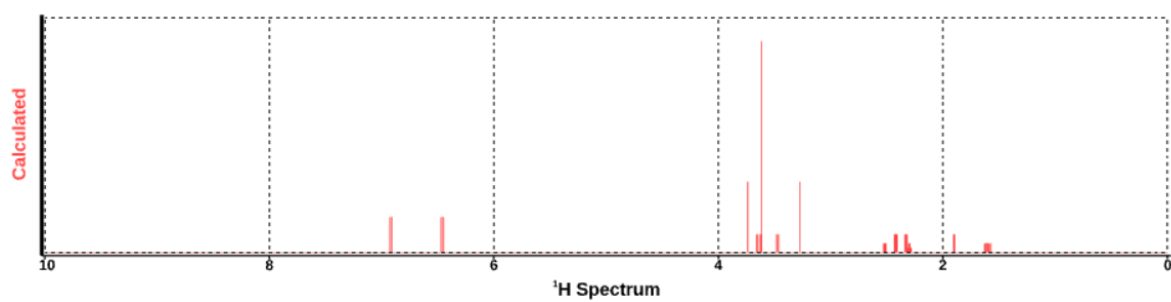


Figura A8.1. Espectro predicho para el enantiómero S de AFAE-1

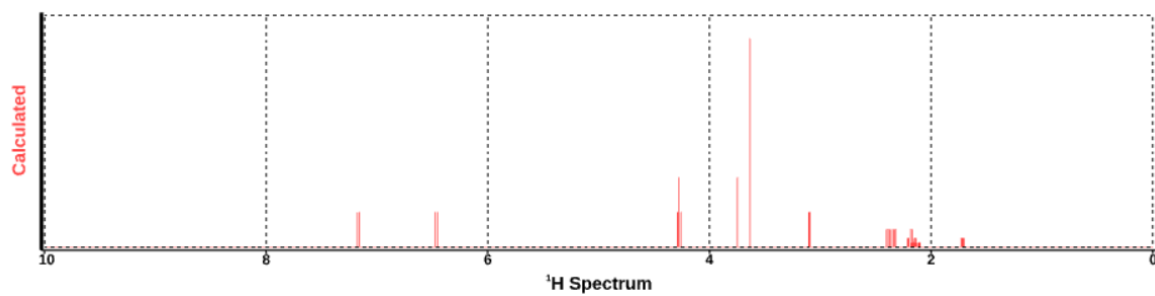


Figura A8.2. Espectro predicho para el enantiómero R de AFAE-1