

SEP

SES

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TIJUANA

CENTRO DE GRADUADOS E INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA

TESIS

“Síntesis de dipéptido-oxazolidinonas con actividad biológica potencial”

Presentado por
M.C. Eleazar Alcántar Zavala

Para obtener el grado de
Doctor en Ciencias en Química

Director de tesis
Dr. Adrián Ochoa Terán

Co-Director de tesis
Dr. Julio Montes Ávila

TIJUANA, B. C.

FEBRERO DEL 2021



"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Tijuana, B.C., 09/diciembre/2020

Oficio No. 129/CG/2020

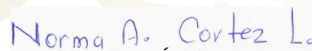
Asunto: Se autoriza impresión de trabajo de tesis


YAZMÍN MALDONADO ROBLES
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
PRESENTE

Los que suscriben tienen a bien informar que el manuscrito de tesis titulado "Síntesis de dipéptido_oxazolidinonas con actividad biológica potencial", presentado por la C. Eleazar Alcántar Zavala, (con número de control D15210939), cumple con los requisitos de calidad y formato para tesis de Doctorado en Ciencias en Química. Por consiguiente, se aprueba y autoriza al interesado para que proceda a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE


DR. ADRIÁN OCHOA TERÁN
Presidente


DRA. NORMA AIDÉ CORTEZ LEMUS
Secretaria del Jurado


DR. DANIEL CHÁVEZ VELASCO
1er. Vocal del Jurado


DR. VALENTÍN MIRANDA SOTO
2do. Vocal del Jurado


DR. JULIO MONTES ÁVILA
3er. Vocal del Jurado

C.p. Oficina de Titulación
C.p. Expediente
C.p. Interesado

AOT/NACL/DCV/VMS/JMA/rmp





EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



Instituto Tecnológico de Tijuana

"Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Tijuana, Baja California, **11/noviembre/2020**
OFICIO No. 119/DEPI/2020
Asunto: Autorización de Impresión de Tesis

MARIBEL GUERRERO LUIS
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE SERVICIOS ESCOLARES
PRESENTE

En lo referente al trabajo de tesis, "**Síntesis de dipéptido_oxazolidinonas con actividad biológica potencial**". Presentado por C. **Eleazar Alcántar Zavala**, alumno del Doctorado en Ciencias en Química con número de control **D15210939**); informo a usted que a solicitud del comité de tutorial, tengo a bien **Autorizar la impresión de Tesis**, atendiendo las disposiciones de los Lineamientos para la Operación de Estudios de Posgrado del Tecnológico Nacional de México.

Sin más por el momento le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica®
Por una Juventud Integrada al Desarrollo de México ®




YAZMIN MALDONADO ROBLES
JEFA DE DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

C.p. Interesado
C.p. Archivo



Calzada del Tecnológico S/N Esq. Av. Castillo de Chapultepec y calle Cuauhtemotzin,
Fracc. Tomás Aquino C.P. 22414, Tijuana, Baja California, Commut. (664) 6078400 Ext.
e-mail: dir_tijuana@tecnm.mx,
www.tectijuana.edu.mx





TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Tijuana

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TIJUANA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

CARTA DE CESION DE DERECHOS

En la ciudad de Tijuana, B.C. del 09 de diciembre del 2020, el C. Eleazar Alcántar Zavala, alumno del Programa de Doctorado en Ciencias en Química con número de control D15210939, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de tesis bajo la dirección de Dr. Adrián Ochoa Terán y ceden los derechos del trabajo titulado “Síntesis de dipéptido-oxazolidinonas con actividad biológica potencial” al Tecnológico Nacional de México /IT Tijuana para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, figuras, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección de correo electrónico: ochoa@tectijuana.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Eleazar Alcántar Zavala



Calzada del Tecnológico S/N Esq. Av.Castillo de Chapultepec y calle Cuatehmozin.
Fracc. Tomás Aquino C.P. 22414. Tijuana, Baja California. Commut (664) 6078400 Ext. 101
e-mail: dir_tijuana@tecnm.mx



AGRADECIMIENTOS

A mi familia, por ser ese importante motor en mi vida, al brindarme todo su apoyo y amor sin consideración alguna, al no dejarme flaquear en ningun momento. Todo lo que soy es por ustedes.

Al Dr. Adrián Ochoa Terán, que a lo largo de mi estancia de verano durante la licenciatura hasta la culminación del doctorado ha sido un pilar importante en mi formación académica y personal. Gracias por guiarme en este bello camino de la investigación.

Al Dr. Julio Montes Ávila, por lograr que un chico de licenciatura se involucrará en el campo de la investigación y hoy este terminado sus estudios de doctorado. Gracias por su tiempo, disponibilidad y empeño al momento de ayudarme en mi formación académica y personal.

A mi comité de evaluación la Dra. Norma Aidé Cortez Lemus, el Dr. Daniel Chávez Velasco y el Dr. Valentín Miranda Soto, por todas las observaciones y correcciones durante el doctorado que sin duda alguna hicieron mejorar mi trabajo académico y también personal.

A mis compañeros del centro de graduados en el Instituto Tecnológico de Tijuana y de la Universidad Autónoma de Sinaloa, a todos ustedes muchas gracias por hacer mas amena mi estadia en el laboratorio. Por que apesar de ser muy diferentes en muchos sentidos logramos dejar eso de lado y formamos una bonita amistad. Una dedicación especial a Esteban Hernández Guevara y a su esposa Patricia Ortiz por que desde el día uno que llegue a Tijuana me hicieron sentir cobijado como en casa, otorgándome un espacio en su familia.

GRACIAS!!

Contenido

Contenido	<i>i</i>
Lista de Figuras	<i>v</i>
Lista de Esquemas	<i>x</i>
Lista de Tablas	<i>xi</i>
Lista de acrónimos y abreviaturas	<i>xiv</i>
Lista de compuestos sintetizados	<i>xvii</i>
Reconocimientos institucionales	<i>xx</i>
Vita	<i>xxi</i>
Resumen	<i>xxii</i>
Abstract	<i>xxiii</i>
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Infecciones bacterianas.	1
1.2. Infecciones nosocomiales.	2
1.3. Antibióticos.	4
1.4. Oxazolidinonas.	6
1.5. Péptidos.	9
1.6. Acoplamiento molecular automatizado.	11
1.7. Parasitosis intestinal.	11
1.7.1. Giardiasis.	11
1.7.2. Hymenopeliasis.	12
II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	15
2.1. Justificación.	15
2.2. Objetivo general.	15
2.3. Objetivos específicos.	15
III. ANTECEDENTES	17
3.1. Naturaleza: base de la industria farmacéutica.	17
3.2. Síntesis y evaluación de oxazolidinonas.	19

3.3. Síntesis de linezólida.	22
3.4. Análogos de linezólida.	23
3.5. Péptidos.	38
3.6. Hipótesis.	42
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
4.1. Síntesis de α -aminoéster de alanina 18 .	44
4.2. Síntesis de (S)-2-(N,N-dibencilamino)propionato de metilo (19).	44
4.3. Síntesis de (S)-2-(N,N-dibencilamino)-1-propanol (20).	47
4.4. Síntesis de (S)-2-(N,N-dibencilamino)-1-propanal (1).	48
4.5. Síntesis de α -(N,N-dibencilamino)trimetilsililoxicianhidridas, 2 y 3 .	49
4.6. Síntesis de α -(N,N-dibencilamino)aminoalcoholes, 4 y 5 .	50
4.7. Síntesis de oxazolidinonas, 6 y 7 .	52
4.8. Evaluación de la actividad antibacteriana y antiparasitaria de los compuestos, 6 y 7 .	59
4.9. Síntesis de 4-(2-flúor-4-nitrofenil)morfolina (27).	63
4.10. Síntesis de 3-fluoro-4-morfolinilina (28).	67
4.11. Síntesis de 4-(4-bromo-2-fluorofenil)morfolina (29).	70
4.12. Síntesis de análogos de linezólida 30 y 31 .	73
4.13. Síntesis de amino oxazolidinonas 32 y 33 .	81
4.14. Síntesis de dipéptido-oxazolidinonas 34a-h y 35a-h .	86
4.15. Estudio de la actividad antibacteriana de compuestos dipéptido-oxazolidinona 34a-h y 35a-h mediante microdilución en caldo.	108
4.16. Estudio antibacteriano de compuestos dipéptido-oxazolidinona 34a-h y 35a-h mediante Kirby-Bauer / Difusión en agar.	110
4.17. Estudio de acoplamiento molecular automatizado de compuestos dipéptido-oxazolidinona 34a-h y 35a-h .	111
4.18. Actividad antiparasitaria <i>in vitro</i> de compuestos tipo dipéptido oxazolidinona 34a-h y 35a-h contra <i>Giardia duodenalis</i> .	115
4.19. Evaluación de la actividad citotóxica <i>in vitro</i> de compuestos dipéptido-oxazolidinona 34a, 34f, 35a, 35d, 35f y 35h .	117

4.20. Desprotección del fragmento Fmoc de análogo de linezólida tipo dipéptido 36a .	122
4.21. Síntesis de análogos de linezólida 38 y 39 .	126
4.22. Evaluación de la actividad antibacteriana de análogos de linezólida 30, 31, 32, 33, 38 y 39 .	132
4.23. Evaluación de la actividad antiparasitaria de análogos de linezólida 30, 31, 32, 33, 38 y 39 frente al céstodo <i>Hymenolepis nana</i> .	136
4.22. Evaluación de la actividad citotóxica <i>in vitro</i> de los compuestos análogos a linezólida (32, 33, 38 y 39).	141
V. EXPERIMENTAL	142
5.1. Generalidades.	142
5.2. Síntesis de éster metílico de alanina (18).	143
5.3. Síntesis de (S)-2-(N,N-dibencilamino)propionato de metilo (19).	143
5.4. Síntesis de (S)-2-(N,N-dibencilamino)-1-propanol (20).	144
5.5. Síntesis de (S)-2-(N,N-dibencilamino)-1-propanal (1).	145
5.6. Síntesis de α -(N,N-dibencilamino)trimetilsililoxicianhidras, 2 y 3 .	146
5.7. Síntesis de α -(N,N-dibencilamino)aminoalcoholes, 4 y 5 .	146
5.8. Síntesis de oxazolidinonas, 6 y 7 .	147
5.9. Síntesis de 4-(2-flúor-4-nitrofenil)morfolina (27).	148
5.10. Síntesis de 3-fluoro-4-morfolinanilina (28).	149
5.11. Síntesis de 4-(4-bromo-2-fluorofenil)morfolina (29).	150
5.12. Síntesis de análogos de linezólida, 30 y 31 .	150
5.13. Síntesis de amino oxazolidinonas, 32 y 33 .	152
5.14. Síntesis de dipéptido-oxazolidinonas 34a-h y 35a-h .	153
5.15. Desprotección del fragmento Fmoc al análogo de tipo dipéptido (36a).	164
5.16. Síntesis de análogos de linezólida derivados de la reacción de acetilación de 32 y 33 .	165

5.17. Estudio antibacteriano de compuestos dipéptido-oxazolidinona y análogos de linezólida 30, 31, 32, 33, 34a-h, 35a-h, 38 y 39 mediante microdilución en caldo.	166
5.18. Estudio antibacteriano de compuestos dipéptido-oxazolidinona 30, 31, 32, 33, 34a-h, 35a-h, 38 y 39 mediante Kirby-Bauer/Difusión en agar.	169
5.19. Estudio de acoplamiento molecular automatizado 30, 31, 32, 33, 34a-h, 35a-h, 38 y 39 (docking).	172
5.17.1. Preparación de las estructuras de proteína.	172
5.17.2. <i>Docking</i> de linezólida con MOE 2018.	
5.20. Actividad antiparasitaria <i>in vitro</i> de análogos de linezólida 30, 31, 32, 33, 34a-h, 35a-h, 38 y 39 contra <i>Giardia duodenalis</i> .	175
5.20.1. Criopreservación de la cepa de <i>G. duodenalis</i> .	175
5.20.2. Cultivo de trofozoitos de <i>G. duodenalis</i> .	176
5.20.3. Evaluación de la actividad antiparasitaria <i>in vitro</i> de los compuestos 30, 31, 32, 33, 34a-h, 35a-h, 38 y 39 .	176
5.21. Ensayo para determinar la actividad antiparasitaria de análogos de linezólida 30, 31, 32, 33, 38 y 39 frente al céstodo <i>Hymenolepis nana</i> .	178
5.21.1. Obtención de adultos de <i>Hymenolepis nana</i> en ratones.	178
5.21.2. Condiciones de cultivo de <i>Hymenolepis nana</i> .	178
5.21.3. Evaluación de la actividad antiparasitaria.	179
5.21.4. Determinación de la viabilidad mediante la exclusión de azul de Evan's.	179
5.22. Evaluación de la actividad citotóxica <i>in vitro</i> de los compuestos 30, 31, 32, 33, 34a-h, 35a-h, 38 y 39 .	179
VI. CONCLUSIONES	181
VII. REFERENCIAS	183

Lista de Figuras

Figura 1.	Interacción de linezólida con la subunidad 50S.	8
Figura 2.	Modelado molecular de linezólida en el sitio de acción.	8
Figura 3.	Interacciones de linezólida en la subunidad 50S de la cepa <i>Haloarcula marismortui</i> .	9
Figura 4.	Interacción de vancomicina con su receptor <i>N</i> -acil-D-Ala4-D-Ala5 mediante enlaces de hidrógeno.	10
Figura 5.	Estructura general de los análogos a linezólida y análogos de linezólida de tipo dipeptide a sintetizar.	13
Figura 6.	A) Medicamentos nuevos aprobados entre 01-ene-81 al 30-sep-19 (n= 1881). B) Antibióticos aprobados por la FDA por origen (n=162). C) Antiparasitarios aprobados por la FDA por origen (n=20). (B= biológico, N= natural inalterado, NB= natural botánico, ND= Derivado natural, S= Sintético, S/NM= compuestos que imitan alguna función natural, S*= farmacóforos, V= vacunas.	18
Figura 7.	Relación estructura-actividad de linezólida.	23
Figura 8.	Clasificación en base a la reducción de la actividad en el anillo A.	24
Figura 9.	Relación de la actividad en presencia-ausencia del átomo de flúor.	25
Figura 10.	Relación en la actividad por presencia de átomos de flúor en el anillo B.	25
Figura 11.	Estructura de sutezólida.	25
Figura 12.	Modelo de interacción de linezólida (amarillo) y tedizólida (azul).	30
Figura 13.	Superposición en el sitio de acción de los compuestos 11 (azul), 13 (amarillo) y linezólida.	32
Figura 14.	Barreras de internalización del antibiótico en bacterias Gram negativas.	35

Figura 15.	Compuestos antibacterianos con inhibición de la proteína SipA: estructura base de tiazolidinona (14), tiazolidinona modificada con el dipéptido bifenilalanina-ornitina (15) y modificada con bifenilalanina-arginina (16).	39
Figura 16.	Salutaxel es metabolizado docetaxel y el dipéptido (MDP).	41
Figura 17.	Espectro de EMIE del compuesto 4 y 5 .	53
Figura 18.	Espectro de RMN ^1H del compuesto 6 en CDCl_3 .	54
Figura 19.	Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 6 en CDCl_3 .	55
Figura 20.	Espectro de RMN ^1H del compuesto 7 en CDCl_3 .	56
Figura 21.	Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 7 en CDCl_3 .	57
Figura 22.	Estructura cristalina de 7 .	57
Figura 23	Comparación en los espectros de RMN ^{13}C del par diastereomérico 6 y 7 .	58
Figura 24.	Espectro de RMN ^1H del compuesto 27 en CDCl_3 .	64
Figura 25.	Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 27 en CDCl_3 .	65
Figura 26.	Espectro de EMIE del compuesto 27 .	66
Figure 27.	Estructura cristalina de 27 .	67
Figura 28.	Espectro de RMN ^1H del compuesto 28 en CDCl_3 .	68
Figura 29.	Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 28 en CDCl_3 .	69
Figura 30.	Espectro de EMIE del compuesto 28 .	69
Figure 31.	Estructura cristalina de 28 .	70
Figura 32.	Espectro de RMN ^1H del compuesto 29 en CDCl_3 .	71
Figura 33.	Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 29 en CDCl_3 .	72
Figura 34.	Espectro de EMIE del compuesto 29 .	73
Figure 35.	Estructura cristalina de 29 .	73
Figura 36.	Patrón de fragmentacion de los compuesto 30 y 31 .	74
Figura 37.	Espectro de EMIE de los compuesto 30 y 31 .	75
Figura 38.	Espectro de RMN ^1H del compuesto 30 en CDCl_3 .	76
Figura 39.	Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 30 en CDCl_3 .	77
Figura 40.	Espectro de RMN ^1H del compuesto 31 en CDCl_3 .	78

Figura 41.	Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 31 en CDCl ₃ .	79
Figura 42.	Espectro de EMIE de los compuesto 32 y 33 .	82
Figura 43.	Espectro de RMN ¹ H del compuesto 32 en DMSO- <i>d</i> ₆ .	83
Figura 44.	Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 32 en DMSO- <i>d</i> ₆ .	84
Figura 45.	Espectro de RMN ¹ H del compuesto 33 en CDCl ₃ .	85
Figura 46	Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 33 en CDCl ₃ .	86
Figura 47.	Espectro de IR-TF del compuesto 35a .	87
Figura 48.	Espectro de EMIES del compuesto 35a .	88
Figura 49.	Espectro de RMN ¹ H de 35a en CDCl ₃ .	90
Figura 50.	Amplificación del espectro HSQC de 35a en CDCl ₃ .	91
Figura 51.	Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 35a en CDCl ₃ .	92
Figura 52.	Compuestos análogos de linezólida derivados del acoplamiento de tipo peptídico con Tyr (35b), Leu (35c), Thr (35d) y Tpr (35e).	93
Figura 53.	Compuestos análogos de linezólida derivados del acoplamiento de tipo peptídico con His (35f), Ser (35g), Cys (35h).	96
Figura 54.	Espectro de RMN ¹ H de 34a en CDCl ₃ .	100
Figura 55.	Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 34a en CDCl ₃ .	101
Figura 56.	Compuestos análogos de linezólida derivados del acoplamiento de tipo peptídico con Tyr (34b), Leu (34c), Thr (34d) y Thp (34e) .	102
Figura 57.	Compuestos análogos de linezólida derivados del acoplamiento de tipo peptídico con His (34f), Ser (34g) y Cys (34h).	105
Figura 58.	Análogos de linezólida tipo dipéptido que presentaron actividad antibacteriana.	108
Figura 59.	A) Modelado de 35a (verde) y linezólida (amarilla) y b) el mapa de interacciones de 35a .	112
Figura 60.	Modelado de 34f (amarillo) y linezólida (café) en el SFT donde se puede observar la superposición y el mapa de interacciones de la estructura 34f .interacciones de la estructura 34f .	114

Figura 61.	Modelado de linezólida (amarillo), 34f (verde) y 35f (rosa) en el SFT.	114
Figura 62.	Modelado de 34f-NH₂ (morado) y linezólida (anaranjado) y el mapa de interacciones de 34f-NH₂ .	115
Figura 63.	Actividad de 34f y 34h contra <i>Giardia duodenalis</i> : a) control positivo metronidazol 1.5 µg/mL, b) control de crecimiento, c) 34f (50 µg/mL), d) 34f (6.25 µg/mL), e) 34h (100 µg/mL), f) 23h (6.25 µg/mL).	117
Figura 64.	Porcentajes de proliferación celular del cultivo ARPE-19 con análogos de linezólida y linezólida.	119
Figura 65.	Células ARPE-19 posterior a 24 h de exposición con análogos de linezólida y linezólida como referencia. Doxorubicina y DMSO fueron empleados como controles.	120
Figura 66.	Células ARPE-19 posterior a 24 h de exposición con análogos de linezólida y linezólida como referencia. Doxorubicina y DMSO fueron empleados como controles.	121
Figura 67.	Espectro de IR-TF del compuesto 36a .	123
Figura 68.	Espectro de EMIES del compuesto 36a .	124
Figura 69.	Espectro de RMN ¹ H de 36a en CDCl ₃ .	125
Figura 70.	Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 36a en CDCl ₃ .	126
Figura 71.	Espectro de IR-TF de los compuestos 38 y 39 .	127
Figura 72.	Espectro de EMIES de los compuestos 38 y 39 .	128
Figura 73.	Espectro de RMN ¹ H de 38 en CDCl ₃ .	129
Figura 74.	Espectro de RMN ¹³ C de 38 en CDCl ₃ .	130
Figura 75.	Espectro de RMN ¹ H de 39 en CDCl ₃ .	131
Figura 76.	Espectro de RMN ¹³ C de 39 en CDCl ₃ .	132
Figura 77.	a) Docking Molecular y b) mapeo de interacciones de 30 en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de <i>E. coli</i> .	133
Figura 78.	a) Docking Molecular y b) mapa de interacciones de 33 en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de <i>E. coli</i> .	135

Figura 79.	a) Docking molecular de 39 (amarillo) y linezólida (verde). b) mapa de interacciones de 39 en el SFT.	135
Figura 80.	a) Docking molecular de 38 (amarillo) y linezólida (verde). b) mapa de interacciones de 38 en el SFT.	136
Figura 81.	Estructuras de análogos de linezólida evaluados frente <i>H. nana</i>	137
Figura 82.	a) Céstodo sin tratamiento no presenta tinción. b) Céstodo tratado con 38 durante 18 min presenta tinción c) Céstodo tratado con 31 durante 1 h presenta tinción. d) Tinción positiva en los huevos, céstodo tratado con 33 .	139
Figura 83.	Determinación de la CMI en placa de 96 pocillos de 34f frente a tres cepas bacterianas Gram positivas.	168
Figura 84.	Determinación de la CMI en placa de 96 pocillos de 34f frente a dos cepas bacterianas Gram positivas.	169
Figura 85.	Evaluación de 34f frente a bacterias diversas mediante el método Kirby-Bauer.	171
Figura 86.	Imágenes de la placa con cultivo de <i>Streptococcus</i> Gpo. A (1) al probar con linezólida (a) y los compuestos 34a , 34f , 35a , 35d , 35f y 35h .	171
Figura 87.	Diferencia en la orientación del sustituyente flúor entre el <i>docking</i> reportado por Shaw ⁵³ (A) y el obtenido en este estudio (B).	173
Figura 88.	A) <i>Docking</i> en LEDOCK. B) Reproducibilidad del <i>docking</i> de linezólida en MOE y LEDOCK. <i>Docking</i> de linezólida con LEDOCK (morado) y <i>docking</i> de linezólida con MOE (amarillo).	174
Figura 89.	Evaluación de la actividad anti-giardíasis <i>in vitro</i> de los compuestos 34f y 34h determinada por la metabolización del reactivo MTT.	177

Lista de Esquemas

Esquema 1.	Síntesis estereoselectiva de éteres de sililo 2a-e y 3a-e .	19
Esquema 2.	Síntesis de 1,3-oxazolidin-2-onas derivadas de α dibencil-amino ésteres 6a-e y 7a-e .	20
Esquema 3.	Ruta de síntesis linezólida. (a) (i-Pr) ₂ EtN, AcOEt; (b) H ₂ , 5% Pd/C, THF; (c) CBZ-Cl, NaHCO ₃ acetona-H ₂ O; (d) n-BuLi, THF -78 °C, (R)-butirato de glicidilo; (e) MsCl, Et ₃ N, CH ₂ Cl ₂ ; (f) NaN ₃ , DMF, 75 °C; (g) 10% Pd/C, H ₂ , EtOAc; (h) Ac ₂ O, piridina.	22
Esquema 4.	Ilustración de antibióticos conjugados con péptidos en su activación intrabacteriana y las tendencias estructurales de los conjugados con su eficiencia (LPS: lipopolisacárido; MO: membrana externa; MI: membrana interna).	41
Esquema 5.	Ruta de síntesis de 1,3-oxazolidin-2-ona.	43
Esquema 6.	Síntesis estereoselectiva de éteres de sililo a partir de (S)-2-(N,N-dibencilamino)-1-propanal.	49
Esquema 7.	Ruta de síntesis de análogos de linezólida derivados de α -aminoácidos.	62
Esquema 8.	Reacción de acoplamiento de las 1,3-oxazolidin-2-onas con el fragmento aril bromado en la obtención de análogos de linezólida.	74
Esquema 9.	Ruta de síntesis de compuestos dipéptido-oxazolidinonas análogos a linezólida.	80
Esquema 10.	Reacción de desprotección del grupo protector Fmoc de análogos de linezólida tipo dipéptido.	122
Esquema 11.	Acetilación de análogos de linezólida.	126

Lista de Tablas

Tabla 1	Clasificación de los antibióticos con base a su efecto sobre la bacteria.	5
Tabla 2	Clasificación de los antibióticos con base a su mecanismo de acción.	6
Tabla 3	Actividad inhibitoria de antibióticos estándar y la oxazolidinona 7a en cepas de SAMR aisladas de muestras clínicas.	21
Tabla 4	Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> de benzoxazinil-oxazolidinonas piridil sustituidas (CMI = µg/mL).	26
Tabla 5	Actividad antituberculosa <i>in vitro</i> de benzoxazinil-oxazolidinonas con sustituyentes dihidropiridinilo (CMI = µg/mL).	27
Tabla 6	Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> de radezólida y linezólida.	28
Tabla 7	Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> de linezólida y del compuesto TR-700.	29
Tabla 8	Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> de benzoxazinona análogos a linezólida (CMI = µg/mL).	31
Tabla 9	Análogos de tipo biariloxazolidinona conjugados con hidrazona.	33
Tabla 10	Comparación de linezólida frente al análogo LZD-6 .	34
Tabla 11	Actividad antibacteriana y propiedades fisicoquímicas de DP-326.	36
Tabla 12	Actividad antibacteriana de compuestos catiónicos derivados de linezólida (CMI = µg/mL).	37
Tabla 13	Concentración mínima inhibitoria (CMI) del conjugado CLsu con péptidos diversos frente <i>E. coli</i> (K-12).	42
Tabla 14	Actividad antibacteriana de los compuestos 6 y 7 (CMI = µg/mL).	59
Tabla 15	Actividad antiparasitaria de los compuestos 6 y 7 frente a <i>G. duodenalis</i> .	60
Tabla 16	Frecuencias de IR de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-onas (34a-h y 35a-h).	88

Tabla 17	Datos espectrométricos obtenidos por EMIES de los dipéptidos diversos a partir de 1,3-oxazolidin-2-onas (34a-h y 35b-d).	89
Tabla 18	Datos de RMN ¹ H y rendimientos químicos de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración <i>anti</i> (35b-e).	94
Tabla 19	Datos de RMN ¹³ C de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración <i>anti</i> (35b-e).	95
Tabla 20	Datos de RMN ¹ H y rendimientos químicos de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración <i>anti</i> (35f-h).	97
Tabla 21	Datos de RMN ¹³ C y rendimientos químicos de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración <i>anti</i> (35f-h).	98
Tabla 22	Datos de RMN ¹ H y rendimientos químicos de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración <i>sin</i> (34b-e).	103
Tabla 23	Datos de RMN ¹³ C de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración <i>sin</i> (34b-e).	104
Tabla 24	Datos de RMN ¹ H y rendimientos químicos de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración <i>sin</i> (34f-h).	106
Tabla 25	Datos de RMN ¹³ C de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración <i>sin</i> (35f-h).	107
Tabla 26	CMI (μg/mL) de análogos a linezólida tipo dipéptido frente a <i>Streptococcus</i> grupo A.	108
Tabla 27	CMI (μg/mL) de 34f frente a cepas bacterianas diferentes.	109
Tabla 28	Diámetros de los halos de inhibición de bacterias evaluadas frente a 34f .	110
Tabla 29	Valores de acoplamiento sobresalientes asignados por MOE de los análogos de linezólida con la estructura cristalina de ARNr de <i>E. coli</i> .	111
Tabla 30	Actividad antiparasitaria <i>in vitro</i> de 34d , 34f , 34h y 36f contra <i>Giardia duodenalis</i> .	115

Tabla 31	Actividad inhibitoria del crecimiento (IC ₅₀) <i>in vitro</i> de 34h y 34f contra <i>Giardia duodenalis</i> .	116
Tabla 32	Porcentajes de proliferación del cultivo celular ARPE-19 con análogos de linezólida (34a , 34f , 35a , 35d , 35f y 35h) a 50 µM	118
Tabla 33	CMI de los compuestos 30 y 33 (µg/mL).	133
Tabla 34	Valores de Score y energia de acoplamiento (kcal/mol) de análogos de linezólida.	135
Tabla 35	Actividad antiparasitaria de análogos de linezólida (30 , 31 , 32 , 33 , 38 y 39) contra <i>Hymenolepis nana</i> a 20 mg/mL.	138
Tabla 36	Actividad antiparasitaria de análogos de linezólida (30 , 31 , 32 , 33 , 38 y 39) contra <i>Hymenolepis nana</i> a concentraciones diferentes.	139
Tabla 37	Porcentaje de proliferación de células ARPE-19 con análogos de linezólida (32 , 33 , 38 y 39) a 400 µM.	141
Tabla 38	Bacterias empleadas en el ensayo de la actividad antibacteriana.	166
Tabla 39	CMI de linezólida frente a bacterias distintas.	166
Tabla 40	Diámetro (en mm) de los halos de inhibición en bacterias evaluadas frente a linezólida.	170
Tabla 41	Reactivos empleados en el medio de cultivo de <i>G. duodenalis</i> .	175

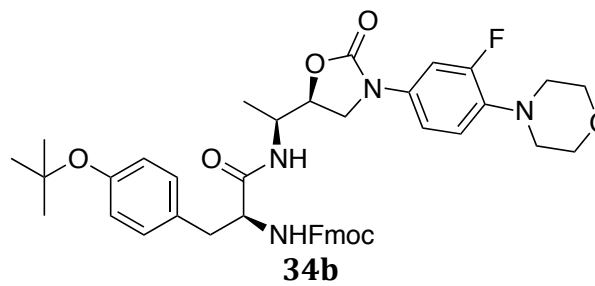
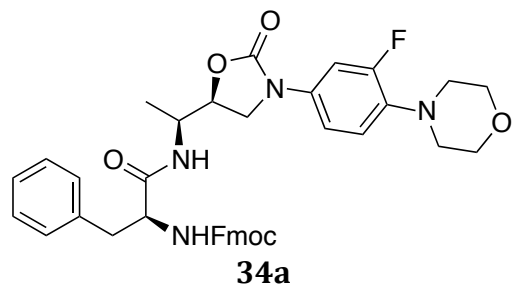
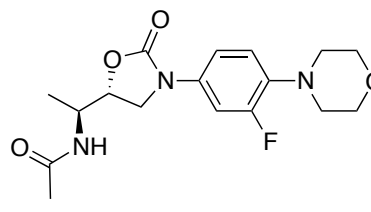
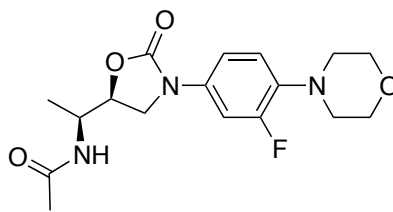
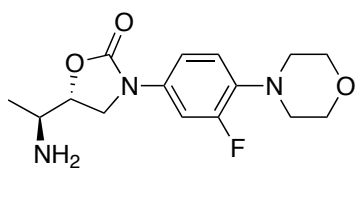
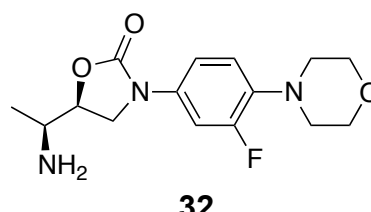
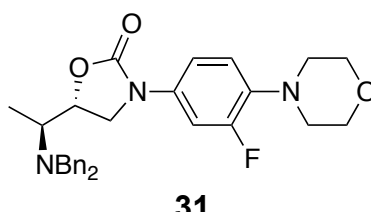
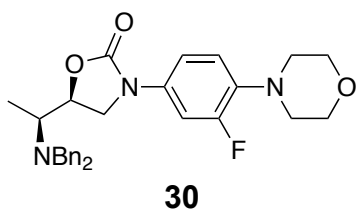
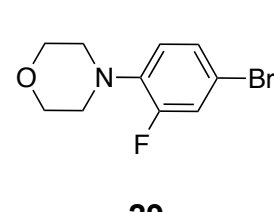
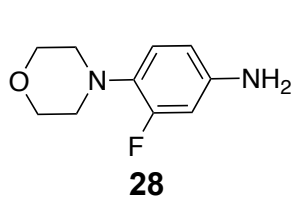
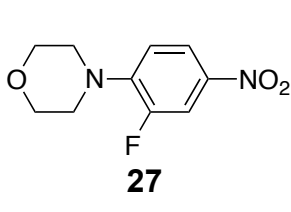
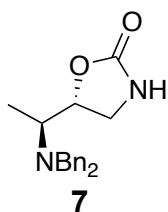
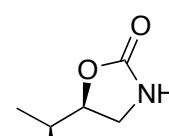
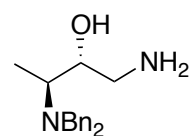
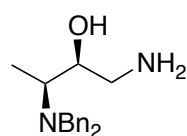
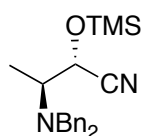
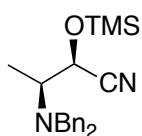
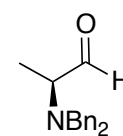
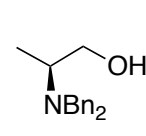
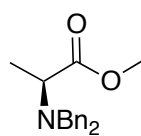
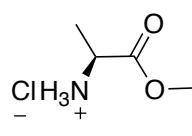
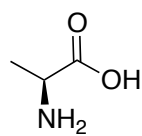
Lista de acrónimos y abreviaturas

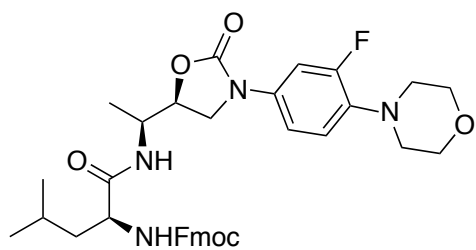
OMS	Organización mundial de la salud
(I+D)	Investigación y desarrollo
HMA	<i>Haloarcula marismortui</i>
AMA	Acoplamiento molecular automatizado
Ala	Alanina
Phe	Fenilalanina
Tyr	Tirosina
Leu	Leucina
Thr	Treonina
Tpr	Triptófano
His	Histidina
Ser	Serina
Cys	Cisteína
FTIR	Espectroscopía Infrarrojo con transformada de Fourier
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de hidrógeno
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
EMIE	Espectrometría de masas ionización por impacto electrónico
EMIES	Espectrometría de masas ionización por electroespray
Uv	ultravioleta
MTT	Bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol
MOE	Molecular Operating Environment (Entorno operático molecular)
ARPE-19	Línea celular del epitelio pigmentario de la retina
ATCC	American Type Culture Collection (Colección americana de tipos de cultivos)
CLSI	Instituto de normas clínicas de laboratorio
PDB	Banco de datos de proteínas
MgBr ₂	Bromuro de magnesio
ZnI ₂	Ioduro de cinc
TMCN	Cianuro de trimetilsililo
LiAlH ₄	Hidruro de litio y aluminio
BTC	Trifosgeno
SAMR	<i>Staphylococcus aureus</i> meticilina-resistentes
ARNr	Ácido ribonucléico ribosomal
CMI	Concentración mínima inhibitoria
CMB	Concentración mínima bactericida
SFB	Suero fetal bovino inactivado
PBS	Tampón fosfato salino
DL	Linezólida desacetilada
MDP	Muramil dipéptido
ADN	Ácido desoxirribonucleico
TMSCI	Cloruro de trimetilsililo
BnBr	Bromuro de bencilo

MeOH	Metanol
DIPEA	Diisopropiletilamina
CHCl ₃	Cloroformo
KOH	Hidróxido de potasio
NaOH	Hidróxido de sodio
NaCl	Cloruro de sodio
THF	Tetrahidrofurano
(COCl) ₂	Cloruro de oxalilo
CO ₂	Dióxido de carbono
DCM	Diclorometano
DMSO	Dimetilsufóxido
TEA	Trietilamina
NaHCO ₃	Bicarbonato de sodio
AcOEt	Acetato de etilo
H ₂	Hidrógeno molecular
Pd/C	Paladio sobre carbono
CuI	Ioduro de cobre(I)
K ₂ CO ₃	Carbonato de potasio
MeNH(CH ₂) ₂ NHMe	<i>N,N</i> -dimetiletano-1,2-diamina
Ref.	Reflujo
NaNO ₂	Nitrito de sodio
HBr	Ácido bromhídrico
CuBr	Bromuro de cobre(I)
DIC	Diisopropilcarbodiimida
HOBt	Hidroxibenzotriazol
DMF	Dimetilformamida
Fmoc	9-Fluorenilmetoxcarbonilo
SFT	Fosforil transferasa
IC ₅₀	Concentración inhibitoria media
MH	Mueller-Hinton
TSA	Agar soya tripticaseina
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
eq	Equivalentes
CH ₃ COCl	Cloruro de acetilo
TMS	Tetrametilsilano
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
Hz	Hertz
h	Hora
min	Minutos
g	Gramos
mg	Miligramos
µg	Microgramos
µM	Micromolar
mmol	Milimol
L	Litro

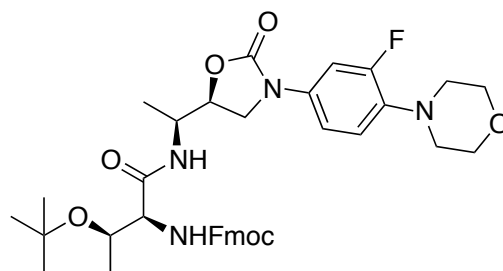
mL	Mililitro
μ L	Microlitros
d	Diámetro
mm	Milímetros
uma	Unidad de masa atómica
$^{\circ}$ C	Grados centígrados

Lista de compuestos sintetizados

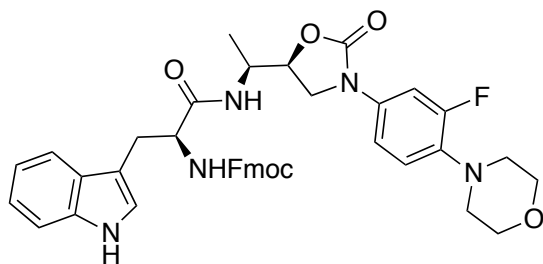




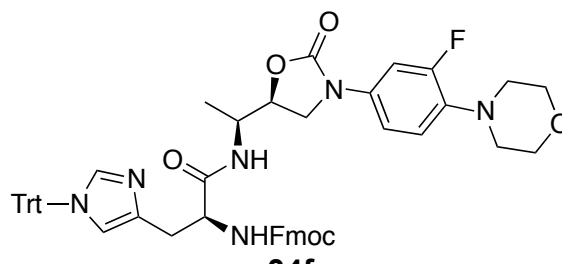
34c



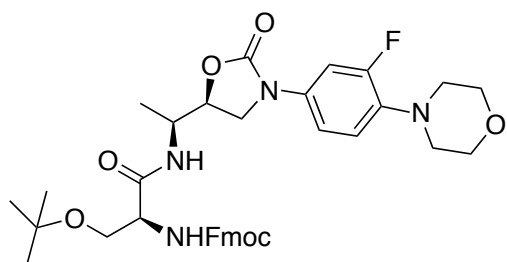
34d



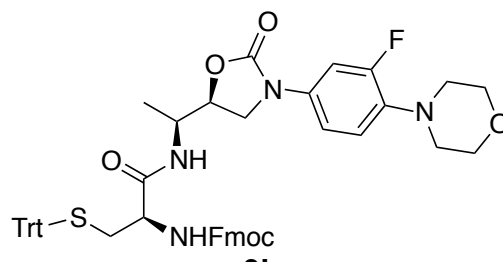
34e



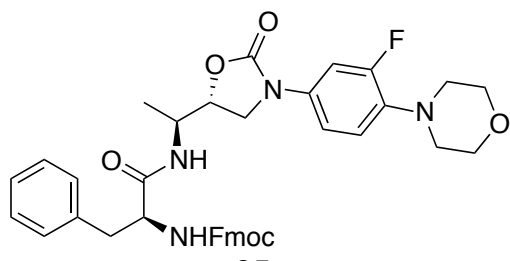
34f



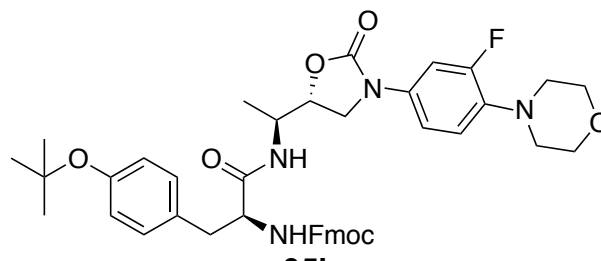
34g



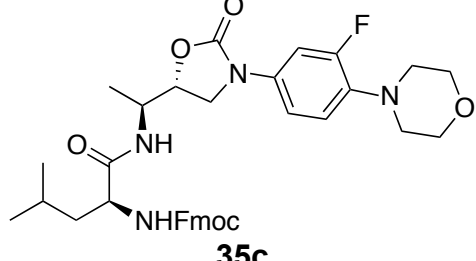
3h



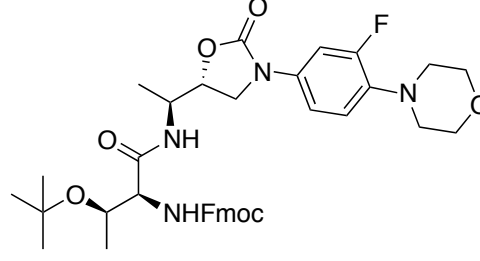
35a



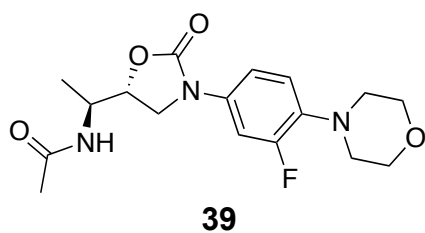
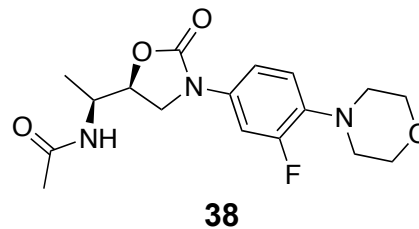
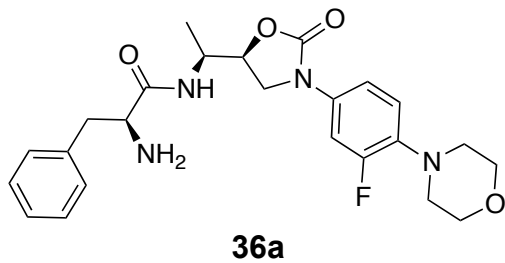
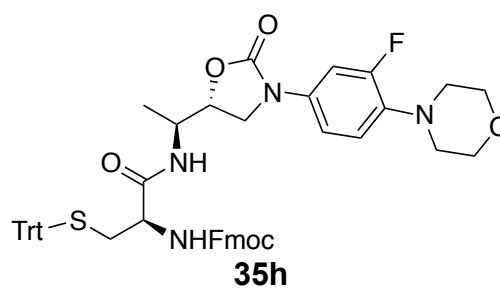
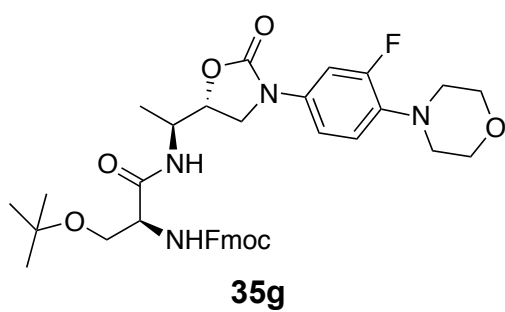
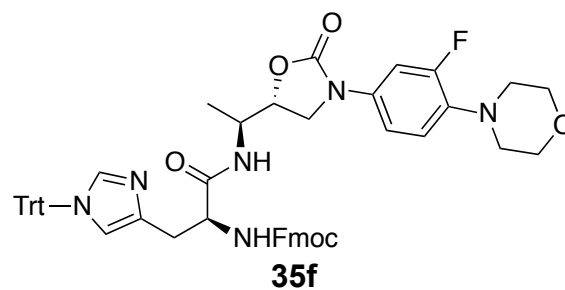
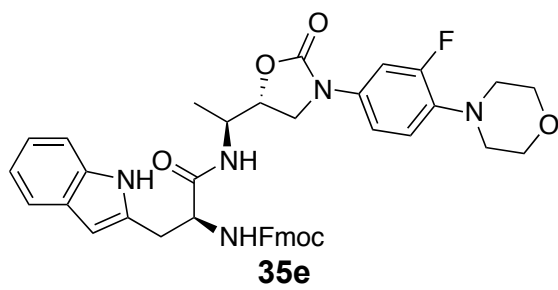
35b



35c



35d



Reconocimientos institucionales

Este trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Química Supramolecular y Medicinal del Centro de Graduados e Investigación en Química del Instituto Tecnológico de Tijuana, bajo la dirección del Dr. Adrián Ochoa Terán.

Los estudios de actividad biológica de los compuestos sintetizados se realizaron en la Unidad de Investigaciones en Salud Pública “Dra. Kaethe Wilms” de la Universidad Autónoma de Sinaloa, bajo la dirección del Dr. Julio Montes Ávila y en el Departamento de Quimicobiología de la Universidad de Sonora, con la colaboración de Dr. Alex J. Salazar Medina y Dr. Efraín Alday Noriega. Por su parte, los estudios de modelado molecular automatizado fueron realizados por el Dr. Alberto Cabrera Velásquez del Instituto Tecnológico de Tijuana.

Además, se agradece el apoyo brindado por el CONACyT para la realización de estudios de posgrado (No. de becario 290934) y el financiamiento de esta investigación a través del Proyecto del Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social clave SALUD-2015-1-261324.

Asimismo, se agradece al Instituto Tecnológico de Tijuana por el apoyo brindado para la realización de estos estudios.

VITA

Nov. 26, 1991	Nacido en Culiacán, Sinaloa.
2014	Licenciado en Químico Farmacéutico Biólogo. Universidad Autónoma de Sinaloa.
2015-2016	Becario CONACyT.
2016	Maestría en Ciencias en Química. Instituto Tecnológico de Tijuana.
2017-2020	Becario CONACyT.
2020	Doctorado en Ciencias en Química. Instituto Tecnológico de Tijuana.

PUBLICACIONES

Ochoa-Terán, A.; Estrada-Manjarrez, J.; Martínez-Quiroz, M.; Landey-Álvarez, M.; Santacruz-Ortega, H.; Gómez-Pineda, L.; **Alcántar-Zavala, E.**; Pina-Luis, G.; Montes-Ávila, J.; Labastida-Galván, V.; Chávez, D.; Montes-Ávila, J.; Labastida-Galván, V.; Ordoñez, M. A novel and highly regioselective synthesis of new carbamoylcarboxylic acids from dianhydrides. *Sci. World J.* **2014**, 2014, 11.

García-Olaiz, G. D.; **Alcántar-Zavala, E.**; Ochoa-Terán, A.; Muñoz-Salazar, R.; Montes-Ávila, J.; Cabrera, A.; Salazar-Medina, A. J.; Alday, E.; Velázquez, C.; Medina-Franco, J. L.; Laniado-Laborín, R. "Design, synthesis and evaluation of the antibacterial activity of Linezolid dipeptide-type analogues against clinical bacterial strains". *Bioorg. Chem.* **2020**, 95:103483.

Alcántar-Zavala, E.; Hernández-Guevara, E.; Ochoa-Terán, A.; Montes-Ávila, J.; Estrada-Zavala, E. A.; Salazar-Medina, A. J.; Alday, E.; Cabrera, A.; Aguirre, G.; Miranda-Soto, V.; Velázquez, C.; Díaz-Camacho, S. P.; Medina-Franco, J. L. Novel Linezolid Analogues with Antiparasitic Activity against *Hymenolepis nana*. *Bioorg. Chem.* **2020**, 105, 104359.

Moreno-Valle, B.; Alatorre-Barajas, J. A.; Gochi-Ponce, Y.; **Alcántar-Zavala, E.**; Rivera-Lugo, Y. Y.; Montes-Ávila, J.; Trujillo-Navarrete, B.; Alonso-Núñez, G.; Reynoso-Soto, E. A.; Ochoa-Terán, A. "MWCNT-oxazolidinone conjugates with antibacterial activity". *J. Nanoparticle Res.* **2020**, 22: 315.

ÁREA DE ESTUDIO

Química orgánica. Estudios de síntesis y caracterización de compuestos orgánicos con aplicación terapéutica.

RESUMEN

“Síntesis de dipéptido-oxazolidinonas con actividad biológica potencial”

por

Eleazar Alcántar Zavala

Doctor en Ciencias en Química

Instituto Tecnológico de Tijuana, 2020

Dr. Adrián Ochoa Terán

Director de Tesis

Dr. Julio Montes Ávila

Codirector de Tesis

La resistencia hacia los agentes antimicrobianos ha incrementado la tasa de morbilidad y mortalidad de la población mundial, provocando un problema serio de salud pública. Ésto ha impulsado investigaciones sobre el diseño, desarrollo y síntesis de fármacos nuevos. La linezólida es un antibiótico empleado para el tratamiento de infecciones ocasionadas por bacterias Gram positivas farmacorresistentes. Sin embargo, actualmente se ha identificado un número amplio de cepas bacterianas que presentan resistencia al fármaco. Por lo que, es de interés la obtención de análogos que presenten actividad frente a cepas fármaco resistentes.

En esta investigación se planteó la síntesis diastereoselectiva de análogos de linezólida tipo dipéptido y análogos de linezólida modificados en el grupo acetoamidometilo.

La síntesis inició formando el par diastereomérico de oxazolidinonas *N,N*-dibenciladas (**6** y **7**), a partir de la modificación química del aminoácido L-alanina, seguido del acoplamiento con el 4-(4-bromo-2- fluorofenil)morfolina (**29**) para obtener los análogos *N,N*-dibencilados (**30** y **31**). Posteriormente, se realizó la reacción de hidrogenólisis para generar los análogos amino libre (**32** y **33**). A partir de esta etapa se siguieron dos vías diferentes; el acoplamiento del par diastereomérico con ocho aminoácidos Fmoc protegidos diferentes (**34a-h** y **35a-h**), y por otra parte, la acetilación para obtener los análogos **38** y **39**, respectivamente.

Los análogos de linezólida sintetizados fueron evaluados frente a bacterias de importancia clínica. El compuesto **34f** resultó activo frente tres cepas MRSA, mostrando una CMI menor a la de linezólida (**34f**: 3.12-6.25 µg/mL y LN_Z: 4-8 µg/mL). El modelado molecular de **34f** en el sitio de la fosforil transferasa (SFT) mostró que se sitúa el mismo sitio de acción que linezólida estableciendo un número mayor de interacciones supramoleculares.

También se llevaron a cabo estudios de la actividad antiparasitaria de análogos de linézolida frente *Giardia lamblia* e *Hymenolepis nana*. El compuesto **34f** mostró una actividad moderada frente a *G. lamblia* comparada con metronidazol (**34f**: 26.98 µg/mL y metronidazol: 2.14 µg/mL), aunque sí provoca la muerte del parásito. Por su parte, los análogos **32** y **38** presentaron actividad mayor frente a *H. nana* al compararlos con praziquantel (**32**: 21 min, **38**: 18 min y PZQ: 30 min). Estos resultados muestran su potencial para emplearse como agentes antiparasitarios frente a *H. nana*.

Finalmente, el estudio de citotoxicidad con células humanas ARPE-19 no evidencia efectos citotóxicos de los análogos que muestran actividad antimicrobiana.

ABSTRACT

“Synthesis of dipeptide-oxazolidinones with potential biological activity”

by

Eleazar Alcántar Zavala

Instituto Tecnológico de Tijuana, 2020

Dr. Adrián Ochoa Terán

Thesis Advisor

Dr. Julio Montes Ávila

Thesis Co-advisor

The drug resistance showed by the microbial agents has increased the morbidity and mortality of the world population, causing a serious public health problem, which has impelled to the scientific community to design, develop and synthesize new drugs. Linezolid is used in the treatment of infections caused by multi-resistant Gram positive bacterial strains. However, there are reports of resistance to Linezolid by several bacterial strains. Therefore, the chemical modification of this molecule has gained great interest obtaining new compounds with high potency and activity against resistant bacterial strains.

In this research a diastereoselective synthesis of Linezolid analogues was achieved. The synthetic strategy was to prepare diastereomeric *N,N*-dibenzylamino oxazolidinones **6** and **7** by chemical modification of L-Alanine, and coupling with 4-(4-bromophenyl)morpholine (**29**) to obtain *N,N*-dibenzylamino Linezolid analogues **30**

and **31**. A hydrogenolysis reaction over **30** and **31** resulted in the amino-free Linezolid analogues **32** and **33**. Here, two different routes were taken, the first consisted in the coupling of the diastomeric pair with eight different Fmoc protected amino acids (**34a-h** and **35a-h**), and the second was the acetylation (**38** and **39**) to obtain two new analogues, respectively.

The synthesized compounds were evaluated against clinically important bacterial strains. Analogue **34f** displayed *in vitro* activity against five Gram positive bacterial strains, showing a MIC even lower than Linezolid (**34f**: 3.12-6.25 µg/mL y LNZ: 4-8 µg/mL). The molecular docking analysis supported the antibacterial results, showing that **34f** is in the same place of Linezolid, establishing a greater number of supramolecular interactions and obtaining a lower score value.

Furthermore, the antiparasitic activity of Linezolid analogues against *Giardia lamblia* and *Hymenolepis nana* were evaluated. Analogue **34f** was effective against *Giardia lamblia* inducing death with a moderate activity compared to metronidazole (**34f**: 26.98 µg/mL and metronidazole: 2.14 µg/mL). In addition, analogues **32** and **38** considerably improved the activity against *Hymenolepis nana* compared to Praziquantel (**32**: 21 min, **38**: 18 min and PZQ: 30 min). These results show the pharmacological potential of the newly reported Linezolid-type analogues as antiparasitic agents against *Hymenolepis nana*.

Finally, a cytotoxicity assay with ARPE-19 human cells revealed a non-cytotoxic effect of all the active analogues.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Infecciones bacterianas.

Las enfermedades infecciosas son un estado patológico y son el resultado de la interacción entre los microorganismos, el hospedero y el ambiente. Estas enfermedades representan causas importantes de morbilidad y mortalidad a nivel mundial desde tiempos muy remotos, donde las personas morían a una edad temprana principalmente por traumas físicos y por infecciones. Hace tan solo unas décadas, el impresionante avance científico alcanzado en el campo de la detección, el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades pudo hacer pensar que en esta centuria las enfermedades transmisibles pasarían a ser parte de la historia del siglo XX, gracias a ello, aumentó considerablemente la esperanza de vida en la población de 47 a 80 años. Pero la realidad es que los problemas que éstas generan todavía están lejos de ser resueltos, en la actualidad representa la segunda causa de muerte a nivel mundial solo por debajo de las enfermedades cardiacas.¹

La Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó en febrero del 2017 una lista de patógenos prioritarios resistentes a los antibióticos, en la que se incluyen las 12 familias de bacterias más peligrosas para la salud humana. Estas bacterias tienen la capacidad innata de encontrar formas nuevas para resistir a los tratamientos y pueden transmitir material genético que permite a otras bacterias hacerse farmacorresistentes. Entre las bacterias con prioridad crítica mayor se encuentran *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, Enterobacteriaceae, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter* spp, *Salmonella*, *Neisseria gonorrhoeae*. Como parte del creciente problema mundial de la resistencia a los antimicrobianos, la OMS tiene como finalidad guiar y promover la investigación y desarrollo (I+D) de antibióticos nuevos. Esperar más tiempo producirá problemas adicionales de salud pública y repercutirá enormemente en la atención e integridad a los pacientes.²

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente caracterizado por una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico al que anteriormente era sensible, de modo que los tratamientos habituales se vuelven ineficientes y las infecciones persisten y pueden transmitirse con facilidad mayor provocando una amenaza importante en salud pública. Los factores que favorecen el surgimiento y diseminación de la resistencia son múltiples, es una expresión natural de la evolución y genética de la bacteria, la presión selectiva ejercida al prescribir formal o libremente medicamentos para uso irracional e indiscriminado en humanos o animales, la utilización generalizada de agentes antimicrobianos en pacientes inmunocomprometidos y en la unidad de cuidados intensivos, el uso de dosis o duración inadecuada de la terapia antimicrobiana, y el desconocimiento de los perfiles de sensibilidad de los microorganismos diferentes de cada institución o comunidad. También se ha encontrado que la prevalencia de organismos patógenos humanos resistentes a los antibióticos es cada vez mayor, pero el descubrimiento y desarrollo de antibióticos nuevos que controlen a éstos es mucho más lento debido a los costos de investigación altos y la recuperación escasa de la inversión.³

1.2. Infecciones nosocomiales

Las infecciones nosocomiales o intrahospitalarias son las infecciones contraídas por pacientes ingresados en un recinto de atención a la salud (no sólo hospitales). Según la OMS, estarían incluidas las infecciones que no se habían manifestado ni estaban en periodo de incubación, es decir, se adquieren durante su estancia y no son la causa del ingreso. Algunos factores para el desarrollo de enfermedades nosocomiales son el contacto con fómites variados, condiciones de higiene deficientes y la concentración de pacientes vulnerables en un área específica, como personas en edad avanzada y con condiciones fisiológicas o en estado patológico que disminuyen su sistema inmune.^{4,5}

Estas infecciones son un problema de salud global que facilita la generación selectiva de microorganismos fármaco resistentes, provoca un incremento de entre 4.3 y 15.6 días en la hospitalización, lo que representa costos altos para el paciente, los familiares y para el sector salud. El costo anual en los Estados Unidos por la resistencia a antibióticos se calcula alrededor de 30 billones de dólares, en Europa representa un gasto adicional al sector salud de £1,500,000 al año, en México se reporta que el costo promedio por un evento de enfermedad nosocomial es de 179,000 pesos, todo esto representa una problemática mundial.^{6,7}

Aproximadamente el 70% de las bacterias responsables de las infecciones nosocomiales son resistentes al menos a uno de los antibióticos más utilizados comúnmente para tratarlas. Estudios del sector salud en la Unión Europea determinaron que *Escherichia coli* es el microorganismo más frecuentemente asociado a una infección nosocomial, seguido de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* coagulasa-negativos, *Klebsiella spp.*, *Candida spp.* En Estados Unidos reportaron a *Staphylococcus aureus* como el microorganismo más frecuentemente aislado, seguido de *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulasa-negativos, *Klebsiella pneumoniae/oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*. Por otro lado, en México no existen estudios que reflejen realmente la problemática planteada, la monitorización de la calidad carece del rigor necesario para ser útil. Aún es largo el camino para contar con un sistema que permita hacer comparaciones nacionales e internacionales. Lo más cercano a esas investigaciones mencionadas es un estudio realizado por Arias y colaboradores.⁸ En este estudio el microorganismo más frecuentemente aislado fue *Escherichia coli*, seguido del grupo *Staphylococcus* coagulasa-negativos y *Pseudomonas aeruginosa*, siendo esto algo más similar a lo reportado a nivel mundial.

Las infecciones nosocomiales ocasionadas por bacterias resistentes a antibióticos generan al paciente un riesgo mayor a morir y además, requiere una

cantidad mayor de recursos sanitarios, humanos y económicos. En esto radica la importancia de los cuidados sanitarios dentro de un hospital y a su vez la búsqueda de moléculas nuevas con actividad frente a dichas bacterias que puedan solucionar este problema.⁹

1.3. Antibióticos

Un antibiótico es una sustancia de origen natural o sintética que suprime el crecimiento de microorganismos y eventualmente pueden destruirlos. El surgimiento de los antibióticos data desde 1928, cuando Alexander Fleming descubrió la penicilina, él observó la inhibición en el crecimiento de cepas de *Staphylococcus aureus* ante la presencia del hongo *Penicillium notatum* y su aplicación posterior a la práctica médica trajo una revolución verdadera en el tratamiento de las enfermedades infecciosas.¹⁰

Actualmente, la capacidad de las bacterias de eludir la acción antibacteriana es inagotable debido a la expresión natural de la evolución de la bacteria mediante mutaciones o mecanismos nuevos de transferencia de resistencia. El uso irracional e indiscriminado de antibióticos mediante terapias prolongadas, las dosis insuficientes e infecciones nosocomiales hace esperar que cada vez más los antimicrobianos nuevos sean sustancias puramente sintéticas con gran especificidad por un sitio de acción previamente elegido, y con una resistencia adecuada a la inactivación por los mecanismos de resistencia antibiótica.⁴

Los antibióticos constituyen un grupo heterogéneo de sustancias y son clasificados según la función a una acción específica que ejercen sobre alguna estructura o el efecto frente al microorganismo. Se clasifican por su efecto en la bacteria como bacteriostáticos a los que inhiben la multiplicación bacteriana, la cual se reanuda una vez que se suspende el tratamiento y en bactericidas cuando el medicamento posee la propiedad de destruir la bacteria, es decir, su acción terapéutica es irreversible (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de los antibióticos con base a su efecto sobre la bacteria.

Bactericida	Bacteriostático
Penicilinas	Tetraciclinas
Cefalosporinas	Eritromicina
Aminoglucósidos	Sulfonamida
Rifampicina	Novobiocina
Quinolonas	Cloranfenicol
Monobactámicos	Oxazolidinonas
Polimixinas	

Los antibióticos se clasifican basados en su mecanismos de acción de manera general en cuatro tipos: los que actúan a nivel de la membrana celular, en la pared celular, sobre los ribosomas, y en los ácidos nucleicos (Tabla 2).¹¹

Los antibióticos que presentan el mecanismo de acción sobre la membrana celular son capaces de lesionar la integridad de la membrana celular, ya sea directa o indirectamente, formando canales en las bicapas lipídicas, inhibiendo las síntesis de uno o varios de los constituyentes de la misma y afectando la permeabilidad permitiendo el flujo de elementos que son perjudiciales para la bacteria.¹¹

Los antibióticos que su mecanismo de acción se efectúa sobre la pared celular van dirigidos a bloquear su síntesis, organización o formación, específicamente inhibiendo o dañando al peptidoglucano. De esta manera se verá alterada la presión osmótica dentro de la bacteria provocando la muerte del microorganismo.¹¹

Los antibióticos que actúan a nivel de ribosomas y de ácidos nucleicos su mecanismo de acción es inhibir la síntesis proteica en un sitio diferente, uno directamente uniéndose al ribosoma y el otro de manera indirecta bloqueando la síntesis de los ácidos nucleicos que generan proteínas defectuosas provocando la muerte de la bacteria.¹¹

Tabla 2. Clasificación de los antibióticos con base a su mecanismo de acción.

Mecanismo de acción	Antibiótico
Inhibidores de la pared celular	vancomicina, ristocetina, bacitracina, penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas
Inhibidores de la membrana celular	polimixina B, colistina, polimixina
Inhibidores de la síntesis proteica	cloranfenicol, tetraciclina, aminoglucósidos, eritromicina, oxazolidinonas
Inhibidores de ácidos nucleicos	rifampicina, ácido nalidíxico

1.4. Oxazolidinonas

Las oxazolidinonas son compuestos que contienen un heterociclo de cinco miembros con nitrógeno, oxígeno y un grupo carbonilo en su estructura. Éstos se sintetizan principalmente mediante la ciclación quiral de amino alcoholes derivados de α -aminoácidos enantiopuros, empleados como plantillas de Evans o catalizadores estereoselectivos en la síntesis asimétrica.^{12,13}

Dentro del área biológica son utilizados como inhibidores de la monoamino oxidasa (en el tratamiento de enfermedades neurológicas severas), moduladores de citoquinas, receptores sigma, psicotrópicos, agentes antialérgicos, relajantes del músculo esquelético, anticonvulsivantes, inmunosupresores y antibióticos.¹³⁻¹⁷

Las oxazolidinonas son una clase nueva de antimicrobianos donde linezólida es el primer antibiótico comercial de esta clase sintética nueva que contiene el anillo 1,3-oxazolidin-2-ona. Fue sintetizada en 1990 en los laboratorios Pharmacia-Upjohn posteriormente llamada Pfizer. La linezólida es utilizada principalmente contra bacterias Gram (+) multirresistentes como *Staphylococcus aureus* metilicina resistente, *Staphylococcus epidermidis* penicilina resistente, *Streptococcus pneumoniae* penicilina resistente, *Enterococcus faecium* y *Enterococcus faecalis* vancomicina resistente, además de mostrar actividad buena frente a *Mycobacterium tuberculosis*.¹⁸ El mecanismo de acción muestra una afinidad alta sobre la subunidad ribosomal 50S interfiriendo su interacción con la subunidad 30S, inhibiendo la fase de iniciación y traducción de la síntesis de proteínas (Figura 1). Por medio de modelado molecular se observó la interacción de linezólida entre la unión del ARNt y el ribosoma entre el sitio P y A de la zona ribosomal, el sitio P corresponde a la posición donde se inicia la síntesis de proteínas y el sitio A es el encargado de llevar aminoácido nuevo que se agregará a la cadena peptídica en crecimiento (Figura 2).¹⁹ Se determinó la estructura cristalina de linezólida unida a la subunidad ribosomal 50S de *Haloarcula marismortui* (HMA). La estructura reveló los detalles atómicos entre el antibiótico en la estructura ribosomal, dicha interacción se da por la rotación de la base C2487 presentando interacción con el anillo aromático de linezólida, lo que permite la rotación de la base U2539 hacia la 1,3-oxazolidin-2-ona, a su vez se produce una alteración en la ubicación de G2540, formando un enlace de hidrógeno entre el NH del grupo acetamidometilo y el grupo fosfato. El grupo morfolínico no presenta interacción en el sitio de acción, solo le confiere propiedades farmacocinéticas buenas a la molécula (Figura 3).²⁰

Este mecanismo lo cataloga dentro de los antibióticos bacteriostáticos, es decir, no produce la muerte a una bacteria sino que impide su reproducción; la bacteria envejece y muere sin dejar descendencia.²⁰

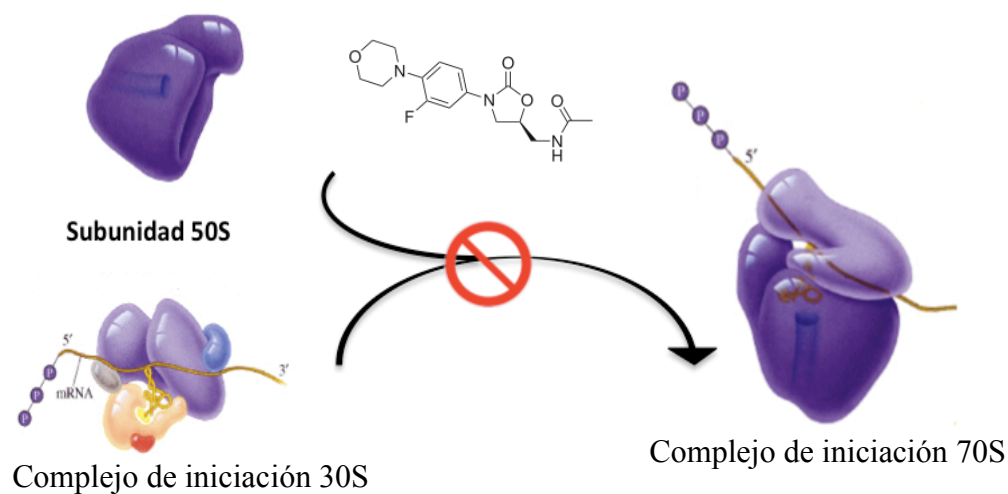


Figura 1. Interacción de linezólida con la subunidad 50S.

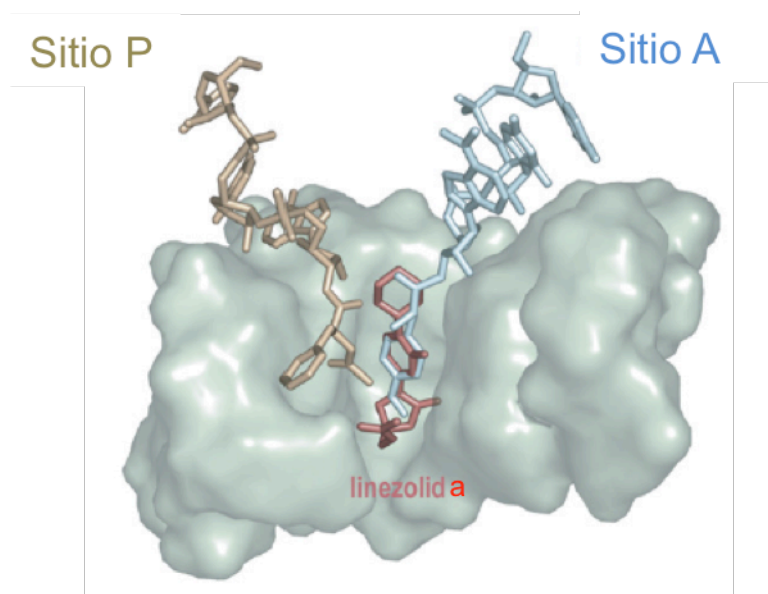


Figura 2. Modelado molecular de linezólida en el sitio de acción.

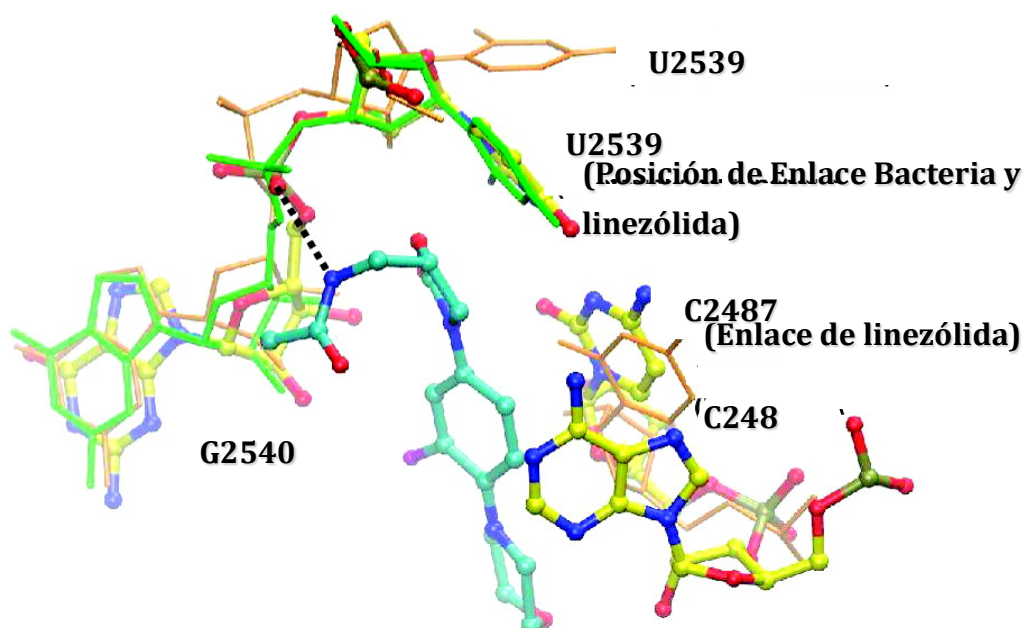


Figura 3. Interacciones de linezólida en la subunidad 50S de la cepa *Haloarcula marismortui*.

Existen estudios que tratan sobre la resistencia a linezólida debido alteraciones de su sitio de unión causadas por mutaciones en el dominio V del gen 23S ARNr y en las proteínas ribosomales L3 y L4, comúnmente asociado a infecciones intrahospitalarias involucrando bacterias multirresistentes.²¹

1.5. Péptidos

Los péptidos son macromoléculas a base de aminoácidos involucrados en funciones vitales en todo ser vivo como el reconocimiento celular y la transducción de señales. Además son parte de la estructura de la matriz celular, hormonas y enzimas.

La síntesis de péptidos ha presentado un gran interés debido al gran número de modificaciones estructurales que pueden llegar a presentar, al ser parte de funciones biológicas la construcción de moléculas nuevas con actividad biológica potencial toma mucho interés. Los péptidos son importantes en la determinación de

interacciones con sus receptores. Además sus interacciones logran una selectividad y estabilidad metabólica mayor con sus receptores, la formación de enlaces de hidrógenos aumenta su solubilidad y su degradación, por lo que no se almacenan en el cuerpo. Antibióticos como vancomicina son glucopéptidos que presentan un heptapéptido como estructura base. Este antibiótico es el más utilizado contra bacterias Gram positivas y su mecanismo de acción es a través de la inhibición de la formación del peptidoglicano presente en la pared bacteriana, uniéndose específicamente al dipéptido D-Ala-D-Ala mediante enlaces de hidrógeno (Figura 4).

