

SÍNTESIS DE NUEVOS DERIVADOS POLIFUNCIONALIZADOS DE LAS 3-
ARIL-TIAZOLO[3,4-*a*]PIRAZIN-5,8-DIONAS, COMPUESTOS CON POTENCIAL
ACTIVIDAD ANTIBIÓTICA.

LUIS JAVIER CALA GÓMEZ

LABORATORIO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y BIOMOLECULAR
DIVISIÓN DE DESARROLLO DE NUEVAS METODOLOGÍAS EN SÍNTESIS.

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA

2015

SÍNTESIS DE NUEVOS DERIVADOS POLIFUNCIONALIZADOS DE LAS 3-
ARIL-TIAZOLO[3,4-*a*]PIRAZIN-5,8-DIONAS, COMPUESTOS CON POTENCIAL
ACTIVIDAD ANTIBIÓTICA.

LUIS JAVIER CALA GÓMEZ

Trabajo de grado para optar al título de
Químico

Director

ARNOLD RAFAEL ROMERO BOHÓRQUEZ

Químico, Doctor en Química

Codirector

JESUS ANDELFO PINILLA ARISMENDY

Químico, Magister en Química

LABORATORIO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y BIOMOLECULAR
DIVISIÓN DE DESARROLLO DE NUEVAS METODOLOGÍAS EN SÍNTESIS.

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA

BUCARAMANGA

2015

Dedicatoria:

El presente trabajo va dedicado, a la memoria de mis abuelos y de todas las personas que como ellos nos enseñan que el verdadero objetivo de la vida está en persistir en cualquiera que sea nuestro oficio hasta verlo realizado a satisfacción, bien sea el humilde trabajo de la tierra o la sofisticada síntesis orgánica. Además, aun cuando crear nuevos arreglos moleculares nos merezca el apodo de “dioses creadores”, la humildad siempre debe primar en el espíritu de quien ha entendido su efímero lugar en el mundo y la mínima significancia de su aporte en el avance de la humanidad.

Para aquel que pudiere tomar en referencia este libro al iniciar su proyecto de grado, solo puedo augurarle un largo camino, reservado para pocos pero grato para aquel que sabe perseverar y ver en su trabajo algo más que un mero objetivo, no basta con ser el más diestro con las manos si la mente no está entregada a la síntesis, la química orgánica es la rama de la química que requiere de más sentidos, comenzando por el sentido común.

Es casi un dicho popular entre colegas, “la síntesis orgánica es una mala mujer, puedes intentar y darle de todo sin que ella te de nada en absoluto por inestimable tiempo. Hasta que llega un día en que te lo da todo y ves totalmente justificada la espera”.

Agradecimientos

En primer lugar, me es inevitable agradecer a Dios por tener en sus planes que yo llegase a ver este día, a mis padres por traerme a este mundo, todos los cuidados y el apoyo brindado hasta el día de hoy.

Profesional y personalmente, me siento en la obligación de agradecer a el profesor Vladimir Kouznetsov por darme la bienvenida al grupo de investigación y un modelo a seguir como profesional, a el profesor Arnold Romero por ser mi tutor y amigo en este largo proceso, a el profesor Andelfo Pinilla por gran contribución en la primera etapa de este trabajo y a todos los compañeros de laboratorio y colegas que de una u otra forma contribuyeron al desarrollo de este proyecto, como Aurora Carreño, Sebastián Flores y Mauricio Acelas por contribuir con su experiencia a mi formación en el laboratorio, a Andrés León, Jorge Romero, Fausto Marín, Camilo Bernal, Andrés Gilberto y Johnny Ruiz por haber formado juntos el laboratorio que empezó con un mesón para cuatro.

Me es grato agradecer también, a la profesora María Helena por su atenta colaboración y diligencia en la toma de los espectros de Resonancia Magnética Nuclear, a Ángela por su colaboración en los análisis de ESI-MS y a Alejandro por su colaboración con los equipos de IR y GC de la escuela.

En términos enteramente personales, agradezco también a mis amigos y compañeros de juergas “los de siempre”, William García, David Cediél, Carlos Adarme, Fabián Sierra y Johan Gómez. Así mismo, a mis amigas y amores, Sara, Diana, Mónica, Kristty, Giohanna, Jessica y Anita por mantener la moral alta aun cuando la síntesis se tornaba frustrante.

TABLA DE CONTENIDO

	Pag.
INTRODUCCIÓN	18
1. MARCO CONCEPTUAL	20
1.1. LAS TIAZOLIDINAS	20
1.1.1. Las tiazolidinas: importancia y utilidad biológica	20
1.2. LAS DIOXOPIPERAZINAS.....	26
1.2.1. Las dioxopiperazinas: presencia en la naturaleza y utilidad biológica.	27
2. ANTECEDENTES	31
2.1. ESFUERZOS SINTÉTICOS HACIA LA SÍNTESIS DE LAS TIAZOLIDINAS.....	31
2.2. ESFUERZOS SINTÉTICOS HACIA LA SÍNTESIS DE LAS DIOXOPIPERAZINAS.	32
2.3. ANTECEDENTES SINTÉTICOS DE COMPUESTOS HETEROFUSIONADOS TIPO TIAZOLIDINA-DIOXOPIPERAZINA.	39
3. PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	44
4. OBJETIVOS:.....	47
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	47
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	47
5. SECCIÓN EXPERIMENTAL.....	48
5.1. CONSIDERACIONES GENERALES	48
5.2. Síntesis de los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos a partir de la reacción del Metil éster de la (R)-(+)-cisteína con benzaldehídos.....	49
5.3. Preparación de los (2RS,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4- metilcarboxílatos.....	55
5.4. Síntesis de las 3-aril-tiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-dionas.	59
6. ANALISIS DE RESULTADOS.....	72
6.1. Síntesis de los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos.	72
6.2. Preparación de los (2RS,4R)-3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos ..	88
6.3. Síntesis de los derivados heterofusionados 3-aril-tiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-dionas (3a- l).....	98
6.4. Ensayos de actividad antibacteriana en E. coli y S. aureus (SARM).....	113
7. CONCLUSIONES	117
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	118
BIBLIOGRAFIA	125

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1. Fórmula estructural de la tiamina o Vitamina B1 coenzima del piruvato.	21
Figura 2. Estructura del potente agente mucolítico carbolidina.....	21
Figura 3. Ácido 4-tiazolidínico (3) con mejorada actividad antigripal y el tamiflú®.	22
Figura 4. Estructura del Rentiapril®, fármaco empleado en el tratamiento de la hipertensión arterial.	22
Figura 5. Estructuras 2-ariltiazolidínicas con potente actividad antibacteriana y reguladora de la producción de melanina.	23
Figura 6. Representación estructural de las ATCAAs.	23
Figura 7. Derivado de las ATCAAs con potente actividad anticancerígena.....	24
Figura 8. Estructura de la molécula SMART con importante actividad anticancerígena.	24
Figura 9. Relación estructura-actividad de las moléculas tipo SMART.	25
Figura 10. (2 <i>RS</i> ,4 <i>R</i>)-2-(3,4,5-trimetoxifenil)-tiazolidin-4-carboxílico hexadecilamida, agente antitumoral más efectivo que la Dacarbazida.	25
Figura 11. Relación estructura-actividad de los ácidos tiazolidincarboxílicos.	26
Figura 12. Ejemplos de las conformaciones de la dioxo piperazina.....	26
Figura 13. Representación conformacional de un derivado de dioxopiperazina fusionada con otro heterociclo.	27
Figura 14. Estructura del agente antitumoral 593 A.....	28
Figura 15. La cicloserina y su producto de dimerización.	28
Figura 16. Estructura de la Echinulina.....	29
Figura 17. Neihumicina y sus análogos sintéticos con mejorada bioactividad.....	29
Figura 18. Enantiómeros de la 1,4-piperazin-2,5-diona.....	30
Figura 19. nocazinas biosintetizadas.....	34
Figura 20. Formas adoptadas por los precursores dipeptídicos al momento de la ciclación.	35
Figura 21. Cefalosporina y derivado dioxopiperazínico de la cefalosporina.....	36
Figura 22. Epímeros de la penicilina.	36
Figura 23. Tripéptido y su forma cíclica acildioxopiperazina.	37
Figura 24. Estructura de la Safamicina A.....	38
Figura 25. Levamisol y dioxopiperazina (54) con mayor bioactividad.	39
Figura 26. Estructuras del Captopril® (55) y el compuesto (52) más su forma tiólica (56).....	40

Figura 27. 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (1a-e) obtenidas a partir de la (R)-(+)-cisteína con cloruro de tionilo en metanol, posteriormente el éster formado <i>in-situ</i> se llevó a reacción con distintos arilaldehídos.	49
Figura 28. (2R,4R)-3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos obtenidos mediante la <i>N</i> -acilación de los compuestos (2 a-e) catalizada por carbonato de potasio.	55
Figura 29. 3-aril-tiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-dionas obtenidas mediante ciclación intermolecular con bencilaminas para sustituidas.	59
Figura 30. Espectro infrarrojo del 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (1a).	77
Figura 31. Espectro ESI-MS (<i>full scan</i>) de la 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato 1a	78
Figura 32. Iones fragmentos obtenidos a partir de los iones aductos del espectro ESI-MS (<i>full scan</i>) del (2R)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (1a) a.[M+H] ⁺ b.[2M+Na] ⁺	78
Figura 33. Comparación de la distribución isotópica del ión molecular más protón del 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (1a) a. calculada. b. experimental.	80
Figura 34. Espectro de ¹ H-RMN del (2R)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (1a).	81
Figura 35. Ampliación de las señales H-2 de diastereoisómeros α y β en el espectro de ¹ H-RMN del 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (1a).	82
Figura 36. Ampliación de las señales duplicadas en ¹ H-RMN para los protones 4-H y 5-H del compuesto (1a).	83
Figura 37. Asignación de las señales en el espectro de ¹³ C-RMN del 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (1a).	84
Figura 38. Espectro de DEPT-135 y asignación de señales 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (1a).	85
Figura 39. Correlación entre protones en el espectro COSY del 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (1a).	86
Figura 40. Posibles estereoisómeros obtenidos para los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (1a-e).	87
Figura 41. Espectro IR del 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxílato (2a).	90
Figura 42. Espectro ESI-MS (<i>full scan</i>) del 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxílato (2a).	91
Figura 43. Iones fragmentos obtenidos a partir de los iones aductos del espectro ESI-MS (<i>full scan</i>) del 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxílato (2a). a.[M+H] ⁺ b.[M+Na] c.[2M+Na] ⁺	92
Figura 44. Comparación de la distribución isotópica del ión molecular más protón del 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxílato (2a). a. calculada. b. experimental.	94

Figura 45. Espectro de ^1H -RMN de la 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (2a).....	95
Figura 46. Ampliación de las señales en el espectro de ^1H -RMN de la 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (2a).....	96
Figura 47. Asignación de las señales en el espectro de ^{13}C -RMN del 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxilatos (2a-c).....	97
Figura 48. Espectro DEPT-135 y asignación de señales de 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxilatos (2a-c).....	98
Figura 49. Espectro IR de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3a).....	101
Figura 50. Espectro ESI-MS (<i>full scan</i>) de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3a).....	103
Figura 51. Iones fragmentos obtenidos a partir de los iones aductos del espectro ESI-MS (<i>full scan</i>) de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3a). a. $[\text{M}+\text{H}]^+$ b. $[\text{2M}+\text{Na}]^+$	103
Figura 52. Comparación de la distribución isotópica del ión molecular más sodio de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3a). a. calculada. b. experimental.....	105
Figura 53. Espectro de ^1H -RMN de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3a).....	106
Figura 54. Ampliación de las señales en el espectro de ^1H -RMN de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3a).....	107
Figura 55. Asignación de las señales en el espectro de ^{13}C -RMN de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3a).....	108
Figura 56. Espectro de DEPT-135 y asignación de señales (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3a).....	109
Figura 57. Correlación entre protones en el espectro COSY de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3a).....	110
Figura 58. Espectro de correlación heteronuclear HSQC de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3a).....	111
Figura 59. Espectro de correlación heteronuclear HMBC de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3a).....	112
Figura 60. Posibles estereoisómeros obtenidos para los compuestos heterofusionados tiazolidina/dioxopiperazina sintetizados.....	113

Figura 61. Gráficas del crecimiento bacteriano, moléculas (**1a-e**) y (**2a-c**) en comparación con el blanco. **114**

Figura 62. Gráfica del crecimiento bacteriano, moléculas (**3a-f**) en comparación con el blanco. **115**

Figura 63. Gráfica del crecimiento bacteriano, moléculas (**3g-l**) en comparación con el blanco. **116**

LISTA DE ESQUEMAS

	Pag.
Esquema 1. Síntesis de compuesto tiazolidina a partir de estructura quinolínica.....	31
Esquema 2. Esquema de síntesis de algunos derivados de 2-ariltiazolidin-4-carboxamidas.....	31
Esquema 3. Síntesis de dioxopiperazinas por dimerización de aminoácidos.	32
Esquema 4. Síntesis de dioxopiperazinas vía Reacción de ciclodensación de dipéptidos.	32
Esquema 5. Obtención de los análogos pirazínicos a partir de las pirazindionas.	32
Esquema 6. Biosíntesis de nocazinas.	33
Esquema 7. Síntesis de índoles derivados de dioxopiperazinas.....	34
Esquema 8. dioxopiperazinas análogas del compuesto cromóforo presente en el índigo.....	35
Esquema 9. Ejemplo de tetra péptidos en combinaciones <i>cis-cis</i> y <i>cis-trans</i>	37
Esquema 10. Síntesis de análogos reducidos de la Saframicina A.	38
Esquema 11. Síntesis de dioxopiperazina (53) más activa que el Levamisol®.....	39
Esquema 12. Síntesis del compuesto (54).....	40
Esquema 13. Ruta sintética de compuestos tricíclicos derivados de la tiazolidina.....	41
Esquema 14. Proceso de conversión de amoxicilina a su derivado dioxopiperazínico.	41
Esquema 15. Síntesis de dioxopiperazina (56).	42
Esquema 16. Síntesis quiral de tiazolo[3,4- <i>a</i>]pirazin-5,8-dionas 7N-sustituidas.	42
Esquema 17. Síntesis de estructuras derivadas de spirostatina A (60) y los derivados bioactivos (61a) y (61b).	43
Esquema 18. Ruta sintética diseñada para la síntesis de las 3-aril-tiazolo[3,4- <i>a</i>]pirazin-5,8-dionas (3a-1).	72
Esquema 19. Posible mecanismo para acceder a las 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (1a-e).	73
Esquema 20. Obtención de los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (1a-e).....	74
Esquema 21. Preparación de los 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos (3a-c).	88
Esquema 22. Mecanismo propuesto para acceder a los compuestos heterofusionados 3-aril-tiazolo[3,4- <i>a</i>]pirazin-5,8-dionas (3a-1).....	99

LISTA DE TABLAS

Pag.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (1a-e).	75
Tabla 2. Rendimientos, relaciones diastereoméricas y bandas de absorción en los espectros IR de los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (1a-e).	76
Tabla 3. Señales correspondientes a la relación (m/z) en el espectro ESI-MS de los aductos de los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (1a-e).	79
Tabla 4. Asignación de las constantes de acoplamiento a su respectiva estereoquímica.	87
Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas de los 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos (2a-c).	89
Tabla 6. Bandas de absorción características en el IR de los de los 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos (2a-c).	90
Tabla 7. Señales correspondientes a la relación (m/z) en el espectro ESI-MS de los aductos de los 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos (2a-c).	93
Tabla 8. Bandas de absorción características en el IR de los híbridos moleculares 3-aril-tiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-dionas (3a-1).	102

LISTA DE ANEXOS:

	Pag.
Anexo A. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C, ¹ H- ¹ H COSY y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (2RS,4R)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (1a).	127
Anexo B. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (2RS,4R)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (1b)	130
Anexo C. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (2RS,4R)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (1c).....	133
Anexo D. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (2RS,4R)- 2-(3,4-dimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (1d).	136
Anexo E. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (2RS,4R)- 2-(3,4,5-trimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (1e).. ..	139
Anexo F. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (2RS,4R)-3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (2a). ...	142
Anexo G. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (2RS,4R)-3-(3-cloroacetil)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (2b).....	145
Anexo H. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (2RS,4R)-3-(3-cloroacetil)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (2c).	148
Anexo I. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C, ¹ H- ¹ H COSY, HSQC y HMBC y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3a).	151
Anexo J. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (3RS,8aR)-7-(4-clorobencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3b).....	156
Anexo K. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (3RS,8aR)-7-(4-metilbencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3c).	159
Anexo L. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3d).....	162

Anexo M. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (3RS,8aR)-7-bencil-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3e).	165
Anexo N. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (3RS,8aR)-7-(4-clorobencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3f).	168
Anexo O. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (3RS,8aR)-7-(4-metilbencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3g).	171
Anexo P. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3h).	174
Anexo Q. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (3RS,8aR)-7-bencil-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3i).	177
Anexo R. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (3RS,8aR)-7-(4-clorobencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3j).	180
Anexo S. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C, ¹ H- ¹ H COSY, HSQC y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (3RS,8aR)-7-(4-metilbencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3k).	183
Anexo T. Espectros IR, RMN ¹ H, RMN ¹³ C y datos de ensayos biológicos en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> de (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3l).	187

RESUMEN

TITULO: SÍNTESIS DE NUEVOS DERIVADOS POLIFUNCIONALIZADOS DE LAS 3-ARIL-TIAZOLO[3,4-*a*]PIRAZIN-5,8-DIONAS, COMPUESTOS CON POTENCIAL ACTIVIDAD ANTIBIÓTICA.*

AUTOR: LUIS JAVIER CALA GÓMEZ**

PALABRAS CLAVE: Tiazolidinas, Dioxopiperazinas, compuestos Heterofusionados, antibióticos.

CONTENIDO:

Entre los compuestos heterocíclicos, se destacan las tiazolidinas y las dioxopiperazinas por su reconocida presencia en la naturaleza y su pródiga y diversa actividad biológica que es principalmente destacable para el caso de los compuestos antibióticos y antitumorales que han sido estudiados en ambas familias, lo anterior ha suscitado el interés de la comunidad científica en la generación de estructuras que contengan ambos bloques constitucionales heterocíclicos en su estructura que puedan convertirse en herramientas en la lucha contra las infecciones microbianas y los crecimientos tumorales de tipo carcinogénico.

Con base en lo anterior, la división de desarrollos en nuevas metodologías en síntesis, del laboratorio de química orgánica y biomolecular, encontró de gran interés la generación de una pequeña galería de compuestos heterofusionados que contuviesen en su estructura tanto la tiazolidina como la dioxopiperazina con miras a un posterior estudio de su actividad como antibiótico, para ello se procedió a obtener una serie de ariltiazolidinas a partir de L-cisteína y distintos benzaldehídos seleccionados. Posteriormente, se empleó cloruro de cloroacetilo para generar sus derivados *N*-cloroacetilados empleando K_2CO_3 como base y diclorometano como disolvente.

Finalmente, se generaron los intermediarios *N*-iodoacetilados *in-situ* para que luego, empleando bencilaminas seleccionadas con trietilamina como base y metanol como disolvente, lo que permitió acceder a los productos heterofusionados tetrahydrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-dionas como sólidos estables.

Esta metodología empleó principalmente reacciones clásicas que permitieron acceder, con rendimientos de reacción moderados a muy buenos, a los diversos productos con potencial actividad antibiótica, incrementándose la diastereoselectividad a medida que se avanzaba en la ruta sintética seleccionada.

*Proyecto de Grado

**Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director Arnold Rafael Romero Bohórquez

ABSTRACT

TITLE: SYNTHESIS OF NEW DERIVATIVES POLIFUNCIONALIZED OF 3-ARIL-THIAZOLO[3,4-*a*]PYRAZINE-5,8-DIONES, COMPOUNDS WITH POTENTIAL ANTIBIOTIC ACTIVITY.*

AUTHOR: LUIS JAVIER CALA GÓMEZ**

KEYWORDS: Thiazolidines, Dioxopiperazines, Heterofused compounds, antibiotics.

DESCRIPTION:

Among the heterocyclic compounds the thiazolidines and dioxopiperazines are highlighted due to its well known presence in the nature and its well proved and diverse biologic activity which is principally prominent for the case of the antibiotic and antitumoral compounds that were studied in both families, the above have aroused the interest of the scientific community on the generation of certain structures that contains both heterocyclic building blocks on its structure which can be converted on tools against the microbial infections and carcinogen tumour growing.

Based on the above, the new methodologies on synthesis division of the organic and biomolecular laboratory found of great interest the generation of a small gallery of heterofused compounds which contains in their structure both thiazolidine and dioxopiperazine towards further study of their activity as antibiotic, for it proceeded to obtain a series of arilthiazolidines from L-cysteine and different selected benzaldehydes. Then chloroacetyl chloride was used to generate their *N*-cloroacetilados using K_2CO_3 as base and dichloromethane as solvent.

Finally, generated the *N*-iodoacetilated intermediates *in-situ*, then employing selected bencilamines with trietilamine as a base and methanol as a solvent, wich lead to the obtention heterofused products tetrahydrothiazolo[3,4-*a*]pyrazine-5,8-diones as stable solids.

This methodology employed principally classical reactions wich lead with reaction yields moderated to very good, to all the different products with potential antibiotic activity, increasing the diastereoselectivity as advanced on the selected synthetic route.

*Bachelor Thesis

**Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director Arnold Rafael Romero Bohórquez

INTRODUCCIÓN

A lo largo de toda su historia la humanidad se ha visto amenazada por diversos tipos de padecimientos o enfermedades, principalmente debido a su estilo de vida y a diferentes factores de riesgo de tipo ambiental. Pese a que a muchas de estas enfermedades se le han encontrado una cura efectiva o un procedimiento que facilite su tratamiento, en la actualidad sigue una carrera incansable en la búsqueda de novedosos agentes terapéuticos que permitan contrarrestar las patologías restantes y/o mejoren los tratamientos ya existentes.

El uso exitoso de cualquier agente terapéutico frente a agentes patógenos está ampliamente relacionado con el potencial desarrollo de tolerancia o en el peor de los casos de resistencia a dicho compuesto. Un amplio rango de mecanismos bioquímicos y fisiológicos pueden ser responsables de dicha resistencia, esto se cumple particularmente para los compuestos o agentes usados en el tratamiento de infecciones bacterianas fúngicas, parasitarias y víricas, además para el tratamiento de padecimientos crónicos como el cáncer y la diabetes, esto implica a dolencias sufridas por cualquier organismo viviente, incluyendo humanos, animales y plantas, entre otros.

El más notable de los ejemplos y probablemente el más costoso en términos de mortalidad y morbilidad refiere a la resistencia a bacterias. El descubrimiento de estos agentes infecciosos a finales del siglo XIX estimuló la búsqueda de regímenes preventivos y terapéuticos. Sin embargo, un tratamiento exitoso solo llegó con el descubrimiento e introducción de los antibióticos medio siglo después.¹

A pesar de los gigantescos avances y descubrimientos para el tratamiento de dichas infecciones, en países como el nuestro las características climáticas, socioeconómicas y culturales favorecen el desarrollo de agentes patógenos causantes de estas infecciones. El conocimiento de las respectivas dianas terapéuticas en el transcurrir del tiempo, ha permitido que a diario sean reportadas la síntesis y obtención de una gran variedad de nuevas moléculas bioactivas, las cuales se perfilan como “cabezas de serie” en la búsqueda de modelos farmacológicos más seguros, selectivos y, por ende, más potentes.

Con base en lo anterior, el objetivo inaplazable de los químicos sintéticos y medicinales es el diseño, desarrollo y/o mejoramiento de nuevas rutas o metodologías sintéticas, que permitan la creación de nuevas entidades moleculares con gran potencial bioquímico. Moléculas “Pequeñas” que jueguen un rol clave en el desarrollo de novedosos fármacos, más seguros y selectivos. En este sentido y gracias a sus numerosas propiedades como biomoléculas, para la gran mayoría de los investigadores, los heterociclos se han mantenido a lo largo de la historia como un gran nicho de compuestos bioactivos y en especial los compuestos tiazolidínicos y dioxopiperazínicos han jugado un importante rol.

Teniendo en mente la obvia necesidad de combatir las enfermedades que aquejan a la humanidad, se han dado pasos significativos en el desarrollo e implementación de estrategias para sintetizar nuevos agentes terapéuticos. Por lo tanto, el Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular continuando con la investigación encaminada hacia el desarrollo de nuevos compuestos, en especial aquellos que sean modelos atractivos en la búsqueda de sustancias antibióticas, espera hacer un aporte en la búsqueda de soluciones a ese tipo de problemáticas de la medicina moderna. Para ello, en este trabajo de investigación se realizó la síntesis de compuestos heterofusionados tipo tiazolidín-dioxopiperazinas polifuncionalizados con potencial bioactividad, los cuales se caracterizaron fisicoquímica y estructuralmente mediante todas las técnicas instrumentales de rutina disponibles, incluidas la espectrometría de masas, resonancia magnética nuclear y difracción de rayos X de cristal único. Para luego evaluar, como una primera fase y en colaboración con el grupo de investigación en bioquímica y microbiología GIBYM la actividad antibiótica de estos compuestos sobre *Escherichea coli* y *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM).

1. MARCO CONCEPTUAL

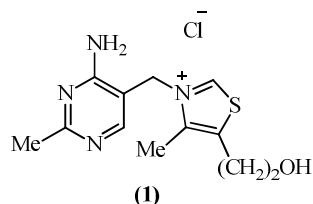
1.1. LAS TIAZOLIDINAS

Las tiazolidinas son compuestos heterocíclicos de cinco miembros conocidos como las 1,3-azolidinas, junto con las imidazolidinas y las oxazolidinas, todos ellos derivados reducidos del tiazol, el imidazol y el oxazol. Las tiazolidinas se caracterizan por tener un átomo de nitrógeno y un átomo de azufre en su estructura y un sólo isómero constitucional llamado isotiazolidina. Las tiazolidinas presentan todos sus enlaces saturados, y en consecuencia, todos sus átomos de carbono con hibridación tipo sp^3 , lo cual los convierte en potenciales centros quírales.²

1.1.1. Las tiazolidinas: importancia y utilidad biológica

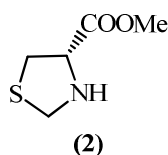
El núcleo tiazolidínico presenta un bajo grado de toxicidad e incluso se emplea para proteger la células contra la mutagénesis y la toxicidad inducida³, y es considerado inocuo para el uso fármaco-biológico, ello se ha puesto al descubierto gracias a que además de tener serios indicios de su ruta metabólica en la cual se liberan unidades de aminoácidos de origen natural⁴, hace parte de la estructura molecular de gran cantidad de fármacos disponibles en el mercado, tales como las penicilinas, lo que constituye una primera evidencia de su ocurrencia en la naturaleza⁵. Además, Heterociclos estructuralmente similares se encuentran involucrados en diferentes ciclos biológicos, como es el caso de la coenzima involucrada en el ciclo del piruvato procedente de la vitamina B1 (**1**) (Figura 1) ². Por ende, las moléculas que se sintetizan imitando estas estructuras son consideradas potencialmente amigables con la fisiología humana, permitiendo así, que el cuerpo las asimile fácilmente, incrementando la posibilidad de interacción de la molécula con las dianas terapéuticas de interés.

Figura 1. Fórmula estructural de la tiamina o Vitamina B1coenzima del piruvato.



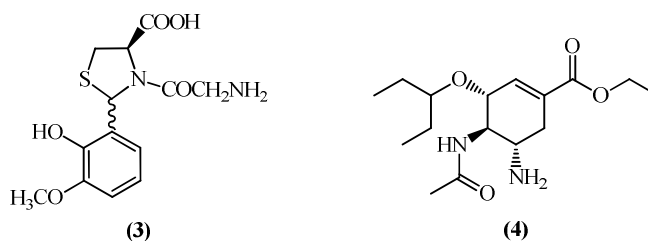
Uno de los múltiples ejemplos de las propiedades farmacológicas relevantes que presentan las tiazolidinas incluyen entre otros el estudio de sus propiedades antioxidantes con miras a su empleo en medicamentos geriátricos⁶. Además, estos compuestos heterocíclicos se han empleado desde hace mucho tiempo como fármacos. Un ejemplo es la carbolidina (2) (Figura 2), la cual es muy empleada en el tratamiento de los síntomas de la gripa como mucolítico encargado de descongestionar las vías respiratorias⁷.

Figura 2. Estructura del potente agente mucolítico carbolidina



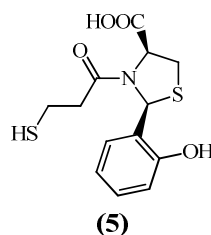
Recientemente y debido a un significativo aumento de los casos de gripe A, así como a la aparición de la pandemia de gripe AH1N1 entre los años 2009 y 2010, la atención de los químicos sintéticos se centró en la producción de fármacos aún más eficientes que los actuales antigripales, superando incluso al renombrado Tamiflú® (4) (Figura 3), fármaco empleado masivamente por su gran actividad antiviral. Uno de los más importantes estudios realizados consistió en preparar un importante número de moléculas con actividad inhibidora de la neuramidasa (NA) del virus de la influenza A⁸.

Figura 3. Ácido 4-tiazolidínico (3) con mejorada actividad antigripal y el tamiflú®.



Existen en la literatura una cantidad considerable de estructuras tiazolidínicas de origen sintético reportadas, muchas de las cuales han presentado una amplia gama de propiedades farmacológicas, incluido el mejoramiento en la resistencia a la insulina, inducida por los niveles altos de glucosa en el organismo⁹. Otros ejemplos incluyen compuestos activos en el control de la hipertensión, resaltando al núcleo tiazolidínico como un fragmento estructuralmente importante, presente en compuestos que son análogos estructurales de diferentes fármacos¹⁰. Interesante es el caso del Rentiapril® (5) (Figura 4), el cual se ha reportado que se acopla muy bien a la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), lo cual lo convierte en un potente antihipertensivo⁷.

Figura 4. Estructura del Rentiapril®, fármaco empleado en el tratamiento de la hipertensión arterial.



Dentro de la amplia gama de bioactividad que presentan los compuestos 2-ariltiazolidínicos, en 2009 Song y colaboradores¹¹ reportaron un estudio para este tipo de compuestos (6) de su actividad antibacteriana con resultados prometedores, los cuales mostraron una poderosa actividad antibacteriana contra *P. aeruginosa* con valores de IC₅₀ superior al del control positivo con penicilina G. Así como un estudio de la capacidad de inhibición de la tirosina que incide en las anomalías de la coloración de la piel causada por una irregular producción de melanina (7)¹². Con todo

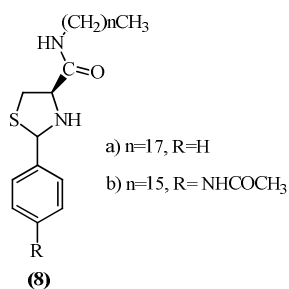
lo anteriormente mencionado, se puede apreciar la versatilidad del núcleo 2-ariltiazolidínico como bloque de construcción de fármacos promisorios (Figura 5).

Figura 5. Estructuras 2-ariltiazolidínicas con potente actividad antibacteriana y reguladora de la producción de melanina.



Por otro lado, de gran importancia para la industria farmacéutica resultan aquellos fármacos que pueden controlar enfermedades tan peligrosas como el cáncer y su expansión a lo largo del cuerpo humano (metástasis), convirtiéndose así en una enfermedad terminal. Sin embargo, desde la química orgánica se le han encontrado posibles soluciones, como es el caso de las moléculas tipo ATCAA (*2-Ariltiazolidin-4-Carboxylic Acid Amide*) (**8**) (Figura 6), a las cuales se les conoce por su actividad contra algunos tipos de cáncer^{13,14,15}.

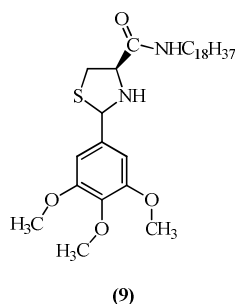
Figura 6. Representación estructural de las ATCAAs.



Recientemente, Gududuru y colaboradores^{16,17} reportaron un trabajo de investigación donde se hizo un estudio de la actividad anticancerígena de diversos derivados de las ATCAAs, arrojando que para cuando el sustituyente en la posición C-2 del anillo

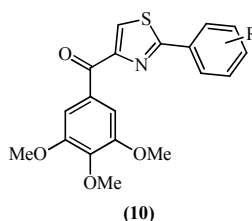
tiazolidínico es trimetoxifeníl (**9**) (Figura 7), la bioactividad alcanza un punto máximo, respecto a las demás moléculas estudiadas.

Figura 7. Derivado de las ATCAAs con potente actividad anticancerígena.



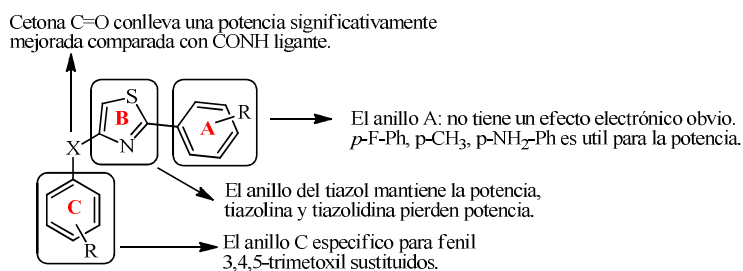
Posteriormente y ampliando dicho estudio, fue realizada una modificación en todos los sustituyentes del anillo tiazolidínico, lo que permitió generar una serie de moléculas que fueron denominadas SMART (*4-Substitued Methoxybenzoil-Aryl-Thiazolidines*) (Figura 8), lo cual permitió acceder a compuestos con la estructura (**10**), cuando el fragmento trimetoxifenílico es vecino al grupo carbonílico y a su vez está enlazado al anillo tiazolidínico, se encontró que dichos compuestos presentan potente actividad anticancerígena, lo que nos lleva a pensar que el sustituyente trimetoxifenílico es un fragmento farmacofórico relevante en la expresión de la actividad anticancerígena¹⁸.

Figura 8. Estructura de la molécula SMART con importante actividad anticancerígena.



De manera complementaria con los datos obtenidos de estudios biológicos, dentro del mismo trabajo se describen detalles de la relación estructura-actividad (Figura 9) mediante un estudio SAR (*Structure-Activity Relationship*) de esta familia de moléculas.

Figura 9. Relación estructura-actividad de las moléculas tipo SMART.



Un estudio de la relación estructura-actividad (SAR) de los ácidos aril tiazolidínicos, en el cual la estructura base fue funcionalizada en el átomo de nitrógeno, el grupo acilo unido al carbono C-4 y el carbono C-2 del anillo tiazolidínico, vislumbró aspectos bioactivos de sus bloques constitucionales (Figura 11). La evaluación de la actividad biológica *in vitro* sobre células cancerosas del melanoma A375 y próstata arrojaron algunos compuestos que resultaron ser prometedores agentes antitumorales en células de melanoma y cáncer de próstata. Además, algunos compuestos inhibieron efectivamente la formación de colonias del melanoma A375 e indujeron la apoptosis. El compuesto (2*RS*,4*R*)-2-(3,4,5-trimetoxifenil)-tiazolidin-4-carboxílico hexadecilamida (**11**)(figura 10) inhibe significativamente el crecimiento del tumor del melanoma *in vivo* y mostró mayor eficacia que la dacarbazina (DTIC) (**12**) (figura 10) (único medicamento quimioterapéutico aprobado por la FDA para el tratamiento de melanoma avanzado).¹⁶

Figura 10. (2*RS*,4*R*)-2-(3,4,5-trimetoxifenil)-tiazolidin-4-carboxílico hexadecilamida, agente antitumoral más efectivo que la Dacarbazida.

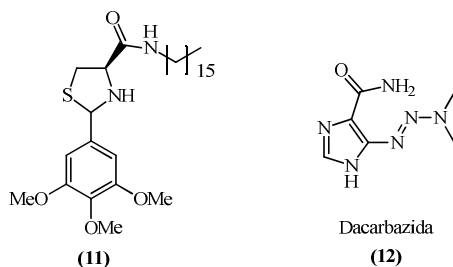
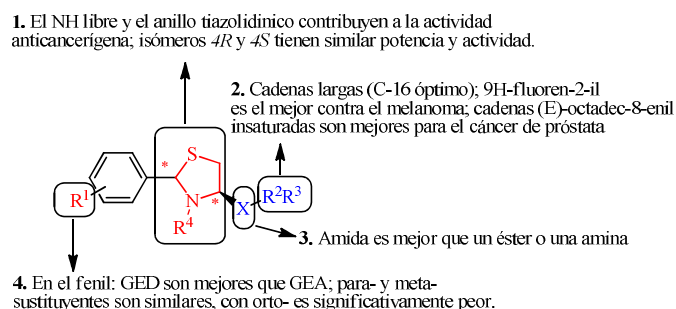


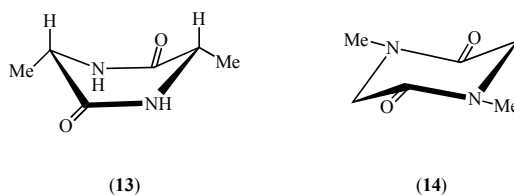
Figura 11. Relación estructura-actividad de los ácidos tiazolidincarboxílicos.



1.2. LAS DIOXOPIPERAZINAS

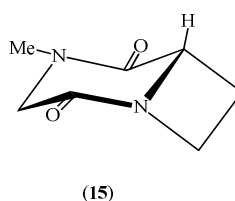
Las dioxopiperazinas, son compuestos heterocíclicos de 6 miembros que poseen dos átomos de nitrógeno en su estructura, al igual la piperazina, pero se diferencian de la misma por presentar dos carbonos carbonílicos en su estructura. las dioxopiperazinas poseen enlaces atípicos *cis*-amida. Además, atrajeron la atención como útiles modelos para el estudio de las interacciones débiles entre los enlaces de los grupos amida y las cadenas laterales de aminoácidos. Estos son importantes para entender las tendencias conformacionales que presentan las proteínas. Los modelos de Dreiding¹⁹ muestran que el anillo de seis miembros en las piperazinas es ligeramente flexible y que puede existir tanto en forma de plano o levemente plegado (bote). Efectivamente, estudios de difracción de rayos X han mostrado que las dos formas existen²⁰. Estudios en *ciclo*-L-ala-L-ala también indican un plegado en el anillo fuera de los grupos metilo, como en (13). El *ciclo*-sarcosil-sarcosil (14)²¹ (Figura 12) no es completamente plano en el estado sólido, pero tiende a adoptar una conformación de silla aplanada.

Figura 12. Ejemplos de las conformaciones de la dioxo piperazina



Los estudios de RMN son de gran valor para complementar los análisis de difracción de rayos X. por ejemplo, los derivados de la prolina adoptan una conformación de bote en el estado sólido y en solución, reflejando la tendencia conformacional impuesta al anillo de piperazina por la fusión con el anillo de la prolina. El grado de doblado es incluso más pronunciado en homólogos más bajos, tales como el derivado de la azitidina (**15**) (Figura 13)²².

Figura 13. Representación conformacional de un derivado de dioxopiperazina fusionada con otro heterociclo.



1.2.1. Las dioxopiperazinas: presencia en la naturaleza y utilidad biológica.

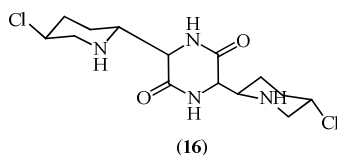
A pesar de ser compuestos con estructuras moleculares relativamente simples, las 2,5-dioxopiperazinas son de los más ubicuos derivados peptídicos encontrados en la naturaleza. Cuando se lleva a cabo la hidrólisis de algunos péptidos y proteínas, a menudo se encuentran estos tipos de dímeros de aminoácidos. Dichos dímeros son comúnmente aislados de cultivos de levadura, líquenes y hongos. Su existencia, como un grupo especial de compuestos, fue reconocida por primera vez alrededor del año 1900. Emil Fisher logró sintetizar muchos de los miembros más simples de esta familia. Uno de estos compuestos fue el pariente 2,5-dioxopiperzina a menudo denominado como ciclo-gly-gly (dipéptido cíclico entre dos moléculas de glicina), el cual fue sintetizado en 1888.

Las 2,5-dioxopiperazinas difieren en sus propiedades de los péptidos ordinarios. Aunque los miembros más simples son a menudo hidrosolubles, muchos – por ejemplo, los derivados de la fenilalanina – son solo moderadamente solubles. Debido a que no

existen zwitteriones, los miembros simples de este grupo de péptidos son a menudo compuestos neutros²³.

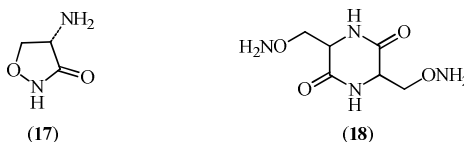
Muchos derivados de la familia de las dioxopiperazinas, dentro los cuales resaltan las gliotoxinas y esporidesminas, mostraron propiedades antivirales, mientras que otros, por ejemplo, las biciclomicinas son poderosos antibióticos. Más aún, hay una creciente tendencia a considerar muchos de estos compuestos como importantes intermediarios metabólicos, antes que como artefactos proteínicos. Además, su fácil obtención a partir de extractos y brotes de cultivo, indica su genuino carácter de metabolito. Uno de los miembros más inusuales de la familia de las dioxopiperazinas simples, es el agente antitumoral, 593 A (**16**) (Figura 14) el cual fue aislado de las bacterias de la familia *Streptomyces griseoluteus* como parte de un cribado general de nuevos agentes antitumorales de fuentes microbianas²⁴. Este compuesto se destaca por tener la función β -cloroamina típica de las mostazas nitrogenadas, un grupo de compuestos cuyos derivados han sido incorporados en muchas drogas sintéticas de uso en quimioterapia.

Figura 14. Estructura del agente antitumoral 593 A



Por otro lado, la cicloserina (**17**), es un antibiótico de amplio espectro que fácilmente se dimeriza, tanto en solución como en estado sólido para dar la dioxopiperazina, dímero de cicloserina (**18**) (Figura 15). La reacción es un equilibrio que se establece con facilidad a pH 1-2²⁵.

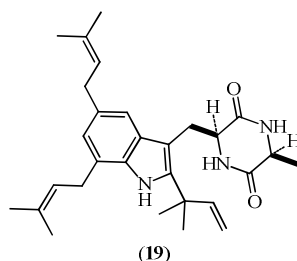
Figura 15. La cicloserina y su producto de dimerización.



Otro importante ejemplo es el caso de la Echinulina (**19**) (Figura 16), la cual es la primera de un nuevo grupo de dioxopiperazinas aisladas de hongos de la familia

Aspergillus echinulatus. el cual contiene una unidad de triptófano isofenilado y es conocido como un compuesto estable y neutro.

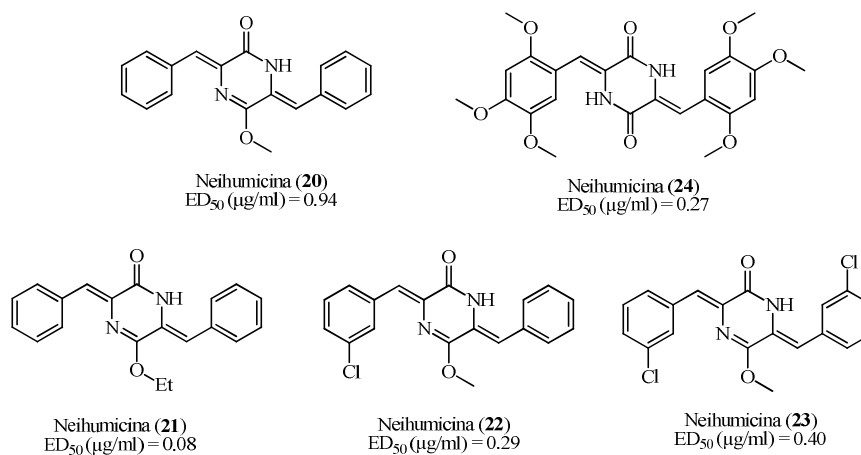
Figura 16. Estructura de la Echinulina.



Estudios paralelos en *Penicilium brevicompactum* y *Aspergillus ustus* han permitido aislar diez nuevos derivados cyclo-L-pro-L-try. Todos ellos con un grupo isoprenil en la posición C-2 como en la Echinulina. Estudios en el hongo *A. ustus* se iniciaron debido a que dicho hongo ataca las semillas o cultivos de maíz, y sus metabolitos causan intoxicaciones agudas en animales, tales como los patos²².

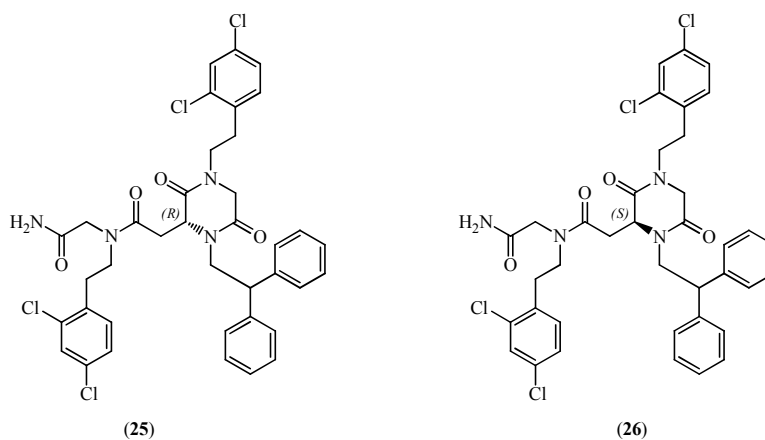
Tambien han sido aislados de fuentes naturales agentes antibióticos con valiosa utilidad como compuestos citotóxicos antitumorales, como es el caso de la Neihumicina (20), la cual es producida por *Micromonospora neihuensis*, y presenta una potente citotoxicidad, la cual es solo superada por sus análogos sintéticos (21-24) (Figura 17)²⁶.

Figura 17. Neihumicina y sus análogos sintéticos con mejorada bioactividad.



Recientemente, también se han llevado a cabo procesos de separación de mezclas racémicas, con el fin de separar los enantiómeros de compuestos con destacada bioactividad, como es el caso de las 1,4-piperazin-2,5-dionas (**25**) y (**26**) (figura 18) que presentan una notoria bioactividad como inhibidores de la apoptosis y fueron separados mediante HPLC. Sin embargo y a pesar de lo esperado, se encontró que su quiralidad no guardaba correlación con los resultados de su bioactividad²⁷.

Figura 18. Enantiómeros de la 1,4-piperazin-2,5-diona.



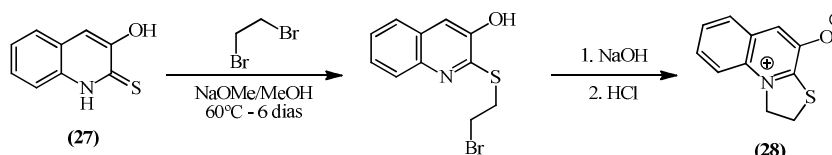
2. ANTECEDENTES

La diversidad en los perfiles de respuesta biológica de las tiazolidinas ha atraído la atención de muchos investigadores de explorar y desarrollar nuevas estrategias para síntesis de compuestos análogos con una significativa actividad biológica.

2.1. ESFUERZOS SINTÉTICOS HACIA LA SÍNTESIS DE LAS TIAZOLIDINAS

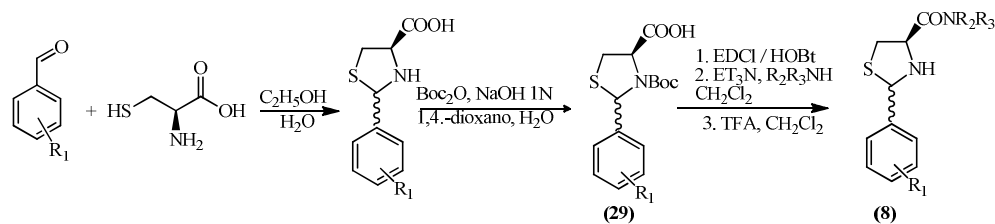
Con anterioridad se habían presentado rutas sintéticas dirigidas a la obtención del núcleo tiazolidínico a partir de otros andamiajes moleculares que se modificaron para crear una estructura heterofusionada a partir de la quinolin-2-tiona (**27**) como precursor para la síntesis de la tiazolidina (**28**) (Esquema 1), heterofusionada con el núcleo quinolínico generando un compuesto heterociclo promisorio dada la naturaleza bioactiva de sus bloques constituyentes²⁸.

Esquema 1. Síntesis de compuesto tiazolidina a partir de estructura quinolínica.



En recientes estudios se ha reportado la síntesis de una nueva clase de agentes citotóxicos derivados de amidas sustituidas de ácidos 2-aril-tiazolidin-4-carboxílicos con actividad anti-proliferativa y selectiva contra las células cancerosas de la próstata y el melanoma¹³. Los derivados (2*RS*,4*R*)-2-ariltiazolidin-4-carboxamidas (**29**) fueron sintetizados a partir de la reacción entre la (*R*)-cisteína con apropiados benzaldehídos (Esquema 2).

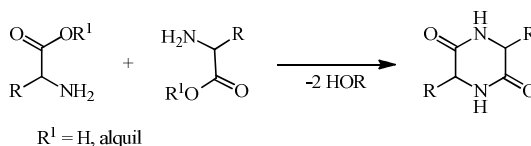
Esquema 2. Esquema de síntesis de algunos derivados de 2-ariltiazolidin-4-carboxamidas.



2.2. ESFUERZOS SINTÉTICOS HACIA LA SÍNTESIS DE LAS DIOXOPIPERAZINAS.

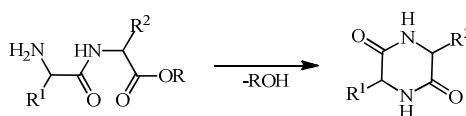
La síntesis de compuestos dioxopiperazínicos se caracteriza por que en la mayoría de los casos se presenta una reacción entre aminas y compuestos carboxílicos para generar las amidas cíclicas, que son características de este tipo de compuestos. Una ruta clásica para acceder a este tipo de compuestos es la ciclicondensación dimerizante de α -aminoácidos o sus respectivos ésteres (Esquema 3)²⁹.

Esquema 3. Síntesis de dioxopiperazinas por dimerización de aminoácidos.



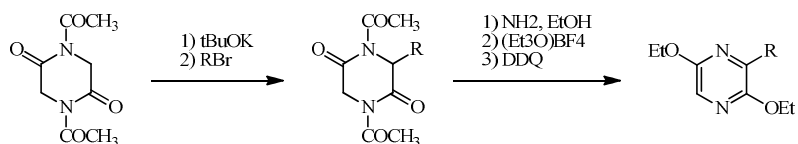
Esta reacción no solo se limita a aminoácidos simples, también pueden emplearse dipéptidos que al ser ciclados generen productos asimétricos (Esquema 4).

Esquema 4. Síntesis de dioxopiperazinas vía Reacción de ciclodensación de dipéptidos.



Además, esta ruta sintética ha permitido acceder a diferentes análogos pirazínicos, a partir de las dioxopiperazinas apropiadas para llevar a cabo la re-aromatización del sistema heterocíclico (Esquema 5)².

Esquema 5. Obtención de los análogos pirazínicos a partir de las pirazindionas.



Giessen y colaboradores³⁰, luego de estudiar la biosíntesis de las nocazinas (**30-38**) (Figura 19), las cuales constituyen una familia de dipéptidos cíclicos producidos por diferentes especies de actinobacterias, dichos compuestos presentaron actividad citotóxica y antibacterial. Para dicho proposito, emplearon ciclopeptidosintasa dependiente del *t*-ARN, mientras que por otro lado, andamiaje de la dioxopiperazina se logró mediante la acción combinada y combinatoria de la coclopeptidoxidasa y dos diferentes SAM-dependientes-O/N-metiltransferasas. Los diversos compuestos producto de dicho estudio se emplearon también para estudiar las interacciones de los patógenos y parásitos huéspedes (Esquema 6).

Esquema 6. Biosíntesis de nocazinas.

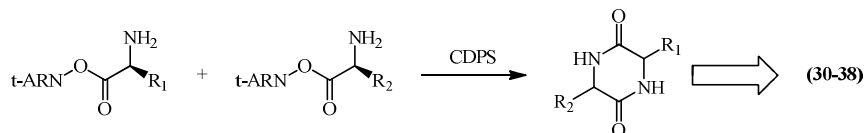
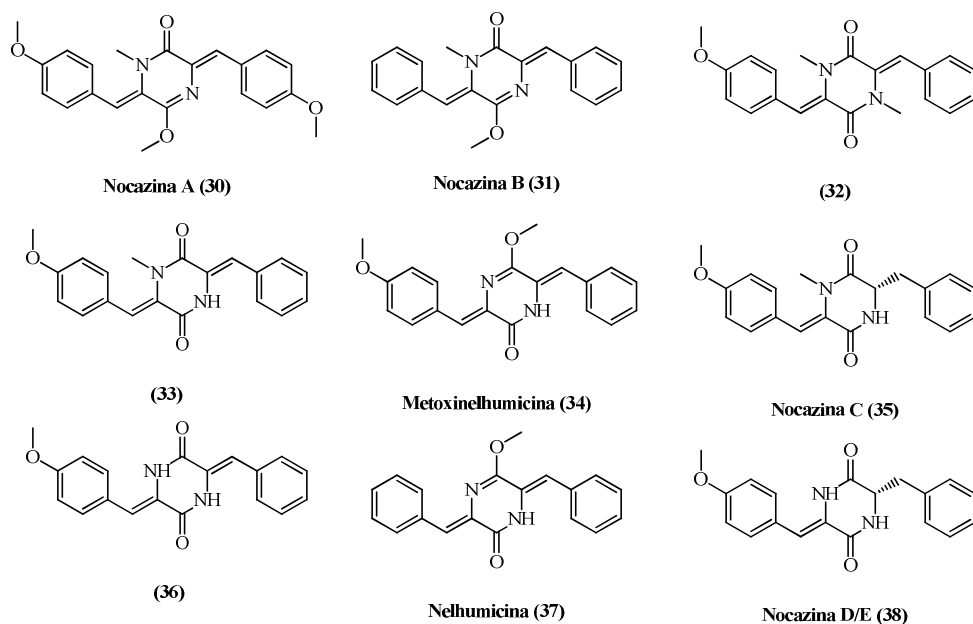
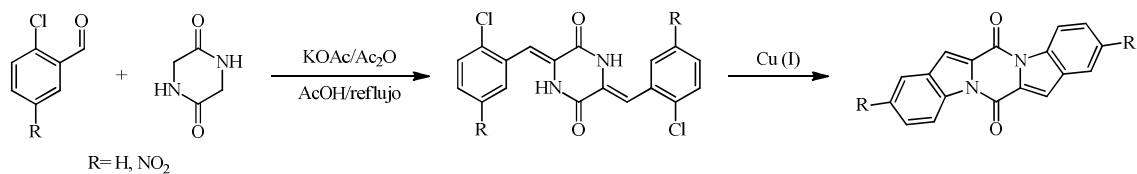


Figura 19. nocazinas biosintetizadas.



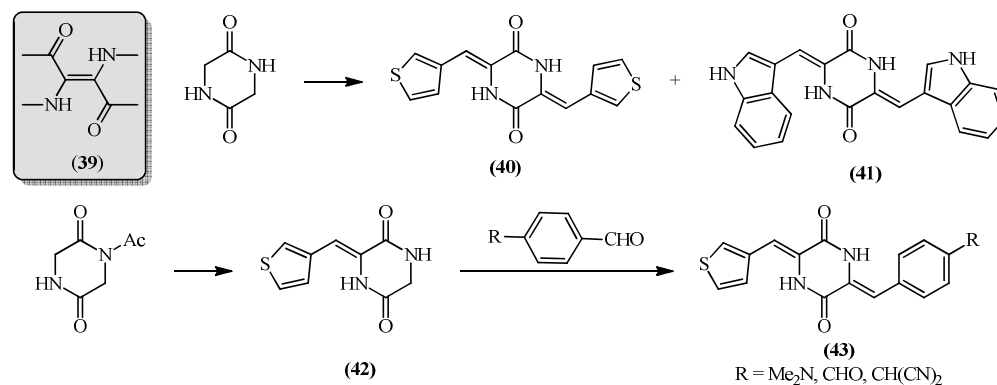
Este tipo de moléculas también han sido empleadas como sustratos de partida para modificaciones estructurales con el fin de generar estructuras heterofusionadas con otros heterociclos de reconocida actividad biológica, tales como el indol (Esquema 7)³¹.

Esquema 7. Síntesis de índoles derivados de dioxopiperazinas.



En adición, Asiri y colaboradores³² reportaron un trabajo en el cual se toma como guía la obtención de estructuras análogas de las nocazinas, con similitud estructural a un compuesto cromóforo presente en el índigo (**39**), a partir de dicho compuesto se sintetizó una pequeña galería de dioxopiperazinas (**40-43**) (esquema 8).

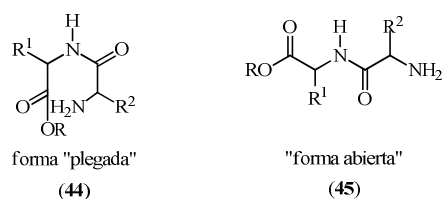
Esquema 8. dioxopiperazinas análogas del compuesto cromóforo presente en el índigo.



La dimerización en lugar de la polimerización de los anhídridos de N-carboxilaminoácidos (anhídridos de Leuch) puede ser catalizada por aziridina. Con la intención de evitar la racemización se recomienda el uso de los metil ésteres *t*-butoxicarbonil protegidos, removiendo el grupo protector con ácido fórmico y ciclando mediante calentamiento de las sales derivadas de formato en solventes neutrales, tales como mezcla tolueno -*sec*-butanol a reflujo³³.

Un procedimiento ligeramente diferente para la preparación de dioxopiperazinas es por hidrogenolisis de metil ésteres de benzoiloxycarbonil dipéptido en metanol sobre paladio en catalizador de carbón. Para la formación de las dioxopiperazinas, el dipéptido precursor debe adoptar una configuración plegada (**44**), en lugar de la más estable, forma extendida (**45**) (figura 20), en la cual el enlace de la amida está en la configuración favorecida *trans*-. Debido a que los péptidos que contienen prolina ellos son forzados a adoptar la forma plegada por la presencia del anillo de la prolina ellos son mucho más propensos a ciclar con la formación del derivado dioxopiperazinico³⁴. No es muy sorprendente, por esto, hallar un número bastante amplio de derivados de la prolina en este grupo de productos naturales.

Figura 20. Formas adoptadas por los precursores dipéptídicos al momento de la ciclación.



La accesibilidad estérica, en el paso de la ciclación, es también importante. Un ejemplo está en la formación espontánea de la dioxopiperazina (47) del derivado de la cefalosporina (46) (Figura 21). En contraste, el derivado de la penicilina (48) es estable debido a que su grupo amino de cadena lateral es inhibido de atacar la función β -lactámica por el grupo metílico en la posición C-2. Como se esperaba, el epímero (49) permite acceder a la dioxopiperazina esperada (Figura 22)³⁵.

Figura 21. Cefalosporina y derivado dioxopiperazinico de la cefalosporina.

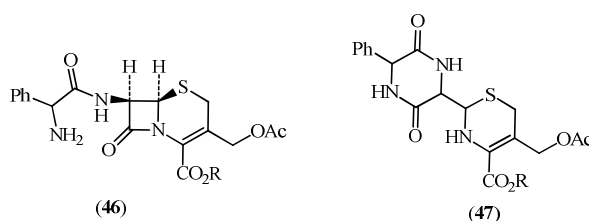
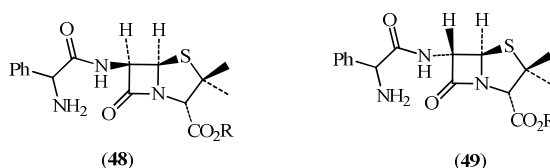


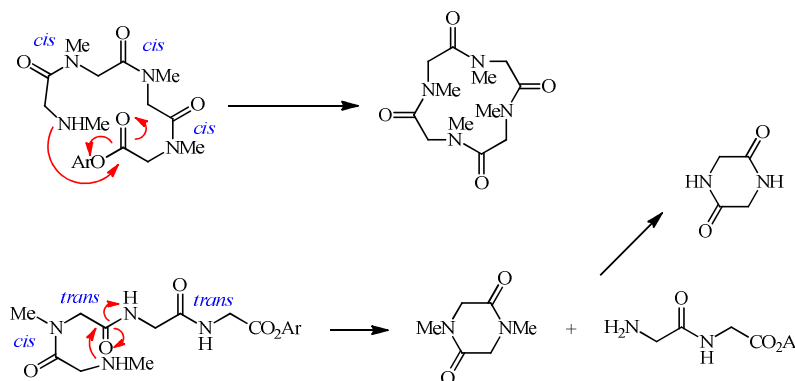
Figura 22. Epímeros de la penicilina.



Recientemente se ha llevado a cabo un minucioso estudio en cuanto al efecto de las preferencias conformacionales en el modo de ciclación en una variedad de ésteres tetra-péptidos que contienen una combinación de sarcosina con glicina o alanina. Estos estudios han permitido hacer predicciones sobre la reacción preferida, incluso la formación de un tetra-péptido cíclico o la formación de dos dioxopiperazinas. Los enlaces de amida que involucran el nitrógeno sarcosílico prefieren la conformación plegada *cis*-comparada con la preferencia del enlace peptídico normal por la conformación *trans*-. Esencialmente, se encontró que la naturaleza del primer y último enlace peptídico de los tetra-péptidos se encontró que era importante. Para arreglos *cis-cis* y *trans-trans* los modelos muestran que el terminal de la cadena de tetra péptidos puede ser fácilmente alcanzado por otro y un tetra péptido se forma. Por otra parte, las combinaciones *cis-trans* y *trans-cis* muestran una clara tendencia a generar las

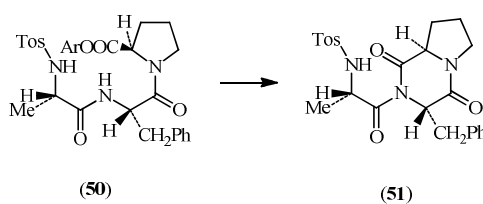
dioxopiperazinas debido a que el terminal en estos casos no puede acceder fácilmente al otro (Esquema 9).

Esquema 9. Ejemplo de tetra péptidos en combinaciones *cis-cis* y *cis-trans*.



Por otro lado, las dioxopiperazinas son a menudo formadas durante la manipulación de péptidos superiores. Por ejemplo, el tripéptido Tos-L-ala-L-phe-D-pro-OC₆H₄NO₂ (**50**) da la acildioxopiperazina (**51**) (Figura 23) en tratamiento con base débil. La formación de dioxopiperazinas durante la pirolisis de actinomicinas ha sido usada para ayudar en la determinación de la secuencia peptídica de estos antibióticos.

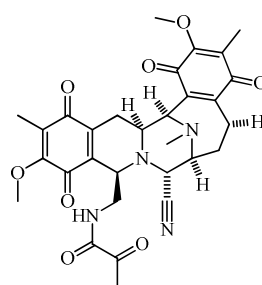
Figura 23. Tripéptido y su forma cíclica acildioxopiperazina.



Una vez formados los núcleos de las 2,5-dioxopiperazinas, estos generalmente se comportan como dipéptidos relativamente estables. Los isómeros diastereoméricos de los derivados sustituidos tienen leves variaciones en sus propiedades químicas y físicas²².

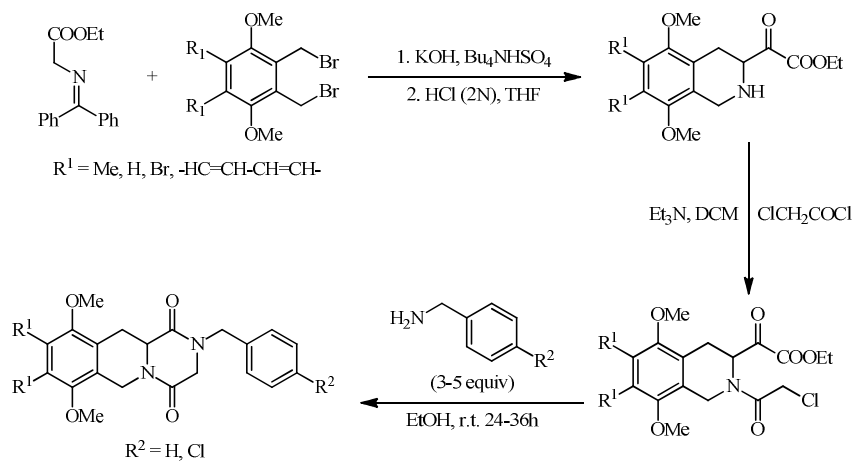
Inspirados en la estructura del producto natural saframicina A (Figura 24), la cual es un destacable agente antiproliferativo aislado de bacterias de la familia *Streptomyces lavendulae*, Nguyen y colaboradores³⁶ procedieron a sintetizar una amplia cantidad de análogos simplificados de dicho compuesto (Esquema 10), de entre los cuales cabe destacar aquellos que poseen en núcleo de la 2,5-dioxopiperazina además de la funcionalización N-bencil que es de especial relevancia para el presente trabajo.

Figura 24. Estructura de la Saframicina A



Saframicina A

Esquema 10. Síntesis de análogos reducidos de la Saframicina A.



2.3. ANTECEDENTES SINTÉTICOS DE COMPUESTOS HETEROFUSIONADOS TIPO TIAZOLIDINA-DIOXOPIPERAZINA.

Los compuestos heterofusionados derivados a partir del núcleo tiazolidínico son sintéticamente abundantes y de gran interés en la química orgánica por lo que se han reportado diversos trabajos con este enfoque^{28,37,38,39,40}. En específico, aquellos que poseen en su estructura el fragmento de la dioxopiperazina han sido ampliamente estudiados por sus propiedades bioactivas y su viabilidad sintética desde hace ya bastante tiempo, como en el trabajo de Torche y colaboradores (1987), el cual muestra como ya en ese entonces, este tipo de compuestos eran incluso comparados con fármacos comerciales tales como el Levamisol® (**52**) (figura 25), respecto a su actividad inmunoregulatoria sobre el linfocito T Humano. Es así que se encontró que los compuestos (**53**) y (**54**) (Esquema 11) mostraron una actividad mejorada respecto a el Levamisol®⁴¹.

Esquema 11. Síntesis de dioxopiperazina (**53**) más activa que el Levamisol®.

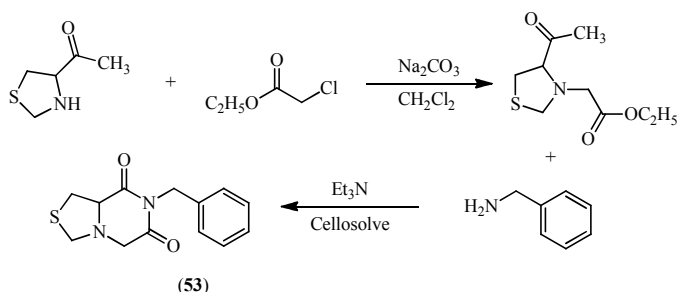
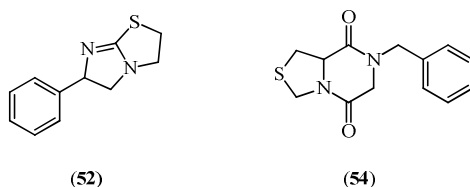


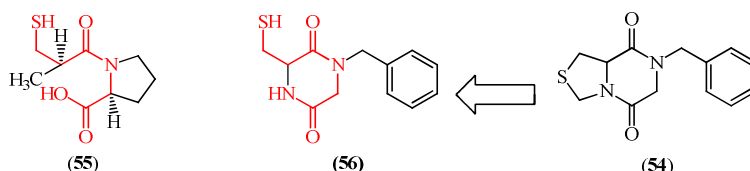
Figura 25. Levamisol y dioxopiperazina (**54**) con mayor bioactividad.



En un reporte posterior, Grizik y su grupo reportaron la síntesis de una serie de compuestos de tipo tiazolidino[3,4-a]piperazin-5,8-diona, los cuales ofrecían una interesante perspectiva como antihipertensivos. Dicho compuesto al convertirse a su forma tiólica, luego de la ruptura del anillo tiazolidínico se considera un analogo estructural del fármaco comercial Captopril® (**55**). Estos compuestos fueron probados

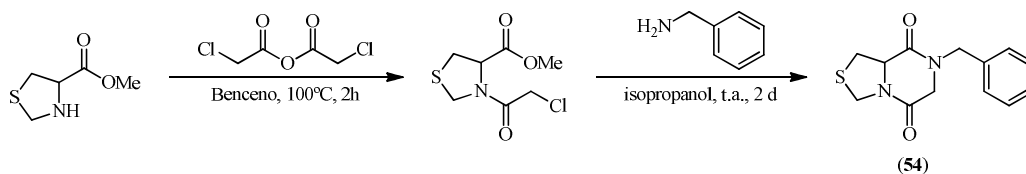
en ratas para evaluar su actividad sobre la presión arterial de la arteria carótida. De dicho estudio emerge el compuesto (**54**) como promisorio agente antihipertensivo y se espera se convierta a su forma tiólica (**56**) (Figura 26).

Figura 26. Estructuras del Captopril® (**55**) y el compuesto (**52**) más su forma tiólica (**56**).



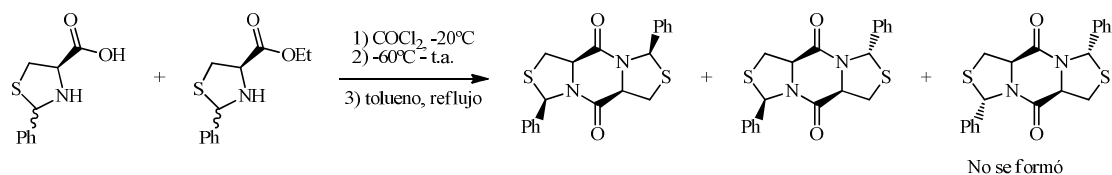
El compuesto con mayor bioactividad (**54**) fue sintetizado según la metodología descrita (Esquema 12), mediante una cloroacetilación en benceno a reflujo con el anhídrido monocloroacético como fuente del fragmento cloro acetilo, finalmente, se hace reaccionar el producto anterior con bencilamina en isopropanol para obtener el compuesto (**54**)⁴².

Esquema 12. Síntesis del compuesto (**54**)



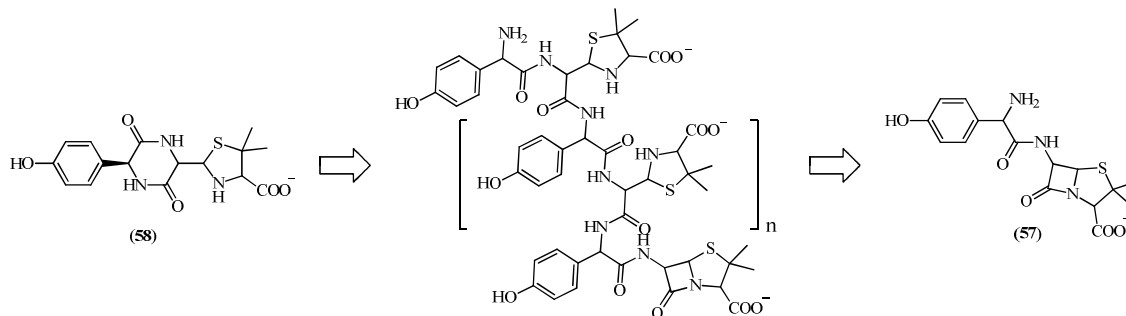
En un trabajo más reciente, Gonzáles y colaboradores⁴³ procedieron a la síntesis de compuestos de tipo dioxopiperazinas tricíclicas fusionados por ambos extremos con el núcleo tiazolidínico preparados a partir del ácido 2-ariltiazolidin-4-carboxílico generándose así una mezcla de diastereoisómeros debido a la presencia de 4 centros quirales de los cuales 2 no están definidos siguiendo la ruta descrita (Esquema 13).

Esquema 13. Ruta sintética de compuestos tricíclicos derivados de la tiazolidina.



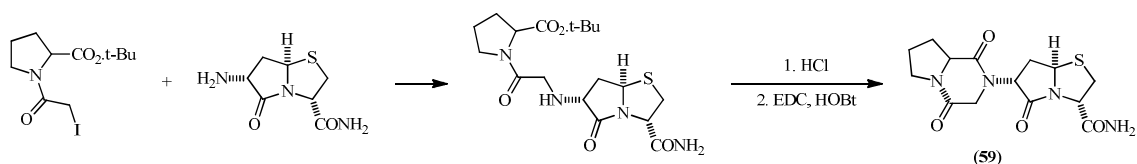
Desde el punto de la química analítica también se han realizado avances significativos como el de Fernández y colaboradores, quienes lograron determinar el proceso mediante el cual se obtenían naturalmente derivados dioxopiperazínicos de la amoxicilina (**57**) tras generarse oligómeros dicho antibiótico y finalmente generando el compuesto (**58**) (Esquema 14)⁴⁴, los cuales además han sido estudiados por la OMS y la FAO debido a que también constituyen un metabolito sintetizado por el organismo de diversas especies animales estudiadas⁴⁵.

Esquema 14. Proceso de conversión de amoxicilina a su derivado dioxopiperazínico.



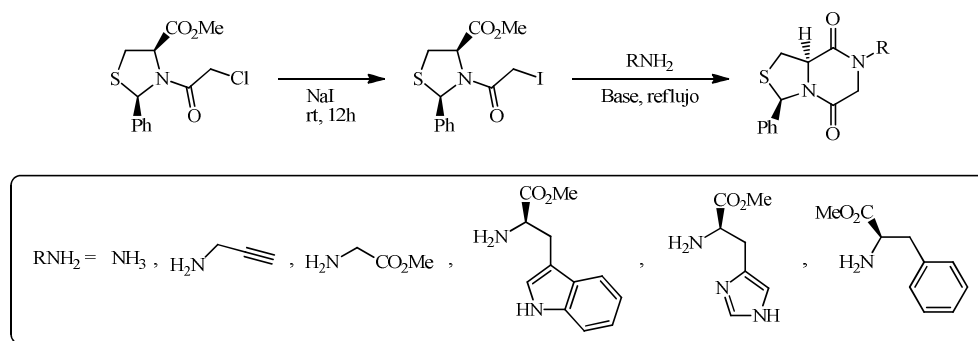
En 1997 el trabajo de Baures y su grupo ampliaron el rango de acción de este tipo de compuestos al estudiar una pequeña serie de dioxopiperazinas de estructura diversa y determinar su actividad como agentes moduladores de los receptores de dopamina de los cuales se puede apreciar que el compuesto (**59**) estuvo entre los que presentaron los mejores resultados en dichos ensayos y se sintetizó a partir de una amina N-protégida (Esquema 15)⁴⁶.

Esquema 15. Síntesis de dioxopiperazina (**56**).



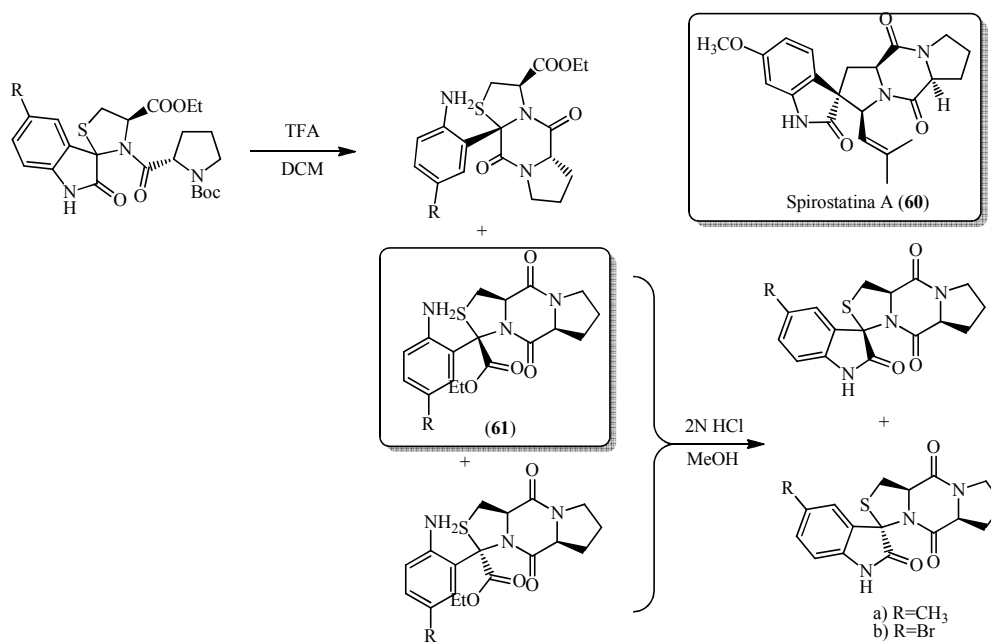
Más cercano a los objetivo de este trabajo Melo y colaboradores, reportaron lo que se presenta como la síntesis quiral de una serie de tiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-dionas muy similares a las moléculas de interés mediante una ruta relativamente sencilla y muy versátil, como se puede evidenciar en la diversidad de aminas empleadas (Esquema 16)⁴⁷.

Esquema 16. Síntesis quiral de tiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-dionas 7N-sustituidas.



Más recientemente, Bertamino y colaboradores enfocaron la síntesis a una serie derivada de la estructura de la espirotriptostatina A (**60**), aislada de la fermentación de un brote de *Aspergillus fumigates*, la cual mostró ser un agente de gran utilidad en la modulación del ciclo celular. A partir de ella como modelo estructural se sintetizaron los derivados (**61a**) y (**61b**), que también presentaron el mismo tipo de bioactividad (Esquema 17)⁴⁸.

Esquema 17. Síntesis de estructuras derivadas de spirostatina A (**60**) y los derivados bioactivos (**61a**) y (**61b**).



3. PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Desde la introducción de los antibióticos a comienzos de la década de 1940, más de 150 compuestos de este tipo han sido desarrollados. El conocimiento de los diversos tipos de antibióticos, su espectro de actividad, la eficacia en el tratamiento de las enfermedades infecciosas y sus perfiles de efectos colaterales, pueden ayudar a aliviar los potenciales problemas causados por el uso inapropiado de estas medicinas. El tópico de la resistencia bacteriana continúa dirigiendo la búsqueda de nuevos compuestos, que han incrementado la estabilidad y eficacia en contra de los patógenos resistentes.

En un sentido estricto, un antibiótico es una sustancia producida por varias especies de microorganismos vivos (por ejemplo, bacterias, hongos) que suprime el crecimiento de otros microorganismos vivientes. El uso común extiende el término antibiótico a incluir agentes antimicrobianos de origen sintético, tales como las sulfonamidas. Puesto que microbio es un nombre colectivo dado para las bacterias, virus, hongos y parásitos, el término antibacterial puede ser preferido para medicinas que interfieren con el crecimiento de bacterias, donde ellas son producidas por otros microorganismos o sintetizadas en un laboratorio.

La era moderna de la terapia antimicrobiana se remonta a 1936, con la introducción de la sulfonamida en la práctica clínica. Alexander Fleming descubrió la penicilina en 1929, pero solo hasta 1941 fue producida con éxito para uso comercial. Desde entonces, cientos de antibióticos han sido desarrollados.

Algunos antibacteriales son efectivos contra solo algunas bacterias seleccionadas y tienen un estrecho espectro de actividad. Mientras que otros son efectivos contra un amplio rango de bacterias (por ejemplo, ambas bacterias Gram-positiva y Gram-negativa) y tienen un amplio espectro de actividad.

El uso inapropiado de los antibióticos lleva a problemas como la resistencia a dichos agentes terapéuticos. Más aún, el paso del desarrollo de una droga antimicrobiana se ha ralentizado durante la última década o dos, con solo un puñado de nuevos agentes,

pocos de ellos son realmente novedosos, siendo introducidos en la práctica clínica. La comprensión de los diversos grupos de antibióticos y su uso apropiado es importante para evitar el uso innecesario de antibióticos y para reducir el desarrollo de la resistencia a los antibióticos entre bacterias de importancia clínica⁴⁹.

Es por ello que durante los últimos años se ha despertado un gran interés por el desarrollo de nuevas estrategias dirigidas hacia la preparación de nuevos sistemas heterocíclicos, con el fin de ser usados en el campo de la medicina desde la síntesis orgánica.

Luego de una exhaustiva revisión bibliográfica se ha demostrado que moléculas tiazolidínicas del tipo Aril tiazolidinas, poseen importante actividad biológica de diversos tipos y en específico de tipo antibacterial, que se ve particularmente maximizada para derivados *N*-sustituídos (como los productos intermedios) que además también cuentan con sustituyentes en la posición *para*- del anillo de benceno¹¹. Con base en lo anterior, en este plan de trabajo se plantea la siguiente pregunta de investigación ¿será posible la obtención de nuevas entidades moleculares heterofusionadas que contengan dentro de su estructura los bloques constituyentes de la dioxopiperazina y ariltiazolidina, empleando metodologías y reacciones clásicas?, ¿la generación de los nuevos compuestos heterofusionados nos permitirá acceder a sistemas moleculares que presentarán actividad antibiótica relevante así como sus respectivos precursores intermedios?

En la actualidad y antes, los compuestos heterocíclicos son ampliamente estudiados debido a sus importantes propiedades y aplicaciones. Un gran número de fármacos y moléculas biológicamente activas contienen en sus estructuras heteroátomos o agrupaciones de ellos. La conjunción de dos núcleos heterocíclicos de reconocida actividad biológica puede llevar a una sinergia entre los dos núcleos heterocíclicos de este compuesto heterofusionado que presentan el mismo tipo de bioactividad, como sucede en el caso de las tiazolidinas y dioxopiperazinas.

Un criterio útil para el diseño de una nueva molécula que sea candidata a convertirse en un fármaco es la toxicidad, puesto que está ligada a aspectos como los efectos

secundarios que van en detrimento de su empleo, limitando su uso y con ello su impacto; por tanto, es relevante que la molécula sintetizada posea muy poca toxicidad. De hecho, lo anterior es una característica típica del núcleo tiazolidínico, que hace que le prefieran incluso frente a fármacos más potentes debido a que presentan mayor toxicidad. El fragmento heterocíclico de la tiazolidina también posee historial como fármaco contra diferentes enfermedades, como se mostró previamente en el tratamiento de la hipertensión y la gripe⁸.

Al realizar la *N*- fusión-heterocíclica⁵⁰ de un sistema heterocíclico como el tiazolidínico con el de la dioxopiperazina se espera obtener una sinergia entre la bioactividad de dichos sistemas heterocíclicos que acentúe sus características como antibiótico, mejorando de este modo su perfil farmacológico, otorgándole mayor rigidez a su andamiaje molecular.

4. OBJETIVOS:

4.1. OBJETIVO GENERAL

Sintetizar y caracterizar estructuralmente una pequeña librería de nuevos derivados 3-aryl-1,8a,3,4-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-dionas, sistemas heterofusionados con potencial actividad antibiótica.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Realizar la reacción de condensación-ciclocondensación intermolecular vía sustitución nucleofílica para acceder al núcleo tiazolidínico, a partir de derivados del benzaldehído y el éster metílico de la (R)-(+)-cisteína, preparado in situ.

Obtener los respectivos derivados ariltiazolidínicos *N*-cloroacetilados de las 2-ariltiazolidinas previamente preparadas, empleando una reacción clásica de *N*-acilación.

Sintetizar las respectivas 3-aryl-7-bencil-1,8a,3,4-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-dionas mediante una reacción de condensación entre las ariltiazolidinas *N*-cloroacetiladas preformadas y diferentes bencilaminas.

Caracterizar los compuestos obtenidos (intermediarios y finales) por medio de las diferentes técnicas espectrométricas y espectrofotométricas disponibles.

Preparar cantidad representativa de todos los compuestos sintetizados para posterior evaluación de su actividad antibiótica sobre algunas cepas bacterianas patógenas.

5. SECCIÓN EXPERIMENTAL

5.1. CONSIDERACIONES GENERALES

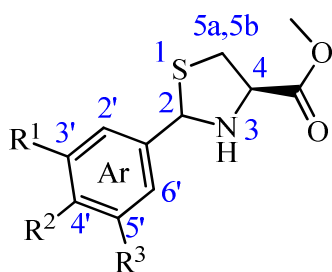
El control de las reacciones y el análisis preliminar de la pureza de cada compuesto obtenido fue monitoreado por cromatografía en capa delgada (CCD) con placas cromatográficas de sílica gel PF₂₅₄ en hojas de aluminio marca Merck. Cada patrón de elución en las cromatoplasas se reveló mediante el uso de una cámara UV-VIS marca Spectroline Model CM-10 a 366 o 254 nm. Los reactivos precursores empleados para la síntesis de cada una de las moléculas propuestas correspondían a las marcas Merck, Sigma-Aldrich y J.T. Baker y fueron utilizados con o sin purificación previa.

La separación y purificación de cada compuesto se llevó a cabo por cromatografía en columna sobre sílica gel (60 -120 mesh) y como eluente se utilizaron mezclas de acetato de etilo-éter de petróleo (hexanos) de polaridades adecuadas. Los puntos de fusión fueron determinados en un fusiómetro marca FISHER-JOHNS. Los valores no fueron corregidos y se reportaron como un intervalo de mediciones.

La elucidación estructural de los compuestos sintetizados se realizó mediante las distintas técnicas instrumentales. Los espectros infrarrojo (IR) fueron obtenidos mediante un espectrofotómetro BRUKER tensor 27 de transformada de Fourier con celda BRUKER platinum ATR. Las observaciones se registraron en la escala de número de onda (cm⁻¹). Los espectros de masas se realizaron mediante inyección directa de los compuestos (solubilizados en MeOH) a un espectrómetro de masas Amazon X (Bruker Daltonis) con nebulización por electrospray (ESI) y analizador de trampa iónica (IT). El equipo operó en modo Full scan positivo a 300 °C de temperatura y 4500 V de potencial en el capilar, empleando nitrógeno como gas nebulizador con flujo de 8L/min y presión de 30 psi. Los espectros de resonancia magnética nuclear (¹H-RMN, ¹³C-RMN, COSY, HSQC) se obtuvieron en un espectrómetro BRUKER Ultrashield-400 utilizando Cloroformo deuterado (CDCl₃) o dimetilsulfóxido deuterado (DMSO) como disolvente y como referencia.

5.2. Síntesis de los 2-aryl-tiazolidin-4-metilcarboxílatos a partir de la reacción del Metil éster de la (R)-(+)-cisteína con benzaldehídos.

Figura 27. 2-aryl-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (**1a-e**) obtenidas a partir de la (R)-(+)-cisteína con cloruro de tionilo en metanol, posteriormente el éster formado *in-situ* se llevó a reacción con distintos arilaldehídos.



Comp.	R ¹	R ²	R ³
1a	H	H	H
1b	H	Me	H
1c	H	NO ₂	H
1d	H	OMe	OMe
1e	OMe	OMe	OMe

Metodología general.

En un balón de fondo redondo de 100 mL se adicionó L-(+)-cisteína (1,356 g, 11,96 mmol) y se disolvió en metanol (20 mL), la mezcla se enfrió a 0°C con hielo y se dejó agitando cinco (5) minutos y a continuación se agregó cloruro de tionilo (1,22 mL, 1,20 g, 16,80 mmol) gota a gota con agitación vigorosa. Posteriormente, al concluir la adición, se ajustó un condensador y la mezcla se llevó a reflujo por 4h. La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida. Posteriormente dicha mezcla de reacción fue redisuelta en una solución (1:1) agua-etanol (20 mL) a la que luego se le agregó bicarbonato de sodio (1.12 g, 13,4 mmol). Una vez concluyó la efervescencia (liberación de CO₂) y la solución se tornó gris, se adicionó el respectivo benzaldehído precursor (13,44mmol) y se dejó en agitación vigorosa y temperatura ambiente toda la noche. La fase orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ anhidro, concentrada al vacío y el producto crudo fue purificado por

cromatografía en columna (CC) usando como disolventes eluentes éter de petróleo-acetato de etilo (10:1) para obtener finalmente los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxilatos de interés.

5.2.1. (2*RS*,4*R*)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**).

A partir de benzaldehído 1,37 mL (13,44 mmol), L-(+)-cisteína 1,36 g (12 mmol); empleando cloruro de tionilo 1,22 mL (17 mmol) y NaHCO₃ 1,13 g (13,4 mmol). Se obtuvo el 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato **1a** 2,06 g (9,2 mmol) como mezcla diastereomérica.

Aceite amarillo claro; Rto, 82 %; dr = 65:35⁵¹

Fórmula molecular: C₁₁H₁₃NO₂S (p.m. 223.3 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 3312_(ν N-H), 1738_(ν -C=O), 1437_(ν -C=C), 1202_{(ν C-(C=O)-O)}

Diastereoisómero α

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

7.52 (2H, d, *J* = 9.5 Hz, o-Ar-H), 7.48 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, p-Ar-H), 7.35 (2H, dd, *J* = 9.6, 7.4 Hz, m-Ar-H), 5.56 (1H, s, 2-H), 3.99 (1H, dd, *J* = 9.0, 7.1 Hz, 4-H), 3.80 (3H, s, OCH₃), 3.47 (1H, dd, *J* = 10.3, 7.1 Hz, 5_b-H), 3.11 (1H, dd, *J* = 10.3, 9.0 Hz, 5_a-H).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

171.70, 138.17, 128.85, 128.80 (2), 127.55 (2), 72.66, 65.61, 52.75, 39.34.