22

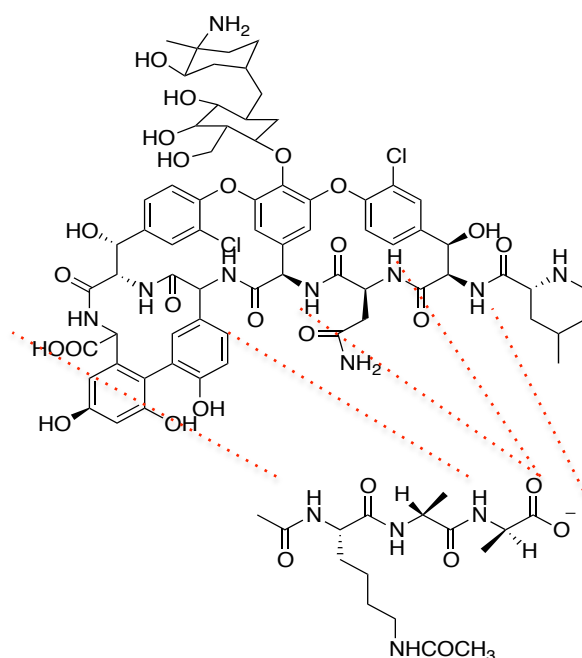


Figura 4. Interacción de vancomicina con su receptor *N*-acil-D-Ala⁴-D-Ala⁵ mediante enlaces de hidrógeno.

Por otra parte, los dipéptidos formados por la unión de dos aminoácidos mediante un enlace peptídico, en comparación a los de número mayor de aminoácidos presentan una estructura de bajo o mediano peso molecular, son generalmente muy flexibles, lo que permite tener conformaciones diferentes, siendo esto importante en la búsqueda de moléculas con actividad biológica.

Existen reportes diversos de dipéptidos con actividad biológica con efecto antihipertensivo, antitumoral, neuroprotector, antibacteriano, etc, así como la funcionalización peptídica de fármacos antibacterianos ha demostrado un efecto terapéutico mejor.²⁰⁻²³

1.6. Acoplamiento molecular automatizado (docking).

El acoplamiento molecular automatizado (AMA) o docking (anclaje) es un método computacional para el diseño de fármacos asistido por computadora, que se emplea para desarrollar modelos de interacción ligando-proteína. El AMA es un método que predice la conformación preferida de una molécula al estar unida a otra, con el fin de formar un complejo estable. El conocimiento de la estructura tridimensional del blanco de acción de linezólida ha permitido utilizar estos estudios computacionales para el diseño basado en la estructura del receptor de antibióticos nuevos. Compuestos nuevos con actividad potencial contra cepas de importancia clínica sensibles y multirresistentes se pueden estudiar utilizando esta herramienta, además de determinar el orden de prioridad de los compuestos para sintetizar y evaluar biológicamente.²⁴

1.7. Parasitosis intestinal.

1.7.1. Giardiasis.

La parasitosis intestinal es un problema de salud pública que afecta al 60% de la población mundial.²⁵ La giardiasis ocasionada por *Giardia lamblia* es una de las infecciones intestinales causadas por parásitos más frecuentes. Alrededor de 280 millones de personas en el mundo presentan la enfermedad, si bien esta infección no ocasiona la muerte, se encuentra entre las primeras causas de morbilidad en el mundo y afecta principalmente a niños en edad escolar, ancianos y personas inmunocomprometidas.²⁶ Además, se conoce que es una enfermedad que afecta a la

población de ingresos menores y es favorecida por las condiciones climáticas cálidas o templadas. El éxito de *Giardia* como patógeno radica en su ubicuidad y en la facilidad con que contamina el agua.^{27,28} En México se han reportado prevalencias de hasta 50% en niños menores de un año de edad.²⁸ Esta parasitosis es la más importante en el noroeste del país, sobre todo las comunidades rurales de los estados de Sinaloa y Sonora registran prevalencias mayores a 31 y 30%, respectivamente.^{29,30} El gobierno de México por medio del sistema nacional de vigilancia epidemiológica hasta la semana 38 presente año ha reportado 8477 casos de giardiasis, en Baja California se han registrado un total de 93 casos.³¹ Estas cifras pueden no representar a la población total del país que este infectada con este parásito debido a negligencia al momento de clasificar la infección.

El metronidazol es el medicamento de elección para tratar la giardiasis, sin embargo, no afecta la viabilidad de los quistes y se han aislado cepas resistentes al tratamiento. Además, existe evidencia de un gran número de efectos secundarios, destacando su efecto carcinogénico.³²

1.7.2. Hymenolepiasis

Otra parasitosis intestinal de importancia clínica y prevalencia alta es la hymenolepiasis ocasionada por el céstodo *Hymenolepis nana*. La hymenolepiasis es catalogada como una enfermedad desatendida o descuidada, al igual que la giardiasis, se encuentra entre las primeras causas de morbilidad en el mundo afectando a 175 millones de personas.³³ *H. nana* es el único parásito capaz de completar su ciclo biológico en un hospedero sin necesidad de intermediarios, por lo que su infección podría ocasionar epidemias.³³ La hymenolepiasis es una enfermedad cosmopolita, pero la prevalencia mayor se encuentra en países con clima templado o tropical. Esta parasitosis afecta principalmente a niños en edad escolar, ancianos y personas inmunocomprometidas. Además se conoce que afecta a la población de menores ingresos donde se ve favorecida por los malos hábitos de

higiene. Por lo general, esta enfermedad suele ser asintomática, pero dentro de las manifestaciones clínicas importantes se encuentra la diarrea, dolor estomacal, dolor de cabeza, pérdida de peso y mala absorción.³⁴⁻³⁶ El sistema nacional de vigilancia epidemiológica no contiene una clasificación particular para esta parásitosis, incluyéndola dentro de la categoría “Otras Helmintiasis” por lo que se dificulta aún más el conocimiento de la severidad provocada por este parásito. La semana 38 reportó 1018 casos en México, acumulando 95845 durante el periodo del 2019-2020, Baja California por su parte registró 4 casos con un acumulado de 588 casos.³¹

El medicamento comúnmente empleado en el tratamiento de esta patología es praziquantel, su mecanismo de acción tiene como objetivo molecular los canales de iones de calcio (Ca^{2+}), mostrando alta afinidad por los receptores de membrana, afectando la permeabilidad de la membrana celular, promoviendo la rápida absorción de Ca^{2+} e induciendo daños en el tegumento de algunos parásitos.^{37,38} Sin embargo, estudios actuales han demostrado la existencia de céstodos resistentes a este fármaco, además se tiene conocimiento de efectos hepatotóxicos, genotóxicos y cancerígenos.³⁶ Por su parte, en la literatura existen muy pocos estudios sobre la evaluación de linezólida o análogos frente a parásitos mostrando actividad baja o nula, lo que justifica el uso exclusivo de linezólida como agente antibacteriano.^{39,40}

Actualmente, es necesario desarrollar terapias farmacológicas nuevas que contribuyan a resolver el problema de la resistencia bacteriana y parasitaria hacia medicamentos de primera línea, así como el desarrollo de métodos sintéticos para la obtención de agentes antimicrobianos. Este trabajo se encuentra en el área de química orgánica enfocada hacia la química farmacéutica o química medicinal, y se propone la síntesis diastereoselectiva de una serie de análogos a linezólida y análogos de linezólida de tipo dipéptido, a partir de la modificación química del α -aminoácido L-alanina, para evaluar su actividad contra bacterias y parásitos de importancia clínica (Figura 5).

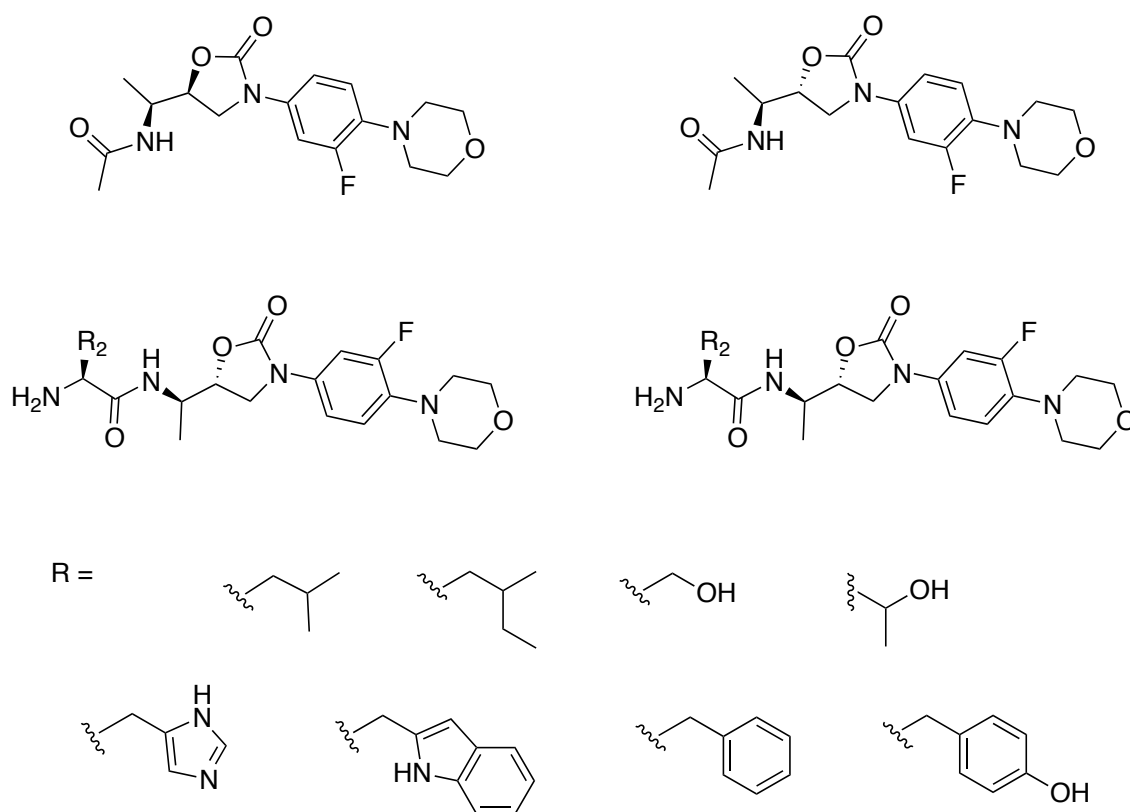


Figura 5. Estructura general de los análogos a linezólida y análogos de linezólida de tipo dipéptido a sintetizar.

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2.1. Justificación

Las enfermedades infecciosas son un problema de salud pública, actualmente algunas de estas enfermedades presentan resistencia a los antibióticos o antiparasitarios de primera línea generando un aumento en la tasa de morbilidad y mortalidad en el mundo. La sobremedicación y el seguimiento inadecuado al tratamiento han ayudado al incremento de resistencia resultando enfermedades prolongadas, y con un riesgo de muerte mayor en países desarrollados, donde 90% de las infecciones comprobadas en pacientes hospitalizados son causadas por bacterias, de las cuales el 70% son resistentes a por lo menos un antibiótico empleado en su tratamiento. Por lo que compuestos nuevos análogos de linezólida y análogos de linezólida tipo dipéptido-oxazolidinona representan una alternativa terapéutica en el tratamiento de estas infecciones.

2.2 Objetivo general

El objetivo general de este proyecto es sintetizar y evaluar la actividad antibacteriana y antiparasitaria de una serie de análogos de linezólida y análogos de linezólida de tipo dipéptido modificados.

2.3 Objetivos particulares

1. Sintetizar análogos de linezólida con configuración *sin* y *anti* a partir de L-alanina.
2. Realizar el acoplamiento peptídico con los aminoácidos protegidos: Phe, Tyr, Leu, Thr, Tpr, His, Ser y Cys.

3. Obtener compuestos análogos de linezólida a partir de la reacción de acetilación de **32** y **33**.
4. Confirmar la estructura molecular de los dipéptidos y los intermedios mediante técnicas analíticas espectroscópicas (FT-IR y RMN) y espectrométricas (EM-IE y EM-IES).
5. Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de los dipéptidos y análogos de linezólida sintetizados contra cepas de bacterias patógenas para el humano mediante la técnica de microdilución en caldo y Kirby-Bauer.
6. Realizar estudio de acoplamiento molecular automatizado (docking) de los dipéptidos y análogos de linezólida evaluados empleando el software MOE.
7. Evaluar la actividad antiparasitaria *in vitro* de los dipéptidos y análogos de linezólida sintetizados contra el protozoo *Giardia lamblia* mediante la técnica de viabilidad celular con el reactivo MTT.
8. Evaluar la citotoxicidad *in vitro* de los dipéptidos y análogos de linezólida sintetizados activos empleando la línea de epitelio pigmentario de retina ARPE-19.
9. Evaluar la actividad antiparasitaria de los análogos de linezólida frente al céstodo *Hymenolepis nana*.

III. ANTECEDENTES

3.1. Naturaleza: la base de la industria farmacéutica

La naturaleza de una u otra forma ha influido en la generación, diseño y desarrollo de moléculas biológicamente activas. Desde tiempos antiguos el humano ha vivido milenariamente en una dependencia absoluta de sus recursos naturales, teniendo un conocimiento increíblemente extenso de las propiedades biológicas que éstas presentan. En conjunto la química de productos naturales y la química en síntesis orgánica han generado un gran número de moléculas o fármacos con actividades biológicas diversas. Por ejemplo, el uso de los antibióticos inició en 1928, cuando Alexander Fleming descubrió la penicilina, al observar la inhibición en el crecimiento de cepas de *Staphylococcus aureus* en la presencia del hongo *Penicillium notatum*. La aplicación posterior de penicilina a la práctica médica trajo una revolución verdadera en el tratamiento de las enfermedades infecciosas.¹⁰

Newman y Cragg⁴¹ realizaron un estudio donde clasifican por origen los compuestos nuevos aprobados por la FDA desde hace 38 años hasta la actualidad, demostrando que el empleo de la síntesis orgánica juega un papel fundamental en la obtención de éstos, debido a que la cantidad mayor de compuestos aprobados es mediante este método (Figura 6). Los autores dividieron la clasificación en: macromoléculas biológicas (péptidos >50 aminoácidos), compuestos naturales inalterados, compuestos derivados de plantas, vacunas, síntesis química, modificación química de moléculas naturales activas, síntesis de moléculas que mimeticen alguna función biológica y síntesis de farmacóforos. Esta investigación está enfocada en la búsqueda de agentes antibacterianos y antiparasitarios análogos de linezólida antibiótico de origen sintético. Sin embargo, es importante mencionar que un número amplio de éstos provienen de la modificación química de alguna sustancia activa de origen natural como modelo de estudio. Como ejemplo se encuentran las familias de antibióticos beta-láctamicos, aminoglucósidos, quinolonas y tetraciclinas.

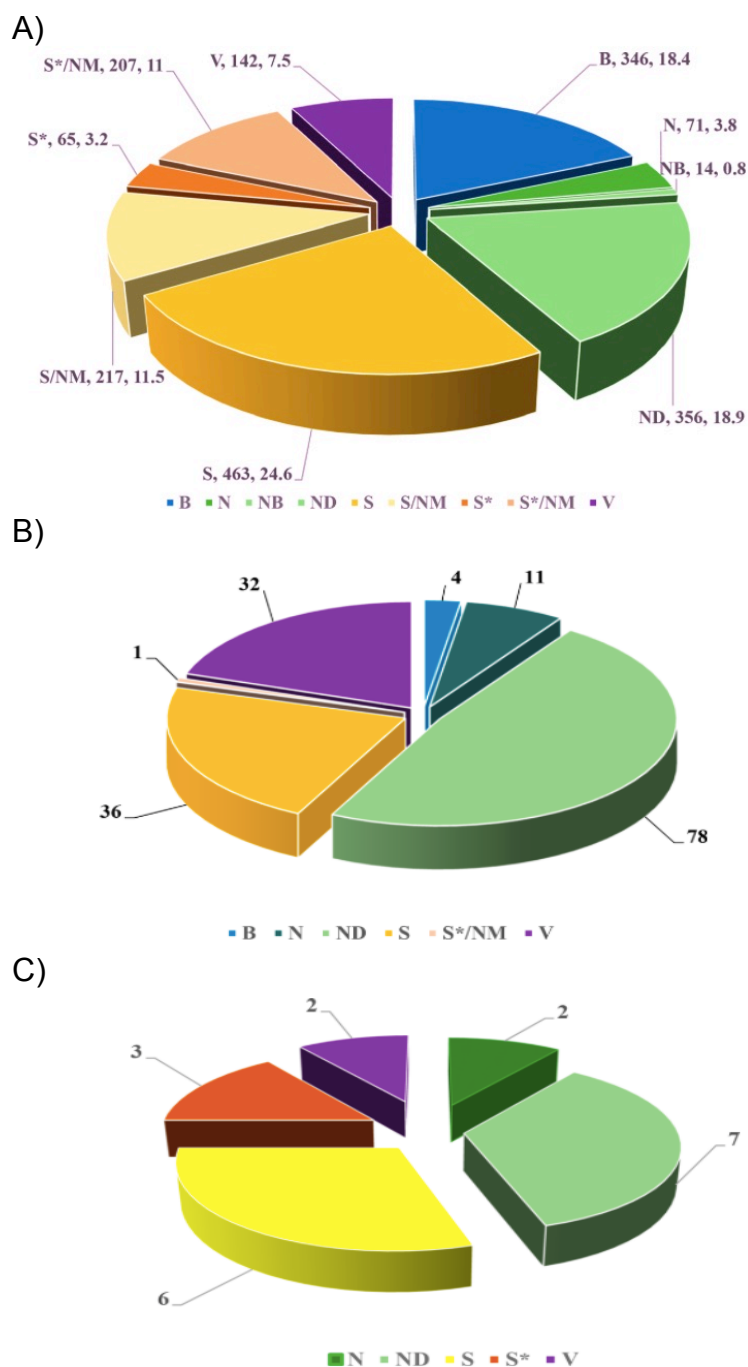
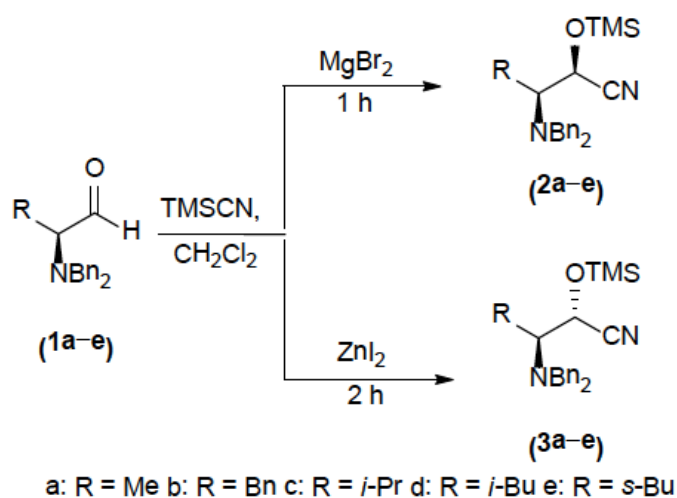


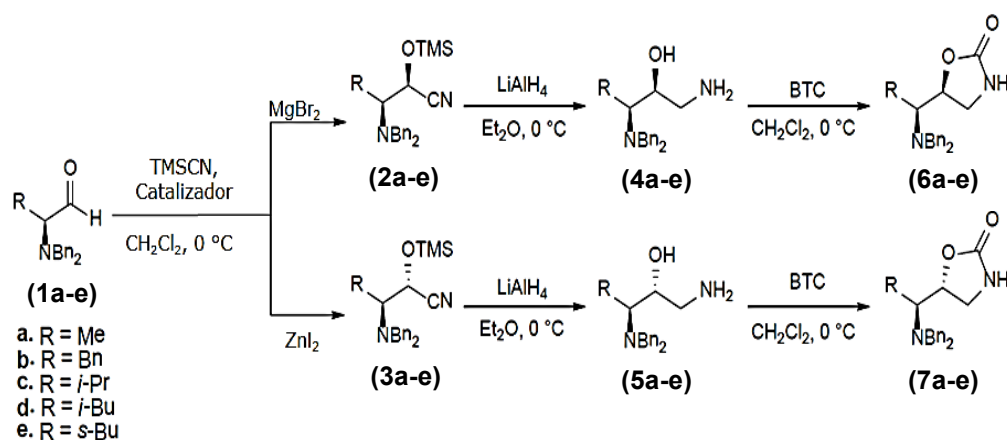
Figura 6. A) Medicamentos nuevos aprobados del 01-ene-81 al 30-sep-19 (n = 1881). B) Antibióticos aprobados por la FDA por origen (n = 162). C) Antiparasitarios aprobados por la FDA por origen (n = 20). (B = biológico, N = natural inalterado, NB = natural botánico, ND = Derivado natural, S = Sintético, S/NM = compuestos que imitan alguna función natural, S* = farmacóforos, V = vacunas).

3.2. Síntesis y evaluación de oxazolidinonas

Las oxazolidinonas son sintetizadas convencionalmente por ciclación de aminoalcoholes empleando agentes ciclizantes como fosgeno, trifosgeno, carbonato de metilo, entre otros. Una manera de obtener este precursor fácilmente es a partir de la reducción de α -aminoácidos.⁴² Ochoa y colaboradores⁴³ trabajaron con la síntesis estereoselectiva y enantiopura de oxazolidinonas. Mediante catálisis basada en ácidos de Lewis, específicamente con $MgBr_2$ y ZnI_2 , se lleva la adición estereoselectiva de cianuro de trimetilsililo a α -dibencilamino aldehídos quirales para la obtención de los productos de adición *sin* o *anti*, respectivamente (Esquema 1). Posteriormente, se obtiene un α -aminoalcohol reduciendo con $LiAlH_4$, y por último, mediante ciclización con trifosgeno se obtiene la 1,3-oxazolidin-2-ona correspondiente (Esquema 2).



Esquema 1. Síntesis estereoselectiva de éteres de sililo **2a-e** y **3a-e**.



Esquema 2. Síntesis de 1,3-oxazolidin-2-onas derivadas de α -dibencilamino ésteres **6a-e** y **7a-e**.

Las 1,3-oxazolidin-2-onas sintetizadas⁴³ (**6a-e** y **7a-e**) fueron evaluadas *in vitro* contra cepas de diferentes *Staphylococcus aureus* meticilina-resistentes (SAMR) y comparados con antibióticos diversos disponibles comercialmente (norfloxacina, imipen, ceftazidima, ceftazidima/ácido clavulánico, vancomicina, linezólida). El compuesto **7a** derivado de L-alanina fue el único que mostró actividad frente a las cepas de SAMR, incluso presentó un desempeño mejor comparado con los otros fármacos empleados. En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos mediante la prueba en sensidisco. Los fármacos fueron evaluados empleando sensidiscos comerciales con una carga de 10 o 30 μg , y el compuesto **7a** fue evaluado a 6.6, 10 y 20 μg . Todas las cepas fueron sensibles a vancomicina y linezólida, con los demás fármacos se observó una sensibilidad variable. De las 12 cepas analizadas, 10 presentaron sensibilidad con el compuesto **7a** incluso con la carga más baja.

Tabla 3. Actividad inhibitoria de antibióticos estándar y la oxazolidinona **7a** en cepas de SAMR aisladas de muestras clínicas.

Muestras clínicas	C	N	I	C/AC	V	L	7a	7a	7a
	10	10	10	30	30	10	20	10	6.6
	µg	µg	µg	µg	µg	µg	µg	µg	µg
SAMR-27	R	R	S	S	S	S	12.5(±0.09)	8.9(±0.05)	4.5(±0.05)
SAMR-47	S	R	S	R	S	S	12.6(±0.08)	9.1(±0.05)	4.6(±0.07)
SAMR-48	R	R	S	R	S	S	12.5(±0.05)	8.8(±0.06)	4.4(±0.05)
SAMR-57	S	R	S	R	S	S	12.7(±0.05)	9.2(±0.04)	4.8(±0.05)
SAMR-71	S	S	R	S	S	S	0	0	0
SAMR-79	R	S	S	R	S	S	0	0	0
SAMR-87	R	R	S	R	S	S	12.6(±0.05)	8.9(±0.05)	4.4(±0.04)
SAMR-97	R	S	R	R	S	S	12.9(±0.06)	9.3(±0.06)	4.5(±0.05)
SAMR-124	R	S	S	R	S	S	12.8(±0.06)	9.1(±0.07)	4.6(±0.05)
SAMR-141	R	S	R	R	S	S	12.9(±0.05)	8.9(±0.05)	4.5(±0.05)
SAMR-159	R	S	S	R	S	S	12.8(±0.06)	8.8(±0.06)	4.6(±0.04)
SAMR-162	S	R	S	R	S	S	12.5(±0.07)	9.2(±0.05)	4.5(±0.04)

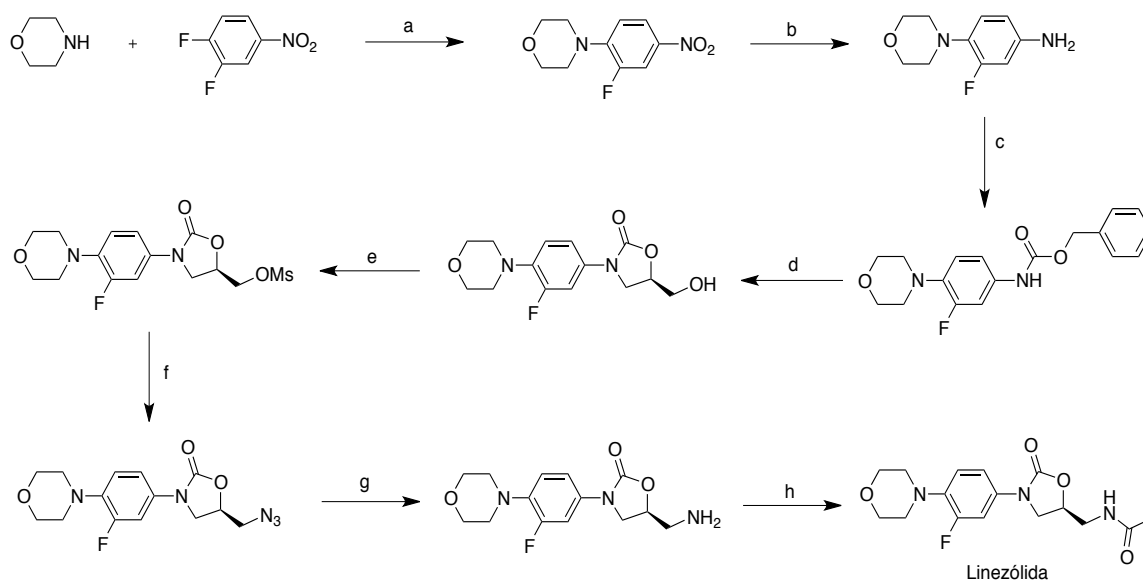
C = ceftazidima; N = norfloxaxina; I = imipen; C/CA = ceftazidima/ácido clavulánico; V = vancomicina; L = linezólida. R = resistente, S = sensible

Además, el compuesto **7a** fue evaluado frente a las cepas SAMR-27 y SAMR-47 mediante el método de microdilución en caldo donde se obtuvo una CMI de 12.5 µg/mL.

Finalmente, el contenido de uno de los pocillos que no presentaron crecimiento bacteriano fue resembrado en una placa de agar TSA y después de ser incubada por 24 h a 36 °C no se encontró crecimiento bacteriano, lo que sugirió que este compuesto presenta actividad bactericida.

3.3. Síntesis de linezólida

La síntesis de linezólida se lleva a cabo por medio de ocho reacciones,⁴⁴ iniciando con la reacción de sustitución aromática de la morfolina hacia 3,4-difluoronitrobencono, seguido de la reducción del grupo nitro a la amina, y la obtención del carbamato alifático empleando cloroformiato de bencilo. Posteriormente, se genera el anillo de oxazolidinona específicamente el enantiómero *S* (enantiómero activo) utilizando el compuesto quiral (*R*)-butirato de glicidilo. El grupo hidroximetilo obtenido de la ciclación se hace reaccionar con cloruro de mesilo para luego sustituirlo por una azida. Por último, la generación de linezólida ocurre por la reducción del grupo azida al amino y la acetilación del mismo con anhídrido acético (Esquema 3). Actualmente el uso de catalizadores metálicos ha tenido un interés importante en la síntesis del anillo de oxazolidinona, sin embargo, la obtención del producto enantioméricamente puro aún es un problema a resolver.^{45,46.}



Esquema 3. Ruta de síntesis linezólida. (a) $(i\text{-Pr})_2\text{EtN}$, AcOEt; (b) H_2 , 5% Pd/C, THF; (c) CBZ-Cl, NaHCO_3 acetona- H_2O ; (d) $n\text{-BuLi}$, THF -78°C , (*R*)-butirato de glicidilo; (e) MsCl, Et_3N , CH_2Cl_2 ; (f) NaN_3 , DMF, 75°C ; (g) 10% Pd/C, H_2 , EtOAc; (h) Ac_2O , piridina.

3.4. Análogos de linezólida

Linezólida presenta una relación directa de estructura-actividad y toxicidad. En el anillo A el grupo acetamidometilo ubicado en C-5 de la oxazolidinona con una configuración específica (S) es esencial para generar la actividad. En el anillo B un átomo de flúor en el grupo N-arilo está estratégicamente situado para generar interacciones secundarias que mejoran su actividad biológica, además de disminuir la toxicidad. En contraste, el anillo C representado por el grupo morfolínico no presenta interacción en el sitio de acción pero hace liposoluble a la molécula, lo cual le brinda biodisponibilidad del 100% (Figura 7).²⁰

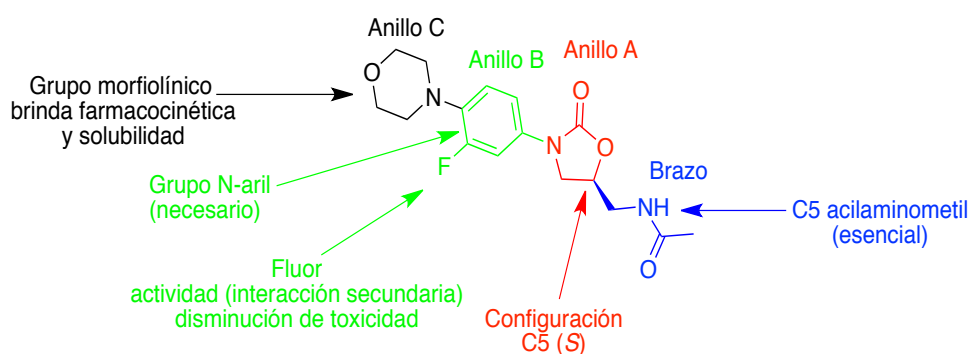


Figura 7. Relación estructura-actividad de linezólida.

Actualmente se tiene conocimiento de resistencia a linezólida de cepas de *Staphylococcus* y *Enterococcus*, generado por mutaciones en la fracción 23S del ARN ribosomal perteneciente a la subunidad 50S, sustituciones de aminoácidos en las proteínas L3 y L4 y metilación del ARNr por la enzima Cfr.⁴⁷ Además, estudios demuestran que el uso prolongado de linezólida puede traer consigo efectos secundarios como diarrea, dolor de cabeza, náuseas hasta enfermedades como neuropatías y mielosupresión, lo que representa un verdadero reto en la búsqueda de alternativas terapéuticas realizando modificaciones estructurales del antibiótico, principalmente en la fracción morfolínica y en el grupo N-arilo conservando la interacción producida en el C5.⁴⁸ Es así como surgen los análogos de linezólida también llamados oxazolidinonas de segunda generación.

Los estudios realizados modificando el anillo A demuestran que un cambio en la estructura de la oxazolidinona disminuye considerablemente su actividad hasta llegar a eliminar su efecto, demostrando que es necesario un centro sp^2 directamente vinculado al Anillo-B, un átomo de oxígeno adecuadamente ubicado y un centro quiral C5 definido estereoquímicamente llevando el brazo acetamidometilo.

Estos requisitos fueron confirmados por los resultados al comparar la oxazolidinona con anillos de dihidrofuran-2-ona (a), tetrahidrofuran-2-ona (b), pirrolidin-2-ona (c), 3-fenilisoaxolina (d), 3-derivados de fenilisoaxolidona (e) y 1,2,4-oxadiazol (f) (Figura 8).⁴⁹

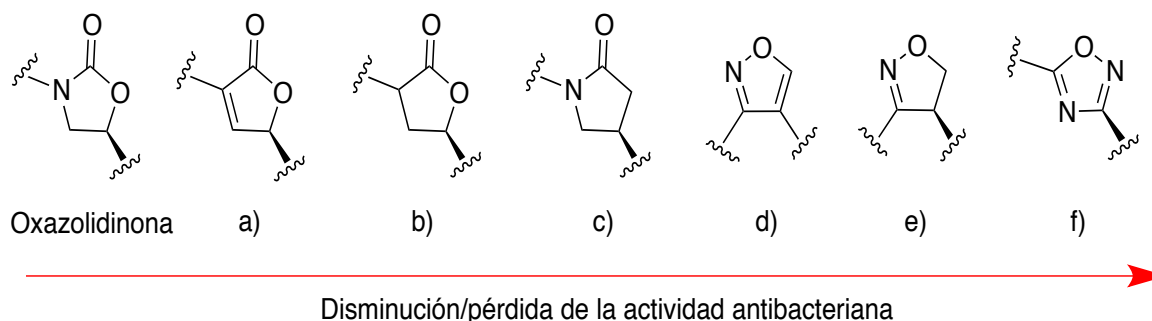


Figura 8. Clasificación en base a la reducción de la actividad en el anillo A.

Los pocos ensayos para sustituir el anillo B no dieron mejoras significativas en términos de actividad, pero en ellas muestran que es necesario la presencia del átomo de flúor para la actividad, además de disminuir su toxicidad (Figura 9).^{48,50} La presencia de más átomos de flúor puede disminuir la actividad, según lo reportado por Barbachyn en el 2005 en el que comparó linezólida ($CMI_{90} = 4 \mu\text{g/mL}$) frente **PF-00987296** contra una cepa de *Staphylococcus aureus* ($CMI_{90} = 8 \mu\text{g/mL}$) (Figura 10).⁵¹

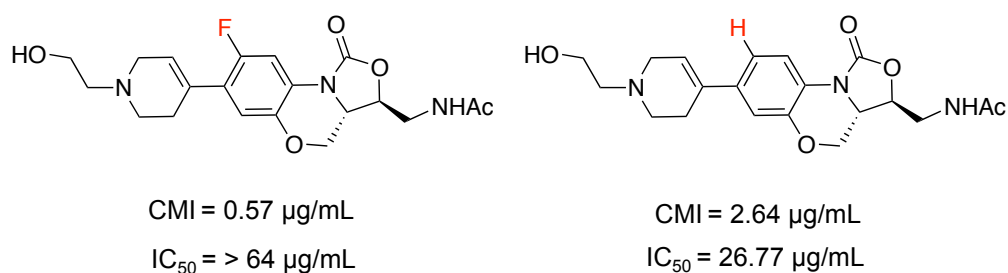


Figura 9. Relación de la actividad en presencia-ausencia del átomo de flúor.

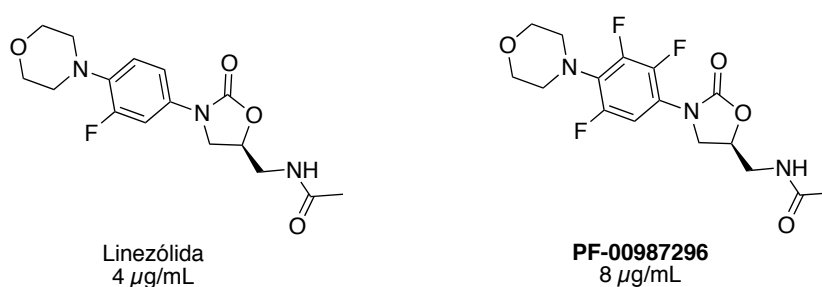


Figura 10. Relación en la actividad por presencia de átomos de flúor en el anillo B.

Dentro de las modificaciones del anillo C suele conservarse el ciclo de seis miembros. Como en sutezólida (Figura 11),⁵² una molécula en la que se cambió el anillo de morfolina a tiomorfolina, es decir, el cambio del átomo de oxígeno por azufre. Esta molécula es utilizada en el tratamiento de bacterias resistentes de *Mycobacterium tuberculosis*, frente a linezólida presenta potencia mayor, reduce el tiempo de tratamiento de seis meses a uno, además no presenta efectos adversos por el uso prolongado.

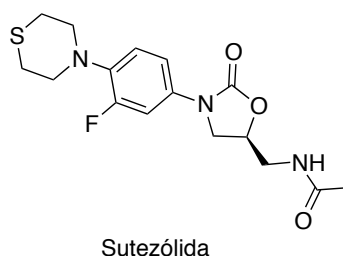
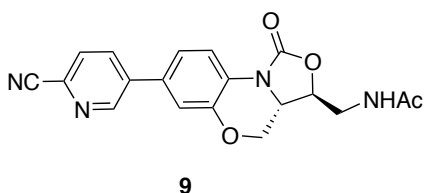


Figura 11. Estructura de sutezólida

Otros aspectos a considerar en la modificación de linezólida es la fusión de los anillos A y B, B y C, la separación del anillo B y C por un espaciador y por último un anillo nuevo (D). Un ejemplo de triciclos fusionados son los compuestos de tipo benzoxazinil-oxazolidinona, en los cuales Yang y colaboradores⁵³ además de incorporar un tercer ciclo modificaron el anillo C con un grupo piridilo sintetizando un potente agente antibacteriano **9** que en comparación con linezólida mostró una eficacia de tres a cuatro veces mayor frente a bacterias Gram positivas y un excelente perfil farmacocinético (Tabla 4).

Tabla 4. Actividad antibacteriana *in vitro* de benzoxazinil-oxazolidinonas piridil sustituidas (CMI = $\mu\text{g/mL}$).



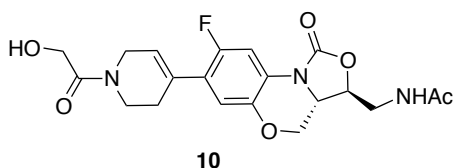
Compuesto	MSSA	MRSA	MSSE	MRSE	PRSP	E.f
9	0.25-0.5	0.125-25	0.25	0.125-0.25	0.25-0.5	1
LZD	1-2	1-2	1-2	1-2	2	2-4

LZD; linezólida, MSSA; *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina, MRSA; *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, MSSE; *Staphylococcus epidermidis* sensible a meticilina, MRSE; *Staphylococcus epidermidis* resistente a meticilina, PRSP; *Streptococcus pneumonia* resistente a penicilina, E.f.; *Enterococcus faecalis*.

Tomando en cuenta estas propiedades farmacocinéticas Zhang y Wang⁵⁴ tomaron como base a las benzoxazinil-oxazolidinonas para sintetizar un agente potente contra la tuberculosis y sus cepas resistentes a los medicamentos de primera línea como, isoniazida y rifampicina, de segunda línea como, estreptomina, etambutol y levofloxacin. La molécula análoga **10** fue modificada en el anillo C con un grupo dihidropiridina que le brinda la característica de ser liposoluble, añadiendo una cadena polar corta que disminuyera la planaridad de la molécula y le permitiera

generar mayor número de interacciones supramoleculares en el sitio de acción de tipo enlace de hidrógeno. Además, de modificar el brazo del grupo acetamidometilo con diversos grupos carbonílicos, ciclos y heterociclos, así como evaluar la ausencia del átomo de flúor donde los resultados se observaba la disminución de su actividad (Tabla 5).

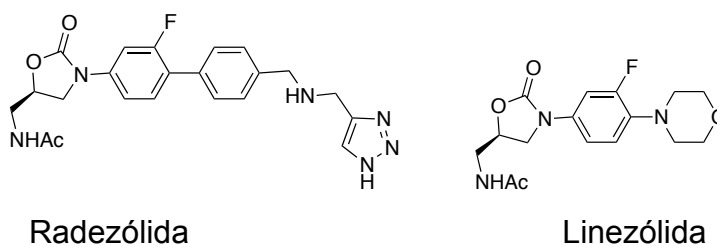
Tabla 5. Actividad antituberculosa *in vitro* de benzoxazinil-oxazolidinonas con sustituyentes dihidropiridinilo (CMI = $\mu\text{g/mL}$).



Comp	CMI ($H_{37}R_v$)	CMI (16892) ^a	CMI (16802) ^b
10	0.39	0.25	0.50
L	0.34	ND	ND
INH	0.03	>40	2.50
RFP	0.05	>40	20.0

^aResistente a isoniazida (INH) y rifampicina (RFP). ^bResistente a isoniazida, rifampicina, estreptomycin, etambutol y levofloxacin. ND = no determinada

Johnson y colaboradores⁵⁵ sintetizaron radezólida, un análogo de linezólida, modificado en el anillo C con una cadena espaciadora y un anillo nuevo a partir de un grupo arilo unido con aminometiltriazol terminal. Al ser evaluada frente a cepas Gram positivas y Gram negativas resistentes presentó actividad de hasta 32 veces mayor que linezólida (Tabla 6). Una característica interesante es que la afinidad de radezólida por el sitio de unión en el ribosoma es 100 veces mayor a linezólida superando así la mutación ribosomal más común (G2576U) asociada a la resistencia, esto debido a la presencia de átomos donadores y aceptores de enlaces de hidrógeno presentes en la cadena terminal.

Tabla 6. Actividad antibacteriana *in vitro* de radezólida y linezólida

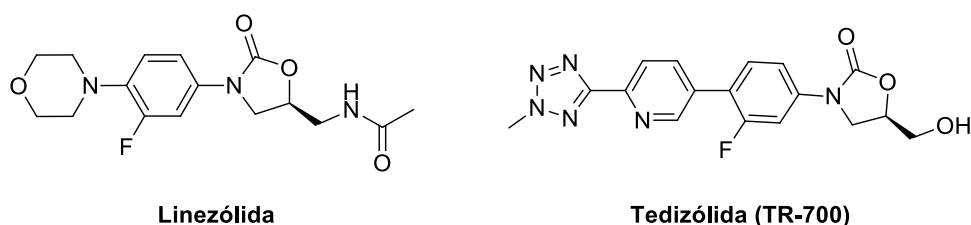
Cepa bacteriana (CMI = µg/mL)	Radezólida	Linezólida
<i>E. faecalis</i> ATCC29212-P5 (linezólida ^R)	1	32
<i>E. faecalis</i> 1069 <i>vanB</i>	0.25	2
<i>E. faecium</i> A6349 <i>vanA</i> +(linezólida ^R)	0.5	16
<i>S. aureus</i> 67-0 MRSA	1	2
<i>S. pneumoniae</i> 02J1175 <i>mef</i> (A)	0.25	1
<i>S. pneumoniae</i> 02J1258 <i>erm</i> (B)+ L4	0.25	2
<i>S. pyogenes</i> msr610 <i>erm</i> (B)	0.125	1
<i>H. influenzae</i> RD1 parent	0.5	16
<i>H. influenzae</i> 1100	0.25	16
<i>H. influenzae</i> A1950	1	32

R= resistente

Por otra lado, en una investigación realizada por Shaw y colaboradores⁵⁶ se evaluó tedizólida (TR-700) que presenta una modificación en el brazo del anillo A con un grupo hidroximetilo y en el anillo C con un grupo piridilo unido a un ciclo de tetrazol. Estos grupos forman enlaces de hidrógeno fácilmente, encontrando que el compuesto TR-700 exhibió un incremento en la potencia antibacteriana sobre bacterias Gram positivas y fue más potente (8-16 veces) en dosis significativamente más bajas que linezólida sobre cepas bacterianas resistentes a linezólida (Tabla 7).

El análogo con las características mejores fue el fosfato de tedizólida, presenta un grupo fosfato que al estar en el torrente sanguíneo es hidrolizado por las enzimas fosfatasas para obtener TR-700. Este análogo presentó una solubilidad >50 mg/mL, así como una estabilidad química excelente al ser evaluado a pH distinto.

Tabla 7. Actividad antibacteriana *in vitro* de linezólida y del compuesto TR-700.



Organismo (número cepas)	Antibiótico	Intervalo CMI (µg/mL)	50% CMI (µg/mL)	90% CMI (µg/mL)
<i>S. aureus</i> (17)	TR-700	0.12-8	0.25	2
	LZD	1-64	2	16
<i>S. epidermidis</i> (19)	TR-700	2-64	4	8
	LZD	16-128	32	128
<i>E. faecalis</i> (16)	TR-700	2-4	4	4
	LZD	8-32	32	32
<i>E. faecium</i> (36)	TR-700	0.5-8	2	4
	LZD	4-128	32	64
<i>S. hominis</i> (1)	TR-700	2	ND	ND
	LZD	16		
<i>S. sciuri</i> (5)	TR-700	2-4	ND	ND
	LZD	16-32		

ND: no determinada

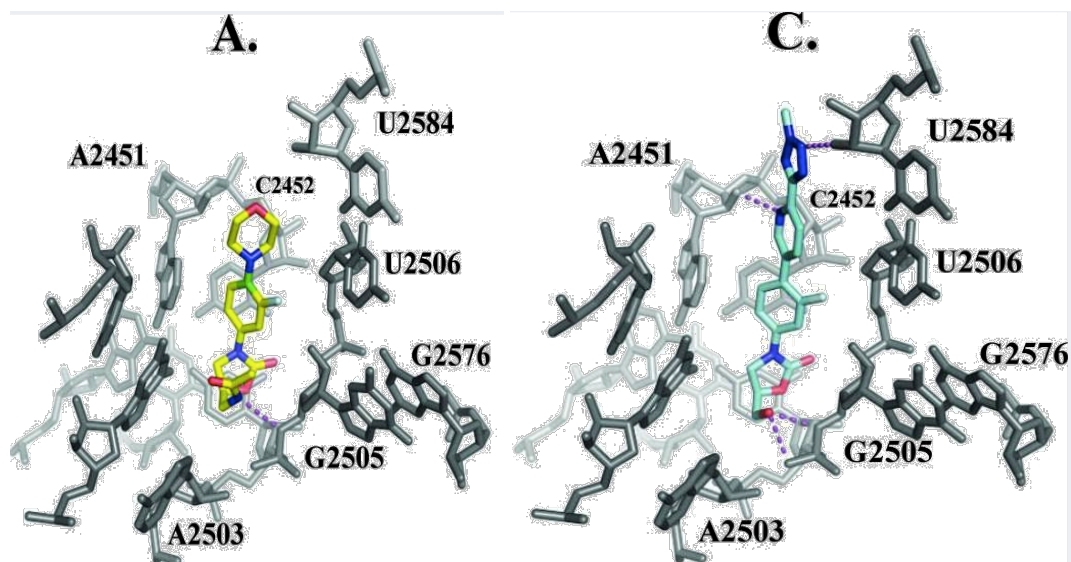


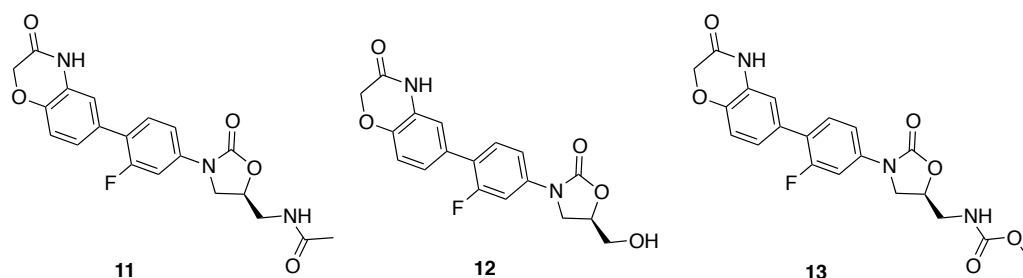
Figura 12. Modelo de interacción de linezólida (amarillo) y tedizólida (azul).

Mediante el modelado, se analizó la interacción de tedizólida en la subunidad ribosomal de *Escherichia coli* (Figura 12), se observa claramente que esta molécula presentó mas sitios de interacción por formación de enlaces de hidrógeno en el ribosoma de la bacteria comparando con linezólida, que presenta solo una interacción de este tipo con el grupo acetoamidometilo y el grupo fosfato de la base de la G2505. En cambio tedizólida interacciona con el grupo –OH en dos puntos de contacto del nucleótido G2505 (grupo fosfato y ribosa), en el grupo aromático C interacciona el nitrógeno como aceptor de hidrógeno con el hidroxilo de la ribosa de la base A2451 y por último, la interacción del tetrazol a través de un nitrógeno que funciona como aceptor de hidrógeno con el hidroxilo de la ribosa unida a la base del U2584. Cabe mencionar que radezólida y tedizólida se encuentran en estudio clínico fase III.

En esta temática sobre la generación de análogos modificados en el anillo C con grupos aceptores y donadores de hidrógeno, Deshmukh y Jain⁵⁷ en el 2017 fusionaron heterociclos en esta posición, siendo la unión de dos anillos de seis carbonos con los que se encontraron los resultados mejores (compuestos de tipo benzoxazinona). Así la ubicación de los heteroátomos en la estructura fueron decisivos en su actividad, lo que habla de la interacción espacialmente específica en el sito de acción, de igual manera

modificaron el brazo unido al anillo A, siendo los grupos acetoamidametilo **11**, el hidroximetilo **12** y carbamato de metilo **13** los que presentaron la actividad mejor al ser evaluados frente a bacterias Gram positivas y sorpresivamente frente a Gram negativas (Tabla 8).

Tabla 8. Actividad antibacteriana *in vitro* de benzoxazinona análogos a linezólida (CMI ($\mu\text{g/mL}$)).



Comp	S.a. ^a	S.a. ^b	S.a. ^c	S.a. ^d	S.a. ^e	E.f. ^f	E.f. ^g	S.p. ^h	S.p. ⁱ	S.e. ^j	H.i. ^k
11	0.125	0.5	0.125	0.5	1	0.03	0.03	0.06	0.06	0.06	0.25
12	<0.06	0.5	0.125	0.5	1	<0.06	<0.06	<0.06	<0.06	<0.06	0.5
13	0.06	0.125	0.125	0.06	0.5	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.125
L	1	1	2	1	16	2	2	0.5	0.5	N.D.	4

^a*Staphylococcus aureus* ATCC 6538P. ^b*Staphylococcus aureus* ATCC 33591. ^c*Staphylococcus aureus* ATCC 29213. ^dMRSA 1201984. ^e*Staphylococcus aureus* (linezólida-resistente). ^f*Enterococcus faecalis* ATCC 29212. ^g*Enterococcus faecium* 19434. ^h*Streptococcus pneumoniae* 55143. ⁱ*Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. ^j*Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990. ^k*Haemophilus influenzae* ATCC 49247. L = linezólida. N.D.= no determinada.

Para entender las interacciones posibles de los compuestos en el sitio de acción, se llevó a cabo el estudio por modelado molecular en la estructura cristalina de la unidad ribosómica 50S de *Haloarcula marismortui*. El biciclo de benzoxazinona genera dos interacciones adicionales de enlace de hidrógeno con los azúcares de los nucleótidos U2541 y A2486, además de la interacción principal derivada del enlace de hidrógeno N-H del grupo acetamidometilo con el grupo fosfato del nucleótido G2540 (Figura 13).

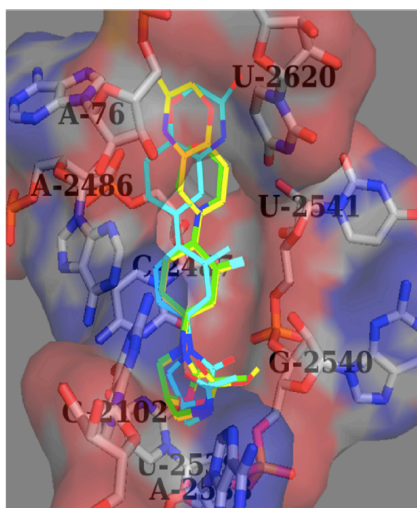
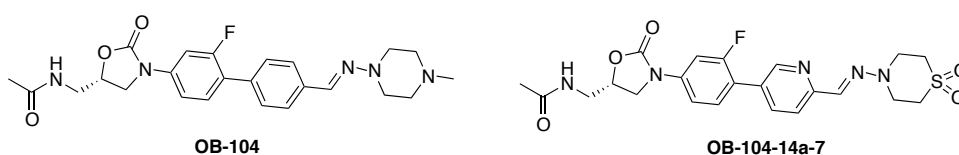


Figura 13. Superposición en el sitio de acción de los compuestos **11** (azul), **13** (amarillo) y linezólida.

El grupo de trabajo de Sun y Zhao⁵⁸ en China, obtuvo el compuesto **OB-104**, un derivado de biariloxazolidinona que presenta en su estructura un resto hidrazona, este grupo está presente en el antibiótico rifamicina y es importante para su actividad. El conjugado hidrazona-análogo biarilo mostró una actividad antibacteriana *in vitro* excelente frente a cinco bacterias Gram positivas, que al compararlo con linezólida es 30 veces más activo. Sin embargo, el compuesto **OB-104** es inestable, citotóxico y provoca mielosupresión. Esta inestabilidad es generada principalmente por reacciones sobre la hidrazona, por lo que la incorporación de grupos voluminosos, introducir átomos donadores y aceptores de enlace hidrógeno en su estructura y en el anillo D, podrían disminuir o evitar la degradación de hidrazona, y con esto, sus efectos adversos. Los resultados mejores se encontraron con **OB-104-14a7** al modificar el anillo D con piridina, y el anillo de piperazina terminal con un sustituyente SO₂. La presencia de grupos voluminosos generó la disminución de la actividad y estabilidad de los analógos. Desafortunadamente no se logró igualar la actividad encontrada con **OB-104**, sin embargo, se mejoró considerablemente la actividad comparada contra linezólida y radezólida, además de mejorar la estabilidad metabólica, la solubilidad en agua y el perfil de seguridad comparado a linezólida y

OB-104. En el modelado molecular la estructura de **OB-104-14a7** se superpone a linezólida, lo que predice un mecanismo de acción similar inhibiendo la síntesis de proteínas, indicando que los fragmentos modificados mejoran su interacción en el sitio de acción (Tabla 9). De esta manera se optimizaron estructuralmente este tipo de análogos de linezólida y se esperan resultados prometedores en un futuro.

Tabla 9. Análogos de tipo biariloxazolidinona conjugados con hidrazona.



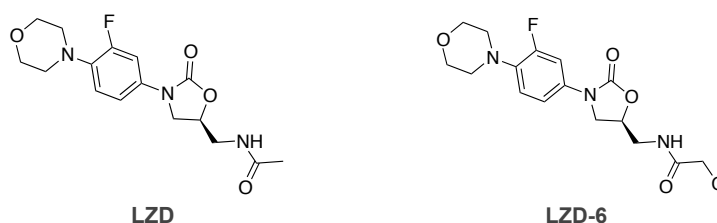
Compuesto	<i>S. aureus</i> ^a (CMI= µg/mL)	MRSA ^b (CMI= µg/mL)	MSSA ^c (CMI= µg/mL)	LREF ^d (CMI= µg/mL)	VRE ^e (CMI= µg/mL)	A.G. ^f	S ^g (µg/mL)	E ^h	HepG2 ⁱ (IC ₅₀ =µM)
OB-104	0.0675	0.0675	0.0675	0.0675	0.0675	alta	11.9	m	0.82
OB-104-14a-7	0.125	0.125	0.125	0.25	0.125	alta	68	e	>25
Linezólida	1	1	1	>16	2	alta	-	e	>25
Radezólida	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	alta	-	e	>25

^a*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, ^b*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, ^c*Staphylococcus aureus* sensible a meticilina, ^d*Enterococcus faecalis* resistente a linezólida, ^e*Enterococcus faecium* resistente a vancomicina, ^fAbsorción gástrica, ^gSolubilidad, ^hEstabilidad (m = media, e = estable), ⁱcitocompatibilidad.

Existen estudios escasos de análogos de linezólida modificados en el brazo (grupo acetoamidometilo), debido a que esta porción de la molécula es fundamental para el anclaje en el sitio de acción. Dentro de estos estudios se tiene el reportado por Lupton y Lithgow⁵⁹ donde emplean la técnica de microscopía del Cryo-electrón (Cryo-ME), como una herramienta novedosa para determinar información estructural de biomoléculas sin necesidad de estructuras de rayos X, y así ayudar en el diseño de fármacos basados en dichas estructuras. Mediante esta técnica se logró identificar la

resistencia a linezólida en una cepa MRSA por la mutación en los nucleótido U2506 y G2505, que estructuralmente genera una cavidad donde linezólida se introduce y la interacción con los nucleótidos donde lleva su anclaje se ve afectado. Por lo que diseñaron la modificación del grupo carbonilo terminal con grupos o átomos voluminosos que ocuparan dicha cavidad redirigiendo la estructura del análogo para generar la interacción típica de enlace de hidrógeno y así su actividad. Del diseño de síntesis de análogos el compuesto **LZD-6** con un átomo de cloro en el grupo acetoamidometilo presentó los resultados mejores logrando redirigir la estructura a ocupar la misma pose que linezólida para generar su interacción típica y la actividad del mismo (Tabla 10). El empleo de esta técnica es útil en el diseño de fármacos nuevos para el tratamiento de enfermedades clínicamente importantes.

Tabla 10. Comparación de linezólida frente al análogo **LZD-6**



Compuesto	S. aureus	MRSA (Lin ^R)	S. capitis	S. epidermidis	VRE
LZD-6	0.25	1	0.25	0.13	0.25
LZD	0.5	2	0.5	0.25	1

VRE =Enterococcus vancomicina resistente (ATCC700221)

La búsqueda de compuestos activos de espectro amplio es una idealidad en la comunidad científica. Es decir, un antibiótico que sea activo frente a bacterias Gram negativas y positivas. Estructuralmente, la diferencia entre bacterias Gram negativas y positivas es la membrana externa conformada por peptidoglicano, lipopolisacáridos, fosfolípidos, porinas y proteínas transmembranales, además del espacio periplasmático. Dichos componentes estructurales se vuelven una barrera importante

en la actividad de los antibióticos empleados frente a Gram positivas llegando a disminuir su actividad hasta 256 veces. Existen tres mecanismos importantes de defensa en las bacterias Gram negativas: la inhibición del transporte pasivo, las proteínas transmembranales limitan al flujo de antibióticos de peso molecular alto, las bombas de eflujo mediante transporte activo expulsan aquellas moléculas que logran internarse en el periplasma (Figura 14).

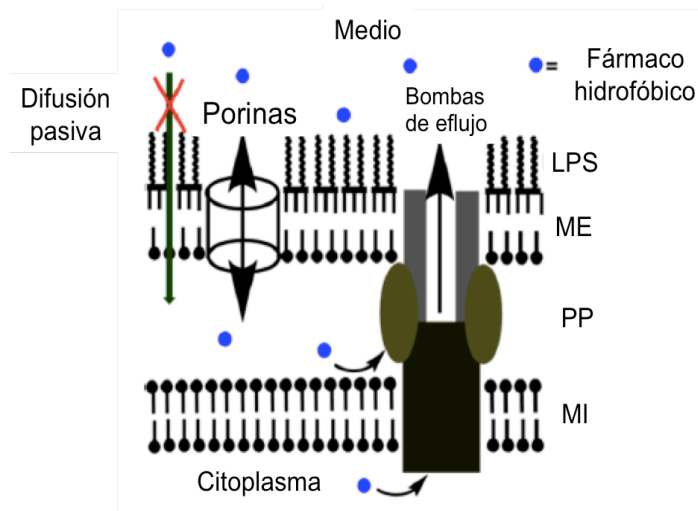
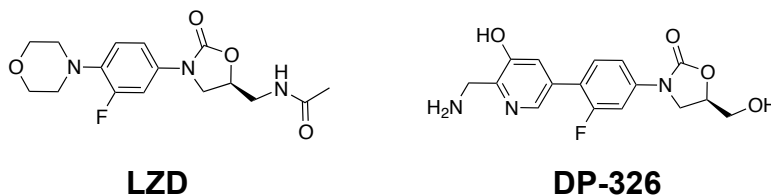


Figura 14. Barreras de internalización del antibiótico en bacterias Gram negativas.

La estrategia para minimizar estas barreras ha llevado a la comunidad científica a establecer algunos parámetros importantes en la formulación de antibióticos nuevos. Además de presentar actividad alta deben presentar algunas propiedades fisicoquímicas como peso molecular bajo (preferible <400), polaridad relativamente alta y presentar un carácter zwitteriónico en pH fisiológico. Aggen y colaboradores⁵⁷ sintetizaron una biblioteca amplia de análogos de linezólida teniendo en cuenta las propiedades mencionadas. El compuesto DP-326 presenta a diferencia de linezólida una modificación en el brazo con el grupo hidroximetilo y en el anillo C con piperidina sustituida con un grupo hidroxilo y metilamina. Estas modificaciones le brindan un buen parámetro fisicoquímico, que se ve reflejado en la actividad. Si bien, no presentó la

misma actividad al ser evaluada frente *Staphylococcus aureus* (CMI = 20 µg/mL), frente a *Escherichia coli* presentó una CMI mejor comparada con linezólida (Tabla 11).

Tabla 11. Actividad antibacteriana y propiedades fisicoquímicas de DP-326.



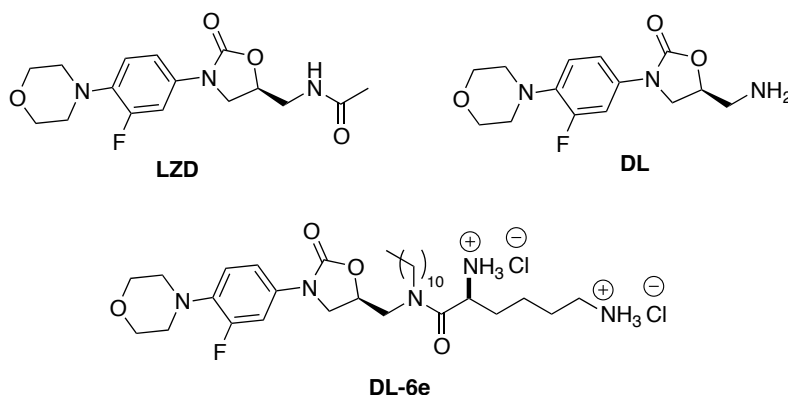
Compuesto	<i>E. coli</i> (CMI)	<i>S. aureus</i> (CMI)	PM (g/mol)	Radio de eflujo	Radio de permeabilidad	clogD	Z %
Linezólida	130 µg/mL	3.1 µg/mL	337.3	12	3.6	0.64	0
DP-326	51 µg/mL	20 µg/mL	333.3	1.6	1.6	-0.30	56.6

PM = peso molecular, clogD = coeficiente de distribución, Z% = carácter zwitteriónico en porcentaje a pH= 7.4.

Inspirados en las propiedades de los antimicrobianos peptídicos (AMP's), compuestos de amplio espectro empleandos en el tratamiento de bacterias fármaco resistentes que actúan a nivel de la membrana bacteriana y las propiedades de linezólida ampliamente mencionadas con anterioridad, Zhang y colaboradores⁶¹ sintetizaron compuestos anfífilos catiónicos análogos de linezólida diacetilo por dos rutas sintéticas diferentes, a partir de linézolida desacetilada (**DL**), es decir, con el grupo amino libre. Las rutas consistieron en obtener compuestos que generaran cationes (cargas positivas), iniciando con la obtención de un enlace amida de tipo no dipéptido, la sustitución con una cadena *N*-alquílica trisustituida para la formación de compuestos amino cuaternario, variando la longitud de la cadena con el fin de determinar el carácter lipofílico de los mismos. Así, como la adición a **DL** de *N*-alquilos y aminoácidos con grupos amino en su estructura como lisina y argina que tienen la capacidad de obtenerse en su forma de clorhidrato, generando de esta manera las cargas positivas. Como resultado se obtuvo que la longitud de la cadena alquílica juega

un papel muy importante en el carácter lipofílico de los compuestos al momento de ser evaluados, encontrándose que la cadena de 11 carbonos confiere actividad mayor. El estudio con bacterias Gram positivas y negativas resaltó al derivado de lisina (**DL-6e**) como el compuesto activo más prometedor, al encontrarse que tiene una CMI muy similar a la de los antibióticos empleados frente bacterias sensibles, presenta actividad contra bacterias fármaco resistente inclusive mayor a la de los antibióticos utilizados, es bactericida, presenta disponibilidad alta y no es citotóxico (Tabla 12). De tal manera que fusionar las propiedades de dos clases de antibióticos ha generado una vía alterna en la búsqueda de compuestos activos nuevos.

Tabla 12. Actividad antibacteriana de compuestos catiónicos derivados de linezólida (CMI = $\mu\text{g/mL}$).



Compuesto	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. enterica</i>	MRSA-3	KPC-1	NDM-5
DL-6e	2	4	8	16	2	16	8
LZD	2	2	>64	>64	4	>64	>64
DL	>128	>128	>128	>128	>128	>64	>64
V	2	2	64	32	1	>64	>64
MEM	0.125	4	<0.125	0.125	32	>64	64

LZD = linezólida, DL = linezólida desacetilada. V = vancomicina, MEM = meropenem, MRSA = *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, NDM = Metalo beta-lactamasa Nueva Delhi, KPC = *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa.

3.5. Dipéptidos

La funcionalización de moléculas biológicamente activas con aminoácidos diversos para generar derivados genera la posibilidad de una interacción mayor en el sitio de acción, potencializando su efecto con propiedades metabólicas mejores y toxicidad baja.

Kline y colaboradores⁶² sintetizaron compuestos tipo 2-imino-5-arilidenotiazolidin-4-ona tris arilo sustituidos, activos en la inhibición del sistema de secreción de tipo III en las bacterias Gram negativas, cuya función es la de secretar proteínas al medio extracelular entre las que se incluyen toxinas, adhesinas y enzimas hidrolíticas diversas que se requieren en aspectos diferentes del ciclo de vida bacteriano. Por ejemplo, en la biogénesis de organelos, la adquisición de nutrientes y la expresión de factores de virulencia. *Salmonella typhimurium* expresa mediante el sistema de secreción tipo III una proteína de unión a actina llamada SipA, que inhibe la depolimerización de F-actina y activa T-plasmina para su adhesión a células eucariotas. El compuesto (2Z,5Z)-5-(4-hidroxi-3,5-dimetoxibencilideno)-3-fenil-2-(fenilimino)tiazolidin-4-ona (**14**) fue evaluado mediante Western blot frente a esta proteína y presentó un IC₅₀ de 83 µM. Posteriormente, llevaron a cabo la derivatización de núcleo tiazolidinona con dipéptidos diferentes unidos al nitrógeno del anillo obteniendo como resultado una mejoría en la actividad desde seis hasta 27 veces en los compuestos funcionalizados con el dipéptido bifenilalanina-ornitina **15** y bifenilalanina-arginina **16**. Los valores de IC₅₀ fueron 13 y 3 µM, respectivamente, mostrando afinidad mayor al receptor causado por interacción mayor al sitio de acción que los autores llaman interacción proteína-proteína (Figura 15).⁶³

Por otro lado, salutaxel es un profármaco de doble función conjugado del fármaco docetaxel y un análogo del muramil dipéptido (MDP). Docetaxel es reconocido como un agente quimioterapéutico altamente activo contra varios tipos de cáncer. Por su parte, MDP y sus análogos son potenciadores de las acciones

antitumorales de agentes diversos de necrosis tumoral. La asociación de docetaxel y el MDP logró un sinergismo al superar a docetaxel en su capacidad para prevenir el crecimiento tumoral y la metástasis, inhibiendo a los receptores NOD1 encargados de la transcripción del ADN que a su vez estimulan la proliferación celular, además de disminuir los niveles inflamatorios séricos de citocinas en el tejido tumoral. Salutaraxel es metabolizado para ejercer su acción por el sistema citocromo P450 en sus dos precursores docetaxel y MDP (Figura 16).⁶⁴

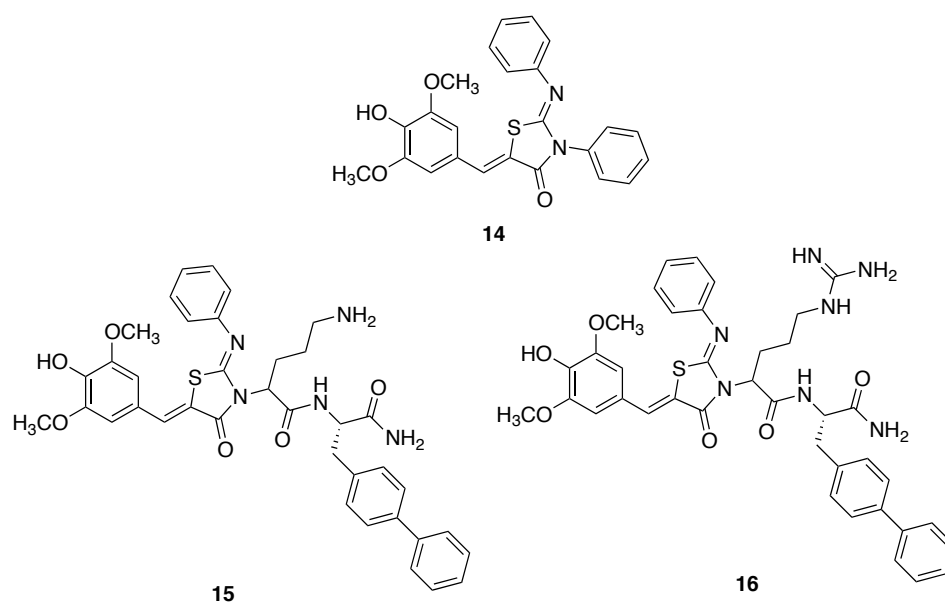


Figura 15. Compuestos antibacterianos con inhibición de la proteína SipA: estructura base de tiazolidinona (**14**), tiazolidinona modificada con el dipéptido bifenilalanina-ornitina (**15**) y modificada con bifenilalanina-arginina (**16**).

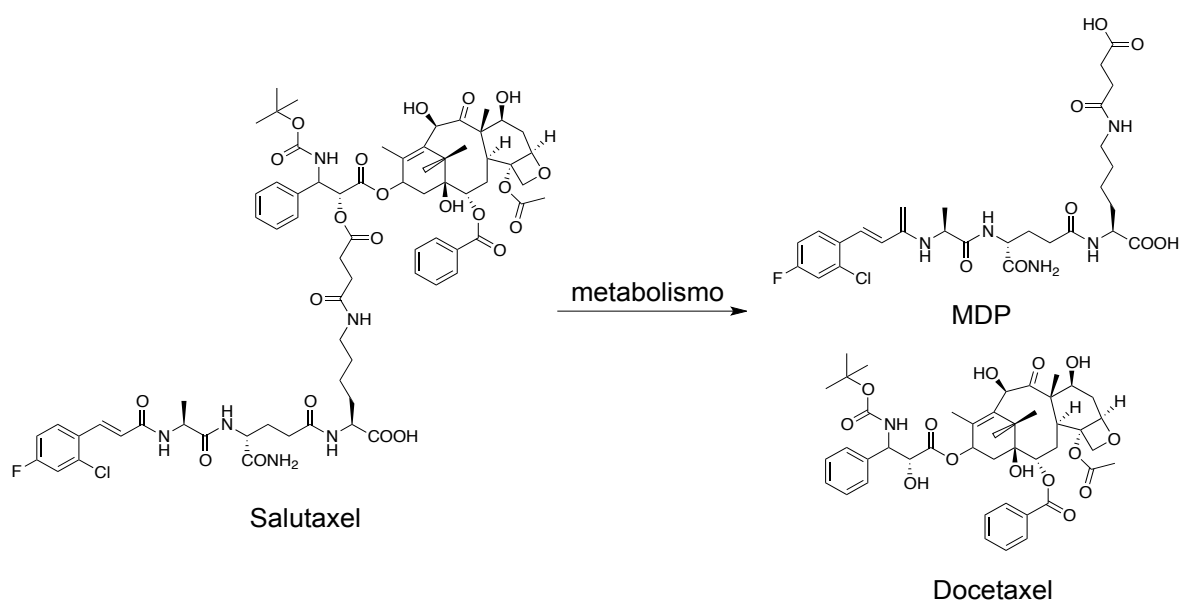
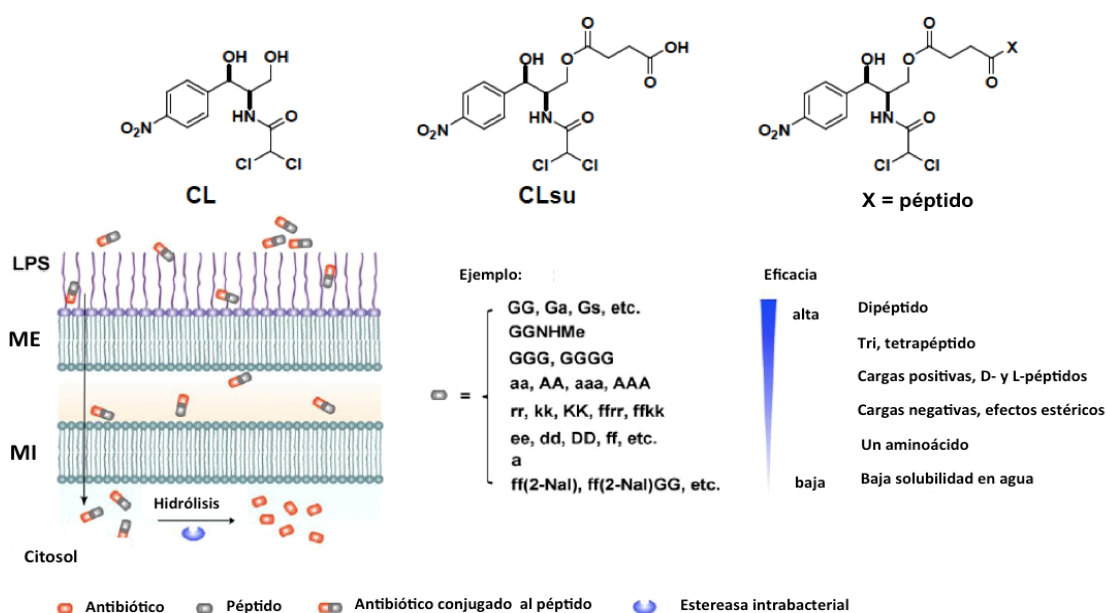


Figura 16. Salutaridin es metabolizado docetaxel y el dipéptido (MDP).