Diastereoisómero β

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

7.44-7.38 (3H, m, Ar-H), 7.27 (2H, d, Ar-H), 5.81 (1H, s, 2-H), 4.23 (1H, dd, *J* = 7.0, 5.9 Hz, 4-H), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.39 (1H, dd, *J* = 10.6, 7.1 Hz, 5_b-H), 3.21 (1H, dd, *J* = 10.6, 5.8 Hz, 5_a-H).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

172.32, 141.16, 129.10, 128.55 (2), 127.00 (2), 70.88, 64.39, 52.72, 38.26.

ESI-EM (*m/z*, %): 224 [M+H]⁺, 242 [M+NH₄]⁺, 246 [M+Na]⁺, 469 [2M+Na]⁺, 107 [(M+H)-C₄H₆O₂S]⁺.

5.2.2. (2*RS*,4*R*)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1b**).

A partir de 4-metilbenzaldehído 2,24 mL (19 mmol), L-(+)-cisteína 1,53 g (12,6 mmol); empleando cloruro de tionilo 1,38 mL (19 mmol) y NaHCO₃ 1,27 g (15,2 mmol). Se obtuvo el 2-(4metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato **1b** 2,38 g (10 mmol) como mezcla diastereomérica.

Aceite naranja, Rto, 80 %; dr = 66:34

Fórmula molecular: C₁₂H₁₅NO₂S (p.m. 237,3 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 3307_(ν N-H), 1738_(ν C=O), 1202_{(ν C-(C=O)-O)}

Diastereoisómero α

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

7.41 (2H, d, *J* = 8.1 Hz, o-Ar-H), 7.17 (2H, d, *J* = 7.8 Hz, m-Ar-H), 5.54 (1H, s, 2-H), 3.98 (1H, dd, *J* = 9.0, 7.1 Hz, 4-H), 3.80 (3H, s, OCH₃), 3.45 (1H, dd, *J* = 10.3, 7.1 Hz, 5_b-H), 3.10 (1H, dd, *J* = 10.3, 9.0 Hz, 5_a-H), 2.35 (3H, s, *p*-Me-H).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

171.72, 138.66, 135.15, 129.42 (2), 127.39 (2), 72.52, 65.57, 52.68, 39.32, 21.26.

Diastereoisómero β

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

7.36 (2H, d, *J* = 8.1 Hz, o-Ar-H), 7.13 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, m-Ar-H), 5.78 (1H, s, 2-H), 4.23 (1H, dd, *J* = 7.1, 5.7 Hz, 4-H), 3.78 (3H, s, OCH₃), 3.38 (1H, dd, *J* = 10.6, 7.1 Hz, 5_b-H), 3.21 (1H, dd, *J* = 10.6, 5.6 Hz, 5_a-H), 2.33 (3H, s, *p*-Me-H).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

172.34, 138.03, 137.77, 129.19 (2), 126.91 (2), 70.83, 64.39, 52.64, 38.20, 21.17.

ESI-EM (*m/z*, %): 238 [M+H]⁺, 260 [M+Na]⁺, 535 [2M+NH₃]⁺, 120 [(M+H)-C₄H₆O₂S]⁺.

5.2.3. (2*RS*,4*R*)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1c**).

A partir de 4-nitrobenzaldehído 3,38 g (22,4 mmol), L-(+)-cisteína 1,86 g (15 mmol); empleando cloruro de tionilo 1,623 mL (22,4 mmol) y NaHCO₃ 1,503 g (18 mmol). Se obtuvo el 2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato **1c** 3,18 g (12 mmol) como mezcla diastereomérica.

Aceite amarillo; Rto, 80 %; dr = 55:45

Fórmula molecular: C₁₁H₁₂N₂O₄S (p.m. 268,3 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 3332_(ν N-H), 1736_(ν C=O), 1204_{(ν C-(C=O)-O)}, 1517_(ν N-O)

Diastereoisómero α

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

8.14 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, m-Ar-H), 7.61 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, o-Ar-H), 5.87 (1H, s, 2-H), 4.07 (1H, t, *J* = 6.7 Hz, 4-H), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.36 (1H, dd, *J* = 10.6, 6.8 Hz, 5_b-H), 3.11 (1H, d, *J* = 10.5 Hz, 5_a-H).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

171.91, 149.64, 145.70, 127.70 (2), 123.68 (2), 69.21, 64.28, 52.81, 38.24.

Diastereoisómero β

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

8.19 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, m-Ar-H), 7.68 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, o-Ar-H), 5.59 (1H, s, 2-H), 4.01 (1H, dd, *J* = 8.8, 7.1 Hz, 4-H), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.47 (1H, dd, *J* = 10.4, 7.0 Hz, 5_b-H), 3.13 (1H, dd, *J* = 10.5, 2.2 Hz, 5_a-H).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

171.38, 147.99, 147.36, 128.58 (2), 123.91 (2), 71.15, 65.57, 52.82, 39.17.

ESI-EM (m/z , %): 269 [M+H]⁺, 291 [M+Na]⁺, 559 [2M+Na]⁺, 209 [M-C₂H₃O₂]⁺.

5.2.4. (2*RS*,4*R*)-2-(3,4-dimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1d**).

A partir de 3,4-dimetoxibenzaldehído 2,11 g (12,7 mmol), L-(+)-cisteína 1,28 g (10,6 mmol); empleando cloruro de tionilo 1,15 mL (16 mmol) y NaHCO₃ 1,06 g (13 mmol). Se obtuvo el 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato **1d** 1,5 g (5,3 mmol) como mezcla diastereomérica.

Sólido amarillo pálido; P.F. = 162-164°C, Rto, 50 %; dr = 65:35

Fórmula molecular: C₁₃H₁₇NO₄S (p.m. 283,3 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 3337_(ν N-H), 1723_(ν -C=O), 1210_{(ν C-(C=O)-O)}, 1020_(ν C-O-C)

Diastereoisomero α

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

7.09 – 6.99 (2H,m, o-Ar-H), 6.82 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, m-Ar-H), 5.50 (1H, s, 2-H), 3.96 (1H, dd, $J = 8.9, 7.2$ Hz, 4-H), 3.88 (3H, s, OCH₃), 3.86 (3H, s, OCH₃), 3.78 (3H, s, OCH₃), 3.44 (1H, dd, $J = 10.3, 7.1$ Hz, 5_b-H), 3.09 (1H, dd, $J = 10.2, 9.0$ Hz, 5_a-H), 2.61 (1H, s, NH).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

171.72, 149.29, 149.02, 130.37, 119.96, 110.95, 110.40, 72.64, 65.42, 55.97 (2), 52.69, 39.21.

Diastereoisomero β

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

7.09 – 6.99 (3H,m, H-Arom), 6.79 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, m-Ar-H), 5.74 (1H, s, 2-H), 4.22 (1H, dd, $J = 7.0, 5.6$ Hz, 4-H), 3.86 (3H, s, OCH₃), 3.84 (3H, s, OCH₃), 3.77 (3H, s,

OCH₃), 3.37 (1H, dd, $J = 10.6, 7.2$ Hz, 5_b-H), 3.20 (1H, dd, $J = 10.6, 5.5$ Hz, 5_a-H), 2.61 (1H, s, NH).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

172.34, 148.84, 148.70, 133.28, 119.26, 110.76, 110.16, 70.82, 64.24, 55.92 (2), 52.64, 38.06.

ESI-EM (m/z , %): 284 [M+H]⁺, 305 [M+Na]⁺, 269 [(M+H)-CH₃]⁺, 120 [(M+H)-C₉H₁₁NO₂]⁺.

5.2.5. (2*RS*,4*R*)-2-(3,4,5-trimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1e**).

A partir de 3,4,5-trimetoxibenzaldehído 3,0 g (12,8 mmol), L-(+)-cisteína 1,60 g (14.4 mmol); cloruro de tionilo empleando 1,54 mL (21 mmol) y NaHCO₃ 1,3 g (15 mmol) se obtuvo 2-(3,4,5-trimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato **1e** 2,88 g (9,2 mmol) como mezcla diastereomérica.

Aceite naranja; Rto, 72 %; dr = 60:40

Fórmula molecular: C₁₄H₁₉NO₅S (p.m. 313,4 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 3311_(ν N-H), 1736_(ν C=O), 1229_{(ν C-(C=O)-O)}, 1121_(ν C-O-C)

Diastereoisomero α

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

6.76 (2H, s, o-Ar-H), 5.49 (1H, s, 2-H), 3.96 (1H, dd, $J = 8.9, 7.2$ Hz, 4-H), 3.86 (6H, s, m-OCH₃), 3.82 (3H, s, OCH₃), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.44 (1H, dd, $J = 10.3, 7.2$ Hz, 5_b-H), 3.10 (1H, dd, $J = 10.3, 9.0$ Hz, 5_a-H).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

171.69, 153.36, 136.75, 133.61, 104.49, 77.16, 72.98, 65.44, 60.90, 56.21 (2), 52.74, 39.02.

Diastereoisomero β

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm):

6.73 (2H, s, o-Ar-H), 5.74 (1H, s, 2-H), 4.20 (1H, dd, $J = 6.9, 5.9$ Hz, 4-H), 3.84 (6H, s, m-OCH₃), 3.80 (3H, s, OCH₃), 3.78 (3H, s, OCH₃), 3.38 (1H, dd, $J = 10.6, 7.1$ Hz, 5_b-H), 3.18 (1H, dd, $J = 10.6, 5.8$ Hz, 5_a-H).

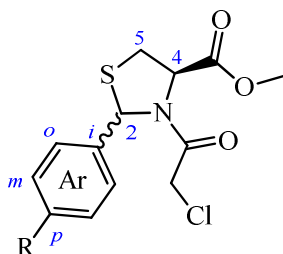
^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm):

172.31, 153.18, 137.45, 131.75, 103.89, 70.99, 64.26, 60.47, 56.17 (2), 52.74, 38.10.

ESI-EM (m/z , %): 314 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 336 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 324 $[(\text{M}+\text{H})-\text{CH}_3]^+$, 146 $[(\text{M}+\text{H})-\text{C}_4\text{H}_6\text{NO}]^+$.

5.3. Preparación de los (2RS,4R)-3-(2-cloroacetyl)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos

Figura 28. (2RS,4R)-3-(3-cloroacetyl)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos obtenidos mediante la *N*-acilación de los compuestos (**2 a-e**) catalizada por carbonato de potasio.



Comp.	R
2a	H
2b	Me
2c	NO ₂

Metodología general.

En un balón de fondo redondo de 100 mL, limpio y seco, se añadió el compuesto **1a-c** (9 mmol) disuelto en diclorometano (30 mL), luego con agitación vigorosa fue adicionado carbonato de potasio (2 g, 14.4 mmol) y el reactor se enfrió en un baño de hielo. Posteriormente el cloruro de cloroacetyl (0,9 mL, 10,7 mmol) disuelto en diclorometano (10 mL) fue adicionado gota a gota con ayuda de un embudo de adición

con equilibrio de presión sobre la mezcla y se dejó en agitación toda la noche. La mezcla de reacción fue extraída a pH neutro (7-8) empleando como disolvente acetato de etilo (3 porciones de 30 mL). La fase orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ anhidro, concentrada al vacío y el producto crudo fue purificado por cromatografía en columna (CC) usando como disolventes eluentes hexanos-acetato de etilo (5:1) para obtener finalmente puro el (2*RS*,4*R*)-3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxilato de interés.

5.3.1. (2*RS*,4*R*)-3-(2-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**).

A partir del 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato **1a** 2 g (9 mmol), empleando cloruro de cloroacetilo 0,9 mL (10,7 mmol) y K₂CO₃ 1,98 g (14,3 mmol). Se obtuvo el 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato **2a** 2,13 g (7,12 mmol) como mezcla diastereomérica y se presentan los datos del Diastereoisómero mayoritario.

Sólido blanco; P.F. = 88-90°C, Rto. 80 %; dr = 90:10

Fórmula molecular: C₁₃H₁₄ClNO₃S (p.m. 299,77 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 1746_(ν C=O), 1664_(ν NC=O), 1260_{(ν C-(C=O)-O)}

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

7.67 (2H, d, *J* = 7.3 Hz, o-Ar-H), 7.40 (2H, t, *J* = 7.3 Hz, m-Ar-H), 7.35 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, p-Ar-H), 6.19 (1H, s, 2-H), 5.07 (1H, t, *J* = 6.6 Hz, 4-H), 3.88-3.82 (4H, m, OCH₃, CH₂Cl), 3.71 (1H, d, *J* = 13.0 Hz, CH₂Cl), 3.34 (1H, dd, *J* = 12.3, 6.5 Hz, 5_b-H), 3.28 (1H, dd, *J* = 12.1, 6.7 Hz, 5_a-H).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

170.09, 165.63, 139.53, 129.30 (2), 129.02, 126.56 (2), 65.97, 65.28, 52.96, 41.88, 32.08.

ESI-EM (*m/z*, %): 322 [M+Na]⁺, 621 [2M+Na]⁺, 286 [(M+H)-CH₃]⁺.

5.3.2. (2RS,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (2b).

A partir de 2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato **1b** 1,5 g (6,2 mmol), empleando cloruro de cloroacetilo 0,74 mL (9,2 mmol) y K₂CO₃ 1,7 g (12,3 mmol). Se obtuvo el 3-(3-cloroacetil)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato **2b** 1,544 g (4,92 mmol) como mezcla diastereomérica y se presentan los datos del Diastereoisómero mayoritario.

Aceite amarillo; Rto. 80 %; dr = 90:10

Fórmula molecular: C₁₄H₁₆ClNO₃S (p.m. 313,80 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 1744_(ν C=O), 1668_(ν NC=O), 1260_{(ν C-(C=O)-O)}

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

7.55 (2H, d, *J* = 7.8 Hz, o-Ar-H), 7.19 (2H, d, *J* = 7.7 Hz, m-Ar-H), 6.16 (1H, s, 2-H), 5.06 (1H, t, *J* = 6.4 Hz, 4-H), 3.85-3.78 (4H, m, OCH₃, CH₂Cl), 3.70 (1H, d, *J* = 13.0 Hz, CH₂Cl), 3.32 (1H, dd, *J* = 12.1, 6.6 Hz, 5_b-H), 3.27 (1H, dd, *J* = 12.1, 6.5 Hz, 5_a-H), 2.34 (3H, s, CH₃).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

170.08, 165.64, 138.96, 136.38, 129.93 (2), 126.49 (2), 65.85, 65.19, 52.90, 41.93, 32.05, 21.23.

ESI-EM (*m/z*, %): 314 [M+H]⁺, 336 [M+Na]⁺, 649 [2M+Na]⁺.

5.3.3. (2*RS*,4*R*)-3-(2-cloroacetil)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (2c).

A partir de 2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato 1c 3,181 g (12 mmol), empleando cloruro de cloroacetilo 1,4 mL (18 mmol) y K₂CO₃ 3,3 g (23,7 mmol) se obtuvo el 3-(3-cloroacetil)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato 2c 3,75 g (11 mmol) como mezcla diastereomérica.

Aceite amarillo; Rto. 92 %; dr = 65:35

Fórmula molecular: C₁₃H₁₃ClN₂O₅S (p.m. 344,77 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 1742_(ν C=O), 1670_(ν NC=O), 1261_{(ν C-(C=O)-O)}, 1520_(ν N-O)

Diastereoisómero α

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

8,25 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, m-Ar-H), 7.91 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, o-Ar-H), 6.30 (1H, s, 2-H), 5.03 (1H, t, *J* = 6.8 Hz, 4-H), 3.85 (4H, s, OCH₃, CH₂Cl), 3.79 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, CH₂Cl), 3.38 (1H, dd, *J* = 11.9, 6.5 Hz, 5_b-H), 3.26-3.16 (1H, m, 5_a-H).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

169.99, 165.32, 148.08, 147.02, 127.52 (2), 124.43 (2), 65.41, 64.94, 53.13, 41.56, 31.97.

Diastereoisómero β

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

8,15 (2H, d, *J* = 7.4 Hz, m-Ar-H), 7.68 (2H, d, *J* = 7.6 Hz, o-Ar-H), 6.28 (1H, s, 2-H), 5.15 (1H, s, 4-H), 4.10 (1H, d, *J* = 7.1 Hz, CH₂Cl), 3.85 (4H, s, OCH₃, CH₂Cl), 3.56 (1H, dd, *J* = 11.4 Hz, 5_b-H), 3.47 (1H, dd, *J* = 11.7, 5.8 Hz, 5_a-H).

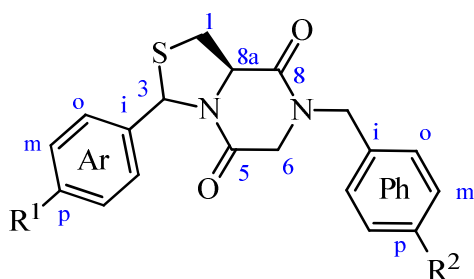
¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

171.24, 165.43, 147.67, 145.86, 128.12 (2), 123.75 (2), 67.11, 63.35, 53.64, 42.34, 34.41.

ESI-EM (m/z, %): 345 [M+H]⁺, 366 [M+Na]⁺, 711 [2M+Na]⁺, 178 [(M+H)-C₇H₅NO₂S]⁺.

5.4. Síntesis de las 3-aryl-tiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-dionas.

Figura 29. 3-aryl-tiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-dionas obtenidas mediante ciclación intermolecular con bencilaminas para sustituidas.



Comp.	R ¹	R ²
<u>3a</u>	H	H
<u>3b</u>	H	Cl
<u>3c</u>	H	Me
<u>3d</u>	H	OMe
<u>3e</u>	Me	H
<u>3f</u>	Me	Cl
<u>3g</u>	Me	Me
<u>3h</u>	Me	OMe
<u>3i</u>	NO ₂	H
<u>3j</u>	NO ₂	Cl
<u>3k</u>	NO ₂	Me
<u>3l</u>	NO ₂	OMe

Metodología general.

En un balón de 50 mL, limpio y seco, se añadieron una disolución del compuesto **2a-c** (2,3 mmol) en acetona (20 mL) y una disolución de yoduro de sodio (0,35g; 2,3 mmol) también en acetona (7 mL). La mezcla de reacción se dejó en agitación vigorosa y a temperatura ambiente durante toda la noche. Una vez se completó el tiempo, el

disolvente fue retirado a presión reducida hasta obtener un sólido blanco. Luego el sólido fue redisolto en metanol (15 mL) y el reactor se enfrió en baño de hielo. Posteriormente se llevó a cabo la adición gota a gota de trietilamina (0,32 mL; 2,3 mmol) y por medio de un embudo de adición con equilibrio de presión se preparó una disolución de la bencilamina seleccionada (0,3 mL, 2,8 mmol) en metanol (7 mL) gota a gota sobre la mezcla de reacción, manteniendo el baño frío hasta concluida la adición. A continuación, se retiró el baño de hielo y se reemplazó el embudo de adición con equilibrio de presión por un condensador. La mezcla de reacción se colocó a reflujo por 6 horas, manteniendo una agitación constante. La masa de reacción se extrajo a pH neutro empleando como disolvente acetato de etilo (3 porciones de 30 mL). La fase orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ anhidro, concentrada al vacío y el producto crudo fue purificado por cromatografía en columna (CC) usando como disolventes eluentes hexanos-acetato de etilo (3:1) para obtener finalmente puras las 3-aryl-tiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-dionas de interés.

5.4.1. (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (3a).

A partir de 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato **2a** 0,7 g (2,3 mmol), bencilamina 0,3 mL (2,8 mmol); empleando yoduro de sodio 0,35 g (2,3 mmol) y trietilamina 0,32 mL (2,3 mmol). Se obtuvo la 7-bencil-3-fenil-tiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona **3a** 0,24 g (1,2 mmol) como mezcla diastereomérica y se presentan los datos del Diastereoisómero mayoritario.

Sólido beige; P.F. = 106-109°C, Rto. 54 %; dr = 95:5

Fórmula molecular: C₁₉H₁₈N₂O₂S (p.m. 338,42 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 1646_(ν NC=O), 1433_(ν C-N)

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

7.40-7.25 (8H, m, Arom-H), 7.20-7.15 (2H, m, Arom-H), 6.19 (1H, s, 3-H), 4.76 (1H, d, $J = 14.6$ Hz, 1'_b-H), 4.65 (1H, dd, $J = 10.8, 5.9$ Hz, 8a-H), 4.58 (1H, d, $J = 14.6$ Hz, 1'_a-H) 4.05 (1H, dd, $J = 17.2, 1.2$ Hz, 6_b-H), 3.83 (1H, d, $J = 17.2$ Hz, 6_a-H), 3.55 (1H, dd, $J = 12.3, 11.0$ Hz, 1_b-H), 3.41 (1H, dd, $J = 12.4, 5.9$ Hz, 1_a-H).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

166.39, 163.81, 141.34, 135.29, 129.09 (2), 128.83 (2), 128.34, 128.21 (2), 128.18, 124.99 (2), 64.65, 63.63, 51.41, 49.50, 31.09.

ESI-EM (m/z , %): 361 [M+Na]⁺, 699 [2M+Na]⁺, 261 [(M+H)-C₆H₅]⁺.

5.4.2. (3*RS*,8*aR*)-7-(4-clorobencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3b**).

A partir del 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato **2a** 0,8 g (2,7 mmol), 4-clorobencilamina 0,38 mL (3,2 mmol); empleando yoduro de sodio 0,4 g (2,7 mmol) y trietilamina 0,37 mL (2,7 mmol). Se obtuvo la 7-(4-clorobencil)-3-fenil-tiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona **3b** 0,66 g (1,8 mmol) como mezcla diastereomérica y se presentan los datos del Diastereoisómero mayoritario.

Sólido naranja; P.F. = 76-79°C, Rto. 67 %; dr = 95:5

Fórmula molecular: C₁₉H₁₇ClN₂O₂S (p.m. 372,87 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 1647_(ν NC=O), 1433_(ν C-N)

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

7.49-7.36 (7H, m, Arom-H), 7.28 (2H, d, $J = 6.9$, o-Ph-H), 6.30 (1H, s, 3-H), 4.87 (1H, d, $J = 14.6$ Hz, 1'_b-H), 4.77 (1H, dd, $J = 10.4, 5.4$ Hz, 8a-H), 4.69 (1H, d, $J = 14.6$ Hz, 1'_a-H) 4.17 (1H, dd, $J = 17.2, 1.3$ Hz, 6_b-H), 3.94 (1H, d, $J = 17.2$ Hz, 6_a-H), 3.66 (1H, dd, $J = 12.4, 10.9$ Hz, 1_b-H), 3.52 (1H, dd, $J = 12.4, 5.9$ Hz, 1_a-H).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

166.42, 163.83, 141.37, 135.32, 132.46, 129.15 (2), 128.88 (2), 128.40, 128.27 (2), 125.03 (2), 64.71, 63.70, 51.47, 49.57, 31.15.

ESI-EM (*m/z*, %): 413 [M+K]⁺, 279 [M+Na]⁺, 699 [2(M-Cl)+Na]⁺.

5.4.3. (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metilbencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (3c**).**

A partir del 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato **2a** 0,5 g (1,7 mmol), 4-metilbencilamina 0,25 mL (2 mmol); empleando yoduro de sodio 0,25 g (1,7 mmol) y trietilamina 0,23 mL (1,7 mmol). Se obtuvo la 7-(4-metilbencil)-3-fenil-tiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona **3c** 0,44 g (1,3 mmol) como mezcla diastereomérica y se presentan los datos del Diastereoisómero mayoritario.

Sólido amarillo pálido; P.F. = 151-153°C, Rto. 75 %; dr = 99:1

Fórmula molecular: C₂₀H₂₀N₂O₂S (p.m. 352,45 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 1684_(νNC=O), 1652_(νNC=O), 1419_(ν C-N)

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

7.46-7.35 (4H, m, Arom-H), 7.32-7.28 (5H, m, Arom-H), 6.30 (1H, s, 3-H), 4.84 (1H, d, *J* = 14.5 Hz, 1'_b-H), 4.75 (1H, dd, *J* = 10.9, 5.8 Hz, 8a-H), 4.66 (1H, d, *J* = 14.5 Hz, 1'_a-H) 4.15 (1H, dd, *J* = 17.2, 1.2 Hz, 6_b-H), 3.93 (1H, d, *J* = 17.2 Hz, 6_a-H), 3.66 (1H, dd, *J* = 12.3, 10.9 Hz, 1_b-H), 3.52 (1H, dd, *J* = 12.4, 5.9 Hz, 1_a-H), 2.46 (3H, s, CH₃).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

166.42, 163.83, 141.37, 135.32, 132.46, 129.15 (2), 128.88 (2), 128.40, 128.27 (2), 125.03 (2), 64.71, 63.70, 51.47, 49.57, 31.15.

ESI-EM (*m/z*, %): 375 [M+Na]⁺, 727 [2M+Na]⁺, 233 [(M+H)-C₈H₉N]⁺.

5.4.4. (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metoxibencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (3d**).**

A partir del 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato **2a** 0,5 g (1,7 mmol), 4-metoxibencilamina 0,26 mL (2 mmol); empleando yoduro de sodio 0,25 g (1,7 mmol) y trietilamina 0,23 mL (1,7 mmol). Se obtuvo la 7-(4-metoxibencil)-3-fenil-tiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona **3d** 0,41 g (1,1 mmol) como mezcla diastereomérica y se presentan los datos del Diastereoisómero mayoritario.

Sólido amarillo pálido; P.F. = 195-197°C, Rto. 67 %; dr = 95:5

Fórmula molecular: C₂₀H₂₀N₂O₃S (p.m. 368,45 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 1683_(νNC=O), 1652_(νNC=O), 1514_(νMe-O-Ar), 1414_(ν C-N)

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

7.44-7.41 (2H, m, Ar-H), 7.40-7.38 (1H, m, Ar-H), 7.32 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, o-Ph-H), 7.29-7.25 (2H, m, Ar-H), 7.00 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, m-Ph-H), 6.29 (1H, s, 3-H), 4.83 (1H, d, *J* = 14.4 Hz, 1'_b-H), 4.74 (1H, ddd, *J* = 10.9, 5.9, 1.1 Hz, 8a-H), 4.61 (1H, d, *J* = 14.4 Hz, 1'_a-H) 4.14 (1H, dd, *J* = 17.2, 1.3 Hz, 6_b-H), 3.93 (1H, d, *J* = 17.1 Hz, 6_a-H), 2.92 (3H, s, OCH₃), 3.65 (1H, dd, *J* = 12.3, 10.9 Hz, 1_b-H), 3.51 (1H, dd, *J* = 12.4, 5.9 Hz, 1_a-H).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

166.30, 163.90, 159.60, 141.37, 129.72 (2), 128.86 (2), 128.21, 127.35, 125.02 (2), 114.45 (2), 64.68, 63.73, 55.39, 51.26, 48.99, 31.13.

ESI-EM (*m/z*, %): 391 [M+Na]⁺, 121 [(M+H)-C₁₂H₁₁N₂O₂S]⁺.

5.4.5. (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-(4-metilfenil)tetrahidrothiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (3e**).**

A partir del 3-(3-cloroacetil)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato **2b** 1,03 g (2,6 mmol), bencilamina 0,35 mL (3,05 mmol); empleando yoduro de sodio 0,4 g (2,6 mmol) y trietilamina 0,36 mL (2,6 mmol). Se obtuvo la 7-bencil-3-(4-metilfenil)-tiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona **3e** 0,5 g (1,4 mmol) como mezcla diastereomérica y se presentan los datos del Diastereoisómero mayoritario.

Sólido beige; P.F. = 119-120°C, Rto. 55 %; dr = 99:1

Fórmula molecular: C₂₀H₂₀N₂O₂S (p.m. 352,45 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 1649_(νNC=O), 1425_(ν C-N)

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

7.33-7.26 (3H, m, Arom-H), 7.23-7.18 (2H, m, Arom-H), 7.06 (2H, dd, *J* = 8.1 Hz, m-Ar-H), 7.00 (2H, dd, *J* = 8.2 Hz, o-Ar-H), 6.09 (1H, s, 3-H), 4.68 (1H, d, *J* = 14.6 Hz, 1'_b-H), 4.57 (1H, dd, *J* = 10.8, 5.9 Hz, 8a-H), 4.52 (1H, d, *J* = 14.6 Hz, 1'_a-H) 3.98 (1H, dd, *J* = 17.2, 1.0 Hz, 6_b-H), 3.75 (1H, d, *J* = 17.2 Hz, 6_a-H), 3.49 (1H, dd, *J* = 12.2, 11.0 Hz, 1_b-H), 3.34 (1H, dd, *J* = 12.3, 5.9 Hz, 1_a-H), 2.26 (3H, s, CH₃).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

166.50, 163.80, 138.59, 138.10, 135.38, 129.59 (2), 129.18 (2), 128.42, 128.30 (2), 125.05 (2), 64.72, 63.75, 51.52, 49.61, 31.25, 21.23.

ESI-EM (*m/z*, %): 375 [M+Na]⁺, 727 [2M+Na]⁺, 261 [(M+H)-C₇H₇]⁺.

5.4.6. (3*RS*,8*aR*)-7-(4-clorobencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (3f**).**

A partir del 3-(3-cloroacetil)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato **2b** 0,45 g (1,43 mmol), 4-clorobencilamina 0,2 mL (0,72 mmol); empleando yoduro de sodio 0,2 g (1,43 mmol) y trietilamina 0,2 mL (1,43 mmol). Se obtuvo la 7-(4-clorobencil)-3-(4-metilfenil)-tiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona **3f** 0,3 g (1,43 mmol) como mezcla diastereomérica y se presentan los datos del Diastereoisómero mayoritario.

Sólido blanco; P.F. = 196-198°C, Rto. 47 %; dr = 99:1

Fórmula molecular: C₂₀H₂₀N₂O₂S (p.m. 352,45 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 1657_(νNC=O), 1458_(ν C-N).

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

7.36 (2H, d, *J* = 8.1 Hz, m-Ph-H), 7.33 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, o-Ar-H), 7.21 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, m-Ar-H), 7.14 (2H, dd, *J* = 8.0 Hz, o-Ph-H), 6.09 (1H, s, 3-H), 4.63 (1H, d, *J* = 14.5 Hz, 1'_b-H), 4.60 (1H, dd, *J* = 9.2, 6.1 Hz, 8a-H), 4.51 (1H, d, *J* = 14.5 Hz, 1'_a-H) 4.00 (1H, dd, *J* = 17.2, 1.4 Hz, 6_b-H), 3.83 (1H, d, *J* = 17.2 Hz, 6_a-H), 3.62 (1H, dd, *J* = 12.2, 6.4 Hz, 1_b-H), 3.37 (1H, dd, *J* = 12.2, 9.3 Hz, 1_a-H), 2.32 (3H, s, CH₃).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

164.36, 160.82, 138.64, 136.31, 134.48, 133.49, 130.01 (2), 129.46 (2), 129.36 (2), 127.00 (2), 77.16, 64.48, 60.91, 50.53, 49.03, 35.54, 21.24.

ESI-EM (*m/z*, %): 409 [M+Na]⁺, 795 [2M+Na]⁺, 295 [(M+H)-C₇H₇]⁺.

5.4.7. (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metilbencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (3g**).**

A partir del 3-(3-cloroacetil)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato **2b** 0,33 g (1 mmol), 4-metilbencilamina 0,16 mL (1,25 mmol); empleando yoduro de sodio 0,16 g (1 mmol) y trietilamina 0,15 mL (1 mmol). Se obtuvo la 7-(4-metilbencil)-3-(4-metilfenil)-tiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona **3g** 0,13 g (0,35 mmol) como mezcla diastereomérica y se presentan los datos del Diastereoisómero mayoritario.

Sólido beige; P.F. = 140-143°C, Rto. 33 %; dr = 99:1

Fórmula molecular: C₂₁H₂₂N₂O₂S (p.m. 366,48 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 1682_(νNC=O), 1651_(νNC=O), 1418_(ν C-N)

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

7.16 (4H, s, Ph-H), 7.12 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, Ar-H), 7.06 (2H, d, *J* = 8.2 Hz, Ar-H), 6.15 (1H, s, 3-H), 4.70 (1H, d, *J* = 14.5 Hz, 1'_b-H), 4.62 (1H, ddd, *J* = 120.8, 5.8, 0.9 Hz, 8a-H), 4.54 (1H, d, *J* = 14.5 Hz, 1'_a-H) 4.02 (1H, dd, *J* = 17.2, 1.2 Hz, 6_b-H), 3.80 (1H, d, *J* = 17.2 Hz, 6_a-H), 3.55 (1H, dd, *J* = 12.3, 10.9 Hz, 1_b-H), 3.39 (1H, dd, *J* = 12.3, 5.9 Hz, 1_a-H), 2.35 (3H, s, CH₃), 2.32 (3H, s, CH₃).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

166.40, 163.84, 138.60, 138.18, 138.03, 132.30, 129.80, 129.56, 128.30, 125.03, 64.68, 63.75, 51.38, 49.31, 31.22, 21.23, 21.21.

ESI-EM (*m/z*, %): 389 [M+Na]⁺, 755 [2M+Na]⁺, 275 [(M+H)-C₇H₇]⁺.

5.4.8. (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (3h**).**

A partir del 3-(3-cloroacetil)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato **2b** 0,6 g (1,43 mmol), 4-metoxibencilamina 0,22 mL (1,7 mmol); empleando yoduro de sodio 0,215 g (1,4 mmol) y trietilamina 0,2 mL (1,4 mmol). Se obtuvo la 7-(4-metoxibencil)-3-(4-metilfenil)-tiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona **3h** 0,35 g (0,9 mmol) como mezcla diastereomérica y se presentan los datos del Diastereoisómero mayoritario.

Sólido blanco; P.F. = 131-133°C, Rto. 64 %; dr = 99:1

Fórmula molecular: C₂₁H₂₂N₂O₃S (p.m. 382,48 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 1655_(νNC=O), 1510_(νMe-O-Ar), 1454_(ν C-N)

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

7.35 (2H, d, *J* = 8.1 Hz, o-Ar-H), 7.20 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, o-Ph-H), 7.14 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, m-Ar-H), 6.87 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, m-Ph-H), 6.55 (1H, s, 3-H), 4.61 (1H, d, *J* = 14.4 Hz, 1'_b-H), 4.57 (1H, d, *J* = 6.5 Hz, 8a-H), 4.47 (1H, d, *J* = 14.3 Hz, 1'_a-H), 3.97 (1H, dd, *J* = 17.4, 1.4 Hz, 6_b-H), 3.83 (1H, d, *J* = 17.3 Hz, 6_a-H), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.62 (1H, dd, *J* = 11.1, 6.3 Hz, 1_b-H), 3.35 (1H, dd, *J* = 11.1, 9.4 Hz, 1_a-H), 2.35 (3H, s, CH₃),.

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

164.04, 161.05, 159.70, 138.50, 136.41, 130.06 (2), 129.39 (2), 126.94 (2), 114.46 (2), 64.32, 60.93, 55.40, 50.23, 48.97, 35.60, 21.19.

ESI-EM (*m/z*, %): 405 [M+Na]⁺, 787 [2M+Na]⁺, 291 [(M+H)-C₇H₇]⁺.

5.4.9. (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (3i**).**

A partir del 3-(3-cloroacetil)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato **2c** 0,67 g (1,9 mmol), bencilamina 0,254 mL (2,3 mmol); empleando yoduro de sodio 0,3 g (1,9 mmol) y trietilamina 0,27 mL (1,9 mmol). Se obtuvo la 7-bencil-3-(4-nitrofenil)-tiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona **3i** 0,28 g (0,72 mmol) como mezcla diastereomérica y se presentan los datos del Diastereoisómero mayoritario.

Sólido beige; P.F. = 129-131°C, Rto. 38 %; dr = 99:1

Fórmula molecular: C₁₉H₁₇N₃O₄S (p.m. 383,42 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 1655_(νNC=O), 1516_(νN-O), 1422_(ν C-N)

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

8.14 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, m-Ar-H), 7.38-7.33 (3H, m, Ph-H), 7.30 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, o-Ar-H) 7.25 (2H, d, *J* = 5.8 Hz, Ph-H), 6.14 (1H, s, 3-H), 4.75 (1H, d, *J* = 14.5 Hz, 1'_b-H), 4.67 (1H, dd, *J* = 10.2, 6.0 Hz, 8a-H), 4.56 (1H, d, *J* = 14.5 Hz, 1'_a-H) 4.06 (1H, dd, *J* = 17.3, 1.1 Hz, 6_b-H), 3.82 (1H, d, *J* = 17.3 Hz, 6_a-H), 3.50 (1H, dd, *J* = 12.4, 10.6 Hz, 1_b-H), 3.44 (1H, dd, *J* = 12.5, 6.2 Hz, 1_a-H).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

165.98, 164.15, 148.45, 147.62, 135.21, 129.26 (2), 128.60, 128.34 (2), 126.16 (2), 124.28 (2), 63.92, 63.75, 51.40, 49.75, 31.67.

ESI-EM (*m/z*, %): 406 [M+Na]⁺, 789 [2M+Na]⁺.

5.4.10. (3*RS*,8*aR*)-7-(4-clorobencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (3j**).**

A partir del 3-(3-cloroacetil)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato **2c** 0,45 g (1,3 mmol), 4-clorobencilamina 0,18 mL (1,54 mmol); empleando yoduro de sodio 0,2 g (1,3 mmol) y trietilamina 0,2 mL (1,3 mmol). Se obtuvo la 7-(4-clorobencil)-3-(4-nitrofenil)-tiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona **3j** 0,14 g (0,34 mmol) como mezcla diastereomérica y se presentan los datos del Diastereoisómero mayoritario.

Sólido beige; P.F. = 170-173°C, Rto. 26 %; dr = 99:1

Fórmula molecular: C₁₉H₁₆ClN₃O₄S (p.m. 417,87 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 1697_(νNC=O), 1651_(νNC=O), 1510_(νN-O), 1422_(ν C-N)

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

8.16 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, m-Ar-H), 7.34 (2H, d, *J* = 5.0 Hz, m-Ph-H), 7.32 (2H, d, *J* = 5.3 Hz, o-Ph-H), 7.21 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, o-Ar-H), 6.16 (1H, s, 3-H), 4.81 (1H, d, *J* = 14.6 Hz, 1'_b-H), 4.68 (1H, dd, *J* = 10.5, 6.1 Hz, 8a-H), 4.46 (1H, d, *J* = 14.6 Hz, 1'_a-H) 4.07 (1H, dd, *J* = 17.2, 1.0 Hz, 6_b-H), 3.81 (1H, d, *J* = 17.2 Hz, 6_a-H), 3.51 (1H, dd, *J* = 12.4, 10.5 Hz, 1_b-H), 3.46 (1H, dd, *J* = 12.4, 6.2 Hz, 1_a-H).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

165.99, 163.95, 148.39, 147.63, 134.56, 133.71, 129.74 (2), 129.43 (2), 126.17 (2), 124.28 (2), 63.94, 63.73, 51.46, 49.16, 31.66.

ESI-EM (*m/z*, %): 440 [M+Na]⁺, 172 [(M+H)-C₁₂H₁₀N₃O₄S]⁺.

5.4.11. (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metilbencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (3k**).**

A partir del 3-(3-cloroacetil)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato **2c** 0,6 g (1,74 mmol), 4-metilbencilamina 0,3 mL (2,3 mmol); empleando yoduro de sodio 0,26 g (1,74 mmol) y trietilamina 0,3 mL (2 mmol). Se obtuvo la 7-(4-metilbencil)-3-(4-nitrofenil)-tiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona **3k** 0,23 g (0,6 mmol) como mezcla diastereomérica y se presentan los datos del Diastereoisómero mayoritario.

Sólido beige; P.F. = 160-163°C, Rto. 31 %; dr = 67:33

Fórmula molecular: C₂₀H₁₉N₃O₄S (p.m. 397,45 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 1697_(νNC=O), 1651_(νNC=O), 1514_(νN-O), 1418_(ν C-N)

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

8.16 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, m-Ar-H), 7.31 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, o-Ar-H), 7.18-7.14 (4H, m, Ph-H), 6.16 (1H, s, 3-H), 4.70 (1H, d, *J* = 14.4 Hz, 1'_b-H), 4.64 (1H, dd, *J* = 11.0, 4.6 Hz, 8a-H), 4.55 (1H, d, *J* = 14.5 Hz, 1'_a-H) 4.07 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, 6_b-H), 4.02 (1H, dd, *J* = 9.3, 1.3 Hz, 6_a-H), 3.51 (1H, dd, *J* = 12.4, 10.6 Hz, 1_b-H), 3.46 (1H, dd, *J* = 10.5, 4.2 Hz, 1_a-H), 2.35 (3H, s, CH₃).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):

165.91, 164.20, 148.47, 147.60, 138.45, 131.02, 129.89 (2), 128.35 (2), 126.14 (2), 124.26 (2), 71.89, 63.90, 63.76, 51.28, 49.46, 31.65, 19.26.

ESI-EM (*m/z*, %): 399 [M+H]⁺, 420 [M+Na]⁺.

5.4.12. (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (3l).

A partir del 3-(3-cloroacetil)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato 2c 0,6 g (1,74 mmol), 4-metilbencilamina 0,3 mL (2,3 mmol); empleando yoduro de sodio 0,26 g (1,74 mmol) y trietilamina 0,3 mL (2 mmol). Se obtuvo la 7-(4-metoxibencil)-3-(4-nitrofenil)-tiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona 3l 0,13 g (0,3 mmol) como mezcla diastereomérica y se presentan los datos del Diastereoisómero mayoritario.

Sólido beige; P.F. = 183-186°C, Rto. 18 %; dr = 90:10

Fórmula molecular: C₂₀H₁₉N₃O₄S (p.m. 397,45 g/mol).

IR (ATR) (cm⁻¹): 1651_(νNC=O), 1516_(νN-O), 1452_(ν C-N)

¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ (ppm):

8.16 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, m-Ar-H), 7.69 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, o-Ar-H), 7.25 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, o-Ph-H), 6.92 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, m-Ph-H), 6.50 (1H, s, 3-H), 4.97 (1H, t, *J* = 7,2 Hz, 8a-H), 4.59 (1H, d, *J* = 14.5 Hz, 1'_b-H), 4.45 (1H, d, *J* = 14.5 Hz, 1'_a-H), 4.22 (1H, dd, *J* = 16.7, 1.2 Hz, 6_b-H), 3.79 (1H, d, *J* = 16.7 Hz, 6_a-H), 3.74 (3H, s, OCH₃), 3.50 (1H, dd, *J* = 10.8, 7.3 Hz, 1_b-H), 3.45 (1H, dd, *J* = 10.8, 6.2 Hz, 1_a-H).

¹³C RMN (100 MHz, DMSO) δ (ppm):

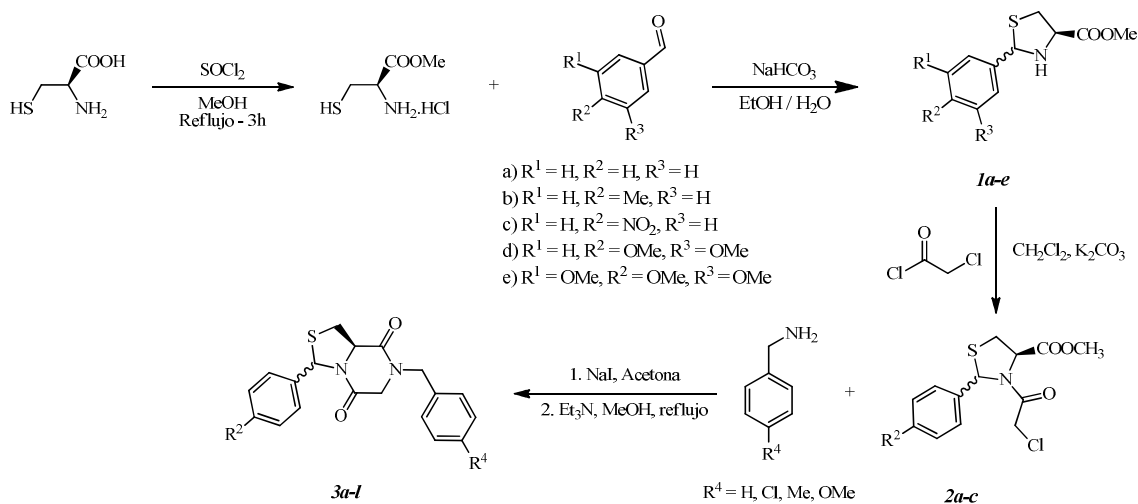
164.64, 162.42, 158.78, 148.21, 146.90, 129.53 (2), 127.93, 127.24 (2), 123.56 (2), 114.01 (2), 63.58, 61.71, 55.09, 50.30, 47.81, 33.67.

ESI-EM (*m/z*, %): 414 [M+H]⁺, 436 [M+Na]⁺, 849 [2M+Na]⁺.

6. ANALISIS DE RESULTADOS

Antes de entrar en la discusión detallada de cada una de las etapas sintéticas involucradas en este trabajo de investigación y con el objetivo de ilustrar los alcances de la ruta sintética desarrollada, es necesario mostrar el esquema general del proceso sintético (Esquema 18). Dicho proceso involucró reacciones clásicas, incluidas la sustitución nucleofílica y reacciones de ciclocondensación. En primer lugar se llevó a cabo una condensación entre el derivado metil éster de la L-cisteína y diferentes benzaldehídos seleccionados para acceder a las respectivas 2-ariltiazolidinas. Luego se llevó a cabo una clásica reacción de *N*-acilación de dichas tiazolidinas, lo que permitió generar los precursores adecuados que finalmente permitieron obtener, luego de una nueva reacción de ciclocondensación las 3-aryl-tiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-dionas polifuncionalizadas deseadas.

Esquema 18. Ruta sintética diseñada para la síntesis de las 3-aryl-tiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-dionas (**3a-l**).



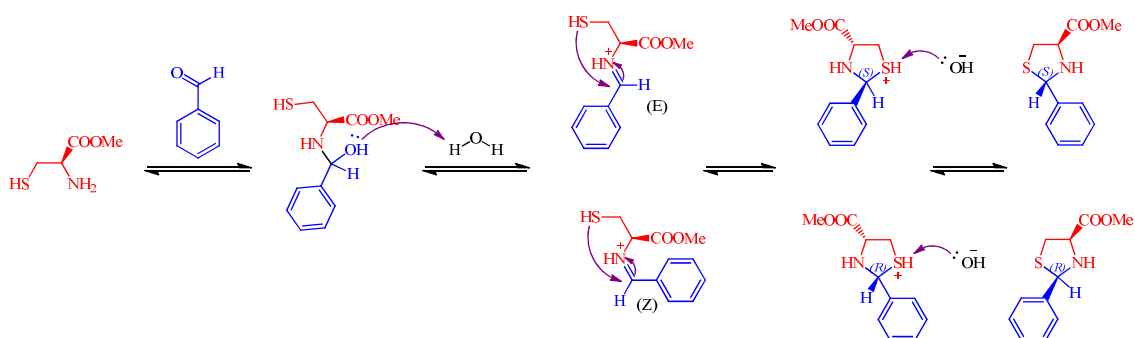
6.1. Síntesis de los 2-aryl-tiazolidin-4-metilcarboxílatos.

De acuerdo con el estado del arte las 2-aryl-tiazolidinas pueden ser obtenidas de una manera fácil y eficiente empleando condiciones suaves y amigables con el medio ambiente⁵², pero para acceder a 2-aryl-tiazolidin-4-metilcarboxílatos como los (**1a-e**),

objeto de ésta investigación, es necesario emplear reactivos tales como el cloruro de tionilo o disolventes como el metanol que no son del todo amigables. Sin embargo, dentro de las ventajas de la metodología seleccionada se encuentra la posibilidad de llevar a cabo la reacción mediante un proceso “one-pot” lo cual significa alta economía atómica y a su vez, economía de recursos. Dicha economía se ve reflejada, particularmente, en los procesos de aislamiento y purificación de los compuestos de interés. Lo anterior acerca la metodología diseñada en esta investigación hacia procesos más limpios y favorables al medio ambiente.

Hoy en día no hay suficiente información en la literatura especializada sobre el posible mecanismo, algunas dudas persisten aun sobre dicha transformación. Sin embargo, ya se ha establecido que ésta reacción de ciclicondensación lleva a cabo gracias al carácter nucleofílico de la amina primaria, presente en la estructura de la L-cisteína, la cual procede a atacar el carbono electrodeficiente del benzaldehído. La formación de un intermediario imínico permite que luego sufre un ataque nucleofílico del átomo de azufre, finalmente permite que se lleve a cabo la formación del heterociclo de interés (Esquema 19). Dicho proceso de ciclación se realiza por pasos, una explicación para la racemización del producto final, presumiblemente puede estar relacionada con la formación de las configuraciones (Z) y (E) de la imina intermedia, lo cual permite la racemización del producto final.

Esquema 19. Posible mecanismo para acceder a las 2-aryl-tiazolidin-4-metilcarboxílatos **(1a-e)**.



6.1.1. Síntesis de los 2-aryl-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (**1a-e**) a partir de la reacción del Metil éster de la (*R*)-(+)-cisteína con benzaldehídos

Para la llevar a cabo la síntesis de los 2-aryl-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (**1a-e**), fue necesario convertir previamente la L-cisteína, empleada como precursor, haciéndola reaccionar con cloruro de tionilo (SOCl_2) a reflujo por 4 horas y utilizando metanol como disolvente. El producto de esta primera reacción permitió acceder al derivado clorhidrato de metil éster de L-cisteína. El solvente del crudo de reacción se retiró mediante destilación a presión reducida hasta obtener el respectivo clorhidrato como un aceite incoloro, el cual no fue aislado ni caracterizado. Finalmente se hizo reaccionar con el arilaldehído correspondiente, para así obtener, luego de la respectiva purificación por cromatografía en columna los respectivos 2-aryl-tiazolidin-4-metilcarboxílatos **1a-e** (Esquema 20) deseados con buenos a muy buenos rendimientos de reacción (50-82%) (Tabla 1). La reacción se llevó a cabo en medio acuoso (mezcla agua etanol 1:1) empleando como base bicarbonato de sodio (NaHCO_3) (para disponer de clorhidrato de metil éster de L-cisteína como amina libre) y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante toda la noche.

Esquema 20. Obtención de los 2-aryl-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (**1a-e**).

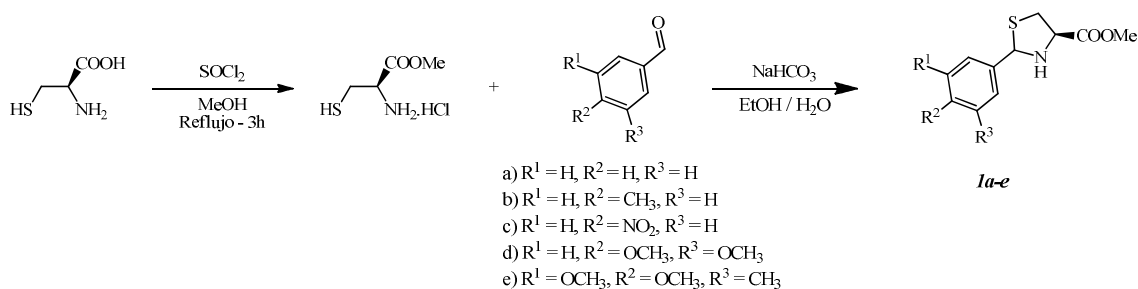


Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxilatos (**1a-e**).

Comp. <i>I</i>	R ¹	R ²	R ³	dr	p.m (g/mol)	Estado Físico	P. F. (°C)	Rend. (%) ^a
a	H	H	H	65:35	223	Aceite amarillo	N. A.	82
b	H	CH ₃	H	66:34	237	Aceite naranja	N. A.	80
c	H	NO ₂	H	55:45	268	Aceite amarillo	N. A.	80
d	H	OCH ₃	OCH ₃	65:35	283	Sólido amarillo	162-164	50
e	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	60:40	313	Aceite naranja	N. A.	72

^a Rendimiento después de separado por CC.

Un análisis sencillo de los datos fisicoquímicos reportados en la tabla 1 para los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxilatos sintetizados, permite afirmar que no existe una diferencia considerable del rendimiento de reacción con la modificación de los sustituyentes en el arilaldehído de partida, además se observan rendimientos de reacción ente bueno y muy buenos, a pesar de que se ha reportado que este tipo de ciclación presenta reversibilidad en medio acuoso y débilmente ácido⁵³. Lo anterior hace un poco difícil la purificación del producto de interés, por lo que en la mayoría de los casos se aísla acompañado del arilaldehído precursor en concentraciones muy pequeñas. Por otro lado, se encontraron relaciones diastereoméricas (dr) bastante similares en todos los casos, siempre con el diastereoisómero α como el diastereoisómero mayoritario. La estereoquímica observada, entre otras cosas puede deberse a que el carbono C-2 quiral es susceptible a epimerizar⁵⁴.

Debido a que no se lograron separar mediante cromatografía de columna (CC), la caracterización estructural de cada uno de los compuestos sintetizados se llevó a cabo como la respectiva mezcla de diastereoisómeros.

La completa caracterización estructural de los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (**1a-e**), se realizó a través del uso de las técnicas instrumentales como el IR, como prueba diagnóstica de la formación del compuesto, seguido el análisis de ESI-EM. La confirmación inequívoca de la estructura se llevó a cabo por medio de experimentos de RMN mono- (^1H -RMN, ^{13}C -RMN, DEPT-135) y bidimensionales (^1H , ^1H -COSY).

Por medio de espectroscopía de infrarrojo (IR) se determinaron las bandas características asociadas a los grupos funcionales más representativos de estos compuestos. En la región entre $3350\text{-}3310\text{ cm}^{-1}$ se logró apreciar una pequeña banda correspondiente a la absorción de la vibración de tensión del grupo N-H, característica en aminas secundarias. Algunas señales características que indican el éxito de la reacción fueron las bandas de absorción correspondientes a la vibración de tensión del enlace C=O ($1750\text{-}1735\text{ cm}^{-1}$) y la vibración de tensión asimétrica del enlace C=O ($1240\text{-}1163\text{ cm}^{-1}$), características del fragmento metil éster, una primera evidencia de que el producto aislado y purificado corresponde al 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílato de interés. En la (tabla 2) se resumen las bandas características de absorción en el espectro infrarrojo para los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (**1a-e**).

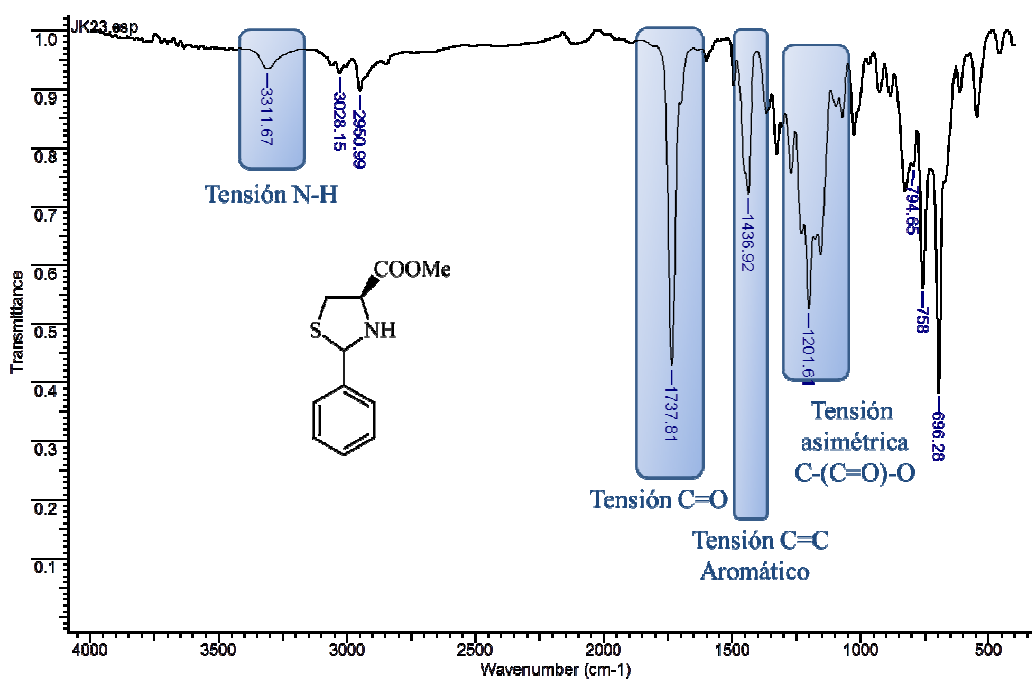
Tabla 2. Rendimientos, relaciones diastereoméricas y bandas de absorción en los espectros IR de los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (**1a-e**).

Comp.	p.m (g/mol)	Bandas de absorción en el espectro IR (cm^{-1})					
		R ¹	R ²	R ³	Tensión NH	T. Sim. C=O	T. Asim. C=O
a	223	H	H	H	3312	1738	1202
b	237	H	CH ₃	H	3308	1738	1202
c	268	H	NO ₂	H	3332	1736	1204
d	283	H	OCH ₃	OCH ₃	3337	1723	1210
e	313	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	3311	1736	1229

A modo de ejemplo, se ilustra la asignación de las bandas de absorción más relevantes en el espectro IR del (2R)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**) (Figura 30). Se observa en 3312 cm^{-1} la banda correspondiente a la absorción de la vibración de tensión

del grupo N-H secundario. También se observan la vibración de tensión del enlace C=O (1738 cm^{-1}) y la vibración de tensión asimétrica del enlace C=O (1202 cm^{-1}) del fragmento metil éster. Por último, se observa la banda de vibración de tensión característica del enlace C=C aromático (1437 cm^{-1}).

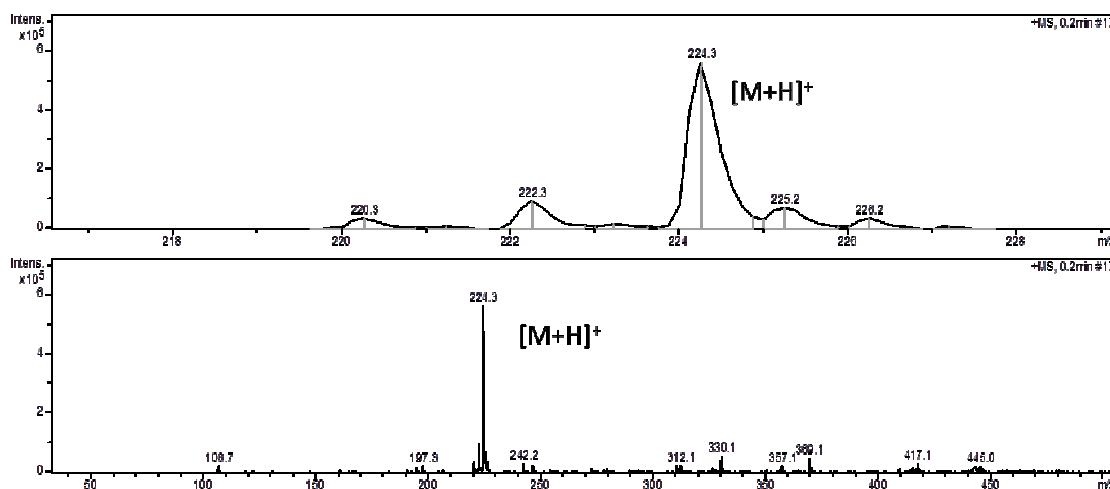
Figura 30. Espectro infrarrojo del 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**).



Siguiendo con la caracterización y con el objeto de determinar las masas nominales de los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxilatos **1a-e**, se empleó la técnica de espectrometría de masas con nebulización por electropray (ESI-MS) en modo positivo

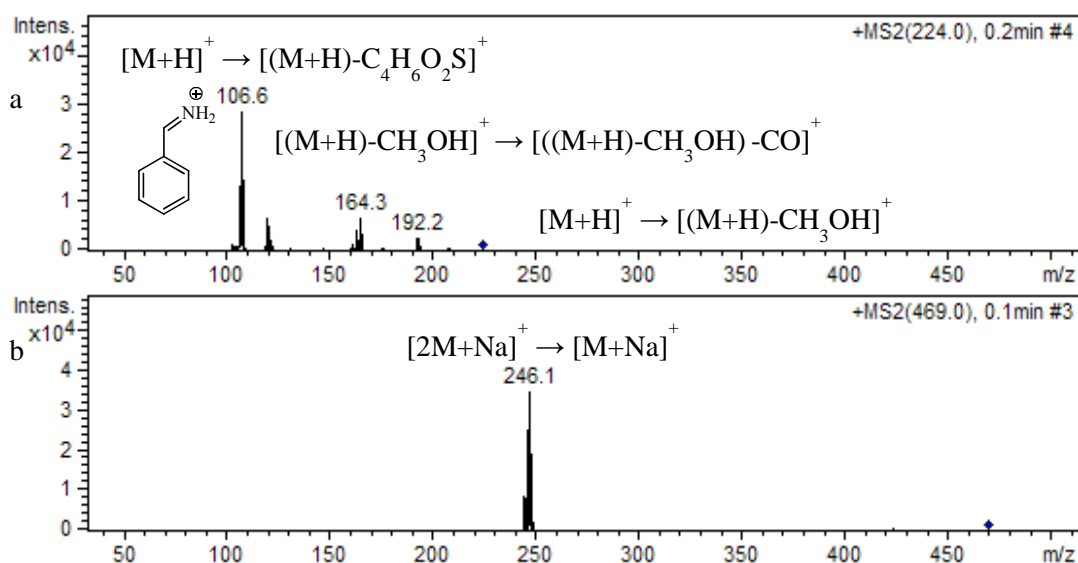
El análisis de los espectros ESI-MS permitió identificar las masas nominales correspondientes a las estructuras moleculares de los compuestos **1a-e**. El espectro (*full scan*) del 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato **1a** (Figura 31), presenta una señal en m/z 324 u.m.a. , correspondiente al aducto entre el ión molecular y un protón $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Figura 31. Espectro ESI-MS (*full scan*) de la 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato **1a**.



La técnica ESI-MS a través del analizador de trampa iónica (IT) permite, entre otras cosas, atrapar selectivamente un ion con relación masa/carga específica, la cual al ser fragmentada de nuevo puede generar fragmentos de interés para complementar el análisis constitucional. Con el objeto de ilustrar el papel de la fragmentación de iones, en el espectro del 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**), dos fragmentaciones fueron realizadas (Figura 32).

Figura 32. Iones fragmentos obtenidos a partir de los iones aductos del espectro ESI-MS (*full scan*) del (2R)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**) a. $[M+H]^+$ b. $[2M+Na]^+$.



La primera de ellas, es la fragmentación del pico correspondiente al dímero del ión molecular más un protón (m/z 224), la cual generó tres señales, una con m/z 192 umas correspondiente a la pérdida de 32 unidades que equivalen a la pérdida de metanol, una segunda señal con m/z 164 correspondiente a la pérdida de 60 unidades que equivalen aun perdida subsecuente de C=O a partir de la señal anterior, por último, una señal con m/z 107 umas, la cual corresponde a la pérdida de 117 unidades lo que equivale a tener un catión benciliminio $[(M+H)-C_4H_6O_2S]^+$. La segunda fragmentación se realizó al aducto del dímero del ion molecular más sodio (m/z 469) la cual genera una señal en la relación m/z 246 umas, correspondiente al aducto del ión molecular más sodio $[M+Na]^+$. En la tabla 3 se resumen los valores de las masas correspondientes a los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos **1a-e**.

Tabla 3. Señales correspondientes a la relación (m/z) en el espectro ESI-MS de los aductos de los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (**1a-e**).

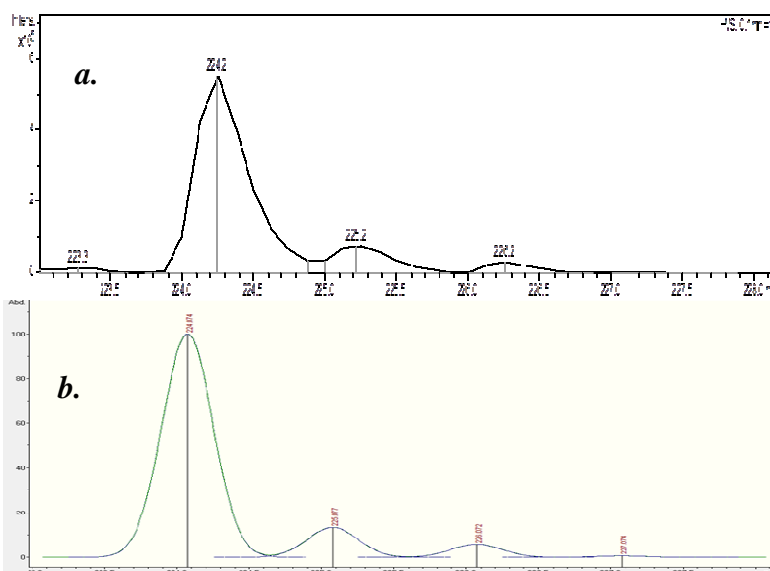
Comp. 1	R ¹	R ²	R ³	Full Scan (m/z)		
				[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	[2M+Na] ⁺
a	H	H	H	224	246	469
b	H	CH ₃	H	238	260	N.D.
c	H	NO ₂	H	269	291	559
d	H	OCH ₃	OCH ₃	284	305	N.D.
e	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	314	336	N.D.

N.D. : No detectado.

Una de las más importantes evidencias de que la masa molecular propuesta para los compuestos evaluados, corresponde a la masa molecular condensada de dichos compuestos, además de las respectivas fragmentaciones de sus iones moleculares, es el análisis de su patrón isotópico. Los datos calculados (Figura 33a) para la distribución isotópica del ion molecular más protón de los respectivos 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos, presentan una alta correlación con los datos experimentales (Figura 33b), lo cual permite asegurar que las masas moleculares condensadas efectivamente

corresponden al respectivo ion molecular, el cual está presente en la mayoría de los aductos de los compuestos **1a-e** sintetizados.

Figura 33. Comparación de la distribución isotópica del ión molecular más protón del 2-feniltiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**) a. calculada. b. experimental.



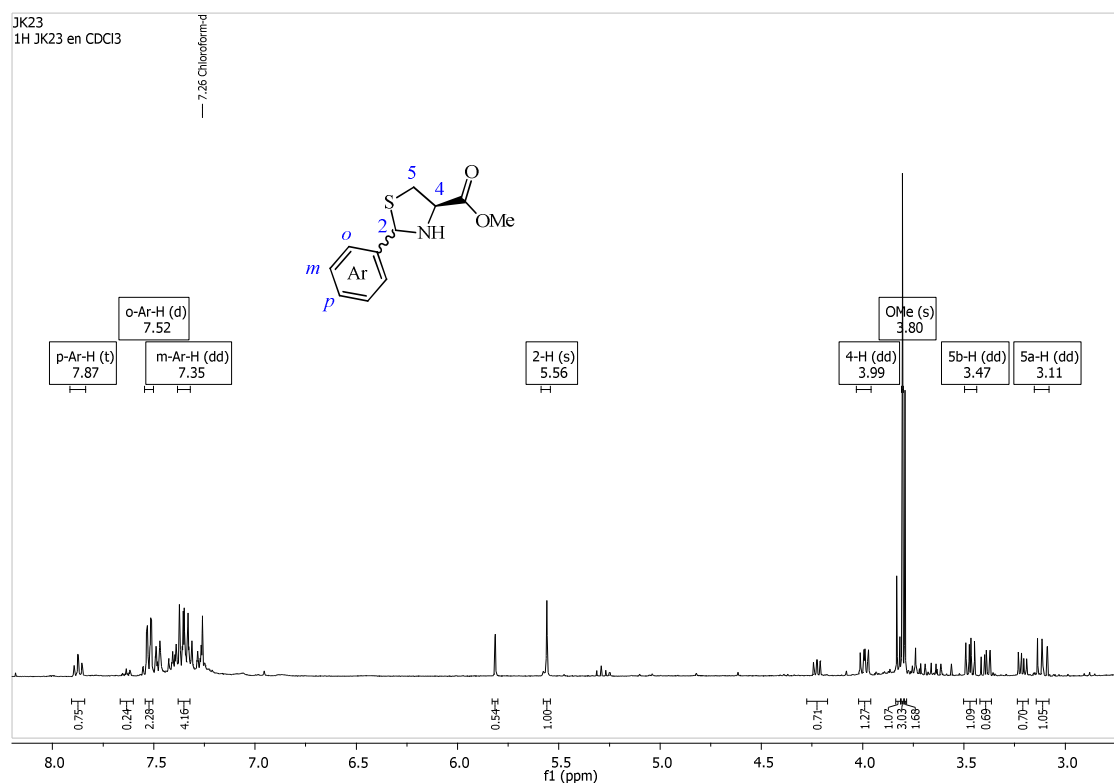
La distribución isotópica mostrada anteriormente fue calculada mediante el software Compass IsotopePattern, el cual viene incluido en el espectrómetro de masas Amazon X (Bruker Daltonis).

Finalmente, las estructuras de los 2-aryl-tiazolidin-4-metilcarboxílatos **1a-e** se confirmaron por medio de resonancia magnética nuclear unidimensional (^1H -RMN, ^{13}C -RMN, DEPT-135) y para algunos casos la asignación de protones se hizo por medio de los experimentos bidimensionales (COSY, HSQC).

En el espectro de ^1H -RMN de los 2-aryl-tiazolidin-4-metilcarboxílatos **1a-e** (Figura 34) se aprecian las señales correspondientes a los respectivos protones presentes en la molécula. Comenzando desde campos altos a campos bajos se ubica una señal entre 3.06-3.40 ppm (multiplete), correspondiente a los protones diastereotópicos 5-H (CH_2). Una señal entre 3.78-3.81 ppm (singlete) correspondiente a los protones del grupo metoxilo (OCH_3) del metil carboxilato. Otra señal entre 3.96-4.25 ppm correspondiente al protón metínico 4-H del carbono quiral C-4. Una señal en 5.56-5.81 ppm (singlete) que corresponde a la señal del protón metínico 2-H del diastereoisómero mayoritario.

Finalmente, hacia valores de campo más bajo, las señales superiores a 7.26 ppm correspondientes a los aromáticos de la molécula.

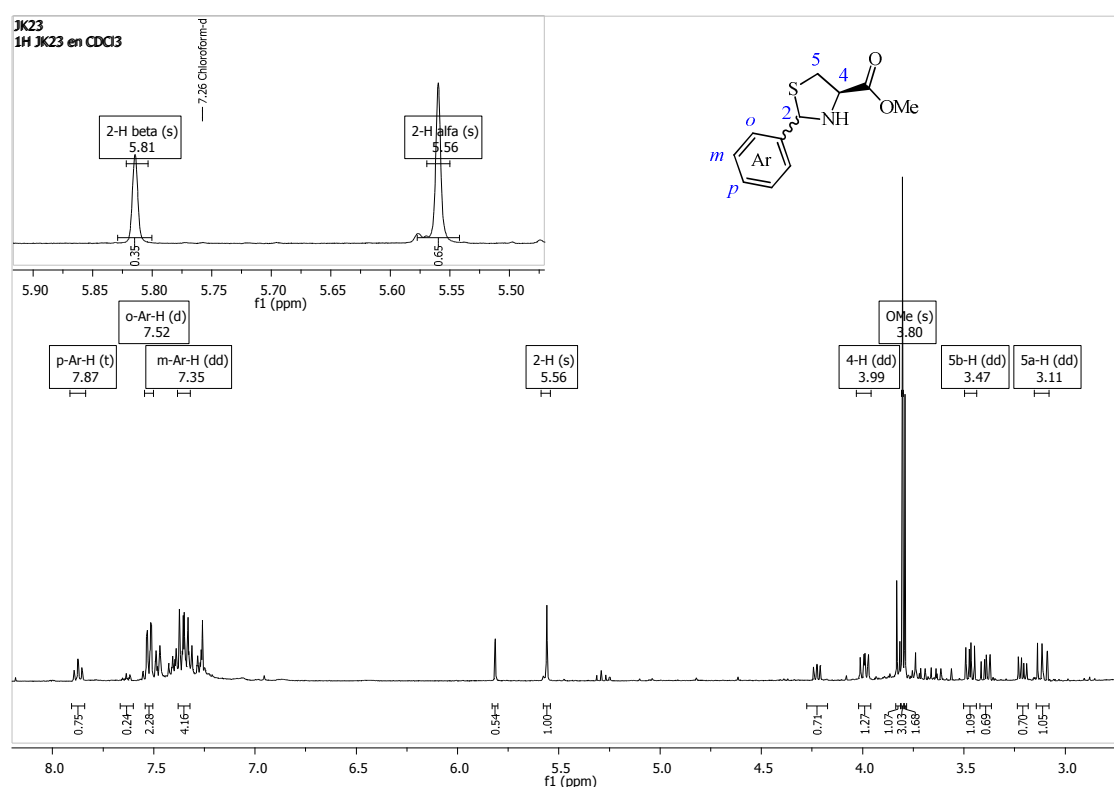
Figura 34. Espectro de ^1H -RMN del (2R)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**).



Con el fin estudiar con más detenimiento cada una de las señales en el espectro de ^1H -RMN, se emplea como ejemplo el espectro del 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**), en el cual se logra determinar las constantes de acoplamiento de cada una de las señales que presentan desdoblamientos característicos. Para dicha asignación se tomaron las señales asociadas al diastereoisómero mayoritario. Desde campos bajos hacia campos altos, las tres primeras señales están asociadas a los protones aromáticos, una tripleta a 7.87 ppm con constante de acoplamiento $J=7.5$ Hz asociada al protón $p\text{-H}_{\text{Ar}}$. Seguida de una dobleta a 7.52 ppm con constante de acoplamiento $J=9.5$ Hz asociada a los protones $o\text{-H}_{\text{Ar}}$ y una doble dobleta a 7.35 ppm con constantes de acoplamiento $J=9.6$, 7.4 Hz asociada a los protones $m\text{-H}_{\text{Ar}}$. A continuación, se observa un singlete asociado al protón metínico 2-H del diastereoisómero α (mayoritario). Las cuatro señales restantes pertenecientes al anillo de la tiazolidina, se observan como una doble dobleta a 3.99 ppm con constantes de acoplamiento $J=9.0$, 7.1 Hz, asociada al

protón metínico enantiotópico 4-H del carbono quiral C-4. A 3.80 ppm se observa la señal correspondiente a los protones del grupo metoxilo (OCH₃) del metil carboxilato. Hacia campos más altos se encuentran dos señales (doble dobleta) las cuales corresponden a los protones diastereotópicos 5a-H a 3.47 ppm, con constantes de acoplamiento $J = 10.3, 7.1$ Hz y las señales correspondiente al protón 5b-H a 3.11 ppm con constantes de acoplamiento $J = 10.3, 9.0$ Hz.

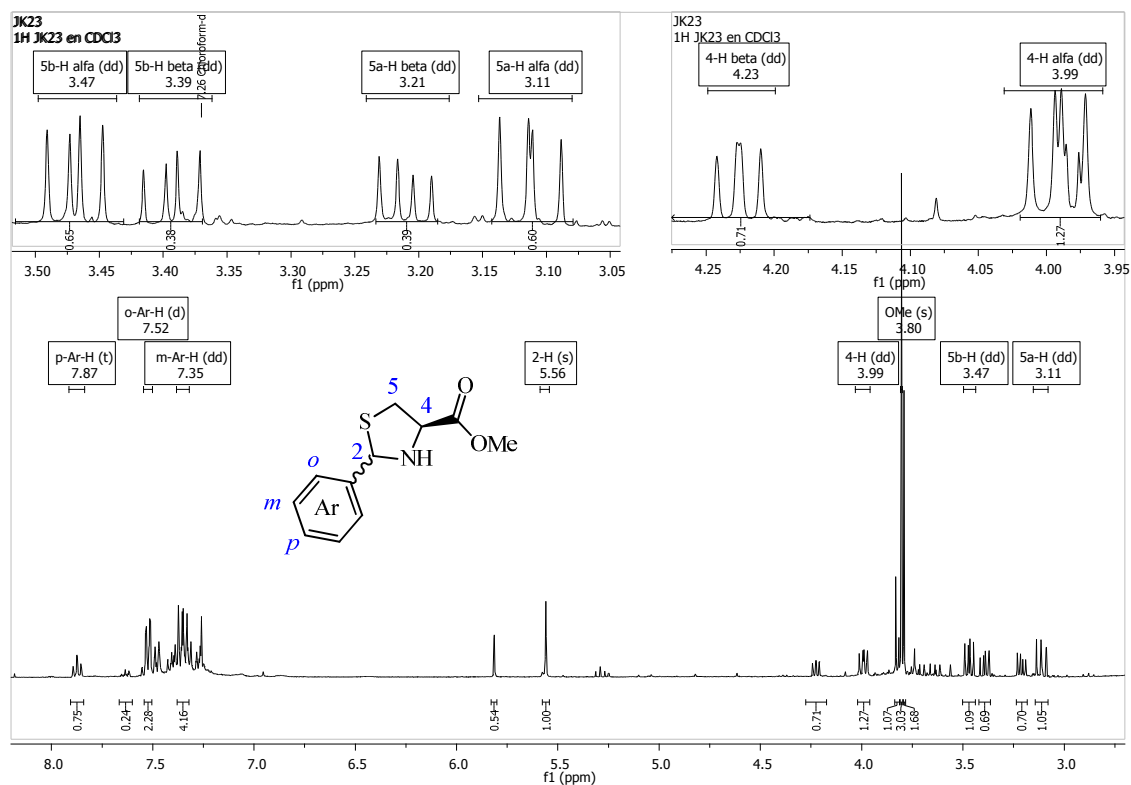
Figura 35. Ampliación de las señales H-2 de diastereoisómeros α y β en el espectro de ¹H-RMN del 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**).



Dentro de los espectros de ¹H-RMN para todos 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxilatos **1a-e** se encontraron señales duplicadas indicando la presencia de una mezcla de diastereoisómeros asignados como α (mayoritario) y β (minoritario). La relación diastereomérica (*dr*) se determinó mediante la comparación de las áreas de las señales de ¹H-RMN para los diferentes compuestos. Se encontró que dicha relación se mantuvo constante para cada uno de los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxilatos **1a-e** sintetizados. A partir de la señal del protón metínico 2-H en el espectro de ¹H-RMN (par de singletes a 5.81 ppm y en 5.56 ppm, respectivamente), para el caso específico del 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**) se encontró una relación *dr* de 65:35 (Figura 35). A manera de

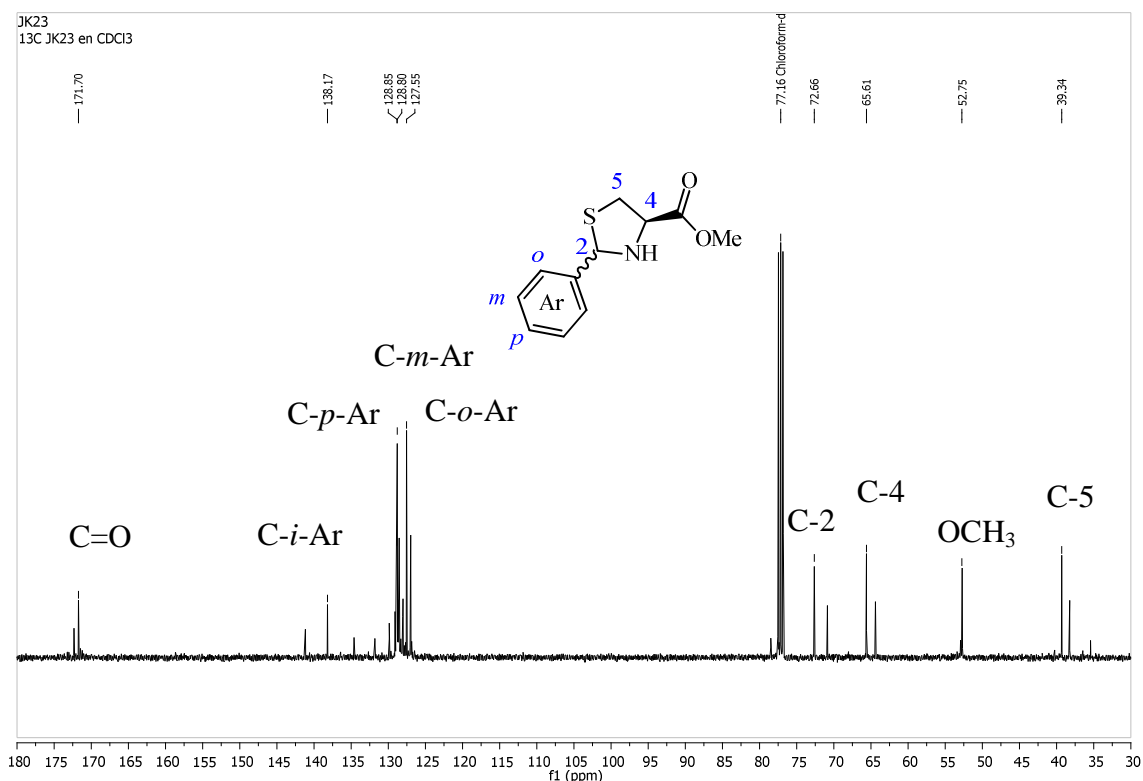
ilustración se presentan las señales duplicadas del 2-aryl-tiazolidin-4-metilcarboxílatos **1a-e** (Figura 36).

Figura 36. Ampliación de las señales duplicadas en ^1H -RMN para los protones 4-H y 5-H del compuesto (**1a**).



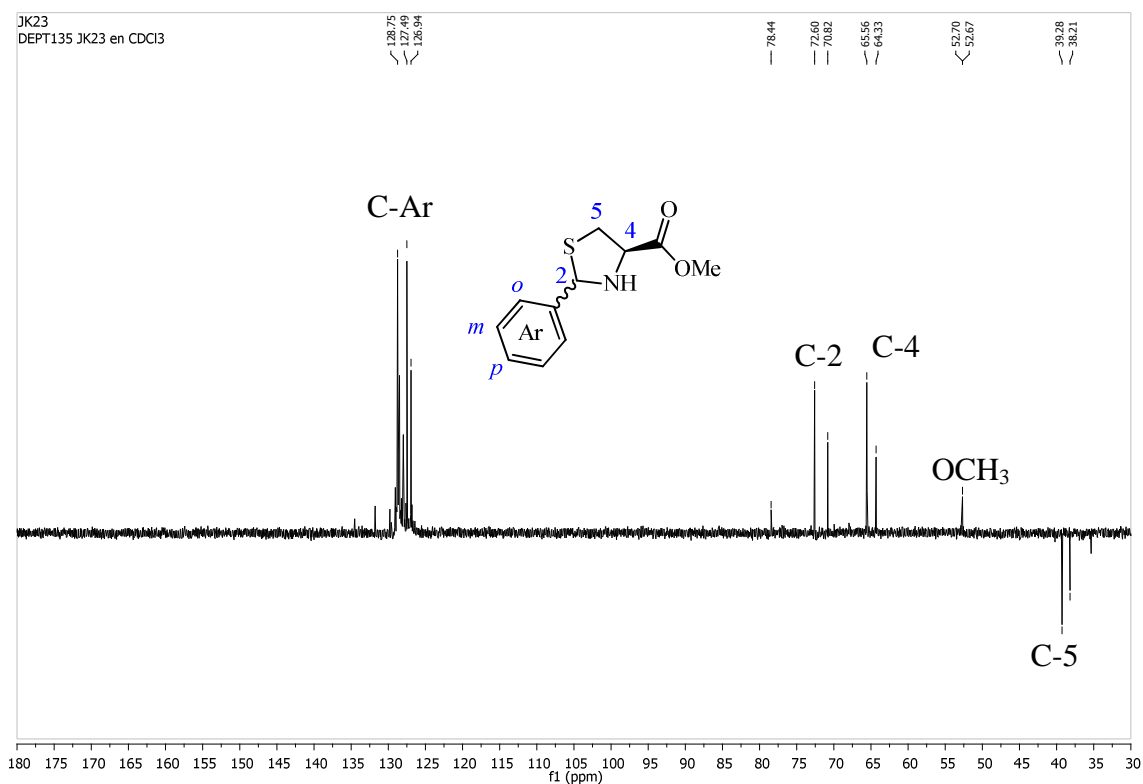
Pasando al análisis del espectro ^{13}C -RMN se evidencia que el número de señales en el espectro coinciden con el número de señales presentes en el 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**), se observan las señales (Figura 37) pertenecientes a los carbonos característicos del núcleo 1,3-tiazolidínico, las cuales aparecen a 39 ppm, 66 ppm y 73 ppm, correspondientes a los carbonos C-5, C-4 y C-2 respectivamente. También se observa la señal perteneciente al carbono carbonílico a 172 ppm y otra señal a 53 ppm perteneciente al carbono metílico del grupo metoxilo. En éste el espectro de ^{13}C -RMN también se observa la duplicación de todas las señales confirmando la presencia de una mezcla de diastereoisómeros.

Figura 37. Asignación de las señales en el espectro de ^{13}C -RMN del 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**).



Como complemento de la información extraída a partir del espectro de ^{13}C -RMN se realizaron experimentos de DEPT-135 (Figura 38). Éste espectro permitió asignar algunos de los carbonos gracias a la diferencia de fases entre los carbonos. De ésta forma se observa que el número de señales positivas corresponden con el número de carbonos metílicos y metínico presentes en el 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**). De la misma manera se pueden observar hacia campos altos la aparición de señales negativas correspondientes a los carbonos metilénicos presentes en **1a**. En el espectro DEPT-135 también aparecen las señales duplicadas, señales correspondientes a la mezcla de diastereoisómeros presente.

Figura 38. Espectro de DEPT-135 y asignación de señales 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**).

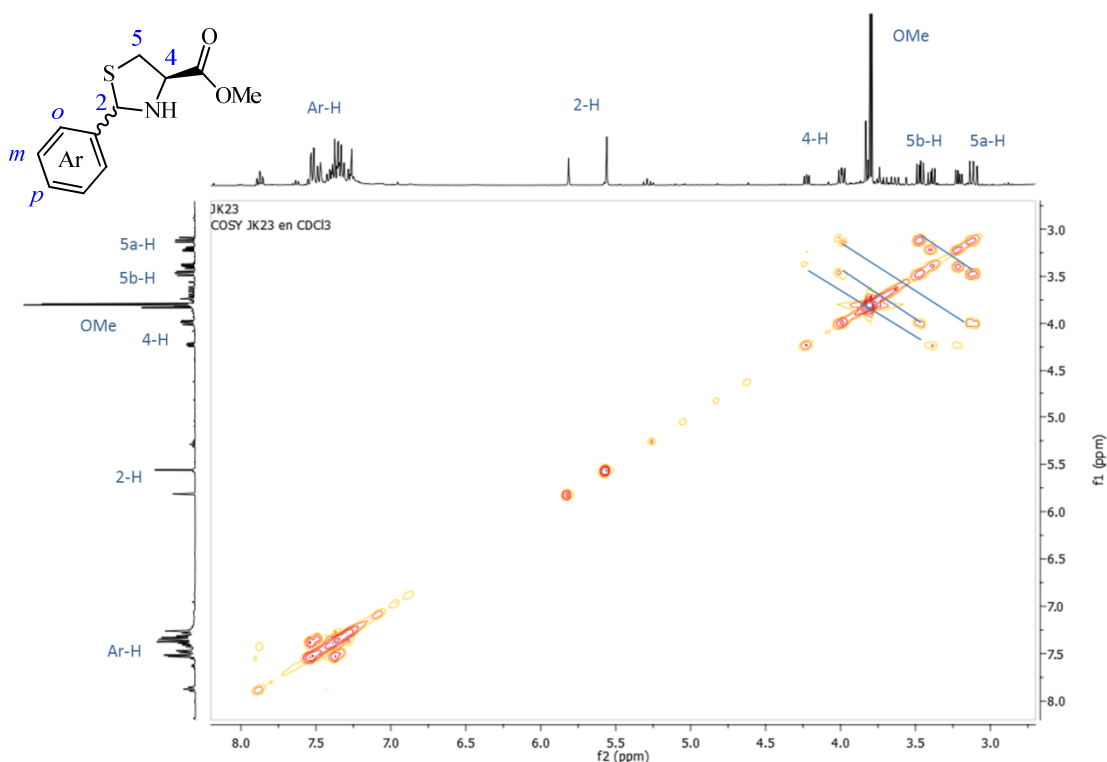


Con el objeto de realizar una inequívoca elucidación estructural, además del análisis de los espectros unidimensionales a continuación se muestra el análisis de un espectro bidimensional de correlación homonuclear $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY.

El espectro del experimento $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY del 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**), ayudó a corroborar la correlación de algunos protones geminales y vecinales. A partir del espectro se observa el respectivo acoplamiento entre los protones 4-H y 5a-H al igual que el acoplamiento entre los protones 4-H y 5b-H en la parte superior derecha del espectro (Figura 39). Por último se presentan las correlaciones pertenecientes a los protones diastereotópicos de 5a-H y 5b-H.

Todo el análisis estructural descrito anteriormente corrobora de manera inequívoca la estructura molecular de cada uno de los compuestos 2-aryl-tiazolidin-4-metilcarboxilatos **1a-e** obtenidos y demuestra que la metodología empleada es viable.

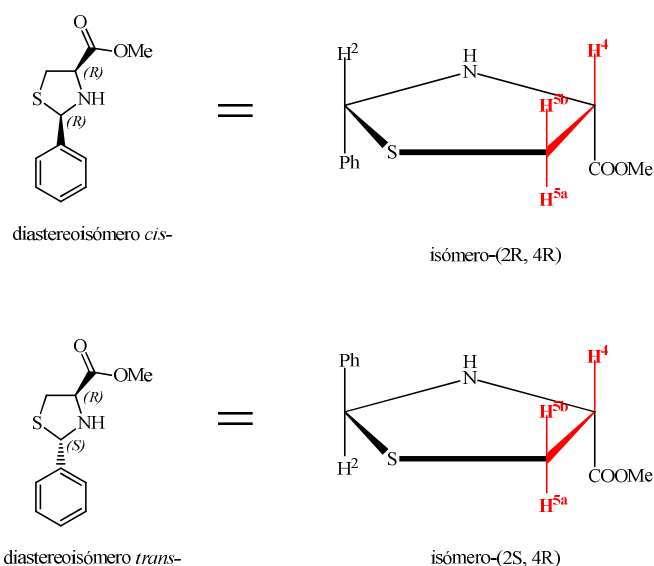
Figura 39. Correlación entre protones en el espectro COSY del 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**).