El cloranfenicol (CL) es un antibiótico bacteriostático de amplio espectro que inhibe la síntesis de proteínas, efectivo contra la mayoría de bacterias Gram positivas y Gram negativas. Posee un sabor amargo intenso y es muy inestable en suspensión acuosa. Este problema se ha solucionado al formular un profármaco como éster palmítico o succinato de cloranfenicol. El fármaco es hidrolizado y liberado en su forma activa por las enzimas presentes en el intestino delgado en el primer caso y por enzimas presentes en el interior de la bacteria en el segundo. En búsqueda de mejorar el profármaco y tomando en cuenta estudios previos donde se mejora la actividad conjugando el cloranfenicol con aminoácidos, Xu y colaboradores⁶⁵ llevaron a cabo la síntesis de 34 análogos conjugando el profármaco succinato de cloranfenicol (CLsu) con L y D-aminoácidos diversos variando el número de aminoácidos unidos desde uno hasta la incorporación de tetrapéptidos que modificarían las propiedades estéricas, espaciales, de carga superficial (positiva, negativa o neutra), liposolubilidad y degradación (Esquema 4).



Esquema 4. Ilustración de antibióticos conjugados con péptidos en su activación intrabacteriana y las tendencias estructurales de los conjugados con su eficiencia (LPS: lipopolisacárido; ME: membrana externa; MI: membrana interna).

En la síntesis de los análogos se empleó el método de fase sólida con la metodología tradicional de péptidos. La actividad antibacteriana se evaluó frente a *E. coli* (K-12) determinando la CMI (μM). Los resultados mejores se encontraron con los análogos conjugados con dipéptidos en su estructura directamente unido con L-glicina, el cambio de aminoácido disminuye la actividad. Además, el segundo aminoácido no debe generar carga superficial (ejemplo: glicina, alanina, leucina, fenilalanina), esto favoreció la hidrólisis producida por las estereosas dentro de la bacteria generando la forma activa reduciendo el tiempo de hidrólisis considerablemente al compararlo frente al profármaco (Tabla 13). El cambio de aminoácido por aquéllos con carga superficial o muy hidrofóbicos disminuye la hidrólisis y por lo tanto, su actividad es baja, posiblemente por interacciones en la membrana y que no le permiten llegar al citosol donde se encuentran las estereosas. Los ensayos de citotoxicidad, destacan su uso posible en terapia al no ser citotóxicos, generando una estrategia para el diseño de compuestos activos a través de la conjugación péptidos.

Tabla 13. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del conjugado CLsu con péptidos diversos frente *E. coli* (K-12).

#	Compuesto	CMI (μM)	#	Compuesto	CMI (μM)
	CL	20	1q	Cl-su-GGGGG	40
	Cl-su	>200	2a	Cl-su-rr	200
1a	Cl-su-GI	20	2b	Cl-su-kk	200
1b	Cl-su-Ga	20	2c	Cl-su-KK	200
1c	Cl-su-Gs	20	2d	Cl-su-ffrr	200
1d	Cl-su-sG	40	2e	Cl-su-ffkk	200
1e	Cl-su-GGNHMe	20	2f	Cl-su-GK	20
1f	Cl-su-GGGG	20	2g	Cl-su-ee	>200
1g	Cl-su-aa	80	2h	Cl-su-dd	>200
1h	Cl-su-AA	100	2i	Cl-su-DD	200
1i	Cl-su-aaa	80	2j	Cl-su-GD	20
1j	Cl-su-AAA	100	3a	Cl-su-ff	100
1k	Cl-su-GGf	20	3b	Cl-su-ff(2-Nal)	>200
1l	Cl-su-GGF	20	3c	Cl-su-ff(2-Nal)GG	>200
1m	Cl-su-GFG	20	4a	Cl-su-a	>200
1n	Cl-su-FGG	80	4b	Cl-su-OMe	>200
1o	Cl-su-GGff	20	4c	Cl-su-Tau	40
1p	Cl-su-GGFF	20	4d	Cl-su-ep	100

G = glicina, I = isoleucina, S = serina, A = alanina, F = fenilalanina, R = arginina, K = lisina, E = ácido glutámico, D = aspartato, Tau = taurina, ep = fosforiletanolamina. Las letras mayúsculas y minúsculas de los aminoácidos corresponden a L y D-aminoácidos correspondientemente.

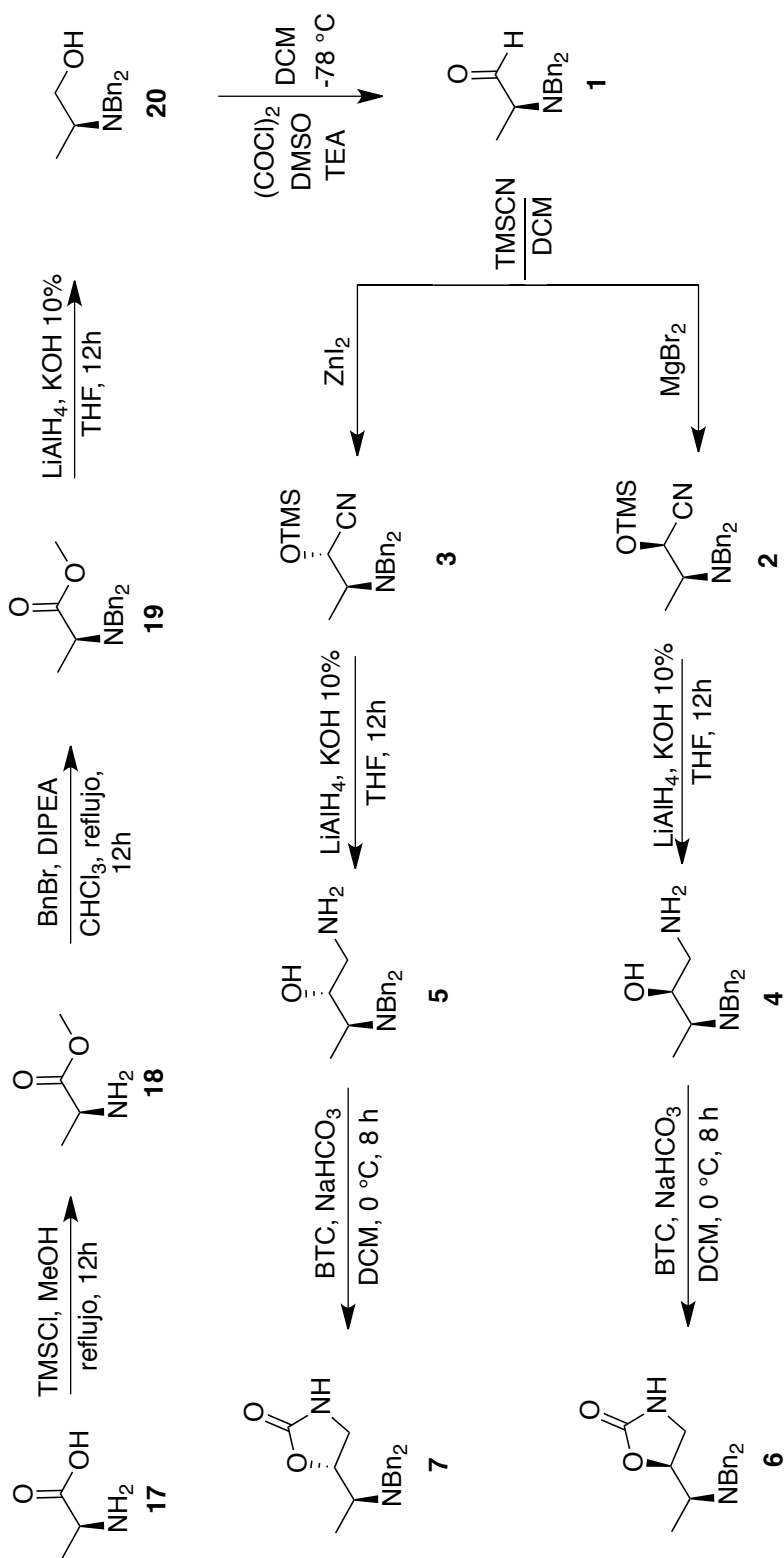
3.6. Hipótesis

Los compuestos análogos a linezólida presentarán actividad antibacteriana y/o antiparasitaria debido a la presencia de un número mayor de grupos funcionales capaces de establecer un número mayor de interacciones supramoleculares en el sitio de acción.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El desarrollo de este trabajo está dirigido en su primera etapa a la síntesis de compuestos con una estructura base de oxazolidinona con dos centros estereogénicos presentando una estereoquímica *anti* (*R,S*) y una *sin* (*S,S*) a partir del α -aminoácido enantiopuro derivado de L-alanina. A continuación se enlistan las etapas de reacción realizadas (Esquema 5).

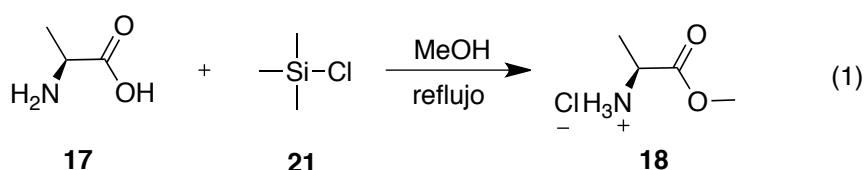
1. Esterificación de α -alanina con TMSCl.
2. Protección del grupo amino mediante una dibencilación con BnBr.
3. Obtención del β -aminoalcohol mediante reducción con LiAlH_4 .
4. Oxidación del β -aminoalcohol empleando el método de Swern.
5. Obtención de trimetilsililoxicianhidrina con estereoquímica *anti* (*R,S*) y *sin* (*S,S*) empleando yoduro de zinc y bromuro de magnesio, respectivamente.
6. Obtención del α -aminoalcohol mediante reducción con LiAlH_4 .
7. Ciclación con trifosgeno para la obtención de la 1,3-oxazolidin-2-ona.



Esquema 5. Ruta de síntesis de 1, 3-oxazolidin-2-ona.

4.1. Síntesis de α -aminoéster de alanina, **18**.

La primera etapa de síntesis inició con la esterificación del aminoácido alanina **17** empleando al cloruro de trimetilsilano (TMSCl). Este es un método conveniente para la esterificación de ácidos carboxílicos y debido a que esta reacción se maneja bajo condiciones suaves, es de preparación sencilla y porcentajes de rendimiento de moderado a alto (76-98%). En este trabajo el producto se obtuvo con un rendimiento del 95%.

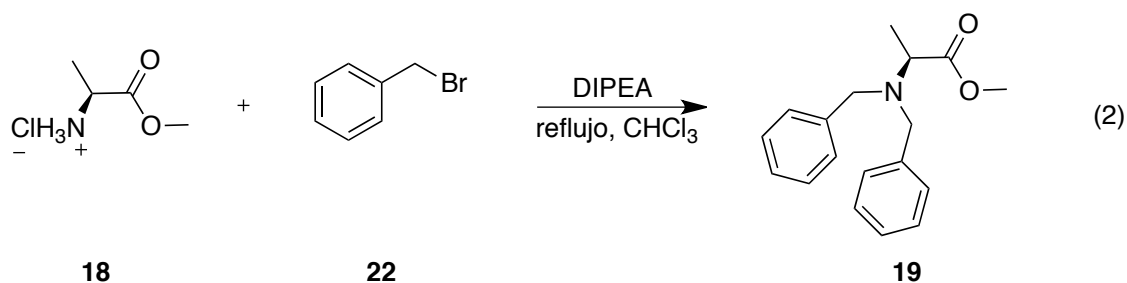


El espectro de IR del compuesto **18** mostró las bandas características a 2955 y 2920 cm^{-1} correspondientes al estiramiento de C-H alifáticos, a 1737 cm^{-1} la vibración del estiramiento del carbonilo C=O del éster, a 1456 cm^{-1} las vibraciones ocasionadas por los hidrógenos alifáticos C-H y por último, el estiramiento C-O a 885 cm^{-1} . En el espectro de RMN ^1H se observó un singulete ancho a 8.68 ppm asignado a los dos hidrógenos del grupo amino, en 4.08 ppm se encuentra un multiplete que corresponde al hidrógeno del metino, en 3.78 ppm se encuentra un singulete que integra para los tres hidrógenos del grupo metoxilo, y por último, un doblete a 1.42 ppm con una $J = 7.2$ Hz correspondiente al metilo. El espectro de RMN ^{13}C mostró en 170.8 ppm la señal del carbonilo, en 53.2 ppm la del metoxilo, en 48.2 ppm la señal del metino y por último, la señal del metilo en 16.1 ppm.

4.2. Síntesis de (S)-2-(N,N-dibencilamino)propionato de metilo (**19**).

En la segunda reacción se realizó la protección del grupo amino con bromuro de bencilo empleando diisopropiletilamina (DIPEA) como base en cloroformo.

Esta es una reacción S_N2 típica, este grupo protector voluminoso es el responsable del control en la estereoselectividad en las etapas posteriores de la síntesis e inhibe la racemización, además tiene la ventaja de requerir de un método de desprotección relativamente sencillo. El producto crudo se purificó en columna empacada con gel de sílice empleando una fase móvil éter de petróleo-acetato de etilo (9:1) y se obtuvo con rendimiento del 85%.

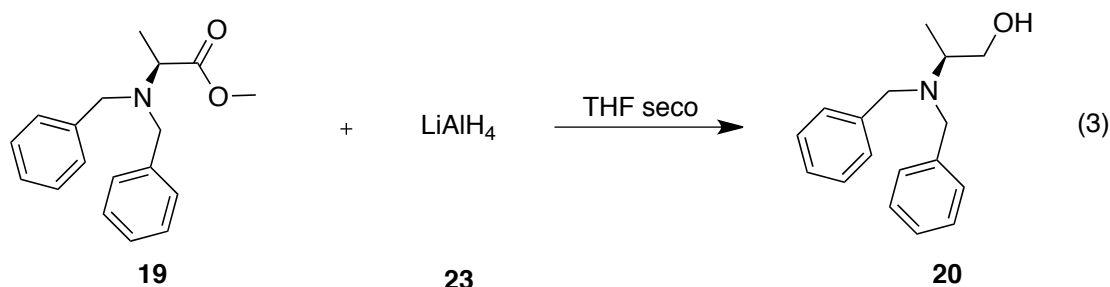


El espectro de FT-IR del compuesto **12** presenta una vibración en 3273 cm^{-1} que corresponde al estiramiento C-H aromático, en 2921 cm^{-1} las vibraciones de estiramiento de C-H alifático, en 1741 cm^{-1} el estiramiento correspondiente al carbonilo de éster, a 1627 cm^{-1} las vibraciones C=C y 1115 cm^{-1} el estiramiento del enlace C-O. El espectro de RMN ^1H presenta el sistema aromático A_2B_2C (observado como un doblete, un triplete y un triplete a 7.37, 7.29 y 7.21 ppm con $J = 7.2\text{ Hz}$ y una integración de cuatro, cuatro y dos hidrógenos, respectivamente. En 3.83 y 3.62 ppm se encuentran dos sistemas AB alifáticos visto como dos dobletes con $J = 14.0\text{ Hz}$, que se asignan a los metilenos bencílicos. En 3.73 ppm se encuentra un singulete que integra para los tres hidrógenos del metoxilo, en 3.51 ppm un cuarteto con una $J = 7.2\text{ Hz}$ que corresponde al metino y por último, en 1.32 ppm un doblete con una $J = 7.2\text{ Hz}$ que integra para el metilo. En el espectro de RMN ^{13}C se observan las siguientes señales: en 174.2 ppm el carbonilo de éster, en la región aromática a 139.9 ppm se encuentran los carbonos cuaternarios, en 128.7, 128.2 y 126.9 ppm los carbonos del sistema A_2B_2C . En 56.2 ppm se encuentra la señal del metino, en 54.2 ppm la señal de los metilenos bencílicos, en 51.2 ppm la señal del metoxilo y en 15.0 ppm la del carbono del metilo.

El espectro de EMIE muestra el M^+ de 283 uma con dos fragmentos abundantes correspondientes a la ruptura beta originada a partir del nitrógeno perdiendo el grupo éster a 224 uma y la formación del ión tropilio a 91 uma.

4.3. Síntesis de (S)-2-(N,N-dibencilamino)-1-propanol (20).

En la tercera reacción de síntesis se llevó a cabo la reducción del grupo éster **19** al alcohol correspondiente empleando hidruro de litio y aluminio (LiAlH_4) como agente reductor. Esta reacción es de manipulación sencilla, el producto se obtuvo con un rendimiento del 95%, similar al reportado en la literatura.



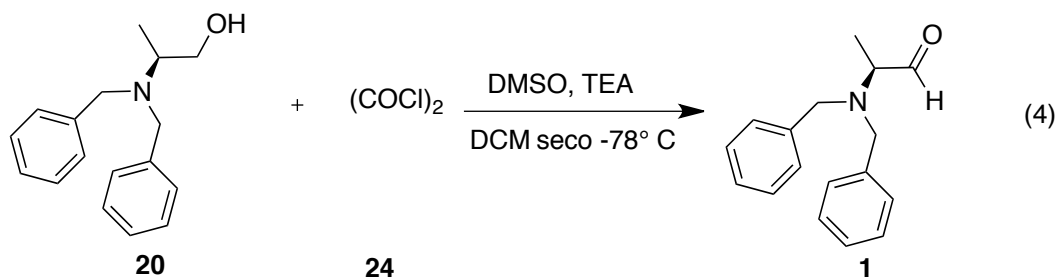
En el espectro de FT-IR del compuesto **20** no se encuentra la banda correspondiente a carbonilo de éster en 1741 cm^{-1} , lo que indica claramente la reducción de este grupo. En el espectro se observan la vibración del estiramiento O-H a 3429 cm^{-1} , en 3062 cm^{-1} la del estiramiento C-H aromático, en 2985 cm^{-1} la del estiramiento C-H alifático, en 1602 cm^{-1} la del estiramiento C=C, en 1364 cm^{-1} la del estiramiento C-N. El espectro de RMN ^1H presenta en 7.30 ppm un multiplete que integra para los 10 hidrógenos aromáticos, en 3.81 y 3.36 ppm dos sistemas AB alifáticos vistos como dos dobletes con $J = 14.0\text{ Hz}$ que integran para los cuatro hidrógenos de los metilenos bencílicos, a 3.45 y 3.33 ppm en un ambiente diasterotópico se observan dos señales, la primera es un triplete con una $J = 10.8\text{ Hz}$ y el segundo es un doble de dobles con $J = 6.8$ y 7.2 Hz , ambas se asignaron a los hidrógenos del metileno unido a oxígeno, en 2.98 ppm se encuentra un multiplete que integra para el metino y a 0.98 ppm un doblete con una $J = 6.8\text{ Hz}$ que integra para tres hidrógenos del metilo. El espectro de RMN ^{13}C muestra en 139.3 ppm la señal de los carbonos

cuaternarios, en 129.0, 128.5 y 127.2 ppm los carbonos de los dos sistemas A_2B_2C , en 54.3 ppm el metino del centro asimétrico, en 53.0 ppm la señal correspondiente a los metilenos bencílicos y en 8.7 ppm la del metilo.

De igual manera el espectro de EMIE muestra el M^+ a 255 uma y las dos fragmentos más abundantes de 224 (100) y 91(90) uma.

4.4. Síntesis de (S)-2-(N,N-dibencilamino)-1-propanal (1).

En la cuarta reacción de síntesis se empleó la oxidación de Swern, la cual es utilizada ampliamente en la obtención de aldehídos a partir de alcoholes primarios. Esta oxidación selectiva es efectuada por la sal de Swern, cuyo tiempo de vida media es muy corto y las condiciones de reacción deben ser controladas. El producto de esta reacción se obtuvo con un rendimiento del 95%.

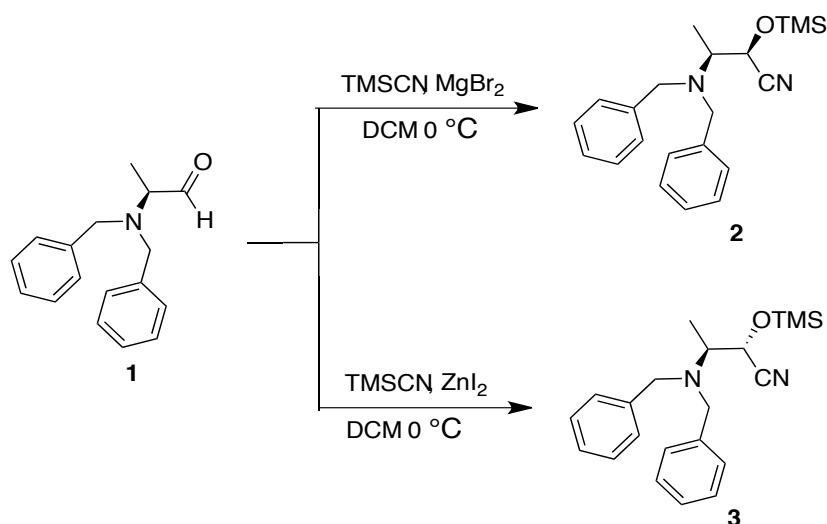


El espectro de FT-IR del compuesto **1** presentan las vibraciones en 3023 cm^{-1} del estiramiento C-H aromático, en 2977 cm^{-1} la del estiramiento C-H alifático, en 1726 cm^{-1} la del estiramiento C=O de aldehído y en 1377 cm^{-1} la vibración del estiramiento C-N. El espectro de RMN ^1H presenta un singulete en 9.72 ppm correspondiente al hidrógeno del aldehído, en la región aromática los dos sistemas A_2B_2C se ven a 7.40 ppm un doblete con una $J = 7.2 \text{ Hz}$, en 7.31 ppm un triplete con una $J = 7.2 \text{ Hz}$ y en 7.24 ppm un triplete con una $J = 7.2 \text{ Hz}$ que integran para los 10 hidrógenos aromáticos. En 3.73 y 3.57 ppm se encuentra dos sistemas AB alifáticos como dos dobletes correspondientes a los hidrógenos de los metilenos bencílicos con una $J = 13.6 \text{ Hz}$, en 3.23 ppm se observa un cuarteto con una $J = 6.8 \text{ Hz}$ que integra para el hidrógeno del metino y por último, a 1.17 ppm se encuentra un doblete con una $J = 6.8 \text{ Hz}$ que integra para los tres hidrógenos del metilo. El espectro de RMN ^{13}C muestra a 204.4 ppm la

señal típica del carbonilo de aldehído, en 139.1 ppm los dos carbonos aromáticos cuaternarios, en 128.8, 128.4 y 127.4 ppm las señales de los dos sistemas A_2B_2C para 10 carbonos, respectivamente. En 63.0 ppm se encuentra la señal del metino, en 55.0 ppm se observa la señal de los metilenos bencílicos y en 6.9 ppm la señal correspondiente al metilo. De igual manera el espectro de EM (IE) muestra el M^+ a 253 uma y las dos fragmentos más abundantes de 224 (70) y 91 (100) uma.

4.5. Síntesis de α -(*N,N*-dibencilamino)trimetilsiloxicianhidrinas, 2 y 3.

La quinta etapa de síntesis permite la generación de un centro asimétrico nuevo de manera estereoselectiva empleando como catalizador el ácido de Lewis yoduro de zinc (ZnI_2) para obtener la configuración *anti* (*S,S*). Se encuentran reportes que establecen que la actividad biológica se favorece con esta configuración, la forma más notable de observar la formación de producto es la ausencia de la señal del carbonilo de aldehído del sustrato mediante espectro de infrarrojo y la señal en 119 ppm en RMN ^{13}C característica del grupo ciano (CN). Se obtuvo un rendimiento del 90%.



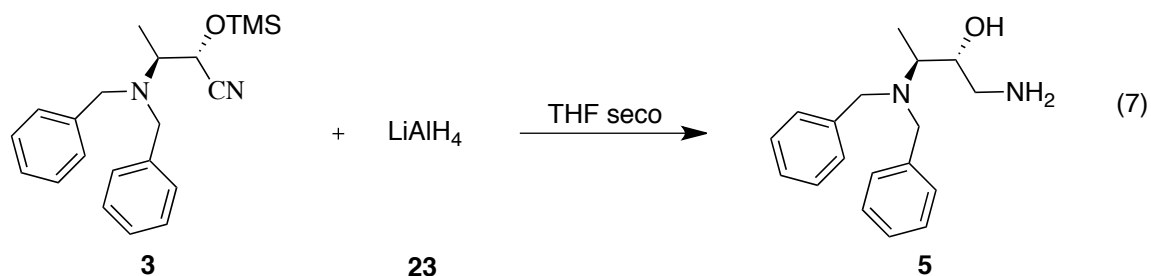
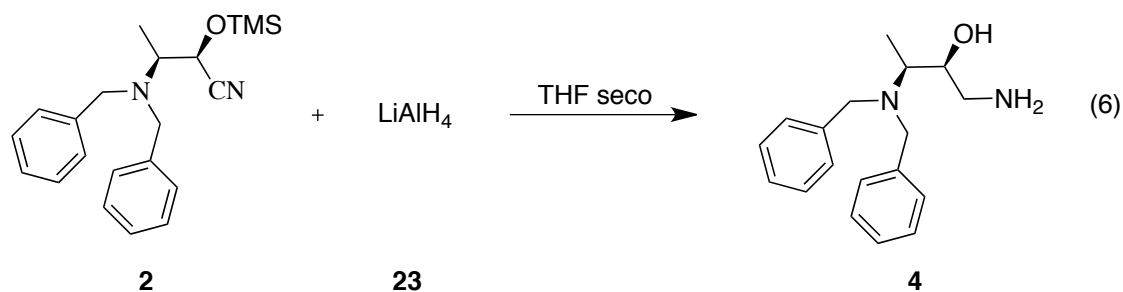
Esquema 6. Síntesis estereoselectiva de éteres de sililo a partir de (*S*)-2-(*N,N*-dibencilamino)-1-propanal.

El espectro de FT-IR del compuesto **3** presenta las vibraciones siguientes: en 3025 cm^{-1} el estiramiento C-H aromático, en 2959 cm^{-1} el estiramiento C-H alifático, a 1615 cm^{-1} el estiramiento C=C, en 1263 cm^{-1} la vibración del C-O y a 843 cm^{-1} el estiramiento del enlace O-Si. El análisis por RMN ^1H se observó un multiplete a 7.30 ppm que integran para los 10 hidrógenos aromáticos, en 4.18 ppm un doblete con una $J = 8.4\text{ Hz}$ que integra para el metino del centro asimétrico nuevo generado en la adición, en 3.75 y 3.54 ppm se encuentran dos sistemas AB alifáticos como dos dobletes con $J = 14.0\text{ Hz}$ que integran para cuatro hidrógenos de los metilenos, en 3.12 ppm se encuentra un multiplete que integra para el hidrógeno del metino unido al nitrógeno, a 1.13 ppm se encuentra un doblete con una $J = 6.8\text{ Hz}$ que integra para tres hidrógenos del metilo y en 0.10 ppm se encuentra un singulete que integra para los nueve hidrógenos del grupo trimetilsilano. El análisis de RMN ^{13}C presentó las señales siguientes: se observaron cuatro señales para los dos anillos aromáticos en 139.1, 128.7, 128.4 y 127.2 ppm, la primera corresponde a los carbonos cuaternarios, las siguientes a los dos sistemas $\text{A}_2\text{B}_2\text{C}$, en 119.9 ppm se encuentra la señal característica del grupo ciano, en 65.0 ppm la del metino unido a oxígeno, en 57.5 ppm la del metino unido a nitrógeno, en 55.4 ppm la señal para los metilenos bencílicos, a 9.3 ppm la del metilo y a 0.4 ppm los carbonos unidos a Si del trimetilsilano. El espectro de EMIE no se observó el ión molecular pero si los dos fragmentos mayoritarios con 224 (90) y 91 (100) umas. Por otra parte, el compuesto **2**, no se logró obtener en su forma pura por lo que a partir del crudo de reacción se llevaron a cabo las siguientes reacciones hasta la obtención de la oxazolidinona, donde pudo ser purificado.

4.6. Síntesis de α -(*N,N*-dibencilamino)aminoalcoholes, **4** y **5**.

La sexta etapa de síntesis consistió en la obtención del producto α -aminoalcohol por reducción de la trimetilcianhidrina utilizando LiAlH_4 como reductor, se obtuvo un rendimiento global del 95%.

Cabe mencionar que al producto de esta reacción no se realizó análisis de RMN ^1H y RMN ^{13}C debido a que no se obtiene puro y se utiliza en crudo para la obtención de la oxazolidinona.



Los espectro de FT-IR para los compuesto **4** y **5** presentaron una vibración a 3367 cm^{-1} correspondiente el estiramiento O-H, a 3027 cm^{-1} la del estiramiento C-H aromático, en 2925 cm^{-1} la del estiramiento C-H alifático, en 1600 cm^{-1} la del estiramiento C-C, a 1027 cm^{-1} el estiramiento C-O. El análisis del espectro de EMIE se observó el ión molecular a 284 uma, presentando los dos fragmentos mayoritarios de 224 y 91 uma debido a la fragmentación beta del nitrógeno y la fomación del ión tropilio. En la Figura 17 se muestra el espectro del compuesto **4** y **5** con su patrón de fragmentación.

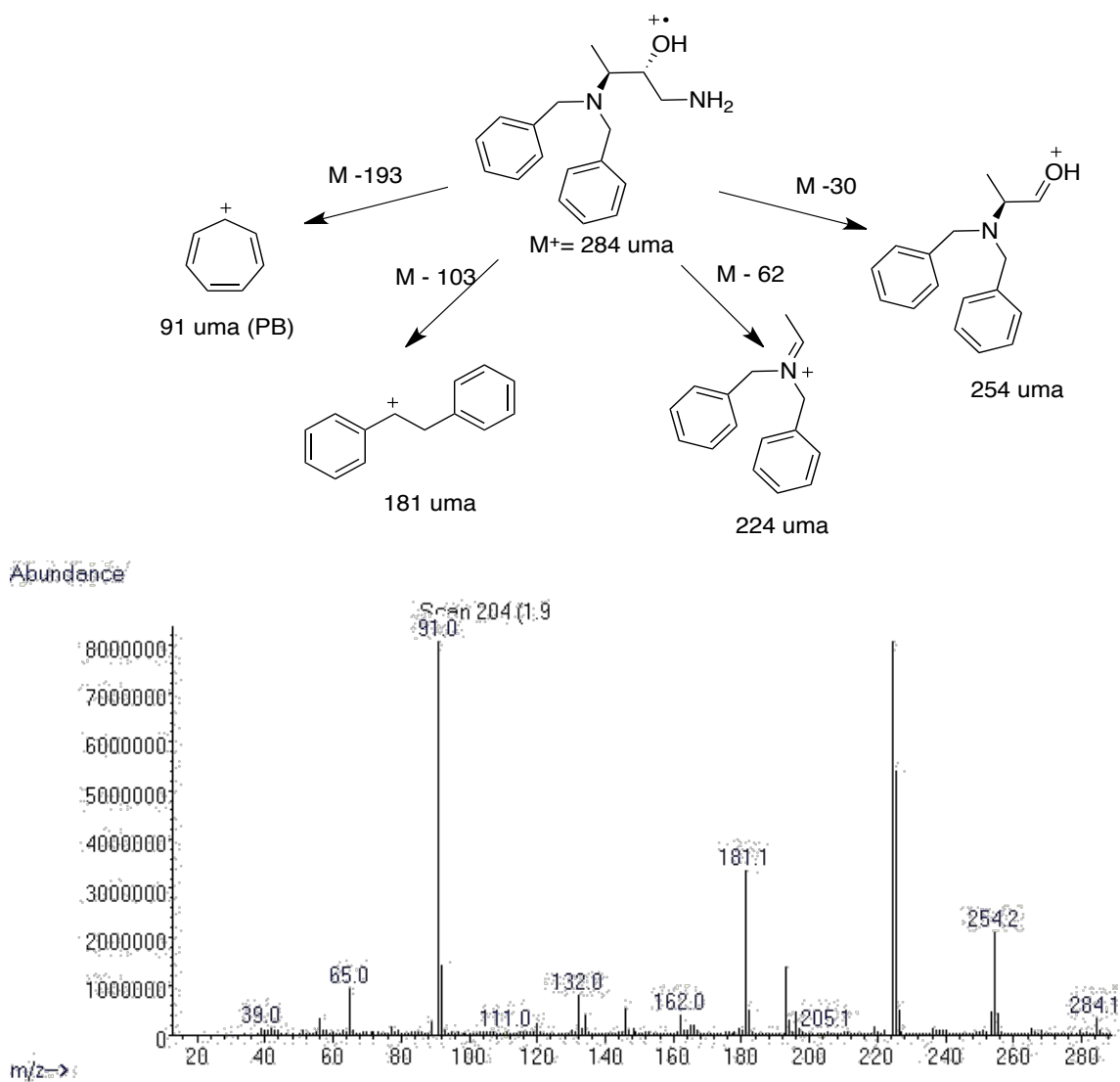
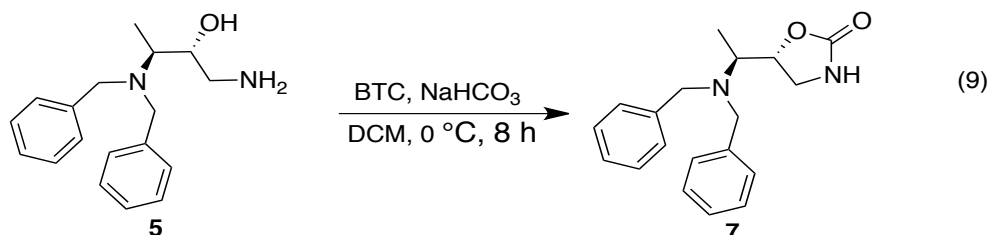
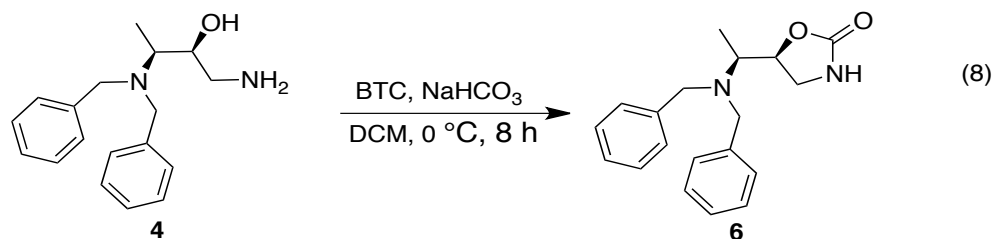


Figura 17. Espectro de EMIE del compuesto 4 y 5.

4.7. Síntesis de oxazolidinonas, 6 y 7.

La séptima reacción consistió en la obtención las 1,3-oxazolidin-2-onas (**6**, **7**), mediante la reacción de ciclación empleando trifosgeno. El producto de reacción fue purificado por columna en una fase 7:3 éter de petróleo-acetato de etilo y se obtuvo un rendimiento del 40% y 85% para los compuestos **6** y **7**, respectivamente.



Los espectro de FTIR de los compuestos **6** y **7** presenta las vibraciones siguientes: en 3254 cm^{-1} se observa la del estiramiento N-H, en 3024 cm^{-1} la del estiramiento C-H aromático, en 2826 cm^{-1} la del estiramiento C-H, en 1748 cm^{-1} la del estiramiento de carbonilo, en 1605 cm^{-1} la del estiramiento C=C aromático, y en 1356 cm^{-1} la del estiramiento C-N. El análisis de EMIE no se observó el ión molecular pero si los dos fragmentos mayoritarios de 224 y 91 umas que corresponden a las fragmentación beta al nitrógeno y la formación del ión tropilio.

En el espectro de RMN ^1H de **6** de la 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración *sin*, se observó el sistema aromático A_2B_2C en 7.36, 7.26 y 7.16 ppm con $J = 7.3\text{ Hz}$ que integra para los 10 hidrógenos aromáticos, en 6.45 ppm un singulete ancho para el hidrógeno unido al nitrógeno del anillo de oxazolidinona, en 4.57 ppm un doble de dobles de dobles visto como cuarteto con $J = 8.4, 8.2\text{ y }6.8\text{ Hz}$, que integra para el metino unido al oxígeno. En 3.87 y 3.51 ppm dos sistema AB alifáticos vistos como dos dobletes con $J = 13.7\text{ Hz}$ correspondientes a los metilenos bencílicos, en 3.33 y 3.27 ppm en un ambiente diasterotópico se observan dos señales para los hidrógenos del metileno del anillo vistos como dos tripletes con $J = 8.4\text{ Hz}$ para el primero y $J = 8.2\text{ Hz}$ para el segundo. En 2.88 ppm se encuentra un quintuplete con $J = 6.8\text{ Hz}$ que integra para el hidrógeno del metino unido al nitrógeno y por último, a 1.10 ppm se observa un doblete con $J = 6.8\text{ Hz}$ correspondiente al metilo (Figura 18).

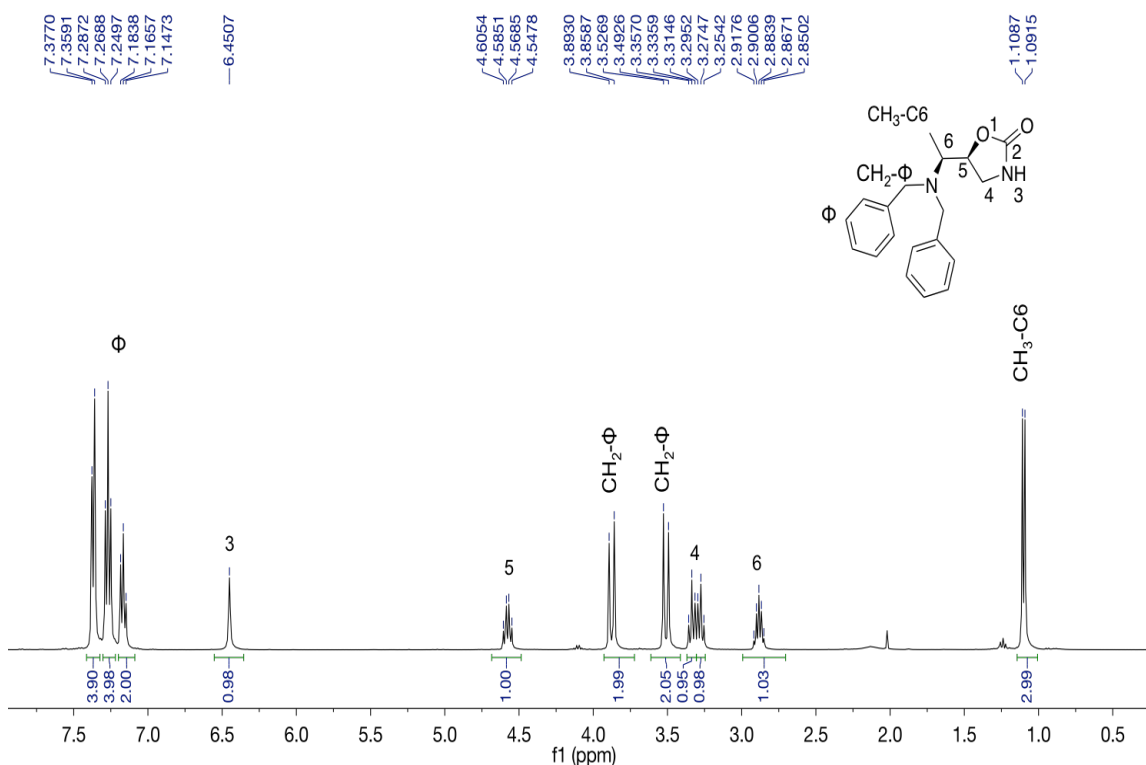


Figura 18. Espectro de RMN ^1H del compuesto **6** en CDCl_3 .

El espectro de RMN ^{13}C de **6** presentó una señal en 160.4 ppm del carbonilo de la oxazolidinona, en la región aromática cuatro señales para los anillos aromáticos en 139.9, 128.8, 128.3 y 127.0 ppm, la primera corresponde a los carbonos cuaternarios y las restantes a los sistemas $\text{A}_2\text{B}_2\text{C}$. En 79.9 ppm se encuentra la señal del metino unido oxígeno, en 54.9 ppm la del metino unido a nitrógeno, en 54.7 ppm la señal de los metilenos bencílicos, en 43.7 ppm la del metileno del anillo de oxazolidinona y en 10.4 ppm el metilo (Figura 19).

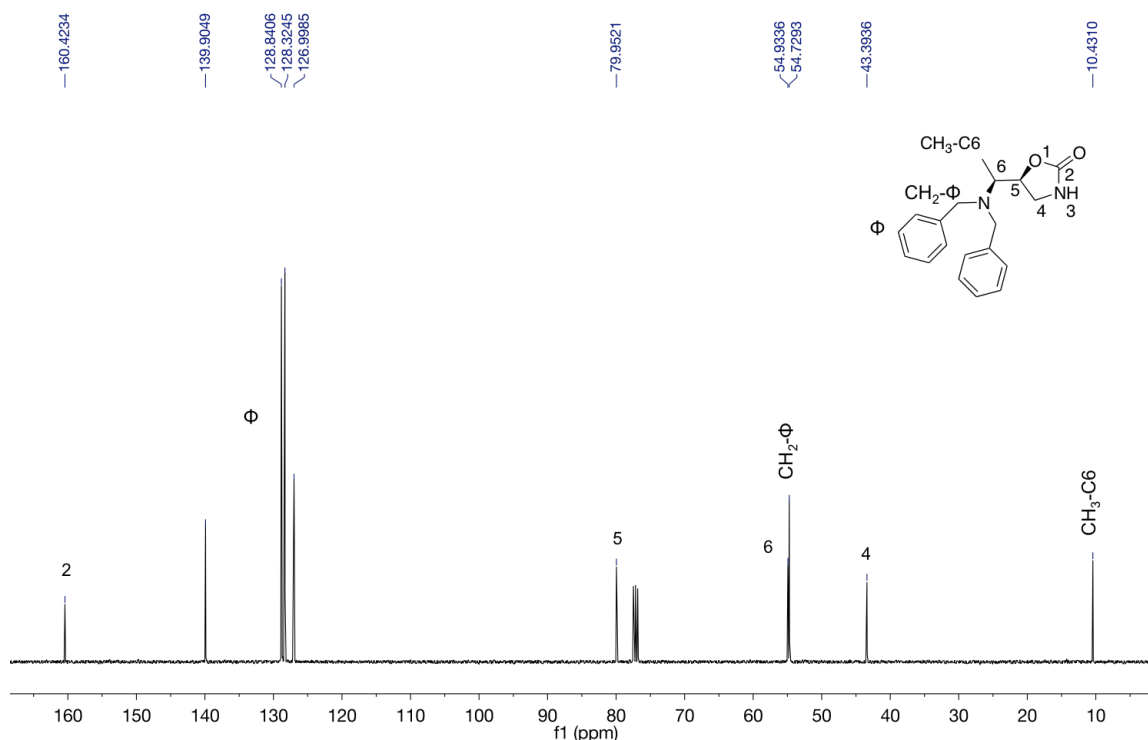


Figura 19. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **6** en CDCl_3

En el espectro de RMN ^1H de **7** de la 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración *anti* se observó en 7.29 ppm un multiplete que integra para los 10 hidrógenos de los dos anillos aromáticos presentes, en 5.42 un singulete ancho para el hidrógeno unido al nitrógeno del anillo de oxazolidinona, en 4.46 ppm un doble de dobles de dobles con $J = 8.6$, 8.0 y 7.6 Hz, que integra para el metino unido al oxígeno. En 3.70 y 3.44 ppm dos sistema AB alifáticos vistos como dos dobletes con $J = 13.6$ Hz correspondientes a los metilenos bencílicos, en 3.55 y 3.22 ppm se observan dos señales para los hidrógenos del metileno del anillo del oxazolidinona en un ambiente diasterotópico como dos dobles de dobles visto como tripletes con una $J = 8.6$ Hz para el primero y $J = 8.6$, 8.0 Hz para el segundo. A 2.76 ppm se encuentra un doble de cuartetos con una $J = 7.6$ y 6.6 Hz que integra para el hidrógeno del metino unido al nitrógeno y por último, a 1.22 ppm se observa un doblete con $J = 6.6$ Hz correspondiente al metilo (Figura 20).

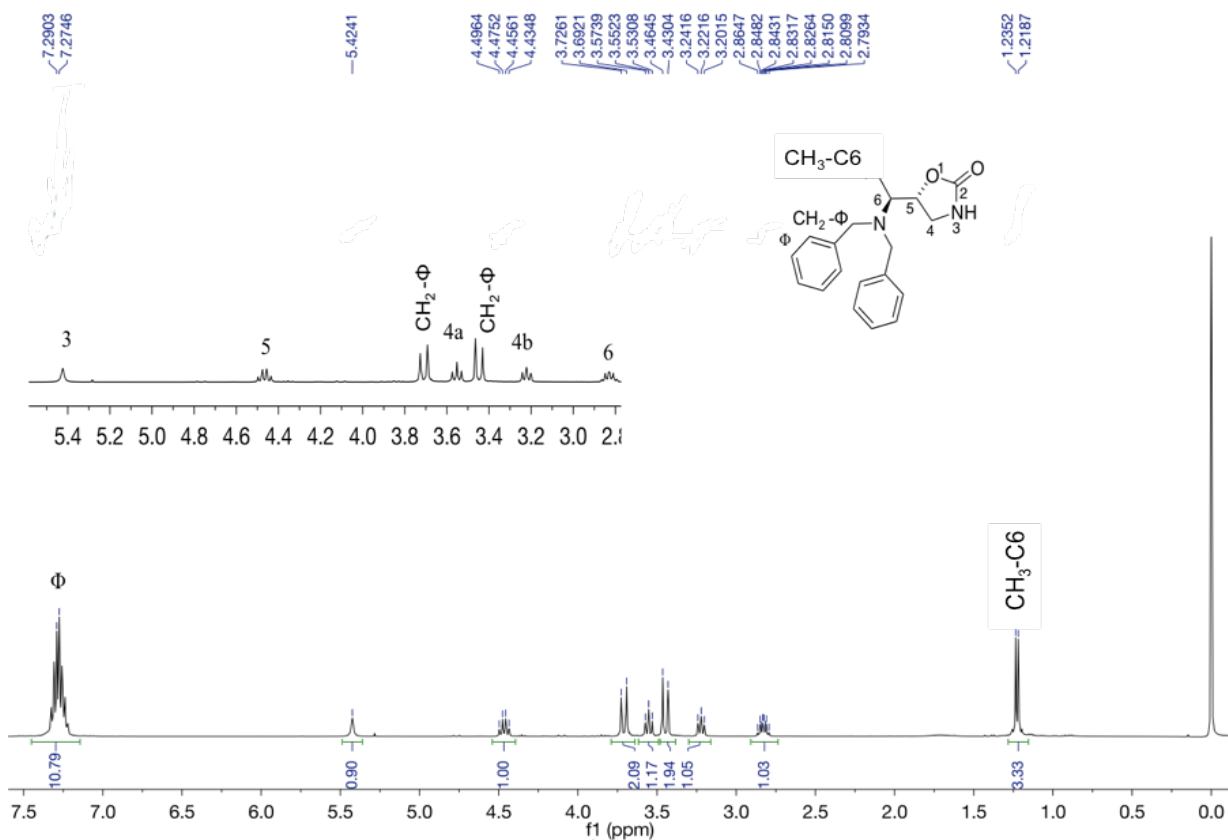


Figura 20. Espectro de RMN ^1H del compuesto **7** en CDCl_3 .

El espectro de RMN ^{13}C de **7** presentó una señal en 159.6 ppm característica del carbonilo de la oxazolidinona, en la región aromática están cuatro señales para los dos anillos aromáticos en 139.3, 128.8, 128.4 y 127.3 ppm, la primera corresponde a los carbonos cuaternarios y las restantes a los sistemas $\text{A}_2\text{B}_2\text{C}$. En 78.5 ppm se encuentra la señal del metino unido oxígeno del anillo de la oxazolidinona, en 56.6 ppm la del metino unido a nitrógeno, en 54.5 ppm la señal para los metilenos bencílicos, en 44.7 ppm la del metileno del anillo de oxazolidinona y a 8.6 ppm el metilo (Figura 21).

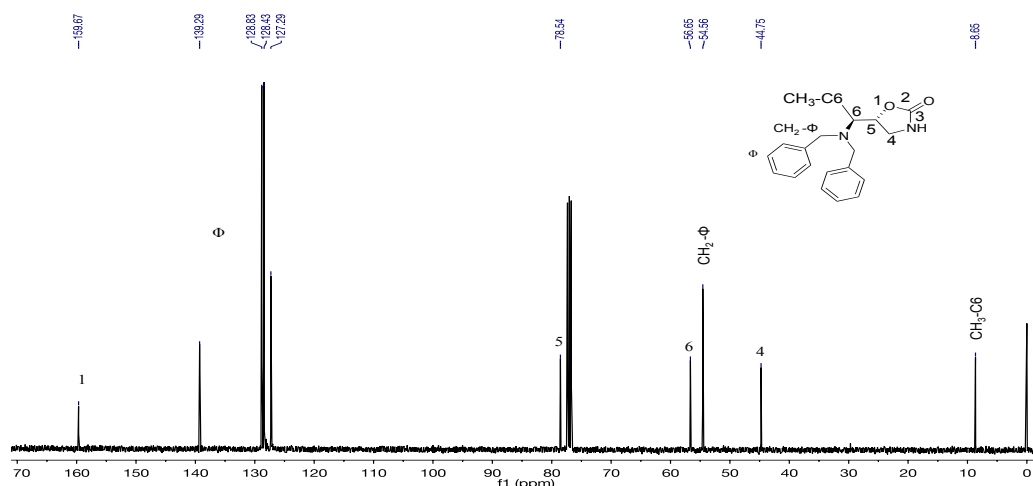


Figura 21. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **7** en CDCl_3 .

Además, como parte complementaria de la caracterización de **7** se logró aislar un cristal de buena calidad para poder obtener su estructura mediante rayos X. El compuesto **7** cristalizó en forma de dímero dentro del sistema monoclinico cristalino con un grupo espacial P2_1 . Interesantemente, la unidad asimétrica es conectada por dos moléculas de oxazolidinona mediante enlaces de hidrógeno entre ellas. Estos dos enlaces intermoleculares ($\text{NH}\cdots\text{O}=\text{C}$) son descritos como interacciones no covalentes fuertes con distancias de enlaces Donador \cdots Aceptor de 2.889 y 2.939 Å (Figura 22).⁶⁶ Dicha estructura afirma la obtención del compuesto con configuración *anti* (*R,S*) obteniéndose un parámetro de Flack de 0.08.

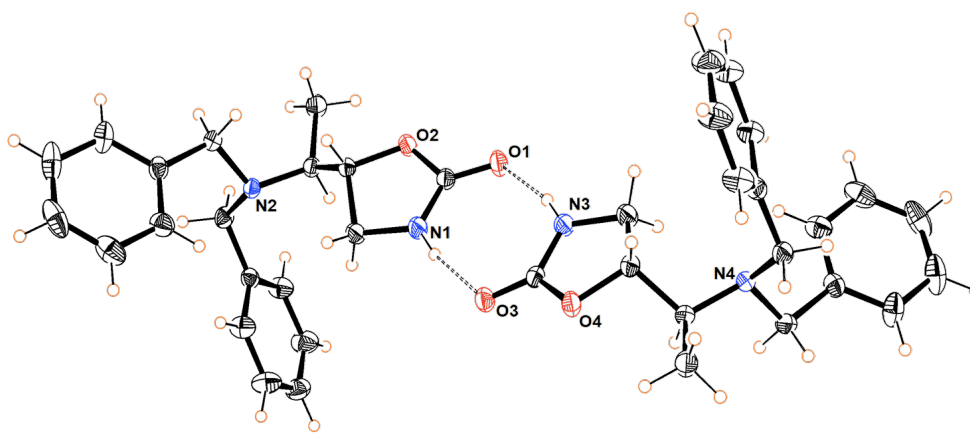


Figura 22. Estructura cristalina de **7**.

La comparación de los datos de RMN ^{13}C de **6** y **7** mostró diferencias importantes en el desplazamiento químico de los carbonos asimétricos. Por ejemplo entre C5 y C6 se observó diferencia de 1.4 y 1.7 ppm respectivamente, a su vez en los carbonos C4 y el CH₃-C6 una diferencia de 1.3 y 1.8 ppm respectivamente. En la Figura 23 se aprecia mejor las diferencias antes mencionadas.

Carbono	6 (δ)	7 (δ)	Diferencia
5	79.9 ppm	78.5 ppm	1.4 ppm
6	56.6 ppm	54.9 ppm	1.7 ppm
CH ₂ - Φ	43.4 ppm	44.7 ppm	1.3 ppm
CH ₃ -C6	10.4 ppm	8.6 ppm	1.8 ppm

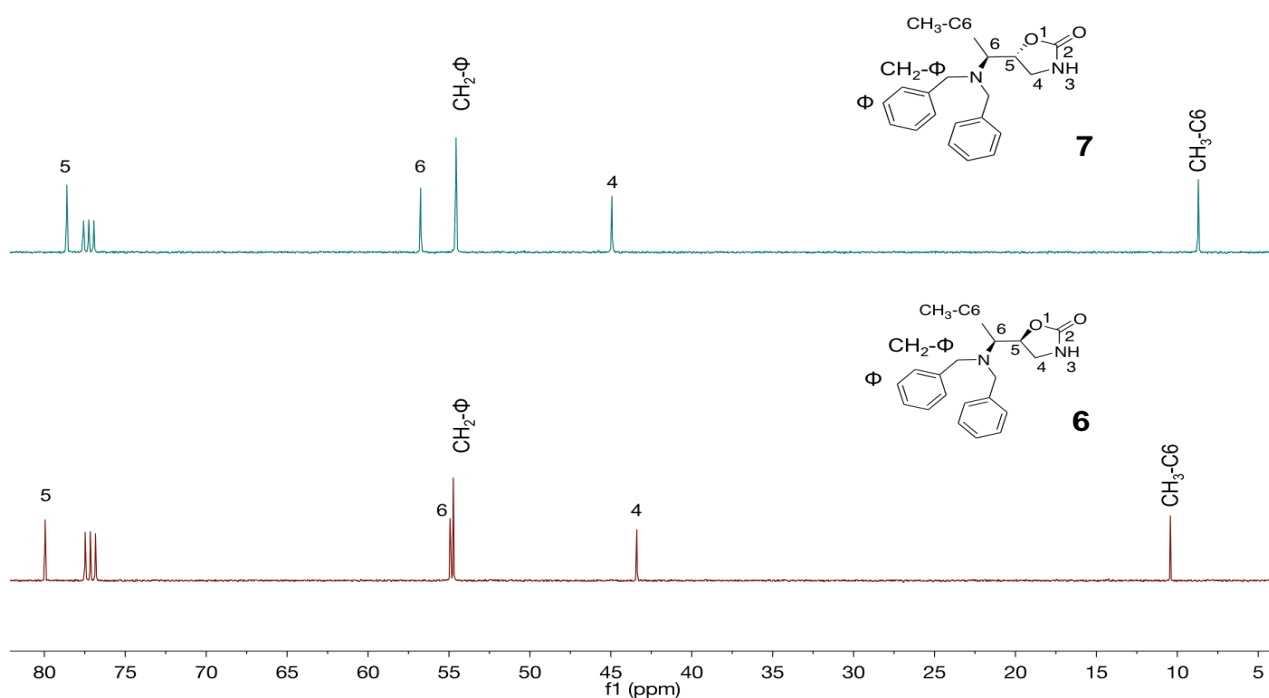
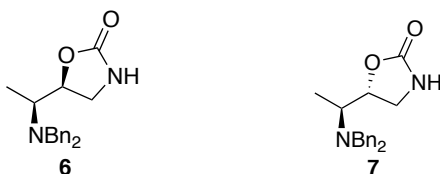


Figura 23. Comparación en los espectros de RMN ^{13}C del par diastereomérico **6** y **7**.

4.8. Evaluación de la actividad antibacteriana y antiparasitaria de los compuestos, 6 y 7.

La evaluación de la actividad antibacteriana y antiparasitaria de los compuestos **6** y **7**, se llevó a cabo con el fin de ampliar el conocimiento estructura actividad a partir de la oxazolidinona y los compuestos finales análogos de linezólida y de tipo dipéptido. La evaluación de los compuestos **6** y **7** se realizó frente a cepas Gram positivas y negativas por el método de microdilución en caldo a una concentración única de 100 µg/mL. Posteriormente, se realizó un estudio a concentraciones diferentes con las bacterias en las que los compuestos mostraron actividad. En el estudio preliminar se encontró actividad del compuesto **6** frente a *Enterococcus faecalis* 29212, *Staphylococcus aureus* 05, MRSA-1, MRSA-3, MRSA-5, *Staphylococcus aureus* 25923 y *Streptococcus* grupo A. El compuesto **7** mostró actividad frente a *Staphylococcus aureus* 25923 y *Streptococcus* grupo A. Como se puede notar, estos compuestos son activos solo contra bacterias Gram positivas, efecto similar al presentado por linezólida. Al evaluar la actividad a concentraciones más bajas, la actividad de los compuestos ya no se presenta. Ambos compuestos son activos solo contra *Streptococcus* grupo A a 50 µg/mL (Tabla 14).

Tabla 14. Actividad antibacteriana de los compuestos **6** y **7** (CMI = µg/mL).



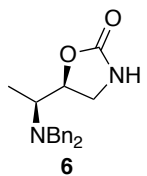
Compuesto	<i>S. aureus</i> ^a	<i>S. aureus</i> 05	MRSA-1	MRSA-3	MRSA-5	<i>E. faecalis</i> ^b	<i>S. gpo</i> A
6	100	100	100	100	100	100	50
7	100	-	-	-	-	-	50

^a*Staphylococcus aureus* 25923, ^b*Enterococcus faecalis* 29212, (-) = no determinada.

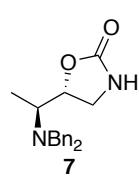
Un estudio previo realizado por el grupo trabajo en 2014⁴³ mostró el potencial del compuesto **7** frente a cepas bacterianas MRSA al ser evaluadas por el método de Kirby-Bauer. Este compuesto presentó actividad hasta la carga mínima del estudio de 6.6 µg en cepas que presentan resistencia bacteriana por lo menos en tres antibióticos comerciales. La evaluación de **7** contra las mismas bacterias dio como resultado una CMI de 12.5 µg/mL en el ensayo por microdilución en caldo. Las bacterias MRSA utilizadas en el estudio de 2014 no son las mismas que se emplearon en nuestro estudio, por lo que el resultado de la actividad baja observada se debe a que las bacterias de nuestro estudio no fueron sensibles contrario a lo observado en el 2014. Es importante mencionar que no se tenían estudios previos de la actividad antibacteriana del compuesto **6** con configuración *sin*, compuesto que presentó los resultados mejores en nuestro estudio.

Por otro lado, la actividad antiparasitaria de **6** y **7** fue evaluada frente al protozoo *Giardia duodenalis* a una concentración única de 100 µg/mL encontrando que los dos compuestos inhibieron la proliferación del parásito a esta concentración, por lo que se realizó un ensayo en concentraciones menores para determinar la concentración inhibitoria media. Los resultados de este ensayo determinaron un IC₅₀ de 45.26 y 71.13 µg/mL para **6** y **7** respectivamente, lo que representa una actividad moderada sobre *G. duodenalis* comparada con el fármaco control metronidazol (2.13 µg/mL), aunque resulta interesante que de nuevo el compuesto con configuración *sin* sea el más activo. Además, se demostró la eficacia que tienen las oxazolidinonas para provocar la muerte de este parásito (Tabla 15).

Tabla 15. Actividad antiparasitaria de los compuestos **6** y **7** frente a *G. duodenalis*.



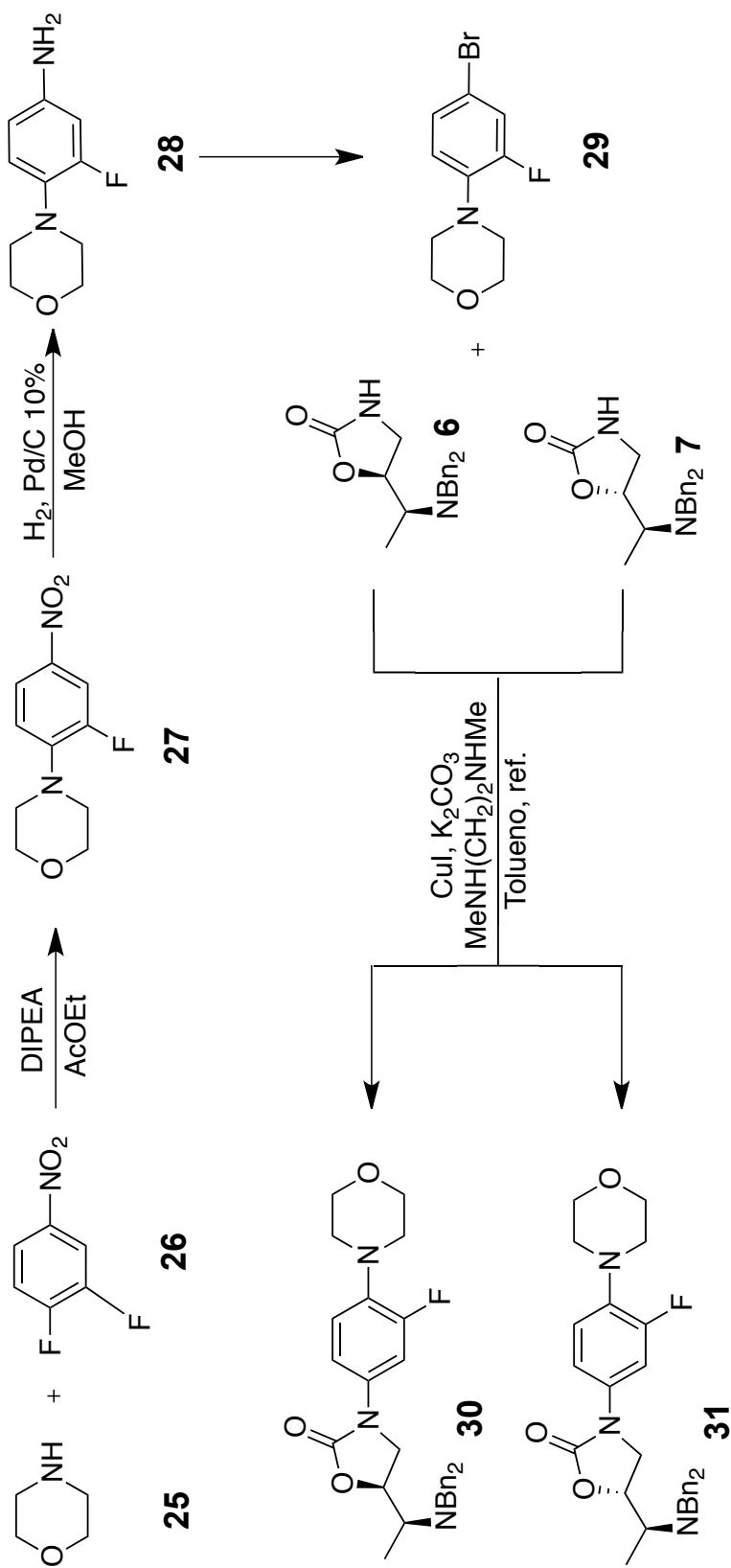
6



7

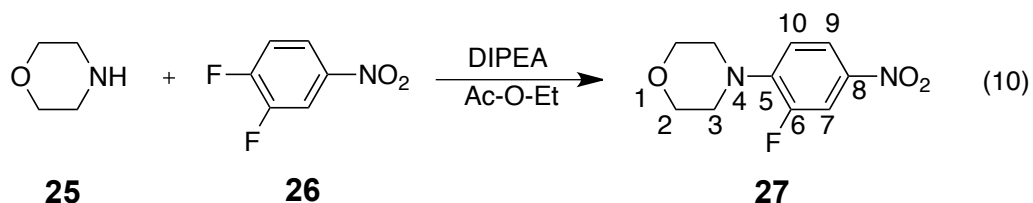
Compuesto	IC ₅₀ (µg/mL)
6	45.26
7	71.13
Metronidazol	2.139

En la segunda parte del proyecto se llevó a cabo la preparación de análogos de linezólida mediante el acoplamiento del fragmento 4-(4-bromo-2-fluorofenil)morfolina y la 1,3-oxazolidin-2-ona sintetizada. El compuesto 4-(4-bromo-2-fluorofenil)morfolina se sintetizó por medio de tres reacciones, la primera es una sustitución nucleofílica aromática del flúor en el compuesto 3,4-difluoronitrobenceno por la morfolina, la segunda es una reacción de reducción del grupo nitro aromático, catalizada por Pd/C al 10% para obtener la amina aromática correspondiente. Después se lleva a cabo la diazotización y posteriormente una reacción de tipo Sandmeyer sobre el compuesto 3-fluoro-4-morfolinoanilina con la cual se obtiene el compuesto 4-(4-bromo-2-fluorofenil)morfolina (Esquema 7). A continuación se presentan los resultados.

Esquema 7. Ruta de síntesis de análogos de linezólida derivados de α -aminoácidos.

4.9. Síntesis de 4-(2-flúor-4-nitrofenil)morfolina (27).

La primera reacción de la segunda etapa fue la sustitución nucleofílica aromática para la obtención de **27**, el cual se obtuvo con un rendimiento del 90%. En la espectroscopia de infrarrojo se observó en 3052 y 2964 cm^{-1} las vibraciones de estiramiento C-H aromático y alifático, en 1602 cm^{-1} el estiramiento del enlace C=C, en 1514 cm^{-1} la vibración del estiramiento N=O, en 1445 cm^{-1} la vibración de estiramiento del enlace C-F, en 1323 cm^{-1} la vibración del enlace C-N y en 1122 cm^{-1} la vibración de estiramiento C-O.



En el espectro de RMN ^1H del compuesto **27** se observa en 8.01 ppm un doble de dobles de dobles con $J = 9.1, 2.6, 1.0$ Hz que corresponde al H-9, en 7.92 ppm un doble de dobles con $J = 13.1, 2.6$ Hz que corresponde para el H-7, en 6.93 ppm un doble de dobles visto como triplete con $J = 8.8$ Hz que corresponde al H-10. El fragmento morfolínico se observó en 3.89 ppm un multiplete que integra para los cuatro hidrógenos correspondientes a los metilenos unido a oxígeno asignados como H-2. En 3.30 ppm un multiplete que integra para cuatro hidrógenos correspondientes a los metilenos unido a nitrógeno asignados como H-3 (Figura 24).

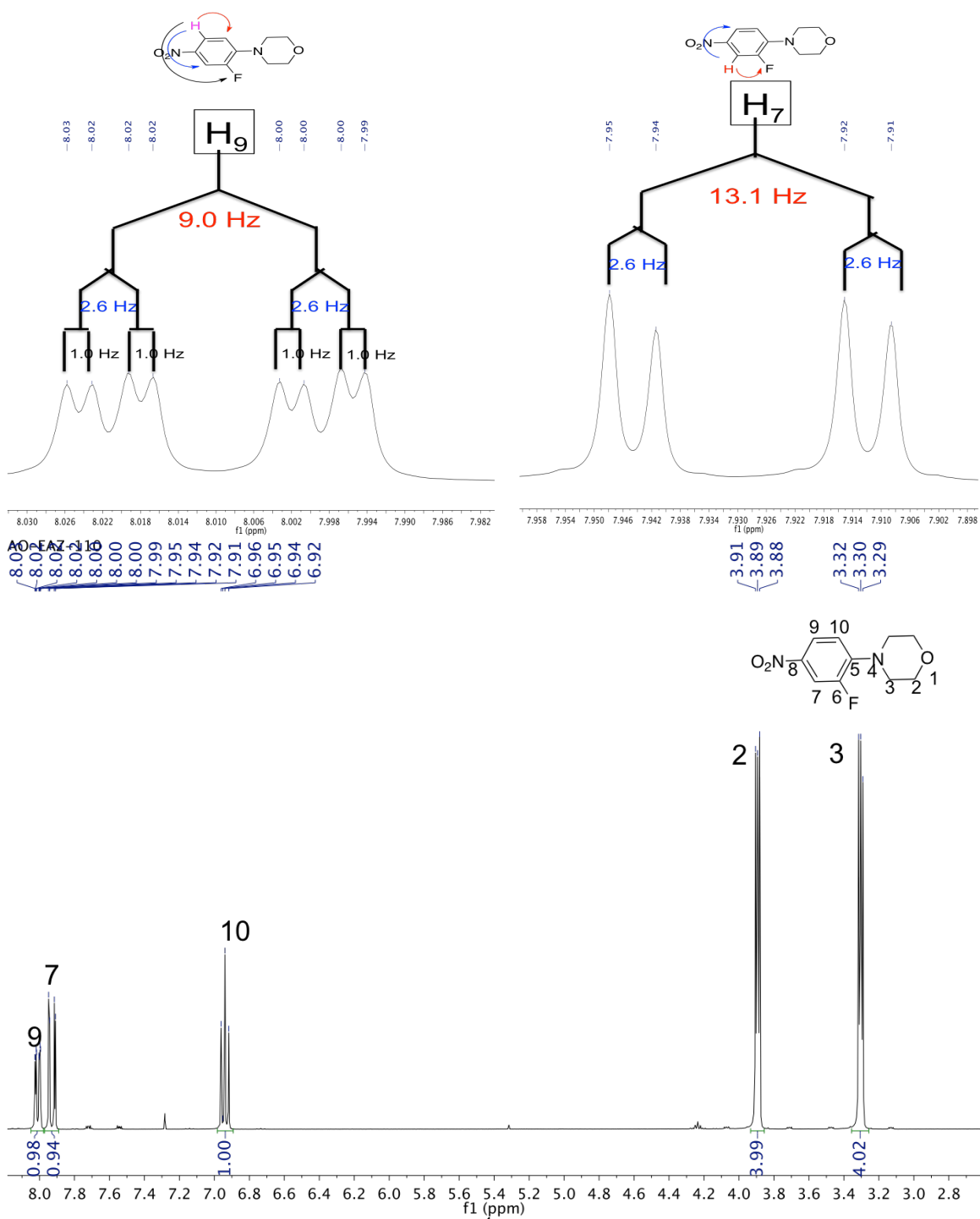


Figura 24. Espectro de RMN ^1H del compuesto **27** en CDCl_3 .

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **27** se observa un doblete a 152.5 ppm que corresponde al C-6 *ipso* al flúor con $J_{\text{C-F}} = 248.0$ Hz, en 145.3 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 8.5$ Hz que corresponde a C-5, en 140.8 ppm se observó un doblete con $J_{\text{C-F}} = 7.5$ Hz que corresponde a C-8, en 120.9 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 3.8$ Hz que corresponde a C-9, en 116.8 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 3.0$ Hz que corresponde a C-10, en 112.5 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 26.1$ Hz que corresponde al C-7. El fragmento morfolínico mostró dos señales en 66.6 ppm se tiene la señal que corresponde a los metilenos asignados como C-2 y en 49.9 ppm la señal que corresponde a los metilenos asignados como C-3 (Figura 25),.

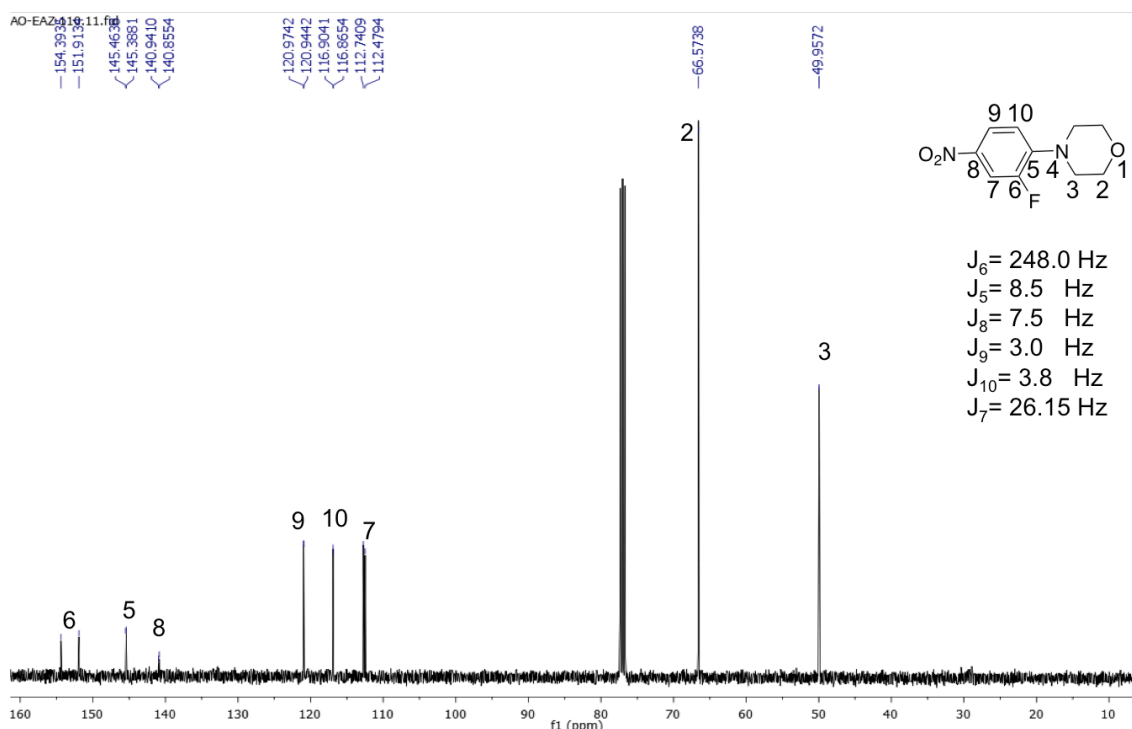


Figura 25. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **27** en CDCl_3 .

En el espectro de EMIE de **27** (Figura 26) se observó el ión molecular a 226 uma, que corresponde al peso molecular del compuesto, con un fragmento mayoritario por la apertura del grupo morfolínico en 168 uma, representando este el pico base, además de observarse la pérdida de NO en 138 uma que corresponde a una pérdida a partir del pico base.

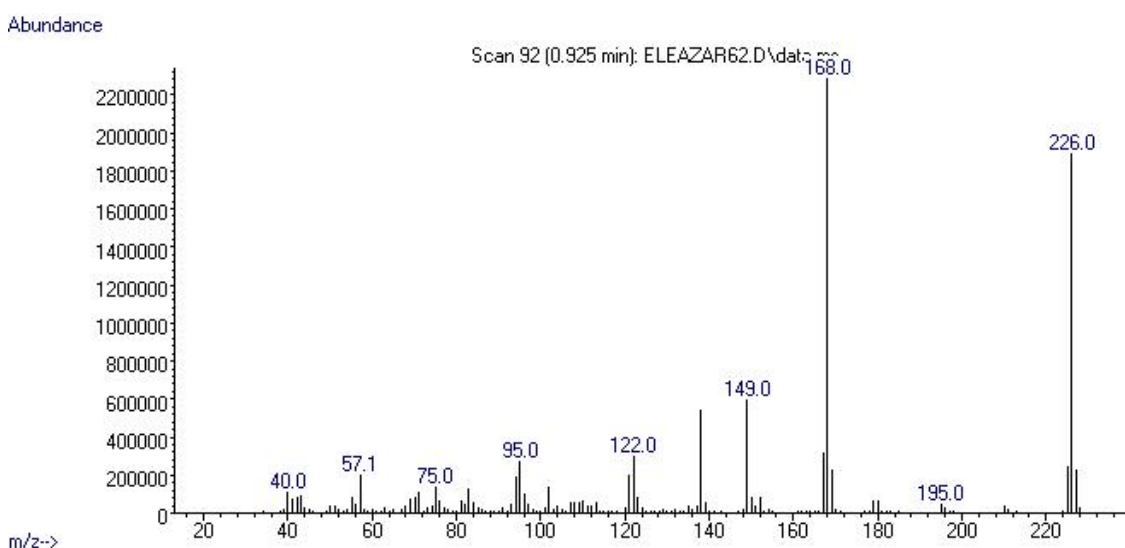
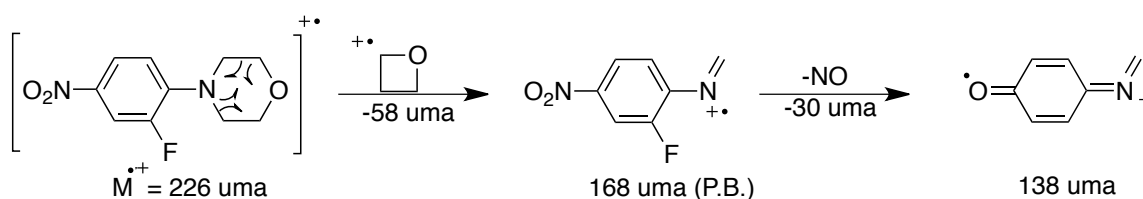


Figura 26. Espectro de EMIE del compuesto **27**.

Además, fue posible obtener la estructura cristalina de rayos X de **27** que pertenece al sistema monoclinico con un grupo espacial I2/a, obteniendose con un porcentaje de factor R de 4.46 % (Figura 27). La estructura molecular de **27** contiene un anillo de morfolina en una conformación de silla con nitrógeno sustituido en la posición ecuatorial por el grupo arilo.

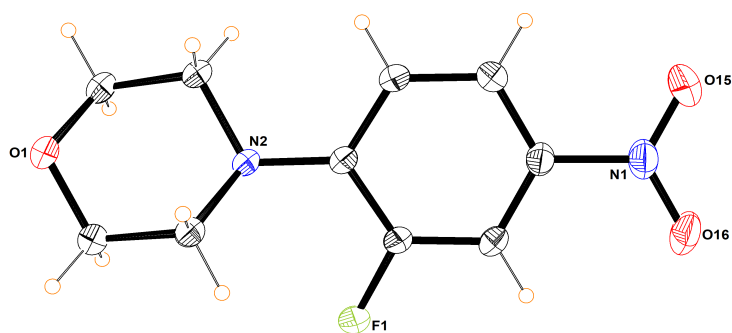
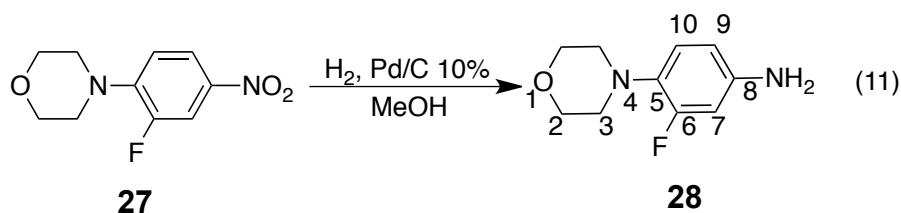


Figura 27. Estructura cristalina de **27**.

4.10. Síntesis de 3-fluoro-4-morfolinanilina (**28**).

La segunda reacción realizada fue la hidrogenación de **27** empleando Pd/C al 10 % lo que permitió la conversión del grupo nitro a amina. El producto de reacción se obtuvo con rendimiento del 97%.



El espectro de infrarrojo de **28** se observó en 3417 cm^{-1} el estiramiento N-H, en 3052 cm^{-1} el estiramiento C-H aromático, en 2939 cm^{-1} el estiramiento C-H alifático, en 1514 cm^{-1} el estiramiento C=C, en 1449 cm^{-1} la vibración del enlace C-F en 1110 cm^{-1} la señal de estiramiento C-O.

El espectro de RMN ^1H del compuesto **28**, presentó un cambio en el desplazamiento de algunas señales debido a la modificación de un grupo desprotector fuerte (NO_2) a un grupo activador fuerte como el grupo amino. En 6.81 ppm se observó un doblete de dobles con $J = 9.1, 8.6\text{ Hz}$, que corresponde al H-10, en 6.43 ppm un multiplete que integra para los hidrógenos H-7 y H-9, en

3.60 ppm un singulete ancho que integra para los hidrógenos de la amina. El fragmento morfolínico se observó en dos señales, la primera señal en 3.86 ppm como un multiplete que corresponde a los metilenos unidos a oxígeno (H-2) y en 2.98 ppm un multiplete que corresponde a los metilenos unido a nitrógeno (H-3) (Figura 28).

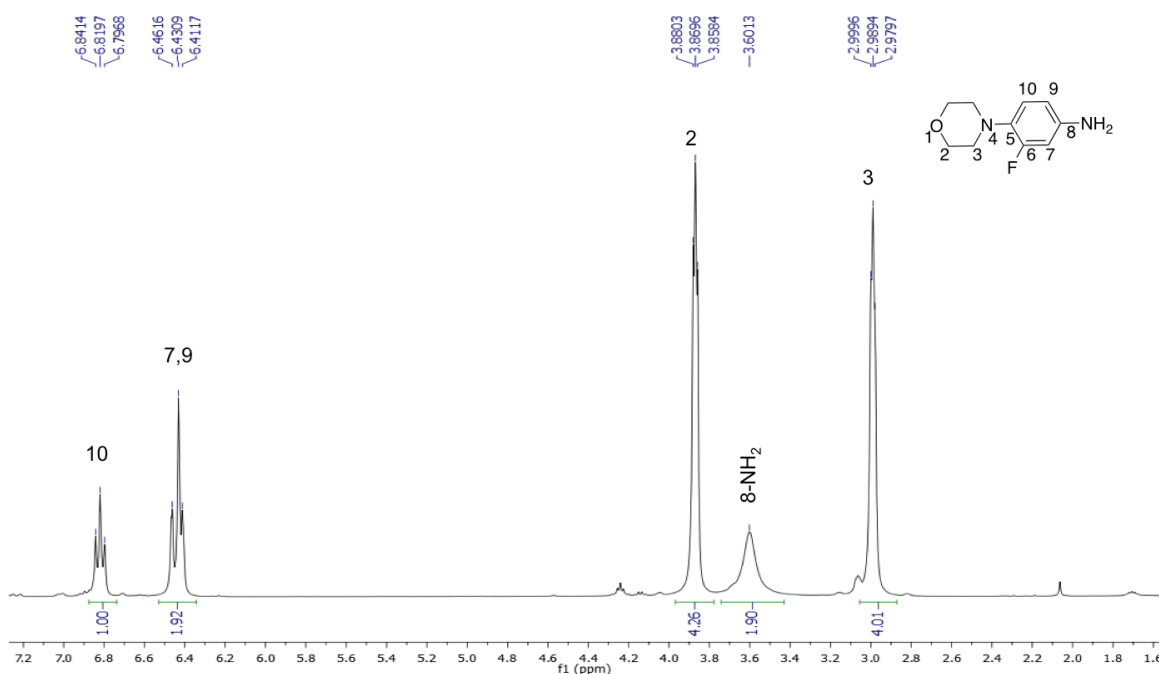


Figura 28. Espectro de RMN ^1H del compuesto **28** en CDCl_3 .

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **28** (Figura 29) se observó un doblete a 156.5 ppm que corresponde al C-6 *ipso* al flúor con $J_{\text{C-F}} = 243.8$ Hz, en 142.8 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 10.4$ Hz que corresponde al C-5, en 131.6 ppm se observó un doblete con $J_{\text{C-F}} = 10.0$ Hz que corresponde al C-8, en 120.3 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 4.3$ Hz que corresponde al C-10, en 110.6 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 2.8$ Hz que corresponde al C-9 en 103.9 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 23.6$ Hz que corresponde al C-7. En 67.1 ppm se tiene la señal que corresponde a los carbonos de metileno asignados C-2 y en 51.7 ppm la señal que corresponde a los carbonos metilenos asignados C-3.

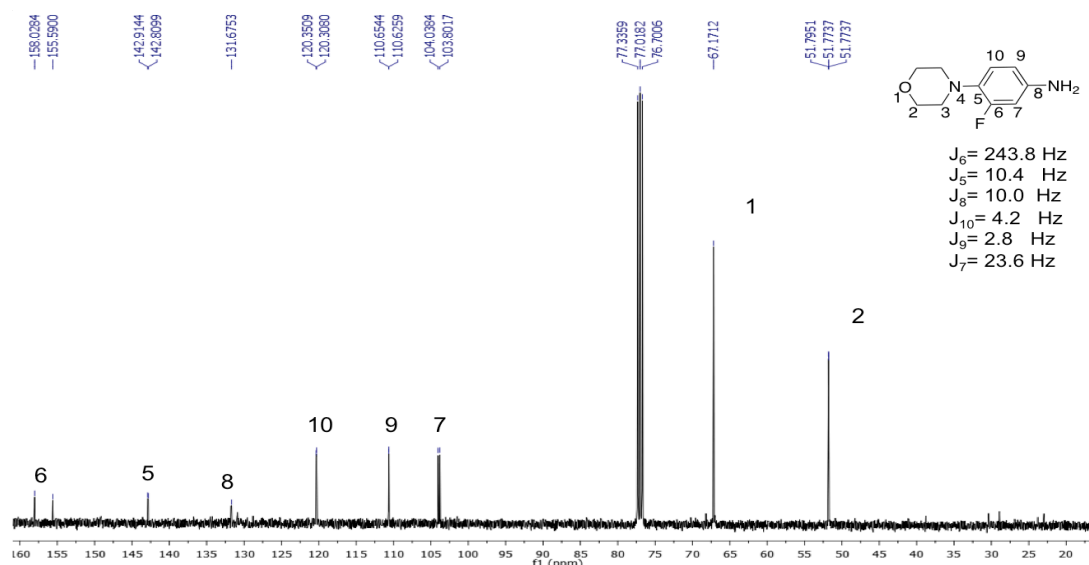


Figura 29. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **28** en CDCl_3 .

En el espectro de EMIE de **28** (Figura 30), se observó el ión molecular en 196 uma, que corresponde al peso molecular del compuesto, con un fragmento mayoritario por la apertura del grupo morfolínico en 138 uma, representando este el pico base.

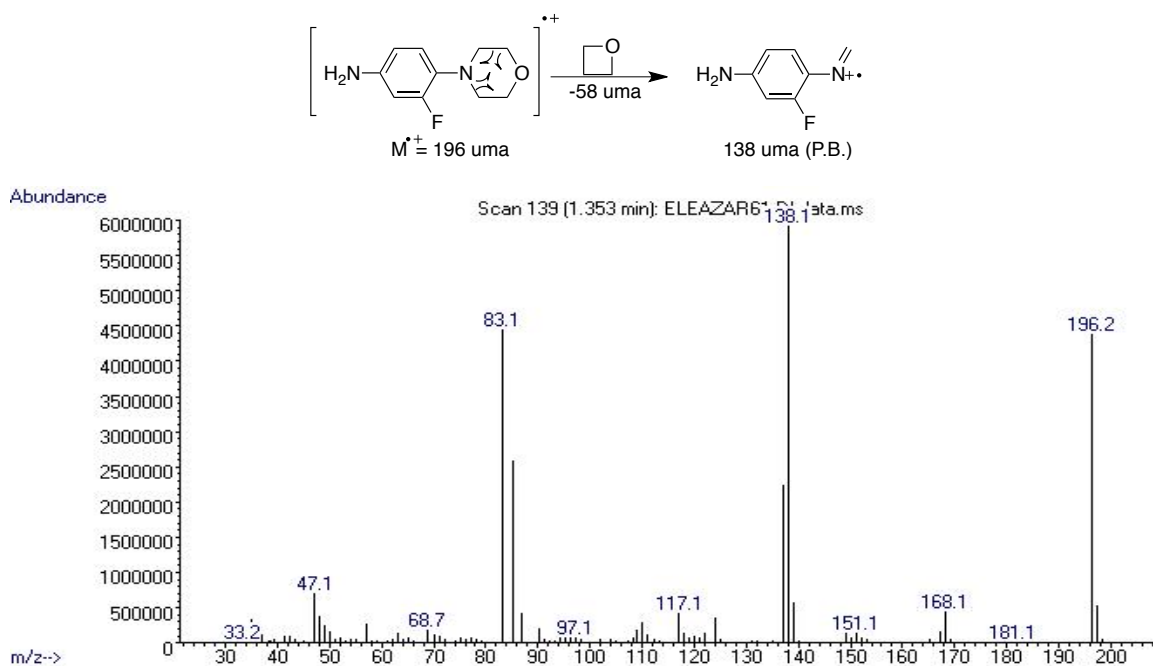


Figura 30. Espectro de EMIE del compuesto **28**.

Como parte de su caracterización, fue posible obtener la estructura cristalina de rayos X de **28**, el cual pertenece al sistema tetragonal con un grupo espacial $P4_1$, obteniéndose con un porcentaje de factor R de 3.82 % (Figura 31). La estructura molecular de **28**, al igual que **27** contiene un anillo de morfolina en una conformación de silla con nitrógeno sustituido en la posición ecuatorial por el grupo arilo.

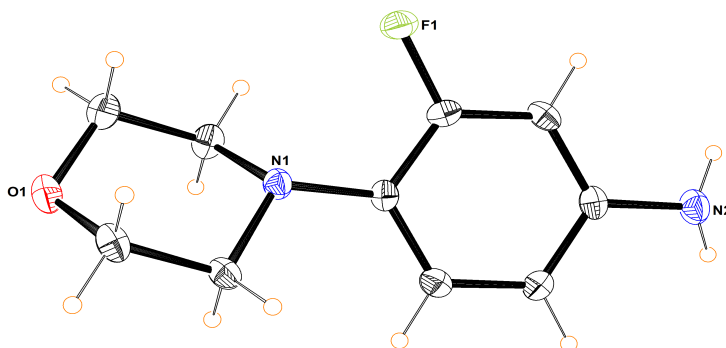
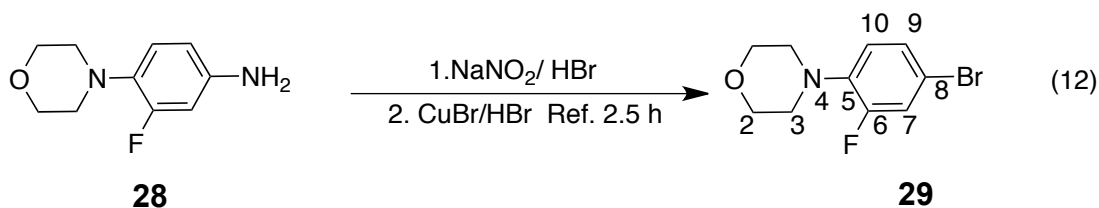


Figura 31. Estructura cristalina de **28**.

4.11. Síntesis de 4-(4-bromo-2-fluorofenil)morfolina (**29**).

En la tercera reacción se llevó a cabo la sustitución del grupo amino por el bromo mediante una reacción de tipo Sandmeyer la cual se obtuvo con un rendimiento del 80%.



En el espectro de infrarrojo del compuesto **29** se observó en 3032 cm^{-1} el estiramiento C-H aromático, en 2955 cm^{-1} el estiramiento C-H alifático, en 1514 cm^{-1} el estiramiento correspondiente al enlace C=C, en 1449 cm^{-1} el estiramiento del enlace C-F, y en 1117 cm^{-1} el estiramiento C-O.

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **29** se observó en 7.21 ppm un multiplete que integra para los dos hidrógenos H-7 y H-9, en 6.82 ppm un doble de dobles con $J = 8.7, 8.6\text{ Hz}$, que corresponde al hidrógeno asignado H-10. Para el fragmento morfolínico se observaron dos señales, la primera en 3.87 ppm un multiplete que corresponde a los metilenos unidos a oxígeno asignados como H-2 y la segunda en 3.07 ppm un multiplete que corresponde para los metilenos unido a nitrógeno H-3 (Figura 32).

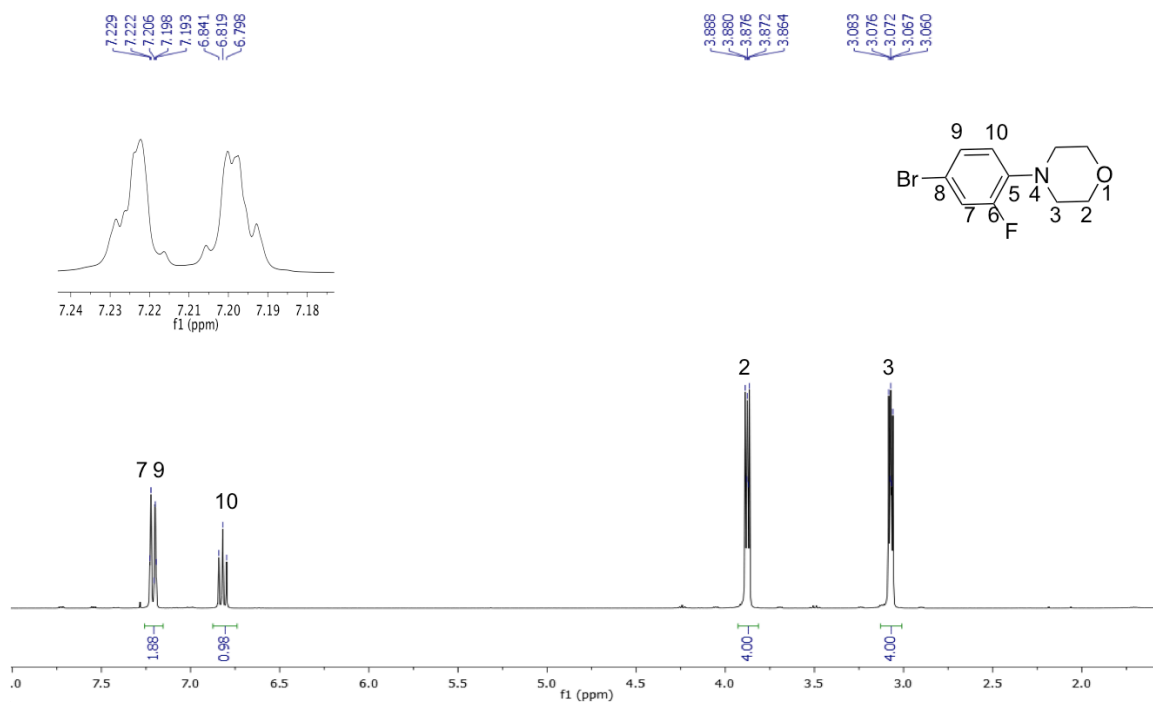


Figura 32. Espectro de RMN ^1H del compuesto **29** en CDCl_3 .

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **29** (Figura 33). Se observó un doblete a 155.5 ppm que corresponde al C-6 *ipso* al flúor con $J_{\text{C-F}} = 249.3$ Hz, en 139.2 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 8.3$ Hz que corresponde al C-5, en 127.0 ppm se observó un doblete con $J_{\text{C-F}} = 3.6$ Hz que corresponde al C-10, en 119.8 ppm una señal que no se alcanza a desdoblar que corresponde al C-9, en 119.7 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 19.6$ Hz que corresponde al C-7, en 113.9 ppm un doblete con $J_{\text{C-F}} = 9.4$ Hz que corresponde al C-8. El fragmento morfolínico se observó en 66.9 ppm se tiene la señal que corresponde a los metilenos asignados H-2 y en 50.8 ppm la señal que corresponde a los metilenos H-3.

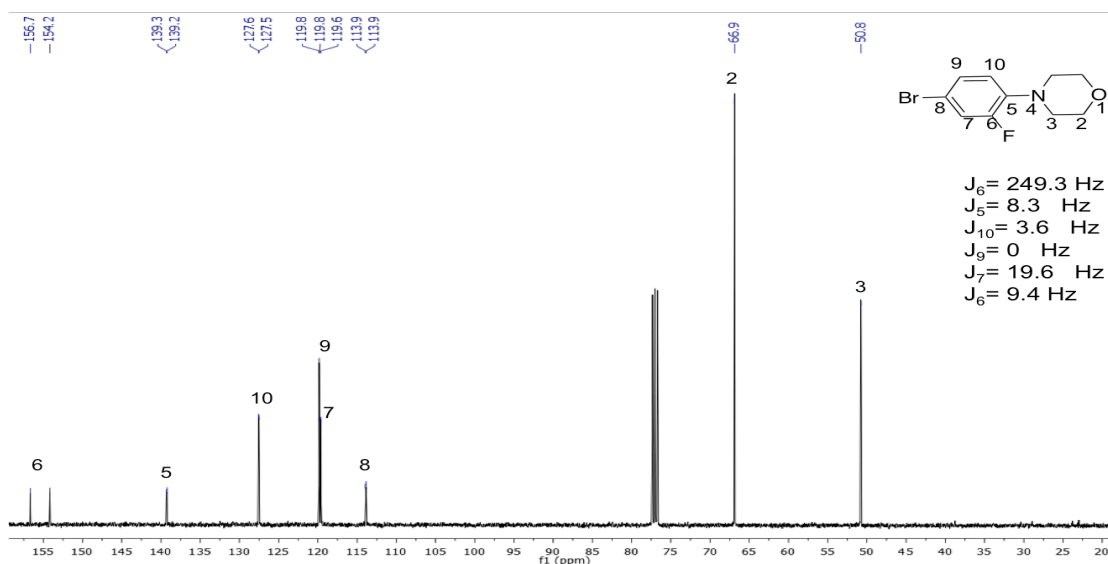


Figura 33. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **29** en CDCl_3 .

En el espectro de EMIE de **29** (Figura 34) se observó el ión molecular en 259 uma, que corresponde al peso molecular del compuesto con la contribución isotópica de $[\text{M}+2]^+$ del bromo, con un fragmento mayoritario por la apertura del grupo morfolínico en 201 uma, siendo este el pico base.

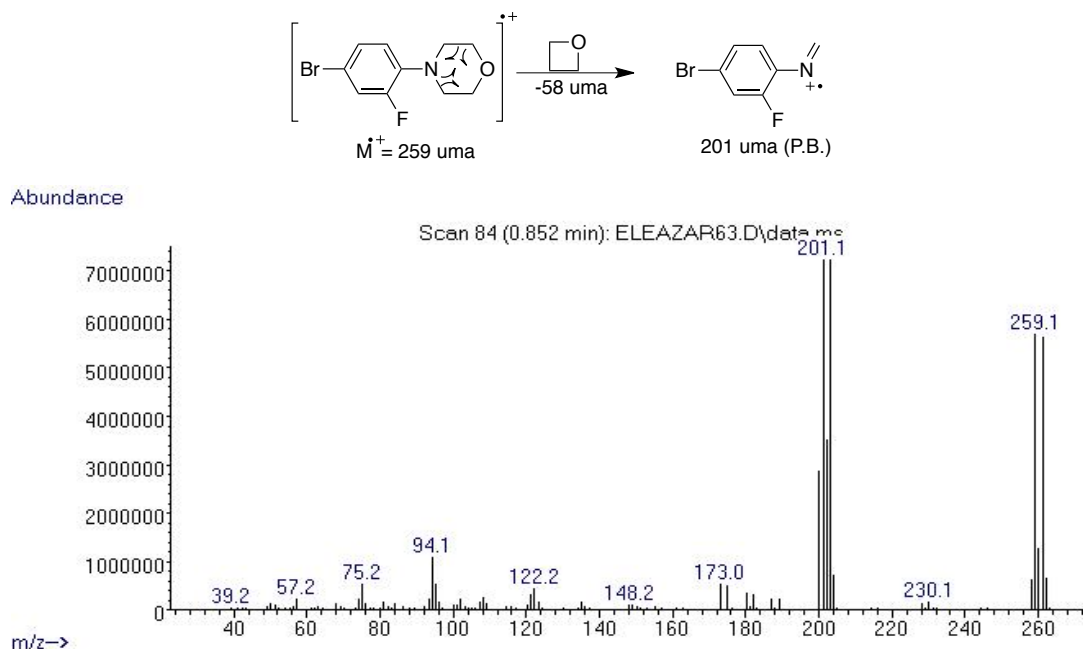


Figura 34. Espectro de EMIE del compuesto **29**.

Además, fue posible obtener la estructura cristalina de rayos X de **29**, el cual pertenece al sistema monoclinico con un grupo espacial P21/c, obteniendose con un porcentaje de factor R de 3.11 % (Figura 35). Es importante mencionar que sus precursores sintéticos **27** y **28** son estructuras que fueron publicadas por nuestro grupo de trabajo. La estructura molecular de **29**, como sus precursores tiene un anillo de morfolina en una conformación de silla con nitrógeno sustituido en la posición ecuatorial por el grupo arilo. La disposición cristalina exhibe enlaces de hidrógeno C–H⋯F y C–H⋯O intermoleculares, además, presenta una interacción π-π entre los anillos de fenilo de dos moléculas.

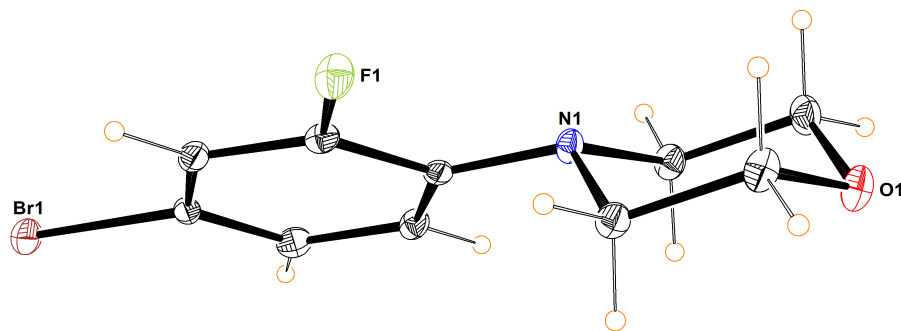
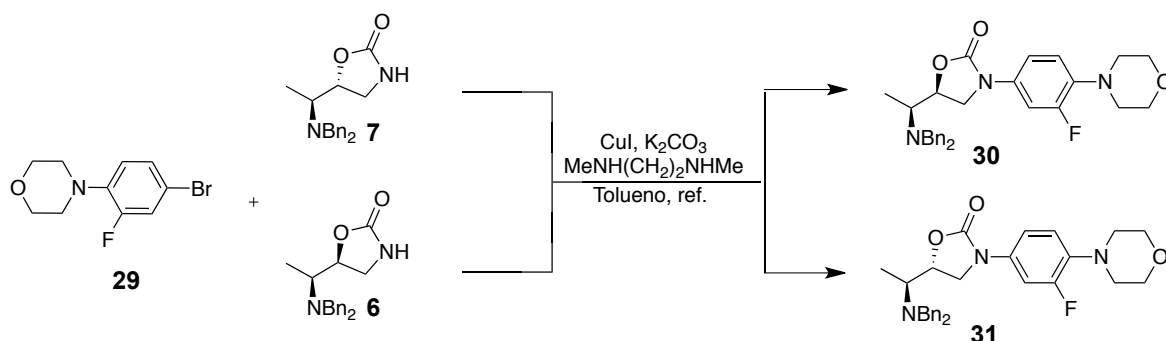


Figura 35. Estructura cristalina de **29**.

4.12. Síntesis de análogos de linezólida **30** y **31**.

La síntesis de análogos de linezólida se realizó empleando el fragmento 4-(4-bromo-2-fluorofenil)morfolina y la 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración *anti* y *sin* utilizando: CuI, *N,N*-dimetiletano-1,2-diamina y K₂CO₃ obteniendo rendimiento de 75 y 70%.



Esquema 8. Reacción de acoplamiento de las 1,3-oxazolidin-2-onas con el fragmento aril bromado en la obtención de análogos de linezólida.

En el espectro de infrarrojo de los compuesto **30** y **31** se observó en 3059 cm⁻¹ el estiramiento C-H aromático, en 2955 cm⁻¹ el estiramiento C-H alifático, en 1753 cm⁻¹ la vibración correspondiente al carbonilo, en 1514 cm⁻¹ el estiramiento correspondiente al enlace C=C, en 1449 cm⁻¹ el estiramiento del enlace C-F, 1117 cm⁻¹ el estiramiento C-O. En el espectro de EMIE de **30** y **31** (Figura 36 y 37), se observó el ión molecular en 489 uma, que corresponde al peso molecular del compuesto con dos fragmentos mayoritarios característicos de la oxazolidinona en 224 uma siendo éste el pico base y 91 uma.

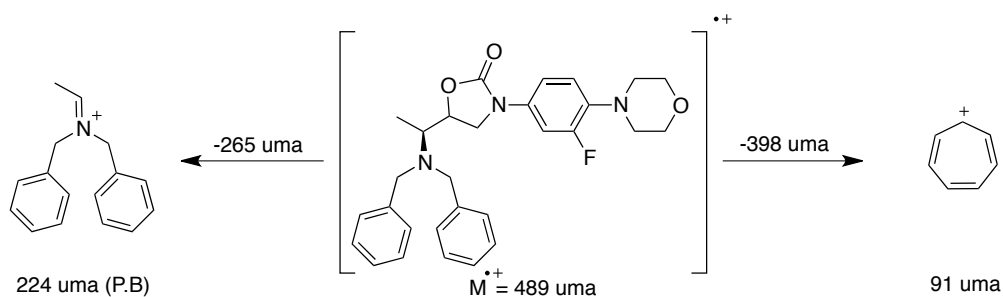


Figura 36. Patrón de fragmentación de los compuesto **30** y **31**.

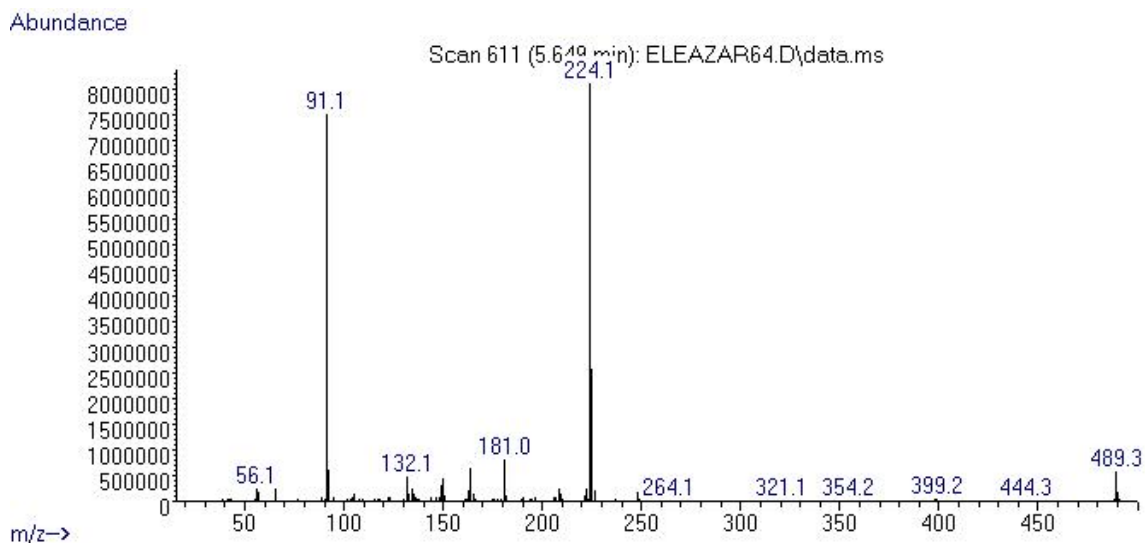


Figura 37. Espectro de EMIE de los compuesto **30** y**31**.

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **30** se observa, en 7.30 ppm un multiplete que integra para los 10 hidrógenos aromáticos bencílicos Φ , en 4.56 ppm la señal del metino H-5 como un doble de doble de dobles con $J = 5.4, 5.1, 5.1$ Hz, en 3.93 y 3.48 ppm dos sistemas AB de los metilenos bencílicos $\text{CH}_2\text{-}\Phi$ con $J = 13.6$ Hz, en 3.68 ppm el metileno de la oxazolidinona H-4 observados como un doble de dobles con $J = 8.4, 2.4$ Hz, en 2.92 ppm un doble de cuartetos con $J = 6.8$ y 5.1 Hz para el metino H-6 y en 1.26 ppm un doble con $J = 6.8$ Hz para el metilo $\text{CH}_3\text{-C6}$. Para el fragmento *N*-arilo se observó en 7.37 ppm un doble de dobles con $J = 11.8, 2.6$ Hz correspondiente al hidrógeno *orto* al flúor, en 7.00 ppm un doble de dobles de dobles con $J = 7.1, 2.5, 1.0$ Hz para el hidrógeno *para* al flúor, en 6.94 ppm un doble de dobles con $J = 9.2, 9.0$ Hz, asignado al hidrógeno en *meta* al flúor. El fragmento morfolínico se observó en 3.88 ppm un multiplete que corresponde a los metilenos unidos a oxígeno y en 3.07 ppm un multiplete que corresponde para los metilenos unido a nitrógeno (Figura 38).

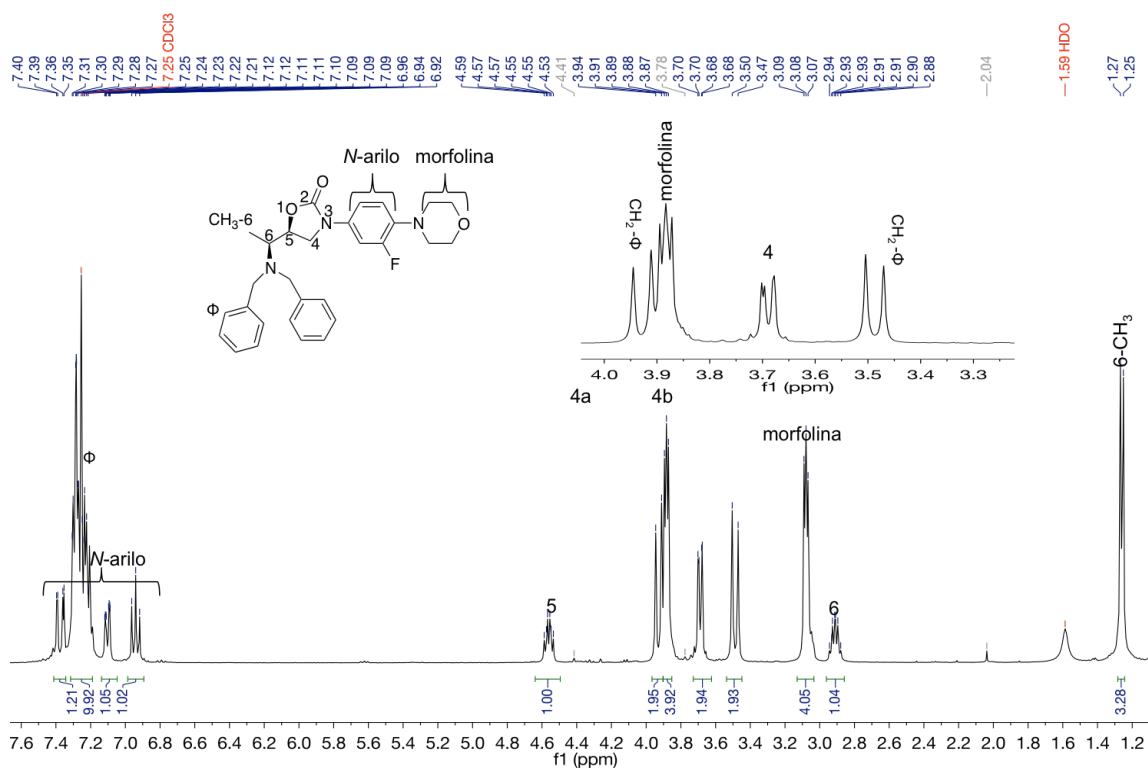


Figura 38. Espectro de RMN ^1H del compuesto **30** en CDCl_3 .

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **30** se observa en 154.5 ppm C-2, las señales de los carbonos aromáticos Φ en 139.6, 128.9, 128.3, 127.0 ppm, el metino C-5 en 76.2 ppm, el metino C-6 en 54.8 ppm, los metilenos bencílicos $\text{CH}_2\text{-}\Phi$ en 51.0 ppm, el metileno C-4 en 47.6 ppm y el metilo unido al C-6 en 10.2 ppm. Para el fragmento *N*-arilo se observaron las señales dobles características en 155.5 ppm con $J_{\text{C-F}} = 244.5$ Hz, en 136.2 ppm con $J_{\text{C-F}} = 8.9$ Hz, en 133.5 ppm con $J_{\text{C-F}} = 10.5$ Hz, en 118.7 ppm con $J_{\text{C-F}} = 4.2$ Hz, en 113.7 ppm $J_{\text{C-F}} = 3.3$ Hz y en 107.7 ppm con $J_{\text{C-F}} = 26.3$ Hz. Los carbonos del fragmento morfolínico se observaron en 67.0 ppm y en 55.1 ppm (Figura 39).

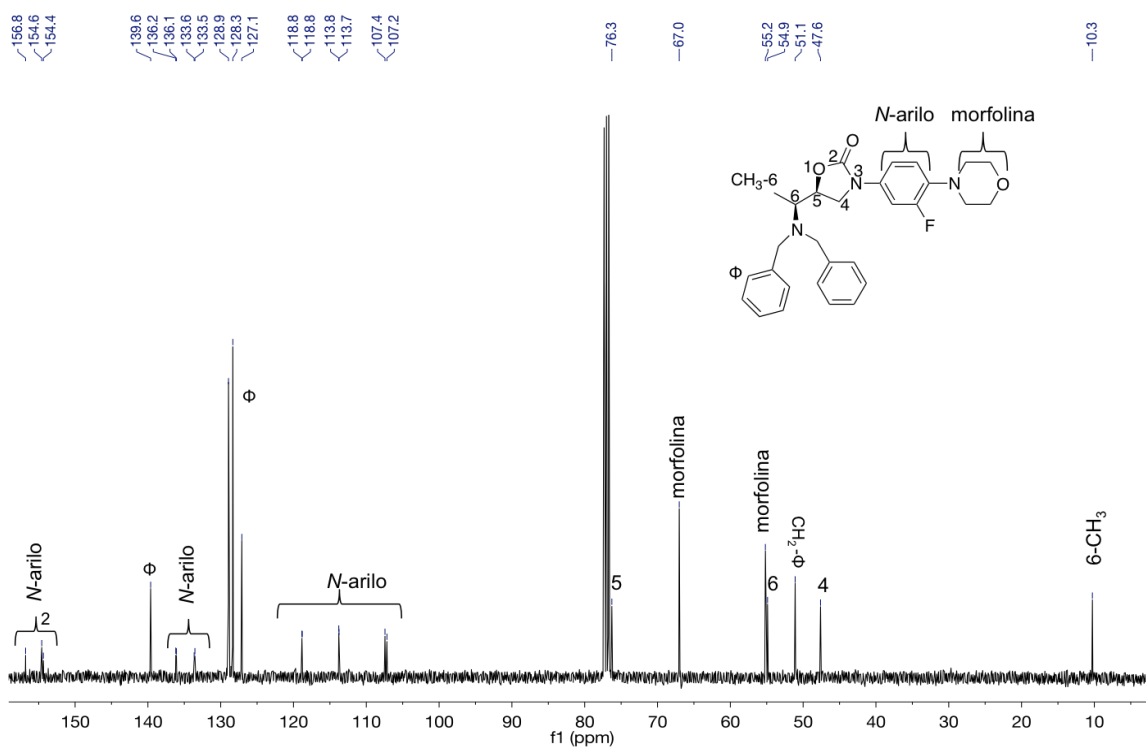


Figura 39. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **30** en CDCl_3 .

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **31** se observa en 7.30 ppm un multiplete que integra para los 10 hidrógenos aromáticos bencilícos Φ , en 4.38 ppm la señal del metino H-5 del anillo de oxazolidinona como un doble de doble de dobles con $J = 8.3, 8.2, 7.2$ Hz, en 3.80 y 3.57 ppm los hidrógenos diastereotópicos del metileno de la oxazolidinona H-4 observados como un triplete con $J = 8.7$ Hz y un doble de dobles con $J = 9.0, 6.6$ Hz, en 3.75 y 3.48 ppm dos sistemas AB de los metilenos bencilícos $\text{CH}_2\text{-}\Phi$ con $J = 13.5$ Hz, en 2.87 ppm un doble de cuartetos con $J = 8.9, 6.6$ Hz para el metino unido a nitrógeno H-6 y en 1.28 ppm un doblete con $J = 6.6$ Hz para el metilo $\text{CH}_3\text{-C6}$. Para el fragmento *N*-arilo se observa en 7.18 ppm un doble de dobles con $J = 11.8, 2.5$ Hz para el hidrógeno en *orto* al flúor, en 7.00 ppm un doble de dobles de dobles con $J = 7.1, 2.5, 1.0$ Hz para el hidrógeno *para* al flúor, en 6.89 ppm un doble de dobles con $J = 9.1, 9.0$ Hz, asignado al hidrógeno *meta* al flúor. Para el fragmento morfólinico se observa en 3.86 ppm un multiplete que corresponde a los metilenos unidos a oxígeno y en 3.04 ppm un multiplete que corresponde para los metilenos unido a nitrógeno (Figura 40).

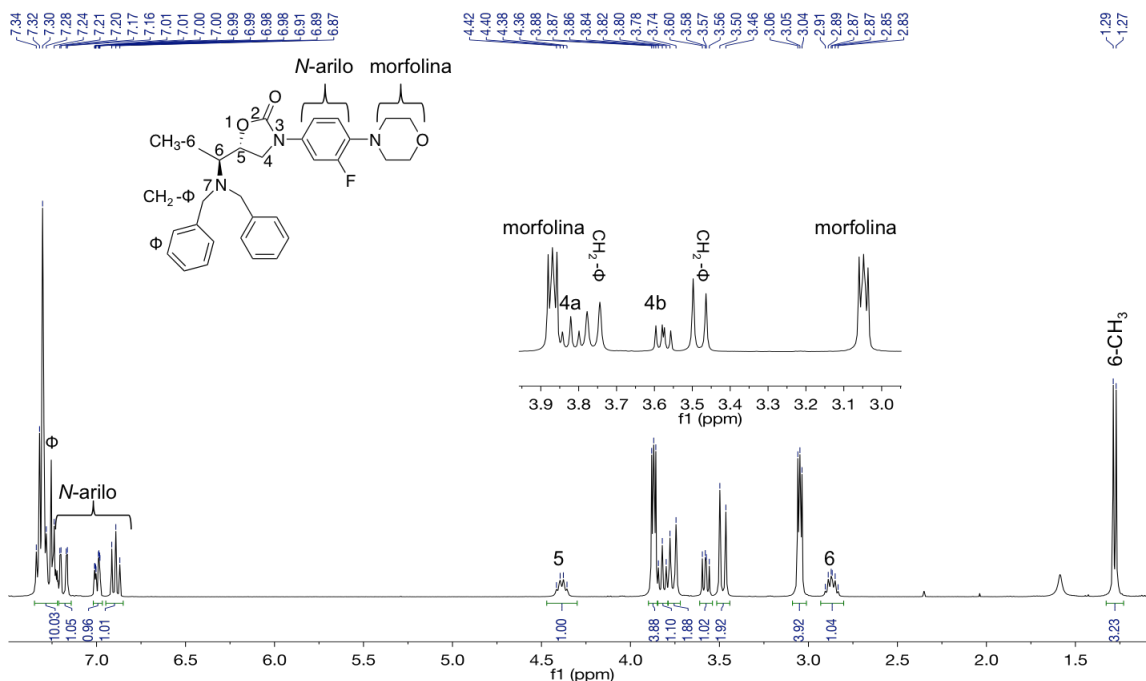


Figura 40. Espectro de RMN ^1H del compuesto **31** en CDCl_3 .

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **31** se observó el carbonilo C-2 en 154.6 ppm, los señales asignadas a los carbonos aromáticos Φ en 139.1, 128.9, 128.5, 127.4 ppm, el metino C-5 en 74.2 ppm, el metino C-6 en 56.7 ppm, los metilenos bencílicos $\text{CH}_2\text{-}\Phi$ en 51.9 ppm, el metileno C-4 en 49.9 ppm y el metilo unido al C-6 en 8.6 ppm. En el fragmento *N*-arilo se observaron las señales dobles características en 155.5 ppm con $J_{\text{C-F}} = 244.4$ Hz, en 136.2 ppm con $J_{\text{C-F}} = 9.0$ Hz, en 133.3 ppm con $J_{\text{C-F}} = 10.5$ Hz, en 118.7 ppm con $J_{\text{C-F}} = 4.1$ Hz, en 114.2 ppm $J_{\text{C-F}} = 3.3$ Hz y en 107.7 ppm con $J_{\text{C-F}} = 25.8$ Hz. Los carbonos del fragmento morfólico se observaron en 66.9 ppm y en 54.6 ppm (Figura 41).

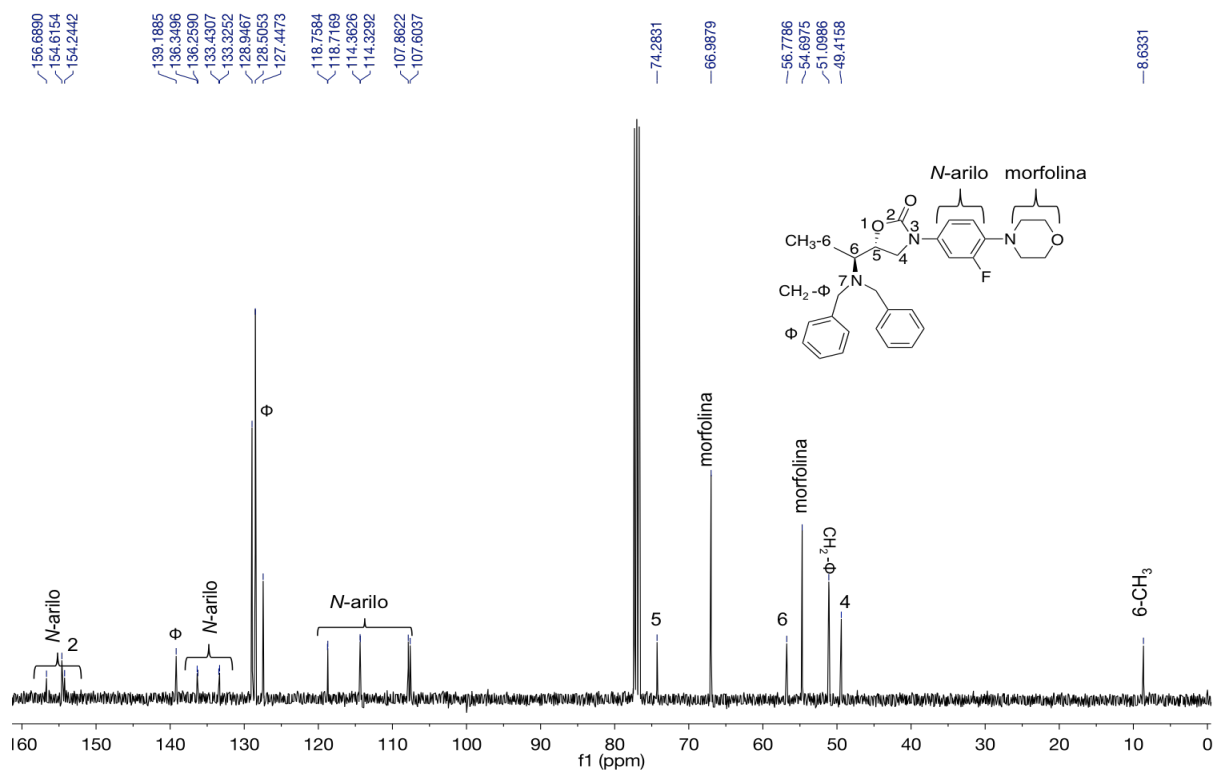
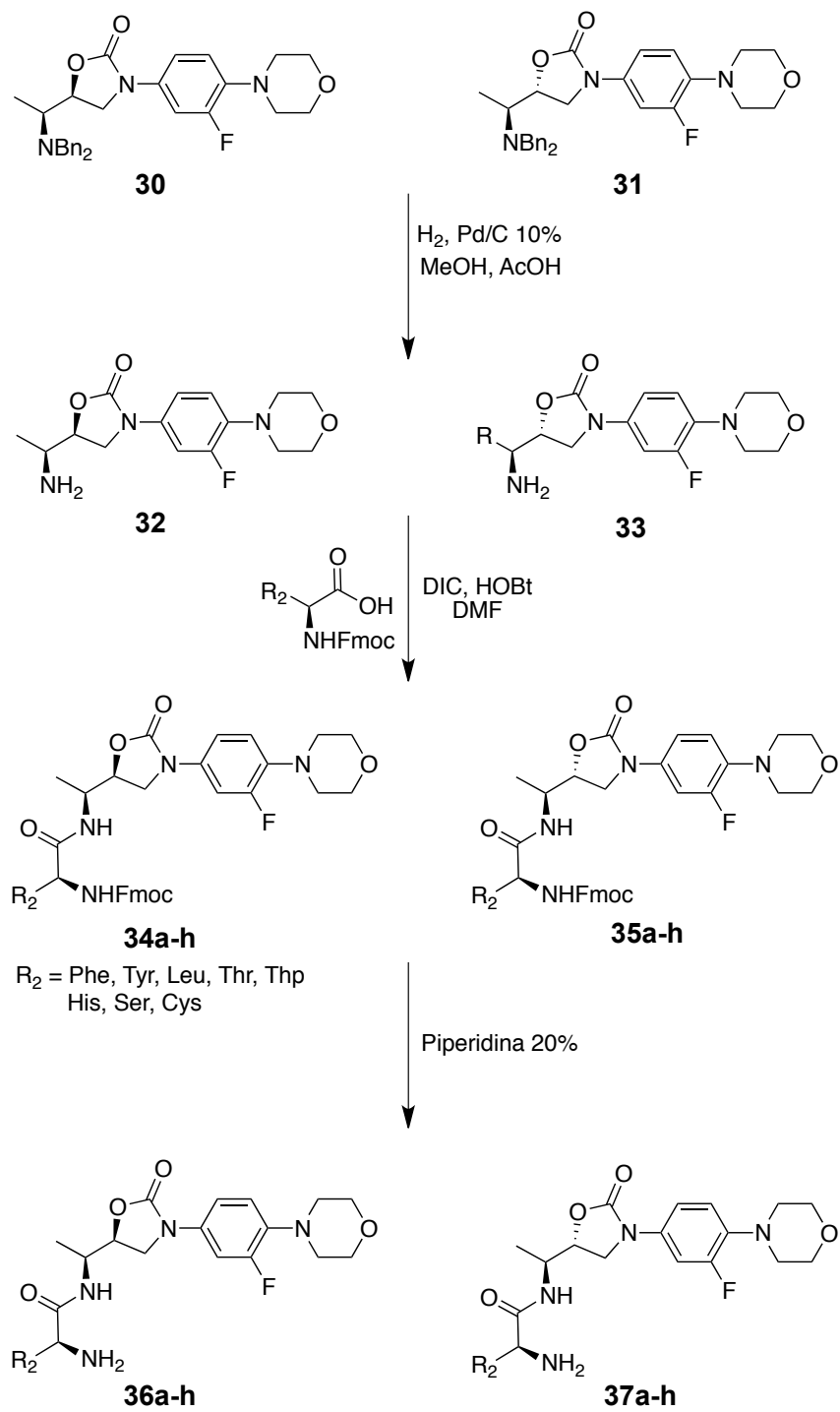


Figura 41. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **31** en CDCl_3 .

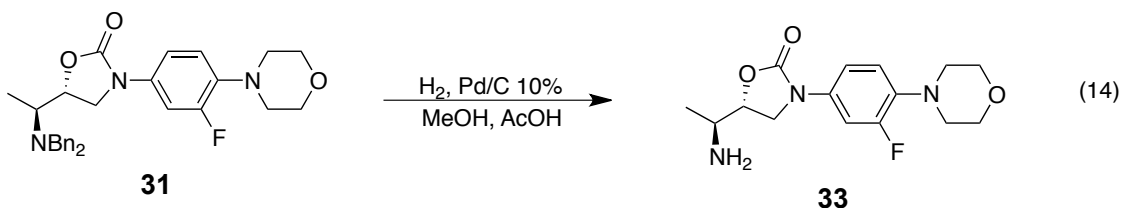
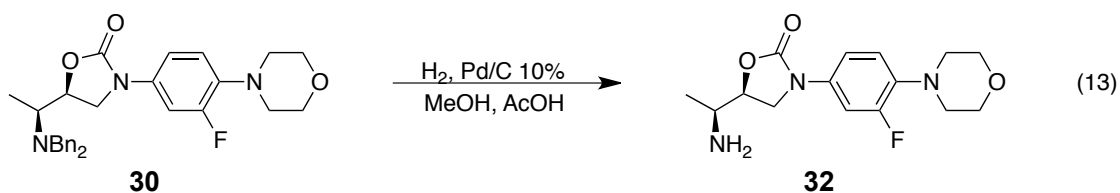
La tercera etapa del trabajo inició con la desprotección de los grupos bencilícos de los compuestos análogos de linezólida **30** y **31**, realizado por medio de una hidrogenólisis con Pd/C al 10%. A partir de los compuestos amino libre se llevaron a cabo acoplamiento de tipo peptídico con α -aminoácidos protegidos con Fmoc y por último, la desprotección empleando piperidina al 20% (Esquema 9). A continuación se muestran los resultados hasta el momento.



Esquema 9. Ruta de síntesis de compuestos dipéptido-oxazolidinonas análogos a linezólida.

4.13. Síntesis de amino oxazolidinonas **32** y **33**.

La síntesis de los compuestos **32** y **33** se realizó empleando Pd/C al 10 % en atmósfera de hidrógeno con dos gotas de ácido acético aportando una fuente mayor de hidrógenos en la reacción de hidrogenólisis. El rendimiento de la reacción fue de 80 y 90%, respectivamente.



En los espectros de infrarrojo para los compuestos **32** y **33** se observaron las señales de estiramiento del enlace N-H en 3373 cm^{-1} , el estiramiento C-H alifático 2952 cm^{-1} , la señal del estiramiento C=O en 1740 cm^{-1} , la vibración del enlace C=C 1514 cm^{-1} , el estiramiento C-N, el estiramiento C-F 1445 cm^{-1} , el estiramiento C-O 1112 cm^{-1} . En los espectros de EMIE de **32** y **33** (Figura 42), se observaron el ión molecular en 309 uma, que corresponde al peso molecular del compuesto con dos fragmentos mayoritarios en 209 uma debido a ruptura del anillo de oxazolidinona y en 44 por una ruptura *beta* al amino libre.

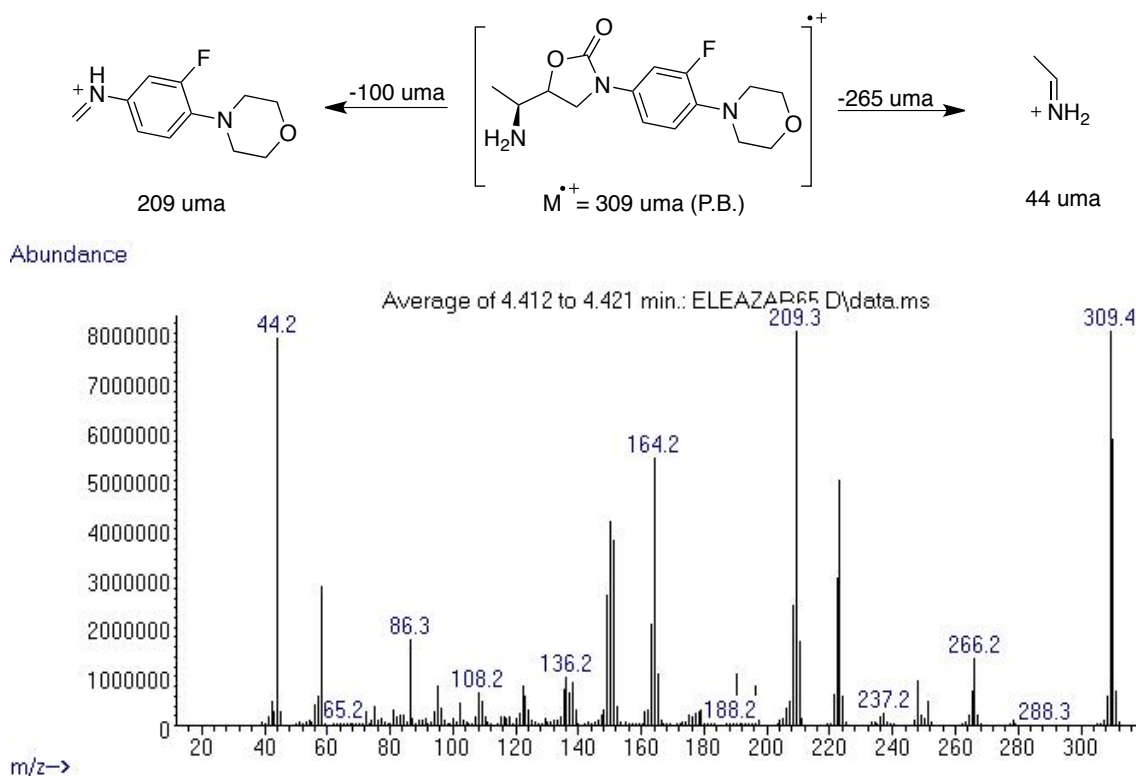


Figura 42. Espectro de EMIE de los compuesto **32** y **33**.

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **32** se observa en 4.45 ppm un doble de doble de dobles la señal del metino H-5 del anillo de oxazolidinona con $J = 8.7, 8.6, 7.8$ Hz, en 4.01 y 3.83 ppm las señales de metileno H-4 de la oxazolidinona observados como un doble de dobles con $J = 9.0, 8.9$ Hz y otro doble de dobles con $J = 9.0, 8.9$ Hz, en 3.02 ppm un multiplete que se asigna al metino H-6 unido a nitrógeno y en 1.05 ppm un doblete con $J = 6.5$ Hz para el metilo $\text{CH}_3\text{-C6}$. Para el fragmento *N*-arilo se observa en 7.51 ppm un doble de dobles con $J = 12.4, 2.6$ Hz para el hidrógeno *orto* al flúor, 7.23 ppm un doble de dobles con $J = 8.8, 1.9$ Hz para el hidrógeno *para* al flúor, en 7.05 ppm un doble de dobles con $J = 9.8, 9.1$ Hz, asignado al hidrógeno *meta* al flúor. En el fragmento morfolínico se observa en 3.73 ppm un multiplete que corresponde a los metilenos unidos a oxígeno y en 2.96 ppm un multiplete que corresponde para los metilenos unido a nitrógeno (Figura 43).

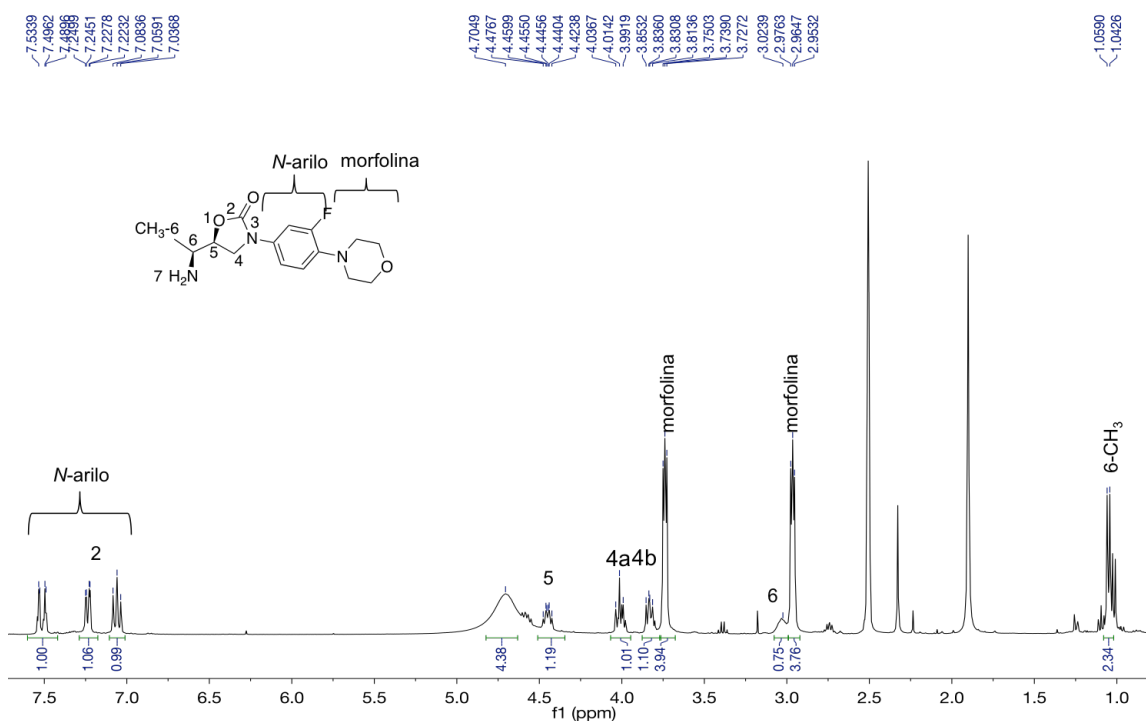


Figura 43. Espectro de RMN ^1H del compuesto **32** en $\text{DMSO-}d_6$.

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **32** se observa el metino C-5 unido a oxígeno en 75.8 ppm, el metino C-6 en 49.2 ppm, el metileno C-4 del anillo de oxazolidinona en 47.1 ppm y el metilo unido al C-6 en 18.2 ppm. Para el fragmento *N*-arilo se observaron las señales dobles características en 155.5 ppm con $J_{\text{C-F}} = 242.1$ Hz, en 135.8 ppm con $J_{\text{C-F}} = 8.8$ Hz, en 134.1 ppm con $J_{\text{C-F}} = 10.4$ Hz, en 119.7 ppm con $J_{\text{C-F}} = 4.2$ Hz, en 114.4 ppm $J_{\text{C-F}} = 3.2$ Hz y en 107.3 ppm con $J_{\text{C-F}} = 26.0$ Hz. Las señales del fragmento morfolínico se observan en 66.6 ppm y en 51.2 ppm (Figura 44).

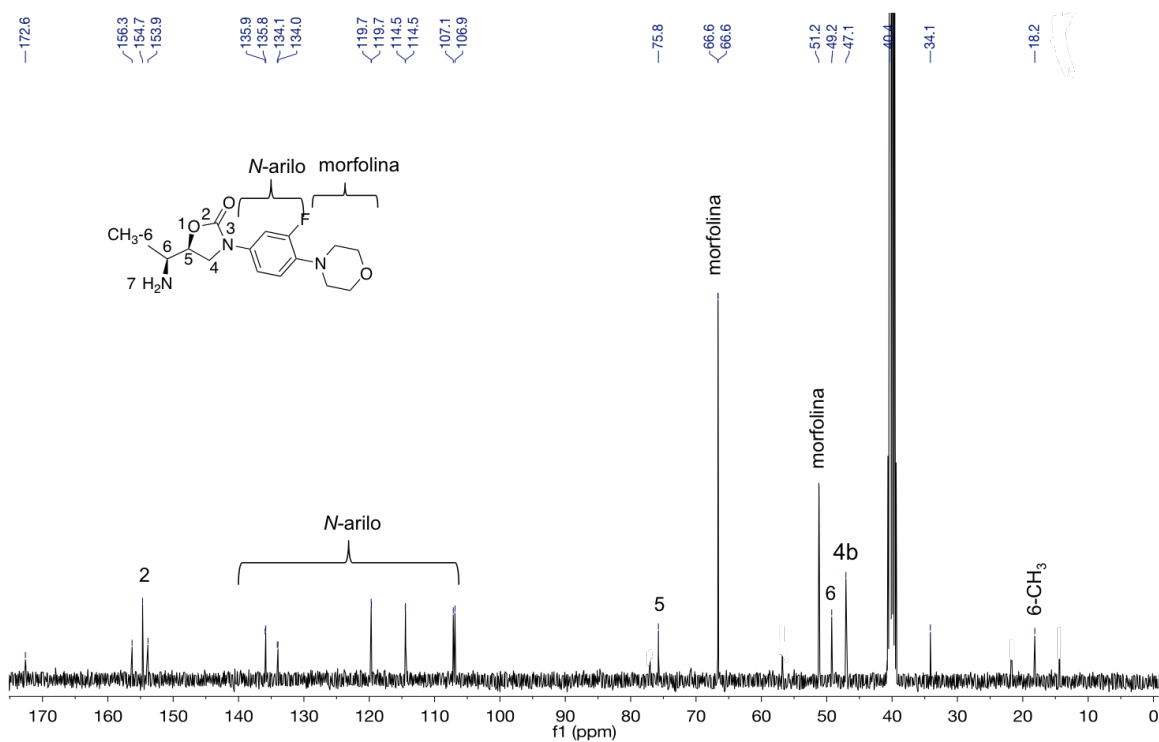


Figura 44. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **32** en $\text{DMSO-}d_6$.

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **33** se observa en 4.48 ppm un doble de doble de dobles la señal del H-5 del anillo de oxazolidinona con $J = 8.4, 8.1, 7.2$ Hz, en 3.92 ppm el metileno H-4 de la oxazolidinona como un doble de dobles con $J = 8.5, 1.6$ Hz, en 3.35 ppm un multiplete que se asigna a el metino H-6 unido a nitrógeno y en 1.19 ppm un doblete con $J = 6.6$ Hz para el metilo $\text{CH}_3\text{-C6}$. Para el fragmento *N*-arilo se observa en 7.45 ppm un doble de dobles con $J = 11.8, 2.6$ Hz para el hidrógeno *orto* al flúor, 7.15 ppm un doble de dobles de dobles con $J = 8.8, 1.5, 1.2$ Hz para el hidrógeno *para* al flúor, en 6.92 ppm un doble de dobles con $J = 9.1, 9.0$ Hz, asignado al hidrógeno *meta* al flúor. El fragmento morfólico se observó en 3.87 ppm un multiplete que corresponde a los metilenos unidos a oxígeno y en 3.05 ppm un multiplete que corresponde para los metilenos unido a nitrógeno (Figura 45).

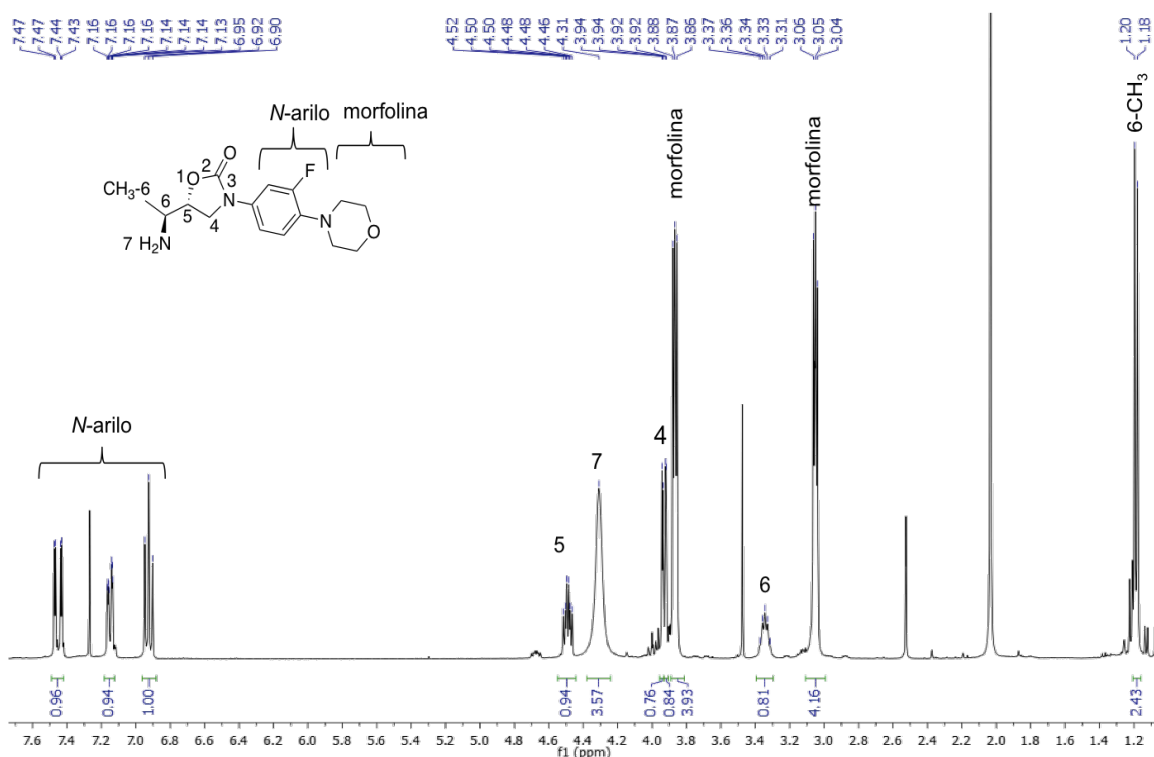


Figura 45. Espectro de RMN ^1H del compuesto **33** en CDCl_3 .