6.1.2. Estereoquímica de los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos.

Con base en los valores de las integrales obtenidas en los espectros de ¹H-RMN para el protón metínico 2-H, y con ayuda del espectro de bidimensional de correlación homonuclear ¹H-¹H-COSY, se logró establecer que los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (**1a-e**) sintetizados a partir de la L-cisteína con diferentes benzaldehídos llevaba a la generación de una mezcla de diastereoisómeros cuya relación diastereomérica varió entre 55 y 65 para el diastereoisómero mayoritario y entre 45 y 35 para el diastereoisómero minoritario, respectivamente. La estereoquímica de los compuestos obtenidos mediante la ciclicondensación intermolecular se ve influida por la existencia de dos (2) carbonos quírales (C-2 y C-4). Debido a que la quiralidad del carbono C-4 ha sido fijada a partir de la L-cisteína precursora, existe la posibilidad de generar, solo dos (2) diastereoisómeros de los cuatro (4) posibles diastereoisómeros (Figura 40). De acuerdo con el mecanismo propuesto es igualmente probable la formación de cualquiera de los dos diastereoisómeros para los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (**1a-e**).

Figura 40. Posibles estereoisómeros obtenidos para los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (**1a-e**).



El análisis de ^1H -RMN para los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (**1a-e**) indicó que el proceso, bajo las condiciones de reacción utilizadas, genera una mezcla de diastereoisómeros. La estructura del diastereoisómero mayoritario puede ser elucidada con base en la información reportada en el trabajo de Skvortsov y colaboradores⁵⁵, donde estudiaron los espectros de ^1H RMN y realizaron un análisis de las constantes de acoplamiento entre el protón 4-H y los protones 5a-H y 5b-H (figura 40). En dicho estudio se estipulan unos valores para dichas constantes de acoplamiento que comparadas con las que se obtuvieron en el espectro de ^1H RMN para el 2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**) (Figura 36) nos permiten hacer una asignación de los grupos de señales pertenecientes a los diastereoisómeros α y β (Tabla4).

Tabla 4. Asignación de las constantes de acoplamiento a su respectiva estereoquímica.

Comp. 1a	Estereoquímica	J_{4-5a}	J_{4-5b}	J_{5a-5b}
α	(2R,4R)	9.0	7.1	10.3
β	(2S,4R)	7.0	5.9	10.6

La concordancia para las constantes obtenidas y lo reportado en la literatura es muy alta, debido a que se menciona que para el Diastereoisómero (2R,4R) las constantes de acoplamiento J_{4-5a} y J_{4-5b} tienen valores entre 9 y 7 Hz. Por otra parte para el

diastereoisómero (2S,4R) las constantes de acoplamiento J_{4-5a} y J_{4-5b} se encuentran en entre los 7 y 4 Hz, lo que finalmente es complementado por el hecho de que la constante J_{5a-5b} tiene valores alrededor de 10 Hz. Además, la constante J_{5a-5b} es más grande para el diastereoisómero (2S,4R) por una diferencia de 0.3 Hz tal como lo señala la literatura. Con base en lo anterior se puede aseverar que para los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos **1a-e** sintetizados se obtuvo el compuesto (2R,4R) como diastereoisómero mayoritario.

6.2. Preparación de los (2RS,4R)-3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos

Luego de haber obtenido los precursores 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos **1a-e**, se procedió a preparar los respectivos 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos **2a-e**, mediante una reacción de *N*-acilación con cloruro de cloroacetilo (Esquema 21). La reacción fue catalizada por carbonato de potasio (K_2CO_3) y transcurre fácilmente a temperatura ambiente durante toda noche y empleando diclorometano como disolvente. Mediante esta metodología solo se logró acceder a los compuestos 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos **3a-c**. Luego de la respectiva purificación por cromatografía en columna fueron obtenidos los 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos **3a-c** deseados con muy buenos rendimientos de reacción (80-92%) (Tabla 5).

Esquema 21. Preparación de los 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos (**3a-c**).

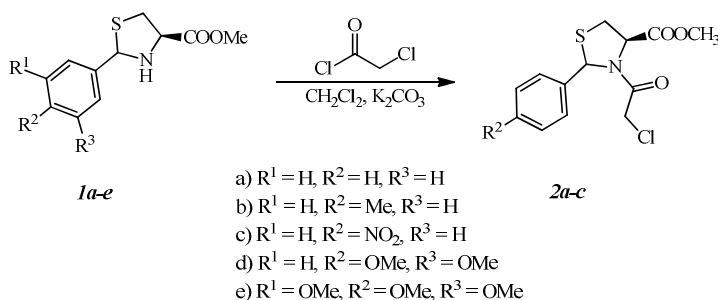


Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas de los 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos (**2a-c**).

Comp. 2	R¹	R²	R³	dr	Estado Físico	Rend. (%)^a
a	H	H	H	90:10	Sólido blanco	80
b	H	CH ₃	H	90:10	Aceite amarillo	80
c	H	NO ₂	H	65:35	Aceite amarillo	92
d	H	OCH ₃	OCH ₃	----	----	N.R.
e	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	----	----	N.R.

^a Rendimiento después de separado por CC., N.R.: No reaccionó.

La completa caracterización estructural de los 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos (**2a-c**), se realizó a través del uso de las técnicas instrumentales disponibles. Inicialmente se empleó la espectroscopia IR, como prueba diagnóstica de la formación del compuesto. Luego se realizó el análisis de ESI-EM. La confirmación inequívoca de la estructura se llevó a cabo por medio de experimentos de RMN mono- (¹H-RMN, ¹³C-RMN, DEPT-135) y bidimensionales (¹H,¹H-COSY, HMBC y HSQC).

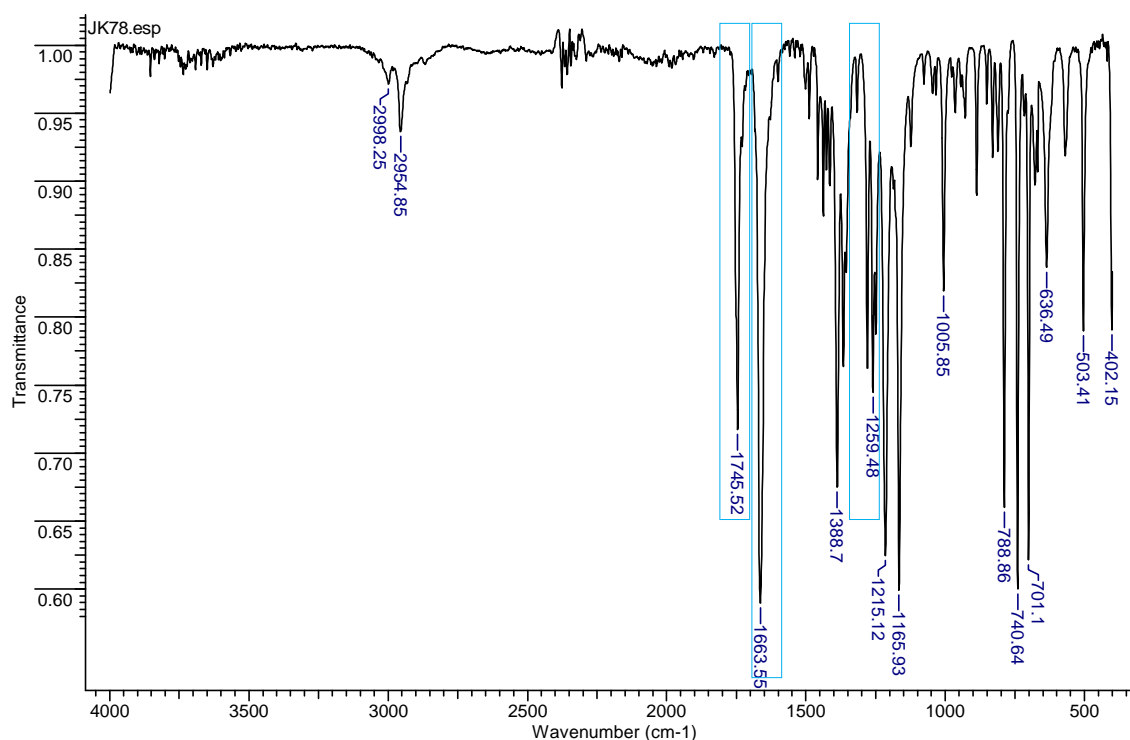
Los datos obtenidos por medio de la espectroscopia infrarroja (IR) de los 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos (**2a-c**) evidencian la desaparición de la banda de absorción entre 3312 cm⁻¹ correspondiente a la vibración de tensión del enlace N-H, característica de aminas secundarias presente en los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (**1a-e**), lo cual es una primera evidencia de que la reacción de *N*-acilación se llevó a cabo. En general en todos los espectros se aprecian las bandas de absorción asociadas a las vibraciones de tensión y flexión correspondientes a los enlaces C-H alifático y C-H aromático (3080-2850 cm⁻¹), la banda de absorción correspondiente a la vibración tensión del enlace C=O (1746 cm⁻¹) procedente del metil éster único al carbono C-4. La banda de absorción correspondiente a la vibración tensión del enlace C=O (11664 cm⁻¹) presente en fragmento recién añadido a la estructura (amida) creado a partir de la amina secundaria del anillo tiazolidínico y la banda de absorción correspondiente a la vibración de tensión asimétrica del enlace C=O (1260 cm⁻¹) del

metil éster. En la siguiente figura (Figura 41), a manera de ejemplo se ilustra la asignación de las bandas de absorción más relevantes en el espectro IR del 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**). (Tabla 6).

Tabla 6. Bandas de absorción características en el IR de los de los 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxilatos (**2a-c**).

Comp. <u>2</u>	Bandas de absorción en el espectro IR (cm ⁻¹)				
	R ²	p.m (g/mol)	T. Sim. C=O	Tensión N-C=O	T. Asim. C=O
a	H	256	1746	1664	1260
b	CH ₃	270	1744	1668	1260
c	NO ₂	290	1742	1670	1261

Figura 41. Espectro IR del 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**).

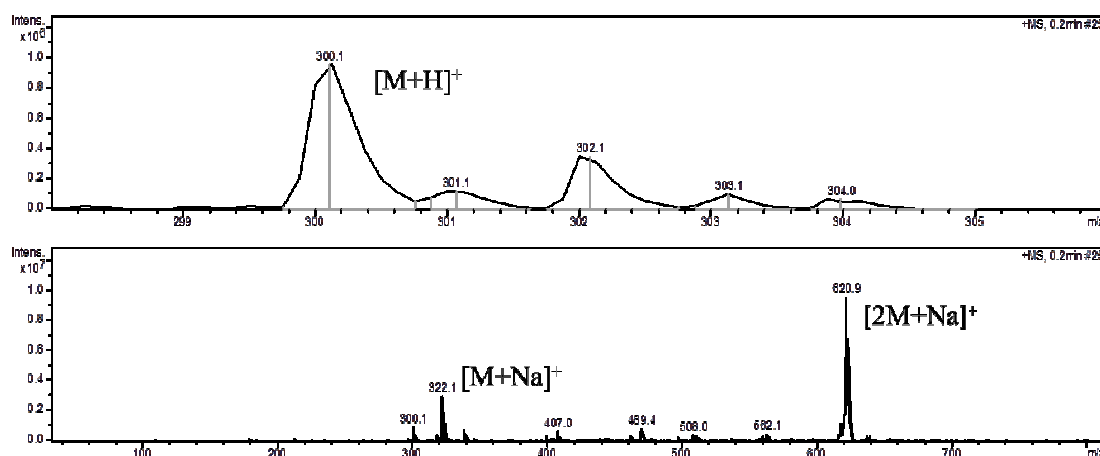


Seguendo con la caracterización de los derivados 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxilatos (**2a-c**), se empleó la técnica de espectrometría de masas con

nebulización por electrospray (ESI-MS) en modo positivo con el objeto de determinar las masas nominales de dichos compuestos.

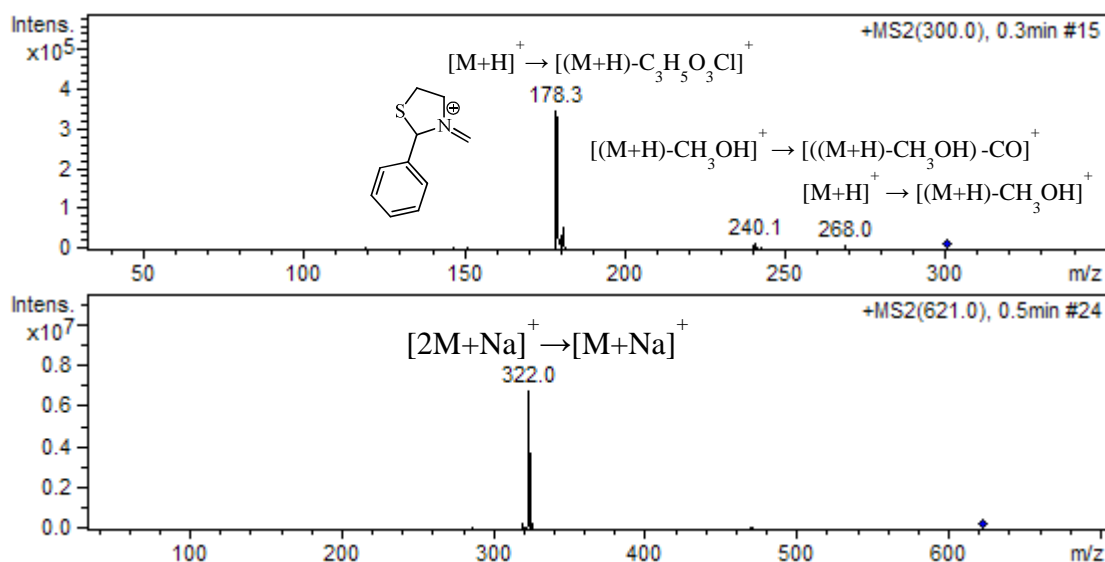
El análisis de los espectros ESI-MS permitió identificar las masas nominales correspondientes a las estructuras moleculares de los compuestos **2a-c**. El espectro (*full scan*) del 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**) (Figura 42), presenta una señal en m/z 300 umas, correspondiente al aducto entre el ión molecular y un protón $[M+H]^+$. A demás se observan en el espectro las señales asociadas al aducto del ión molecular más un átomo de sodio $[M+Na]^+$ y la formación de un dímero del ión molecular más un átomo de sodio $[2M+Na]^+$ con una relación m/z 322 y 621 umas, respectivamente.

Figura 42. Espectro ESI-MS (*full scan*) del 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**).



La técnica ESI-MS permite, entre otras cosas, fragmentar selectivamente una señal con relación masa/carga específica, la cual pueda ser de interés para complementar el análisis espectral. Con el objeto de ilustrar el papel de la fragmentación de iones, en el espectro del 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**), dos fragmentaciones fueron realizadas (Figura 43).

Figura 43. Iones fragmentos obtenidos a partir de los iones aductos del espectro ESI-MS (*full scan*) del 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**). a. $[M+H]^+$ b. $[M+Na]^+$ c. $[2M+Na]^+$.



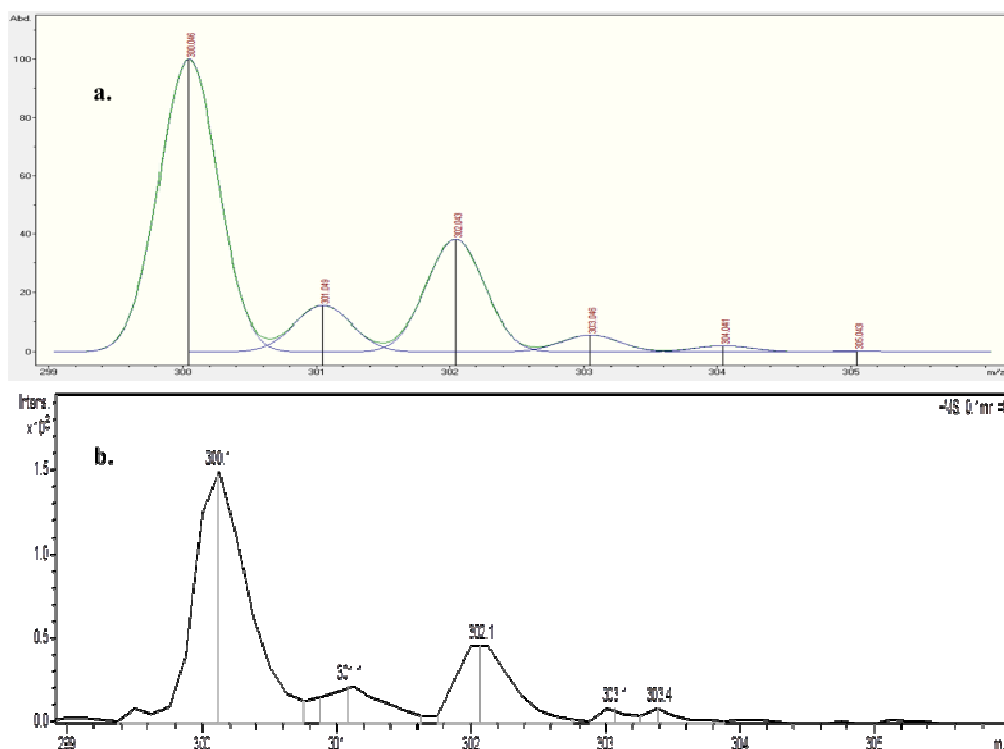
La primera de ellas, es la fragmentación del pico correspondiente al ion molecular más un protón (m/z 300 umas), la cual generó tres señales, una con m/z 268 umas correspondiente a la pérdida de 32 unidades que equivalen a la pérdida de metanol, una segunda señal con m/z 240 correspondiente a la pérdida de 60 unidades que equivalen aun pérdida subsecuente de $C=O$ a partir de la señal anterior, por último, una señal con m/z 178 umas, equivalente a la pérdida de 122 unidades de masa, correspondiente al aducto $[M-C_3H_5O_3Cl]^+$ la segunda fragmentación se realizó al aducto del dímero ión molecular más un sodio $[2M+Na]^+$, el cual generó una señal en m/z 322 umas, equivalente a la pérdida de 299 unidades, correspondientes a un ion molecular quedando el aducto ión molecular más sodio $[M+Na]^+$. En la tabla 7 se resumen los valores de las masas correspondientes a los 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxilatos (**2a-c**).

Tabla 7. Señales correspondientes a la relación (m/z) en el espectro ESI-MS de los aductos de los 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxilatos (2a-c).

Comp. <u>2</u>	Full Scan (m/z)			
	R	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	[2M+Na] ⁺
a	H	300	322	621
b	CH ₃	314	336	649
c	NO ₂	345	366	711

Una de las más importantes evidencias de que la masa molecular propuesta para los compuestos evaluados, corresponde a la masa molecular condensada de dichos compuestos, además de las respectivas fragmentaciones de sus iones moleculares, es el análisis de su patrón isotópico. Los datos calculados (Figura 44a) presentan una alta correlación con los datos experimentales (Figura 44b), lo cual permite asegurar que las masas moleculares condensadas efectivamente corresponden al respectivo ion molecular, el cual está presente en la mayoría de los aductos de los compuestos 2a-c sintetizados.

Figura 44. Comparación de la distribución isotópica del ión molecular más protón del 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**). a. calculada. b. experimental.



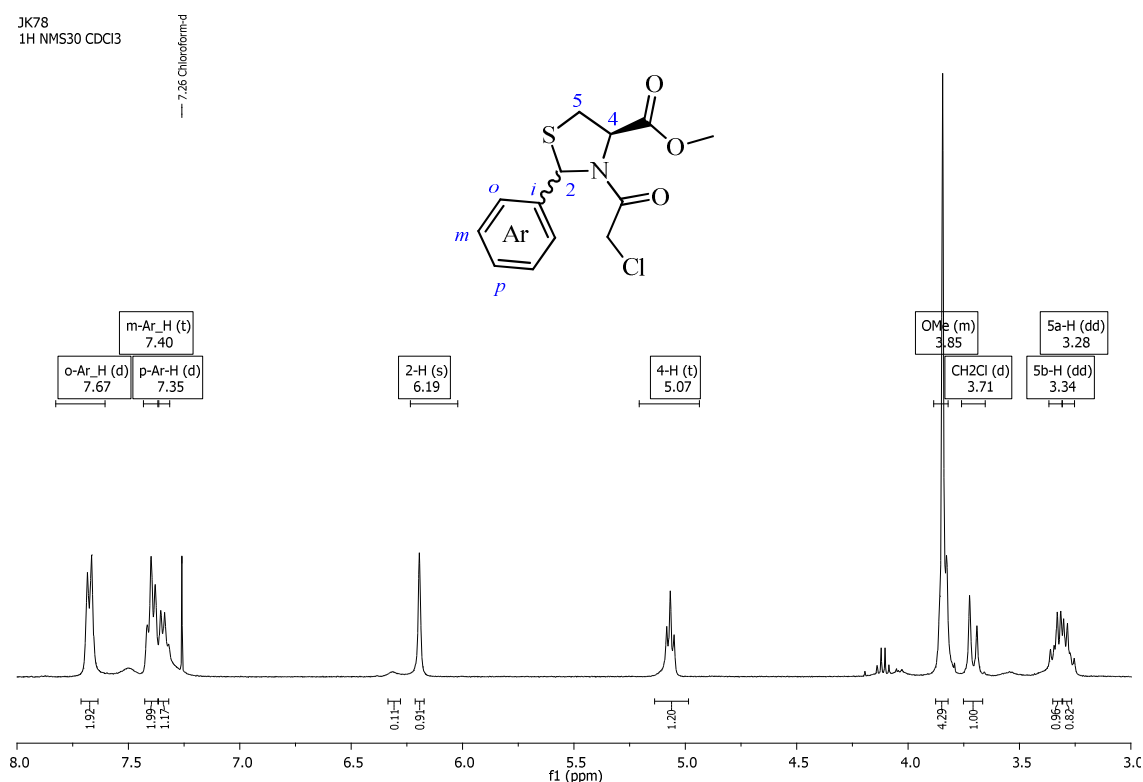
La distribución isotópica mostrada anteriormente fue calculada mediante el software Compass IsotopePattern, el cual viene incluido en el espectrómetro de masas Amazon X (Bruker Daltonis).

Finalmente, las estructuras de los 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxilatos (**2a-c**) se confirmaron por medio de resonancia magnética nuclear unidimensional (^1H -RMN, ^{13}C -RMN, DEPT-135) y para confirmar la asignación de protones, en algunos casos se analizaron algunos experimentos bidimensionales de correlación homonuclear ^1H - ^1H COSY.

En el espectro de ^1H -RMN de los 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxilatos (**2a-c**). (Figura 45) se aprecian las señales correspondientes a los respectivos protones presentes en la molécula. Comenzando desde campos altos a campos bajos se ubica un grupo de señales entre 3.2-3.4 ppm, correspondiente a los protones 5-H del anillo tiazolidínico. Un grupo de señales entre 3.65-3.68 ppm correspondiente a los protones CH_2 adyacentes a el átomo de cloro. Luego, se observa una señal intensa entre 3.7-3.9 ppm correspondiente los protones del metil éster (OCH_3). El grupo de señales entre 5.0-

5.2 ppm corresponde al protón 4-H. la señal que va a continuación entre 6.1-6.3 ppm pertenece al el protón 2-H. Finalmente, Las señales a partir de 7.2 ppm corresponden a los protones aromáticos.

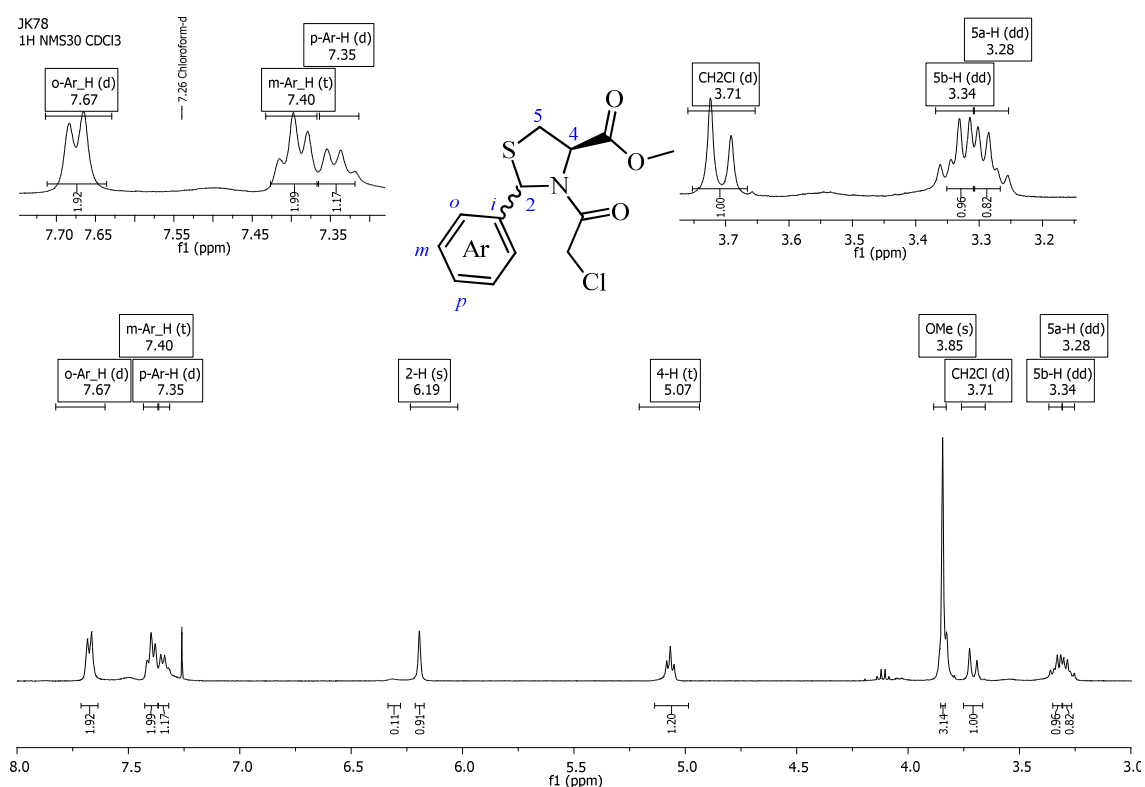
Figura 45. Espectro de ^1H -RMN de la 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**).



Al hacer una ampliación de cada una de las señales del espectro de ^1H -RMN del compuesto **2a** (Figura 46), se logra determinar las constantes de acoplamiento de las señales con desdoblamientos característicos. A campos bajos se observa a 7.67 ppm un doblete con constante de acoplamiento $J = 7.3$ Hz, el cual es asociada al protón *o*-Ar-H, seguido por una señal correspondiente a un triplete a 7.40 ppm con constante de acoplamiento $J = 7.3$ Hz, asociada al protón *m*-Ar-H y por último se observa a 7.35 ppm un doblete con constante de acoplamiento $J = 7.2$ Hz, asociada al protón de la posición *p*-Ar-H. Hacia campos altos se puede ver un singlete a 6.19 ppm correspondiente a la señal del protón 2-H. A 5.07 ppm aparece una señal triplete que corresponde al protón 4-H del anillo tiazolidínico, con constante de acoplamiento $J = 6.6$ Hz. la señal asociada a los protones metílicos del grupo metil ester se observa como un singlete a 3.85 ppm. Luego se observa a 3.71 ppm una dupleta con constante de acoplamiento $J = 13.0$ Hz,

señal característica de los protones metilénicos (CH₂) asociada al fragmento cloroacetilo. La señal restante es producto del solapamiento de las señales de los protones diastereotópicos 1a-H y 1b-H, ambos como dobletes de dobletes a 3.34 ppm con constantes de acoplamiento $J = 12.3, 6.5$ Hz y 3.28 ppm con constantes de acoplamiento $J = 12.1, 6.7$ Hz, respectivamente.

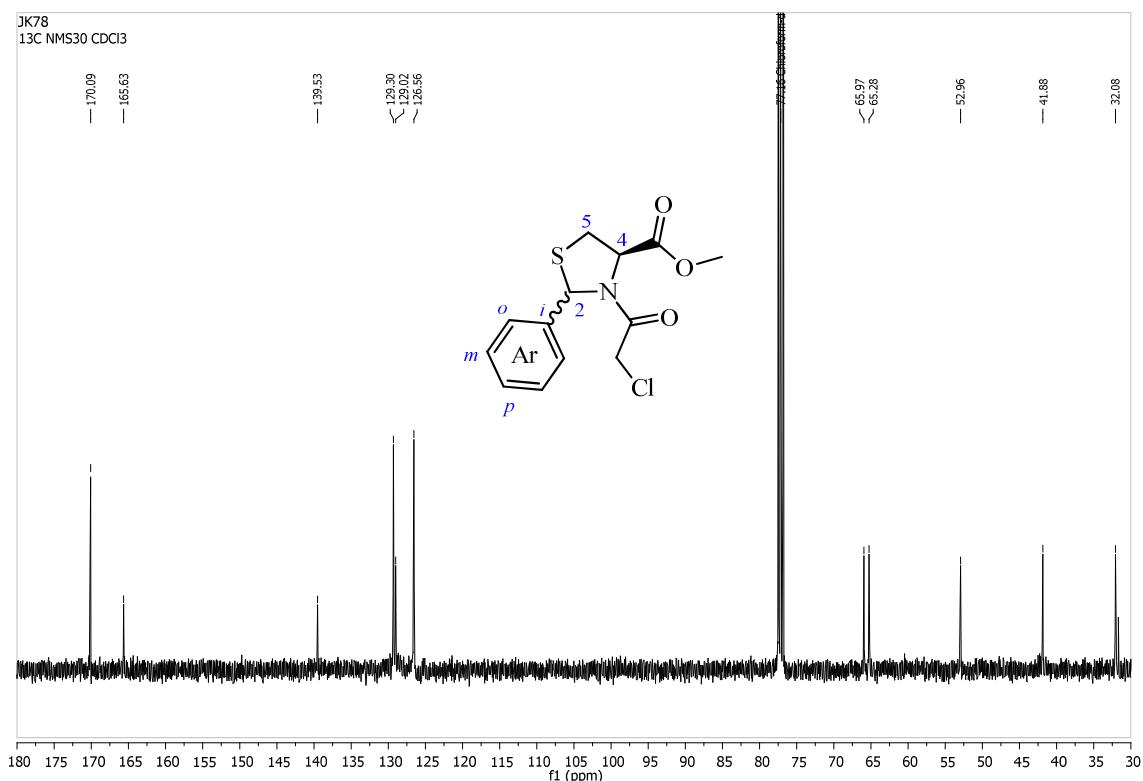
Figura 46. Ampliación de las señales en el espectro de ¹H-RMN de la 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**).



El análisis del espectro de ¹³C-RMN de la 3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**) indicó que el número de señales en el espectro coinciden con el número de señales presentes en la molécula.

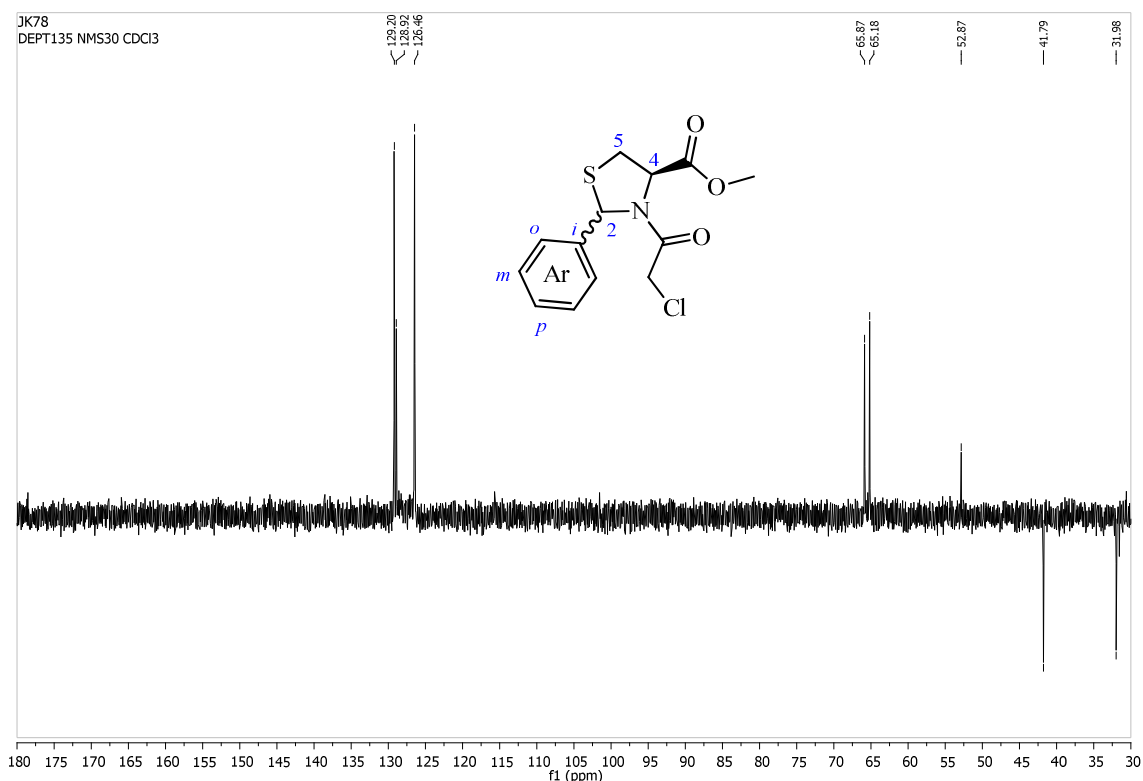
Dentro de todas las señales observadas en el espectro se destacan la señal presente en 170.1 ppm correspondiente al carbono carbonílico del metil éster, así como la señal presente a 165.6 ppm correspondiente al carbono carbonílico proveniente del cloruro de cloroacetilo (Figura 47).

Figura 47. Asignación de las señales en el espectro de ^{13}C -RMN del 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos (**2a-c**).



Como complemento de la información extraída a partir del espectro de ^{13}C -RMN se realizaron experimentos de DEPT-135 (Figura 48). Éste espectro permitió asignar algunos de los carbonos gracias a la diferencia de fases entre los carbonos secundarios con los carbonos primarios y terciarios, además de omitir los carbonos cuaternarios. De esta manera el espectro muestra dos fases negativas correspondientes al número de carbonos secundarios dentro de la molécula, muestra seis señales con fase positiva perteneciente a los carbonos metínicos y omite tres señales, equivalentes al número de carbonos cuaternarios. De esta manera, se asignaron señales que aportan significativamente a la elucidación estructural del compuesto tiazolidínico **2a**. algunas de las señales que se observan en el espectro DEPT-135 se encuentran ubicadas a 65.97 ppm, 65.28 ppm, 52.96 ppm, 41.88 ppm y 32.08 ppm, las cuales fueron asignadas a los carbonos C-2, C-4, -OCH₃, CH₂Cl y C-5, respectivamente.

Figura 48. Espectro DEPT-135 y asignación de señales de 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos (**2a-c**).



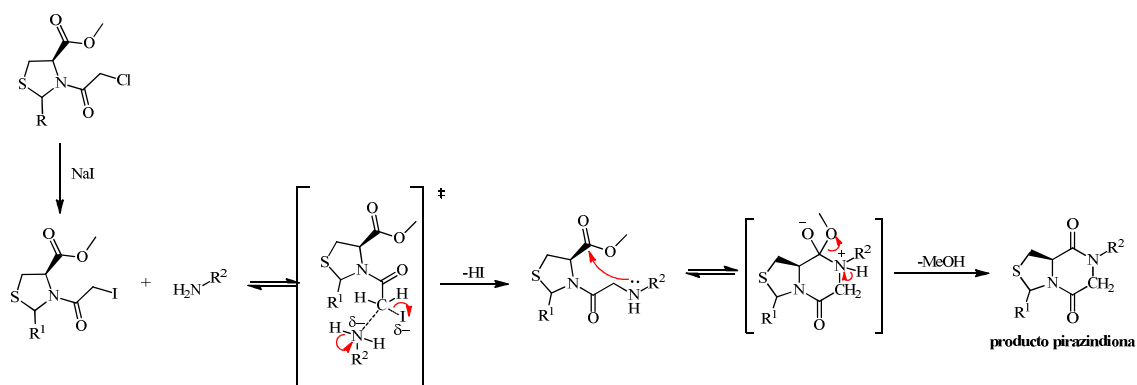
Con base en la información estructural obtenida luego de la completa caracterización los compuestos **2a-c** se puede afirmar que la síntesis fue de los respectivos derivados se llevo a cabo de forma exitosa.

6.3. Síntesis de los derivados heterofusionados 3-aryl-tiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-dionas (**3a-1**).

Luego de haber obtenido satisfactoriamente los precursores 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos (**2a-c**) se procedio a la síntesis de los productos finales de interés de esta investigación, los derivados heterofusionados 3-aryl-tiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-dionas (**3a-1**). para llevar a cabo dicha la síntesis de los derivados heterofusionados de interés a través de una ciclicondensación intermolecular, fue adoptada la metodología descrita por Melo y colaboradores⁴⁷, quienes reportaron que la reacción se lleva a cabo con buenos rendimientos. De ésta forma y por medio de ésta reacción se obtuvieron previamente los 3-(3-iodoacetil)-2-ariltiazolidin-4-

metilcarboxilatos (no aislados ni caracterizados) a partir de los 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxilatos (**2a-c**), para luego proceder a la ciclación de la que se propuso un mecanismo, el cual involucra un ataque en dos etapas generando una amina secundaria para finalmente con ayuda de la base presente como catalizador en el medio, realizar el ataque sobre el carbono carbonílico generando la amida terciaria como producto final permitiendo la obtención de los andamiajes moleculares heterofusionados tiazolidina y pirazindiona (Esquema 22)

Esquema 22. Mecanismo propuesto para acceder a los compuestos heterofusionados 3-ariltiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-dionas (**3a-1**).



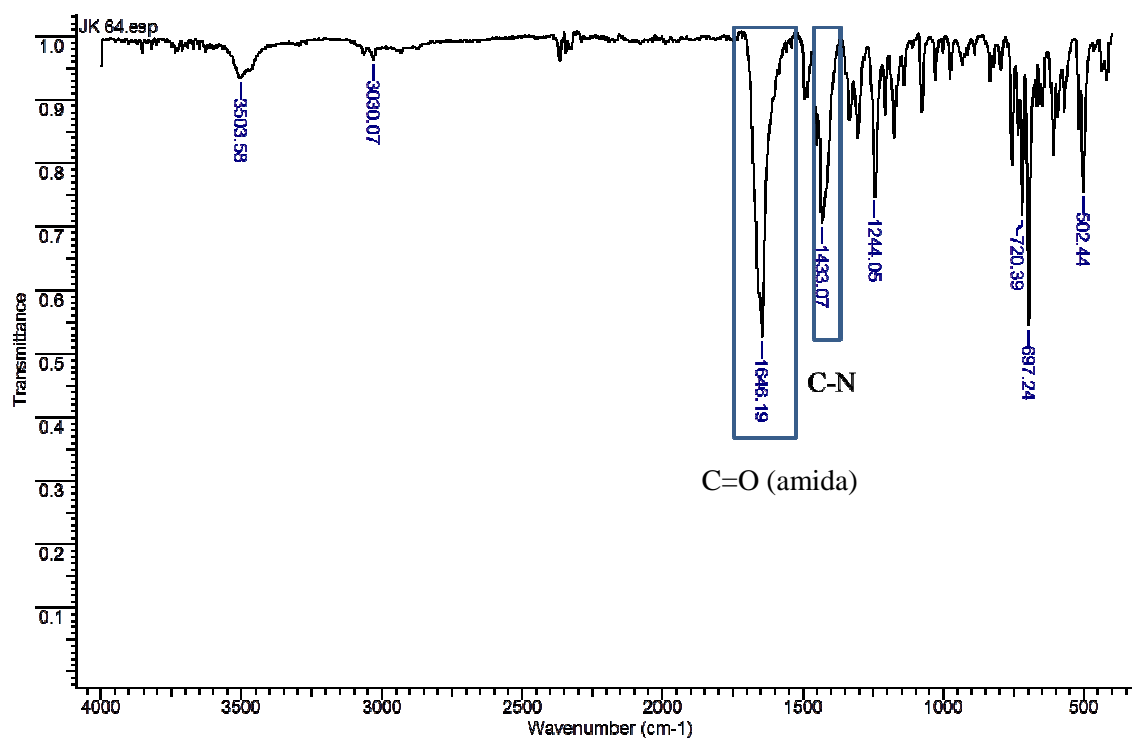
Para asegurar una reacción eficiente y acceder a los compuestos heterofusionados 3-ariltiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-dionas (**3a-1**), se escogió como base la trietilamina (Et₃N) debido a su conocida basicidad y a los buenos resultados reportados en la literatura y se seleccionó el metanol (CH₃OH) como disolvente. La reacción de ciclación intermolecular se llevó a cabo entre los 3-(3-iodoacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxilato obtenidos *in-situ* y las bencilaminas seleccionadas, calentando a reflujo por 6 horas, tal como lo indicó la cromatografía de capa fina (CCF), tiempos de reacción superiores favorecen la aparición de productos secundarios y afectan considerablemente al rendimiento de reacción. Los respectivos productos heterofusionados fueron obtenidos como sólidos estables, con buenos rendimientos de reacción y con elevados valores de *dr*, indicando además que la reacción fue altamente diastereoselectiva.

La completa caracterización estructural de los productos heterofusionados **3a-1**, se realizó a través del uso de las técnicas instrumentales disponibles. Inicialmente se empleó la espectroscopia IR, como prueba diagnóstica de la formación del compuesto. Luego se realizó el análisis de ESI-EM. La confirmación inequívoca de la estructura se llevó a cabo por medio de experimentos de RMN mono- (^1H -RMN, ^{13}C -RMN, DEPT-135) y bidimensionales (^1H , ^1H -COSY, HMBC y HSQC).

El análisis por medio de espectroscopia infrarroja indicó coherencia entre la estructura de cada molécula y las bandas de absorción resultantes en cada uno de sus espectros, confirmando grupos funcionales característicos de los híbridos moleculares. A manera de ejemplo se presenta el espectro de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3a**). (Figura 49).

En el espectro IR se puede observar alrededor de 1646 cm^{-1} la presencia de una banda vibración de tensión del grupo C=O, correspondiente a los fragmentos carbonílicos de los grupos amida presentes en el núcleo dioxopiperazínico y de manera complementaria, se observa la banda vibración de tensión C-N a 1433 cm^{-1} . Tal como se observa en el espectro, existe un desplazamiento de la banda de tensión C=O del metil éster precursor, que al convertirse en amida, se desplaza llegando en algunos casos incluso hasta solaparse con la otra señal asociada al enlace NC=O. otra evidencia de que la reacción de ciclación probablemente se llevó a cabo es la desaparición de la banda de absorción correspondiente a la tensión asimétrica del C=O del grupo metil éster (Figura 49).

Figura 49. Espectro IR de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3a**).



Los resultados anteriores descritos contribuyen a la elucidación de los principales grupos funcionales presentes en la estructura de los 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos (**2a-c**). La información de rendimientos de reacción y bandas características de cada uno de los compuestos sintetizados en ésta etapa se encuentran resumidos en la tabla 8.

Tabla 8. Bandas de absorción características en el IR de los híbridos moleculares 3-aril-tiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-dionas (**3a-l**).

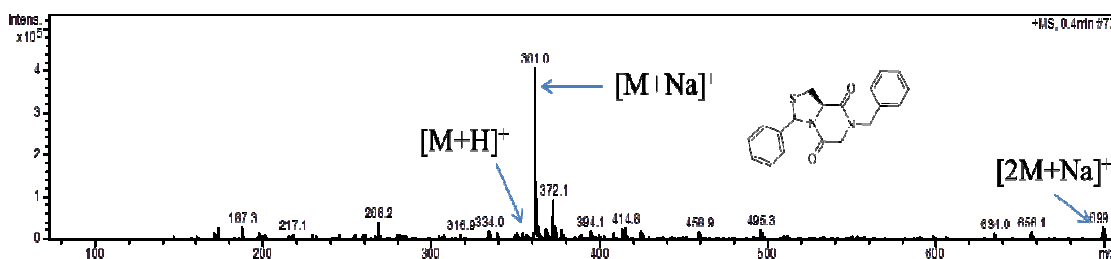
Comp. 3	Bandas de absorción en el espectro IR (cm ⁻¹)			Punto de fusión ^a (°C)	<i>dr</i>
	Vib. Tensión	Vib. Tensión	Rend ^b (%)		
	C=O	C-N			
a	1646	1433	54	106-109	95:5
b	1647	1433	67	76-79	95:5
c	1684, 1652	1419	75	151-153	99:1
d	1683	1652	67	195-197	95:5
e	1649	1425	55	119-120	99:1
f	1657	1458	47	196-198	99:1
g	1682, 1651	1418	33	140-143	99:1
h	1655	1454	64	131-133	99:1
i	1655	1422	38	129-131	99:1
j	1697,1651	1422	26	170-173	99:1
k	1697, 1651	1418	31	160-163	67:33
l	1651	1452	18		

^a Puntos de fusión no corregidos; ^b Rendimiento después de separado por CC.