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **33** se observa en 76.2 ppm el metino unido a oxígeno C-5, en 48.2 ppm el metino unido a nitrógeno C-6, en 46.2 ppm el C-4 del anillo de oxazolidinona y en 17.7 ppm el metilo unido al C-6. Para el fragmento *N*-arilo se observaron las señales dobles características en 155.5 ppm con $J_{\text{C-F}} = 220.4$ Hz, en 136.2 ppm con $J_{\text{C-F}} = 7.3$ Hz, en 133.4 ppm con $J_{\text{C-F}} = 10.2$ Hz, en 118.8 ppm con $J_{\text{C-F}} = 4.1$ Hz, en 113.8 ppm $J_{\text{C-F}} = 3.3$ Hz y en 107.4 ppm con $J_{\text{C-F}} = 26.1$ Hz. Las señales del fragmento morfólico se observan en 67.0 ppm y en 51.1 ppm (Figura 46).

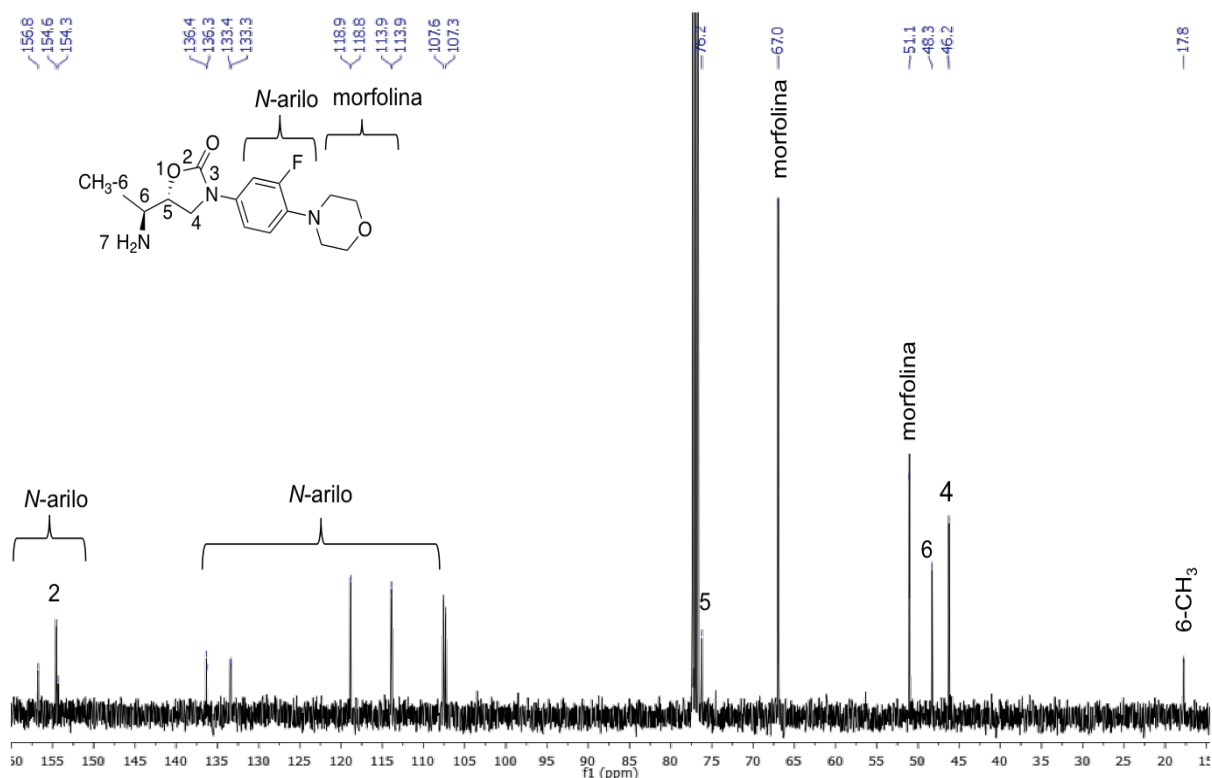
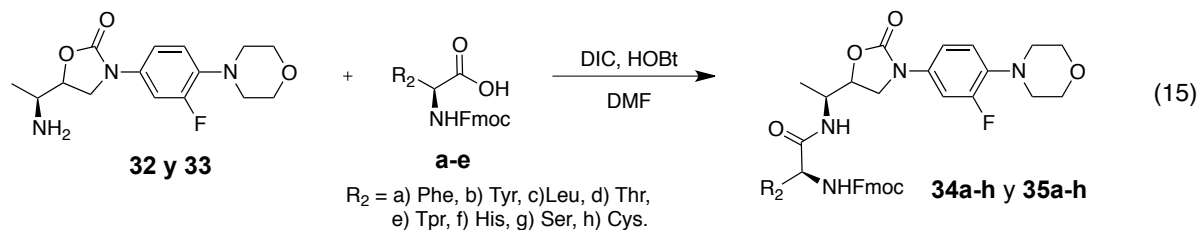


Figura 46. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **33** en CDCl_3 .

4.14. Síntesis de dipéptido-oxazolidinonas **34a-h** y **35a-h**.

La segunda reacción consiste en el acoplamiento de **32** y **33** con aminoácidos con Fmoc protegidos diferentes (Phe, Tyr, Leu, Thr, Thp, His, Ser, Cys). En esta reacción se emplearon como agentes acoplantes diisopropilcarbodiimida (DIC) e hidroxibenzotriazol (HOBt) a temperatura ambiente, que se hicieron reaccionar por cuatro horas con el aminoácido protegido correspondiente previo a la adición de la amina libre. Posteriormente, a las ocho horas de reacción, se añadió agua hasta formar un precipitado blanco, el cual fue filtrado y secado. Los compuestos sintetizados (**34a-h** y **35a-h**) fueron purificados por cromatografía en columna, la caracterización de los sólidos dio evidencia de la formación de los dipéptidos con rendimientos del 29 hasta 55%.



A continuación se describe la caracterización del compuesto **35a** obtenido por el acoplamiento de la oxazolidinona *anti* **33** con el aminoácido L-fenilalanina Fmoc protegido. En el espectro de FTIR se observó en 3293 cm^{-1} el estiramiento N-H, en 3023 cm^{-1} el estiramiento C-H aromático, en 2955 cm^{-1} el estiramiento C-H alifático, en 1754 cm^{-1} el estiramiento C=O del carbamato, en 1699 cm^{-1} el estiramiento C=O del anillo de oxazolidinona, en 1656 cm^{-1} el estiramiento C=O de la amida, en 1514 cm^{-1} estiramiento C=C, en 1226 cm^{-1} el estiramiento C-N y a 1031 cm^{-1} el estiramiento C-O (Figura 47). Es importante notar que los análogos *sin* presentaron las mismas vibraciones en la caracterización por FTIR. En la Tabla 16 se indican las frecuencias de infrarrojo obtenidas de los dipéptidos diversos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona (**34a-h** y **35a-h**).

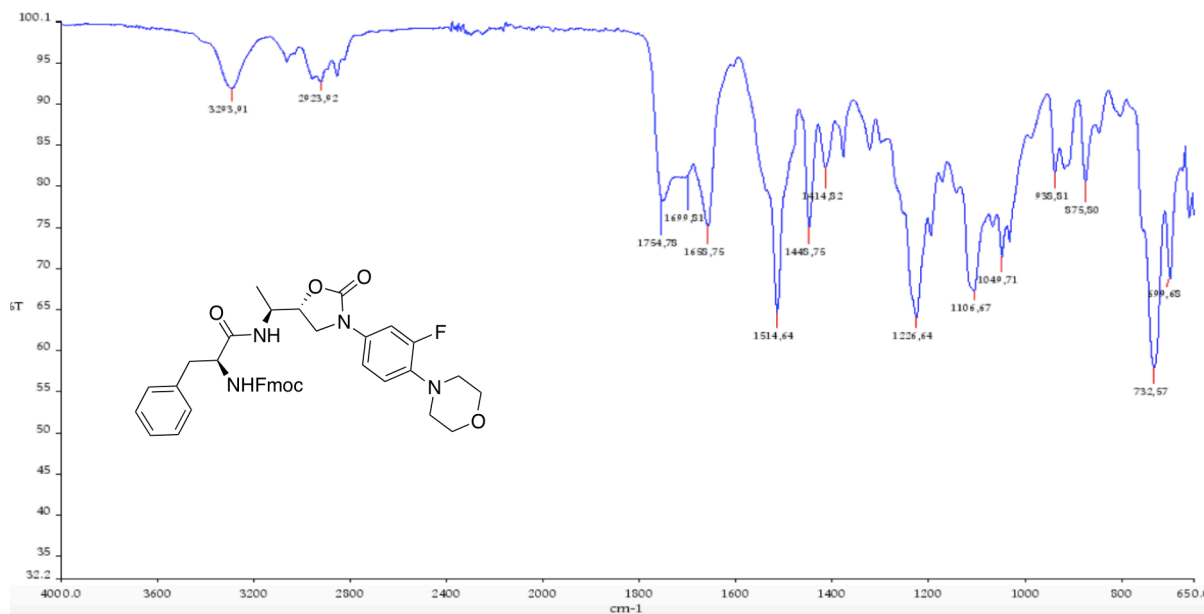


Figura 47. Espectro de IR-TF del compuesto **35a**.

Tabla 16 Frecuencias de IR de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-onas (**34a-h** y **35a-h**).

Compuesto cm ⁻¹	N-H	C=C-H	C-H	C=O	C=C	C-N	C-O
34a, 36a	3293	3023	2955	1754,1690,1656	1514	1226	1031
34b, 36b	3294	3023	2976	1748,1710,1655	1513	1227	1105
34c, 36c	3295	3023	2956	1749,1716,1656	1514	1226	1106
34d, 36d	3300	3023	2973	1749,1719,1670	1514	1224	1048
34e, 36e	3293	3065	2952	1743, 1722, 1662	1515	1229	1111
34f, 36f	3304	3059	2955	1750, 1718, 1671	1513	1228	1114
34g, 36g	3296	3020	2969	1736, 1715, 1669	1514	1225	1110
34h, 36h	3296	3008	2951	1754, 1714, 1675	1514	1232	1110

En el espectro de EMIES de **35a** se encontró la señal del ion cuasimolecular $[M+H]^+$ con 679 uma. También se observó la formación de aductos con metales diferentes, por ejemplo, $[M+Na]^+$ con 701 uma y $[M+K]^+$ con 717 uma (Figura 48). En los compuestos **34h** y **35h**, no se observó el ion cuasimolecular. En la Tabla 17 se muestran las iones encontrados por EMIES para los compuestos **34a-h** y **35a-h**.

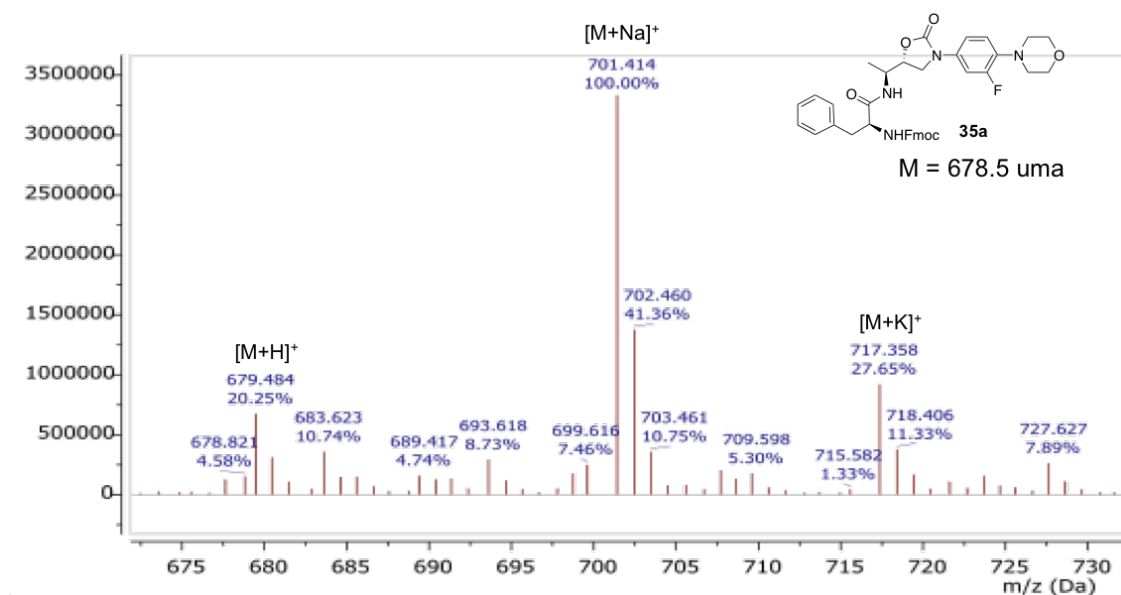
**Figura 48.** Espectro de EMIES del compuesto **35a**.

Tabla 17. Datos espectrométricos obtenidos por EMIES de los dipéptidos diversos a partir de 1,3-oxazolidin-2-onas (**34a-h** y **36a-h**).

Compuesto	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	[M+K] ⁺
34a, 36a	679 uma	701 uma	717 uma
34b, 36b	751 uma	773 uma	789 uma
34c, 36c	645 uma	667 uma	683 uma
34d, 36d	689 uma	711 uma	729 uma
34e, 36e	718 uma	740 uma	756 uma
34f, 36f	912 uma	934 uma	950 uma
34g, 36g	675 uma	697 uma	713 uma
34h, 36h	-	-	-

-No determinado

En el espectro de RMN ¹H para **35a** se observan las señales aromáticas del grupo Fmoc, en 7.75 ppm se observa un doblete con una $J = 7.5$ Hz que integra para dos hidrógenos, en 7.52 ppm está un triplete con $J = 6.5$ Hz que integra para dos hidrógenos, en 7.37 ppm se encuentra un multiplete que integra para tres hidrógenos, dos correspondiente a hidrógenos del grupo Fmoc y traslapado se encuentra la señal de el hidrógeno del grupo *N*-arilo en posición *orto* al flúor, en 7.28 ppm un multiplete que integra para cinco hidrógenos, los dos hidrógenos restantes del grupo Fmoc con tres hidrógenos del bencilo 12 y 14 provenientes del aminoácido fenilalanina. En 7.18 ppm se encuentra un multiplete que integra para dos hidrógenos del grupo bencílico 13 y por último, el fragmento *N*-arilo se observó en 7.06 ppm un multiplete que integra para el hidrógeno en posición *para* al flúor y en 6.89 ppm un triplete que integra para el hidrógeno *meta* al flúor. En la zona alifática a 6.35 y 5.40 ppm se encuentran dos singuletes anchos correspondiente a los hidrogénos unidos al nitrógeno del carbamato y amida 7, respectivamente. En 4.43 ppm está un multiplete que integra para tres hidrógenos correspondientes al metileno y metino del Fmoc, en 4.29 ppm un multiplete que integra para el metino C-5, en 4.17 ppm aparece un triplete que integra para el C-9 del aminoácido de fenilalanina, en 4.13 ppm un

multiplete que integra para el C-6 unido al metilo. En 3.85 ppm aparece un multiplete que integra para los metilenos unidos a oxígeno de la morfolina, en 3.75 y 3.56 ppm se observó un triplete con valor de $J = 9.1$ Hz y un multiplete para metileno 4 de oxazolidinona, en 3.04 ppm se encuentra un multiplete que integra para los metilenos de la morfolina unidos a nitrógeno bencílico y el metileno bencílico 10 del aminoácido fenilalanina y por último, en 1.15 ppm se ve un doblete con una $J = 6.3$ Hz que integra para el metilo $\text{CH}_3\text{-C6}$ (Figura 49).

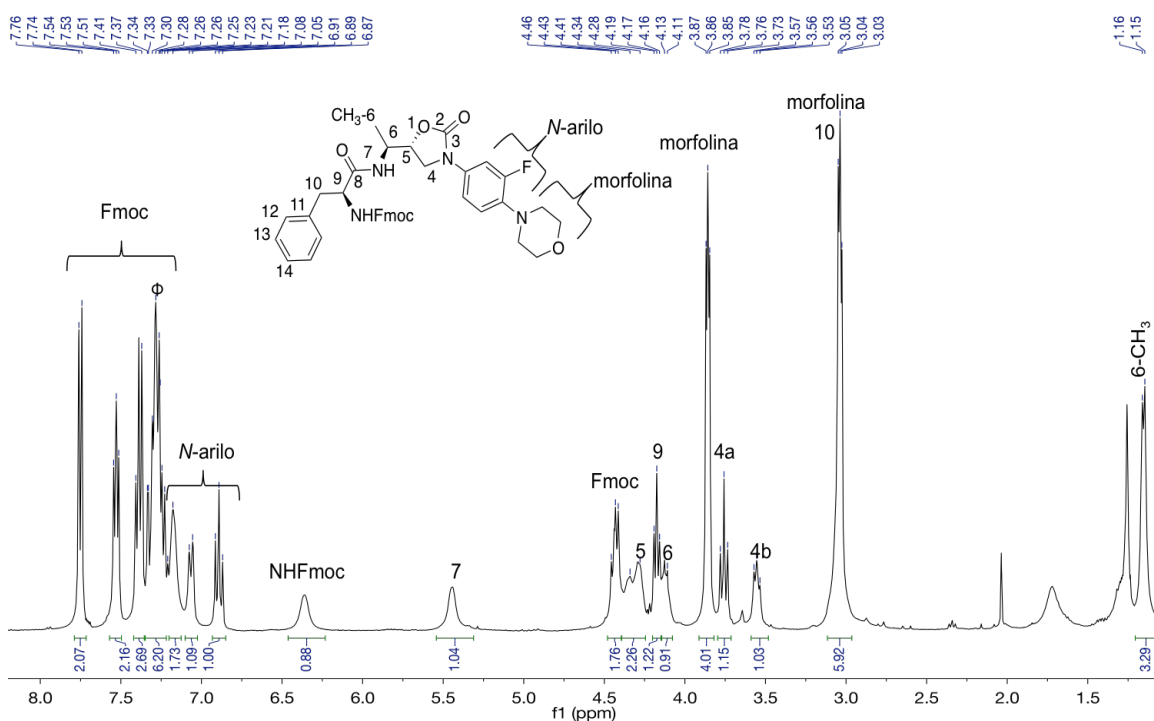


Figura 49. Espectro de RMN ^1H de **35a** en CDCl_3 .

Es importante mencionar que para lograr la asignación inequívoca de las señales fue necesario apoyarse del estudio en dos dimensiones HSQC (Figura 50). Las señales presentes en el espectro de RMN ^{13}C se correlacionaron con las señales del espectro de hidrógeno encontrando que el carbono del metino 5 de la oxazolidinona en 74.3 ppm correlaciona con el multiplete ubicado a 4.29 ppm. En 67.1 ppm y 56.3 ppm se encuentran los carbonos de metileno y el metino del grupo Fmoc y correlacionan con el multiplete ubicado en 4.43 ppm. En 47.8 ppm se encuentra el carbono del metino C-6 proveniente de la alanina y

correlaciona con el multiplete a 4.13 ppm. La señal en 47.7 ppm correspondiente al metileno 4 de la oxazolidinona correlaciona con las señales a 3.75 y 3.56 ppm, en 47.1 ppm la señal de C-9 unido a nitrógeno que correlaciona con el triplete a 4.17 ppm y por último, la señal en 38.4 ppm del metileno bencílico correlaciona con el multiplete a 3.04 ppm.

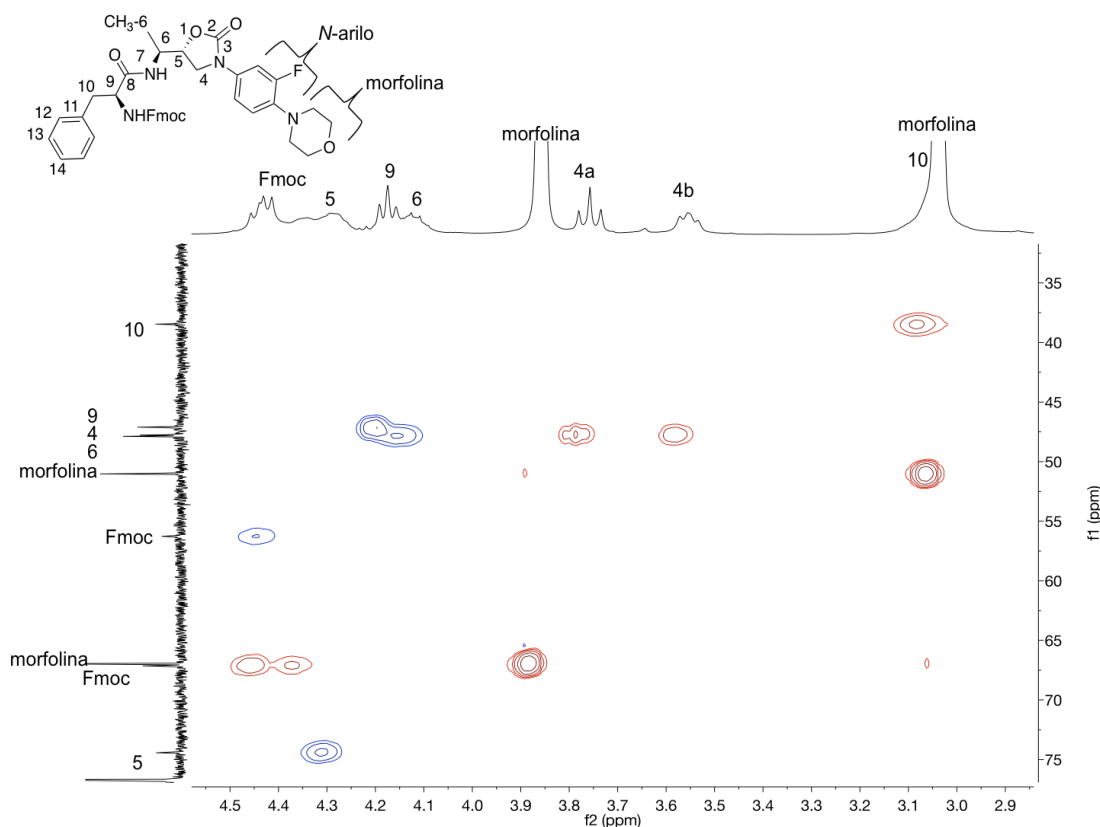


Figura 50. Ampliación del espectro HSQC de **35a** en CDCl_3 .

El espectro de RMN ^{13}C de **36a** se observó que en 170.1 ppm la señal del carbonilo 8 de amida, en 156.0 ppm la del carbonilo del carbamato, en 155.9 ppm la del carbonilo 2 de la oxazolidinona, la región aromática mostró en 143.6 y 141.3 ppm las señales de los carbonos cuaternarios del grupo Fmoc, en 127.7, 127.0, 125.0 y 120.0 ppm las señales restantes del grupo Fmoc, el grupo bencílico se observó 136.1 ppm el C-11, en 129.2, 128.7 y 127.2 ppm el sistema $\text{A}_2\text{B}_2\text{C}$ 12, 13, 14. El fragmento *N*-arilo se observaron las señales dobles características en 155.5 ppm con $J_{\text{C-F}} = 246.1$ Hz, en 136.7 ppm con $J_{\text{C-F}} = 8.6$

Hz, en 132.8 ppm con $J_{C-F} = 10.1$ Hz, en 118.8 ppm con $J_{C-F} = 4.1$ Hz, en 114.0 ppm $J_{C-F} = 3.2$ Hz y en 107.5 ppm con $J_{C-F} = 26.1$ Hz. En la región alifática se observó en 74.3 ppm la señal del metino 5 de la oxazolidinona, en 67.1 ppm la del metileno del grupo Fmoc, en 66.9 los metilenos unidos a oxígeno de la morfolina, en 56.3 ppm la del metino de Fmoc, 51.0 ppm los metilenos unido a nitrógeno de la morfolina, 47.8 ppm la del metino 6 derivado de alanina, 47.7 ppm la de el metileno 4 de la oxazolidinona, en 47.1 ppm el metino 9 derivado de fenilalanina, en 38.0 ppm la del metileno 10 bencílico de fenilalanina y por último en 14.4 ppm la del metilo derivado de alanina CH_3-C6 (Figura 51).

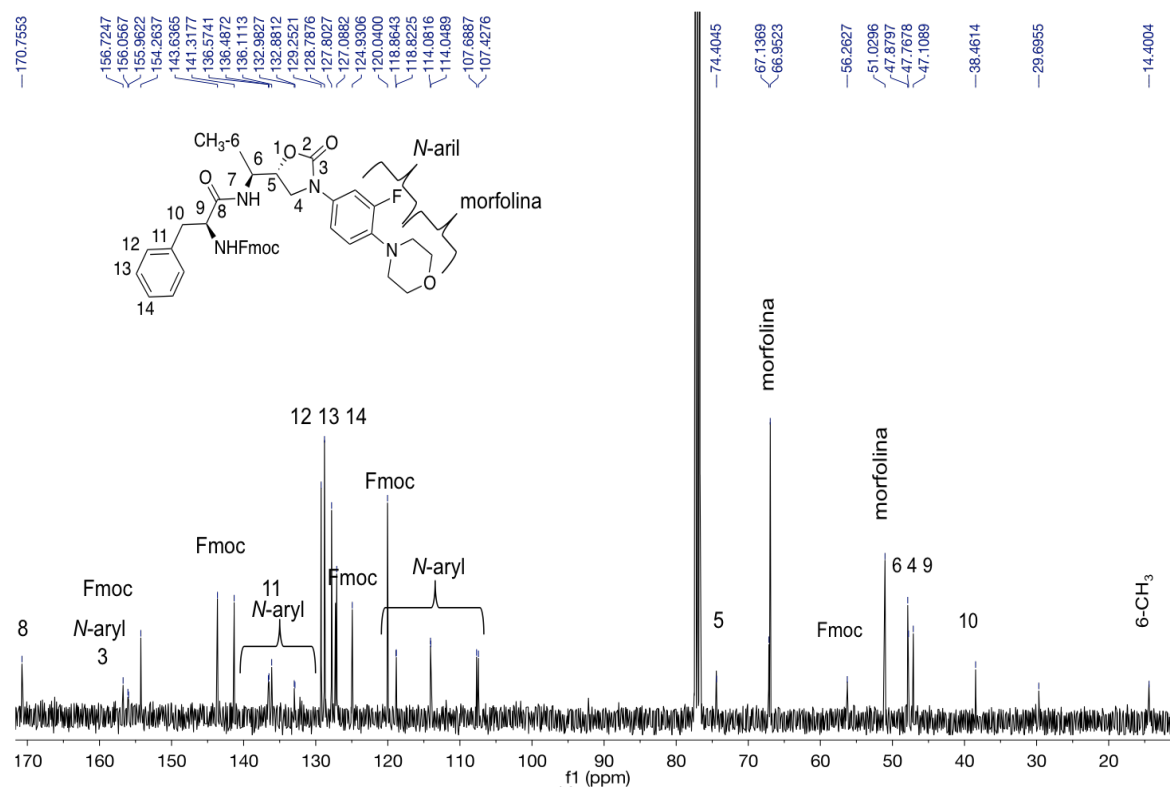


Figura 51. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **35a** en $CDCl_3$.

A continuación se muestran las estructuras (Figura 52 y 53) y la caracterización (Tabla 18-21) con los datos de RMN ^1H y ^{13}C obtenidos para los compuestos (**35b-h**).

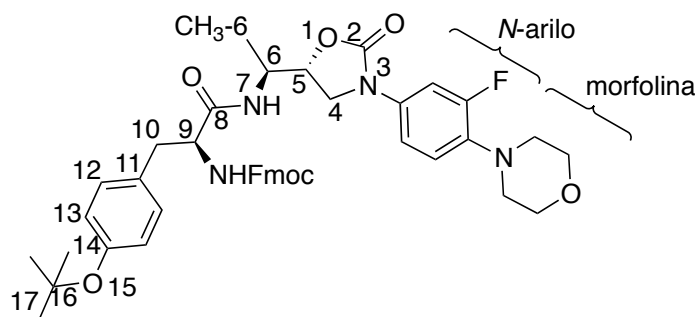
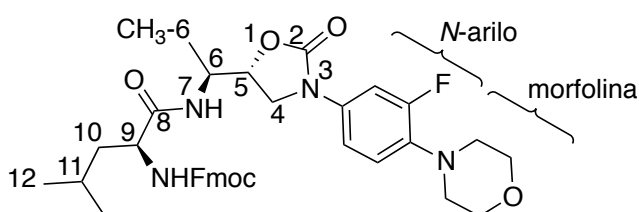
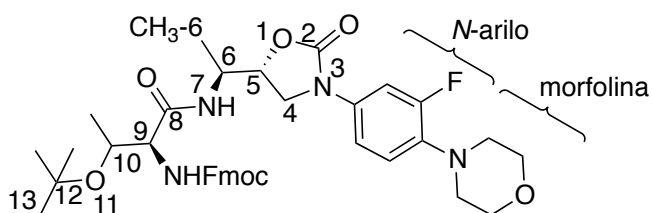
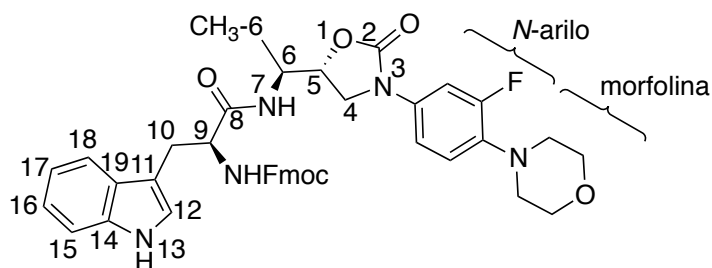
**35b****35c****35d****35e**

Figura 52. Compuestos análogos de linezólida derivados del acoplamiento de tipo peptídico con Tyr (**35b**), Leu (**35c**), Thr (**35d**) y Tpr (**35e**).

Tabla 18. Datos de RMN ^1H (δ ($J = \text{Hz}$)) y rendimientos químicos de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración *anti* (**35b-e**).

No.	35b (38%)	35c (38%)	35d (35%)	35e (38%)
H-4	3.76 (t, 8.7) 3.57 (t, 6.4)	4.00 (m) 3.78 (m)	4.01 (m) 3.86 (m)	3.64 (t, 9.0) 3.44 (dd, 9.8,9.5)
H-5	4.32 (m)	4.60 (m)	4.64 (m)	3.99 (m)
H-6	4.13 (m)	4.13 (m)	4.25 (m)	4.05 (m)
CH ₃ -C6	1.13 (d, 5.8)	1.25 (d, 5.9)	1.08 (d, 6.3)	1.04 (sa)
H-7	5.87 (sa)	5.22 (sa)	5.91 (sa)	5.91 (sa)
H-9	4.13 (m)	4.13(m)	4.25 (m)	4.21 (m)
H-10	3.00 (m)	1.54 (m)	4.18 (m)	3.31 (m) 3.16 (m)
H-11		1.65 (m)		
H-12	7.08 (d, 6.8)	0.95 (sa)		7.67 (m)
H-13	6.89 (d, 7.6)		1.29 (s)	8.25 (sa)
H-14				7.11 (dd, 7.4, 7.0)
H-11		1.65 (m)		
H-12	7.08 (d, 6.8)	0.95 (sa)		7.67 (m)
H-13	6.89 (d, 7.6)		1.29 (s)	8.25 (sa)
H-14				7.11 (dd, 7.4, 7.0)
H-15				7.07 (dd, 7.4, 7.0)
H-16				7.02 (m)
H-17	1.26 (sa)			7.29 (m)
CH ₃ -C10			1.25 (sa)	1.04 (sa)
Morfolina	3.83 (m) 3.00 (m)	4.12 (m) 3.38 (m)	4.01 (m) 3.24 (m)	3.86 (m) 3.04 (m)
N-arilo	7.40 (dd,12.1, 2.1) 6.89 (d, 7.6) 7.01 (d, 8.3)	7.71 (m) 7.37 (m) 7.06 (m)	7.61 (d, 7.5) 7.42 (dd, 7.3, 7.0) 7.10 (m)	7.30 (m) 7.02 (m) 6.08 (dd, 9.5, 9.0)
Fmoc	7.72 (d, 7.5) 7.53 (dd, 7.2, 6.9) 7.36 (m) 7.26 (m) 4.48 (m) 4.32 (m)	7.78 (d, 7.4) 7.58 (d, 7.2) 7.41 (t, 7.5) 7.32 (t, 7.5) 4.37 (m) 4.13 (m)	7.77 (dd, 7.4, 5.4) 7.62 (d, 7.5) 7.42 (dd, 7.3, 7.0) 7.33 (dd, 7.5, 7.0) 4.41 (m) 4.18 (m)	7.76 (d, 7.4) 7.55 (m) 7.39 (m) 7.29 (m) 4.45 (m)

Tabla 19. Datos de RMN ^{13}C (δ ($J = \text{Hz}$)) de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración *anti* (**35b-e**).

No.	35b	35c	35d	35e
C-2	154.4	154.5	155.9	155.9
C-4	47.7	47.7	47.7	47.5
C-5	74.3	74.7	74.5	74.2
C-6	47.8	47.5	47.8	47.0
CH ₃ -C6	14.4	14.3	17.2	13.9
C-8	171.0	172.3	169.7	177.3
C-9	47.1	47.1	47.2	47.4
C-10	38.4	41.1	66.5	28.4
C-11	131.0	24.7		125.3
C-12	129.2	22.9	75.7	112.7
C-13	124.2		28.2	
C-14	156.0			127.6
C-16	78.4			120.2
C-17	28.7			122.4
C-18				122.9
C-19				136.9
CH ₃ -C10			14.7	
Morfolina	66.9, 51.0	65.4, 52.3	66.9, 51.7	66.9, 51.0
<i>N</i> -arilo	155.5 (d, 245.1)	155.5 (d, 254.2)	155.4 (d, 258.1)	155.5 (d, 231.2)
	136.4 (d, 8.9)	136.4 (d, 7.0)	119.9 (d, 7.4)	136.5 (d, 9.5)
	133.0 (d, 10.4)	133.0 (d, 10.0)	113.8 (d, 3.4)	132.8 (d, 9.8)
	118.8 (d, 4.1)	118.8 (d, 5.4)	107.7 (d, 26.4)	118.7 (d, 9.0)
	114.0 (d, 3.2)	114.0 (d, 4.0)		114.0
	107.5 (d, 26.1)	107.8 (d, 25.1)		107.5 (d, 25.7)
Fmoc	143.6, 141.2,	143.6, 141.2,	143.6, 141.2,	144.0, 141.3,
	127.8, 127.0,	127.8, 127.0,	127.8, 127.0,	127.8, 127.1,
	124.9, 119.9,	124.8, 120.0	124.8, 120.0	125.0, 120.0,
	67.1, 56.3	67.0, 53.6	67.0, 53.6	67.1, 55.8

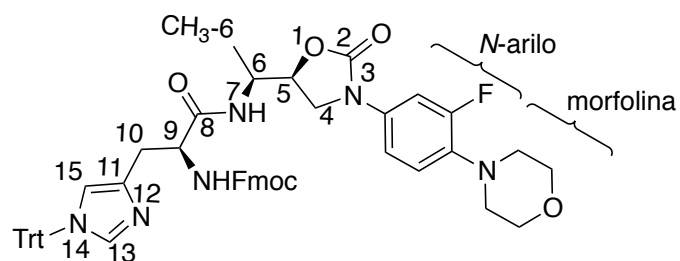
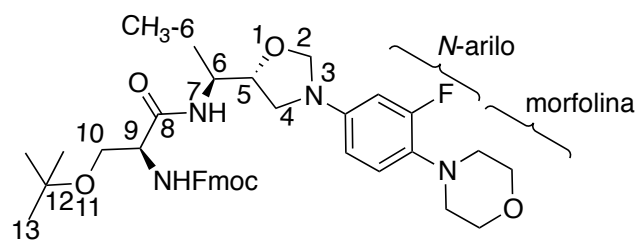
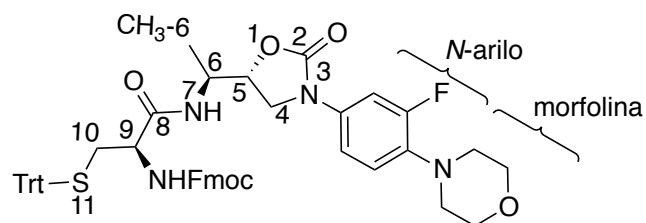
**35f****35g****35h**

Figura 53. Compuestos análogos de linezólida derivados del acoplamiento de tipo peptídico con His (**35f**), Ser (**35g**), Cys (**35h**).

Tabla 20. Datos de RMN ^1H (δ ($J = \text{Hz}$)) y rendimientos químicos de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración *anti* (**35f-h**).

No.	35f (36%)	35g (29%)	35h (33%)
H-4	3.75 (t, 8.7)	3.82 (m)	3.91 (t, 9.1) 3.69 (dd, 9.0,6.6)
H-5	4.50 (m)	4.65 (m)	4.41 (m)
H-6	4.31 (m)	4.22 (m)	4.12 (m)
CH ₃ -C6	1.27 (d, 5.6)	1.37 (d, 6.9)	1.18 (d, 6.7)
H-7	6.43 (sa)		6.00 (d,8.6)
H-9	4.09 (m)	4.15 (m)	4.20 (m)
H-10	2.57 (m)	3.75 (dd, 9.2,8.9) 3.37 (dd, 8.9,8.6)	2.62 (d, 6.5)
H-11			
H-12	7.50 (m)		
H-13		1.15 (s)	
H-14	7.70 (m)		
Trt	7.30 (m) 7.21(m)		7.39 (m) 7.26 (m)
Morfolina	3.80 (m) 2.93 (m)	3.82 (m) 2.97 (m)	3.80 (m) 3.02 (m)
<i>N</i> -arilo	7.36 (m) 6.94 (m) 6.70 (m)	7.30 (m) 7.00 (m) 6.84 (m)	7.36 (m) 7.05 (m) 6.83 (t, 9.1)
Fmoc	7.70 (m) 7.50 (m) 7.36 (m) 7.24 (m) 4.21 (m) 3.90 (m)	7.73 (d, 7.5) 7.52 (d, 9.4) 7.38 (m) 7.30 (m) 4.22 (m) 4.15 (m)	7.71 (m) 7.50 (m) 7.36 (m) 7.26 (m) 4.20 (m) 3.75 (dd, 6.7,6.5)

Tabla 21. Datos de RMN ^{13}C (δ ($J = \text{Hz}$)) de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración *anti* (**35f-h**).

No.	35f	35g	35h
C-2	154.1	154.1	155.7
C-4	47.4	47.7	47.9
C-5	74.8	75.2	74.5
C-6	45.7	47.1	47.7
CH ₃ -C6	17.7	17.9	14.0
C-8	170.6	171.5	170.0
C-9	47.0	46.3	47.0
C-10	33.6	61.5	33.6
C-11	132.4		
C-12		78.2	
C-13	128.7	27.3	
C-15	130.9		
Trt	138.7, 129.4, 128.1, 126.9, 85.9		144.0, 129.4 128.1, 127.0 79.2
Morfolina	66.9, 50.9	66.9. 50.9	66.9, 51.0
<i>N</i> -arilo	155.5 (d, 244.2) 136.2 (d, 8.8) 133.1 (d, 9.6) 118.7 (d, 4.3) 113.9 (d, 2.0) 107.5 (d, 27.5)	156.5 (d, 225.2) 137.0 (d, 7.3) 133.5 (d, 7.1) 118.8 (d, 4.5) 114.1 (d, 4.0) 107.6 (d, 20.0)	160.0 (d, 233.2) 136.0 (d, 13.0) 133.6 (d, 12.1) 118.3 (d, 6.1) 113.0 (d, 3.1) 107.7 (d, 29.3)
Fmoc	143.6, 141.2, 127.7, 127.0, 125.0, 119.9, 67.4, 54.3	143.9, 141.2, 127.6, 127.0, 125.0, 119.9 68.1, 56.1	143.5, 141.3, 127.8, 127.1, 124.9, 120.0 68.1, 54.8

Ahora se describe la caracterización de los compuestos obtenidos por el acoplamiento de la oxazolidinona con configuración *sin* derivada del aminoácido L-alanina con los aminoácidos Fmoc protegidos diversos antes mencionados.

El compuesto procedente del acoplamiento con el aminoácido Fmoc protegido derivado de L-fenilalanina se obtuvo con un rendimiento del 40%. En el espectro de RMN ^1H para **34a** se observan las señales aromáticas del grupo Fmoc, en 7.70 ppm se encuentra un doblete con una $J = 7.5$ Hz que integra para dos hidrógenos, en 7.41 ppm está un triplete con $J = 7.5$ Hz que integra para dos hidrógenos, en 7.38 ppm se encuentra un multiplete que integra para tres hidrógenos, dos correspondiente a hidrógenos del grupo Fmoc y el hidrógeno del grupo *N*-arilo en posición *orto* al flúor, en 7.22 ppm un multiplete que integra para los dos hidrógenos restantes del grupo Fmoc. En 7.10 ppm se encuentra un multiplete que integra para los cinco hidrógenos del grupo bencílico 12, 13, 14 y el hidrógeno del grupo *N*-arilo en posición *para* al flúor. Por último, en 6.89 ppm un multiplete que integra para el hidrógeno *meta* al flúor el fragmento *N*-arilo. En la zona alifática a 5.63 ppm se encuentra un doblete con $J = 7.5$ Hz correspondiente a H-7. En 4.57 ppm está un triplete que integra el metino del Fmoc, en 4.50 ppm un multiplete que integra para el metino 5 unido a oxígeno, en 4.37 ppm un multiplete que integra para el C-6 unido al metilo, en 4.25 y 4.15 ppm aparecen dos multipletes que integran para el metileno del Fmoc, en 4.06 ppm un multiplete que integra para el metino 9 del aminoácido de fenilalanina. En 3.79 ppm aparece un multiplete que integra para los metilenos unidos a oxígeno de la morfolina y un hidrógeno del metileno 4 diasterotópico, en 3.56 ppm se observa un multiplete para el hidrógeno restante del metileno 4 de oxazolidinona, en 2.92 ppm se encuentra un multiplete que integra para los metilenos de la morfolina unidos a nitrógeno y el metileno bencílico 10 del aminoácido fenilalanina y por último, en 1.26 ppm se encuentra un doblete con una $J = 6.9$ Hz que integra para el metilo $\text{CH}_3\text{-C6}$ (Figura 54).

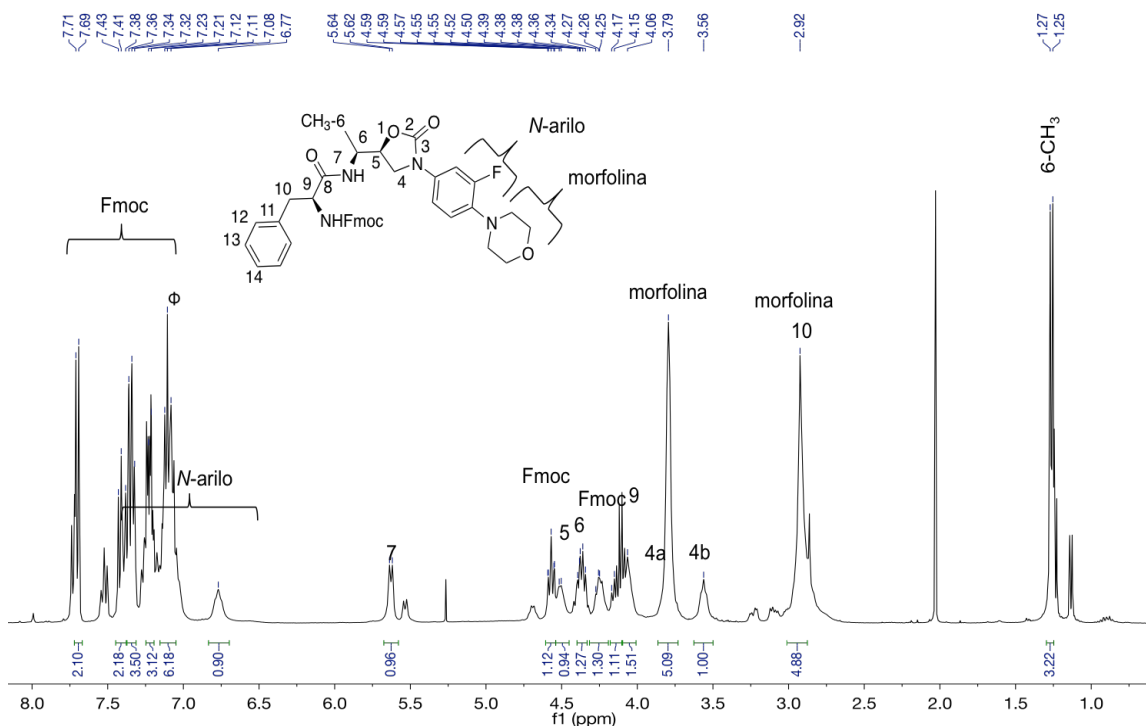


Figura 54. Espectro de RMN ^1H de **34a** en CDCl_3 .

El espectro de RMN ^{13}C **34a** observa en 172.3 ppm la señal del carbonilo 8 de amida, en 154.6 ppm la del carbonilo del carbamato, en 155.9 ppm la del carbonilo 2 de la oxazolidinona, la región aromática mostró en 143.7 y 141.2 ppm las señales de los carbonos cuaternarios del grupo Fmoc. En 127.6, 127.0, 125.0 y 120.0 ppm las señales restantes del grupo Fmoc, el grupo bencilico se observó 136.1 ppm el carbono cuaternario 11, en 129.0, 128.7 y 127.1 ppm el sistema $\text{A}_2\text{B}_2\text{C}$ 12, 13, 14. Para el fragmento *N*-arilo se observaron las señales dobles características en 155.5 ppm con $J_{\text{C-F}} = 244.1$ Hz, en 136.2 ppm con $J_{\text{C-F}} = 8.9$ Hz, en 132.9 ppm con $J_{\text{C-F}} = 9.2$ Hz, en 118.8 ppm con $J_{\text{C-F}} = 3.7$ Hz, en 114.0 ppm $J_{\text{C-F}} = 3.2$ Hz y en 107.5 ppm con $J_{\text{C-F}} = 26.3$ Hz. En la región alifática se observa en 75.2 ppm la señal del metino 5 de la oxazolidinona, en 67.2 ppm la del metileno del grupo Fmoc, en 66.9 los metilenos unidos a oxígeno de la morfolina, en 56.2 ppm la del metino de Fmoc, en 50.9 ppm los metilenos unido a nitrógeno de la morfolina, en 47.4 ppm la de el metileno 4 de la oxazolidinona, en 47.1 el metino 9 derivado de fenilalanina, en 46.3 ppm la del metino 6

derivado de alanina, en 38.0 ppm la del metileno 10 bencílico de fenilalanina y por último en 17.2 ppm la del metilo derivado de alanina CH₃-C6 (Figura 55).

Se añaden los datos espectroscópicos obtenidos de la caracterización de RMN ¹H y ¹³C obtenidos para los compuestos (34b-h) (Tabla 22-25) (Figura 56 y 57).

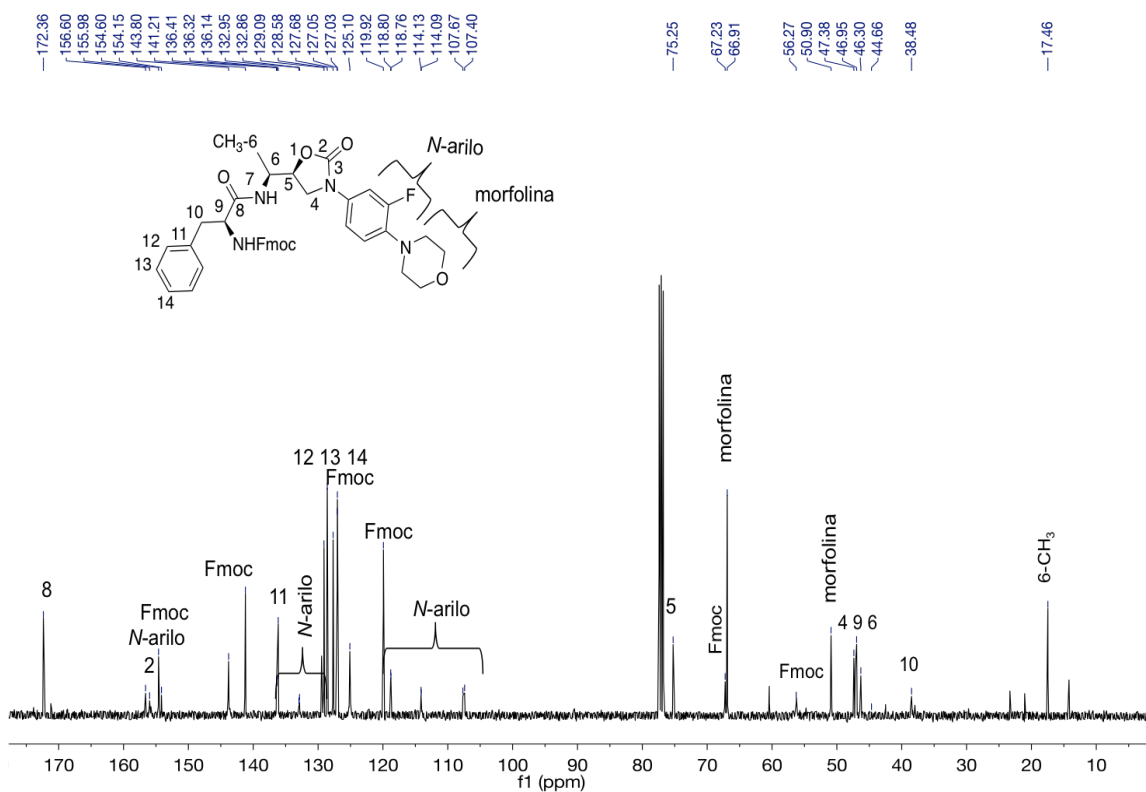


Figura 55. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 34a en CDCl₃.

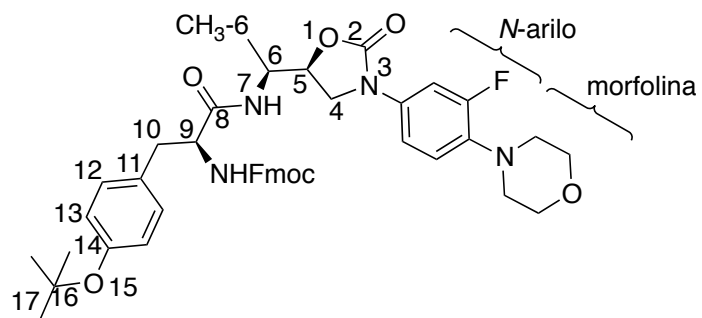
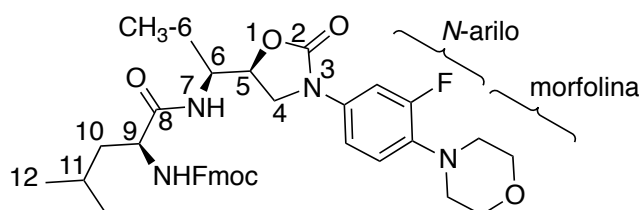
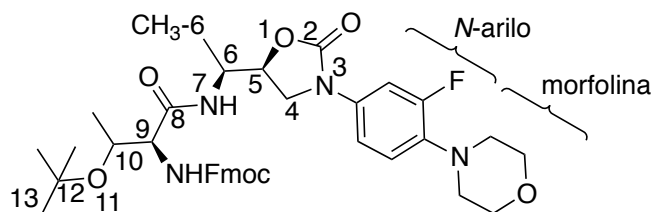
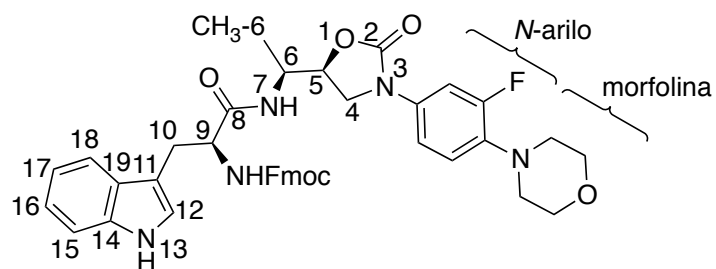
**34b****34c****34d****34e**

Figura 56. Compuestos análogos de linezólida derivados del acoplamiento de tipo peptídico con Tyr (**34b**), Leu (**34c**), Thr (**34d**) y Thp (**34e**).

Tabla 22. Datos de RMN ^1H (δ ($J = \text{Hz}$)) y rendimientos químicos de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración *sin* (**34b-e**).

No.	34b (40 %)	24c (38 %)	34d (41 %)	34e (36 %)
H-4	3.81 (m)	3.93 (t, 8.9)	3.94 (m)	3.59 (t, 9.0)
	3.69 (m)	3.78 (m)	3.78 (t, 8.1)	3.41 (dd, 9.0,6.4)
H-5	4.63 (m)	4.63(m)	4.69 (m)	3.95 (m)
H-6	4.09 (m)	4.20 (m)	4.34 (m)	4.05 (m)
CH ₃ -C6	1.27 (d, 6.3)	1.31 (d, 5.8)	1.37 (d, 7.0)	1.00 (m)
H-7	6.20 (d, 8.6)	6.44 (sa)	5.85 (sa)	5.92 (sa)
H-9	4.18 (m)	4.20 (m)	4.21 (m)	4.19 (t, 6.9)
H-10	2.93 (m)	1.73 (m)	4.13 (m)	3.29 (m)
		1.59 (m)		3.15 (m)
H-11		1.73 (m)		
H-12	6.87 (m)	0.69 (d, 6.2)		7.17 (m)
		0.66 (d, 6.3)		
H-13	7.03 (m)			
H-14			1.26 (sa)	
H-15				7.32 (m)
H-16				7.11 (m)
H-17	1.38 (sa)			6.99 (m)
H-18				7.32 (m)
CH ₃ -C10			1.33 (sa)	
Morfolina	3.81 (m)	3.82 (m)	3.85 (m)	3.86 (m)
	2.93 (m)	2.96 (m)	3.03 (m)	3.04 (m)
N-arilo	7.43 (d, 7.4)	7.49 (m)	7.48 (m)	7.55 (m)
	7.03 (m)	7.01 (d, m)	7.06 (m)	6.99 (m)
	6.87 (m)	6.81 (t, 9.0)	6.88 (m)	6.88 (t, 9.1)
Fmoc	7.72 (d, 7.5)	7.70 (d, m)	7.75 (m)	7.75 (t, 7.7)
	7.44 (d, 7.4)	7.49 (m)	7.60 (m)	7.55 (m)
	7.37 (m)	7.34 (m)	7.39 (m)	7.38 (m)
	7.27 (m)	7.22 (m)	7.30 (m)	7.28 (m)
	4.38 (m)	4.33 (m)	4.69 (m)	4.43 (m)
	4.38 (m)	4.33 (m)	4.36 (m)	4.43 (m)

Tabla 23. Datos de RMN ^{13}C (δ ($J = \text{Hz}$)) de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración *sin* (**34b-e**).

No.	34b	34c	34d	34e
C-2	155.9	156.1	156.0	154.3
C-4	47.3	47.5	47.4	47.4
C-5	74.9	75.9	74.9	74.1
C-6	46.9	47.0	46.1	47.5
CH ₃ -C6	17.4	14.4	18.1	14.1
C-8	176.8	171.0	169.7	171.2
C-9	47.2	46.8	47.1	47.1
C-10	37.2	42.0	66.2	28.5
C-11	130.4	24.6		109.7
C-12	124.3	21.4	79.6	122.4
		22.4		
C-13	129.5		28.2	
C-14	154.5			136.2
C-15				111.3
C-16	78.5			119.7
C-17	28.8			123.4
C-18				107.6
C-19				127.2
CH ₃ -C10			27.9	
Morfolina	66.9, 50.8	66.9, 50.9	66.9, 51.0	66.9, 51.0
<i>N</i> -arilo	155.5 (d, 259.1)	155.5 (d, 245.2)	155.5 (d, 252.0)	155.4 (d, 260.9)
	136.7 (d, 8.2)	136.4 (d, 8.9)	136.1 (d, 13.0)	137.0 (d, 10.3)
	131.7 (d, 9.3)	133.0 (d, 9.6)	133.1 (d, 7.0)	131.0 (13.9)
	118.7 (d, 4.4)	118.8	118.8 (d, 3.2)	119.9 (d, 7.4)
	114.0 (d, 3.7)	114.0	113.8 (d, 2.6)	114.0 (d, 3.2)
	107.8 (d, 30.7)	107.1 (d, 26.4)	107.5 (d, 25.1)	107.5 (d, 21.8)
Fmoc	143.5, 141.2,	143.8, 141.2,	143.6, 141.2,	143.7, 141.3,
	127.6, 127.0,	127.6, 127.0,	127.7, 127.0,	127.8, 127.1,
	125.0, 119.9	125.0, 119.9,	125.0, 120.0	125.0, 120.0
	67.3, 54.9	67.0, 53.6	67.0, 55.5	67.1, 55.9

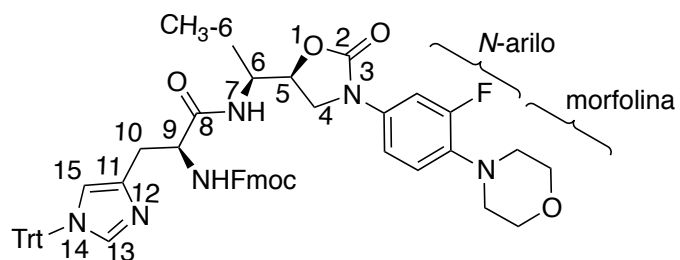
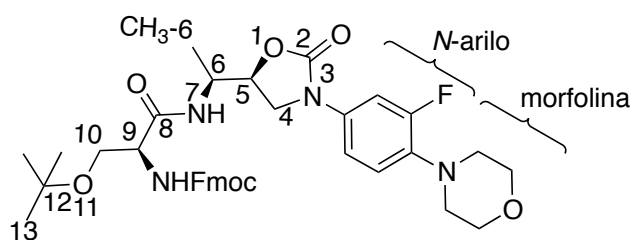
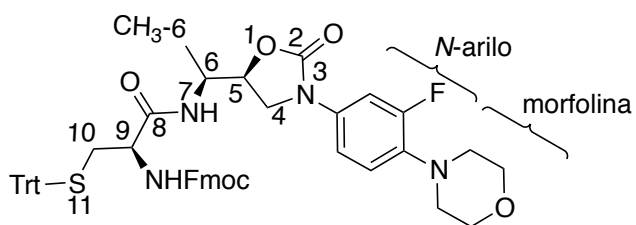
**34f****34g****34h**

Figura 57. Compuestos análogos de linezólida derivados del acoplamiento de tipo peptídico con His (**34f**), Ser (**34g**) y Cys (**34h**).

Tabla 24. Datos de RMN ^1H (δ ($J = \text{Hz}$)) y rendimientos químicos de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración *sin* (**34f-h**).

No.	34f (37%)	34g (29%)	34h (33%)
H-4	3.77 (m)	3.82 (m)	3.84 (t, m) 3.76 (m)
H-5	4.42 (m)	4.63 (m)	4.63 (m)
H-6	4.10 (m)	4.42 (m)	4.38 (m)
CH ₃ -C6	1.13 (d, 6.5)	1.36 (d, 6.9)	1.20 (s)
H-7		6.79 (s)	
H-9	4.10 (m)	4.16 (m)	4.11 (m)
H-10	2.95 (m)	3.74 (dd, 9.2,9.1) 3.37 (dd, 8.9,8.4)	3.02 (m) 2.80 (m)
H-11			
H-12	7.50 (m)		
H-13		1.15 (s)	
H-14	7.67 (m)		
Trt	7.22 (m) 7.00(m)		7.28 (m) 7.05 (m)
Morfolina	3.77 (m) 2.95 (m)	3.82 (m) 2.97 (m)	3.81 (m) 2.93 (m)
N-arilo	7.30 (m) 7.00 (m) 6.77 (dd, 9.5, 8.9)	7.38 (m) 7.00 (m) 6.84 (m)	7.36 (m) 7.05 (m) 6.86 (m)
Fmoc	7.67 (m) 7.50 (m) 7.30 (m) 4.37 (m) 4.23 (m)	7.74 (m) 7.52 (m) 7.38 (m) 7.30 (m) 4.23 (m) 4.16 (m)	7.71 (m) 7.50 (m) 7.36 (m) 7.28 (m) 4.38 (m) 4.11 (m)

Tabla 25. Datos de RMN ^{13}C (δ ($J = \text{Hz}$)) de dipéptidos a partir de 1,3-oxazolidin-2-ona con configuración *anti* (**35f-h**).

No.	35f	35g	35h
C-2	154.8	154.6	154.3
C-4	48.0	47.4	47.3
C-5	73.6	75.4	74.8
C-6	47.7	46.3	46.5
CH ₃ -C6	17.8	17.9	17.0
C-8	178.3	171.0	167.0
C-9	47.8	47.0	47.0
C-10	29.6	61.5	30.4
C-11	132.6		
C-12		78.2	
C-13	128.2	27.3	
C-15	130.9		
Trt	134.0, 129.6, 128.7, 127.1, 79.4		132.4, 129.5 128.2, 128.1, 78.3
Morfolina	66.9, 51.0	66.9, 50.9	66.9, 50.9
<i>N</i> -arilo	155.5 (d, 252.2) 136.1 134.0 119.0 (d, 1.6) 114.1 107.7 (d, 27.4)	156.5 (d, 225.1) 136.2 (d, 9) 133.5 (d, 9.8) 118.8 (d, 4.5) 113.9 (d, 3.5) 107.6 (d, 18.9)	155.8 (d, 233.2) 135.7 (d, 10.0) 133.2 (d, 11.1) 118.3 (d, 4.0) 114.0 107.7 (d, 27.8)
Fmoc	143.5, 141.0, 127.8, 127.0, 124.9, 120.1, 67.7, 54.9	143.9, 141.2, 127.6, 127.0, 125.0, 119.9 68.1, 56.1	143.5, 141.1, 127.6, 127.0, 125.2, 119.8 68.3, 55.7

4.15. Estudio de la actividad antibacteriana de dipéptido-oxazolidinonas 34a-h y 35a-h mediante microdilución en caldo.

La evaluación de la actividad antibacteriana de 16 compuestos análogos a linezólida de tipo dipéptido con aminoácidos diversos se realizó frente a cepas Gram positivas y negativas por el método de microdilución en caldo a una concentración única de 25 $\mu\text{g/mL}$. Esta es la concentración máxima a la que se solubilizan estos compuestos en el medio de cultivo. Posteriormente, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los compuestos que mostraron actividad. La evaluación se realizó en el intervalo de concentración de 25.0-0.38 $\mu\text{g/mL}$. Los compuestos **34a**, **34f**, **35a**, **35d**, **35f**, **35h** presentan actividad contra bacterias Gram positivas menores e igual a 25 $\mu\text{g/mL}$ e incluso en algunos casos actividad mejor (3.12 $\mu\text{g/mL}$) que linezólida. La actividad específica frente a *Streptococcus* grupo A encontrada se debe a que raramente se reporta resistencia en esta bacteria ante linezólida, y por lo tanto, la sensibilidad alta a este antibiótico y la actividad en sus análogos es de esperarse (Figura 58) (Tabla 26).

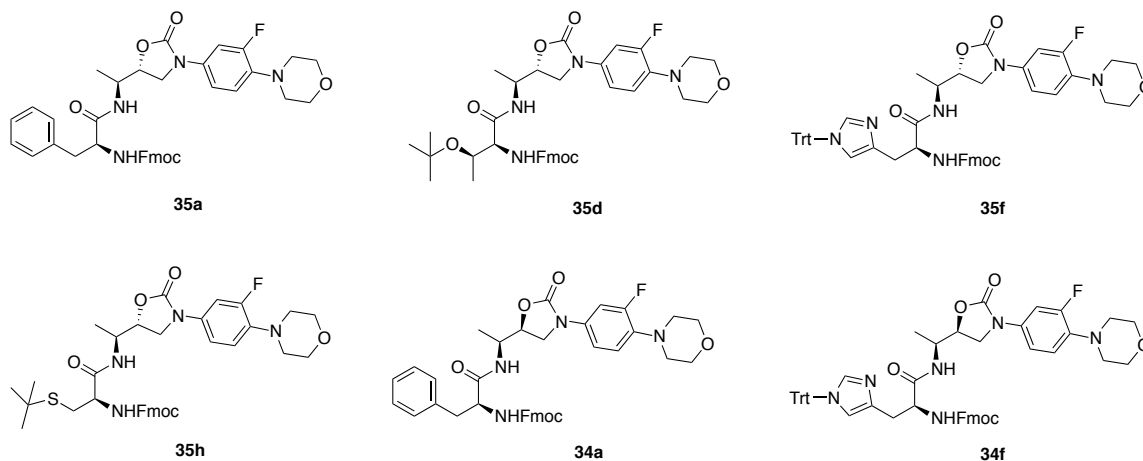


Figura 58. Análogos de linezólida tipo dipéptido que presentaron actividad antibacteriana.

Tabla 26. CMI ($\mu\text{g/mL}$) de análogos a linezólida tipo dipéptido frente a *Streptococcus* grupo A.

Bacteria	35a	35d	34f	35h	34a	35f	LZD
<i>Streptococcus</i> grupo A	25	6.12	3.12	6.12	25	6.12	0.5

LZD: linezólida.

El compuesto **34f** fue el compuesto más activo con la cepa *Streptococcus* grupo A y de manera grata presentó actividad antibacteriana a concentraciones bajas frente a cuatro cepas más. Con la cepa control *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se obtuvieron valores de CMI consistentes con la literatura (CLSI).⁶⁷ Además, este compuesto presentó actividad frente tres aislados de muestras clínicas resistentes a meticilina: MRSA-3, MRSA-4 y MRSA-5 con valores CMI de 3.12 y 6.25 µg/mL (Figura 55). Estos valores fueron menores que los obtenidos con el antibiótico control linezólida (4.0 y 8 µg/mL) (Tabla 27). Debido a que este compuesto no presentó actividad frente a la cepa control MRSA 43300, se atribuye que el mecanismo de acción es por una ruta alterna al antibiótico meticilina (betalactámico), y posiblemente análoga al de linezólida.

Tabla 27. CMI (µg/mL) de **34f** frente a cepas bacterianas diferentes.

Compuesto	ATCC 25923	MRSA-3	MRSA-4	MRSA-5	1
34f	3.12	3.12	3.12	6.25	3.12
LZD	4	4	8	8	0.5

LZD: linezólida. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Aislados clínicos de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA-3, MRSA-4, MRSA-5). *Streptococcus* Gpo A (1).

Los compuestos evaluados presentaron actividad solo frente a bacterias Gram positivas con un efecto bacteriostático, debido al crecimiento bacteriano observado posterior a 20 horas del sembrado de una muestra del pocillo donde se determinó la CMI y a valores superiores. Estos resultados concuerdan y son coherentes a las propiedades del antibiótico linezólida. La evaluación de los pares diastereoméricos mostró que la configuración *anti* favorece la actividad antimicrobiana debido a que la mayoría de los compuestos evaluados presentan esta configuración. Sin embargo, el compuesto con actividad antibacteriana mayor presentó la configuración *sin*. Solo los compuestos derivados de fenilalanina e histidina presentaron actividad en las dos configuraciones, el primer par tuvo la misma CMI, pero en el acoplamiento con histidina el más activo fue de configuración *sin*. Esto demuestra que el acomodo espacial de la molécula es muy importante al momento de interactuar en el sitio de acción.

4.16. Estudio antibacteriano de compuestos dipéptido-oxazolidinona 34a-h y 35a-h mediante Kirby-Bauer / Difusión en agar.

El estudio de la actividad antibacteriana de los compuestos análogos a linezólida frente a diversas cepas bacterianas Gram positivas y Gram negativas, también fue realizado por el método Kirby-Bauer. Los resultados obtenidos fueron similares a lo encontrado por el método de microdilución en caldo. Es decir, los análogos que presentaron actividad por el método de microdilución, presentaron actividad por éste método y las mismas bacterias, con la diferencia de que los compuestos no presentaron una difusión buena debido a la solubilidad baja en agua. El compuesto **34f** mostró la actividad mayor, por lo que el ensayo fue simplemente un estudio confirmatorio de la actividad presentada por el método anterior. A continuación se muestra en la Tabla 28 los diámetros de los halos de inhibición determinados en el estudio.

Tabla 28. Diámetros de los halos de inhibición de bacterias evaluadas frente a **34f**.

Bacteria	D (50 µg)
Staphylococcus aureus 25923	9
MRSA 43300	7
MRSA-3	8
MRSA-4	9
MRSA-5	8
Streptococcus grupo A 01	8
Staphylococcus aureus 05	7
Escherichia coli 25922	0

Debido a la característica intrínseca de *Streptococcus* Gpo. A (1) en su crecimiento masivo, la bacteria presentó un apreciación compleja de los halos de inhibición con los compuestos probados (**34a**, **34f**, **35a**, **35d**, **35f**, **35h**). A simple vista se logró determinar la presencia de los halos pero al momento de fotografiar la placa no se logró una imagen de calidad buena, el diámetro observado fue de 7 mm.

4.17. Estudio de acoplamiento molecular automatizado de compuestos dipéptido-oxazolidinona **34a-h** y **35a-h** (*docking*).

El estudio de acoplamiento molecular automatizado (*docking*) en el fragmento fosforil transferasa (SFT) del ARN ribosomal donde interacciona linezólida se realizó con los 16 compuestos evaluados. Los valores de acoplamiento más bajos (valores más negativos) indican acoplamientos más favorables, siendo **34f** y **35a** los compuestos con los valores mejores (-10.6712 y -10.4224 Kcal/mol respectivamente), inclusive mejores a linezólida (-7.21 Kcal/mol) (Tabla 29).

Tabla 29. Valores de acoplamiento sobresalientes asignados por MOE de los análogos de linezólida con la estructura cristalina de ARNr de *E. coli*.

Compuesto	Valor
34f	-10.6712
35a	-10.4224
35h	-9.8477
34a	-9.4143
LZD	-7.21

Estos resultados concuerdan con los resultados obtenidos en el ensayo antibacteriano y confirma que un número mayor de interacciones en el sitio de acción mejora la actividad antibacteriana. El modelado de **35a** muestra dos interacciones, la primera es un enlace de hidrógeno del NH de la amida con **G2505** que es el mismo presentado por linezólida. También en el modelo se indica una interacción π - σ entre el anillo aromático del fluoreno con el hidrógeno en C-2 de la estructura purina **A2062** (Figura 59).

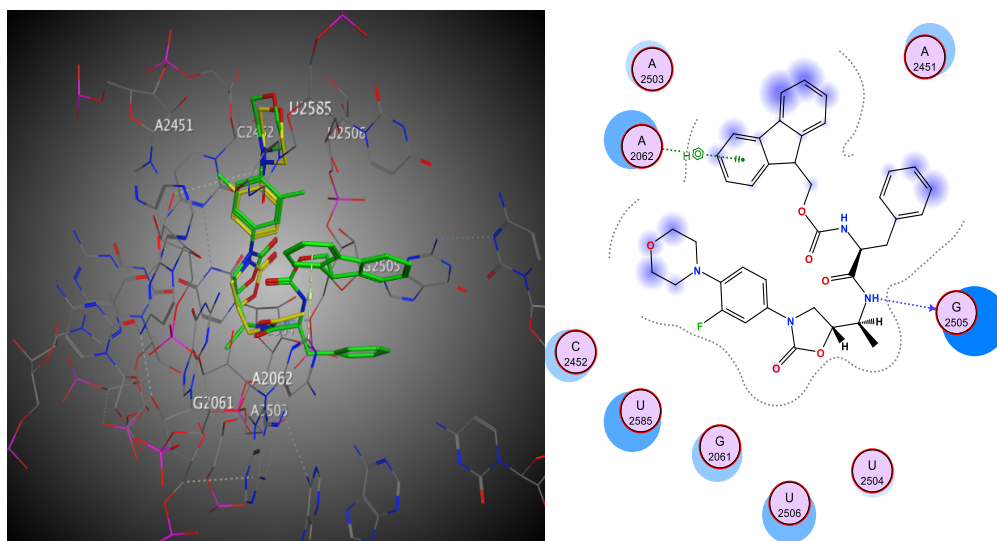


Figura 59. Modelado de **35a** (verde) y linezólida (amarilla) y el mapa de interacciones de **35a**.

El modelado de **34f** (color amarillo) mostró interacciones con los nucleótidos G2061 y G2505. Al compararse con linezólida (color café) en el sitio activo se observa que ocupa la misma cavidad y presenta un acomodo similar. Sin embargo, no está presente la interacción característica de enlace de hidrógeno entre el NH y G2505, en su lugar, se presenta un enlace de hidrógeno al metileno del grupo fluoreno y una interacción π - π con el imidazol. Además, se observa una interacción de enlace de hidrógeno con el carbonilo de la oxazolidinona y G2061. En el mapa de afinidad es posible observar las interacciones antes mencionadas (Figura 60). Por su parte, el modelado de su diastereómero el compuesto **35f**, ocupa de igual manera el SFT de linezólida (Figura 61), sin embargo, su configuración distinta en el C5 del anillo oxazolidinona conduce a una disposición espacial diferente, así como la disminución del número y tipo de interacciones supramoleculares observadas, reflejado en una actividad antibacteriana menor a **34f**. Esto confirma que un número mayor de interacciones en el sitio de acción mejora la actividad antibacteriana.

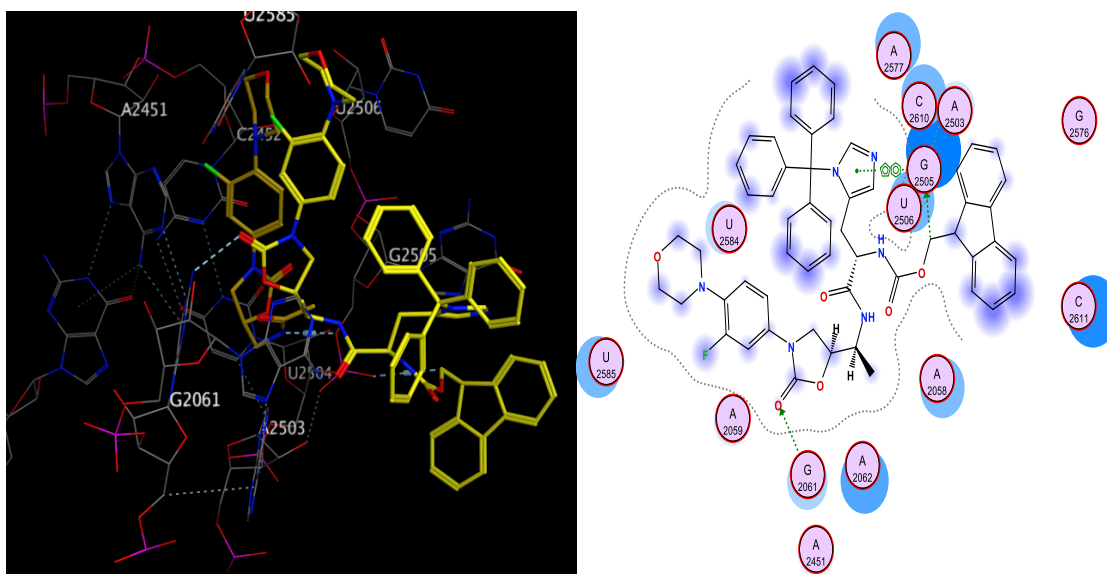


Figura 60. Modelado de **34f** (amarillo) y linezólida (café) en el SFT donde se puede observar la superposición y el mapa de interacciones de la estructura **34f**.

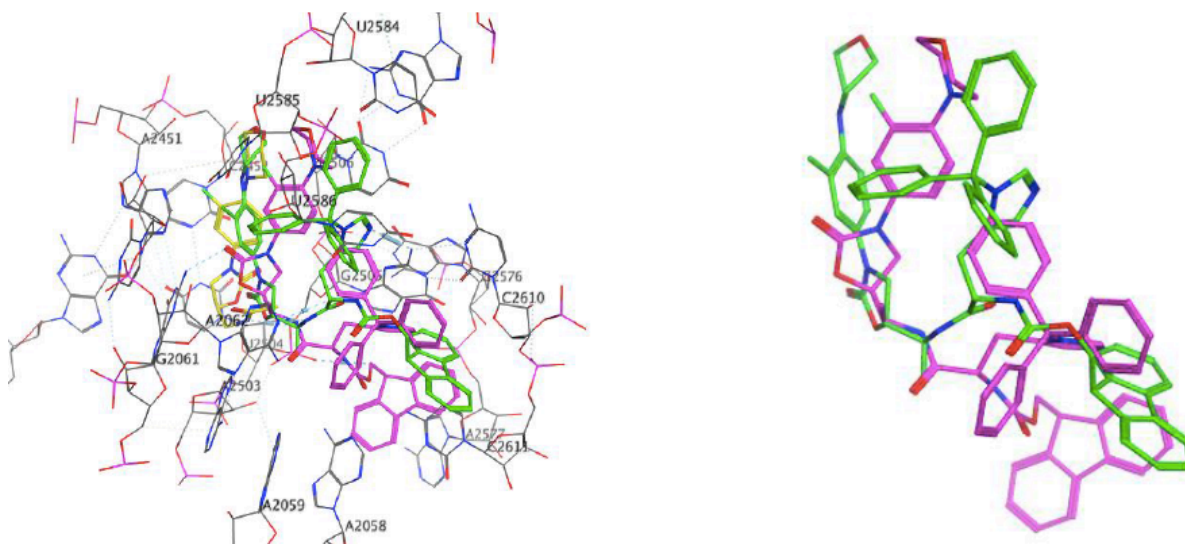


Figure 61. Modelado de linezólida (amarillo), **34f** (verde) y **35f** (rosa) en el SFT.

Además, mediante modelado molecular se puede predecir o prever una actividad alta debido a la desprotección de los grupos tritilo y Fmoc del compuesto **34f** (**34f-NH₂**) con un valor de acoplamiento determinado de -7,93 kcal/mol, por lo que su obtención de manera sintética es una tarea importante a realizar a futuro. El modelado del compuesto **34f-NH₂** muestra una postura similar a linezólida, de manera análoga a **34f**, no presenta la interacción típica de enlace de hidrógeno entre el grupo amida NH y el fosfodiéster del nucleótido G2505, la interacción con el nucleótido G2061 y el carbonilo de oxazolidinona el cual actúa como aceptor de hidrógeno permanecen presentes. Es de admirar que la interacción π - π del anillo de imidazol con el nucleótido G2505 ya no está presente, en su lugar, se establecen dos interacciones nuevas de enlace de hidrógeno del carbonilo de amida y la amina libre de histidina con el nucleótido G2505 (Figura 62).

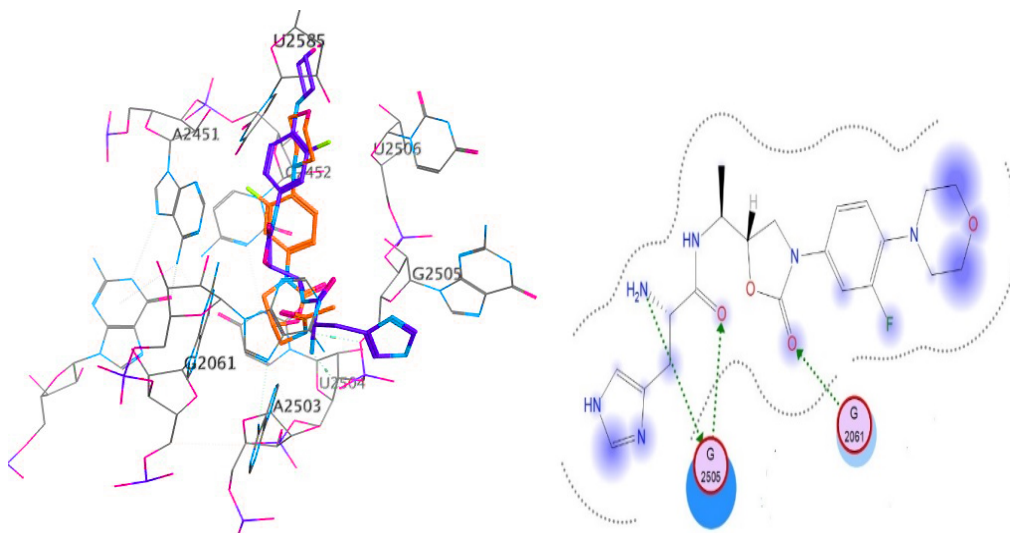


Figura 62. Modelado de **34f-NH₂** (morado) y linezólida (anaranjado) y el mapa de interacciones de **34f-NH₂**.

4.18. Actividad antiparasitaria *in vitro* de compuestos tipo dipéptido-oxazolidinona **34a-h** y **35a-h** contra *Giardia duodenalis*.

El estudio de la actividad antiparasitaria *in vitro* de compuestos tipo dipéptido-oxazolidinonas contra *Giardia duodenalis* mediante viabilidad celular por el reactivo MTT, determinó valores diversos de inhibición de crecimiento con los 16 compuestos evaluados a la concentración más alta de 100 µg/mL. Cuatro compuestos presentaron actividad con porcentajes de inhibición moderados (**34d** y **36f**) y con porcentajes altos (**34f** y **34h**) sobre su efecto en la multiplicación, adhesión y morfología del parásito (Tabla 30). La configuración diastereomérica *S,S* se encontró con presencia mayor en los compuestos con actividad (**34d**, **34f**, **34h**). Los compuestos **34f** y **36f** derivados del acoplamiento con el aminoácido histidina presentaron inhibición de crecimiento siendo el compuesto *sin* más activo que el *anti* lo que muestra que la distribución espacial de los sustituyentes es un factor determinante en la actividad.

Tabla 30. Actividad antiparasitaria *in vitro* de **34d**, **34f**, **34h** y **36f** contra *Giardia duodenalis*.

Compuesto	Inhibición (%)
34d	41.8 ± 1.33
34f	91.0 ± 1.12
34h	82.8 ± 1.63
36f	41.4 ± 1.45

El ensayo se repitió con los compuestos que presetaron porcentaje de inhibición mayor (**34f** y **34h**) a diluciones diferentes (100-3.125 µg/mL) para determinar la concentración inhibitoria media (IC₅₀). Los valores de IC₅₀ encontrados en el estudio fueron de 26.98 µg/mL para **34f** y 43.48 µg/mL para **34h**. Además, **34f** y **34h** alteraron la morfología del parásito presenciando un aumento de tamaño descontrolado (Figura 63). La determinación IC₅₀ destacó **34f** como el compuesto con la actividad mayor contra *G. duodenalis*. Sin embargo, los resultados de IC₅₀ fueron mayores al obtenido con el fármaco

control metronidazol (2.139 $\mu\text{g/mL}$). De cualquier manera se logró demostrar la eficacia de **34f** en la eliminación del parásito (Tabla 31). Es importante mencionar que debido al enfoque antibacteriano de linezólida y sus análogos, en la revisión de la literatura, no se encontraron reportes que indiquen que linezólida o análogos presenten actividad antiparasitaria contra *G. duodenalis*. Sin embargo, si existen escasos trabajos donde evalúan la actividad contra otros parásitos encontrándose IC_{50} que en comparación con los fármacos control presentan valores muy elevados (896 $\mu\text{g/mL}$) o actividad nula.^{39,40}

Tabla 31. Actividad inhibitoria del crecimiento (IC_{50}) *in vitro* de **34h** y **34f** contra *Giardia duodenalis*.

Compuesto	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	R^2
34h	43.48	0.99
34f	26.98	0.97
Metronidazol	2.139	0.97

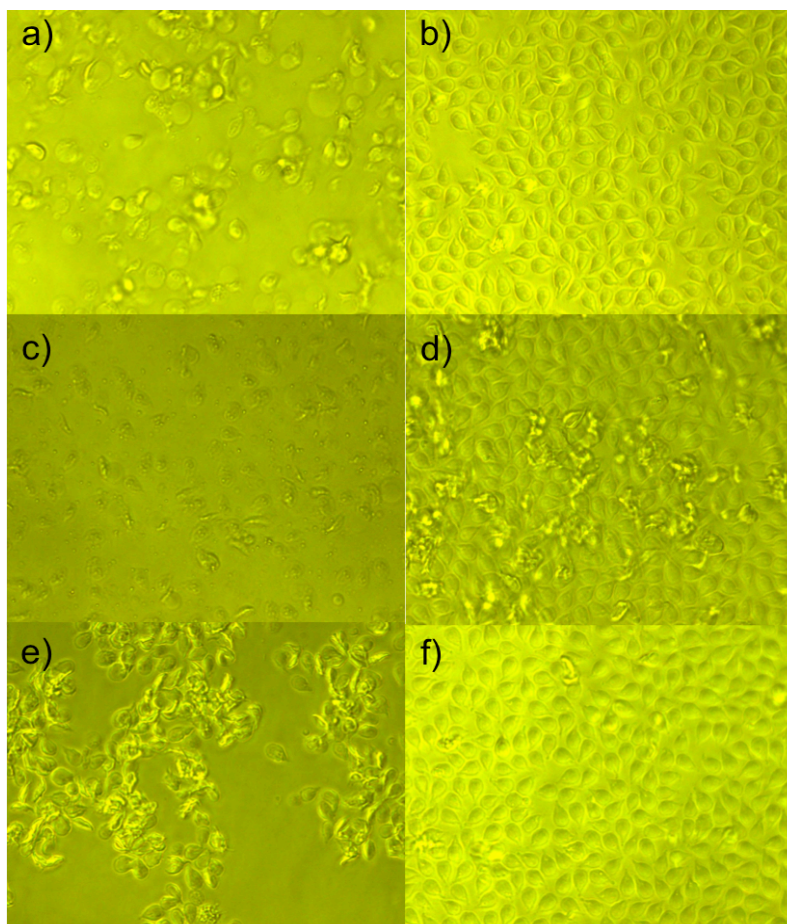


Figura 63. Actividad de **34f** y **34h** contra *Giardia duodenalis*: a) control positivo metronidazol 1.5 µg/mL, b) control de crecimiento, c) **34f** (50 µg/mL), d) **34f** (6.25 µg/mL), e) **34h** (100 µg/mL), f) 23h (6.25 µg/mL).

4.18. Evaluación de la actividad citotóxica de compuestos dipéptido-oxazolidinona **34a**, **34f**, **35a**, **35d**, **35f** y **35h**.

Con el fin de determinar si los análogos de linezólida activos en los estudios biológicos realizados (**34a**, **34f**, **35a**, **35d**, **35f** y **35h**) inducen un efecto citotóxico o inhibitor sobre la proliferación celular, se llevaron a cabo ensayos de viabilidad celular para evaluar su efecto después de 48 h de tratamiento empleando células ARPE-19 (Tabla 32). La mayoría de los análogos de tipo dipéptido-oxazolidinona, a la concentración mayor evaluada (100 µM), no mostraron una reducción significativa en la viabilidad o proliferación celular,

conservando porcentajes de proliferación superiores al 80% (Figura 64). Curiosamente, el análogo **34f** conserva la viabilidad hasta 25 μM , concentración siete veces mayor a la CMI (3.42 μM) determinada en el ensayo antibacteriano. En concentraciones mayores (100 y 50 μM), el compuesto presenta citotoxicidad, reduciendo el porcentaje de proliferación celular y afectando la morfología celular. En comparación, el control positivo citotóxico doxorubicina indujo un fuerte efecto citotóxico antiproliferativo sobre las células ARPE-19, reduciendo la proliferación celular en aproximadamente un 50% a una concentración de 0.125 μM (Figura 65 y 66). Los valores obtenidos en el ensayo muestran que la interacción de compuestos tipo dipéptido-oxazolidinona frente células ARPE-19 no presentan efectos citotóxicos al conservar la viabilidad metabólica y la integridad de las células.

Tabla 32. Porcentajes de proliferación del cultivo celular ARPE-19 con análogos de linezólida (**34a**, **34f**, **35a**, **35d**, **35f** y **35h**) a 50 μM .

34a	93.7 \pm 7.5
34f	71.9 \pm 4.3 ^c
35a	92.9 \pm 4.5
35d	84.3 \pm 4.6
35f	86.3 \pm 1.5
35h	88.8 \pm 2.9
LZD	85.2 \pm 4.7

^a Los datos se expresan como media de tres experimentos independientes realizados por triplicado. ^b Doxorubicina empleada como control positivo. ^c Resultado obtenido a 25 μM .

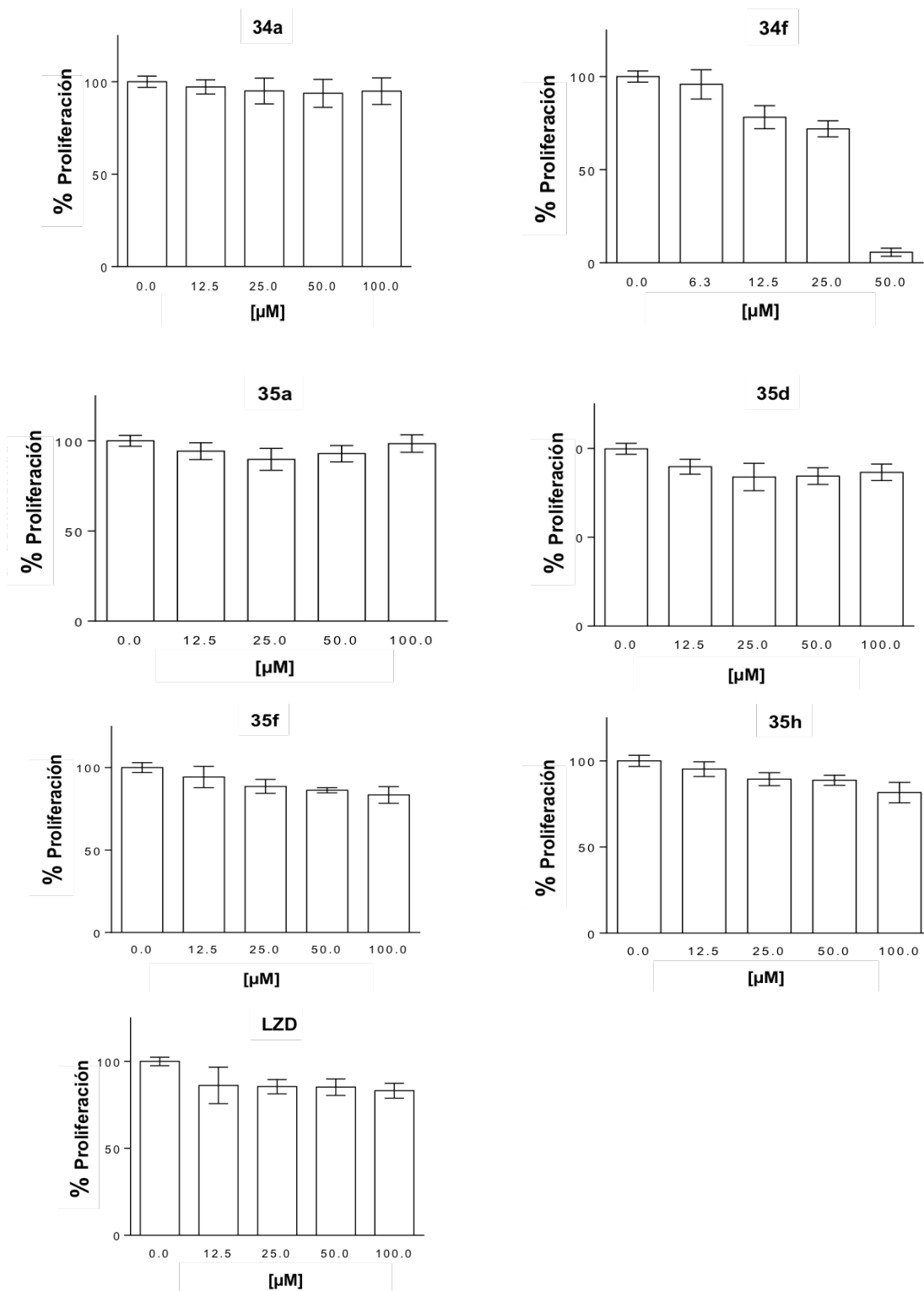


Figura 64. Porcentajes de proliferación celular del cultivo ARPE-19 con análogos de linezólida y linezólida.

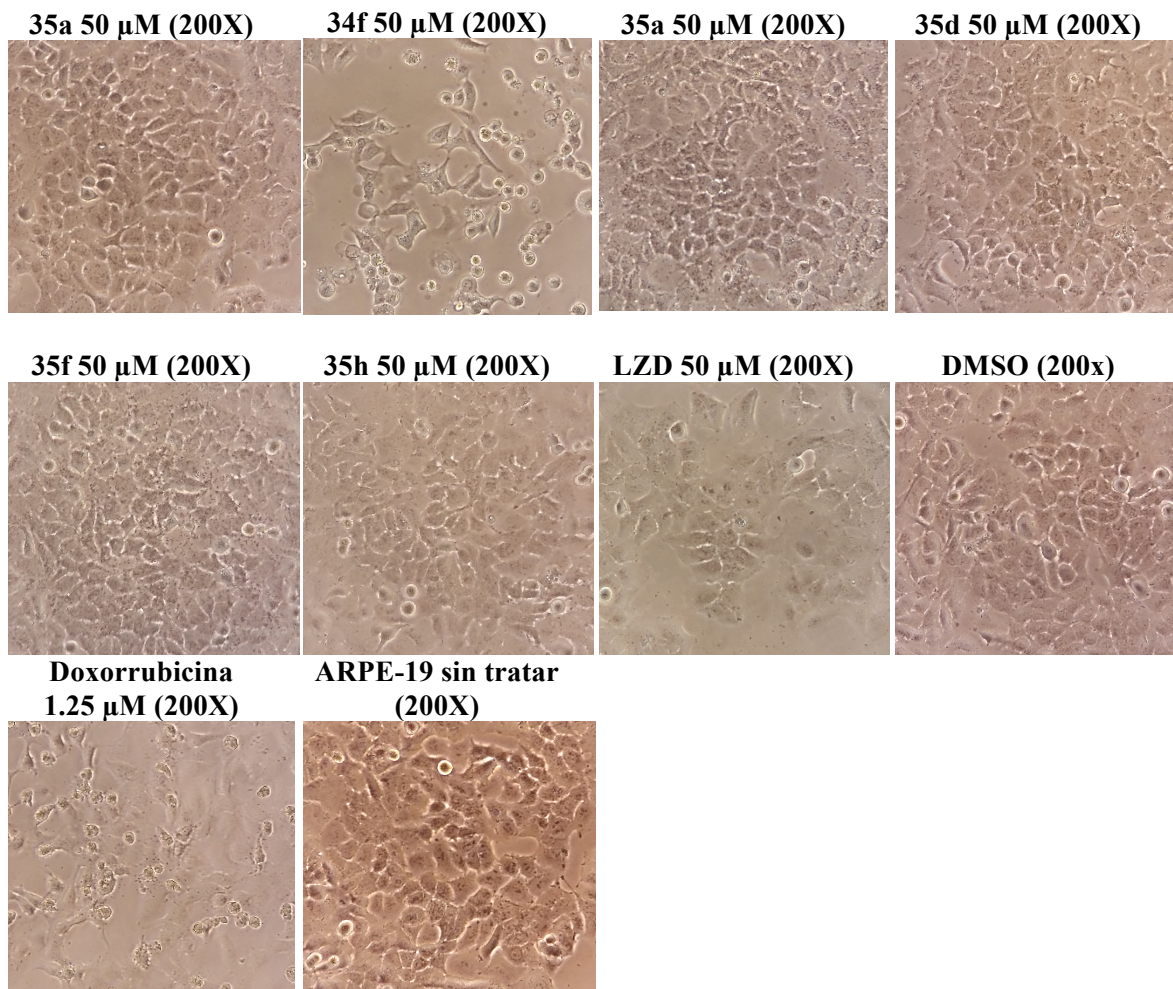


Figura 65. Células ARPE-19 posterior a 24 h de exposición con análogos de linezólida y linezólida como referencia. Doxorubicina y DMSO fueron empleados como controles.

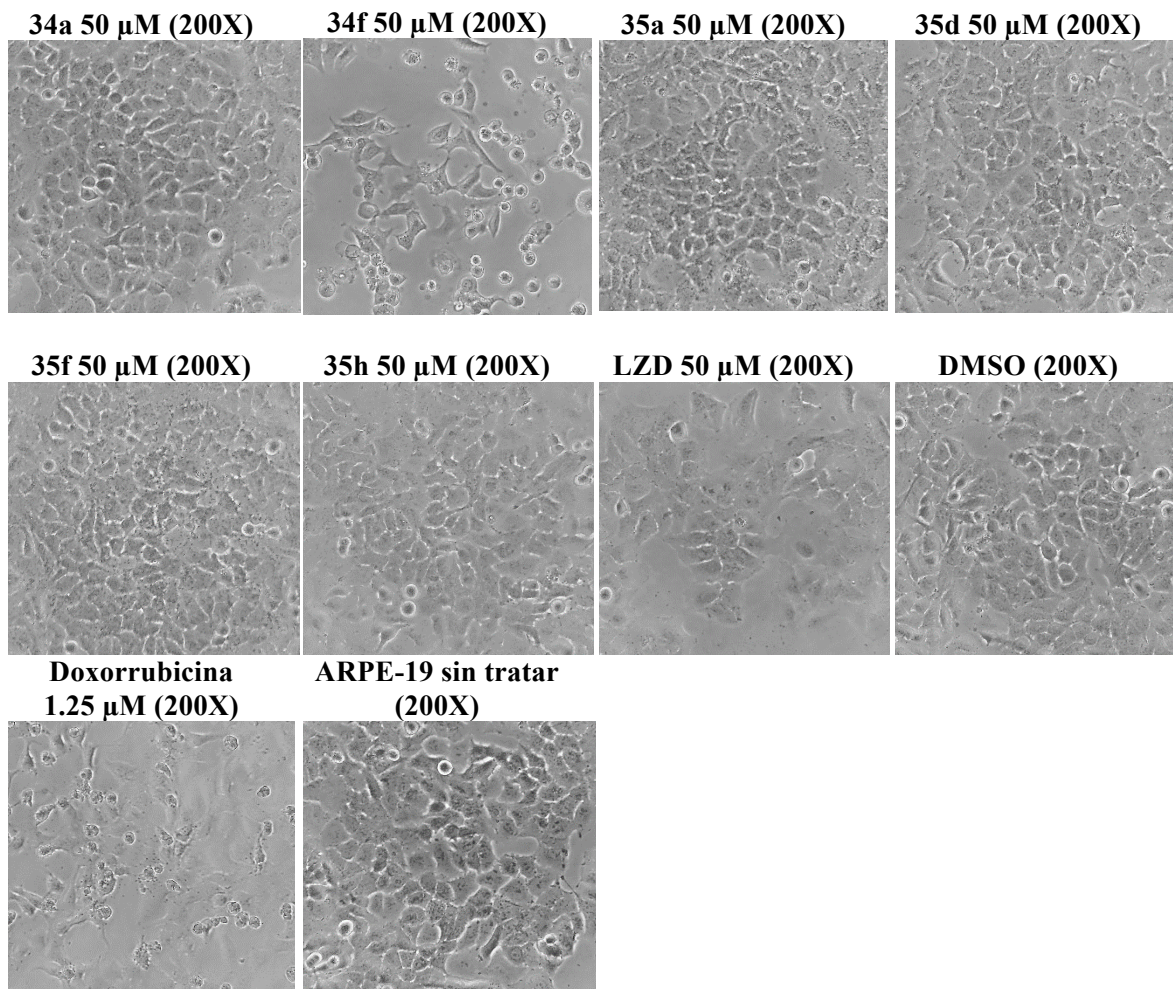
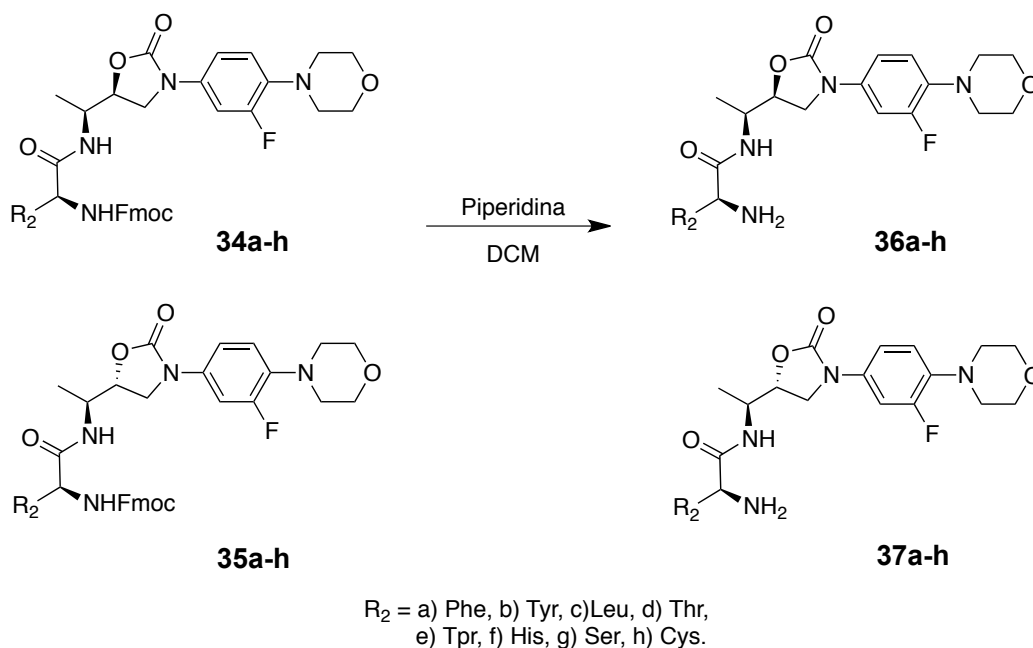


Figura 66. Células ARPE-19 posterior a 24 h de exposición con análogos de linezólida y linezólida como referencia. Doxorubicina y DMSO fueron empleados como controles.

4.20. Desprotección análogo de linezólida tipo dipéptido 36a.

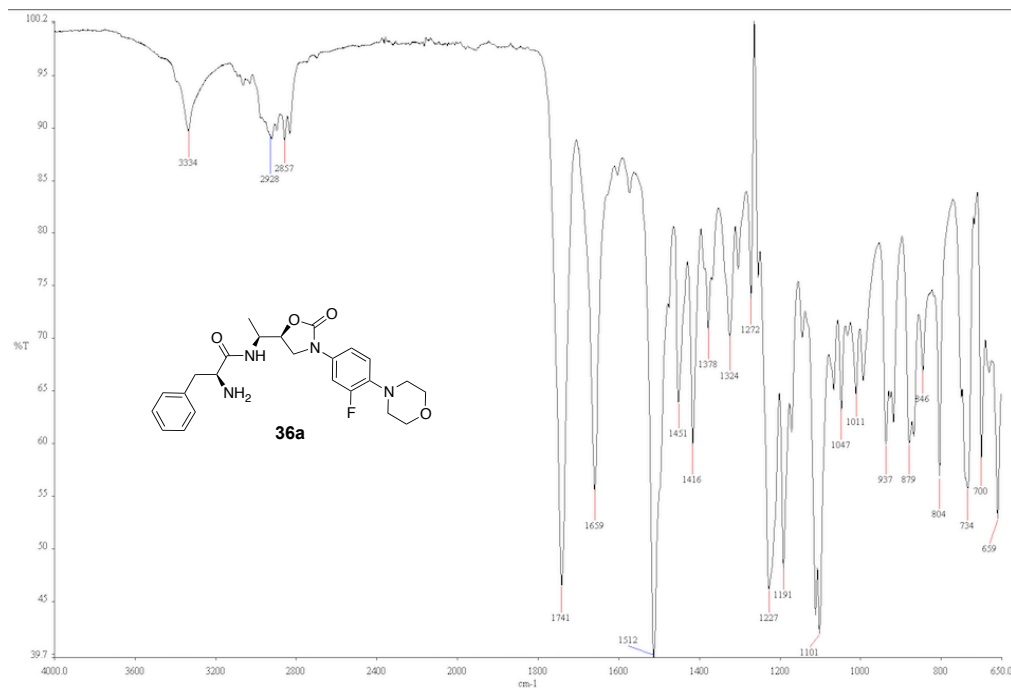
La remoción del grupo protector Fmoc presente en el aminoácido acoplado al análogo de linezólida (Phe, Tyr, Leu, Thr, Thp, His, Ser, Cys) se llevó a cabo con piperidina (1.5 eq) en DCM por 4 h a temperatura ambiente, el crudo de reacción se purifica mediante columna en una fase orgánica 9:1 acetato de etilo: metanol (Esquema 10).

Se espera que al eliminar los grupos protectores aumente la solubilidad de los compuestos en agua, además de generar un número mayor de grupos aceptores y donadores de enlace de hidrógeno que aumenten las interacciones supramoleculares en el sitio de acción, y con ello su actividad antibacteriana.



Esquema 10. Remoción del grupo protector Fmoc de análogos de linezólida tipo dipéptido.

A continuación se describe la caracterización del compuesto **36a**. El cambio más notable con el espectro de infrarrojo de **36a** respecto a su precursor es la ausencia de la señal de carbonilo del carbamato del grupo Fmoc. Esto indica que se llevó acabo la desprotección satisfactoriamente. En el espectro de FTIR se observó en 3334 cm^{-1} el estiramiento N-H de amida y la vibración del grupo amino se encuentra solapada en esta misma región del espectro. En 3025 cm^{-1} se observa el estiramiento C-H aromático, en 2928 cm^{-1} el estiramiento C-H alifático, en 1741 cm^{-1} el estiramiento C=O de la oxazolidinona, en 1659 cm^{-1} el estiramiento C=O de la amida, en 1512 cm^{-1} estiramiento C=C, en 1227 cm^{-1} el estiramiento C-N y a 1111 cm^{-1} el estiramiento C-O (Figura 67).



En el espectro de EMIES de **36a** se encuentra el pico del ion cuasimolecular $[M+H]^+$ con 457 uma. También se observó el aducto con sodio $[M+Na]^+$ en 479 uma (Figura 68).

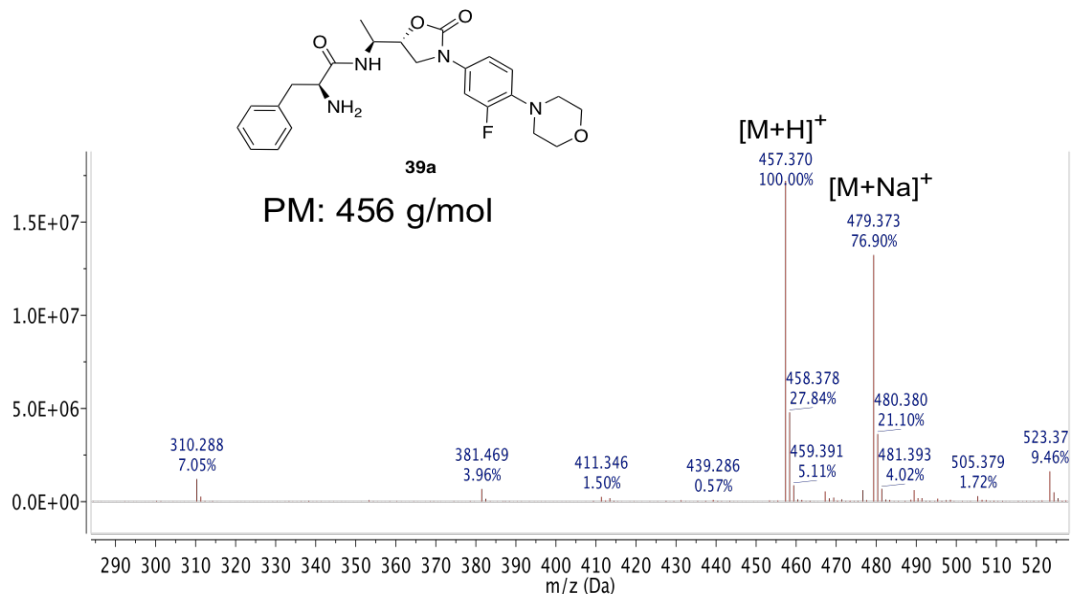


Figura 68. Espectro de EMIES del compuesto **36a**.

En el espectro de RMN ^1H de **36a** se observan que las señales del grupo ya no están presentes, dando evidencia de la desprotección completa del compuesto (Figura 69). En el espectro se observa en 7.58 ppm un doblete con una $J = 9.4$ Hz que integra al hidrógeno 7 de la amida, en 7.24 ppm se observa un multiplete que se asigna a los hidrógenos bencílicos 12, 13 y 14. Las señales del fragmento *N*-arilo están en 7.42 ppm como un doble de dobles con $J = 14.4$ y 2.6 Hz que integra para el hidrógeno orto al flúor, en 7.06 ppm un doble de dobles con $J = 9.0$ y 2.6 Hz correspondiente al hidrógeno en posición *para* al flúor y en 6.89 ppm un triplete que corresponde al hidrógeno *meta* al flúor. En la zona alifática se observa a 4.65 ppm un doble de dobles de dobles con $J = 8.8$, 6.5, 2.1 Hz que integra para el metino 5 unido a oxígeno, en 4.35 ppm un doble de dobles de dobles con $J = 9.2$, 6.8, 2.2 Hz para el hidrógeno 9, en 3.93 y 3.80 ppm un triplete con $J = 9.0$ Hz y un doble de dobles con $J = 9.1$, 6.6 Hz correspondientes a los hidrógenos diastereotópicos del metileno 4. En 3.83 y en 3.03 ppm están dos multipletes que integran para los ocho hidrógenos del anillo morfolínico, en 3.56 ppm un multiplete que integra para el hidrógeno 6, en 3.16 y 2.70 ppm se observan un doble de dobles con $J = 14.3$, 4.0 Hz y un segundo doble de dobles con $J = 13.8$, 8.8 Hz correspondientes a los hidrógenos

diasterotópicos del metileno 10. En 1.96 ppm se encuentra un singulete ancho que integra para los hidrógenos de la amina y en 1.30 ppm un doblete con $J = 7.0$ Hz corresponde a los hidrógenos del metilo $\text{CH}_3\text{-6}$.

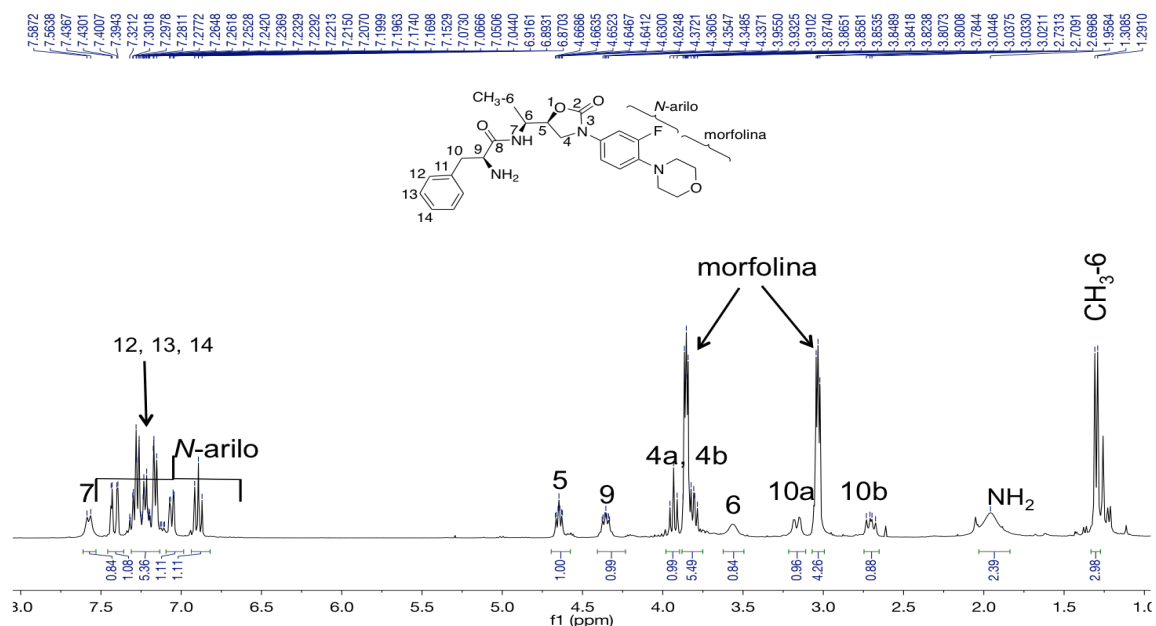


Figura 69. Espectro de RMN ^1H de **36a** en CDCl_3 .

El espectro de RMN ^{13}C de **36a** muestra en 170.1 ppm la señal del carbonilo 8 de amida y en 154.4 ppm la del carbonilo 2 de la oxazolidinona. En la región aromática están presentes la señales del grupo bencílico, en 137.2 ppm el carbono cuaternario 11, en 129.2, 128.7 y 126.9 ppm el sistema $\text{A}_2\text{B}_2\text{C}$ (carbonos 12, 13, 14). Para el fragmento *N*-arilo se observan señales dobles en 155.5 ppm con $J = 244.9$ Hz, en 136.7 ppm con $J = 9.1$ Hz, en 133.0 ppm con $J = 10.5$ Hz, en 118.8 ppm con $J = 4.2$ Hz, en 113.8 ppm $J = 3.2$ Hz y en 107.3 ppm con $J = 26.2$ Hz. En la región alifática se observan en 75.2 ppm la señal del metino 5 de la oxazolidinona, en 66.9 los metilenos unidos a oxígeno de la morfolina, en 56.0 ppm la del metino 9, en 51.0 ppm los metilenos unidos a nitrógeno de la morfolina, en 47.6 ppm el metileno 4 de la oxazolidinona, en 46.3 ppm se encuentra el metino 6, en 40.4 ppm la del metileno 10 y por último, en 17.5 ppm la señal del metilo $\text{CH}_3\text{-C6}$ (Figura 70).

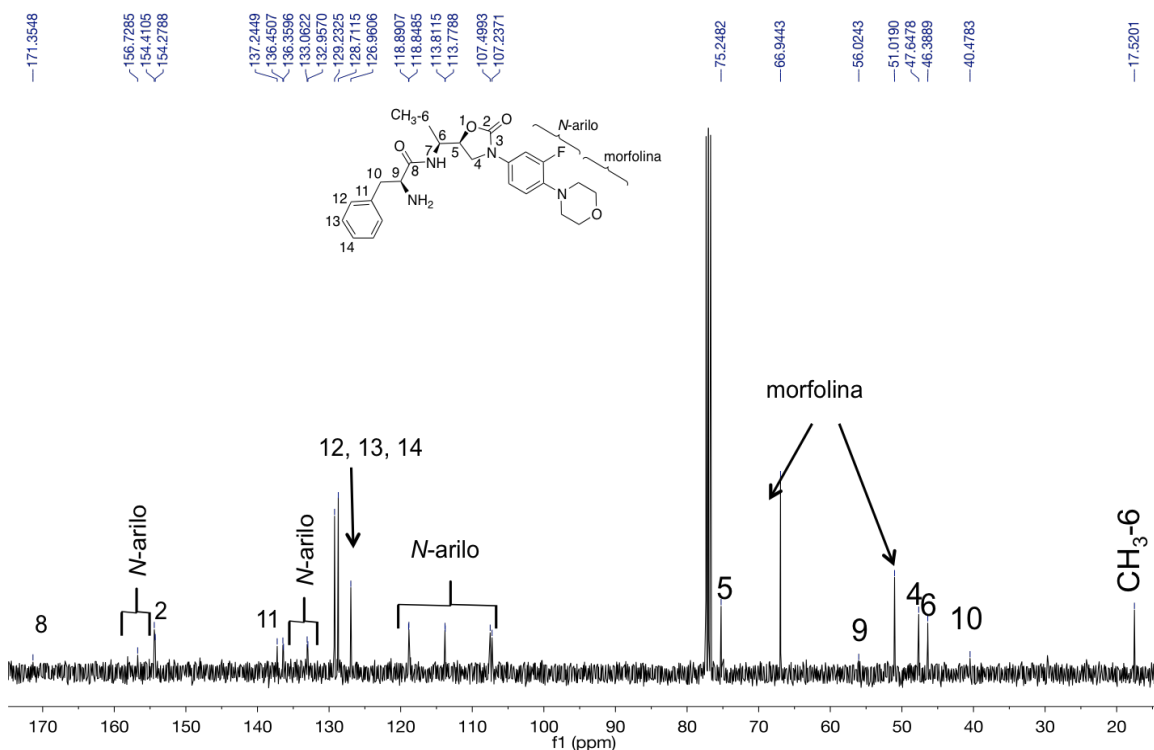
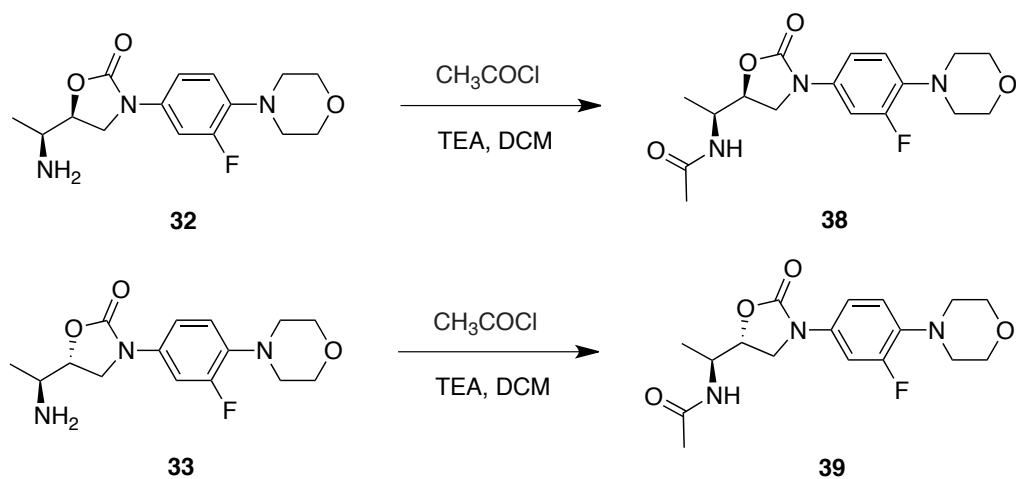


Figura 70. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **36a** en CDCl_3 .

Estos resultados muestran la viabilidad en la obtención de los análogos de linezólida desprotegidos, sin embargo, el rendimiento del compuesto purificado es bajo (30%). Actualmente se sigue en la obtención de todos los análogos y se espera obtener resultados satisfactorios en las pruebas de evaluación biológica.

4.21. Síntesis de análogos de linezólida **38** y **39**.

Los compuestos **32** y **33** fueron acetilados con cloruro de acetilo, dando lugar a la formación de los análogos de linezólida **38** y **39** (Esquema 11). El crudo de reacción se purificó mediante columna 9:1 acetato de etilo:metanol y se obtuvieron rendimientos de 76 y 70%, respectivamente. Estos compuestos presentan una estructura muy similar a la de linezólida, diferenciándose en el metilo alfa al grupo acetamida.



Esquema 11. Acetilación de análogos de linezólida.

Los espectros de infrarrojo de **38** y **39** muestra en 3275 cm^{-1} la banda de estiramiento del enlace N-H de la amida, en 3083 cm^{-1} el estiramiento C-H aromático, en 2968 cm^{-1} el estiramiento C-H alifático, en 1737 y 1647 cm^{-1} las vibraciones del estiramiento C=O de oxazolidinona y amida respectivamente, en 1516 cm^{-1} el estiramiento C=C, en 1410 cm^{-1} el estiramiento C-N y en 1112 cm^{-1} el estiramiento C-O (Figura 71).

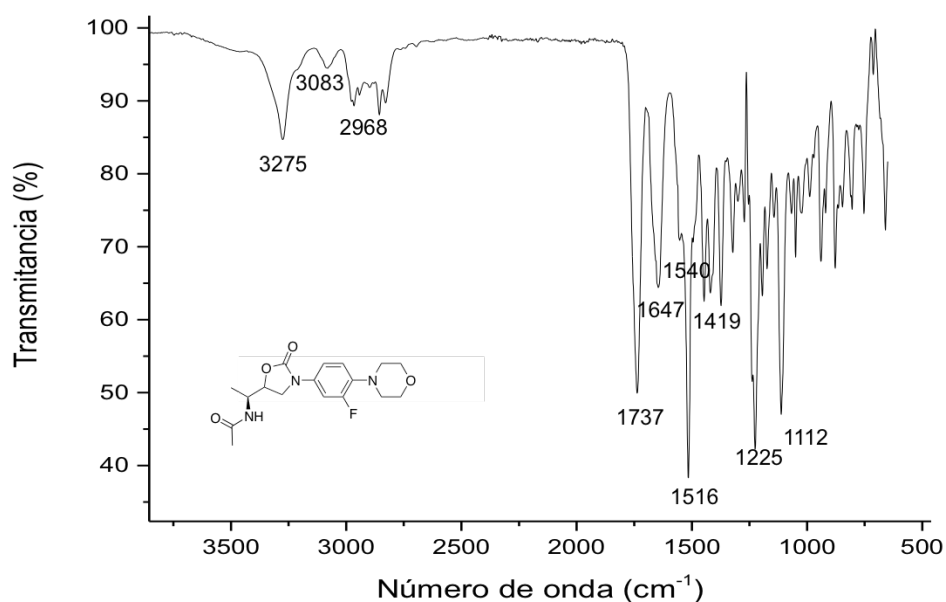


Figura 71. Espectro de IR-TF de los compuestos **38** y **39**.

En los espectros de EMIES de **38** y **39** se encontró el pico del ion cuasimolecular $[M+H]^+$ con 352 uma. También se detectó el aducto con sodio $[M+Na]^+$ en 374 uma (Figura 72).

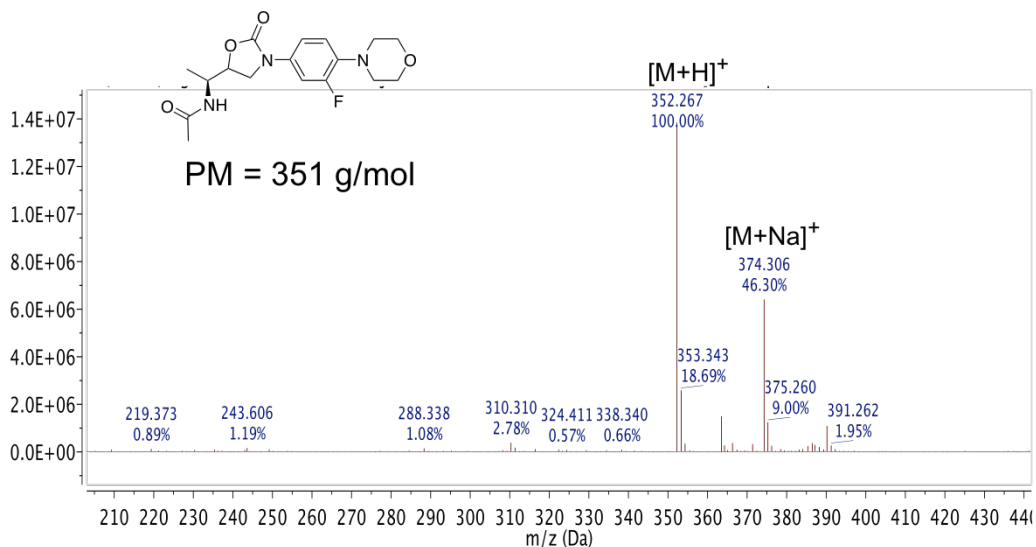


Figura 72. Espectro de EMIES de los compuestos **38** y **39**.

En el espectro de RMN 1H de **38** se observan las señales aromáticas del fragmento *N*-arilo, en 7.42 ppm está un doble de dobles con $J = 15.0, 2.5$ Hz asignado al hidrógeno *orto* al flúor, en 7.05 ppm un doble de dobles con $J = 8.8, 2.5$ Hz del hidrógeno *para* al flúor y 6.90 ppm un doble de dobles con $J = 9.2, 9.0$ Hz para el hidrógeno *meta* al flúor. En 6.41 ppm se observa el hidrógeno de la amida H-7 como un doblete con $J = 8.0$ Hz, en 4.60 ppm un multiplete que integra para H-5, en 4.45 ppm un multiplete correspondiente a H-6, en 3.94 y 3.88 ppm los hidrógenos diastereotópicos del metileno H-4 como un triplete con $J = 9.0$ Hz y un multiplete, respectivamente. Las señales del fragmento morfolínico se observan en 3.88 ppm para los metilenos unidos a oxígeno y el en 3.05 ppm los metilenos unidos a nitrógeno. Por último, en 1.97 ppm se encuentra el singlete del metilo H-9, y en 1.35 ppm un doblete con $J = 7.0$ Hz para el metilo CH_3 -6. La presencia de señales para los hidrógenos H-7 y H-9 confirman la obtención de **38** (Figura 73).

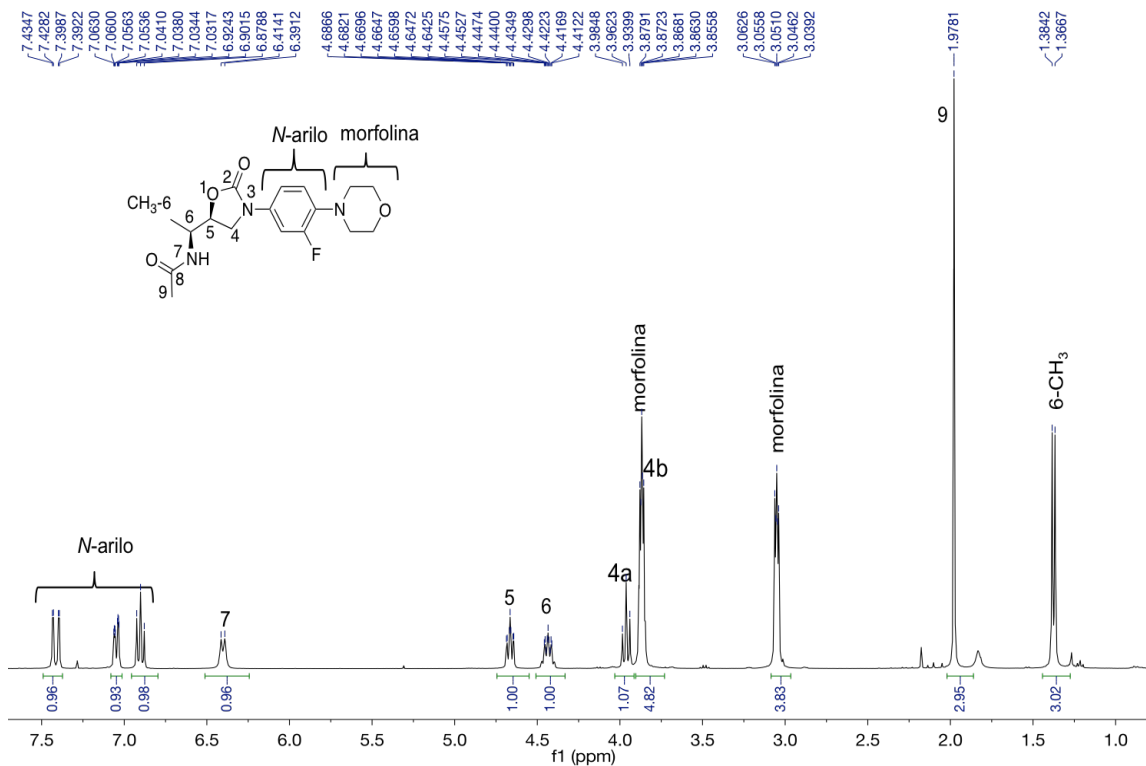


Figura 73. Espectro de RMN ^1H de **38** en CDCl_3 .

El espectro de RMN ^{13}C de **38** muestra en 170.9 ppm la señal del carbonilo 8 de amida y en 154.6 ppm la del carbonilo 2 de la oxazolidinona. Para el fragmento *N*-arilo se observaron las señales dobles características en 155.5 ppm con $J = 244.9$ Hz, en 136.7 ppm con $J = 9.1$ Hz, en 133.0 ppm con $J = 10.5$ Hz, en 118.8 ppm con $J = 4.2$ Hz, en 113.8 ppm $J = 3.2$ Hz y en 107.3 ppm con $J = 26.2$ Hz. En la región alifática se observa en 75.6 ppm la señal del metino 5 de la oxazolidinona, en 66.9 la de los metilenos unidos a oxígeno de la morfolina, en 51.0 ppm la señal de los metilenos unidos a nitrógeno de la morfolina, en 47.6 ppm se encuentra el metino 6, en 46.3 ppm el metileno 4 de la oxazolidinona, en 23.1 ppm metilo 9 y por último, en 17.8 ppm la señal del metilo $\text{CH}_3\text{-C}_6$ (Figura 74).

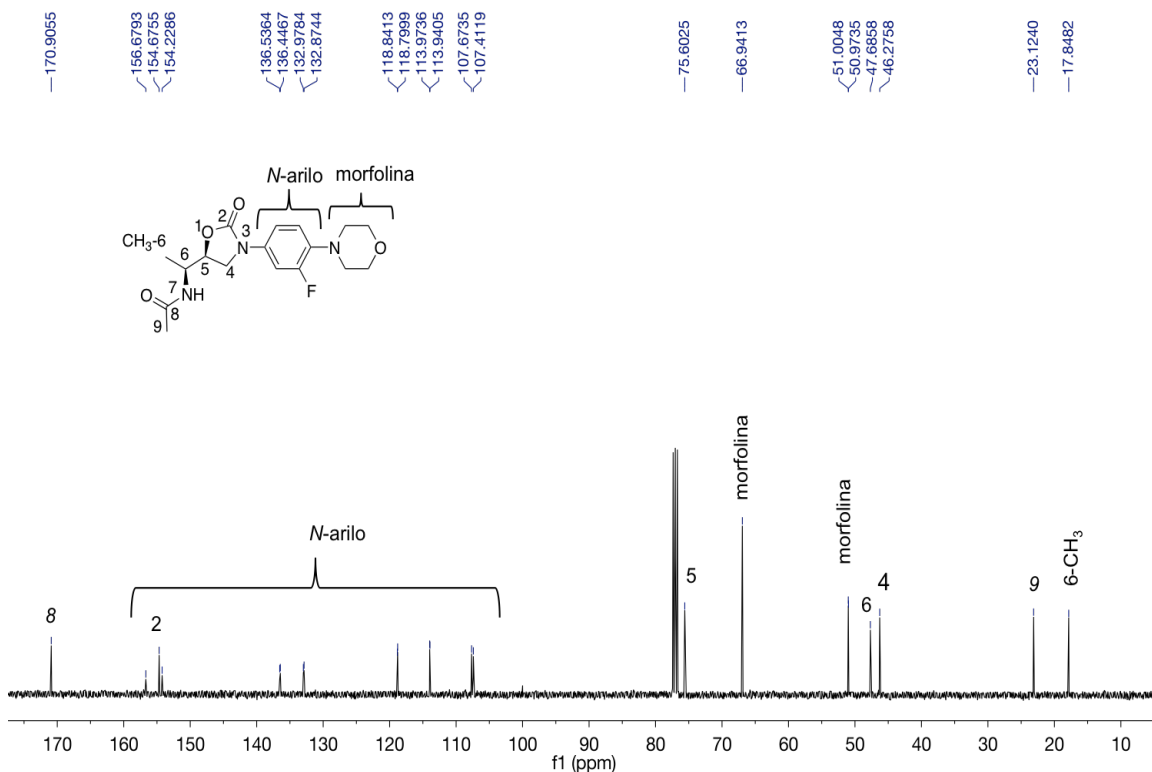
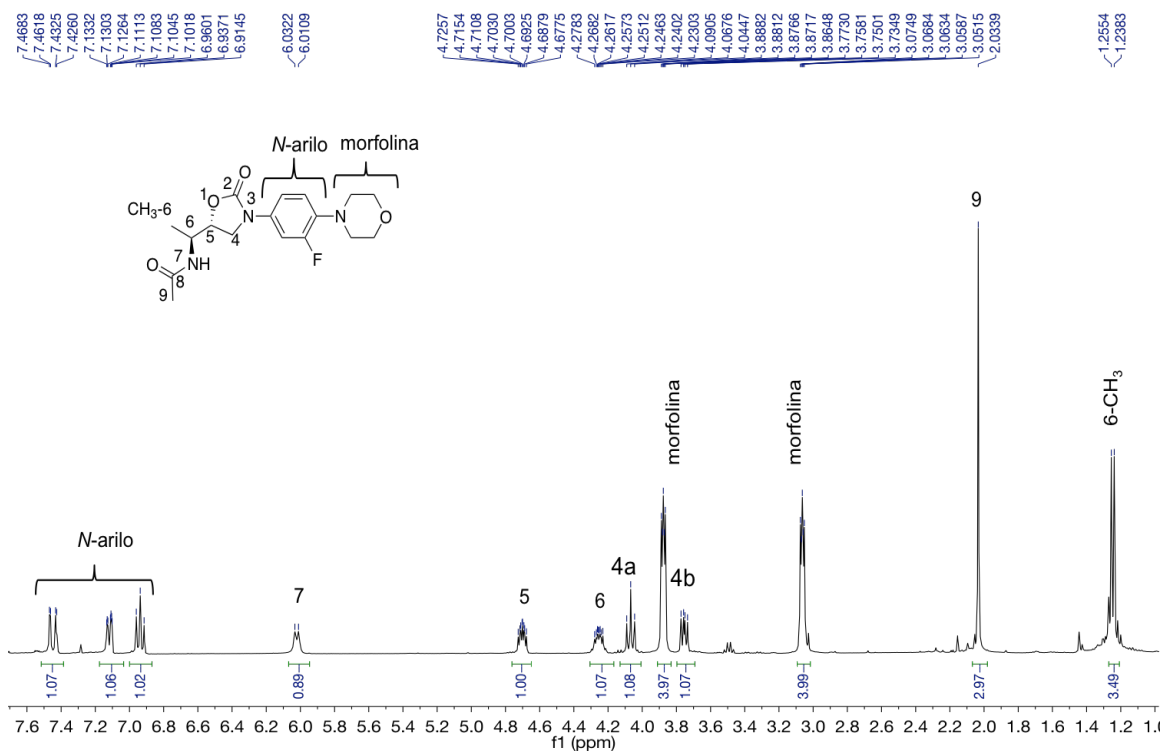


Figura 74. Espectro de RMN ^{13}C de **38** en CDCl_3 .

En el espectro de RMN ^1H de **39** se observan las señales aromáticas del fragmento *N*-arilo, en 7.45 ppm se encuentra un doble de dobles con $J = 15.0$, 2.5 Hz para el hidrógeno *orto* al flúor, en 7.13 ppm un doble de dobles con $J = 9.1$, 2.5 Hz para el hidrógeno *para* al flúor y 6.93 ppm un triplete con $J = 9.2$ Hz para el hidrógeno *meta* al flúor. En 6.02 ppm se observó el hidrógeno de la amida generada H-7 como un doblete con $J = 8.4$ Hz, en 4.70 ppm un multiplete que integra para H-5, 4.25 ppm un multiplete correspondiente a H-6, en 4.08 y 3.78 ppm los hidrógenos diasterotópicos del metileno H-4 como un triplete con $J = 9.0$ Hz y un doble de dobles con $J = 9.0$, 8.8 Hz, respectivamente. Las señales del fragmento morfolínico se observan en 3.88 ppm para los metilenos unidos a oxígeno y 3.04 ppm los metilenos unidos a nitrógeno. Por último, en 2.00 ppm el metilo H-9 como singulete y en 1.25 ppm el metilo CH_3 -6 como un doblete con $J = 7.0$ Hz (Figura 75).



El espectro de RMN ¹³C de **39** se encuentran en 169.9 ppm la señal del carbono 8 de amida y en 154.4 ppm la del carbono 2 de la oxazolidinona. Para el fragmento *N*-arilo se observaron las señales dobles características en 155.0 ppm con $J = 242.2$ Hz, en 136.5 ppm con $J = 8.8$ Hz, en 132.8 ppm con $J = 10.5$ Hz, en 118.7 ppm con $J = 4.1$ Hz, en 114.0 ppm $J = 3.0$ Hz y en 107.5 ppm con $J = 26.0$ Hz. En la región alifática se observan en 74.4 ppm la señal del metino 5 de la oxazolidinona, en 66.9 la señal de los metilenos unidos a oxígeno de la morfolina, en 51.0 ppm la de los metilenos unido a nitrógeno de la morfolina, en 47.7 ppm se encuentra el metino 6, en 47.6 ppm el metileno 4 de la oxazolidinona, en 23.2 ppm metilo 9 y por último, en 13.4 ppm la señal del metilo CH₃-C₆ (Figura 76).

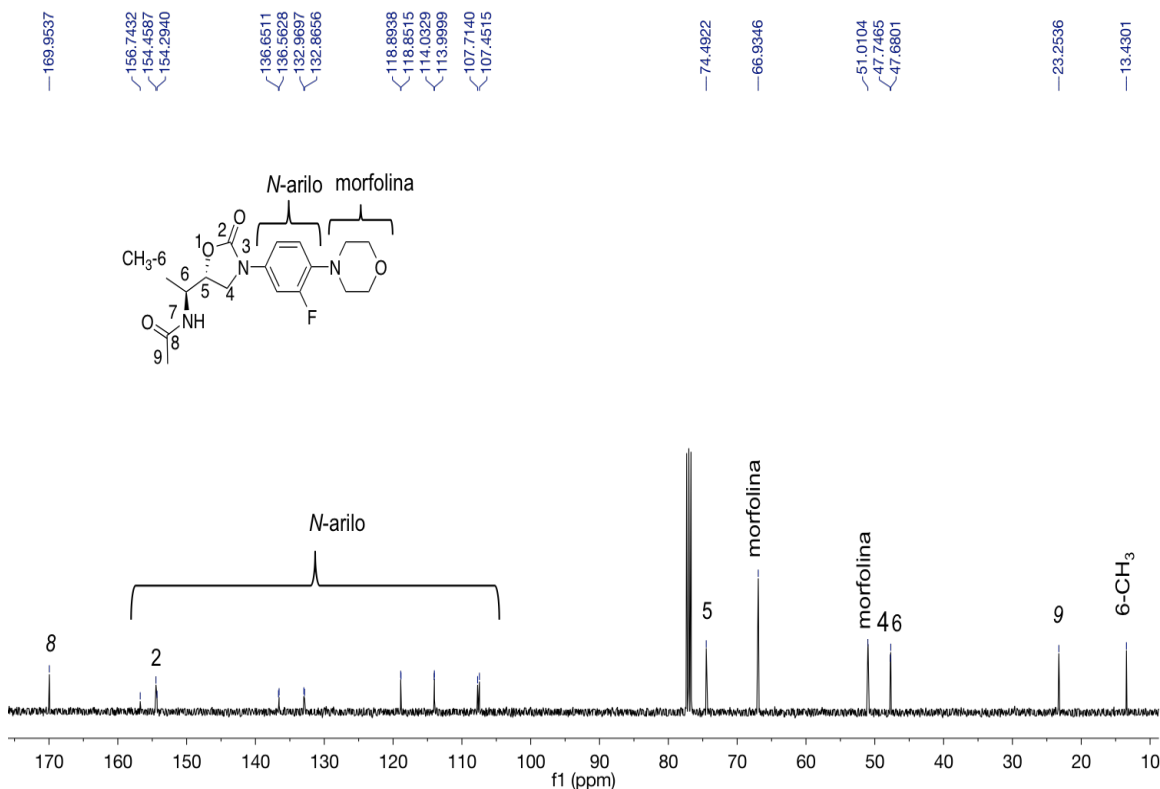


Figura 76. Espectro de RMN ^{13}C de **39** en CDCl_3 .

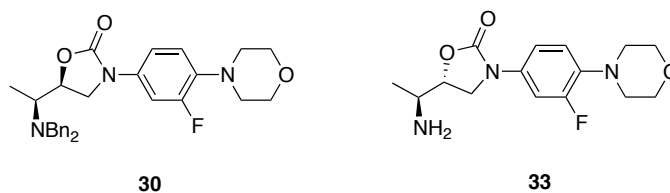
4.22. Evaluación de la actividad antibacteriana de análogos de linezólida **30**, **31**, **32**, **33**, **38** y **39**.

El estudio de la actividad antibacteriana *in vitro* de seis análogos de linezólida (**30**, **31**, **32**, **33**, **38**, **39**) frente a bacterias gram positivas y gram negativas diversas empleando la metodología de microdilución en caldo, determinó que **30** y **33** son activos solo frente a *Staphylococcus aureus* 05 a 100 $\mu\text{g/mL}$, la actividad antibacteriana de estos análogos es escasa en comparación con linezólida (Tabla 33). Para entender esta significativa diferencia en la actividad antibacteriana a nivel molecular, se realizó el acoplamiento molecular automatizado de los análogos de linezólida en el centro de fosforil transferasa (SFT). La estructura de todos los análogos de linezólida, excepto **31**, ocupa el SFT de *E. coli*. También se calcularon las formas protonadas de **32** y **33**. La Tabla 34 muestra la puntuación y las energías de colocación (kcal/mol) de linezólida y análogos.

El valor de la puntuación obtenido después de varios cálculos está relacionado con la calidad del acoplamiento, donde las puntuaciones más bajas indican los acoplamientos más favorables. Como se puede observar, los análogos **30**, **33** y **39** tienen una puntuación similar a linezólida, pero no muestran una actividad antibacteriana potente como linezólida. Algunas razones admisibles de esta diferencia podrían ser: 1) una energía de colocación muy superior a linezólida, debido probablemente al efecto estérico de los grupos voluminosos como bencilo o metilo presentes en la estructura molecular, y 2) interacciones intermoleculares diferentes involucradas en los complejos supramoleculares.

El compuesto **30** presenta un enlace de hidrógeno atípico con el G2061 que actúa como aceptor de H, mientras que el análogo **33** presenta dos interacciones, un enlace de hidrógeno con G2505 que actúa como donante de H y una interacción de menor energía CH \cdots π con A2451 (Figura 77 y 78). Estos análogos muestran actividad baja contra *Staphylococcus aureus* 05 antes mencionado. El resto de análogos de linezólida que son totalmente inactivos establecen interacciones de baja energía como C-H \cdots π y N-H \cdots π , pero no hay enlaces de hidrógeno presentes. Por ejemplo, los compuestos **38** y **39** presentan una alta similitud estructural a linezólida, sin embargo, el estudio antibacteriano no mostró ni siquiera resultados comparables (Figura 79 y 80).