Siguiendo con la caracterización estructural de los compuestos heterofusionados de interés (**3a-l**) y particularmente con el objeto de determinar las masas nominales de dichos compuestos, se empleó la técnica de espectrometría de masas con nebulización por electrospray ESI-MS en modo positivo. A modo de ejemplo se muestra el espectro *full scan* de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3a**). (Figura 50), en el cual se presentan cuatro señales características. La primera señal se observa en *m/z* 339 *umas* y corresponde al aducto del ión molecular y un protón [M+H]⁺. A demás se observan en el espectro las señales asociadas al aducto del ión molecular más un átomo de sodio [M+Na]⁺ y la formación de un dímero del ión

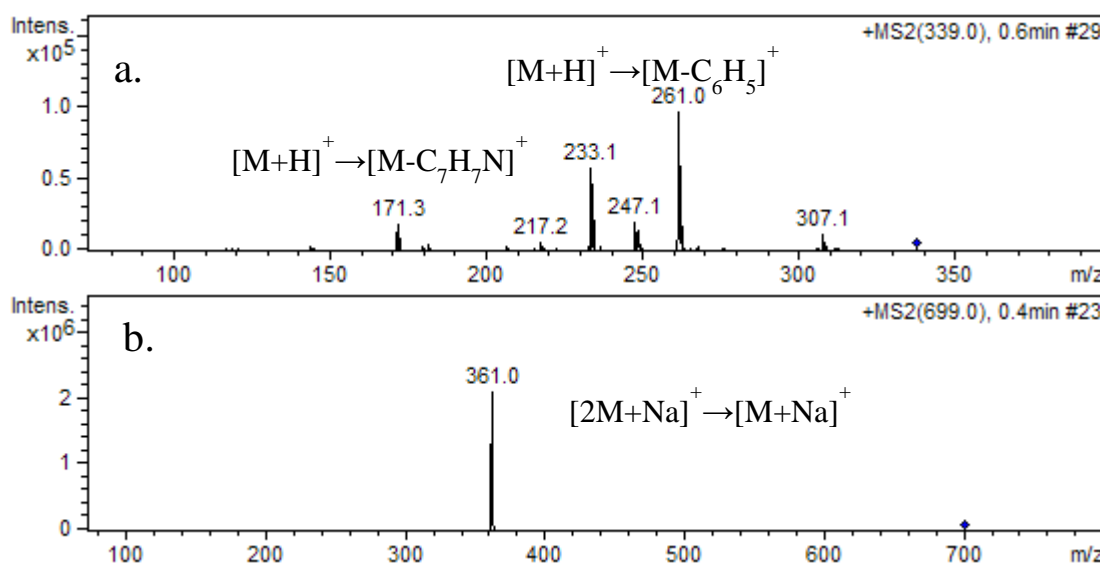
molecular más un átomo de sodio $[2M+Na]^+$ con una relación m/z 361 y 699 umas, respectivamente.

Figura 50. Espectro ESI-MS (*full scan*) de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3a**).



Como la técnica ESI-MS permite mediante la trampa iónica IT, fragmentar selectivamente una señal con relación masa/carga específica, algunas señales del espectro *full scan* (Figura 50) fueron seleccionadas y fragmentadas. Con el objeto de ilustrar el papel de la fragmentación de iones, en el espectro de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3a**), dos fragmentaciones fueron realizadas (Figura 51).

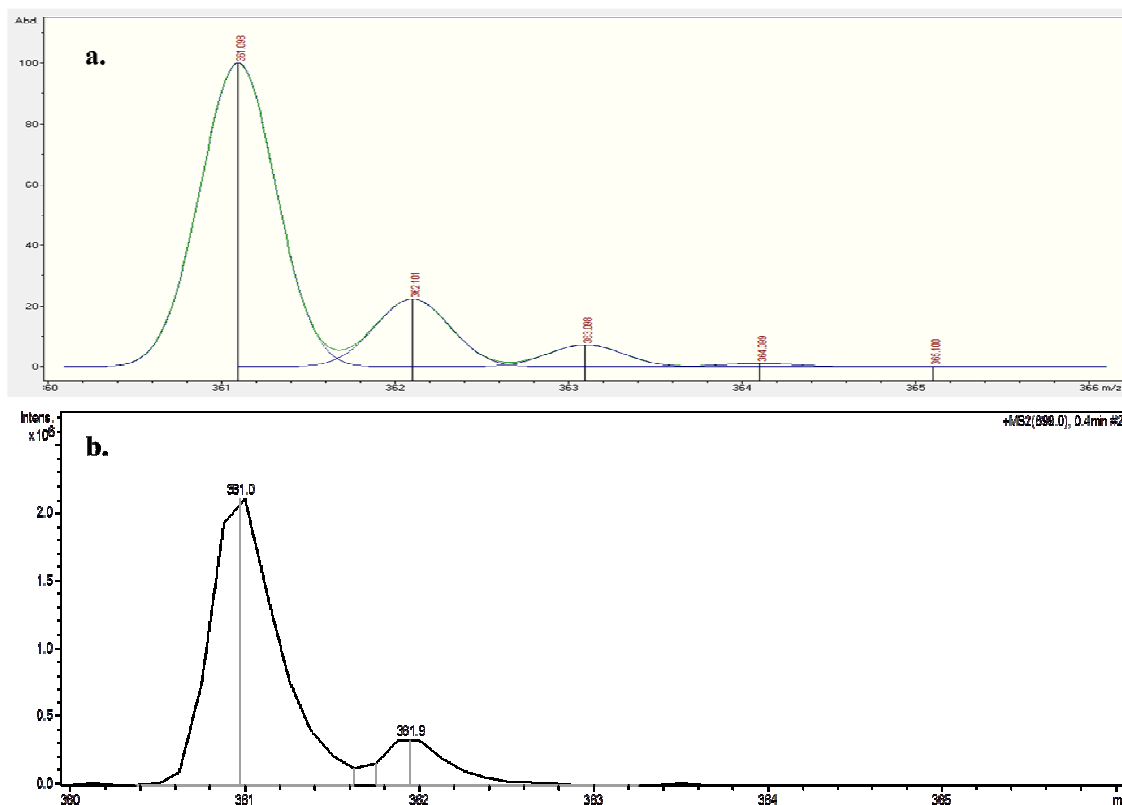
Figura 51. Iones fragmentos obtenidos a partir de los iones aductos del espectro ESI-MS (*full scan*) de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3a**). a. $[M+H]^+$ b. $[2M+Na]^+$



La primera de ellas, es la fragmentación de la señal correspondiente al aducto del ión molecular más un protón $[M+H]^+$, el cual generó una señal (m/z 261 umas) asociada a la correspondiente a la pérdida de 78 unidades que equivalen a la pérdida del fragmento arílico $[(M+H)-C_6H_5]^+$, una segunda señal con m/z 233 umas asociada a $[M-C_7H_7N]^+$ equivalente a la pérdida de 106 unidades de masa. La segunda fragmentación se realizó al aducto del dímero ión molecular más sodio, el cual generó una señal intensa en m/z 361 umas correspondiente al aducto del ión molecular más un átomo de sodio $[M+Na]^+$, lo que equivale a la pérdida de 338 unidades de masa.

Una de las más importantes evidencias de que la masa molecular propuesta para los compuestos evaluados, corresponde a la masa molecular condensada de dichos compuestos, además de las respectivas fragmentaciones de sus iones moleculares, es el análisis de su patrón isotópico, se seleccionó el patrón isotópico del aducto del ión molecular más un átomo de sodio $[M+Na]^+$ el cual permite asegurar que los respectivos derivados heterofusionados fueron sintetizados debido a que se encontró ión molecular más un átomo de sodio en la mayoría de los compuestos (Figura 52). Los datos calculados (Figura 52a) presentan una alta correlación con los datos experimentales (Figura 52b), lo cual permite asegurar que las masas moleculares condensadas efectivamente corresponden al respectivo ion molecular, el cual está presente en la mayoría de los aductos de los compuestos **3a-1** sintetizados.

Figura 52. Comparación de la distribución isotópica del ión molecular más sodio de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3a**). a. calculada. b. experimental.



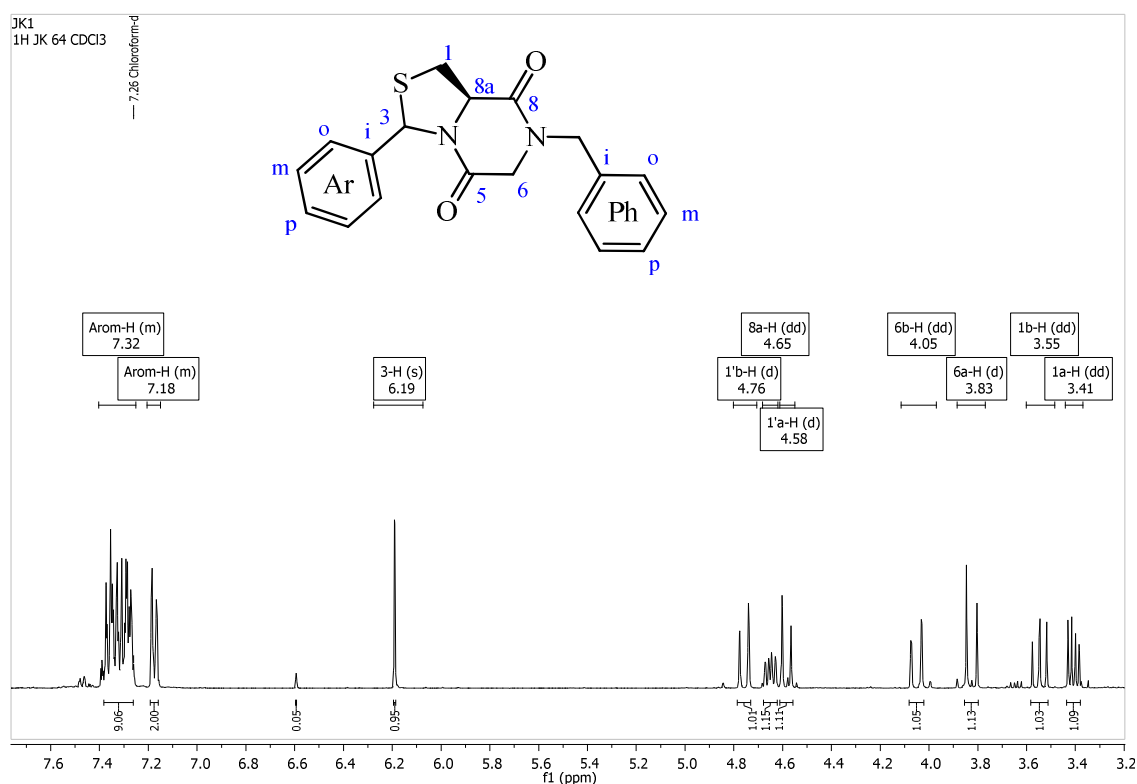
La distribución isotópica mostrada anteriormente fue calculada mediante el software Compass IsotopePattern, el cual viene incluido en el espectrómetro de masas Amazon X (Bruker Daltonis).

Finalmente, las estructuras moleculares de los compuestos heterofusionados tiazolidina/dioxopiperazina (**3a-1**) se confirmaron por medio de resonancia magnética nuclear unidimensional (^1H -RMN, ^{13}C -RMN, DEPT-135) y para algunos casos, la asignación de protones se hizo con la ayuda de la interpretación de experimentos bidimensionales (COSY, HSQC y HMBC).

En el espectro de ^1H -RMN de los compuestos heterofusionados tiazolidina/dioxopiperazina (**3a-1**) se aprecian las señales correspondientes a los respectivos protones presentes en la molécula, al igual que la desaparición de la señal característica de los protones metoxílicos del metil éster (3.8 ppm). Lo anterior es señal inequívoca de que la síntesis fue realizada de manera exitosa. Comenzando el análisis

desde campos bajos, se ubican dos grupos de señales en el intervalo de 7.40-7.15 ppm correspondientes a los protones aromáticos. Luego, se observa una señal ubicada entre 6.1-6.2 ppm correspondiente al protón 3-H. Luego, se observa un grupo de señales ubicadas entre 4.8-4.5 ppm que corresponden a los protones 1'-H y 8a-H por el solapamiento de las señales del protón 8a-H con las nuevas señales provenientes del carbono alifático de la bencilamina añadida a la estructura. Hacia campos altos se encuentra un grupo de señales entre 3.75-3.9 ppm correspondientes a los protones 6-H. finalmente, aparecen a campo más alto entre 3.6-3.3 ppm las señales correspondientes a los protones 1-H (Figura 53).

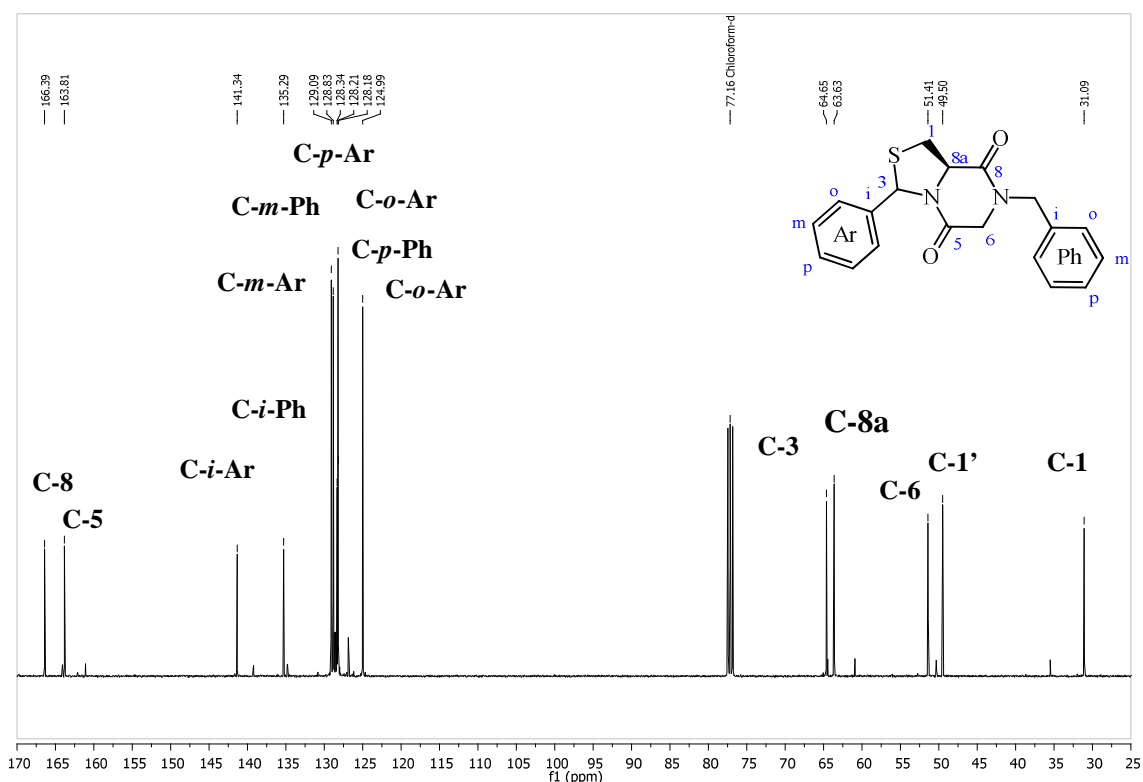
Figura 53. Espectro de ^1H -RMN de la (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3a**).



Al hacer una ampliación de cada una de las señales en el espectro de ^1H -RMN del compuesto **3a** (Figura 54), se logra determinar las constantes de acoplamiento de cada una de las señales que presentan desdoblamientos característicos. Desde campos bajos

Pasando al análisis del espectro ^{13}C -RMN se evidencia que el número de señales en el espectro coinciden con el número de señales presentes en la (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3a**), al igual que la desaparición de la señal características del fragmento metoxílico del metil éster alílico de los 3-(3-cloroacetyl)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos (**2a-c**). Comenzando a campos altos, se aprecian las señales pertenecientes a los carbonos alifáticos, las cuales aparecen a 31, 50, 51, 64 y 65 ppm, correspondientes a los carbonos C-1, C-6, C-1', C-8a y C-3 respectivamente. Finalmente, a campos bajos encontramos las señales pertenecientes a los carbonos carbonílicos a 164 ppm y 166 ppm correspondientes a C-8 y C-5 respectivamente (Figura 55). En éste el espectro de ^{13}C -RMN Adicionalmente, se puede apreciar la duplicación de todas las señales confirmando la presencia de una mezcla de diastereoisómeros.

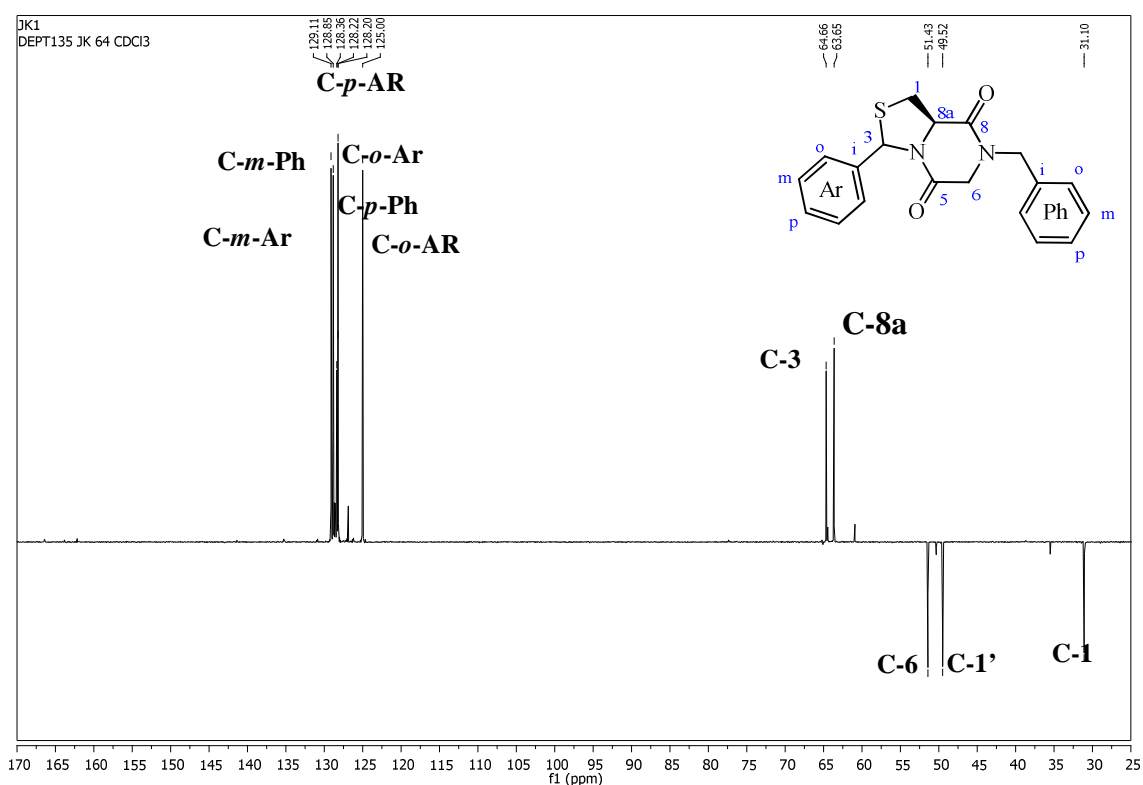
Figura 55. Asignación de las señales en el espectro de ^{13}C -RMN de la (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3a**).



Como complemento de la información extraída a partir del espectro de ^{13}C -RMN se realizaron experimentos de DEPT-135 (Figura 56). Éste espectro permitió asignar las señales de algunos de los carbonos gracias a la diferencia de fases entre las mismas. De

ésta forma se observa que el número de señales positivas corresponden con el número de carbonos metílicos y metínicos presentes en la (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3a**). De la misma manera se pueden observar hacia campos altos la aparición de señales negativas correspondientes a los carbonos metilénicos presentes tanto en el en los núcleos heterofusionados como en el sustituyente bencílico.

Figura 56. Espectro de DEPT-135 y asignación de señales (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3a**).

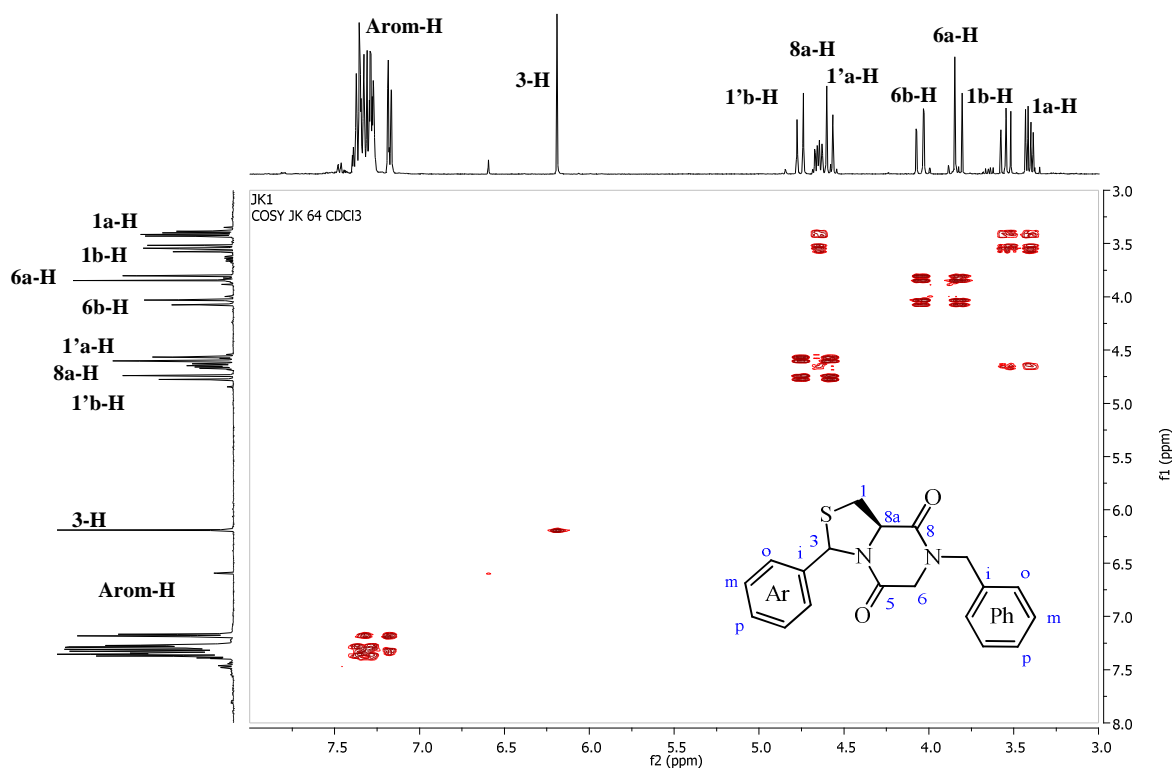


Con el objeto de realizar una correcta asignación de los protones presentes en la molécula y por ende realizar una inequívoca elucidación estructural, además del análisis de los espectros unidimensionales, a continuación se muestra el análisis de algunos espectros bidimensionales.

El espectro del experimento de correlación homonuclear $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY de la (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3a**), ayudo a definir la correlación de algunos protones geminales y vecinales presentes en la molécula y que no pudieron asignarse por medio de las constantes de acoplamiento extraídas en el

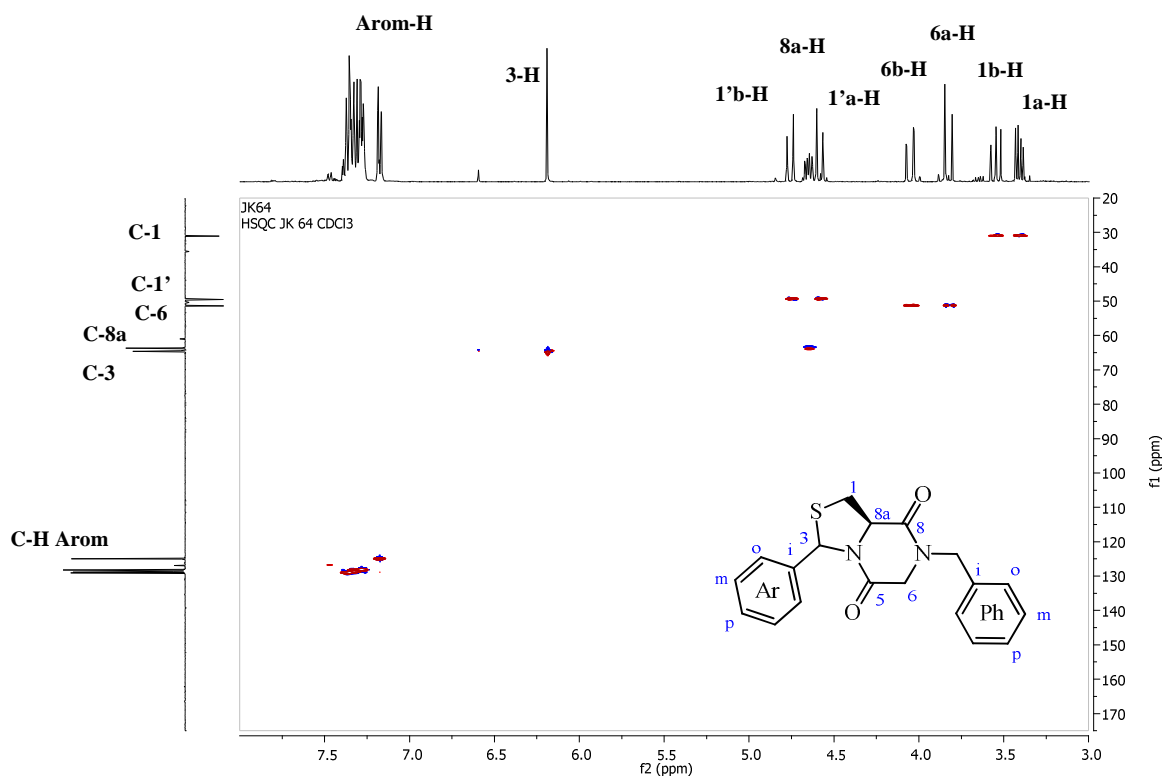
experimento unidimensional, esto a causa de la presencia de varias señales con multiplicidad no definida. A partir del espectro se puede confirmar el respectivo acoplamiento que involucra a los protones 1a-H y 8a-H, al igual que el acoplamiento entre los protones 1b-H y 8a-H, ubicados en la parte superior derecha del espectro (Figura 57). También se observa que todas las demás señales alifáticas acoplan con su hidrogeno vecino (a y b), mientras que en la región aromática, pese a que se observan acoplamientos, ninguno pudo ser asignado con certeza.

Figura 57. Correlación entre protones en el espectro COSY de la (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3a**).



El experimento $^1\text{H},^{13}\text{C}$ HSQC, permitió dar mayor claridad en la asignación de los protones diastereotópicos y protones geminales que acoplan entre sí. En la siguiente figura (Figura 58) se muestra el espectro bidimensional de correlación heteronuclear HSQC, a partir de cual se pudo asignar cada uno de los protones al respectivo carbono presente en la estructura de manera inequívoca. Vale la pena resaltar que éste experimento permitió observar que existen tres pares de protones diastereotópicos pertenecientes a los protones 1-H, 1'-H, y 6-H de la parte superior derecha del espectro.

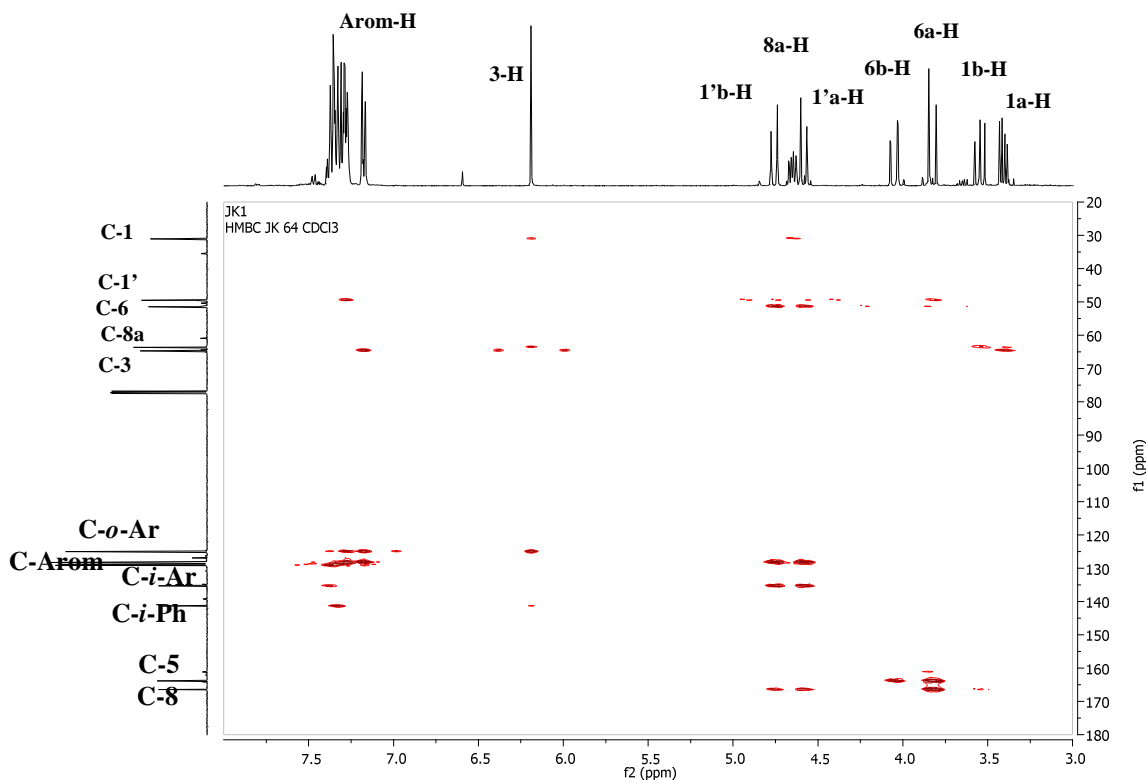
Figura 58. Espectro de correlación heteronuclear HSQC de la (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3a**).



Por último, para corroborar la correcta asignación, tanto de los protones como de los carbonos, fue necesario analizar el espectro de correlación heteronuclear ^1H , ^{13}C HMBC. En la siguiente figura (Figura 59) se muestra el espectro bidimensional HMBC, a partir del cual se asignó cada señal asociada a los protones a sus respectivos, en función de los acoplamientos a distancias superiores a dos enlaces. Dicho análisis arrojó claros indicios de la ubicación de varios protones hasta el momento no asignados dentro de la estructura molecular. En la parte inferior del espectro se observan un par de señales o manchas que fueron asignadas inequívocamente a los carbonos carbonílicos C-8 y C-5 por sus acoplamientos con los protones 1'-H y 6-H. Así mismo, en el espectro se puede ver inmerso dentro de la gran cantidad de señales aromáticas, las señales asociadas a los carbonos *orto*- e *ipso*-aromáticos en función de los acoplamientos que presentan con los protones enlazados al anillo como es el caso de los carbonos C-3 y C-1' y esto se confirma en la sección superior izquierda para los protones *orto*-aromáticos. Finalmente, se observan en el espectro de HMBC que las señales alifáticas corroboran

la asignación de los carbonos y protones del núcleo tiazolidínico y dioxopiperazínico en función de sus acoplamientos entre sí.

Figura 59. Espectro de correlación heteronuclear HMBC de la (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-feniltetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3a**).

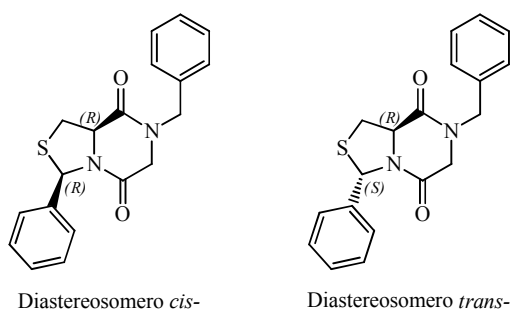


6.3.1. Estereoquímica de los derivados heterofusionados tiazolidina/dioxopiperazina (**3a-l**).

Con base en los espectros de ^1H -RMN y con ayuda del espectro de bidimensional de correlación homonuclear ^1H - ^1H -COSY, se logró establecer la presencia casi absoluta de un solo diastereoisómero obtenido mediante la ciclicondensación. Las dioxopiperazinas (**3a-l**) sintetizadas presentan dos (2) carbonos quírales (C-3 y C-8a) y por tanto, la posibilidad de generar cuatro (4) diastereoisómeros de cuales solo dos (2) estereoisómeros son generados, esto debido a que la quiralidad del carbono C-8a ha sido fijada a partir de la L-cisteína (figura 60), sin embargo, de acuerdo con el mecanismo propuesto en la primera etapa es igualmente probable la formación de cualquiera de los

dos diastereoisómeros para los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (**1a-e**), la racemización de dichos compuestos es un fenómeno que se va reduciendo a medida que modifica la estructura llegando a un relación diastereomérica superior de (90:10) que lleva a que sea muy importante determinar cuál es dicho diastereoisómero mayoritario.

Figura 60. Posibles estereoisómeros obtenidos para los compuestos heterofusionados tiazolidina/dioxopiperazina sintetizados.



El análisis de ^1H -RMN para los derivados heterofusionados tiazolidina/dioxopiperazina (**3a-l**) sintetizadas indicó que el proceso, bajo las condiciones de reacción utilizadas, garantiza una alta diastereoselectividad, debido a que se obtuvieron dos diastereoisómeros pero en la etapa final la relación es superior al 95%. La estructura del diastereoisómero mayoritario no logró ser determinada por resonancia magnética nuclear debido a que por la presencia de los átomos de azufre y nitrógeno alrededor del carbono C-3, el protón que acompaña dicho carbono no presenta acoplamientos cuyas constantes puedan dar indicios de su distribución espacial. Sin embargo, actualmente se están midiendo algunos cristales obtenidos por difracción de rayos X de cristal único, lo que se espera de luces acerca de la esteoquímica del compuesto sintetizado.

6.4. Ensayos de actividad antibacteriana en *E. coli* y *S. aureus* (SARM).

Una vez sintetizados y caracterizados todos los compuestos, se procedió a enviar cantidades representativas de cada uno de ellos a un laboratorio especializado, de modo que se determinara de manera preliminar su actividad antibacteriana. Para dichos ensayos fueron empleadas las cepas bacterianas *Escherichea coli* y *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM). Los ensayos se realizaron en concentraciones que van desde los 100 μM hasta los 0,5 μM . A pesar del promisorio perfil antibiótico

que poseen este tipo de compuestos, desafortunadamente no se observó una inhibición representativa del crecimiento bacteriano frente a las bacterias *E. coli* y *S. aureus* de ninguno de los compuestos evaluados (Figura 61, 62 y 63).

Figura 61. Gráficas del crecimiento bacteriano, moléculas (**1a-e**) y (**2a-c**) en comparación con el blanco.

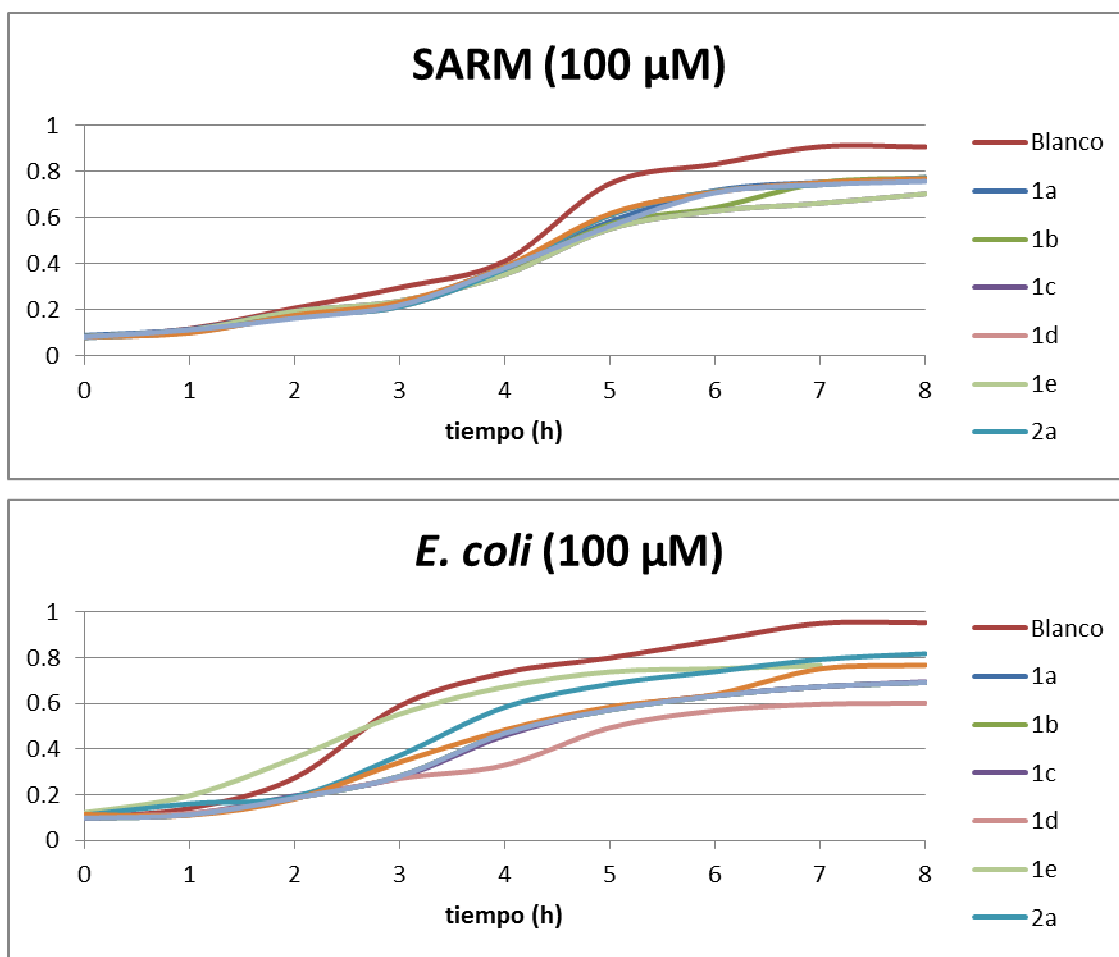


Figura 62. Gráfica del crecimiento bacteriano, moléculas (**3a-f**) en comparación con el blanco.

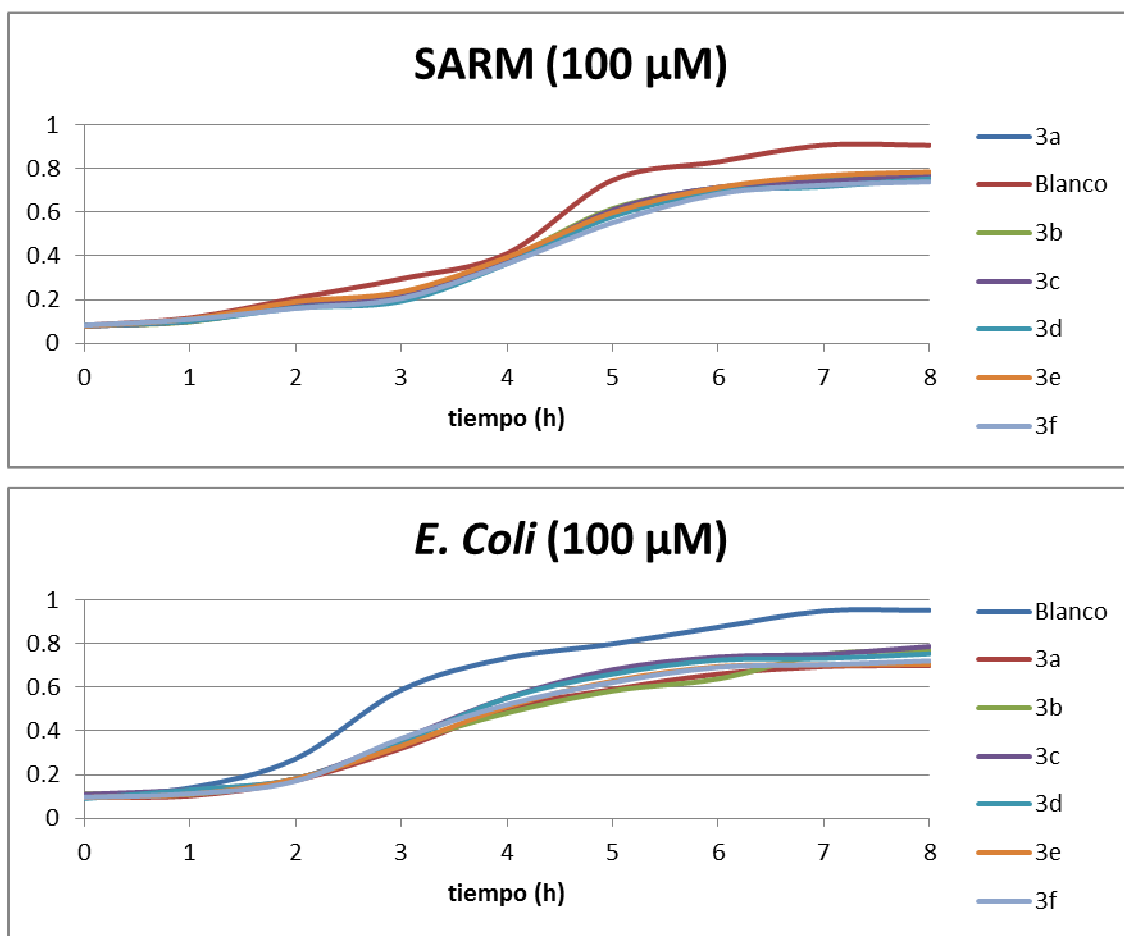
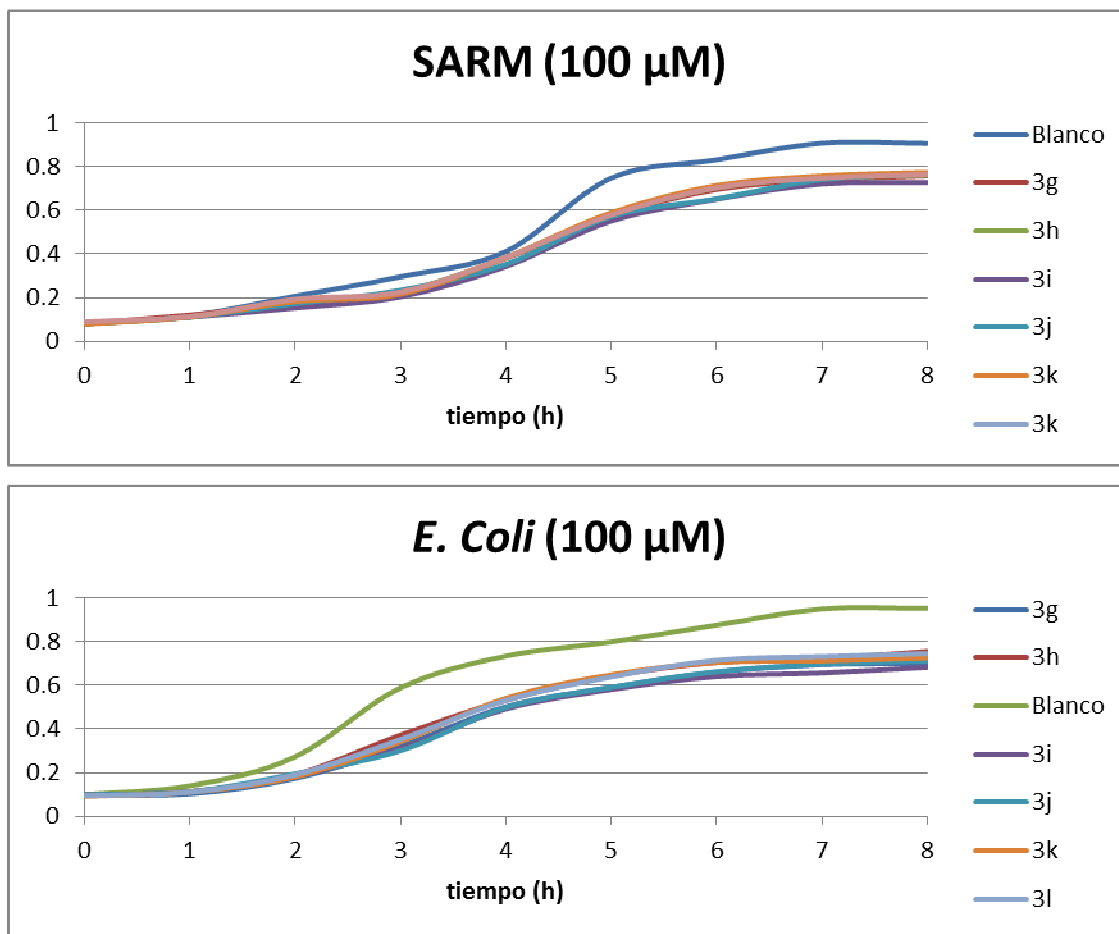


Figura 63. Gráfica del crecimiento bacteriano, moléculas (**3g-1**) en comparación con el blanco.