Tabla 33. CMI de los compuestos **30** y **33** ($\mu\text{g/mL}$)



Compuesto	<i>S. aureus</i> 05
30	100
33	100

Tabla 34. Valores de Score y energía de acoplamiento (kcal/mol) de análogos de linezólida

Compuesto	Score (kcal/mol)	Energía de acoplamiento (kcal/mol)
Linezólida	-7.21	-70.35
30	-7.18	-9.27
32-H⁺	-6.28	-46.24
32	-6.69	-39.42
33-H⁺	-5.85	-41.51
33	-7.18	-53.12
38	-6.88	-53.92
39	-7.19	-54.64

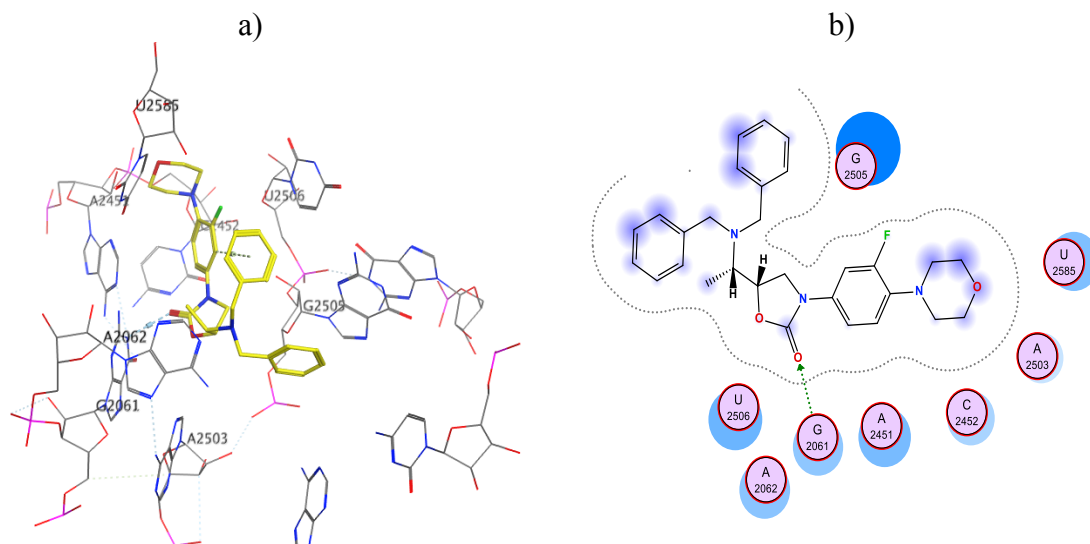


Figure 77. a) Docking Molecular y b) mapeo de interacciones de **30** en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de *E. coli*.

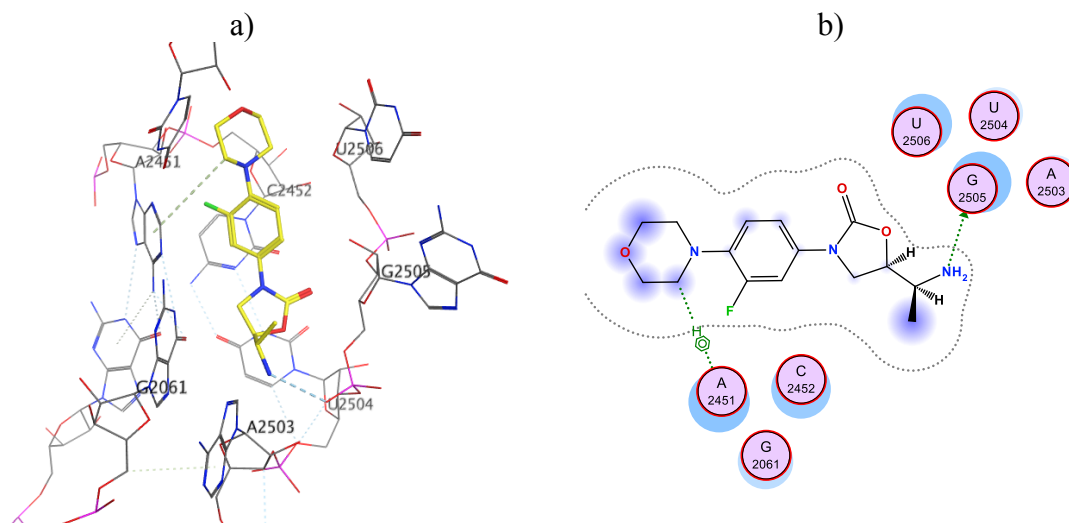


Figure 78. a) Docking Molecular y b) mapa de interacciones de **33** en el SFT en la estructura cristalina del RNAr de *E. coli*.

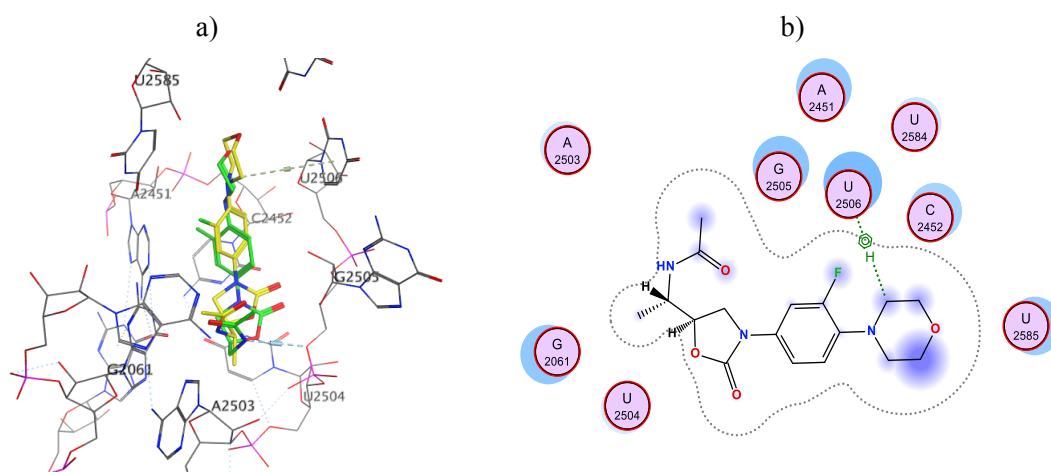


Figure 79. a) Docking molecular de **39** (amarillo) y linezólida (verde). b) mapa de interacciones de **39** en el SFT.

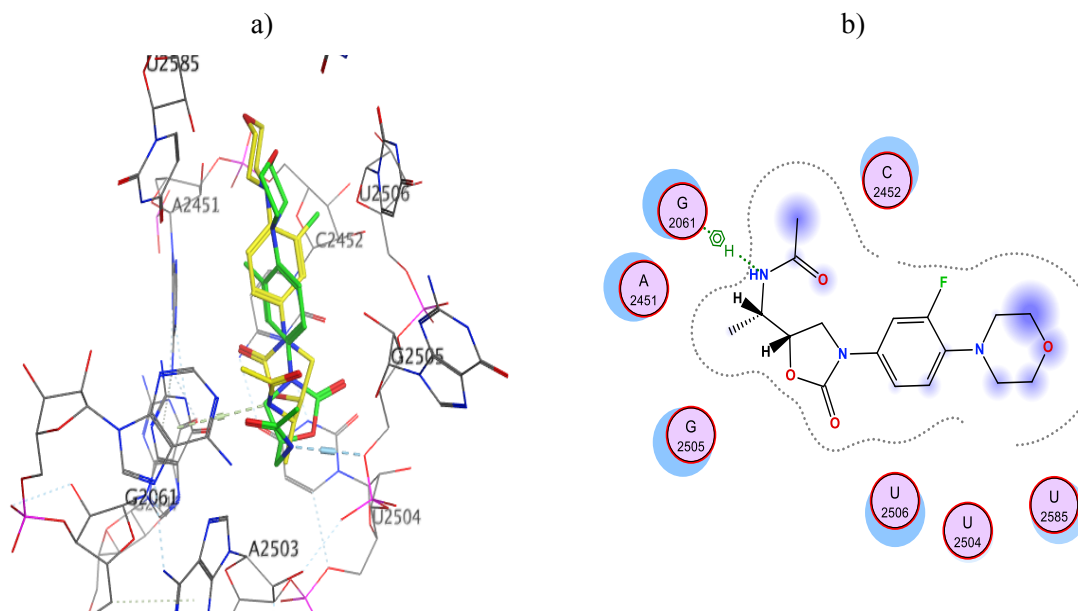


Figure 80. a) Docking molecular de **38** (amarillo) y linezólida (verde). b) mapa de interacciones de **38** en el SFT.

4.23. Evaluación de la actividad antiparasitaria de análogos de linezólida **30**, **31**, **32**, **33**, **38** y **39** frente al céstodo *Hymenolepis nana*.

La actividad antiparasitaria *in vitro* de seis análogos de linezólida se evaluó contra el céstodo *H. nana* (**30**, **31**, **32**, **33**, **38** y **39**) a 20 mg/mL empleando la metodología previamente reportada de Montes-Ávila⁶⁸ (Figura 81). Durante el estudio se determinaron cambios en la movilidad y morfología del parásito. Así como la viabilidad mediante tinción con el colorante azul de Evans. El fármaco praziquantel se empleó como control positivo y el medio Hank's como control negativo.

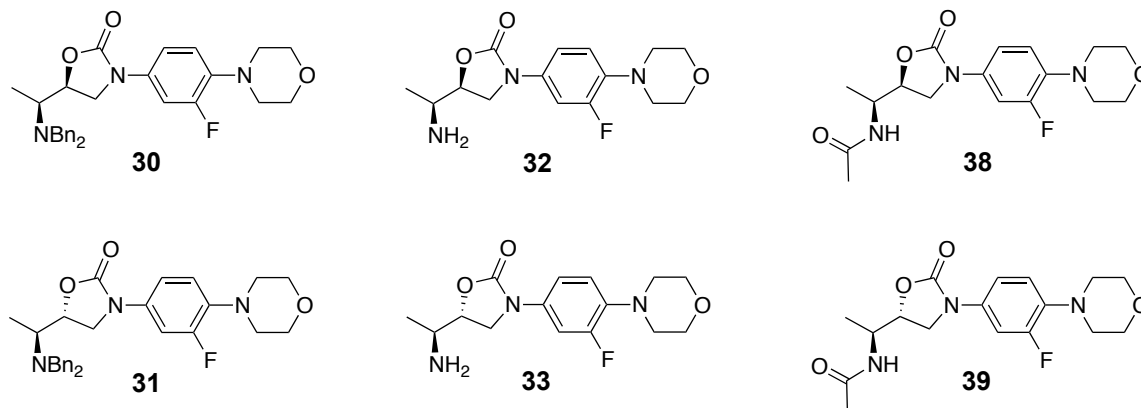
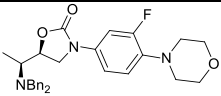
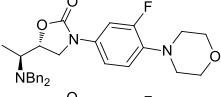
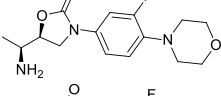
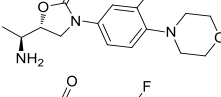
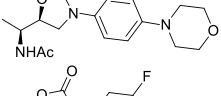
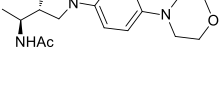


Figura 81. Estructura de análogos de linezólida evaluados frente *H. nana*.

En el ensayo los seis compuestos fueron capaces de provocar la muerte del parásito en tiempos diferentes. Los compuestos **30** y **31** presentaron tiempos de parálisis y de muerte iguales, 20 y 60 minutos, respectivamente, mientras que el tiempo de muerte obtenido con praziquantel es 30 minutos. Además **30** y **31** generaron daños morfológicos en scolex, cuello y proglótidos del parásito (Figura 82). Los compuestos **32** y **33** presentaron tiempo de parálisis muy similares de 10 y 11 minutos, respectivamente, y tiempos de muerte de 21 min, mostrando una actividad significativamente mayor que praziquantel. El compuesto **33** generó daños en proglótidos grávidos y scolex, y tinción en los huevos. Estos daños morfológicos no se observan con praziquantel. Los compuestos **30** y **31**, **32** y **33** presentaron tiempos de parálisis y muerte similares, es decir, no se observó un cambio notable en comparación a su par diastereomérico *sin* o *anti*. En cambio, el estudio de **38** y **39** mostró diferencias en su actividad, el compuesto **39** con configuración *anti* presentó tiempo de parálisis de 2 min y muerte de 60 min, su actividad es similar a la de **30** y **31** y también menor a la praziquantel. En cambio, el compuesto **38** que tiene configuración *sin* presentó tiempo de parálisis de 6 minutos y tiempo de muerte de 18 minutos, lo que lo hace el más activo de la serie (Tabla 35). Por lo que, en este caso, la configuración sí tuvo un efecto significativo en la actividad.

Un estudio adicional se realizó variando la concentración a 20, 15 y 10 mg/mL con los compuestos más activos. Los resultados muestran que los compuestos con configuración *anti* **33** y **39** disminuyeron su actividad gradualmente o la perdieron al disminuir la concentración. Mientras que los compuestos con configuración *sin* **32** y **38** fueron los más activos. El compuesto **38** es el más activo a 20 mg/mL, sin embargo, a concentración baja disminuyó su actividad con un tiempo de muerte de 90 min a 10 mg/mL, en cambio **32** a concentraciones menores presenta disminución en los tiempos de muerte en comparación con **38** de 60 min a 15 y 10 mg/mL (Tabla 36). Determinándose así a los compuestos **32** y **38** como los mejores en este estudio.

Tabla 35. Actividad antiparasitaria de análogos de linezólida (**30**, **31**, **32**, **33**, **38** y **39**) contra *Hymenolepis nana* a 20 mg/mL.

Compuesto	Estructura	Tiempo	
		Parálisis (min)	Muerte (min)
30		20	60
31		20	60
32		10	21
33		11	21
38		6	18
39		2	60
Praziquantel		20	30
Linezólida		5	N/D
Control (-)		N/D	N/D

N/D Indica que los parásitos permacionaron con movimiento o vivos posterior a 16 h de evaluación.

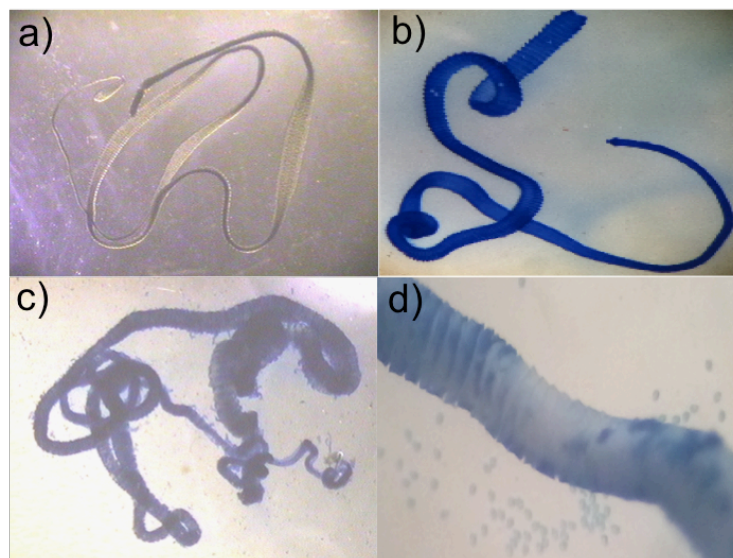


Figura 82. a) Céstodo sin tratamiento no presenta tinción. b) Céstodo tratado con **38** durante 18 min presenta tinción c) Céstodo tratado con **31** durante 1 h presenta tinción. d) Tinción positiva en los huevos, céstodo tratado con **33**.

Tabla 36. Actividad antiparasitaria de análogos de linezólida (**30**, **31**, **32**, **33**, **38** y **39**) contra *Hymenolepis nana* a concentraciones diferentes.

Compuesto	Estructura	Concentración (mg/mL)	Tiempo	
			Parálisis (min)	Muerte (min)
32		10	20	120
		15	15	40
		20	11	21
33		10	15	60
		15	10	60
		20	10	21
38		10	10	N/D
		15	10	N/D
		20	2	60
39		10	10	90
		15	10	90
		20	6	18

N/D Indica que los parásitos permanecieron con movimiento o vivos posterior a 16 h de evaluación.

El estudio de la actividad antiparasitaria realizada demostró que la estereoquímica tiene un efecto significativo en la actividad antiparasitaria, siendo la configuración S,S la que induce la actividad mayor. Además, la presencia de los grupos voluminosos en la amina (grupos bencilícos) disminuyen considerablemente la actividad, en cambio grupos pequeños la mejoran.

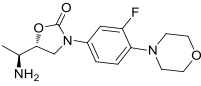
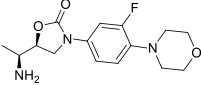
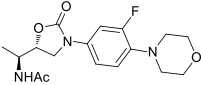
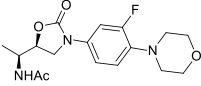
Tomando en cuenta el efecto de parálisis observado de los compuestos evaluados sobre el parásito, el mecanismo de acción puede ser el mismo que praziquantel, es decir, alterando el flujo de iones Ca^{2+} a través de la membrana celular debido a la interacción de estos compuestos en los canales de iones. Es importante señalar, que aunque praziquantel y linezólida no presentan una estructura similar, comparten ciertas similitudes como tener un grupo aromático, un anillo heterocíclico y un grupo carbonilo exocíclico, que posiblemente establecen interacciones intermoleculares similares. Por otro lado, la actividad potente y daño morfológico que presentan los análogos de linezólida puede ser consecuencia de una interacción más fuerte debido al centro quiral adicional, así como los grupos voluminosos presentes en sus estructuras induciendo arreglos conformacionales y tridimensionales que favorecen su interacción en los canales de iones demostrando su potencial empleo como agentes antiparasitarios nuevos.

Con base en este resultado y el observado para los compuesto **6**, **7**, **34f** y **34h** se realizó el estudio de la actividad antiparasitaria de los seis compuestos frente a *G. lamblia*, sin embargo, los compuesto evaluados no provocan la muerte del parásito a la concentración mayor evaluada en un tiempo de 24h. De esta manera se determina que los compuestos son solo activos frente a céstodos y no contra protozoos.

4.23. Evaluación de la actividad citotóxica de los compuestos análogos a linezólida (32, 33, 38 y 39).

Los análogos de linezólida (**32**, **33**, **38** y **39**) fueron evaluados mediante un ensayo de viabilidad celular empleando células ARPE-19 con la finalidad de establecer si inducen cambios en la proliferación. Para esto se realizó la evaluación con MTT después de 48 h de tratamiento. Los resultados mostraron que ninguno de los análogos afectan significativamente la viabilidad celular a las concentraciones probadas (50, 100, 200 y 400 μM). La viabilidad celular del cultivo decrece entre 5 y 20% aproximadamente, a la concentración mayor evaluada después del tratamiento (Tabla 37). Sin embargo, comparado con el control de doxorubicina, que induce un efecto antiproliferativo muy fuerte sobre estas células (viabilidad celular del 30% a 0.2 μM) a una concentración de tres órdenes menor, se considera que su efecto citotóxico es leve o casi nulo. El cultivo de células ARPE-19 no sólo mantiene su viabilidad metabólica sino que también la integridad celular se conserva después del tratamiento con los compuestos a las distintas concentraciones, lo que indica que no existen efectos citotóxicos debido a la presencia de estos análogos de linezólida.

Tabla 37. Porcentaje de proliferación de células ARPE-19 con análogos de linezólida (**32**, **33**, **38** y **39**) a 400 μM .

Compuesto	Estructura	% Proliferación
33		76.5 \pm 1.7
32		85.2 \pm 1.0
39		94.9 \pm 1.2
38		89.9 \pm 2.3
Linezólida		83.1 \pm 4.3

Datos expresados como la media de tres experimentos independientes realizados por triplicado. Doxorubicina fue utilizada como control. ^aEvaluado a 100 μM .

V. EXPERIMENTAL

5.1. Generalidades

El desarrollo experimental se realizó en el laboratorio de Química Supramolecular y Medicinal del Centro de Graduados e Investigación del Instituto Tecnológico de Tijuana, y la evaluación de la actividad antibacteriana se realizó en la Unidad de Investigación en Salud Pública “Dra. Kaethe Willms” de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

Técnicas analíticas

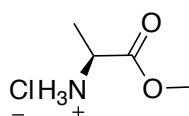
La espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) se realizó en un equipo RMN BRUKER AVANCE III HD 400 MHz. Los valores de los desplazamientos químicos (δ) son expresados en partes por millón (ppm) y se utilizará como referencia interna tetrametilsilano (TMS). Los valores de las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hertz (Hz) en todos los casos. La detección del peso molecular y patrón de fragmentación del compuesto se realizaron en un espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C (EM-IE) y Thermo Scientific, Modelo LTQ-XL equipado con trampa de iones (EMIES). El análisis de la espectroscopia infrarroja (IR) se realizó en un espectrofotómetro de Infrarrojo Perkin Elmer FT-IR Spectrum 400 equipado con el aditamento de ATR donde fueron descritas las absorciones más características en cm^{-1} .

Materiales, reactivos y solventes

Los materiales, reactivos y solventes utilizados fueron obtenidos de las compañías Sigma Aldrich y VWR.

5.2. Síntesis de éster metílico de alanina **18**.

En un matraz de fondo redondo de 250 mL provisto de agitación magnética se agregaron 5 g (30 mmol) del aminoácido (L-alanina, L-valina) disueltos en 140 mL de metanol. Mediante un embudo de adición se añadieron gota a gota 24 mL (5 eq) de cloruro de trimetilsilano (TMSCl) en baño de hielo y se dejó reaccionar por 12 h. Posteriormente, se hicieron lavados con éter etílico (3 × 100 mL), se eliminó el disolvente a presión reducida obteniendo el aminoéster metílico correspondiente como aceite amarillo.



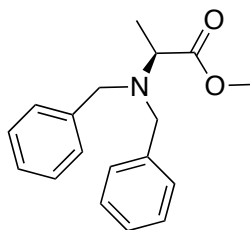
(S)-metil-2-aminopropanoato (18). Rendimiento 95%. FTIR: 2955, 2920, 1735, 1456, 1241 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 8.68 (s, 2H), 4.08 (m, 1H) 3.73 (s, 3H), 1.42 (d, $J = 7.2$, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 170.8, 53.2, 48.2, 16.1.

5.3. Síntesis de (S)-2-(N,N-dibencilamino)propionoato de metilo (**19**).

En un matraz de fondo redondo de dos bocas de 250 mL se suspendió clorhidrato de α -aminoéster **18** (2 g, 14 mmol) en 80 mL de cloroformo (CHCl_3) y se puso en un baño de hielo. Al matraz se conectó un embudo de adición al que se añadieron gota a gota 10 mL de una solución con la cantidad requerida de *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) en cloroformo (3 eq. 7.5 mL, 43 mmol). Una vez concluido el goteo de DIPEA la reacción se llevó a reflujo, después de 25 minutos se agregó gota a gota (5 mL, 3 eq) bromuro de bencilo (BnBr). Posteriormente, la mezcla se llevó a reflujo con agitación constante y atmósfera inerte de argón durante 12 h.

Finalmente, se agregaron 80 mL de agua destilada y realizaron extracciones con diclorometano (3 × 100 mL), la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4), se filtró y eliminó el disolvente a presión reducida, el *N,N*-dibencilaminoéster que fue purificado por columna en gel de

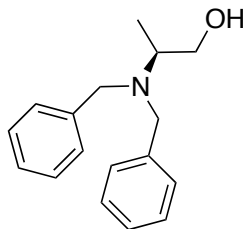
sílice con una fase móvil 9:1 de éter de petróleo y acetato de etilo, obteniendo como aceite amarillo.



(S)-2-(N,N-dibencilamino)propionato de metilo (19). Rendimiento del 85%. FTIR: 3273, 2921, 2850, 1741, 1627, 1515, 1456 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.37 (d, $J = 7.2$ Hz, 4H), 7.29 (t, $J = 7.2$, Hz, 4H), 7.21(t, $J = 7.2$, Hz, 2H), 3.83 (d, $J = 14.0$ Hz, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.62 (d, $J = 14.0$ Hz, 2H), 3.51(c, $J = 7.2$, Hz, 1H), 1.32 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 174.2, 139.9, 128.7, 128.2, 126.9, 56.2, 54.2, 51.2, 15.0. EMIE (Int. rel.) m/e : 283(5), 240(5), 224(100), 181(20), 105(20), 91(90).

5.4. Síntesis de (S)-2-(N,N-dibencilamino)-1-propanol (20).

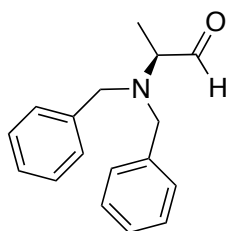
En un matraz de fondo redondo de 250 mL se pesó hidruro de litio y aluminio (LiAlH_4) (2.2 eq), se dispersó en THF (40 mL) a 0°C , y se añadió gota a gota una solución del *N,N*-dibencilaminoéster **19** (2 g, 7 mmol) bajo atmósfera inerte de argón. La mezcla de reacción heterogénea se mantuvo en agitación magnética durante 12 h. Finalmente, se añadió gota a gota hidróxido de potasio al 5% hasta formar un precipitado blanco, se filtró y secó con Na_2SO_4 , y mediante presión reducida se eliminó el disolvente para obtener el *N,N*-dibencilaminoalcohol **20** como aceite amarillo.



(S)-2-(N,N-dibencilamino)-1-propanol (20). Rendimiento de 95% (1.7 g, 6.7 mmol). FTIR: 3429, 3062, 2985, 1602, 1484, 1452, 1027 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.33 (m, 10H), 3.81 (d, $J = 14.0$ Hz, 2H), 3.45 (t, $J = 10.8$ Hz, 1H), 3.36 (d, $J = 14.0$ Hz, 2H), 3.33 (dd, $J = 6.8, 7.2$ Hz, 1H), 2.98 (m, 1H), 0.98 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 139.3, 129.0, 128.5, 127.2, 62.8, 54.3, 53.0, 8.7. EMIE (Int. rel.) m/e : 255(5), 224(100), 181(20), 105(20), 91(90).

5.5. Síntesis de (S)-2-(N,N-dibencilamino)-1-propanal (1).

Empleando un embudo de adición conectado a un matraz bola de 250 mL, con agitación magnética, en atmósfera inerte de argón y a -78 $^\circ\text{C}$, se adicionaron gota a gota 10 mL de una solución de COCl_2 (1.5 eq) en diclorometano (CH_2Cl_2), después se agregaron gota a gota 10 mL de una solución de DMSO (2.2 eq) en CH_2Cl_2 . el *N,N*-dibencilaminoalcohol **20** (1.5 g, 5.8 mmol) se adicionó disuelto en CH_2Cl_2 durante 20 min y por último, se añadió trietilamina (TEA) (10 mL, 71.08 mmol) y 10 mL del solvente durante 30 minutos. Posteriormente a temperatura ambiente, se agregó agua destilada (100 mL) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3×100 mL). La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 , se filtró y evaporó el disolvente a presión reducida obteniendo el *N,N*-dibencilaminoaldehído **1** como aceite amarillo.

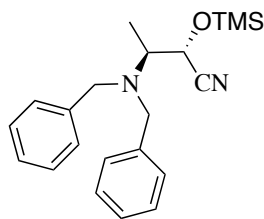


(S)-2-(N,N-dibencilamino)-1-propanal (1). Rendimiento 95% (1.4 g, 5.5 mmol). FTIR: 3023, 2977, 1726, 1484, 1452, 1377, 1152 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 9.72 (s, 1H), 7.40 (d, $J = 7.2$ Hz, 4H), 7.31 (t, $J = 7.2$ Hz, 4H), 7.24 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.73 (d, $J = 13.6$ Hz, 2H), 3.57 (d, $J = 13.6$ Hz, 2H), 3.23 (c, $J = 6.8$ Hz, 1H), 1.17 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 204.4, 139.1,

128.8, 128.4, 127.4, 63.0, 55.0, 6.9. EMIE (Int. rel.) m/e : 253(5), 224(70), 210(40), 196(15), 181(10), 134 (45), 106 (50), 91(100).

5.6. Síntesis de α -(*N,N*-dibencilamino)trimetilsilioxicianhidras, 2 y 3.

En un matraz de fondo redondo de 250 mL provisto de agitación magnética y atmósfera de argón a 0 °C, se colocó una solución *N,N*-dibencilamino aldehído **1** (1.5 g, 5.9 mmol) disuelto en CH₂Cl₂ seco, luego se añadió como catalizador ZnI₂ o MgBr₂ (1.1 eq), para obtener el producto de adición con configuración *anti* y *sin* respectivamente. (1.1 eq), y posteriormente se agregó gota a gota TMSCN (2.2 eq). El tiempo de reacción fue de 2 h. Después, se añadieron 50 mL de solución salina. La fase orgánica se lavó con CH₂Cl₂ (3 × 100 mL), se secó con Na₂SO₄, se filtró y evaporó el solvente a presión reducida y se obtuvo únicamente la trimetilsilioxicianhidrina como aceite naranja.

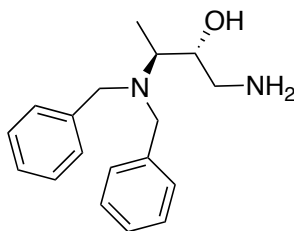


(2S,3S)-3-(*N,N*-dibencilamino)-2-(trimetilsililoxi)butanotrilo (3). Rendimiento 90% (1.88 g, 5.3 mmol). FTIR: 3025, 2959, 1615, 1484, 1452, 1263, 843 cm⁻¹. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7.3 (m, 10H), 4.18 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 3.75 (d, J = 14.0 Hz, 2H), 3.54 (d, J = 14.0 Hz, 2H) 3.12 (m, 1H), 1.13 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.10 (s, 9H). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 139.1, 128.7, 128.4, 127.2, 119.9, 65.0, 57.5, 55.4, 9.3, 0.4. EMIE (Int. rel.) m/e : 224(100), 181(30), 134 (45), 91(100).

5.7. Síntesis de α -(*N,N*-dibencilamino)aminoalcoholes, 4 y 5.

En un matraz de fondo redondo de 250 mL provisto con un embudo de adición, agitación magnética y atmósfera inerte a 0°C, se colocó una suspensión

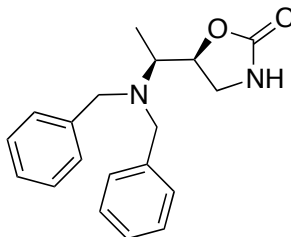
de LiAlH_4 (0.48 g, 12.5 mmol) en THF (100 mL). Después se adicionó gota a gota la solución de trimetilsililoxicianohidrina en THF (50 mL) (2 g, 5.68 mmol) y se mantuvo en agitación durante 12 h. Después se agregó gota a gota hidróxido de potasio acuoso al 5% hasta formar un precipitado blanco, se filtró y secó con Na_2SO_4 . Finalmente se eliminó el solvente a presión reducida para obtener el *N,N*-dibencilaminoalcohol. El producto crudo se empleó como sustrato en la siguiente etapa de reacción.



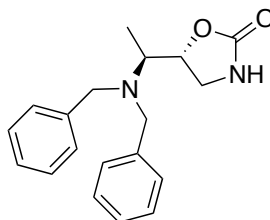
(2S, 3S)-1-amino-3-(*N,N*-dibencilamino)-2-butanol (5). Rendimiento 85%. FTIR: 3367, 3027, 2925, 1600, 1493, 1452, 1027 cm^{-1} . EMIE (Int. rel.) *m/e*: 284 (15), 254 (10), 224(100), 181(10), 91(90).

5.8. Síntesis de oxazolidinonas, 6 y 7.

En un matraz de fondo redondo de 250 mL provisto con un embudo de adición, agitación magnética y atmósfera inerte a 0 °C, se colocó una solución del aminoalcohol en CH_2Cl_2 (80 mL). Después se agregó gota a gota una solución de trifosgeno (1 eq) en 25 mL de CH_2Cl_2 y se agitó durante 8 h. Finalmente, se añadió una solución saturada de NaHCO_3 . La fase orgánica se lavó con solución salina saturada, se secó con NaSO_4 anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida, por último el crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna empacada con gel de sílice y fase móvil de éter de petróleo y acetato de etilo (7:3), obteniendo un sólido blanco.



(S)-5-((S)-1-(dibencilamino)etil)oxazolidin-2-ona (6). Rendimiento 40%. FTIR: 3277, 2961, 1752, 1605, 1365, 1077 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.36 (d, $J = 7.3$ Hz, 4H), 7.26 (t, $J = 7.3$ Hz, 4H), 7.16 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 6.45 (sa, 1H), 4.57 (ddd, $J = 8.4, 8.2, 6.8$ Hz, 1H), 3.87 (d, $J = 13.7$ Hz, 2H), 3.51 (d, $J = 13.7$ Hz, 2H), 3.33 (t, $J = 8.4$, 1H), 3.27 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 2.88 (q, $J = 6.8$, 1H), 1.10 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 160.4, 139.9, 128.8, 128.3, 127.0, 79.9, 54.9, 54.7, 43.4, 10.4. EMIE (Int. rel.) m/e : 224(100), 181(30), 91(90).

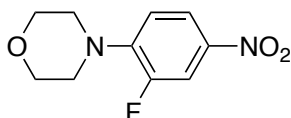


(R)-5-((S)-1-(dibencilamino)etil)oxazolidin-2-ona (7). Rendimiento 85%. FTIR: 3254, 2826, 1748, 1605, 1365 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.29 (m, 10 H), 5.42 (sa, 1H), 4.46 (ddd, $J = 8.6, 8.0, 7.6$ Hz, 1H), 3.70 (d, $J = 13.6$ Hz, 2H), 3.55 (dd, $J = 8.6, 8.6$ Hz, 1H), 3.44 (d, $J = 13.6$ Hz, 2H), 3.22 (dd, $J = 8.6, 8.0$ Hz, 1H), 2.76 (dc, $J = 7.6, 6.6$, 1H), 1.22 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 159.6, 139.3, 128.8, 128.4, 127.3, 78.5, 56.6, 54.5, 44.7, 8.6. EMIE (Int. rel.) m/e : 224(100), 181(30), 91(90).

5.9. Síntesis de 4-(2-flúor-4-nitrofenil)morfolina (27).

En un matraz bola de 100 mL provisto de agitación magnética se colocó morfolina (0.82 g, 6.28 mmol) y DIPEA (0.81 g, 6.28 mmol) en 50 mL de acetato

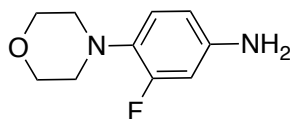
de etilo. Posteriormente se agregó gota a gota 3,4-difluoronitrobenzoceno (1 g, 6.28 mmol) durante 30 min. Después se lavaron las paredes del matraz con 20 mL de acetato de etilo y se dejó a temperatura ambiente durante 72 h. Al término de la reacción se agregaron 40 mL de DCM y se agitó por 10 min luego se agregó 10 mL de agua. Se realizaron extracciones con DCM (3 x 25 mL), se separó la fase orgánica y seco con NaSO₄, se filtró y evaporó a presión reducida para obtener el producto.



4-(2-fluoro-4-nitrofenil)morfolina (27). Sólido amarillo. Rendimiento de 90%, (1.28 g, 5.65 mmoles). FTIR: 3052, 2964, 1602, 1514, 1492, 1445, 1323 cm⁻¹. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 8.01 (ddd, *J* = 9.1, 2.6, 1.0 Hz, 1 H), 7.92 (dd, *J* = 13.1, 2.6 Hz, 1H), 6.93 (dd, *J* = 8.8, 8.7 Hz, 1H), 3.89 (m, 4H), 3.30 (m, 4H). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 152.3 (d, *J*_{C-F} = 248.0 Hz), 145.3 (d, *J*_{C-F} = 8.5 Hz), 140.8 (d, *J*_{C-F} = 7.5 Hz), 120.9 (d, *J*_{C-F} = 3.8 Hz), 116.8 (d, *J*_{C-F} = 3.0 Hz), 112.5 (d, *J*_{C-F} = 26.1 Hz), 66.7, 49.9. EMIE (Int. rel.) *m/e*: 226(70), 168(100), 138(20), 122(10), 95 (10), 75(5).

5.10. Síntesis de 3-fluoro-4-morfolinanilina (28).

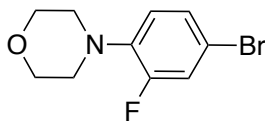
En un matraz bola de 100 mL provisto con agitación magnética y atmósfera de argón se agregó el compuesto **27** (1.27 g, 5.61 mmol) y Pd/C al 10% (0.011 g, 1.10 mmol) en metanol seco (100 mL). Posteriormente se colocó un globo con hidrógeno y se dejó reaccionar por 4 h. Se filtró y se eliminó el solvente a presión reducida.



3-fluoro-4-morfolinanilina (28). Sólido morado. Rendimiento de 97%, (1.07 g, 5.44 mmoles). FTIR: 3417, 3052, 2939, 1638, 1514, 1492, 1449, 1335, 1220, 1110 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 6.81 (dd, $J = 9.1, 8.6$ Hz, 1 H), 6.43 (m, 2H), 3.86 (m, 4H), 3.60 (sa, 2H) 2.98 (m, 4H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 156.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 243.8$ Hz), 142.8 (d, $J_{\text{C-F}} = 10.4$ Hz), 131.6 (d, $J_{\text{C-F}} = 10.0$ Hz), 120.3 (d, $J_{\text{C-F}} = 4.3$ Hz), 110.6 (d, $J_{\text{C-F}} = 2.8$ Hz), 103.9 (d, $J_{\text{C-F}} = 23.6$ Hz), 67.1, 51.7. EMIE (Int. rel.) m/e : 196(70), 138(100), 83(75).

5.11. Síntesis de 4-(4-bromo-2-fluorofenil)morfolina (29)

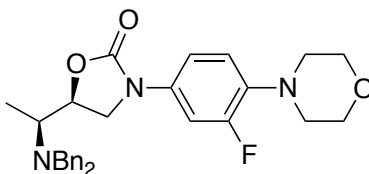
En un matraz bola de 250 mL provisto de agitación magnética y a 0 °C se colocó NaNO_2 (0.37 g, 5.4 mmol) en H_2O (9.23 mL). Después se agregó por medio de un goteo 3-flúor-4-morfolinanilina **28** (1.07 g, 5.4 mmol) disuelto en HBr al 48% (5 mL) durante 10 min. Luego se añade gota a gota CuBr (0.39 g, 2.72 mmol) disuelto en HBr al 48% durante 10 min. La reacción se llevó a reflujo durante 2.5 h. Finalmente se añadió una solución de NaOH 3M, se realizaron tres lavados con acetato de etilo (40 + 20 + 20 mL). La fase orgánica se filtró en zeolita y se lavó con solución salina saturada. Se secó con Na_2SO_4 y se evaporó el solvente a presión reducida. El producto se purificó por medio de columna de gel de sílice con fase móvil éter de petróleo:acetato de etilo (9:1).



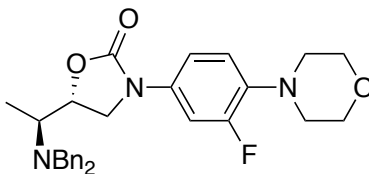
4-(4-bromo-2-fluorofenil)morfolina (29). Sólido café. Rendimiento de 80%. FTIR: 3032, 2955, 1514, 1449, 1234, 1117 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.21 (m, 2 H), 6.82 (dd, $J = 8.7, 8.6$ Hz, 1H), 3.87 (m, 4H), 3.07 (m, 4H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 155.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 249.3$ Hz), 139.2 (d, $J_{\text{C-F}} = 8.3$ Hz), 127.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 3.6$ Hz), 119.8, 119.7 (d, $J_{\text{C-F}} = 19.6$ Hz), 113.9 (d, $J_{\text{C-F}} = 9.4$ Hz), 66.9, 50.8. EMIE (Int. rel.) m/e : 259(70), 201(100), 94(10).

5.12. Síntesis de análogos de linezólida, 30 y 31.

En un matraz Schlenk provisto de agitación magnética y atmósfera de argón se colocó la 1,3-oxazolidin-2-ona (0.1 g, 0.32 mmol), posteriormente se agregó CuI (0.03 g, 0.01 mmol), K₂CO₃ (0.74 g, 0.53 mmol), 4-(4-bromo-2-fluorofenil)morfolina (0.84 g, 0.32 mmol) y *N,N*-dimetiletano-1,2-diamina (0.056 g, 0.06 mmol) disueltos en 25 mL de tolueno, se dejó a reflujo por 72 h, al término del tiempo indicado se agregarán 25 mL de agua desionizada para detener la reacción, se filtró en zeolita, se secó en Na₂SO₄, se filtró y eliminó el solvente a presión reducida.



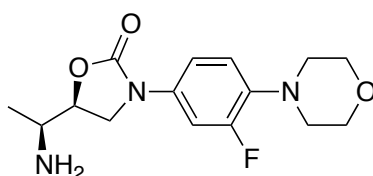
((S)-5-((S)-1-(dibenzilamino)etil)-3-(3-fluoro-4-morfolinofenil)oxazolidin-2-ona (30). Rendimiento 70%. FTIR: 3032, 2955, 1753, 1514, 1449, 1402, 1234, 1117 cm⁻¹. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7.37 (dd, *J* = 11.8, 2.6 Hz, 1H), 7.30 (m, 10 H), 7.00 (ddd, *J* = 7.3, 2.0, 1.3 Hz, 1H), 6.94 (dd, *J* = 9.2, 9.0 Hz, 1H), 4.56 (ddd, *J* = 5.4, 5.1, 5.1 Hz, 1H), 3.93 (d, *J* = 13.6 Hz, 2H), 3.88 (m, 4H), 3.68 (dd, *J* = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 3.48 (d, *J* = 13.6 Hz, 2H), 3.07 (m, 4H), 2.92 (dc, *J* = 6.8, 5.1 Hz, 1H), 1.26 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H). RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 155.5 (d, *J*_{C-F} = 244.5 Hz), 154.5, 139.6, 136.2 (d, *J*_{C-F} = 8.9 Hz), 133.5 (d, *J*_{C-F} = 10.5 Hz), 128.9, 128.3, 127.0, 118.7 (d, *J*_{C-F} = 4.2 Hz), 113.7 (d, *J*_{C-F} = 3.3 Hz), 107.3 (d, *J*_{C-F} = 26.3), 76.2, 67.0, 55.1, 54.8, 51.0, 47.6, 10.2. EMIE (Int. rel.) *m/e*: 489(5), 224(100), 91(90).



R)-5-((S)-1-(dibencillamino)etil)-3-(3-fluoro-4-morfolinofenil)oxazolidin-2-ona (31). Rendimiento 75%. FTIR: 3059, 2955, 1753, 1514, 1449, 1402, 1234, 1117 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.30 (m, 10 H), 7.18 (dd, $J = 11.8, 2.5$ Hz, 1H), 7.00 (ddd, $J = 7.1, 2.5, 1.0$ Hz, 1H), 6.89 (dd, $J = 9.1, 9.0$ Hz, 1H), 4.38 (ddd, $J = 8.3, 8.2, 7.2$ Hz, 1H), 3.86 (m, 4H), 3.80 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 3.75 (d, $J = 13.5$ Hz, 2H), 3.57 (dd, $J = 9.0, 6.6$ Hz, 1H), 3.48 (d, $J = 13.5$ Hz, 2H), 3.04 (m, 4H) 2.87 (dc, $J = 8.9, 6.6$ Hz, 1H), 1.28 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 155.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 244.4$ Hz), 154.6, 139.1, 136.2 (d, $J_{\text{C-F}} = 9.0$ Hz) 133.3 (d, $J_{\text{C-F}} = 10.5$ Hz), 128.9, 128.5, 127.4, 118.7 (d, $J_{\text{C-F}} = 4.1$ Hz), 114.2 (d, $J_{\text{C-F}} = 3.3$ Hz), 107.7 (d, $J_{\text{C-F}} = 25.8$ Hz), 74.2, 66.9, 56.7, 54.6, 51.9, 49.4, 8.6. EMIE (Int. rel.) m/e : 489(5), 224(100), 91(90).

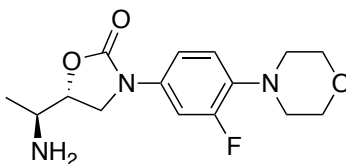
5.13. Síntesis de amino oxazolidinonas, 32 y 33.

En un matraz bola de 100 mL provisto de agitación magnética se colocó 1,3-oxazolidin-2-ona junto con el catalizador Pd/C, 50 mL de metanol seco. La mezcla se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de hidrógeno durante 24 h con cuatro gotas de ácido acético para acelerar la reacción. Posteriormente se filtró y eliminó el disolvente a presión reducida para obtener el producto de desprotección de la oxazolidinona amino libre.



(S)-5-((S)-1-aminoetil)-3-(3-fluoro-4-morfolinofenil)oxazolidin-2-ona (32). Rendimiento 80%. FTIR: 3373, 2956, 1744, 1625, 1514, 1407, 1234, 1114 cm^{-1} . RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz): δ 7.51 (dd, $J = 12.4, 2.6$ Hz, 1H), 7.23 (dd, $J = 8.8, 1.9$ Hz, 1H), 7.05 (dd, $J = 9.8, 9.1$ Hz, 1H), 4.45 (ddd, $J = 8.7, 8.6, 7.8$ Hz, 1H), 4.01 (dd, $J = 9.0, 8.9$ Hz, 1H), 3.83 (dd, $J = 9.0, 8.9$ Hz, 1H), 3.73 (m, 4H), 3.02 (m, 1H), 2.96 (m, 4H), 1.05 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H). RMN ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz): δ 155.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 242.1$ Hz), 154.7, 135.8 (d, $J_{\text{C-F}} = 8.8$ Hz), 134.1 (d, $J_{\text{C-F}} =$

10.4 Hz), 119.7 (d, $J_{C-F} = 4.2$ Hz), 114.4 (d, $J_{C-F} = 3.2$ Hz), 107.3 (d, $J_{C-F} = 26.0$ Hz), 75.8, 66.6, 51.2, 49.2, 47.1, 18.2. EMIE (Int. rel.) m/e : 309(100), 209(90), 164(50), 44(90).

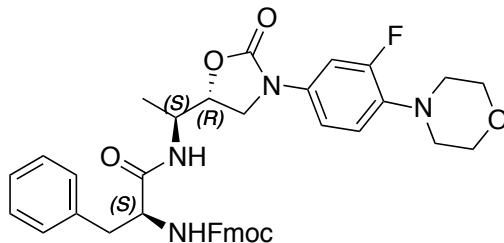


(R)-5-((S)-1-aminoetil)-3-(3-fluoro-4-morfolinifenil)oxazolidin-2-ona (33).

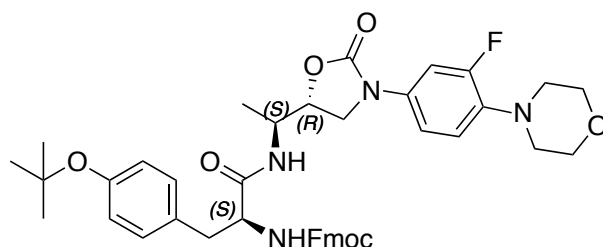
Sólido blanco. Rendimiento 90%. FTIR: 3373, 2952, 2835, 1740, 1636, 1514, 1445, 1404, 1237, 1112 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.45 (dd, $J = 11.8$, 2.6 Hz, 1H), 7.15 (ddd, $J = 8.8$, 1.5, 1.2 Hz, 1H), 6.92 (dd, $J = 9.1$, 9.0 Hz, 1H), 4.48 (ddd, $J = 8.4$, 8.1, 7.2 Hz, 1H), 3.92 (dd, $J = 8.5$, 1.6 Hz, 2H), 3.87 (m, 4H), 3.34 (m, 1H), 3.05 (m, 4H) 1.19 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 155.5 (d, $J_{C-F} = 220.4$ Hz), 154.6, 136.2 (d, $J_{C-F} = 7.3$ Hz), 133.4 (d, $J_{C-F} = 10.2$ Hz), 118.8 (d, $J_{C-F} = 4.1$ Hz), 113.8 (d, $J_{C-F} = 3.3$ Hz), 107.4 (d, 26.1), 76.2, 67.0, 51.1, 48.2, 46.2, 17.7. EMIE (Int. rel.) m/e 309(100), 209(90), 164(50), 44(90).

5.14. Síntesis de dipéptidos derivados de oxazolidinonas, 34a-h y 35a-h.

En una primera etapa en un matraz bola de 50 mL provisto de agitación magnética se agregó la oxazolidinona amino libre en DMF (5 mL). En una segunda etapa en un matraz bola de 100 mL provisto de agitación magnética se agregaron 1.1 eq de aminoácido protegido Fmoc junto con 1.5 eq de diisopropilcarbodiimida (DIC) y 1.5 eq de hidróxido de benzotriazol (HOBT) en DMF (5 mL), y se dejó reaccionar por 30 min. Posteriormente, las dos soluciones se mezclaron en un mismo matraz bola de 100 mL y se dejó en reacción durante 8 h. Posteriormente, la mezcla de la reacción se colocó en un vaso de precipitado de 500 mL y se le agregó agua hasta formar un precipitado blanco, el cual se filtró y secó a temperatura ambiente.

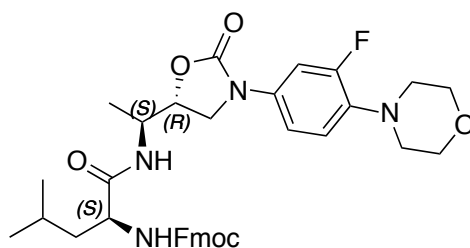


(9H-fluoren-9-il)metil((S)-1-(((S)-1-((R)-3-(3-flúor-4-morfolinofenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)amino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)carbamato (35a). Rendimiento 55%. Sólido blanco. P.f. 135.5-136.5 °C. FTIR: 3293 3023, 2955, 1754, 1699, 1656, 1514, 1448, 1226, 1106 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.75 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.52 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 7.37 (m, 3H), 7.28 (m, 5 H), 7.18 (m, 2H), 7.06 (m, 1H), 6.89 (t, J = 9.1, 1H), 6.35 (sa, 1H), 5.40 (sa, 1H), 4.43 (m, 3H), 4.29 (m, 1H), 4.17 (t, J = 6.7 Hz, 1H), 4.13 (m, 1H), 3.85 (m, 4H), 3.75 (t, J = 9.1 Hz, 1H), 3.56 (m, 1H), 3.04 (m, 6H), 1.15 (d, J = 6.3 Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 170.1, 156.0, 155.9, 155.5 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 246.1 Hz), 154.6, 143.6, 141.3, 136.7 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 8.6 Hz), 136.1, 132.8 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 10.1 Hz), 129.2, 128.7, 127.7, 127.2, 127.0, 125.0, 120.0, 118.8 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 4.1 Hz), 114.0 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 3.2 Hz), 107.5 (d, 26.1), 74.3, 67.1, 66.9, 56.3, 51.0, 47.8, 47.7, 47.1, 38.0, 14.4. EMIES: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 679$ uma, $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 701$ uma, $[\text{M}+\text{K}]^+ = 717$ uma.

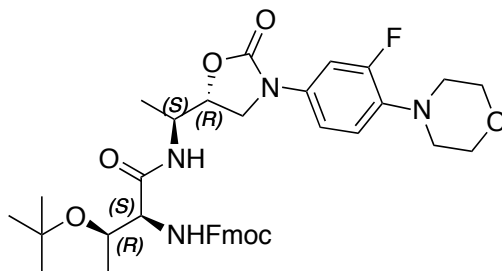


(9H-fluoren-9-il)metil((S)-3-(4-(tert-butoxi)fenil)-1-(((S)-1-((R)-3-(3-flúor-4-morfolinofenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato (35b). Sólido blanco. Rendimiento 38%. P.f. 115.5-116.5 °C. FTIR: 3294, 3023, 2976, 1748, 1710, 1655, 1513, 1448, 1227, 1105 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.72 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.53 (dd, J = 7.2, 6.9 Hz, 2H), 7.40 (dd, J =

12.1, 2.1 Hz, 1H), 7.36 (m, 2 H), 7.26 (m, 2H), 7.08 (d, $J = 6.8$, 2H), 7.01 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 7.6$ Hz, 3H), 5.87 (sa, 1H), 4.48 (m, 1H), 4.32 (m, 3H), 4.13 (m, 2H), 3.83 (m, 4H), 3.76 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 3.57 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H), 3.00 (m, 6H), 1.26 (sa, 9H), 1.13 (d, $J = 5.8$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 171.0, 156.0, 155.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 245.1$ Hz), 154.5, 154.4 143.6, 141.2, 136.4 (d, $J_{\text{C-F}} = 8.9$ Hz), 133.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 10.4$ Hz), 131.0, 129.2, 128.7, 127.8, 127.5, 127.0, 124.9, 124.2 119.9, 118.8 (d, $J_{\text{C-F}} = 4.1$ Hz), 114.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 3.2$ Hz), 107.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 26.1$), 78.4, 74.3, 67.1, 66.9, 56.3, 51.0, 47.8, 47.7, 47.1, 38.4, 28.7, 14.4. EMIES: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 751$ uma, $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 773$ uma, $[\text{M}+\text{K}]^+ = 789$ uma.

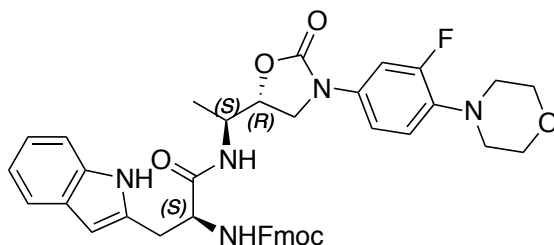


(9H-fluoren-9-il)metil((S)-1-(((S)-1-((R)-3-(3-flúor-4-morfolinofenil)-2-oxooxazolidin-5il)etil)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)carbamato (35c). Sólido blanco. Rendimiento 38%. P.f. 102.0-103.0 °C. FTIR: 3295, 3023, 2956, 1749, 1716, 1656, 1514, 1448, 1226, 1106 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.78 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.71 (m, 1H), 7.58 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 7.41 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.37 (m, 1H), 7.32 (t, $J = 7.5$ Hz, 2 H), 7.06 (m, 1H), 6.41 (sa, 1H), 5.21 (sa, 1H), 4.60 (m, 1H), 4.37 (m, 2H), 4.13 (m, 3H), 4.12 (m, 4H), 4.00 (m, 1H), 3.78 (m, 1H), 3.38 (m, 4H), 1.65 (m, 1H), 1.54 (m, 2H), 1.25 (d, $J = 5.9$ Hz, 3H), 0.95 (sa, 6H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 172.3, 155.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 254.2$ Hz), 155.0, 154.5, 143.6, 141.2, 136.4 (d, $J_{\text{C-F}} = 7.0$ Hz), 133.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 10.0$ Hz), 127.8, 127.0, 124.8, 120.0, 118.8 (d, $J_{\text{C-F}} = 5.4$ Hz), 114.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 4.0$ Hz), 107.8 (d, $J_{\text{C-F}} = 25.1$ Hz), 74.7, 67.0, 65.4, 53.6, 52.3, 47.7, 47.5, 47.1, 41.1, 24.7, 22.9, 14.3. EMIES: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 645$ uma, $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 667$ uma, $[\text{M}+\text{K}]^+ = 683$ uma.



(9H-fluoren-9-il)metil((2S)-3-(*tert*-butoxi)-1-(((S)-1-((R)-3-(3-flúor-4-morfolino-fenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)amino)-1-oxobutan-2-il)carbamato (35d).

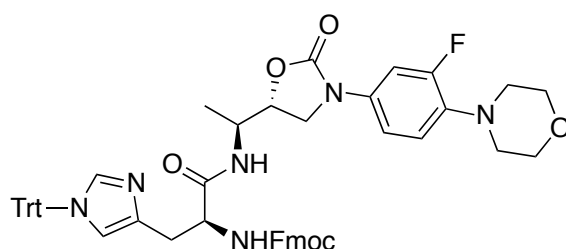
Sólido blanco. Rendimiento 35%. P.f. 84.5-86.5 °C. FTIR: 3300, 3023, 2973, 1749, 1719, 1670, 1514, 1448, 1224, 1048 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.77 (dd, $J = 7.4, 5.4$ Hz, 2H), 7.61 (d, $J = 7.5$ Hz, 3H), 7.42 (dd, $J = 7.3, 7.0$ Hz, 3H), 7.33 (dd, $J = 7.5, 7.0$ Hz, 2H), 7.10 (m, 1H), 5.09 (sa, 1 H), 4.64 (m, 1H), 4.41 (m, 2H), 4.25 (m, 2H), 4.18 (m, 2H), 4.01 (m, 5H), 3.86 (m, 1H), 3.24 (m, 4H), 1.29 (s, 9H), 1.24 (s, 3H), 1.08 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 169.7, 156.0, 155.9, 155.4 (d, $J_{\text{C-F}} = 258.1$ Hz), 143.6, 141.3, 127.8, 127.0, 125.0, 120.0, 119.9 (d, $J_{\text{C-F}} = 7.4$ Hz), 113.8 (d, $J_{\text{C-F}} = 3.4$ Hz), 107.7 (d, $J_{\text{C-F}} = 26.4$ Hz), 75.7, 74.5, 66.9, 66.5, 66.1, 58.9, 51.7, 47.8, 47.7, 47.2, 28.2, 17.2, 14.7. EMIES: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 689$ uma, $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 711$ uma, $[\text{M}+\text{K}]^+ = 729$ uma.



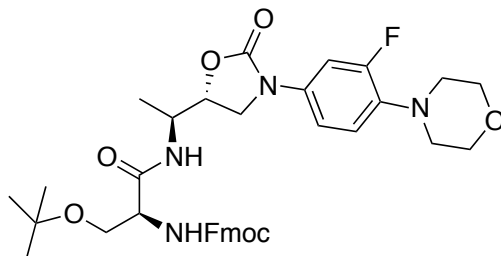
(9H-fluoren-9-il)metil((S)-1-(((S)-1-((R)-3-(3-flúor-4-morfolinofenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)amino)-3-(1H-indol-2-il)-1-oxopropan-2-il)carbamato (35e).

Sólido blanco. Rendimiento 38%. FTIR: 3293, 3065, 2952, 1743, 1722, 1662, 1515, 1229, 1111 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.76 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.67 (m, 1H), 7.55 (m, 2H), 7.39 (m, 2H), 7.29 (m, 4H), 7.11 (dd, $J = 7.4, 7.0$ Hz, 1H), 7.07 (dd, $J = 7.4, 7.0$ Hz, 1H), 7.02 (m, 2H), 6.08 (dd, $J = 9.2, 9.0$ Hz, 1H),

5.50 (sa, 1H), 4.45 (m, 3H), 4.21 (m, 1H), 4.05 (m, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.86 (m, 4H), 3.64 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H), 3.44 (dd, $J = 9.5, 9.0$ Hz, 1H), 3.31 (m, 1H), 3.16 (m, 1H), 3.04 (m, 4H), 1.04 (sa, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 177.3, 155.9, 155.8, 155.5 (d, $J = 231.7$ Hz), 144.0, 141.3, 136.9, 136.5 (d, $J = 9.5$ Hz), 132.8 (d, $J = 9.8$ Hz), 127.8, 127.6, 127.1, 125.3, 125.0, 122.9, 122.4, 120.2, 120.0, 118.7 (d, $J = 9.0$ Hz), 114.3, 112.7, 107.5 (d, $J = 25.7$ Hz), 74.2, 67.1, 66.9, 55.8, 51.0, 47.5, 47.4, 47.0, 28.4, 13.9. EMIES: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 718$ uma, $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 740$ uma, $[\text{M}+\text{K}]^+ = 756$ uma.

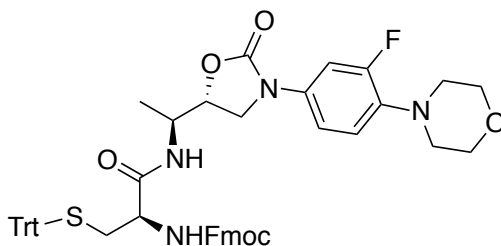


(9H-fluoren-9-il)metil((S)-1-(((S)-1-((R)-3-(3-flúor-4-morfolinofenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)amino)-1-oxo-3-(1-tritil-1H-imidazol-4-il)propan-2-il)carbama-to (35f). Sólido blanco. Rendimiento 36%. P.f. 108.5-109.5 °C. FTIR: 3304, 3059, 2955, 1750, 1718, 1671, 1513, 1228, 1114 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.70 (m, 3H), 7.50 (m, 3H), 7.36 (m, 3H), 7.30 (m, 6H), 7.24 (m, 2H), 7.21 (m, 9H), 6.94 (m, 1H), 6.70 (m, 1H), 6.43 (sa, 1H), 5.07 (sa, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.31 (m, 1H), 4.21 (m, 2H), 4.09 (m, 1H), 3.80 (m, 5H), 3.75 (m, 2H), 2.93 (m, 4H), 2.57 (m, 2H), 1.27 (d, $J = 5.6$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 170.6, 155.7, 155.5 (d, $J = 244.2$ Hz), 154.1, 143.6, 141.2, 138.7, 136.2 (d, $J = 8.8$ Hz), 133.1 (d, $J = 9.6$ Hz), 132.4, 130.9, 129.4, 128.7, 128.1, 127.7, 127.0, 126.9, 125.0, 119.9, 118.7 (d, $J = 4.3$ Hz), 113.9 (d, $J = 2.0$ Hz), 107.5 (d, $J = 27.5$ Hz), 85.9, 74.8, 67.4, 66.9, 54.3, 50.9, 47.4, 47.0, 45.7, 33.6, 17.7. EMIES: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 912$ uma, $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 934$ uma, $[\text{M}+\text{K}]^+ = 950$ uma.



(9H-fluoren-9-il)metil((S)-3-(tert-butoxi)-1-(((S)-1-((R)-3-(3-flúor-4-morfolinofenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato (35g).

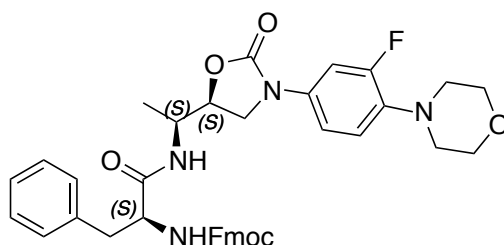
Sólido blanco. Rendimiento 29%. P.f. 80.0-81.0 °C. FTIR: 3296, 3020, 2969, 1736, 1715, 1669, 1514, 1225, 1114 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.73 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.52 (d, $J = 9.4$ Hz, 2H), 7.38 (m, 2H), 7.30 (m, 3H), 7.00 (m, 1H), 6.84 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 4.22 (m, 3H), 4.15 (m, 2H), 3.82 (m, 6H), 3.75 (dd, $J = 9.2, 8.9$ Hz, 1H), 3.37 (dd, $J = 8.9, 8.6$ Hz, 1H), 2.97 (m, 4H), 1.37 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 171.5, 156.5 (d, $J = 225.2$ Hz), 156.1, 154.6, 143.9, 141.2, 137.0 (d, $J = 7.3$ Hz), 133.5 (d, $J = 7.1$ Hz), 127.6, 127.0, 125.0, 119.9, 118.8 (d, $J = 4.5$ Hz), 114.1 (d, $J = 4.0$ Hz), 107.6 (d, $J = 20.0$ Hz), 78.2, 75.2, 68.1, 66.8, 61.5, 56.1, 50.9, 47.7, 47.1, 46.3, 27.3, 17.9. EMIES: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 675$ uma, $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 697$ uma, $[\text{M}+\text{K}]^+ = 713$ uma.



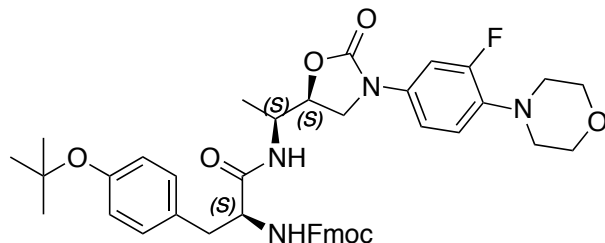
(9H-fluoren-9-il)metil ((R)-1-(((S)-1-((R)-3-(3-flúor-4-morfolinofenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)amino)-1-oxo-3-(trilitio)propan-2-il)carbamato (35h).

Sólido blanco. Rendimiento 33%. P.f. 91.5-92.5 °C. FTIR: 3296, 3008, 2951, 1754, 1714, 1675, 1514, 1232, 1110 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.74 (m, 2H), 7.55 (m, 2H), 7.39 (m, 9H), 7.26 (m, 8H), 7.20 (m, 3H), 7.01 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.83 (t, $J = 9.1$ Hz, 1H), 6.00 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 5.00 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 4.41 (m, 1H), 4.20 (m,

3H), 4.12 (m, 1H), 3.91(t, $J = 9.1$ Hz, 1H), 3.80 (m, 4H), 3.75 (dd, $J = 7.0, 6.9$ Hz, 1H), 3.69 (dd, $J = 9.0, 6.6$ Hz, 1H), 3.02 (m, 4H), 2.62 (d, $J = 6.5$ Hz, 2H), 1.18 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 170.0, 160.0 (d, $J = 233.2$ Hz), 155.9, 155.7, 144.0, 143.5, 141.3, 136.0 (d, $J = 13.0$ Hz), 133.6 (d, $J = 12.1$ Hz), 129.4, 128.1, 127.8, 127.1, 127.0, 124.9, 120.0, 118.3 (d, $J = 6.1$ Hz), 113.0 (d, $J = 3.1$ Hz), 107.7 (d, $J = 29.3$ Hz), 79.2, 74.5, 68.1, 66.9, 54.8, 51.0, 47.9, 47.7, 47.0, 30.4, 14.0.

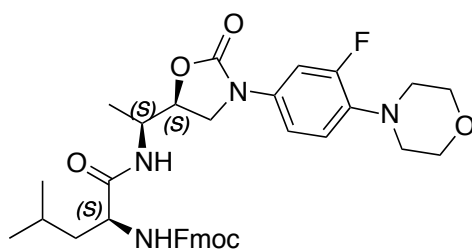


(9H-fluoren-9-il)metil((S)-1-(((S)-1-((S)-3-(3-flúor-4-morfolinofenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)amino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)carbamato (34a). Sólido blanco. Rendimiento 40%. P.f. 105.5-106.5 °C. FTIR: 3293 3023, 2955, 1754, 1699, 1656, 1514, 1448, 1226, 1106 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.70 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.41 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.38 (m, 3H), 7.22 (m, 2H), 7.10 (m, 6H), 6.89 (m, 1H), 5.63 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.57 (m, 1H), 4.50 (m, 1H), 4.37 (m, 1H), 4.25 (m, 1H), 4.15 (m, 1H), 4.06 (m, 1H), 3.79 (m, 3H), 3.56 (m, 1H), 2.92 (m, 6H), 1.65 (m, 1H), 1.26 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 172.3, 155.9, 155.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 244.1$ Hz), 154.9, 143.7, 141.2, 136.4 (d, $J_{\text{C-F}} = 8.9$ Hz), 132.9 (d, $J_{\text{C-F}} = 9.2$ Hz), 127.6, 127.0, 125.0, 120.0, 118.8 (d, $J_{\text{C-F}} = 3.7$ Hz), 114.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 3.2$ Hz), 107.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 26.3$ Hz), 75.2, 67.2, 66.9, 56.2, 50.9, 47.4, 47.1, 46.3, 38.0, 17.2. EMIES: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 679$ uma, $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 701$ uma, $[\text{M}+\text{K}]^+ = 717$ uma.



(9H-fluoren-9-il)metil((S)-3-(4-(tert-butoxi)fenil)-1-(((S)-1-((S)-3-(3-flúor-4-morfolinofenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato (34b).

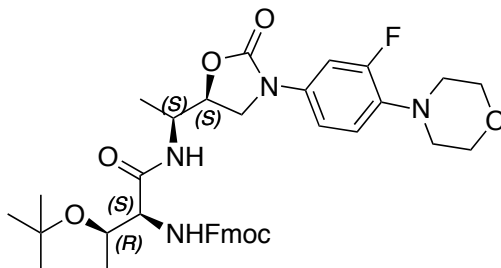
Sólido blanco. Rendimiento 40%. P.f. 98.5-99.5 °C. FTIR: 3294, 3023, 2976, 1748, 1710, 1655, 1513, 1448, 1227, 1105 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.72 (m, 2H), 7.44 (m, 2H), 7.43 (m, 1H), 7.37 (m, 2H), 7.27 (m, 2H), 7.03 (m, 2H), 6.87 (m, 3H), 6.20 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.63 (m, 1H), 4.38 (m, 3H), 4.18 (m, 1H), 4.09 (m, 1H), 3.81 (m, 3H), 3.69 (m, 1H), 2.93 (m, 6H), 1.38 (m, 9H), 1.27 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 176.8, 155.9, 155.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 254.2$ Hz), 154.7, 143.5, 141.2, 136.7 (d, $J_{\text{C-F}} = 8.2$ Hz), 131.7 (d, $J_{\text{C-F}} = 9.3$ Hz), 127.6, 127.0, 125.0, 119.9, 118.7 (d, $J_{\text{C-F}} = 4.4$ Hz), 114.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 3.7$ Hz), 107.8 (d, $J_{\text{C-F}} = 30.7$ Hz), 78.5, 74.7, 67.3, 66.9, 54.9, 50.8, 47.3, 47.2, 46.9, 37.2, 28.8, 17.4.



(9H-fluoren-9-il)metil((S)-1-(((S)-1-((S)-3-(3-flúor-4-morfolinofenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)carbamato (34c).

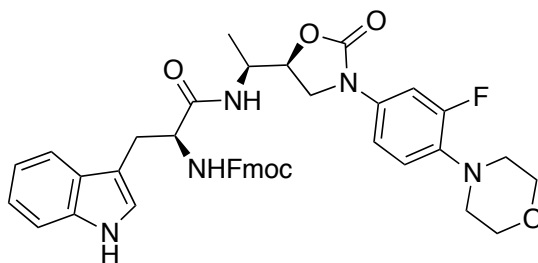
Sólido blanco. Rendimiento 38%. P.f. 110.5-111.5 °C. FTIR: 3295, 3023, 2956, 1749, 1716, 1656, 1514, 1448, 1226, 1106 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.70 (m, 2H), 7.49 (m, 3H), 7.34 (m, 2H), 7.22 (m, 2H), 7.01 (m, 1H), 6.81 (m, 1H), 6.44 (sa, 1H), 4.63 (m, 1H), 4.33 (m, 3H), 4.20 (m, 2H), 3.93 (t, $J = 8.9$ Hz, 1H), 3.82 (m, 4H), 3.78 (m, 1H), 2.96 (m, 4H), 1.73 (m, 2H), 1.59 (m, 1H), 1.31 (d, $J = 5.8$

Hz, 3H), 0.69 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H), 0.66 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 171.0, 156.1, 155.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 245.2$ Hz), 154.5, 143.6, 141.2, 136.4 (d, $J_{\text{C-F}} = 7.0$ Hz), 133.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 10.0$ Hz), 154.7, 1143.8, 141.2, 127.6, 127.0, 125.0, 119.9, 118.8, 114.0, 107.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 26.4$ Hz), 75.9, 67.0, 66.9, 53.6, 50.9, 47.5, 47.0, 46.8, 42.0, 24.6, 22.4, 21.4, 14.5. EMIES: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 645$ uma, $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 667$ uma, $[\text{M}+\text{K}]^+ = 683$ uma.



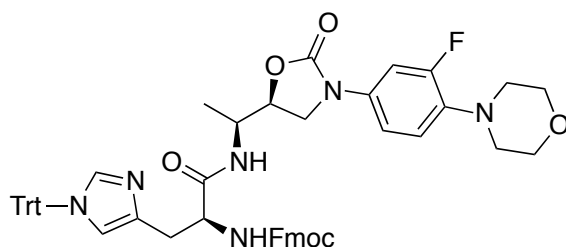
(9H-fluoren-9-il)metil((2S,3R)-3-(tert-butoxi)-1-(((S)-1-((S)-3-(3-flúor-4-morfolinofenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)amino)-1-oxobutan-2-il)carbamato (34d).

Sólido blanco. Rendimiento 41%. P.f. 106.5-107.5 °C. FTIR: 3300, 3023, 2973, 1749, 1719, 1670, 1514, 1448, 1224, 1048 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.75 (m, 2H), 7.60 (m, 2H), 7.48 (m, 1H), 7.39 (m, 2H), 7.30 (m, 2H), 7.06 (m, 1H), 6.88 (m, 1H), 5.85 (sa, 1 H), 4.69 (m, 2H), 4.36 (m, 2H), 4.34 (m, 1H), 4.21 (m, 1H), 4.13 (m, 1H), 3.94 (m, 1H), 3.85 (m, 4H), 3.78 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 3.03 (m, 4H), 1.37 (d, $J = 8.1$ Hz, 3H), 1.26 (s, 9H), 0.85 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 169.7, 156.0, 155.9, 155.4 (d, $J_{\text{C-F}} = 252.0$ Hz), 143.6, 141.2, 136.1 (d, $J_{\text{C-F}} = 13.0$ Hz), 133.1 (d, $J_{\text{C-F}} = 7.0$ Hz), 127.7, 127.0, 125.0, 120.0, 118.8 (d, $J_{\text{C-F}} = 3.2$ Hz), 113.8 (d, $J_{\text{C-F}} = 2.6$ Hz), 107.7 (d, $J_{\text{C-F}} = 26.4$ Hz), 79.6, 74.9, 67.0, 66.9, 66.2, 55.5, 51.0, 47.4, 47.1, 46.1, 28.2, 27.9, 18.1. EMIES: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 689$ uma, $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 711$ uma, $[\text{M}+\text{K}]^+ = 729$ uma.



(9H-fluoren-9-il)metil((S)-1-(((S)-1-((S)-3-(3-flúor-4-morfolinofenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)amino)-3-(1H-indol-3-il)-1-oxopropan-2-il)carbamato (34e).

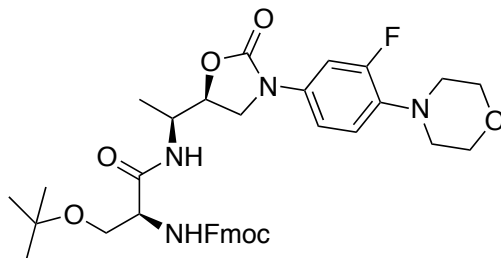
Sólido blanco. Rendimiento 36%. P.f. 110.5-111.5 °C. FTIR: 3293, 3065, 2952, 1743, 1722, 1662, 1515, 1229, 1111 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.75 (t, $J = 9.1$ Hz, 2H), 7.55 (m, 3H), 7.38 (m, 2H), 7.32 (m, 2H), 7.28 (m, 2H), 7.17 (m, 1H), 7.11 (m, 1H), 6.99 (m, 2H), 6.88 (m, 1H), 5.92 (sa, 1 H), 4.43 (m, 3H), 4.19 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.05 (m, 1H), 3.95 (m, 1H), 3.86 (m, 4H), 3.59 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H), 3.41 (dd, $J = 9.0, 6.4$ Hz, 1H), 3.29 (m, 1H), 3.15 (m, 1H), 1.00 (m, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 171.2, 155.4 (d, $J_{\text{C-F}} = 252.0$ Hz), 154.3, 154.2, 143.7, 141.3, 137. (d, $J_{\text{C-F}} = 10.3$ Hz), 136.2, 131.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 13.9$ Hz), 127.8, 127.2, 127.0, 125.0, 123.4, 122.4, 120.0, 119.9 (d, $J_{\text{C-F}} = 7.4$ Hz), 119.7, 114.0 (d, $J_{\text{C-F}} = 3.2$ Hz), 111.3, 107.5 (d, $J_{\text{C-F}} = 21.8$ Hz), 74.1, 67.1, 66.9, 55.9, 51.0, 47.5, 47.4, 47.1, 28.5, 14.1. EMIES: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 718$ uma, $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 740$ uma, $[\text{M}+\text{K}]^+ = 756$ uma.



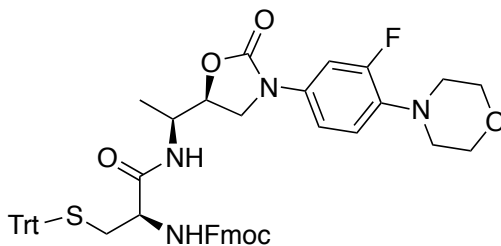
(9H-fluoren-9-il)metil((S)-1-(((S)-1-((R)-3-(3-flúor-4-morfolinofenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)amino)-1-oxo-3-(1-tritil-1H-imidazol-4-il)propan-2-il)carbamato (34f).

Sólido blanco. Rendimiento 37%. P.f. 134.5-135.5 °C. FTIR: 3304, 3059, 2955, 1750, 1718, 1671, 1513, 1228, 1114 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.67 (m, 3H), 7.50 (m, 3H), 7.30 (m, 5H), 7.22 (m, 9H), 7.00 (m, 7H), 6.77 (dd, $J = 9.5, 8.9$ Hz, 1H), 6.6 (sa, 1H), 4.42 (m, 1H), 4.37 (m, 1H), 4.23 (m, 2H), 4.10 (m, 2H), 3.77 (m, 6H), 2.95 (m, 6H), 1.13 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 178.3, 155.5 (d, $J = 252.0$ Hz), 155.1, 154.8, 143.5, 141.0, 136.1, 134.0, 133.6, 132.6, 130.9, 129.6, 128.8, 128.2, 127.8, 127.1, 127.0, 124.9, 120.1, 119.0 (d, $J = 1.6$ Hz), 114.1, 107.7 (d, $J = 27.4$ Hz), 79.4, 73.6, 67.7, 66.9,

54.9, 51.0, 48.0, 47.8, 47.7, 29.6, 17.8. EMIES: $[M+H]^+ = 912$ uma, $[M+Na]^+ = 934$ uma, $[M+K]^+ = 950$ uma.



(9H-fluoren-9-yl)metil((S)-3-(tert-butoxi)-1-(((S)-1-((S)-3-(3-flúor-4-morfolinofenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamato(34g). Sólido blanco. Rendimiento 30%. P.f. 91.0-92.0 °C. FTIR: 3296, 3020, 2969, 1736, 1715, 1669, 1514, 1225, 1114 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.74 (m, 2H), 7.52 (m, 2H), 7.38 (m, 3H), 7.30 (m, 2H), 7.00 (m, 1H), 6.84 (m, 1H), 6.79 (s, 1H), 5.59 (s, 1H), 4.63 (m, 1H), 4.42 (m, 1H), 4.23 (m, 2H), 4.16 (m, 2H), 3.82 (m, 6H), 3.74 (dd, $J = 9.2, 9.1$ Hz, 1H), 3.37 (dd, $J = 8.9, 8.4$ Hz, 1H), 2.97 (m, 4H), 1.36 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 171.0, 156.5 (d, $J = 225.1$ Hz), 156.1, 154.6, 143.9, 141.2, 136.2 (d, $J = 9.0$ Hz), 133.5 (d, $J = 9.8$ Hz), 127.6, 127.0, 125.0, 119.9, 118.8 (d, $J = 4.5$ Hz), 113.9 (d, $J = 3.5$ Hz), 107.6 (d, $J = 18.9$ Hz), 78.2, 75.4, 68.1, 66.8, 61.5, 56.1, 50.9, 47.4, 47.0, 46.3, 27.3, 17.9. EMIES: $[M+H]^+ = 675$ uma, $[M+Na]^+ = 697$ uma, $[M+K]^+ = 713$ uma.

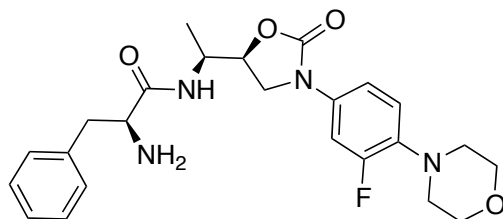


(9H-fluoren-9-yl)metil ((R)-1-(((S)-1-((S)-3-(3-flúor-4-morfolinofenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)amino)-1-oxo-3-(trilitio)propan-2-il)carbamato (34h). Sólido blanco. Rendimiento 33%. P.f. 116.0-117.0 °C. FTIR: 3296, 3008, 2951,

1754, 1714, 1675, 1514, 1232, 1110 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.71 (m, 2H), 7.50 (m, 2H), 7.36 (m, 3H), 7.28 (m, 11H), 7.05 (m, 7H), 6.86 (m, 1H), 4.63 (m, 1H), 4.38 (m, 2H), 4.11 (m, 3H), 3.84 (m, 1H), 3.81 (m, H), 3.76 (m, 1H), 3.01 (m, 1H), 2.93 (m, 4H), 2.80 (m, 1H), 1.20 (s, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 167.0, 155.8 (d, $J = 233.2$ Hz), 155.7, 154.3, 143.5, 141.5, 135.7 (d, $J = 10.0$ Hz), 133.2 (d, $J = 11.1$ Hz), 132.4, 129.5, 128.2, 128.1, 127.6, 127.0, 125.2, 119.8, 118.3 (d, $J = 4.0$ Hz), 114.0, 107.7 (d, $J = 27.8$ Hz), 78.3, 74.8, 68.3, 66.9, 55.7, 50.9, 47.3, 47.0, 46.5, 30.4, 17.0.

5.15. Desprotección de análogo de tipo dipéptido 36a.

La eliminación del grupo Fmoc presente en el aminoácido acoplado al análogo de linezólida (**36a**) se lleva a cabo en un matraz de 50 mL con piperidina (1.5 eq) en DCM por 4 h a temperatura ambiente, el crudo de reacción se purifica mediante columna en una fase orgánica 9:1 acetato de etilo: metanol.

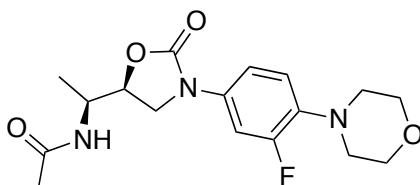


(S)-2-amino-N-((S)-1-((S)-3-(3-fluor-4-morfolinofenil)-2-oxooxazolidin-5-yl)etil)-3-fenilpropanamida (36a). Sólido blanco. Rendimiento 30%. FTIR: 3334, 3025, 2928, 1741, 1659, 1512, 1227, 1111 cm^{-1} . RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7.58 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 7.24 (m, 5H), 7.42 (dd, $J = 14.4, 2.6$ Hz, 1H), 7.06 (dd, $J = 9.0, 2.6$ Hz, 1H), 6.89 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H), 4.65 (dd, $J = 8.8, 6.5$ Hz, 1H), 4.35 (ddd, $J = 9.2, 6.8, 2.2$ Hz, 1H), 3.93 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H), 3.80 (dd, $J = 9.1, 6.6$ Hz, 1H), 3.83 (m, 4H), 3.56 (m, 1H), 3.16 (dd, $J = 14.3, 4.0$ Hz, 1H), 3.03 (m, 4H), 2.70 (dd, $J = 13.8, 8.8$ Hz, 1H), 1.96 (sa, 3H), 1.30 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 170.1, 155.5 (d, $J = 244.9$ Hz), 154.4, 137.2, 136.7 (d, $J = 9.1$ Hz), 133.0 (d, $J = 10.5$ Hz), 129.2, 128.7, 126.9, 118.8 (d, $J = 4.2$ Hz), 113.8

(d, $J = 3.2$ Hz) 107.3 (d, $J = 26.2$ Hz), 75.2, 66.9, 56.0, 51.0, 47.6, 46.3, 40.4, 17.5. EMIES: $[M+H]^+ = 457$ uma, $[M+Na]^+ = 479$ uma.

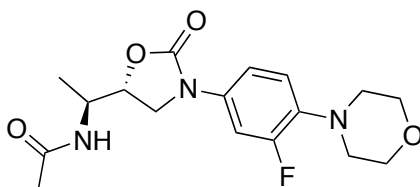
5.16. Síntesis de análogos de linezólida, **38** y **39**.

En un matraz de 100 mL provisto de agitación magnética se colocó **32** y/o **33** disuelto en DCM seco bajo atmósfera de argón a 78 °C. Se agregó gota a gota TEA, y se dejó en agitación durante 15 min. Posteriormente se adicionó una solución de cloruro de acetilo gota a gota por 45 min a la misma temperatura. Transcurrido el tiempo a la solución orgánica se realizarón lavados con solución salina, separado, secado con Na_2SO_4 y filtrado. El solvente fue separado por evaporación reducida.



***N*-((*S*)-1-((*S*)-3-(3-fluor-4-morfolinifenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)acetamida**

(38). Sólido blanco. Rendimiento 70%. P.f. 196-198 °C. FTIR: 3323, 3063, 2920, 1741, 1659, 1514, 1220 cm^{-1} . RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.42 (dd, $J = 15.0$, 2.5 Hz, 1H), 7.05 (dd, $J = 8.8$, 2.5 Hz, 1H), 6.90 (dd, $J = 9.26$, 9.0 Hz, 1H), 6.41 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.60 (m, 1H), 4.45 (m, 1H), 3.94 (t, $J = 9.0$ Hz, 4H), 3.88 (m, 5H), 3.05 (m, 4H), 1.97 (s, 1H), 1.35 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$): δ 170.9, 155.4 (d, $J = 245.0$ Hz), 154.6, 136.4 (d, $J = 8.7$ Hz), 132.8 (d, $J = 10.5$ Hz), 118.7 (d, $J = 4.2$ Hz), 113.9 (d, $J = 3.0$ Hz), 107.5 (d, $J = 26.0$ Hz), 75.6, 66.9, 51.0, 47.6, 46.2, 22.1, 17.8. EMIES: $[M+H]^+ = 352$ uma, $[M+Na]^+ = 374$ uma.



***N*-((*S*)-1-((*R*)-3-(3-fluor-4-morfolinifenil)-2-oxooxazolidin-5-il)etil)acetamida**

(39). Sólido blanco. Rendimiento 76%. P.f. 140-142 °C. FTIR: 3323, 3063, 2920, 1741, 1659, 1514, 1220 cm^{-1} . RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7.45 (dd, $J = 15.0$, 2.5 Hz, 1H), 7.13 (dd, $J = 9.1$, 2.5 Hz, 1H), 6.93 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.02 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.70 (m, 1H), 4.25 (m, 1H), 4.08 (t, $J = 9.1$ Hz, 4H), 3.88 (m, 4H), 3.78 (dd, $J = 9.0$, 8.8 Hz, 1H), 3.04 (m, 4H), 2.00 (s, 1H), 1.25 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 169.9, 155.0 (d, $J = 242.2$ Hz), 154.4, 136.5 (d, $J = 8.8$ Hz), 132.8 (d, $J = 10.5$ Hz), 118.7 (d, $J = 4.1$ Hz), 114.0 (d, $J = 3.0$ Hz), 107.5 (d, $J = 26.0$ Hz), 74.4, 66.9, 51.0, 47.7, 47.6, 23.2, 13.4. EMIES: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 352$ uma, $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 374$ uma.

5.17. Estudio antibacteriano de compuestos dipéptido-oxazolidinona y análogos de linezólida 30, 31, 32, 33, 34a-h, 35a-h, 38 y 39 mediante microdilución en caldo.

En el ensayo de la actividad antibacteriana se utilizaron 11 cepas de bacterias (siete Gram positivas y cuatro Gram negativas), de las cuales siete son aislados clínicos de exudados faríngeos de niños menores de cinco años de guarderías de Culiacán, Sinaloa y proporcionadas por el Laboratorio de Bacteriología del Instituto Nacional de Pediatría de México, D.F. y cuatro cepas control ATCC (American Type Culture Collection) (DIFCO Laboratories, Michigan, U.S.A.). En la Tabla 38 se enlistan las bacterias utilizadas.

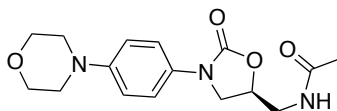
Tabla 38. Bacterias empleadas en el ensayo de la actividad antibacteriana.

Cepas ATCC	Aislados Clínicos
<i>Staphylococcus aureus</i> 25923	<i>Streptococcus grupo A</i> 01
<i>Enterococcus faecalis</i> 29212	<i>Staphylococcus aureus</i> 05
MRSA 43300	<i>Escherichia coli</i> 09
<i>Escherichia coli</i> 25922	<i>Salmonella thypi</i> 13
	MRSA-03
	MRSA-04
	MRSA-05

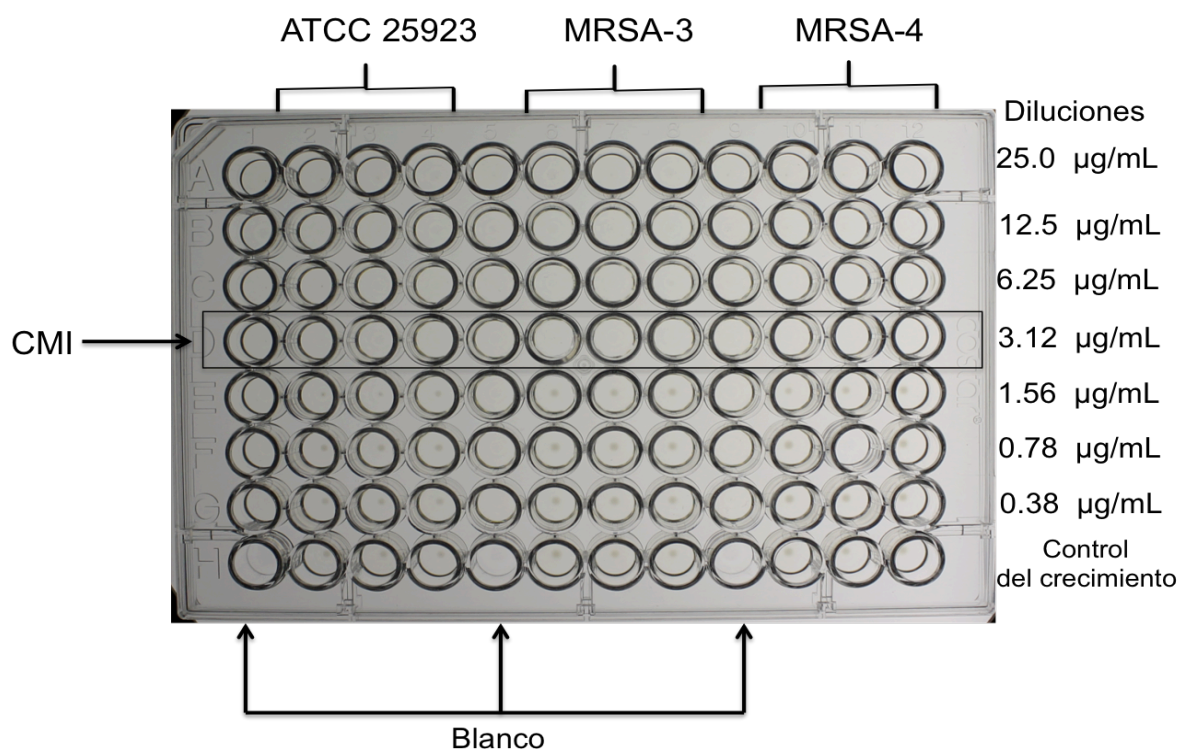
MRSA: *Staphylococcus aureus* metilino resistente.

La actividad antibacteriana se determinó mediante el ensayo de microdilución en caldo realizado en placas de 96 pozos tipo ELISA. Los 26 compuestos fueron evaluados en concentraciones diferentes de 0.35-25 µg/mL, se disolvieron en DMSO al 5% y fueron esterilizadas en autoclave. Por otro lado, las cepas previamente caracterizadas por su morfología y pruebas bioquímicas diversas, se cultivaron en cajas Petri en medio agar soya tripticaseína (TSA) a 37 °C durante 18-20 h. Transcurrido el tiempo, se tomaron colonias aisladas y se suspendieron en solución salina (NaCl 0.85%) hasta alcanzar un valor de 0.5 de McFarland (1×10^8 UFC/mL). La suspensión (100 µL) se diluyó con caldo Mueller-Hinton (MH) (9.9 mL), se tomaron alícuotas de 50 µL (1×10^6 UFC/mL como inóculo a probar) y se mezclaron con 50 µL de cada concentración del compuesto. En cada ensayo se empleó un control de crecimiento (bacteria y solvente) y un blanco (compuesto y MH). La actividad antibacteriana se registró como positiva en el pozo en el cual se observó inhibición del crecimiento (ausencia de botón de crecimiento o turbidez en el pozo). Los experimentos se realizaron por triplicado. Por último, se determinó la concentración mínima bactericida (CMB) inoculando por separado cada pozo donde no se observó crecimiento bacteriano incluyendo al de la MIC en medio TSA, las cuales se incubaron de 18-20 h a 37°C. El medio sin crecimiento correspondiente a la mínima concentración de extracto probada se establece como el valor CMI (Figura 83 y 84).

Se evaluó previamente La actividad antibacteriana del antibiótico linezólida (0.5-16 µg/mL) se evaluó frente a las bacterias utilizadas como comparación, confirmando su actividad solo contra bacterias Gram positivas. Las cepas ATCC *Staphylococcus aureus* 25923 y *Enterococcus faecalis* 29212 fueron control positivo en ensayo, las CMI concordaron con lo reportado en el CSLI.⁴⁸ La cepa ATCC de *Escherichia coli* 25922 se empleó como control negativo, ya que presenta resistencia intrínseca al antibiótico linezólida donde su actividad nula se comparó con las dos bacterias Gram negativas de aislados clínicos presentes (Tabla 39).

Tabla 39. CMI de linezólida frente a bacterias distintas

Bacteria	CMI ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Staphylococcus aureus</i> 25923	4
<i>Enterococcus faecalis</i> 29212	4
MRSA 43300	4
<i>Escherichia coli</i> 25922	>16
MRSA-3	4
MRSA-4	8
MRSA-5	8
<i>Streptococcus grupo A</i> 01	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> 05	4
<i>Escherichia coli</i> 09	>16
<i>Salmonella thypi</i> 13	>16

**Figura 83.** Determinación de la CMI en placa de 96 pocillos de **34f** frente a tres cepas bacterianas Gram positivas.

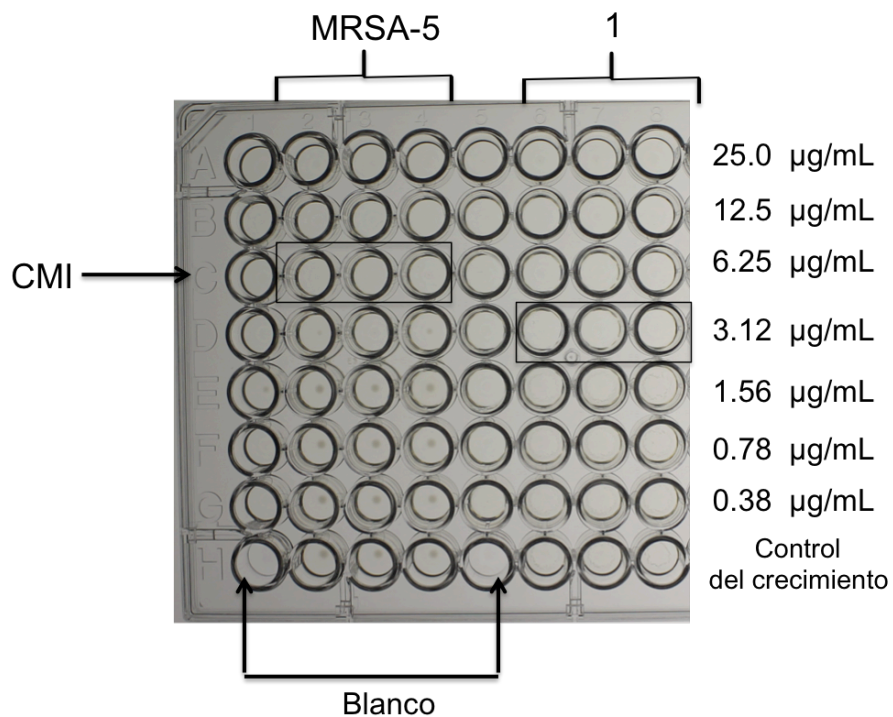


Figura 84. Determinación de la CMI en placa de 96 pocillos de **34f** frente a dos cepas bacterianas Gram positivas.

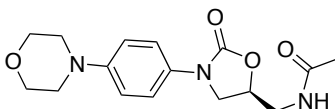
5.18. Estudio antibacteriano de compuestos dipéptido-oxazolidinona **30**, **31**, **32**, **33**, **34a-h**, **35a-h**, **38** y **39** mediante Kirby-Bauer / Difusión en agar.

El efecto antibacteriano de los dipéptidos sintetizados también se analizó por el método de Kirby-Bauer o sensidisco. El método consiste en la difusión del compuesto sobre el agar sembrado con bacteria, donde la presencia de un halo de inhibición sobre la periferia del disco determina la actividad. Como primer paso se llevó a cabo el sembrado de las cepas a evaluar en medio TSA y su incubación durante 18-20 h a 37 °C hasta su fase logarítmica. Posteriormente se prepararon suspensiones de las bacterias en 2 mL de solución salina 0.85% a una concentración de 10^8 UFC/mL ajustado en un espectrofotómetro de UV a una longitud de onda de 625nm con un porcentaje de transmitancia de 62.7 ± 0.5 . un hisopo estéril se utilizó para inocular el agar con la bacteria, éste se humedeció con la suspensión bacteriana, se eliminó el exceso y se estrió en la caja con medio en tres direcciones diferentes por la totalidad de la superficie del agar (inóculo masivo). Una vez que el inóculo estuvo seco (5min), los discos de

6 mm de papel filtro Whatman N°1 con una carga de 50 µg de los dipéptidos a evaluar se colocaron sobre el agar.

Por último, las placas se incubaron durante 18-20 h a 37 °C, se observó el halo de inhibición y el diámetro se midió con un vernier. Previo a la evaluación de los dipéptidos análogos a linezólida, se evaluó como control positivo a la linezólida, para medir los halos de inhibición frente a las bacterias Gram negativas y Gram positivas. En las bacterias Gram negativas se presentó la resistencia intrínseca conocida, mientras que las Gram positivas se observó la inhibición del crecimiento. En la Tabla 40 se enlistan los diámetros medidos en el estudio. Estos diámetros concuerdan a los reportados para las cepas control por el CSLI⁶⁴ (*Staphylococcus aureus* 25923 D = 25-30 mm y *Escherichia coli* 25922 D = 0 mm) (Figura 85 y 86).

Tabla 40. Diámetro (en mm) de los halos de inhibición en bacterias evaluadas frente a linezólida



Bacteria	D (30 µg)
<i>Staphylococcus aureus</i> 25923	26
MRSA 43300	22
MRSA-3	23
MRSA-4	21
MRSA-5	21
<i>Streptococcus grupo A</i> 01	17
<i>Staphylococcus aureus</i> 05	21
<i>Escherichia coli</i> 25922	0

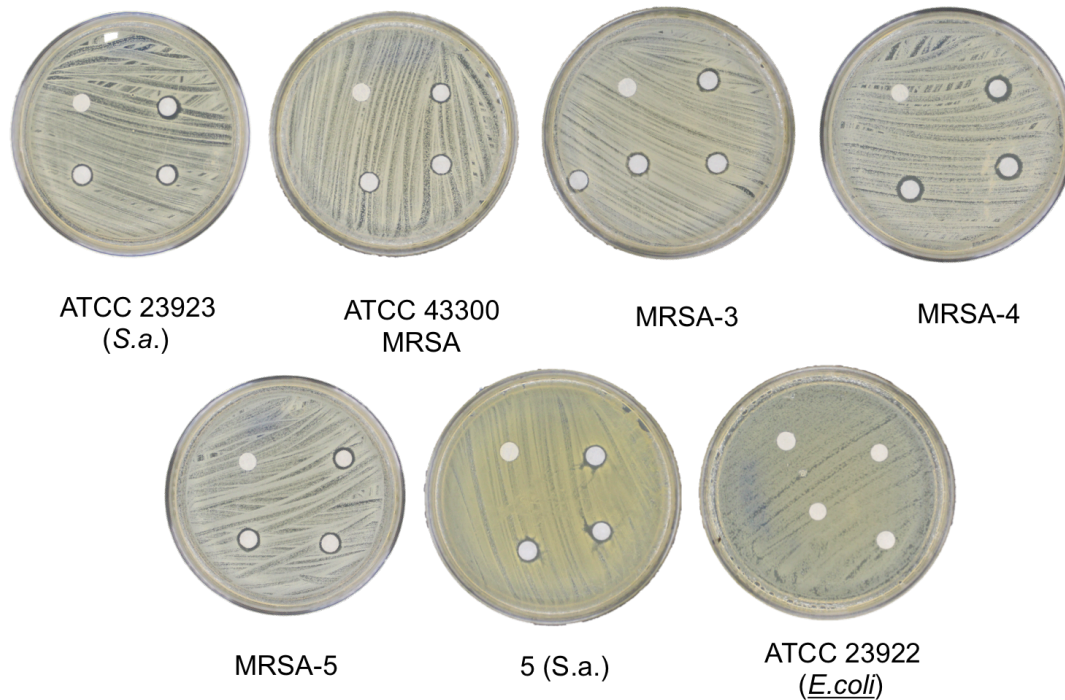


Figura 85. Evaluación de **34f** frente a bacterias diversas mediante el método Kirby-Bauer.

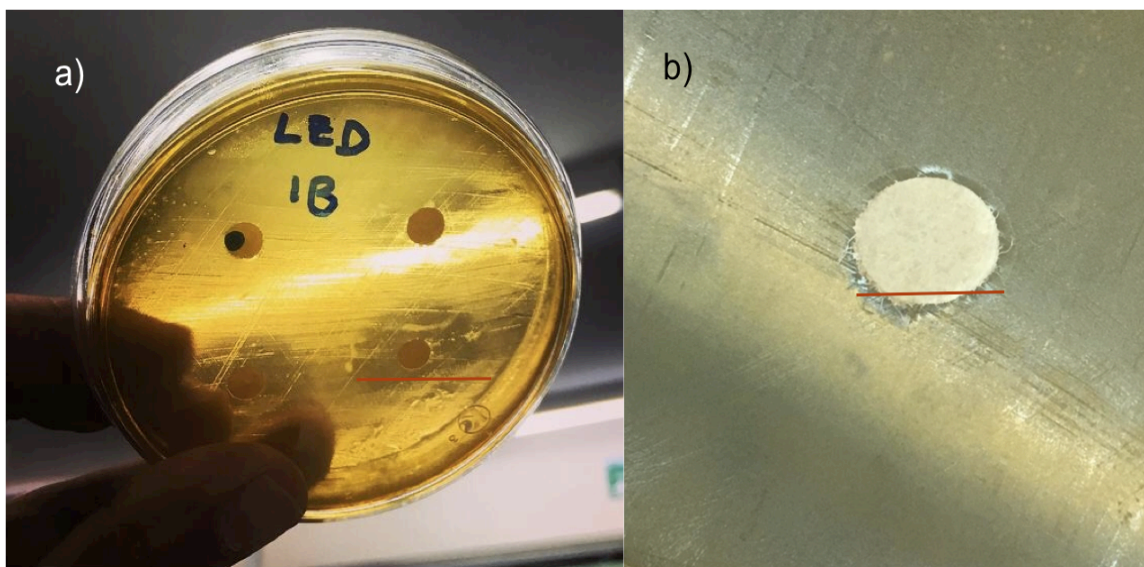


Figura 86. Imágenes de la placa con cultivo de *Streptococcus Gpo.* A (1) al probar con linezólida (a) y los compuestos **34a**, **34f**, **35a**, **35d**, **35f** y **35h**.

5.19. Estudio de acoplamiento molecular automatizado de 30, 31, 32, 33, 34a-h, 35a-h, 38 y 39 (docking).

Los estudios de acoplamiento molecular automatizado de 16 estructuras análogas de linezólida se realizaron con la estructura cristalográfica de ARN ribosomal (ARNr) de *E. coli* en el programa MOE 2018.⁶⁹ La estructura cristalina de ARNr ribosomal se obtuvo del *Protein Data Bank* (PDB) para realizar el *docking* con análogos de linezólida de manera similar al *docking* mostrado por Shaw y col.⁵⁶ (la estructura PDB ID: 2AW4 usada en el modelo que se muestra en el artículo de Shaw y col.⁵⁶ fue eliminada y sustituida en la base de datos de PDB por 4V4Q, por lo que se utilizó esta última).

5.19.1. Preparación de las estructuras de proteína.

En la estructura cristalográfica se eliminaron todos los ligandos (por ejemplo, ion magnesio, moléculas de agua y proteínas ribosomales. También se eliminó una cadena repetida de ARN ribosomal. Una vez que la estructura del ARN ribosomal de *E. coli* fue arreglada, la geometría de los modelos se optimizó con la aplicación QuickPrep implementada en MOE que agrega átomos de hidrógeno y establece los estados de protonación, fija los átomos del receptor lejos del ligando y deja los átomos del receptor cerca del ligando.

5.19.2. Estudio de acoplamiento molecular automatizado de linezólida con MOE 2018.

Después de haberse preparado la estructura del ARN ribosomal se realizó una minimización de energía a la estructura de linezólida. Los átomos, tanto del ligando como del receptor, se consideraron flexibles en el *docking*. El acoplamiento molecular se hizo con el campo de fuerza Amber10:EHT utilizando las opciones pre-determinadas (por ejemplo, 500 interacciones en total con 30 intentos consecutivos para encontrar una solución mejor). Al final se guardó el resultado del acoplamiento mejor.

El *docking* con MOE reveló que el software es capaz de acoplar linezólida en el sitio de la fosforiltransferasa (SFT); sin embargo, a diferencia del modelo mostrado por Shaw y colaboradores donde el flúor está orientado hacia el frente,⁵³ en este modelo obtenido el sustituyente flúor unido al anillo aromático de linezólida se presenta hacia atrás (Figura 87).

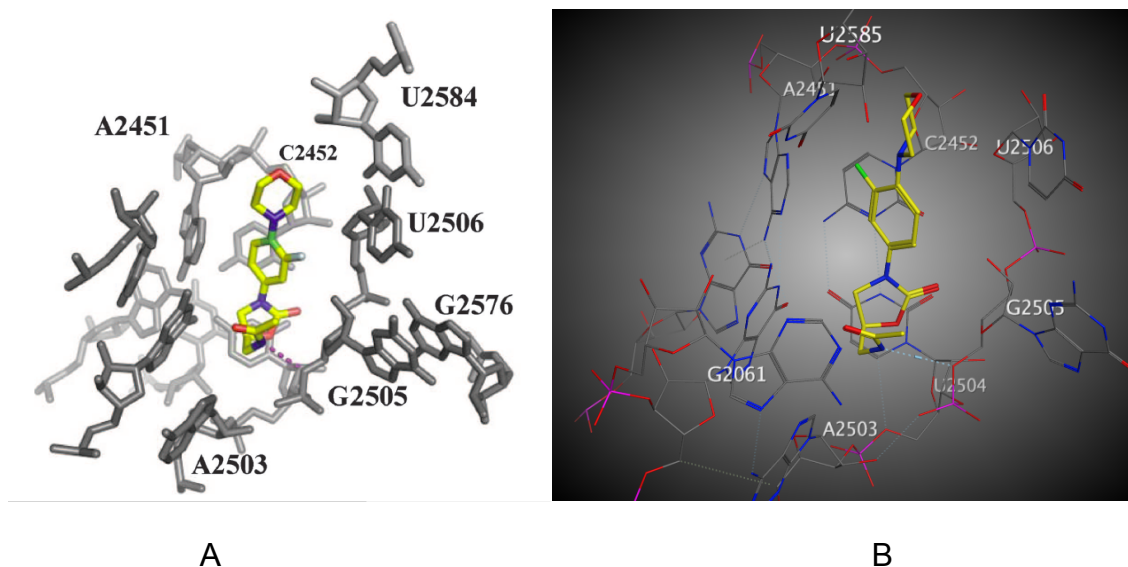


Figura 87. Diferencia en la orientación del sustituyente flúor entre el *docking* reportado por Shaw y col.⁵³ (A) y el obtenido en este estudio (B).

En el *docking* con MOE de linezólida (B) es posible observar la interacción señalada por el programa (enlace de hidrógeno) entre el hidrógeno de la amina de linezólida y el oxígeno 5' del grupo fosfato del residuo **G2505** del ARN ribosomal (ARNr). Esto es similar a lo reportado por Shaw y colaboradores.⁵⁶ En este acoplamiento el valor de *score* es bueno y fue de -7.21. También se realizó un *docking* de linezólida donde se obtuvo un valor de RMSD 1.17 Å

Con el fin de verificar la consistencia y reproducibilidad de la pose reportada por MOE 2018 se decidió realizar un segundo *docking* de linezólida en SFT del mismo fragmento de ARNr de *E. coli*, pero ahora con el programa LEDOCK 2018. En este segundo análisis con LEDOCK se obtuvo básicamente la misma pose obtenida por MOE (Figura 88).

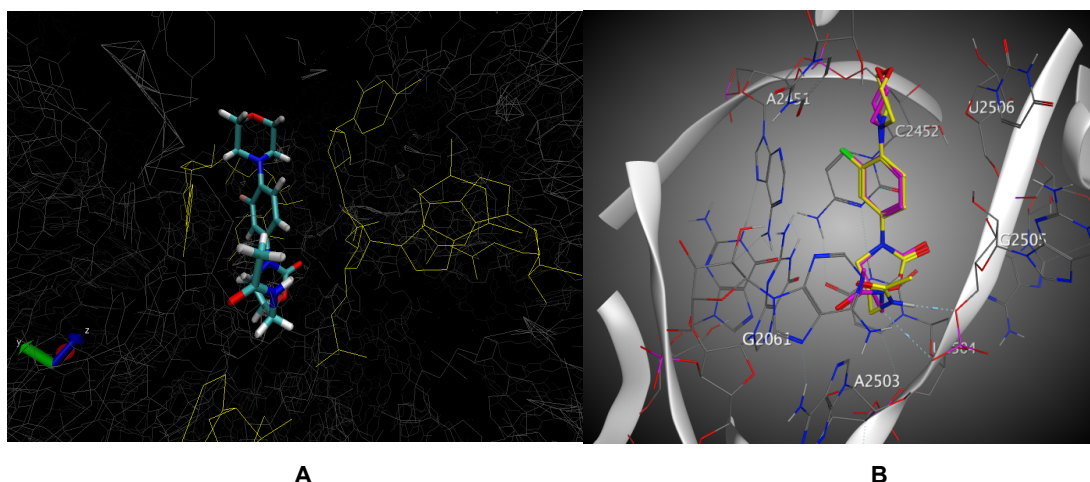


Figura 88. A) *Docking* en LEDOCK. B) Reproducibilidad del *docking* de linezólida en MOE y LEDOCK. *Docking* de linezólida con LEDOCK (morado) y *docking* de linezólida con MOE (amarillo).

Al trasladar los datos del *docking* hecho con LEDOCK al visualizador de MOE es posible verificar la reproducibilidad del acoplamiento de linezólida en SFT. En la Figura 59B se observa el empalme casi perfecto de la pose de linezólida con LEDOCK (color morado) y linezólida con MOE (color amarillo). El valor de *score* obtenido con LEDOCK para linezólida fue de -6.02 Kcal/mol. La orientación del flúor diferente en este modelo, con respecto al modelo presentado por Shaw,⁵⁶ puede deberse al refinamiento de los algoritmos del software en los últimos años en la búsqueda de predicciones más precisas y al hecho de haber utilizado la estructura cristalina más actual de ARNr de *E. coli* PDB ID: 4V4Q que sustituye la estructura PDB ID: 2AW4 en la base de datos de *Protein Data Bank*.⁷⁰

Por último, para visualizar mejor cuáles estructuras fueron las que tuvieron puntuación mayor en el *docking* se determina el *score*. El *score* es un puntaje que asigna el programa después de realizar varios cálculos y que está relacionado con la calidad del acoplamiento. Los puntajes más bajos (valores más negativos en color verde) indican los acoplamientos más favorables.

5.20. Actividad antiparasitaria *in vitro* de análogos de linezólida 30, 31, 32, 33, 34a-h, 35a-h, 38 y 39 contra *Giardia duodenalis*.

El cultivo de trofozoitos de *Giardia duodenalis* se realizó en un medio TYI-S-33 adicionado con antibiótico (0.5% v/v) y suero fetal bovino inactivado (SFB). Los reactivos utilizados para preparar el medio (Tabla 41) se disolvieron en agua tridestilada estéril, ajustando a pH 7 con NaOH 1.0 N y posteriormente se esterilizó el medio por filtración.⁷¹

Tabla 41. Reactivos empleados en el medio de cultivo de *G. duodenalis*.

Reactivo	Cantidad
NaCl	200 mg
K ₂ HPO ₄	100 mg
KH ₂ PO ₄	50 mg
Peptona tripticasa	2 g
Extracto de levadura	1 g
D - (+) - Glucosa	1 g
Cisteína	200 mg
Ác. ascórbico	20 mg
Citrato férrico	2.28 mg
Bilis	50 mg
Antibiótico	500 µL
SFB	10 mL
Agua tridestilada	100 mL

5.20.1. Criopreservación de la cepa de *G. duodenalis*

La cepa de *G. duodenalis* se preservó en medio TYI-S-33 suplementado con SFB al 20 % (v/v) y DMSO al 10% (v/v). Un concentrado de trofozoitos de *G. duodenalis* se preparó a partir de un cultivo de 48 h de incubación, por lo que los tubos con el cultivo fueron introducidos en hielo durante 40 min para desprender los parásitos de las paredes, se centrifugaron a 2500 rpm por 5 min,

el sobrenadante fue decantado y el concentrado se resuspendió en 1 mL de medio con las características descritas anteriormente. Las muestras se colocaron en crioviales, se congelaron de inmediato con nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 °C hasta su utilización.

5.20.2. Cultivo de trofozoitos de *G. duodenalis*.

El sobrenadante se decantó y la pastilla se resuspendió en 13 mL de medio TYI-S-33 suplementado con SFB (15% (v/v) y posteriormente fue incubado. Después de 24 h, se tomaron 10 mL y se dividieron en dos tubos. A cada tubo se le adicionó medio nuevo suplementado con SFB (10 %) para tener un volumen final de 13 mL. Los tubos fueron incubados. La cepa de *G. duodenalis*, almacenada a -80 °C, fue descongelada a 37 °C en una campana de flujo laminar. La suspensión (1 mL con *G. duodenalis* y DMSO) fue transferida del crioval a un tubo de vidrio de 15 mL con tapa de rosca, se le añadieron 9 mL de medio TYI-S-33 suplementado con SFB (15% (v/v), la mezcla se agitó y centrifugó a 2500 rpm por 5 min, para eliminar los restos de DMSO por 48 h a 37 °C y se prosiguió a la evaluación de actividad antiparasitaria de los diferentes compuestos. Se utilizaron un máximo de cuatro tubos con cultivo para cada ensayo.

5.20.3 Evaluación de la actividad antiparasitaria *in vitro* de los compuestos 30, 31, 32, 33, 34a-h, 35a-h, 38 y 39.

La determinación de la viabilidad de los trofozoitos de *G. duodenalis* se realizó usando el colorante azul de tripano al 4%. Una alícuota de 100 µL del cultivo perfectamente homogenizado se mezcló 10 µL de la disolución del colorante; la mezcla se homogenizó y se colocaron 10 µL en una cámara de Neubauer para realizar la observación microscópica y los recuentos. Los criterios de viabilidad fueron la movilidad, los cambios morfológicos y la retención del colorante por trofozoitos. La concentración de células utilizadas fue de 10⁶

células/mL. Una vez preparado el cultivo se procedió a la evaluación de las muestras. Los compuestos fueron evaluados a 100 µg/mL, el ensayo se llevó a cabo en placas de 96 pozos donde se colocaron 200 µL de la muestra de *Giardia* (10^6 células) y 100 µL de los compuestos (100 µg/mL 0.5% de DMSO) en medio TYI-S-33. Como control negativo se utilizó solvente DMSO al 0.5% en medio TYI-S-33 (sin compuesto) y para el control positivo se añadió metronidazol (10 µg/mL). Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h (5% de CO₂), se centrifugaron (2500 rpm/5 min), se les realizaron lavados con PBS 10 mM (pH =7.4) para eliminar los restos de medio TYI-S-33, los trofozoítos se resuspendieron en 200 µL de PBS, se adicionaron 20 µL de MTT (5 mg/mL) y se incubaron nuevamente durante 4 h. Pasado este tiempo, las placas fueron centrifugadas (4200 rpm por 15 min), se removieron 200 µL del sobrenadante y la sal de formazán formada por las células vivas se disolvió añadiendo 200 µL de DMSO, se agitaron y posteriormente se determinó su absorbancia a 560 nm (Multiskan Bichromatic, Fisher Scientific, EE. UU.) (Figura 89). El porcentaje de inhibición de crecimiento se calculó con la fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \left(\frac{\text{Abs}_c - \text{Abs}_m}{\text{Abs}_c} \right) \times 100$$

Donde Abs_c = Absorbancia del control y Abs_m = Absorbancia de la muestra

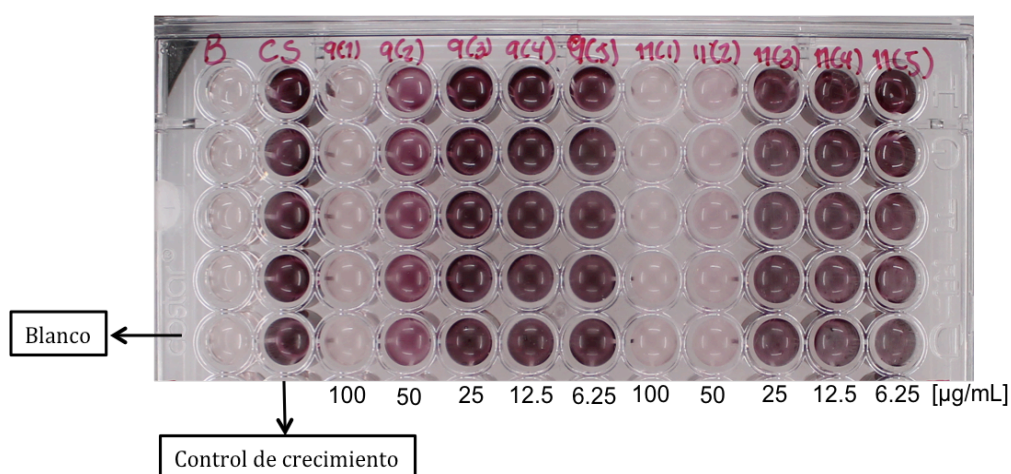


Figura 89. Evaluación de la actividad anti*giardiasica in vitro* de los compuestos **34f** y **34h** determinada por la metabolización del reactivo MTT.

5.21. Ensayo para determinar la actividad antiparasitaria de análogos de linezólida frente al céstodo *Hymenolepis nana*.

5.21.1. Obtención de adultos de *Hymenolepis nana* de ratones.

Los parásitos adultos de *H. nana* se obtuvieron de ratones Balb/C infectados experimentalmente. Los ratones fueron sacrificados para recuperar los parásitos adultos de *H. nana*; fueron colocados en una cámara de éter etílico para su muerte, posteriormente se introdujeron en un recipiente con etanol al 70% por un minuto y se recuperó el intestino delgado para aislar los parásitos adultos. Una vez que fueron aislados los parásitos fueron colocados y mantenidos en medio de Hank's a 37°C. Los parásitos obtenidos fueron empleados en la infección de ratones Balb/C de 4-6 semanas de edad con el objetivo de mantener e incrementar la cantidad de parásitos. Éstos permanecieron en el bioterio y transcurridos 15 días post-infección a cada uno de los ratones se les practicó un examen de heces mediante el método de Faust, para verificar la infección. Los ratones positivos fueron utilizados en próximos experimentos o para sacrificar y reinfectar de nuevo.

5.21.2. Condiciones de cultivo de *Hymenolepis nana*.

En el ensayo de actividad antiparasitaria *in vitro*, los parásitos adultos de *H. nana* se lavaron tres veces con una disolución de NaCl al 0.85% p/v (SSI) para retirar el material del hospedero presente en los parásitos. Al término de los lavados, se colocó en una placa de 24 pozos (Corning Incorporated 14831. E.U.A.) con medio de Hank's, el cual contenía una mezcla de 0.2% (v/v) de Antibiótico-Antimicótico Gibco (Penicilina G, Sulfato de estreptomicina y Anfotericina B) y 0.5% (p/v) de peptona.

5.21.3. Evaluación de la actividad antiparasitaria.

La evaluación de la actividad antiparasitaria se utilizó en una placa de 24 pozos (Corning Incorporated 14831. E.U.A.) con 1 mL de medio de Hank's, y en cada pozo se colocaron cinco adultos de *H. nana* viables. Posteriormente, se añadieron los compuestos a evaluar a una concentración de 20 mg/mL. Se evaluó praziquantel como control positivo, a la misma concentración, por ser el fármaco de elección para el tratamiento de hymenolepiosis. La viabilidad fue monitorizada a través de un estereoscopio modelo Sz40 (Olympus, Japón), haciendo observaciones detalladas a los 0, 5, 10, 30 y 60 min y después cada hora durante 16 horas. El daño ocasionado a los parásitos fue registrado y analizado.

5.21.4. Determinación de la viabilidad mediante la exclusión de azul de Evan's.

Para determinar la viabilidad de *H. nana*, los parásitos se colocaron durante 3 min en una disolución al 4% (p/v) de azul de Evans, posteriormente se lavaron tres veces con NaCl 0.85% hasta eliminar completamente el exceso de colorante y se mantuvo hasta su observación en el estereoscopio. El tegumento del parásito muerto es permeable al azul de Evans, lo que permitió diferenciar células muertas de células vivas.

5.22. Evaluación de la actividad citotóxica *in vitro* de los compuestos 30, 31, 32, 33, 34a-h, 35a-h, 38 y 39.

En el estudio de proliferación celular empleando la línea de epitelio pigmentario de retina ARPE-19 se colocaron las células (1×10^4 por pocillo, 50 μ L) en cada pocillo de una placa de 96 pocillos (Costar®, EE. UU.). Después de 24 h de incubación a 37 °C en atmósfera de CO₂ al 5% para permitir la unión celular, se agregaron alícuotas (50 μ L) del medio que contenía concentraciones diferentes de los análogos de linezólida (100, 50, 25 y 12.5 μ M). Todos los análogos de linezólida se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) y

posteriormente se diluyeron en el medio de cultivo. La doxorrubicina se utilizó como control positivo en los ensayos de viabilidad celular. Las células se trataron durante 48 h, durante las últimas 4 h de incubación, se retiró el medio de cultivo y las células se lavaron con PBS; posteriormente, se agregaron a cada pocillo 10 μ L de una solución de MTT (5 mg/mL). La viabilidad celular se evaluó por la capacidad de las células metabólicamente activas en reducir la sal de tetrazolio a formazán. Los cristales de formazán se disolvieron con alcohol isopropílico (0.3%). La absorbancia de la muestra se midió en un lector de microplacas (Multiskan EX, ThermoLabSystem) utilizando una longitud de onda de prueba de 570 nm y una longitud de onda de referencia de 650 nm. El efecto sobre la viabilidad celular de los análogos linezólida se informó como porcentaje de proliferación, comparando con los controles DMSO, linezólida y Doxorrubicina.⁷¹⁻

73

VI. CONCLUSIONES

1. Los estudios de actividad biológica de las oxazolidinonas **6** y **7**, muestran la actividad inherente de estos compuestos, lo que justifica su uso como moléculas plantilla en el desarrollo de análogos a linezólida nuevos con actividad biológica.
2. La metodología propuesta para el acoplamiento del par diastereomérico de amino oxazolidinona permitió la preparación de dieciséis dipéptidos modificados Fmoc protegidos con los aminoácidos Phe, Tyr, Leu, Thr, Tpr, His, Ser y Cys con rendimientos de 29-55%. Los cuales fueron generados a partir de 14 reacciones previas, mediante la síntesis de la estructura base de oxazolidinona y del fragmento aril bromado como etapas previas, donde se igualo o mejoró los rendimientos reportados en la literatura en cada una de ellas.
3. El estudio de la actividad antibacteriana por las dos metodologías empleadas, mostró el potencial alto de seis compuestos de tipo dipéptido-oxazolidinona (**34a**, **34f**, **35a**, **35d**, **35f**, **35h**) como agentes antibacterianos frente a bacterias gram positivas de importancia clínica. El compuesto **34f** resultó el más activo frente a cinco bacterias gram positivas, de las cuales en tres cepas MRSA fue más activo que linezólida. Esto es un Resultado prometedor para la obtención de antibióticos nuevos como alternativa terapéutica contra bacterias farmacorresistentes.
4. El estudio de acoplamiento molecular automatizado para los compuestos análogos a linezólida sintetizados en este trabajo, sustenta los resultados de la actividad biológica de las moléculas más activas, la cual es regida por el acomodo estructural, la geometría de la molécula y la formación de un número mayor de interacciones supramoleculares en el sitio de acción.

5. El estudio contra el protozoo *Giardia lamblia* mostró el potencial de los compuestos de tipo dipéptido-oxazolidinona como agentes antiparasitarios. El compuesto **34f** presentó actividad mayor a la reportada para linezólida y análogos como agente antiparasitario.
6. El estudio de viabilidad celular destacó que los análogos de tipo dipéptido **34a, 34f, 35a, 35d, 35f, 35h** conservan la integridad celular y la viabilidad metabólica de ARPE-19, lo que indica efectos no citotóxicos avalando su uso como posibles agentes antimicrobianos.
7. La metodología propuesta de acetilación para **32** y **33** permitió obtener los análogos **38** y **39** con rendimientos moderados de 70 y 76% respectivamente. Estos compuestos fueron sintetizados con el fin de evaluar la actividad antiparasitaria frente a *Hymenolepis nana*.
8. El estudio de la actividad antiparasitaria frente el céstodo *Hymenolepis nana* mostró el potencial de los compuestos análogos a linezólida como agentes antiparasitarios contra este parásito, donde los seis compuestos evaluados (**30, 31, 32, 33, 38** y **39**) presentaron actividad frente a *H. nana* destacando a los compuesto **32** y **38** con los mejores resultados mostrados. Resultados que superaron considerablemente el efecto del fármaco control praziquantel y de linézolida , que resultó ser un compuesto no activo. Siendo estos los primeros estudios de compuestos activos análogos a linezólida frente a parásitos.
9. El estudio de viabilidad celular destacó que los análogos **32** y **38** evaluados en el estudio frente *H. nana* conservan la integridad celular y la viabilidad metabólica de ARPE-19, lo que indica efectos no citotóxicos.

VII. REFERENCIAS

1. De Jogna, P. S. A. En: *Clínica de Enfermedades Infecciosas*. Facultad de Medicina de la UNT, 2005, Capítulo I, pp 5-19.
2. Tacconelli E. y Magrini N. Cibercita. En: Página virtual, <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/es/> 10 de junio de 2017.
3. Ileana-Gómez M. Optimización del uso de antimicrobianos: impacto en la evolución de la resistencia bacteriana y los costos hospitalarios. Tesis de Doctorado en Ciencias de Salud, Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Médicas. Buenos Aires, Argentina. 2011, pp 6-11.
4. Cabrera, C. E., Gómez R. F.; Zúñiga A. E. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia médica* **2007**, 149-1583.
5. Walter, R. W. *Diagnóstico y tratamiento de enfermedades infecciosas; Manual Moderno: Distrito Federal* **2002**, pp 1-3.
6. Rodríguez, A. G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Sal. Pub. Mex.* **2002**, 45, 464-475.
7. Arreguín, R.; Gonzáles, R.; De-La-Torre, A. Infecciones adquiridas en los hospitales ¿cuánto cuestan y cómo se calcula?. *Rev. Digit. Univ.* **2012**, 13, 3-10.
8. Arias, F. R.; Rosado, Q. U.; Vargas, V. A.; Grajales, M. C. Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el Instituto Mexicano del Seguro Social. *Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc.* **2016**, 54, 20-24.
9. Wakefield, D. S.; Helms, C. M.; Massanari, R. M.; Mori, M.; Pfaller, M. Cost of nosocomial infection: Relative contributions of laboratory, antibiotic, and per diem costs in serious *Staphylococcus aureus* infections. *Am. J. Infect. Control* **1998**, 16, 785-192.

10. Lorenzo, P.; Moreno, A.; Lizasoain, I.; Leza, J. C.; Moro, M. A.; Portolés, A. Farmacología básica y clínica, Medica Panamericana, Distrito Federal, 2009, pp 877-882.
11. Harrison, T. R. En: *Principios de Medicina Interna*; Kasper, D.; Fauci, A.; Hauser, S. Longo, D.; Jameson, L.; Loscalzo, J.; Ed.; Mc Graw Hill: New York, 2012; Capítulo 119, pp 1107-1012.
12. Rivero, I. A.; González, T.; Basterrechea, M. Síntesis en paralelo de decapeptidos en fase sólida y sus afinidades a cationes de interés biológico. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **2004**, *48*, 310-314.
13. Evans, D. A., Bartoli, J. Shih, T. L. Enantioselective aldol condensations II. erythro-selective chiral aldol condensations via boron enolates. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2127-2130.
14. Zhang, J.; Fan, X.; Liu, Y; Liu, X. Synthesis of poly(ethylene glycol)-metaxalone conjugates and study of its controlled release in vitro. *Inter. J. Pharm.* **2007**, *332*, 125-131.
15. Madhusudhan, G.; Reddy, G. O.; Rajesh, T.; Ramanathem, J.; Dubey, P. K. Stereoselective synthesis of novel (*R*)-and (*S*)-5-azidomethyl-2-oxazolidinones from (*S*)-epichlorohydrin: a key precursor for the oxazolidinone class of antibacterial agents. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 3060-3062.
16. Suzuki, H; Utsunomiya, I.; Shudo, K; Fukuhara, N; Iwaki, T.; Yasukata, T. Antibacterial oxazolidinone analogues having a *N*-hydroxyacetyl-substituted seven-membered [1,2,5]triazepane or [1,2,5]oxadiazepane C-ring unit. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *63*, 811-825.
17. Im, B. W.; Choi, H. S.; Park, Y. J.; Choi, H. S.; Finn, J. Discovery of torezolid as a novel 5-hydroxymethyl-oxazolidinone antibacterial agent. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1027-1039.

18. Pigrau, C.; Almirante, B. Oxazolidinonas, glucopéptidos y lipopéptidos cíclicos. *Enfer. Infecc. Microbiol. Clin.* **2003**, *21*, 157-165.
19. Leach, K. L.; Swaney, S. M.; Colca, J. R. McDonald, W. G.; Blinn, J. R.; Thomasco, L. M.; Gadwood, R. C.; Shinabarger, D.; Xion, L.; Mankin, A. S. The site of action of oxazolidinone antibiotics in living bacteria and in human mitochondria. *Mol. Cell.* **2007**, *26*, 393-402.
20. Ippolito, A. J.; Kanyo, F. Z.; Wang, D.; Franceschi, J. F.; Moore, B. P.; Steitz, A. T.; Duffy, M. E. Crystal structure of the oxazolidinone antibiotic linezolid bound to the 50S ribosomal subunit. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 3353-3356.
21. Quiles, M. I.; García, P. A.; De Pablos, M.; Gómez, G. Mechanisms of linezolid resistance among Staphylococci in a tertiary hospital. *Inter. J. Med. Microb.* **2012**, *302*, 145-147.
22. Williams, D. H.; Williamson, M. P.; Butcher, D. W.; Hammond, S. J. Tight binding of a dimeric derivative of vancomycin with dimeric L-Lys-D-Ala-D-Ala. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 1332-1339.
23. Kitts, D. D.; Weiler, K. *Curr. Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery.* *Pharm. Design.* **2003**, *9*, 1309-1323.
24. Morris, G. M.; Lim-Wilby, M. *Molecular Docking. Molecular Modeling of Proteins.* **2008**, *19*, 365-382.
25. Langbang, D.; Dhodapkar, R.; Parija, S. C.; Premarajan, K. C. Rajkumari, N. Prevalence of intestinal parasites among rural and urban population in Puducherry, South India - A community-based study. *J Family Med Prim Care* **2019**, *8*, 1607-1612.
26. Zajackowski, P.; Mazumdar, S.; Conaty, S, Ellis, J. T.; Fletcher-Lartey, S. M. Epidemiology and associated risk factors of giardiasis in a peri-urban setting in New South Wales Australia. *Epidemiol. Infect.* **2018**, *14*, 1-9.

27. Baldursson, S.; Karanis, P. Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks - An update 2004-2010. *Water Res.* **2011**, *45*, 6603-6614.
28. Sanchez-Vega, J.T.; Tay-Zavala, J.; Aguilar-Chiu, A.; Ruiz-Sanchez, D.; Malagon, F.; Rodriguez-Covarrubias, J. A.; Ordonez-Martinez, J.; Calderon-Romero, L. Cryptosporidiosis and other intestinal protozoan infections in children less than one year of age in Mexico City. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2006**, *75*, 1095-1098.
29. Quihiu-Cota, L.; Valencia, M. E.; Crompton, D. W.; Philips, S.; Hagan, P.; Morales-Figueroa, G.; Díaz-Camacho S. P. Role of the employment status an education of mothers in the prevalence of intestinal parasitic infections in Mexican rural schoolchildren. *BMC Public Health.* **2006**, *6*, 2047-2050.
30. Quihui-Cota, L.; Morales-Figueroa, G. Parasitosis intestinales en escolares tratados con albendazol en el noroeste de México: estudio piloto. *BIOTecnia* **2012**, *2*, 32-39.
31. Boletín Epidemiológico, Semana 38. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, Secretaría de Salud. Cibercita. En: Página Virtual: https://www.gob.mx/salud/documentos/boletinepidemiologico-sistema_nacional-de-vigilancia-epidemiologica-sistema-unico-de-informacion-231750. 2 de Octubre del 2020.
32. Ansell, B. R. E.; McCoville, M. J.; Ma'ayeh, S. Y.; Dagley, M. J.; Gasser, R. B. Svärd, S. G.; Jex, A. R. Drug resistance in *Giardia duodenalis*. *Biotechnol. Adv.* **2015**, *33*, 888–901.
33. Yang, D.; Zhao, W.; Zhang, Y.; Liu A. Prevalence of *Hymenolepis nana* and *H. diminuta* from Brown Rats (*Rattus norvegicus*) in Heilongjiang Province, China. *Korean J Parasitol.* **2017**, *55*, 351-355.

34. Shahnazi, M.; Mehrizi, M. Z.; Alizadeh, S. A.; Heydarian, P.; Saraei, M.; Alipour, M.; Hajjalilo, E. Molecular characterization of *Hymenolepis nana* based on nuclear rDNA ITS2 gene marker. *Afr Health Sci.* **2019**, *1*, 1346-1352.
35. López-Angulo, G.; Verdugo-Gaxiola, S. E.; Montes-Avila, J.; Díaz-Camacho, S. P.; Miranda-Soto, V.; Salazar-Salas, N. Y.; Delgado-Vargas, F. Bioguided isolation of N -malonyl-(+)- tryptophan from the fruit of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. that showed high activity against *Hymenolepis nana*. *Nat. Prod. Res.* **2019**, *33*, 1-7.
36. Alhawiti, A. O.; Toulah, F. H.; Wakid, M. H. Anthelmintic Potential of *Cucurbita pepo* Seeds on *Hymenolepis nana*. *Acta Parasitol.* **2019**, *2*, 276-281.
37. Doenhoff, M. J.; Cioli, D.; Utzinger, J. Praziquantel: mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. *Current Opinion in Infectious Diseases* **2008**, *21*, 659-667. doi:10.1097/QCO.0b013e328318978f.
38. Jeziorski, M. C.; Greenberg, R. M. Voltage-gated calcium channel subunits from platyhelminths: Potential role of praziquantel action. *Int. J. Parasitol.* **2006**, *36*, 625-636. doi:10.1016/j.ijpara.2006.02.002.
39. Barthel, D.; Schlitzer, M.; Pradel, G. Telithromycin and Quinupristin-Dalfopristin Induce Delayed Death in *Plasmodium falciparum*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2008**, *52*, 774-777.
40. Limoncu, M. E.; Eraç, B.; Gürpınar, T.; Özbilgin, A.; Balcıoğlu, İ. C.; Hoşgör-Limoncu M. Investigation of in vitro Antileishmanial Activity of Moxifloxacin, Linezolid and Caspofungin on *Leishmania tropica* Promastigotes. *Turkiye Parazitol Derg.* **2013**, *37*, 1-3.
41. Newman, D. J.; Cragg, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *J. Nat. Prod.* **2020**, *83*, 770-803.

42. Ochoa-Terán, A.; Rivero, I. A. Synthesis of enantiopure 1,3-oxazolidin-2-ones from α -dibencylamino esters. *ARKIVOC* **2008**, (ii), 235-242.
43. Córdova-Guerrero, J.; Hernández-Guevara, E.; Ramírez-Zatarain, S.; Nuñez-Bautista, M.; Ochoa-Terán, A.; Muñiz-Salazar, R.; Montes-Ávila, J.; López-Angulo, G.; Paniagua-Michel, A.; Nuño-Torres, G. A. Antibacterial activity of new oxazolidin-2-one analogues in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Int. J. Mol. Sci.* **2014**, *15*, 5277-5291.
44. Brickner, S.; Hutchinson, D.; Barbachyn, M.; Mannimen, P.; Ulanowicz, D.; Garmon, S.; Grega, K.; Hendges, S.; Toops, D.; Ford, C.; Zurenko, G. Synthesis and antibacterial activity of U-100592 and U-100766, two oxazolidinone antibacterial agents for the potential treatment of multidrug-resistant gram-positive bacterial infections. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 673-679.
45. Bell, A. C.; Boomsma, A. B.; Flikweert, N. E.; Hohlman, R. M.; Zhang, S.; Blankespoor, R. L.; Biros, S. M.; Staples, R. J.; Brickner, S. J.; Barbachyn, M. R. The Synthesis of Functionalized 3-Aryl- and 3-Heteroaryloxazolidin-2-ones and Tetrahydro-3-Aryl-1,3-oxazin-2-ones via the Iodocyclocarbamation Reaction. Access to Privileged Chemical Structures and Scope and Limitations of the Method. *J. Org. Chem.* **2020**, *85*, 6323-6337.
46. Chaumont-Olive, P.; Cossy, J. A One-Pot Iodo-Cyclization/Transition Metal-Catalyzed Cross-Coupling Sequence: Synthesis of Substituted Oxazolidin-2-ones from N-Boc-allylamines. *Org. Lett.* **2020**, *22*, 3870-3874.
47. Li D.; Wang Y.; Schwarz S.; Cai J.; Fan R.; Li J.; T. Feßler A.; Zhang R.; Wu C.; Shen J. Co-location of the oxazolidinone resistance genes *optrA* and *cfr* on a multiresistance plasmid from *Staphylococcus sciuri*. *J Antimicrob Chemother.* **2016**, *71*, 1474-1478.
48. Zhao H.; Lu Y.; Sheng L.; Yuan Z.; Wang B.; Wang W.; Li Y.; Ma C.; Wang X.; Zhang D.; Huang H. Discovery of Fluorine-Containing Benzoxazinyl-oxazolidinones for the Treatment of Multidrug Resistant Tuberculosis. *ACS Med. Chem. Lett.* **2017**, *8*, 533-537.

49. Ferrazzano L.; Viola A.; Lonati E.; Bulbarelli A.; Musumeci R.; Cocuzza C.; Lombardo M.; Tolomelli A. New isoxazolidinone and 3,4-dehydro-b-proline derivatives as antibacterial agents and MAO-inhibitors: A complex balance between two activities. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *124*, 906-919.
50. Gordeev M. F. y Yuan Y. Z. New Potent Antibacterial Oxazolidinone (MRX-I) with an Improved Class Safety Profile. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 4487-4497.
51. Barbachyn, M. R.; Harris, C. R.; Vara Prasad, J. V. N. Substituted 2,3,5-trifluorophenyl oxazolidinones for use as antibacterial agents. PCT WO 2005/113520, Dec 1, **2005**.
52. Barbachyn M. R.; Hutchinson K. D.; Brickner J. S.; Cynamon H. M.; Kilburn O. J.; Klemens P. S.; Glickman E. S.; Grega C. K.; Hendges K. S.; Toops S. D.; Ford W. C.; Zurenko E. G. Identification of a Novel Oxazolidinone (U-100480) with Potent Antimycobacterial Activity. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 680-685.
53. Guo B.; Fan H.; Xin Q.; Chu W.; Wang H.; Huang Y.; Chen X.; Yang Y. Solubility-Driven Optimization of (Pyridin-3-yl) Benzoxazinyl-oxazolidinones Leading to a Promising Antibacterial Agent. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 2642-2650.
54. Zhao H.; Lu Y.; Sheng L.; Yuan Z.; Wang B.; Wang W.; Li Y.; Ma C.; Wang X.; Zhang D.; Huang H. Discovery of Fluorine-Containing Benzoxazinyl-oxazolidinones for the Treatment of Multidrug Resistant Tuberculosis. *ACS Med. Chem. Lett.* **2017**, *8*, 533-537
55. Zhou, J.; Bhattacharjee A.; Chen, S.; Chen, Y.; Duffy, E.; Farmer, J.; Goldberg J.; Hanselmann, R.; Ippolito A. J.; Lou, R.; Orbin, A.; Oyelere, A.; Salvino, J.; Springer, D.; Tran, J.; Wang, D.; Wu, Y.; Johnson, G. Design at the atomic level: Design of biaryloxazolidinones as potent orally active antibiotics. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 6175-6178.

56. Shaw, K. J.; Poppe, S.; Schaadt, R.; Brown-Driver, V.; Finn, J.; Pillar, C. M.; Shinabarger, D.; Zurenko, G. In Vitro Activity of TR-700, the Antibacterial Moiety of the Prodrug TR-701, against Linezolid-Resistant Strain. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2008**, *52*, 4442-4447.
57. Deshmukh S. M.; Jain N. Design, Synthesis, and Antibacterial Evaluation of Oxazolidinones with Fused Heterocyclic C-Ring Substructure. *ACS Med. Chem. Lett.* **2017**, *8*, 1153-1158.
58. Wu, Y.; Ding, X.; Yang, Y.; Li, Y.; Qi, Y.; Hu, F.; Qin, M.; Liu, Y.; Sun, L.; Zhao Y. Optimization of biaryloxazolidinone as promising antibacterial agents against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant Gram-positive bacteria. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *1*, 185:111781.
59. Belousoff, M. J.; Venugopal, H.; Wright, A.; Seoner, S.; Stuart, I.; Stubenrauch, C.; Bamert, R.S.; Lupton, D.W.; Lithgow T. cryoEM-Guided Development of Antibiotics for Drug-Resistant Bacteria. *ChemMedChem.* **2019**, *14*, 1–6.
60. Takrouri, K.; D. Cooper, H.; Spaulding, A.; Zucchi, p.; Koleva, B.; C. Cleary, D.; Tear, W.; J. Beuning, P.; B. Hirsch, E.; B. Aggen, J. Progress against Escherichia coli with the Oxazolidinone Class of Antibacterials: Test Case for a General Approach To Improving Whole-Cell Gram-Negative Activity. *ACS Infect. Dis.* **2016**, *2*, 405-426.
61. Bai, P.Y.; Qin, S.S.; Chu, W.C.; Yang.; Y.; Cui, D.Y.; Hua, Y.G.; Yang, Q.; Zhang, E. Synthesis and antibacterial bioactivities of cationic deacetyl linezolid amphiphiles. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *155*, 925-945.
62. Kline, T; Felise, H.; Barry, K; Jackson, S.; Nguyen, H.; Miller, S. I. Substituted 2-imino-5-aryldenethiazolidin-4-one inhibitors of bacterial type III secretion. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*,7065-7074.
63. Silverman, R. B. Design of selective neuronal nitric oxide synthase inhibitors for the prevention and treatment of neurodegenerative diseases. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 439-451.

64. Wen X.; Zheng P.; Ma Y.; Ou Y.; Huang W.; Li S.; Liu S.; Zhang X.; Wang Z.; Zhang Q.; Cheng W.; Lin R.; Li H.; Cai Y.; Hu C.; Wu N.; Wan L.; Pan T.; Rao J.; Bei X.; Wu W.; Jin J.; Yan J.; Liu G. Salutaxel, a Conjugate of Docetaxel and a Muramyl Dipeptide (MDP) Analogue, Acts as Multifunctional Prodrug That Inhibits Tumor Growth and Metastasis. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 1519–1540.
65. Wang, J.; Shy, A.; Wu, D.; Cooper, D. L.; Xu, J.; He, H.; Zhan, W.; Sun, S.; Lovett, S. T.; Xu, S. The Structure-Activity Relationship of Peptide Conjugated Chloramphenicol for Inhibiting *E. coli*. *J. Med. Chem.* **2019**, *62*, 10245-10257.
66. Desiraju, G. R.; Stainer, T. *The weak hydrogen bond in structural chemistry and biology*; Oxford University Press, England. 1999; p. 13.
67. CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-fifth Informational Supplement*. CLSI document M100-S24. Wayne, P. A.: Clinical and Laboratory Standards Institute: 2015.
68. Montes-Ávila, J.; Díaz-Camacho, S. P.; Willms, K.; De la Cruz-Otero, M. C.; Robert, L. Rivero, I. A.; Delgado-Vargas, F. Bioguided study of the *in vitro* parasitocidal effect on adult *Hymenolepis nana* of the *Psidium sartorianum* (O. Berg Nied.) fruit methanol extract. *Med. Chem. Res.* **2017**, *26*, 2845-2852.
69. Molecular Operating Environment (MOE), versión 2018.01, Chemical Computing Group Inc., Montreal, Quebec, Canada. Programa disponible en <http://www.chemcomp.com>.
70. Zhang, N.; Zhao, H. Enriching screening libraries with bioactive fragment space. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 3594-3597.
71. Keister, D. Axenic culture of *Giardia lamblia* in TYI-S-33 medium supplemented with bile. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **1983**, *77*, 487-488.

72. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* **1983**, 65, 55-63.

73. Hernandez, J.; Goycoolea, F.; Quintero, J.; Acosta, A.; Castañeda, M.; Dominguez, Z.; Robles, R.; Vazquez-Moreno, L.; Velazquez, E.; Astiazaran, H.; Lugo, E.; Velazquez, C. Sonoran propolis: chemical composition and antiproliferative activity on cancer cell lines. *Planta Med.* **2007**, 73, 1469-1474.