Al observar detenidamente todas y cada una de las gráficas presentadas (Figura 61, 62 y 63), podemos notar, que pese a que los valores de densidad óptica registrados para los compuestos evaluados son levemente inferiores a los del blanco, ninguno alcanza a realizar una inhibición efectiva del crecimiento bacteriano, la cual no nos permite determinar el respectivo IC50, debido a que los valores de inhibición de crecimiento se encuentran muy por encima del 50%. Es por ello, que se cree que de haber una concentración mínima inhibitoria (MIC) esta sería superior a los valores estudiados, es decir, > 100 µM. En términos generales, los datos arrojados por cada uno de los compuestos tienen valores bastante cercanos, lo cual impide destacar un compuesto en específico dentro de la serie sintetizada.

7. CONCLUSIONES

- Se realizó la reacción de ciclación intermolecular vía sustitución nucleofílica que llevó a la formación del núcleo tiazolidínico a partir de derivados del benzaldehído y cisteína previamente esterificada, empleando una metodología sintética clásica y sencilla. Mediante la cual se obtuvieron los compuestos 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (**1a-e**) como mezclas racémicas y con buenos rendimientos de reacción.
- Se obtuvieron satisfactoriamente los productos 3-(3-cloroacetil)-2-ariltiazolidin-4-metilcarboxílatos (**3a-c**) a partir de los 2-aril-tiazolidin-4-metilcarboxílatos (**1a-e**) previamente obtenidos, por medio de una reacción de *N*-acilación clásica con cloruro de cloroacetilo a temperatura ambiente, con altos rendimientos de reacción y valores de relación diastereomérica (*dr*) más altos que en la etapa anterior.
- Se logró sintetizar una pequeña galería de 3-aril-tiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-dionas exitosamente, mediante una reacción de ciclocondensación intermolecular con bencilaminas seleccionadas, obteniéndose los derivados heterofusionados 3-aril-tiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-dionas (**3a-l**) con rendimientos buenos y moderados, todos como sólidos estables y con los más altos valores de relación diastereomérica (*dr*).
- Se determinó de manera preliminar la acción inhibitoria del crecimiento sobre dos cepas bacterianas Gram-positiva (*Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina) y Gram-negativa (*Escherichia coli*), encontrándose que para las condiciones de estudio, no se presenta una inhibición efectiva del crecimiento bacteriano, por lo cual, se debe seguir estudiando para determinar su exacta concentración mínima inhibitoria, así como su potencial biológico como antibiótico en otras especies patógenas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- (1) Davies, J.; Davies, D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2010**, *74*, 417–433.
- (2) Eicher, T.; Hauptmann, S. *The Chemistry of Heterocycles*; second ed.; Weinheim, Germany, 2003.
- (3) Wilmore, B. H.; Cassidy, P. B.; Warters, R. L.; Roberts, J. C. Thiazolidine Prodrugs as Protective Agents against Γ -Radiation-Induced Toxicity and Mutagenesis in V79 Cells. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2661–2666.
- (4) Wlodek, L.; Rommelspacher, H.; Susilo, R.; Radomski, J.; Höfle, G. Thiazolidine Derivatives as Source of Free L-Cysteine in Rat Tissue. *Biochem. Pharmacol.* **1993**, *46*, 1917–1928.
- (5) Jain, A. K.; Vaidya, A.; Ravichandran, V.; Kashaw, S. K.; Agrawal, R. K. Recent Developments and Biological Activities of Thiazolidinone Derivatives: A Review. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 3378–3395.
- (6) Weber, H. U.; Fleming, J. F.; Miquel, J. Thiazolidine-4-Carboxylic Acid, a Physiologic Sulfhydryl Antioxidant with Potential Value in Geriatric Medicine. *Arch. Gerontol. Geriatr.* **1982**, *1*, 299–310.
- (7) Prabhakar Y. S.; R., S. V.; Manish, G.; S.B., K. QSAR Studies on Thiazolidines: A Biologically Privileged Scaffold. *Top. Heterocycl. Chem.* **2006**, *4*, 1–88.
- (8) Liu, Y.; Jing, F.; Xu, Y.; Xie, Y.; Shi, F.; Fang, H.; Li, M.; Xu, W. Design, Synthesis and Biological Activity of Thiazolidine-4-Carboxylic Acid Derivatives as Novel Influenza Neuraminidase Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 2342–2348.
- (9) Maegawa, H.; Masaaki Hasegawa, R. I.; Ugi, S.; Egawa, K.; Iwanishi, M.; Kikkawa, R.; Shigeta, Y.; Kashiwagi, A. Thiazolidine Derivatives Ameliorate

High Glucose-Induced Insulin Resistance via the Normalization of Protein-Tyrosine Phosphatase Activities. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 7724–7730.

- (10) Oya, M.; Baba, T.; Kato, E.; Kawashima, Y.; Watanabe, T. Synthesis and Antihypertensive Activity of N-(Mercaptoacyl)-Thiazolidinecarboxylic Acids. *Chem. Pharm. Bull.* **1982**, *2*, 440–461.
- (11) Song, Z.-C.; Ma, G.-Y.; Lv, P.-C.; Li, H.-Q.; Xiao, Z.-P.; Zhu, H.-L. Synthesis, Structure and Structure-Activity Relationship Analysis of 3-Tert-Butoxycarbonyl-2-Arylthiazolidine-4-Carboxylic Acid Derivatives as Potential Antibacterial Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3903–3908.
- (12) Ha, Y. M.; Park, Y. J.; Lee, J. Y.; Park, D.; Choi, Y. J.; Lee, E. K.; Kim, J. M.; Kim, J.-A.; Park, J. Y.; Lee, H. J.; Moon, H. R.; Chung, H. Y. Design, Synthesis and Biological Evaluation of 2-(substituted Phenyl)thiazolidine-4-Carboxylic Acid Derivatives as Novel Tyrosinase Inhibitors. *Biochimie.* **2012**, *94*, 533–540.
- (13) Lu, Y.; Wang, Z.; Li, C.-M.; Chen, J.; Dalton, J. T.; Li, W.; Miller, D. D. Synthesis, in Vitro Structure-Activity Relationship, and in Vivo Studies of 2-Arylthiazolidine-4-Carboxylic Acid Amides as Anticancer Agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 477–495.
- (14) Paul, B.; Hunt, H.; Korytnyk, W. Cysteine Derivatives with Reactive Groups as Potential Antitumor Agents. *J. Med. Chem.* **1976**, *19*, 1002–1007.
- (15) Li, W.; Lu, Y.; Wang, Z.; Dalton, J. T.; Miller, D. D. Synthesis and Antiproliferative Activity of Thiazolidine Analogs for Melanoma. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 4113–4117.
- (16) Gududuru, V.; Hurh, E.; Dalton, J. T.; Miller, D. D. Discovery of 2-Arylthiazolidine-4-Carboxylic Acid Amides as a New Class of Cytotoxic Agents for Prostate Cancer. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 2584–2588.

- (17) Gududuru, V.; Hurh, E.; Sullivan, J.; Dalton, J. T.; Miller, D. D. SAR Studies of 2-Arylthiazolidine-4-Carboxylic Acid Amides: A Novel Class of Cytotoxic Agents for Prostate Cancer. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 4010–4013.
- (18) Lu, Y.; Li, C.-M.; Wang, Z.; Ross, C. R.; Chen, J.; Dalton, J. T.; Li, W.; Miller, D. D. Discovery of 4-Substituted Methoxybenzoyl-Aryl-Thiazole as Novel Anticancer Agents: Synthesis, Biological Evaluation, and Structure-Activity Relationships. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 1701–1711.
- (19) Dreiding, V. A. S. Einfache Molekularmodelle. *Helv. Chim. Acta* **1959**, *48*, 1339–1344.
- (20) Degeilh, R.; Marsh, R. E. A Refinement of the Crystal Structure of Diketopiperazine (2,5-Piperazinedione). *Acta Crystallogr.* **1959**, *12*, 1007–1014.
- (21) Sletten, E. Conformation of Cyclic Dipeptides. The Crystal and Molecular Structures of Cyclo-D-Alanyl-L-Alanyl and Cyclo-L-Alanyl-L-Alanyl (3,6-Dimethylpiperazine-2,5-Dione). *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 172–177.
- (22) Richardson, P. M.; Herz, W.; Grisebach, H.; Kirby, G. W. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*; Viena, 1975; Vol. 32, pp. 51–107.
- (23) Abderkalden, E.; Klarmann, E. Organic Chemistry. *Physiol. Chem.* **1924**, 64–67.
- (24) McInnes, A. G.; Taylor, A.; Walter, J. A. Structure of an Antineoplastic Agent from *Streptomyces Griseoluteus*. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 6742–6743.
- (25) Stammer, C. H.; Mckinney, J. D. On the Mechanism of Cycloserine Dimerization in Presence of 5-Chlorosalicylaldehyde. *Tetrahedron Lett.* **1964**, 2697–2700.
- (26) Yokoi, T.; Yang, L.; Yokoi, T.; Wuf, R.; Lee, K.; Hill, C. Neihumicin, a New Cytotoxic Antibiotic from *Micromonospora Neihuensis*. III Structure Activity Relationship. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1988**, *XLI*, 494–501.
- (27) Moure, A.; Orzáez, M.; Sancho, M.; Messeguer, A. Synthesis of Enantiomerically Pure Perhydro-1,4-Diazepine-2,5-Dione and 1,4-Piperazine-

- 2,5-Dione Derivatives Exhibiting Potent Activity as Apoptosis Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 7097–7099.
- (28) Greibrokk, T.; Undheim, K. N-Quaternary Compounds Part XXII. Quinoline Derivatives. *Acta Chem. Scand.* **1971**, *8*, 2935–2942.
- (29) Cho, S.-D.; Song, S.-Y.; Kim, K.-H.; Zhao, B.-X.; Ahn, C.; Joo, W.-H.; Yoon, Y.-J.; Falck, J. R.; Shin, D.-S. One-Pot Synthesis of Symmetrical 1,4-Disubstituted Piperazine-2,5-Diones. *bull. Korean chem. soc.* **2004**, *25*, 415–416.
- (30) Giessen, T. W.; von Tesmar, A. M.; Marahiel, M. a. Insights into the Generation of Structural Diversity in a tRNA-Dependent Pathway for Highly Modified Bioactive Cyclic Dipeptides. *Chem. Biol.* **2013**, *20*, 828–838.
- (31) Akeng, T. O.; Read, R. W. Synthesis of Indoles: Tetrahydro pyrazino[1,2-A]indole-1,4-Dione and pyrazino[1,2-A]indole-6,13-Diones from Piperazine-2,5-Diones. *S. Afr. J. Chem.* **2005**, *58*, 93–97.
- (32) Asiri, A. M. New Conjugated Systems Derived from Piperazine-2,5-Dione. *Molecules* **2000**, *5*, 629–636.
- (33) Lichtenstein, N. The Behavior of Peptides When Heated in B-Naphthol. *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, 560–563.
- (34) Indelicato, J. M.; Norvilas, T. T.; Wheeler, W. J. Intramolecular Nucleophilic Attack in 7 α -Aminophenylacetamido-Cephalosporin Esters. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1972**, 1162.
- (35) Roets, E. E.; Vlietinck, A. J.; Janssen, G. a.; Vanderhaeghe, H. Intramolecular Nucleophilic Attack in 6-Epi-Ampicillin. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1973**, 484.
- (36) Nguyen Van, T.; Claes, P.; De Kimpe, N. Synthesis of Hexahydropyrazino[1,2-B]isoquinolines as Simplified Saframycin Analogues. *Synlett.* **2013**, *25*, 69–74.

- (37) Pinho, T. M. V. D.; Soares, M. I. L.; Rocha Gonsalves, A. M. d'A.; Paixao, J. A.; Beja, A. M.; Ramos Silva, M.; da Veiga, L. A.; Costa Pessoa, J. Synthesis of Chiral Pyrrolo [1,2-C] Thiazoles via Intramolecular Dipolar Cycloaddition of Münchnones: An Interesting Rearrangement to Pyrrolo [1,2-C] Thiazines. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4045–4054.
- (38) Pinho e Melo., T. M. V. D.; Gomes, C. S. B.; Rocha Gonsalves, A. M. d'A.; Paixao, J. A.; Beja, A. M.; Ramos Silva, M.; da Veiga, L. A. Cycloaddition Reactions of 3-Aryl-5-Phenyl-5H,7H-thiazolo[3,4-C]oxazol-4-Ium-1-Olates. *Tetrahedron* **2002**, 5093–5102.
- (39) Takata, T.; Kuo, M.; Tamura, Y.; Kabe, Y.; Ando, W. Convenient Synthesis of 1-Aza-3-thiabicyclo[3.1.0]hexanes from L-Cysteine. *Chem. Lett.* **1985**, 939–942.
- (40) Pinho e Melo., T. M. V. D.; Santos, C. I. A.; Rocha Gonsalves, A. M. d'A.; Paixao, J. A.; Beja, A. M.; Ramos Silva, M. Synthesis of Novel Tricyclic Isoindole Derivatives. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 8285–8287.
- (41) Refouvelet, B.; Tronche, P.; Couquelet, J.; Robert, J.-F.; Bonnefoy-claudet, G.; Panouse-Perrin, J. Recherche de Substances À Activité Immunorégulatrice Sur Le Lymphocyte T Humain: Nouveaux Composés Thiadiazabicycliques et Étude Comparative Avec Le Tétramisole. *Eur. J. Med. Chem.* **1987**, *22*, 11–18.
- (42) Grizik, S. I.; Krichevskii, É. S.; Kuleshova, E. F.; Solov'eva, N. P.; Grigor'ev, N. B.; Levina, V. I.; Kerbnikova, I. P.; Shvarts, G. Y.; Granik, V. G. Syntesis and Biological Activity of Derivatives of Thiazolidine-4-Carboxilic Acid and thiazolidino[3,4-A]piperazine-5,8-Dione. *Pharm. Chem. J.* **1993**, *27*, 17–22.
- (43) Gonzáles, A.; Vorob'eva, S. L.; Linares, A. Synthesis and Structural Study of Piperazine-2,5-Diones Derived from (R)-Cysteine. *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, *6*, 1357–1366.
- (44) FAO/WHO. *Residue Evaluation of Certain Veterinary Drugs, Joint Fao/who Expert Committee on Food Additives*; 2011; pp. 1–35.

- (45) Fernández, J.; Esteban, A.; Blanca, M.; Ferrer, A.; Soriano, V. Ion-Pair Reversed-Phase and Low-Molecular-Weight Aqueous Gel Permeation High-Performance Liquid Chromatography Methods for the Determination of Amoxicillin Oligomers. *Chromatographia* **1995**, *41*, 651–656.
- (46) Baures, P. W.; Ojala, W. H.; Costain, W. J.; Ott, M. C.; Pradhan, a; Gleason, W. B.; Mishra, R. K.; Johnson, R. L. Design, Synthesis, and Dopamine Receptor Modulating Activity of Diketopiperazine Peptidomimetics of L-Prolyl-L-Leucylglycinamide. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3594–3600.
- (47) Melo., T. M. V. D. P. e; Lopes, S. M. M.; Gonsalves, A. M. d. R.; Paixão, J. A.; Beja, A. M.; Ramos, M.; Silva". Syntesis of Chiral Thiazolo[3,4-*a*]pyrazine-5,8-Diones. *Heterocycles* **2006**, *68*, 679–686.
- (48) Bertamino, A.; Aquino, C.; Sala, M.; Simone, N. De; Mattia, C. A.; Erra, L.; Musella, S.; Iannelli, P.; Carotenuto, A.; Grieco, P.; Novellino, E.; Campiglia, P.; Gomez-Monterrey, I. Design and Synthesis of Spirotryprostatin-Inspired Diketopiperazine Systems from Prolyl Spirooxindolethiazolidine Derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 4328–4337.
- (49) Farrer, F. Antibiotic Prescriptions. *SA Pharm. J.* **2010**, 17–24.
- (50) Yan, L.; Zhao, D.; Lan, J.; Cheng, Y.; Guo, Q.; Li, X.; Wu, N.; You, J. Palladium-Catalyzed Tandem N-H/C-H Arylation: Regioselective Synthesis of N-Heterocycle-Fused Phenanthridines as Versatile Blue-Emitting Luminophores. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 7966–7977.
- (51) Gawley, R. E. Do the Terms “% Ee” and “% de” Make Sense as Expressions of Stereoisomer Composition or Stereoselectivity? *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2411–2416.
- (52) Soloway, H.; Kinpis, F.; Ornfelt, J.; Spoerri, P. E. 2-Substituted-Thiazolidine-4-Carboxylic Acids. *E. I. du Pont Memories Co.* **1948**, *1223*, 1939–1940.

- (53) Saiz, C.; Wipf, P.; Manta, E.; Mahler, G. Reversible Thiazolidine Exchange: A New Reaction Suitable for Dynamic Combinatorial Chemistry. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 3170–3173.
- (54) Szilágyi, L.; Györgydeák, Z. Comments on the Putative Stereoselectivity in Cysteine-Aldehyde Reactions. Selective C(2) Inversion and C(4) Epimerization in Thiazolidine-4-Carboxylic Acids. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 427–432.
- (55) Skvortsov, a. N.; Uvarov, V. M.; Vekki, D. a.; Studentsov, E. P.; Skvortsov, N. K. Conformational Analysis, Spectral and Catalytic Properties of 1,3-Thiazolidines, Ligands for Acetophenone Hydrosilylation with Diphenylsilane. *Russ. J. Gen. Chem.* **2010**, *80*, 2007–2021.

BIBLIOGRAFIA

Bertamino, A.; Aquino, C.; Sala, M.; Simone, N. De; Mattia, C. A.; Erra, L.; Musella, S.; Iannelli, P.; Carotenuto, A.; Grieco, P.; Novellino, E.; Campiglia, P.; Gomez-Monterrey, I. Design and Synthesis of Spirotryprostatin-Inspired Diketopiperazine Systems from Prolyl Spirooxindolethiazolidine Derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 4328–4337.

Davies, J.; Davies, D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2010**, *74*, 417–433.

Eicher, T.; Hauptmann, S. *The Chemistry of Heterocycles*; second ed.; Weinheim, Germany, 2003.

Gawley, R. E. Do the Terms “% Ee” and “% de” Make Sense as Expressions of Stereoisomer Composition or Stereoselectivity? *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2411–2416.

González, A.; Vorob'eva, S. L.; Linares, A. Synthesis and Structural Study of Piperazine-2,5-Diones Derived from (R)-Cysteine. *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, *6*, 1357–1366.

Gududuru, V.; Hurh, E.; Sullivan, J.; Dalton, J. T.; Miller, D. D. SAR Studies of 2-Arylthiazolidine-4-Carboxylic Acid Amides: A Novel Class of Cytotoxic Agents for Prostate Cancer. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 4010–4013.

Jain, A. K.; Vaidya, A.; Ravichandran, V.; Kashaw, S. K.; Agrawal, R. K. Recent Developments and Biological Activities of Thiazolidinone Derivatives: A Review. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 3378–3395.

Melo, T. M. V. D. P. e; Lopes, S. M. M.; Gonsalves, A. M. d. R.; Paixão, J. A.; Beja, A. M.; Ramos, M.; Silva". Synthesis of Chiral Thiazolo[3,4-*a*]pyrazine-5,8-Diones. *Heterocycles* **2006**, *68*, 679–686.

Refouvelet, B.; Tronche, P.; Couquelet, J.; Robert, J.-F.; Bonnefoy-claudet, G.; Panouse-Perrin, J. Recherche de Substances À Activité Immunorégulatrice Sur Le

Lymphocyte T Humain: Nouveaux Composés Thiadiazabicycliques et Étude Comparative Avec Le Tétramisole. *Eur. J. Med. Chem.* **1987**, *22*, 11–18.

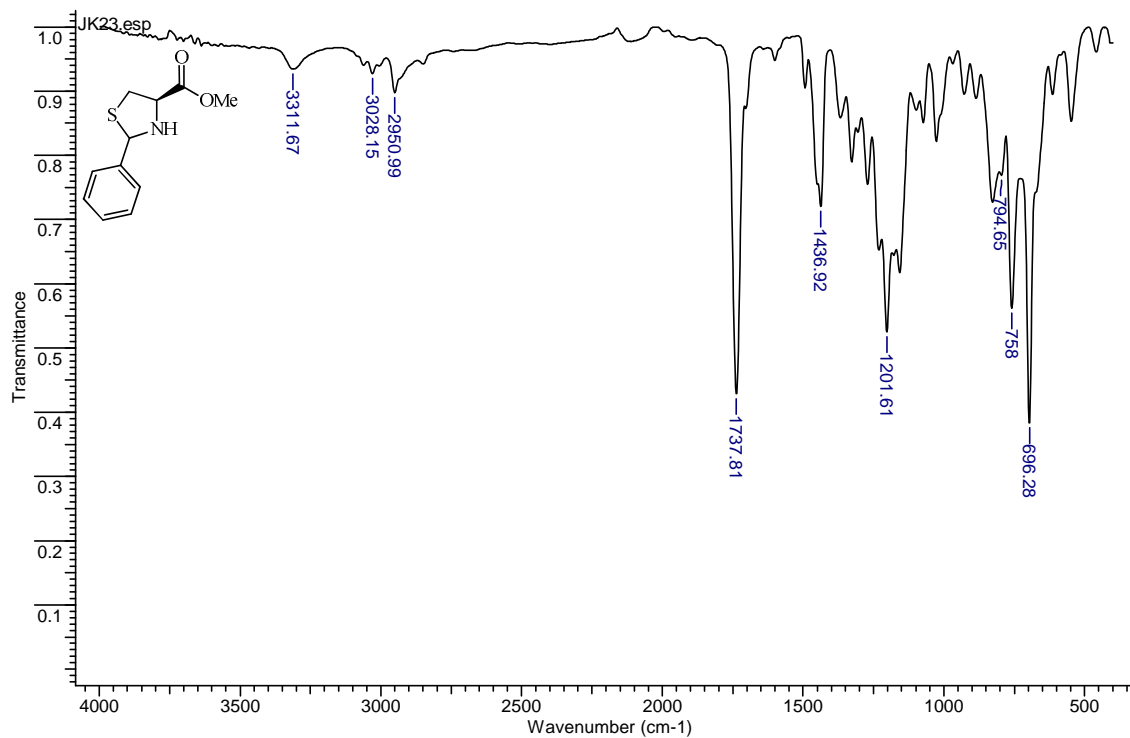
Richardson, P. M.; Herz, W.; Grisebach, H.; Kirby, G. W. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*; Viena, 1975; Vol. 32, pp. 51–107.

Skvortsov, a. N.; Uvarov, V. M.; Vekki, D. a.; Studentsov, E. P.; Skvortsov, N. K. Conformational Analysis, Spectral and Catalytic Properties of 1,3-Thiazolidines, Ligands for Acetophenone Hydrosilylation with Diphenylsilane. *Russ. J. Gen. Chem.* **2010**, *80*, 2007–2021.

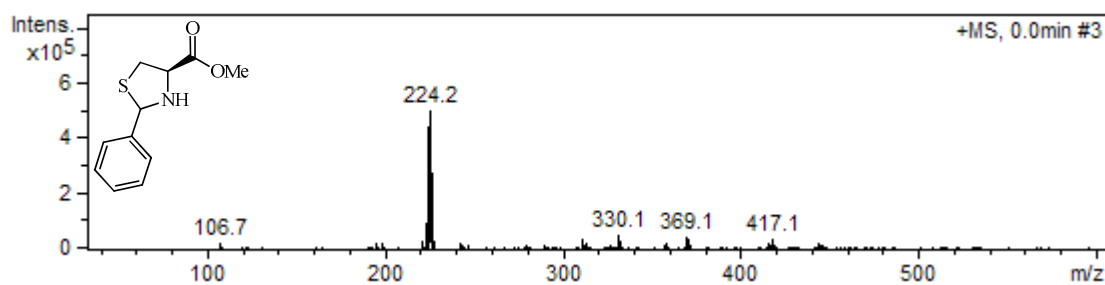
Anexos (Espectros IR, MS-ESI, RMN ^1H , RMN ^{13}C , ^1H , ^1H -COSY, HSQC y HMBC)

Anexo A. Espectros IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C , ^1H - ^1H COSY y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (2RS,4R)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**).

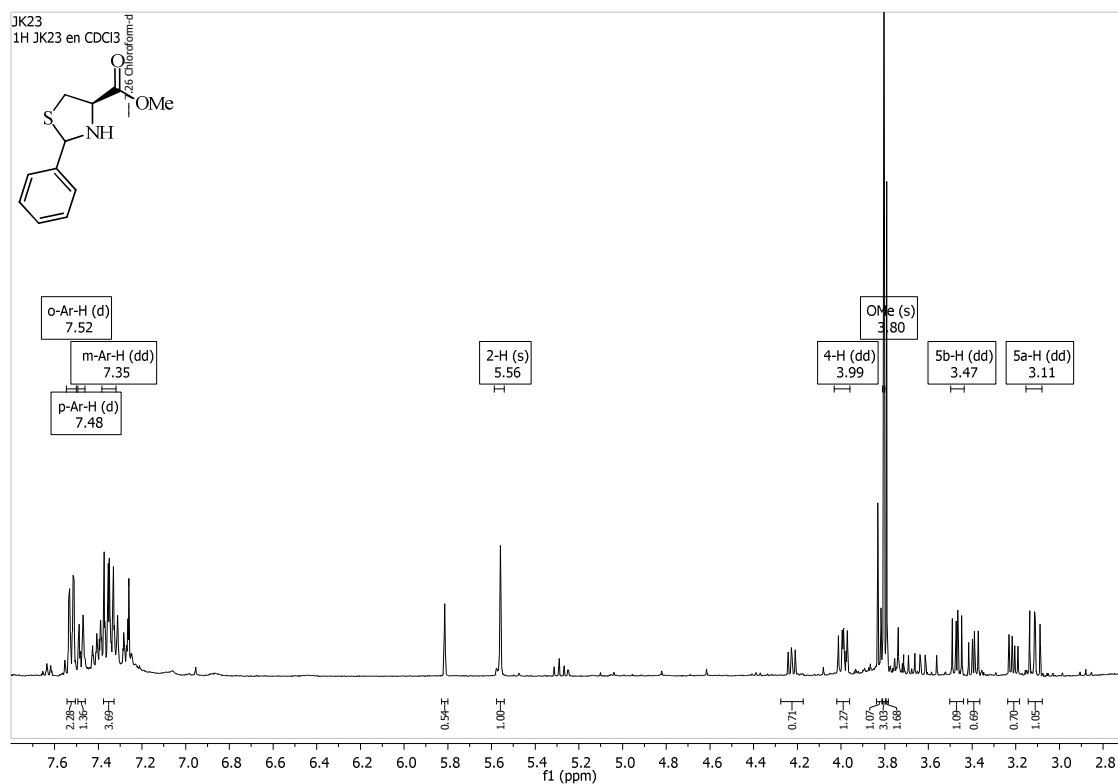
- Espectro infrarrojo del (2RS,4R)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**).



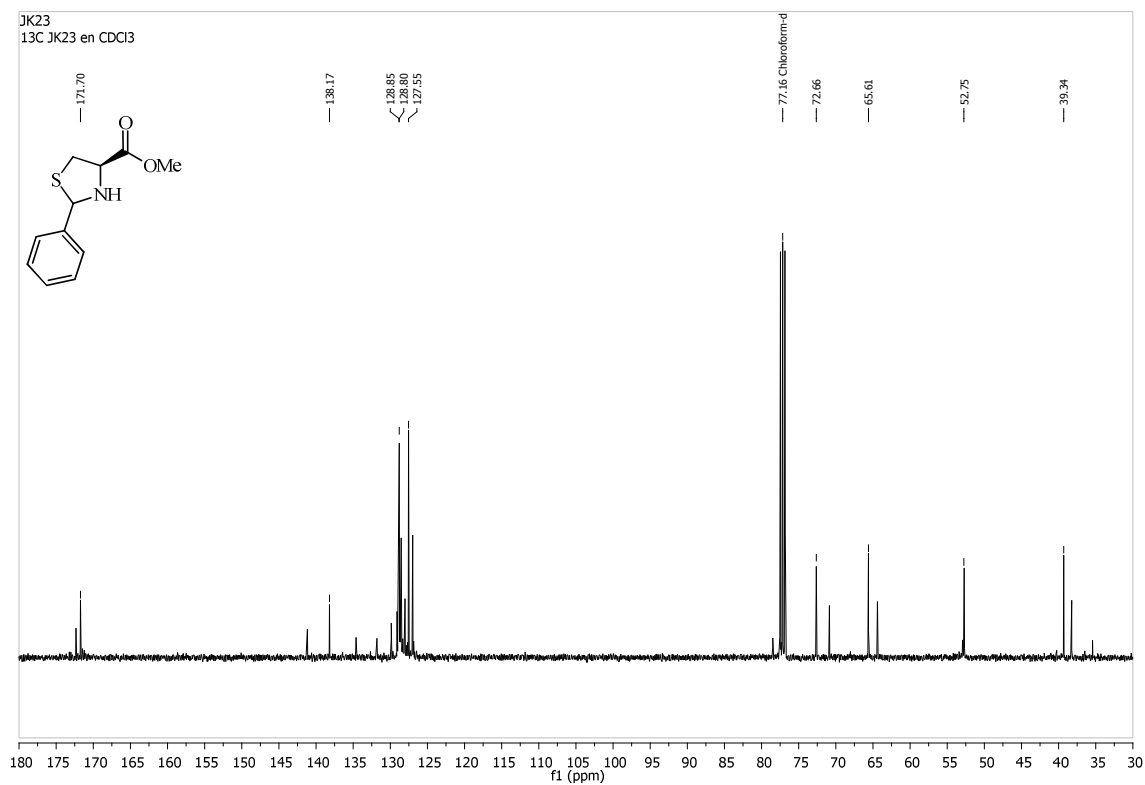
- Espectro ESI-MS del (2RS,4R)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**).



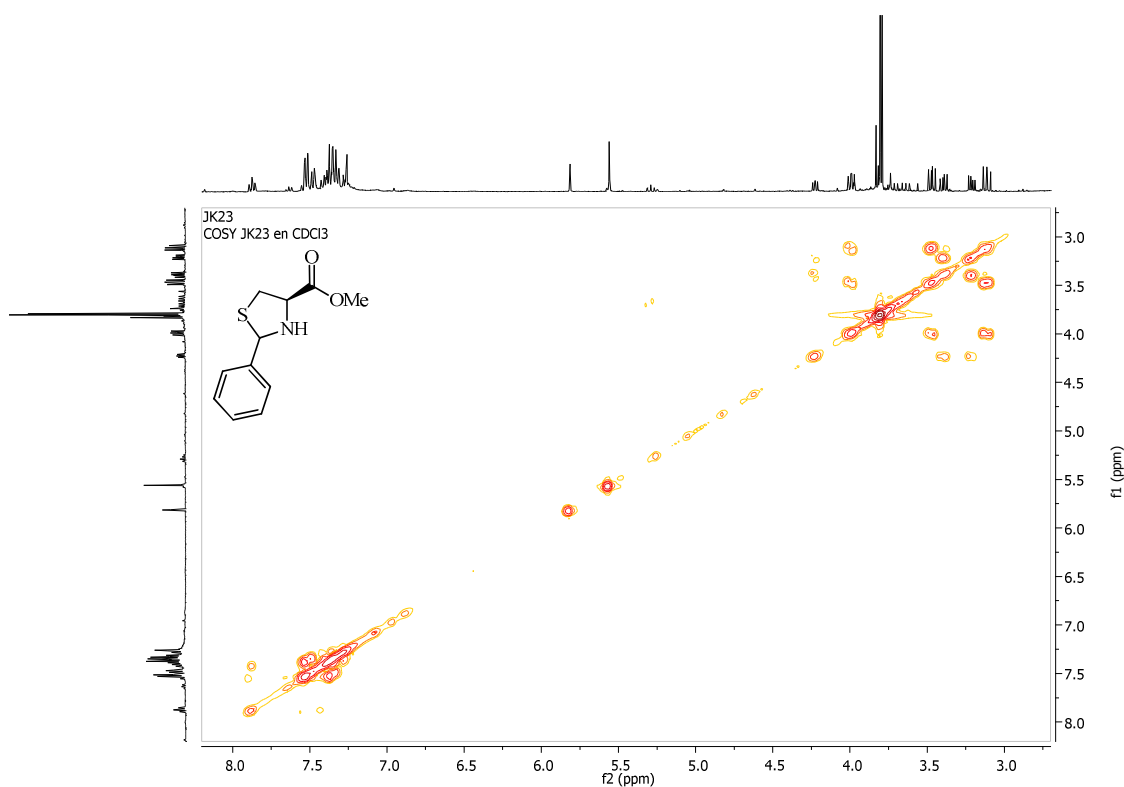
- Espectro de ^1H -RMN del (2*RS*,4*R*)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (2*RS*,4*R*)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**).



- Espectro ^1H , ^1H -COSY del (2RS,4R)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**).



- Datos ensayo en *Escherichia coli* del (2RS,4R)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**).

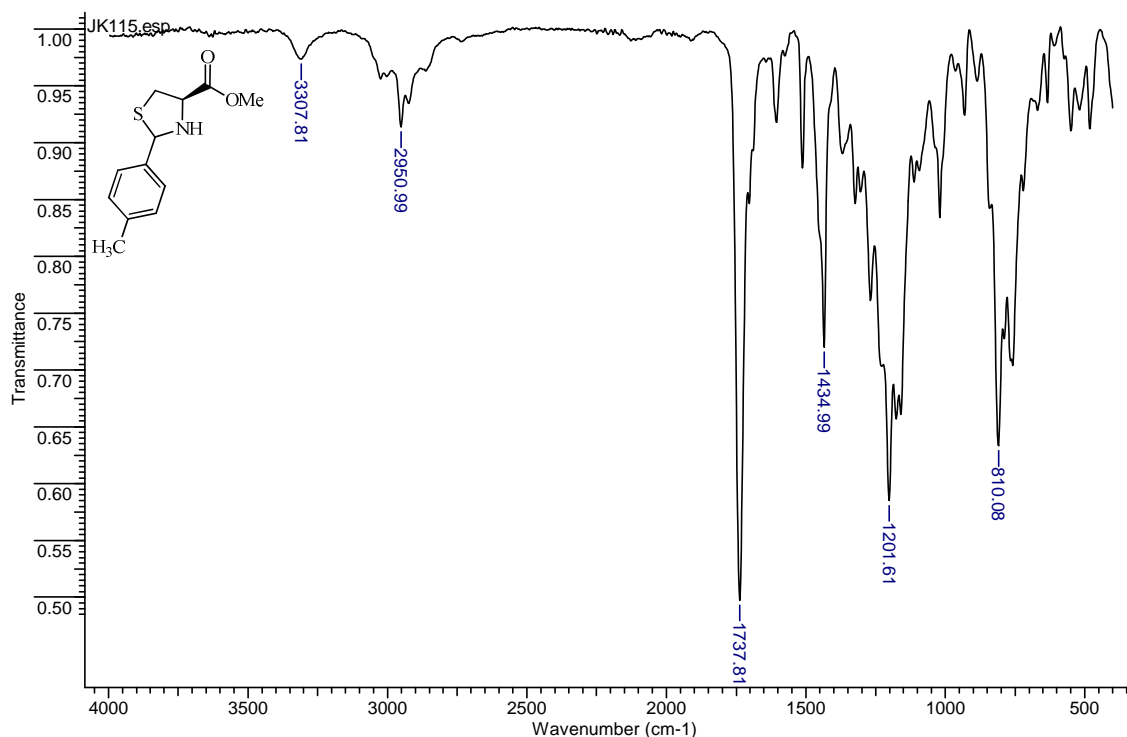
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.097	0.112	0.107	0.109	0.109	0.107
1	0.14	0.112	0.121	0.116	0.124	0.132	0.131
2	0.273	0.185	0.205	0.241	0.198	0.252	0.195
3	0.589	0.281	0.351	0.405	0.381	0.428	0.357
4	0.734	0.469	0.543	0.554	0.587	0.623	0.504
5	0.799	0.571	0.662	0.674	0.697	0.703	0.652
6	0.876	0.633	0.728	0.726	0.76	0.757	0.685
7	0.95	0.673	0.731	0.763	0.801	0.801	0.795
8	0.953	0.691	0.736	0.798	0.814	0.825	0.861

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (SARM) del (2R,4R)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1a**).

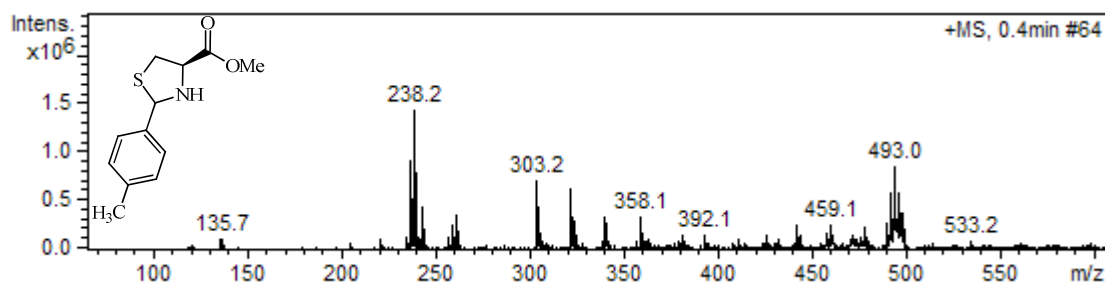
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.089	0.083	0.08	0.087	0.083	0.085
1	0.117	0.115	0.111	0.111	0.115	0.117	0.104
2	0.207	0.191	0.183	0.182	0.203	0.204	0.201
3	0.296	0.229	0.231	0.241	0.289	0.292	0.256
4	0.411	0.387	0.363	0.378	0.407	0.405	0.422
5	0.748	0.583	0.571	0.617	0.687	0.646	0.633
6	0.832	0.717	0.643	0.736	0.761	0.734	0.733
7	0.908	0.753	0.751	0.788	0.814	0.796	0.798
8	0.907	0.767	0.773	0.795	0.821	0.823	0.828

Anexo B. Espectros IR, RMN ¹H, RMN ¹³C y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (2R,4R)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1b**)

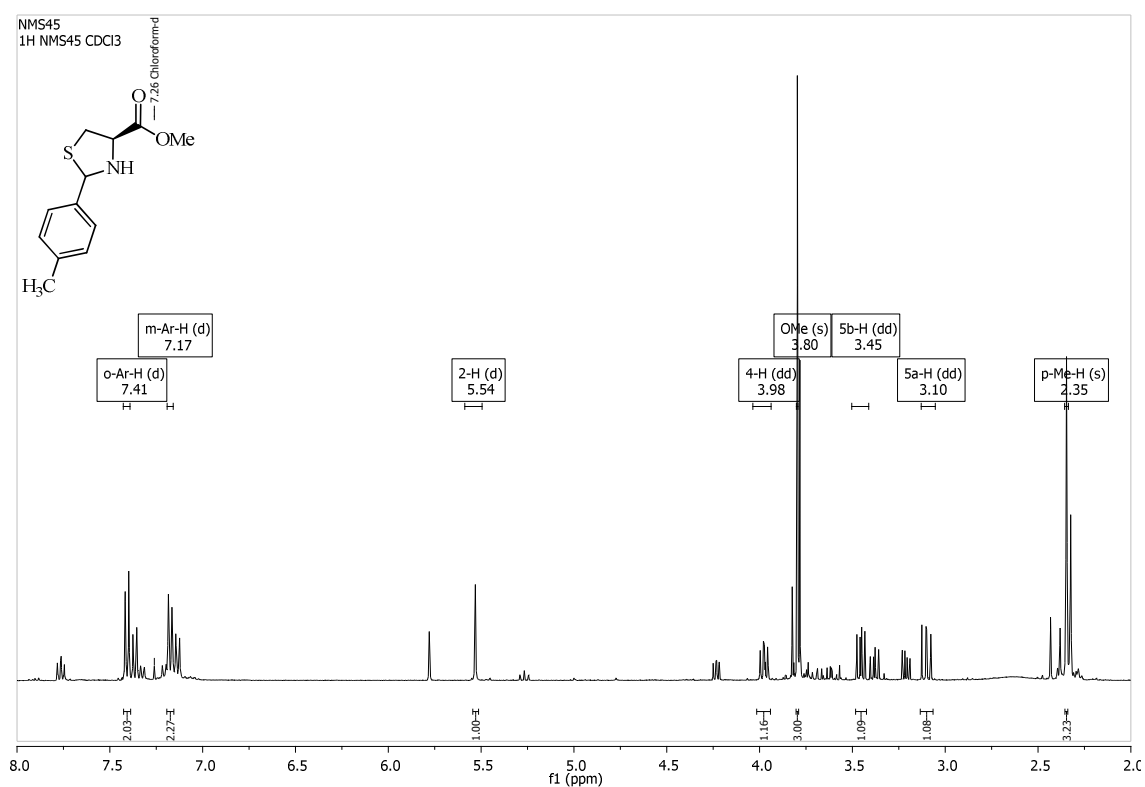
- Espectro infrarrojo del (2R,4R)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1b**).



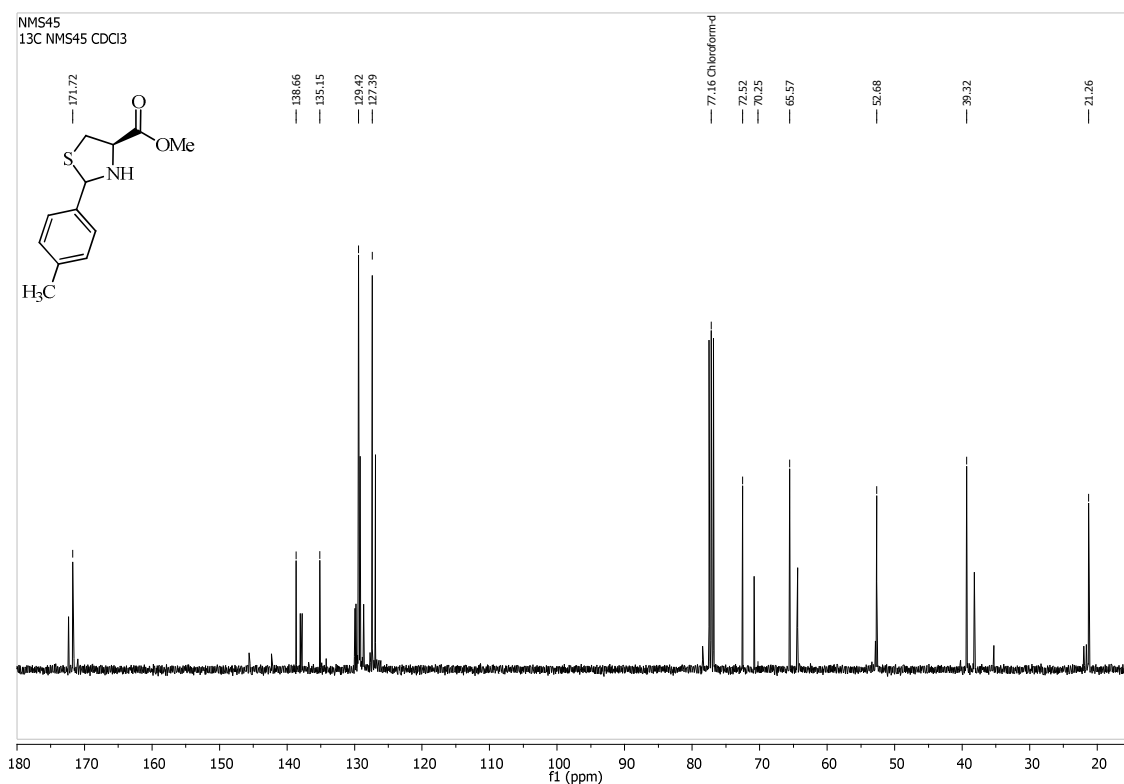
- Espectro ESI-MS del (2R,4R)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1b**).



- Espectro de ¹H-RMN del (2RS,4R)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1b**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (2R,4R)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1b**).



- Datos ensayo en *Escherichea coli* del (2R,4R)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1b**).

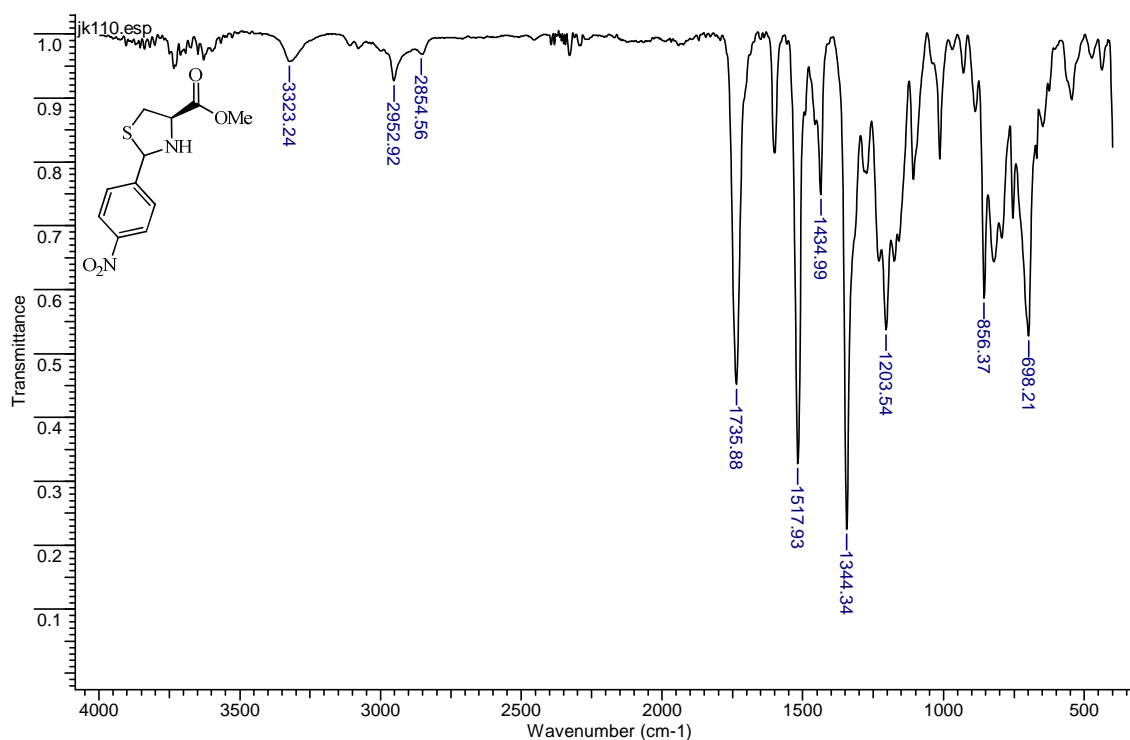
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.097	0.113	0.109	0.109	0.113	0.113
1	0.14	0.112	0.121	0.122	0.123	0.126	0.139
2	0.273	0.185	0.201	0.205	0.208	0.216	0.231
3	0.589	0.281	0.303	0.325	0.348	0.369	0.388
4	0.734	0.469	0.486	0.509	0.517	0.542	0.557
5	0.799	0.571	0.594	0.604	0.627	0.639	0.661
6	0.876	0.633	0.655	0.673	0.697	0.708	0.737
7	0.95	0.673	0.682	0.701	0.721	0.748	0.761
8	0.953	0.691	0.704	0.724	0.744	0.759	0.793

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (SARM) del (2R*S*,4R)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1b**).

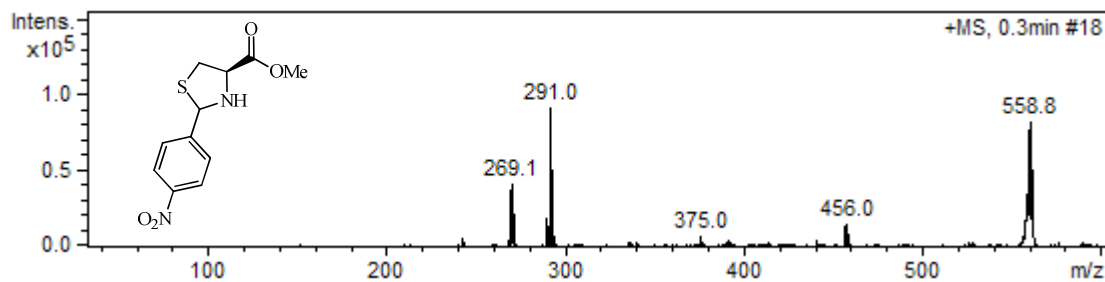
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.083	0.081	0.081	0.083	0.084	0.084
1	0.117	0.111	0.112	0.112	0.114	0.113	0.115
2	0.207	0.183	0.185	0.194	0.202	0.203	0.204
3	0.296	0.231	0.251	0.256	0.275	0.283	0.291
4	0.411	0.363	0.376	0.387	0.401	0.406	0.407
5	0.748	0.571	0.583	0.595	0.607	0.615	0.626
6	0.832	0.643	0.671	0.687	0.694	0.706	0.724
7	0.908	0.751	0.762	0.768	0.774	0.785	0.796
8	0.907	0.773	0.787	0.791	0.799	0.802	0.829

Anexo C. Espectros IR, RMN ¹H, RMN ¹³C y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (2R*S*,4R)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1c**).

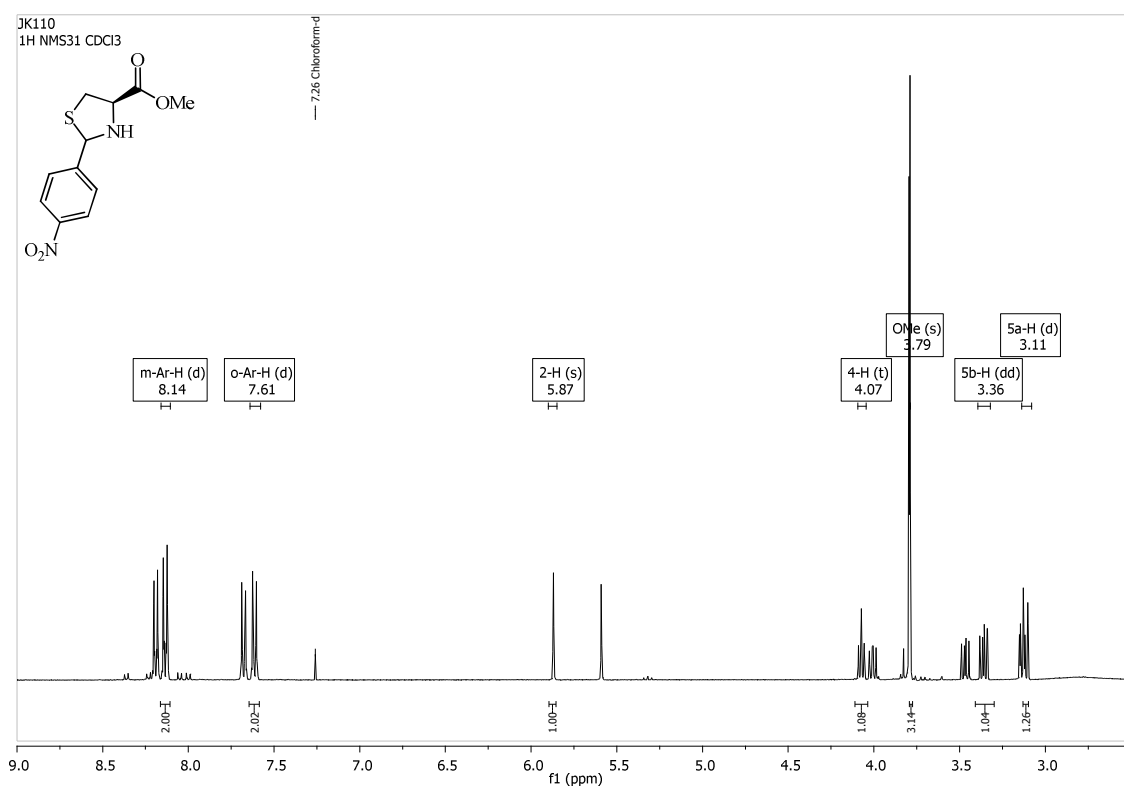
- Espectro infrarrojo del (2R*S*,4R)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1c**).



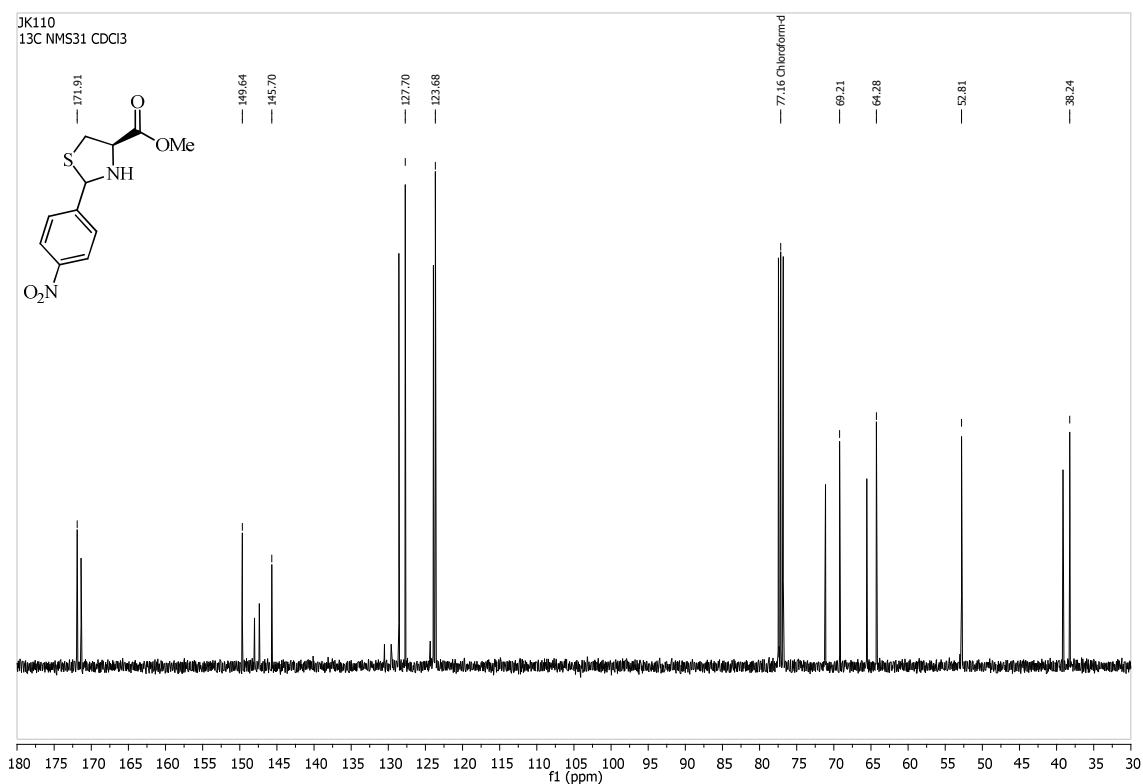
- Espectro ESI-MS del (2*RS*,4*R*)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1c**).



- Espectro de ¹H-RMN del (2*RS*,4*R*)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1c**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (2RS,4R)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1c**).



- Datos ensayo en *Escherichia coli* del (2RS,4R)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1c**).

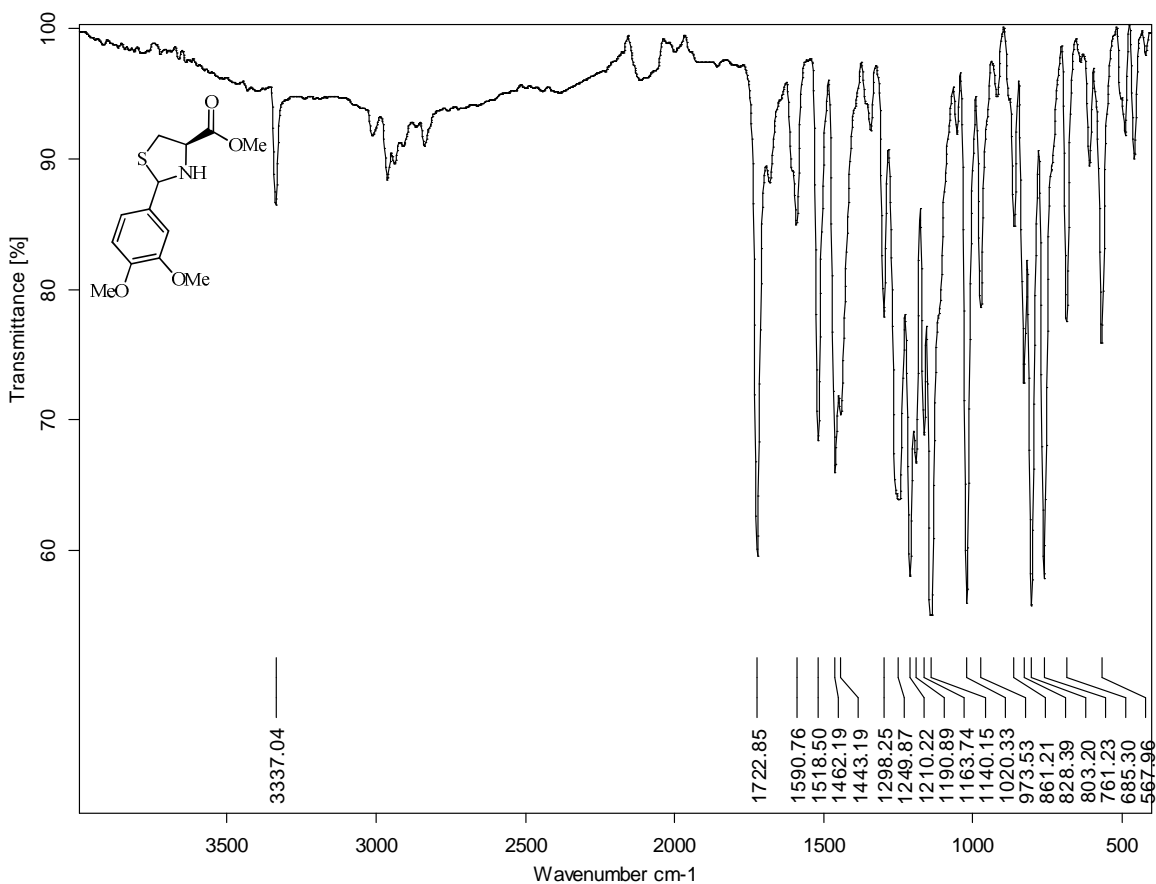
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.098	0.113	0.109	0.111	0.113	0.115
1	0.14	0.115	0.124	0.126	0.123	0.126	0.139
2	0.273	0.195	0.201	0.205	0.209	0.216	0.231
3	0.589	0.276	0.293	0.304	0.338	0.359	0.378
4	0.734	0.459	0.476	0.488	0.519	0.532	0.547
5	0.799	0.576	0.584	0.599	0.617	0.629	0.651
6	0.876	0.635	0.645	0.663	0.698	0.718	0.737
7	0.95	0.673	0.682	0.699	0.711	0.738	0.751
8	0.953	0.694	0.701	0.705	0.734	0.759	0.789

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (SARM) del (2RS,4R)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1c**).

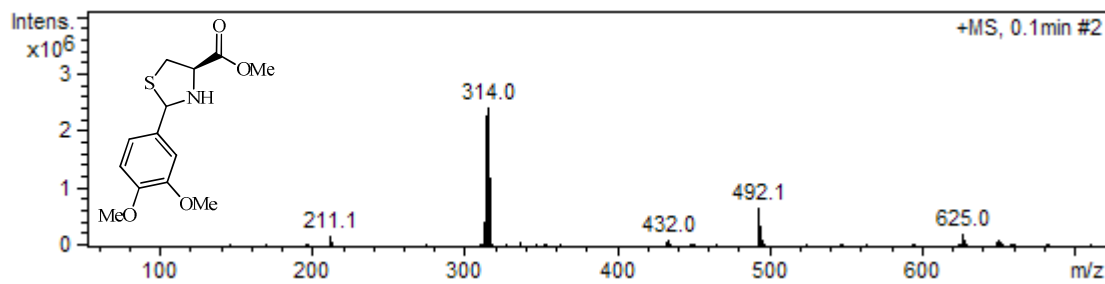
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.083	0.081	0.08	0.084	0.085	0.085
1	0.117	0.111	0.111	0.113	0.114	0.114	0.115
2	0.207	0.193	0.195	0.193	0.199	0.2	0.205
3	0.296	0.238	0.241	0.246	0.265	0.283	0.291
4	0.411	0.353	0.376	0.387	0.391	0.399	0.417
5	0.748	0.551	0.573	0.585	0.601	0.608	0.616
6	0.832	0.629	0.651	0.681	0.688	0.706	0.724
7	0.908	0.662	0.709	0.738	0.754	0.775	0.796
8	0.907	0.703	0.717	0.741	0.762	0.779	0.799

Anexo D. Espectros IR, RMN ¹H, RMN ¹³C y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (2RS,4R)- 2-(3,4-dimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1d**).

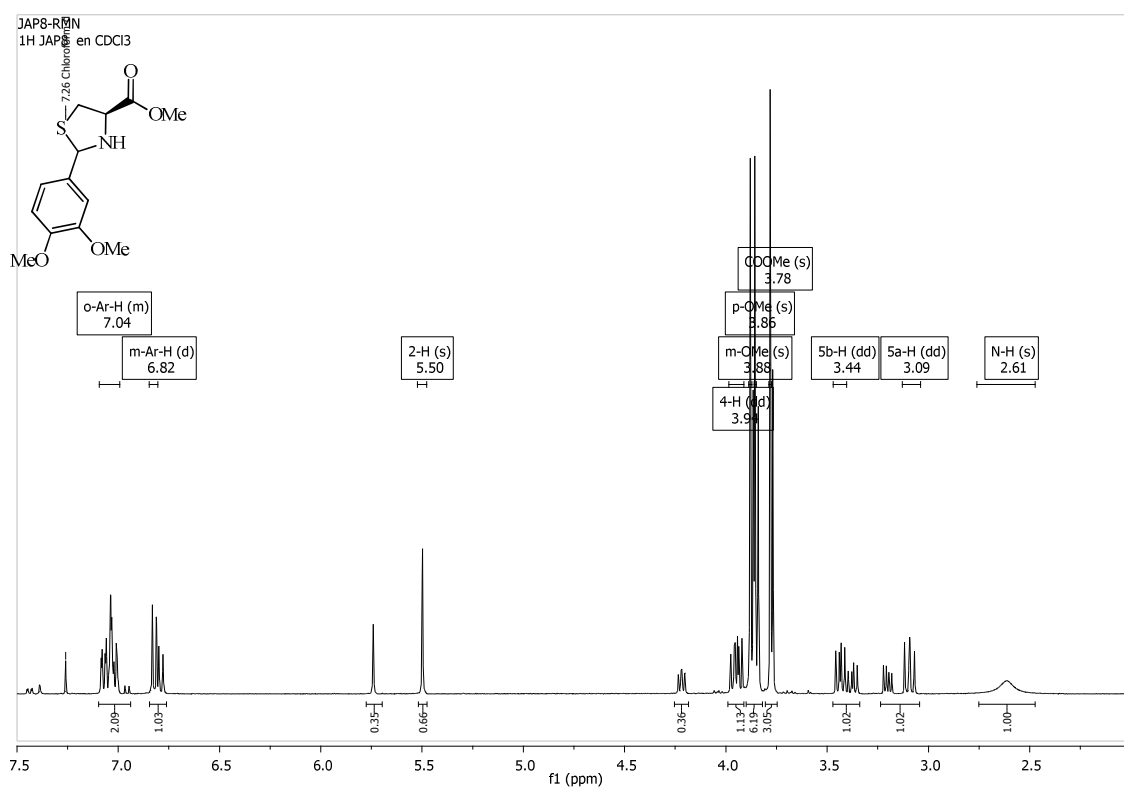
- Espectro infrarrojo del (2RS,4R)- 2-(3,4-dimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1d**).



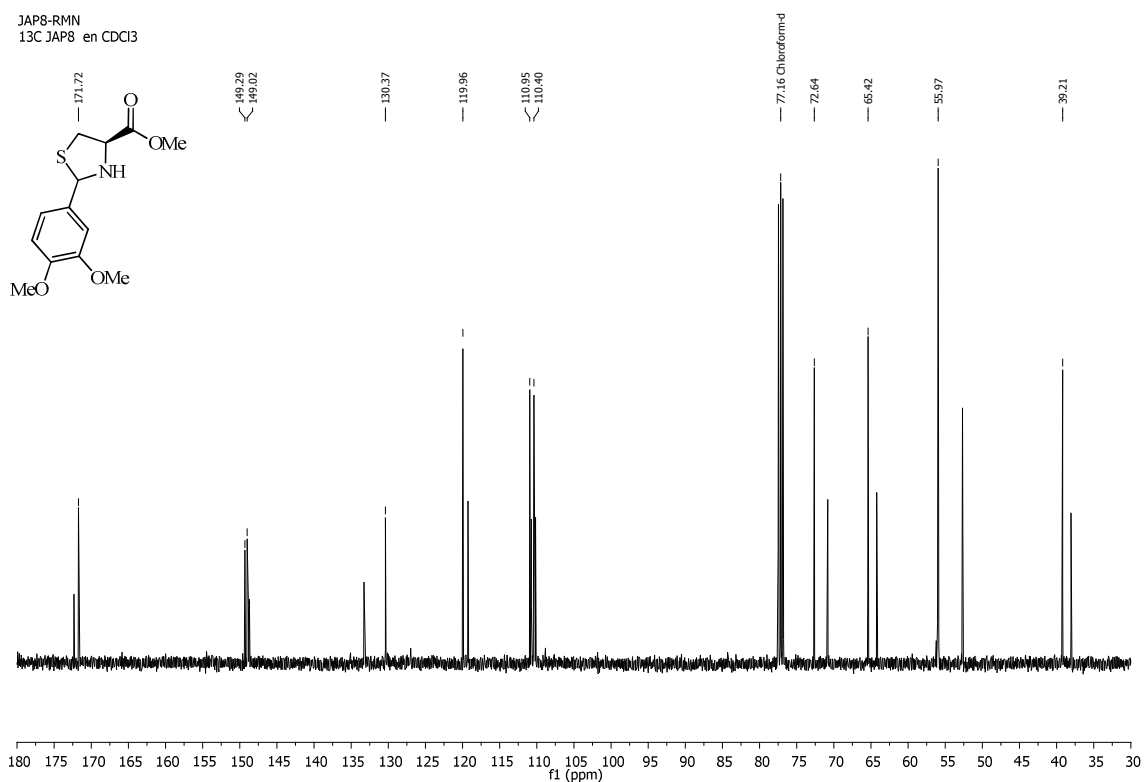
- Espectro ESI-MS del (2RS,4R)- 2-(3,4-dimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1d**).



- Espectro de ¹H-RMN del (2RS,4R)- 2-(3,4-dimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1d**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (2RS,4R)- 2-(3,4-dimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1d**).



- Datos ensayo en *Escherichia coli* del (2RS,4R)- 2-(3,4-dimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1d**)

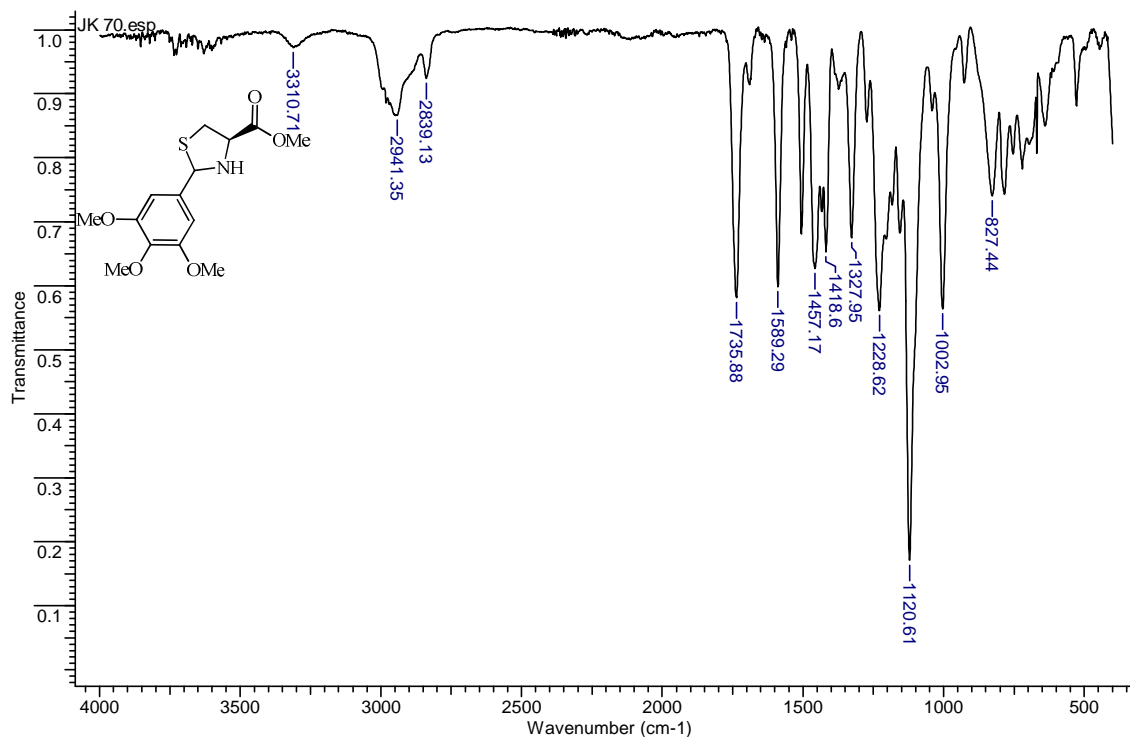
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.109	0.098	0.11	0.108	0.106	0.108
1	0.14	0.117	0.113	0.122	0.113	0.122	0.131
2	0.273	0.185	0.184	0.211	0.211	0.215	0.195
3	0.589	0.271	0.311	0.383	0.355	0.378	0.397
4	0.734	0.329	0.492	0.533	0.524	0.557	0.594
5	0.799	0.493	0.581	0.642	0.654	0.677	0.702
6	0.876	0.568	0.641	0.708	0.726	0.751	0.785
7	0.95	0.596	0.657	0.721	0.739	0.771	0.803
8	0.953	0.601	0.683	0.731	0.738	0.774	0.821

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (2RS,4R)- 2-(3,4-dimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1d**)

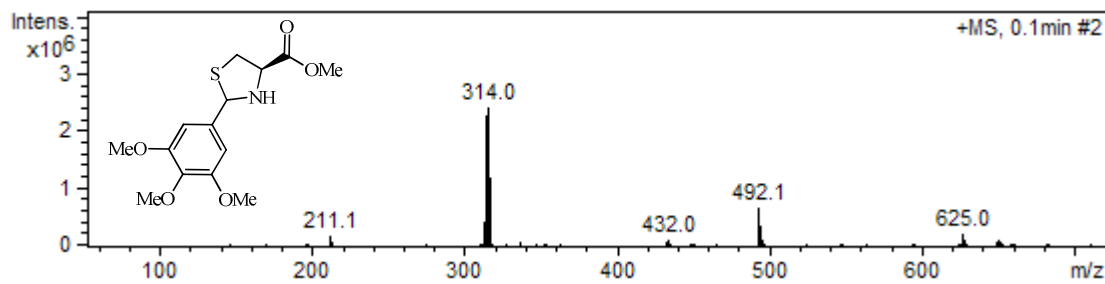
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.079	0.08	0.079	0.085	0.08	0.084
1	0.117	0.102	0.113	0.115	0.114	0.115	0.115
2	0.207	0.173	0.191	0.181	0.199	0.196	0.204
3	0.296	0.213	0.245	0.219	0.253	0.241	0.291
4	0.411	0.377	0.401	0.397	0.407	0.401	0.407
5	0.748	0.611	0.597	0.603	0.608	0.627	0.626
6	0.832	0.714	0.703	0.727	0.746	0.716	0.724
7	0.908	0.742	0.754	0.773	0.785	0.788	0.796
8	0.907	0.774	0.777	0.797	0.801	0.811	0.829

Anexo E. Espectros IR, RMN ¹H, RMN ¹³C y y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (2RS,4R)- 2-(3,4,5-trimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1e**).

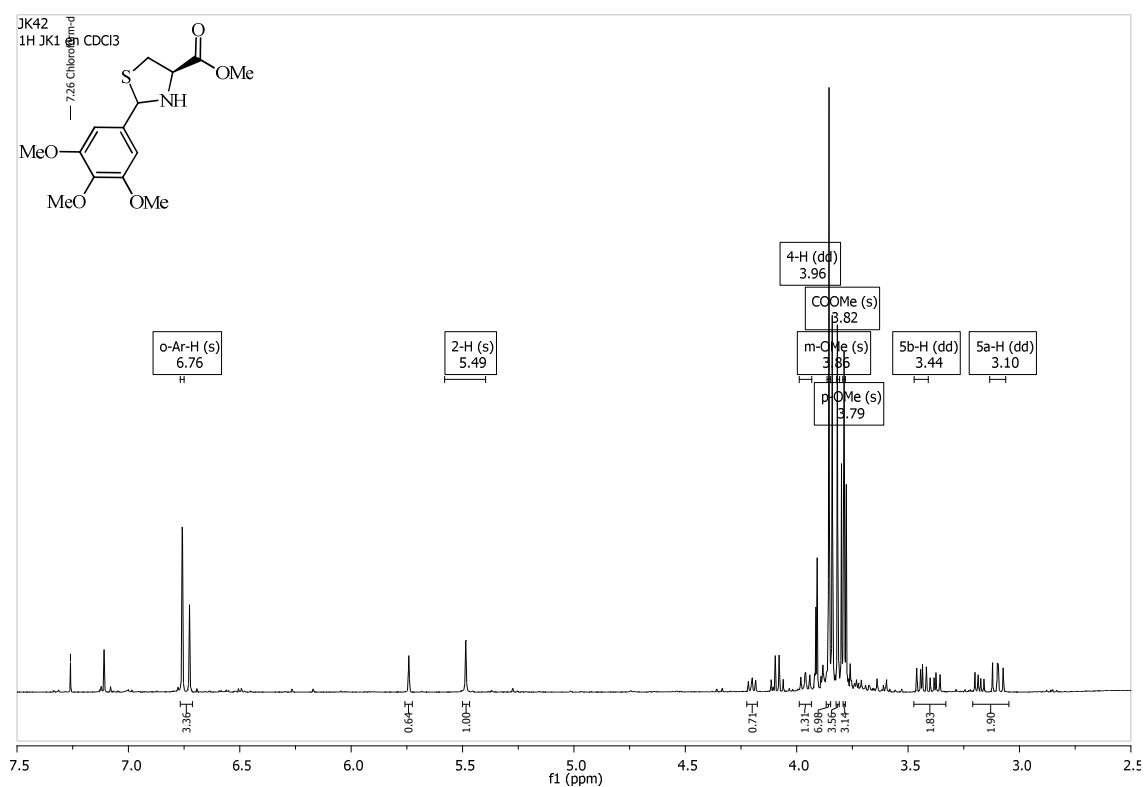
- Espectro infrarrojo del (2RS,4R)- 2-(3,4,5-trimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1e**).



- Espectro ESI-MS del (2RS,4R)- 2-(3,4,5-trimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1e**).



- Espectro de ^1H -RMN del (2RS,4R)- 2-(3,4,5-trimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1e**).

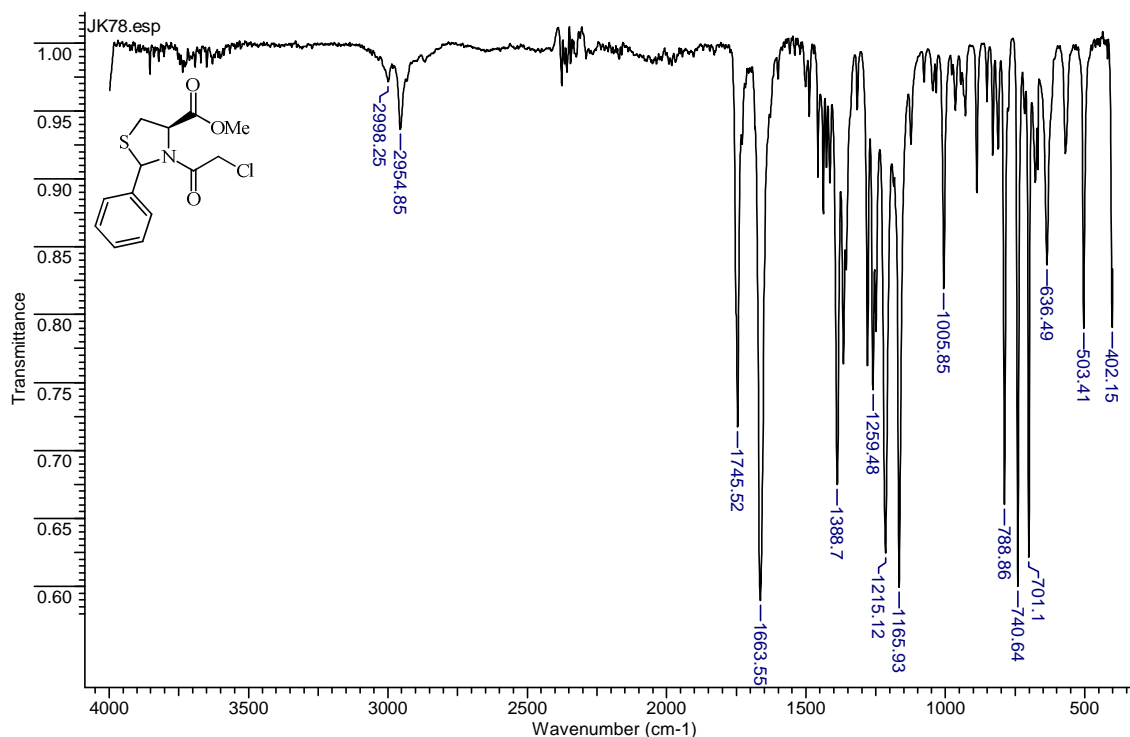


- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (2RS,4R)- 2-(3,4,5-trimetoxifenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**1e**).

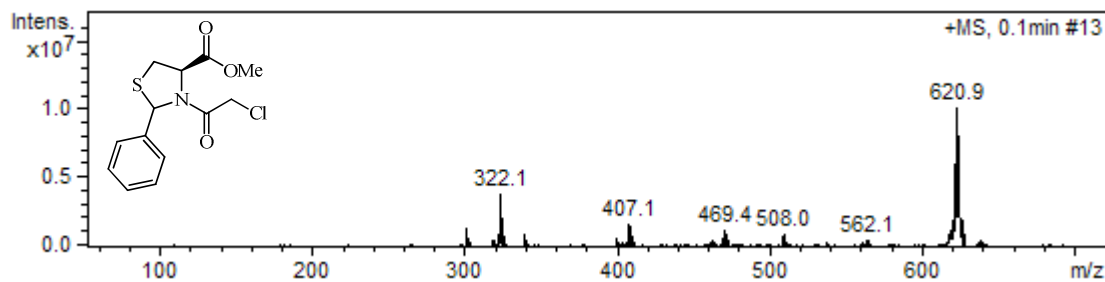
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.083	0.082	0.08	0.083	0.085	0.088
1	0.117	0.111	0.113	0.111	0.111	0.114	0.114
2	0.207	0.193	0.196	0.183	0.204	0.191	0.203
3	0.296	0.238	0.241	0.241	0.27	0.246	0.279
4	0.411	0.353	0.401	0.372	0.403	0.412	0.417
5	0.748	0.551	0.595	0.583	0.681	0.613	0.677
6	0.832	0.629	0.712	0.681	0.784	0.733	0.751
7	0.908	0.662	0.768	0.754	0.801	0.784	0.824
8	0.907	0.703	0.781	0.787	0.806	0.808	0.841

Anexo F. Espectros IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (2RS,4R)-3-(3-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**).

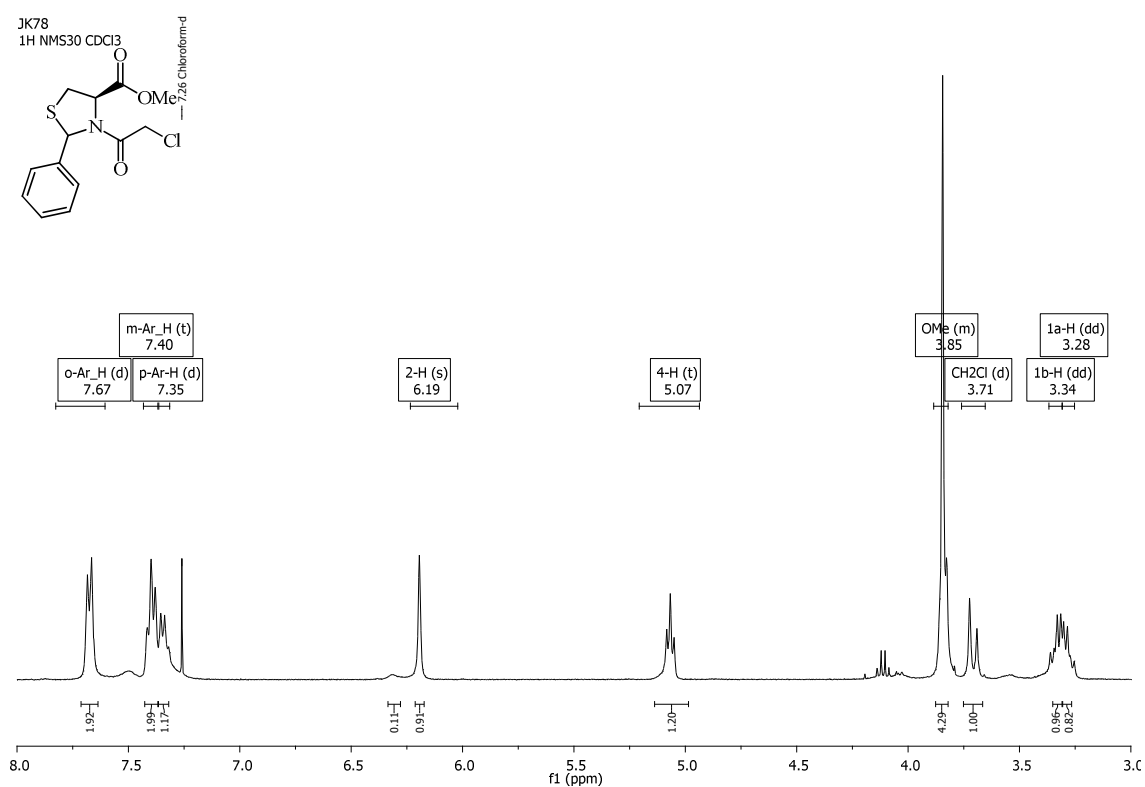
- Espectro infrarrojo del (2RS,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**).



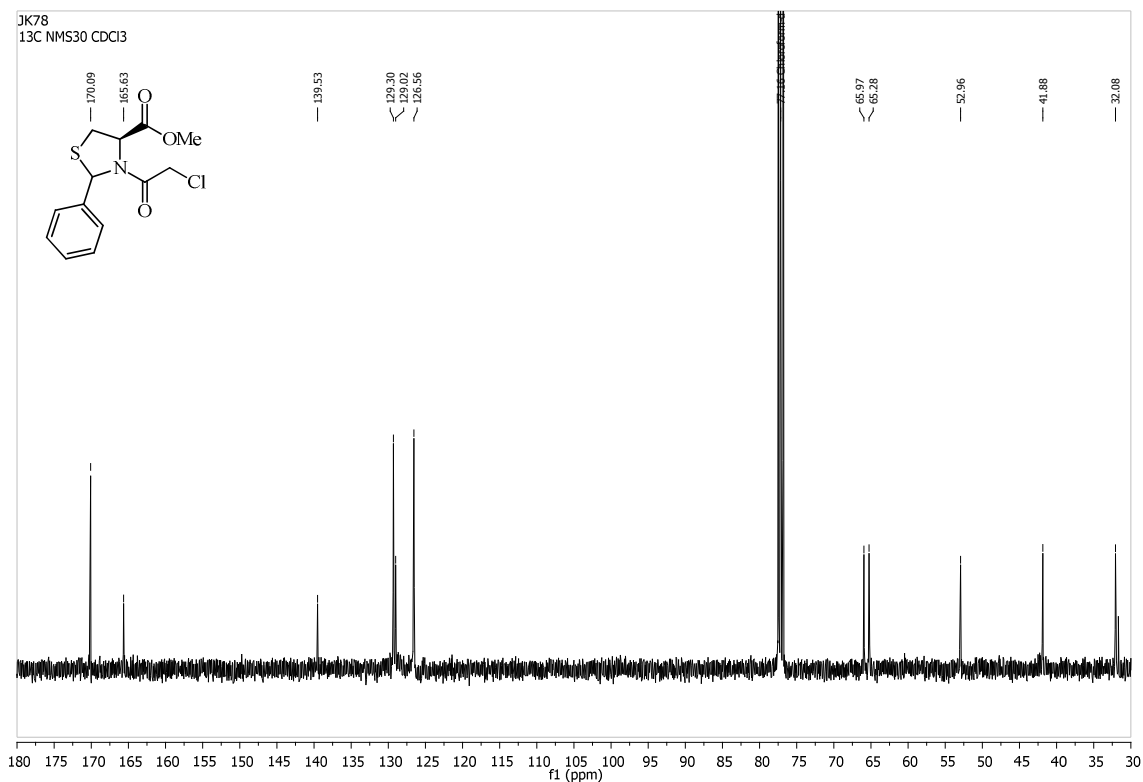
- Espectro ESI-MS del (2RS,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**).



- Espectro de ¹H-RMN del (2RS,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (2*RS*,4*R*)-3-(2-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**).



- Datos ensayo en *Escherichia coli* del (2*RS*,4*R*)-3-(2-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**).

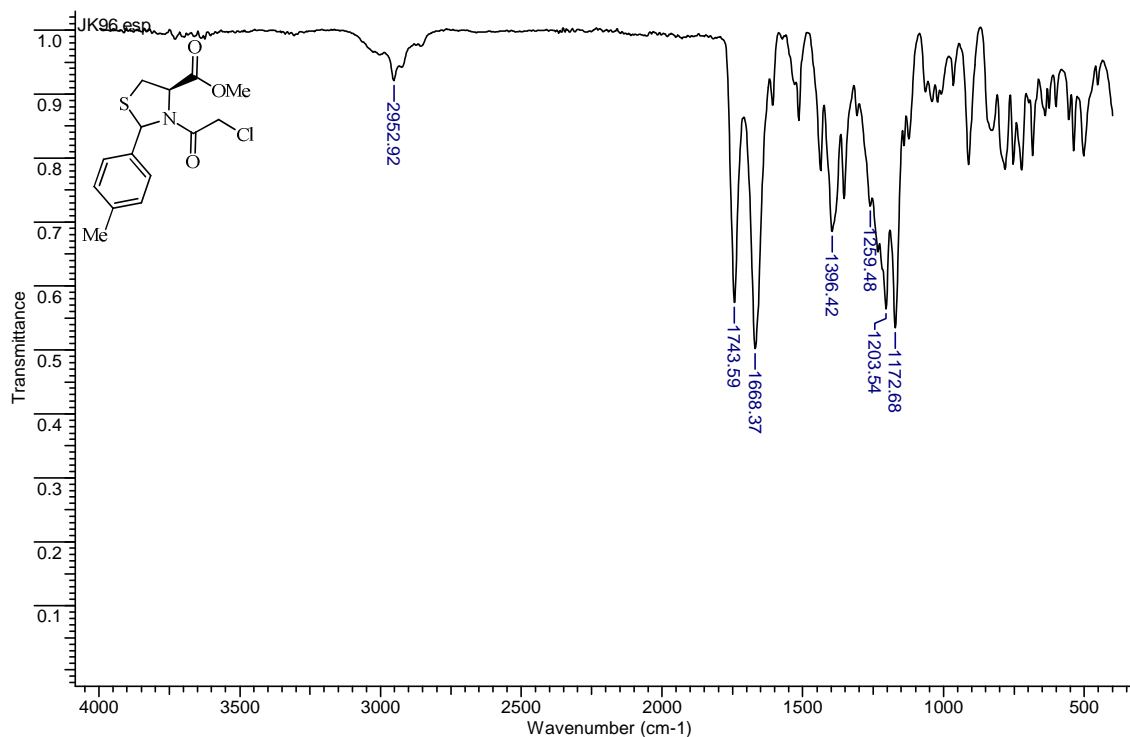
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.111	0.11	0.107	0.108	0.108	0.108
1	0.14	0.16	0.123	0.135	0.134	0.141	0.137
2	0.273	0.191	0.195	0.193	0.194	0.195	0.205
3	0.589	0.372	0.385	0.387	0.381	0.387	0.391
4	0.734	0.583	0.584	0.585	0.592	0.604	0.629
5	0.799	0.684	0.693	0.704	0.721	0.722	0.733
6	0.876	0.739	0.734	0.746	0.77	0.785	0.788
7	0.95	0.792	0.794	0.798	0.801	0.805	0.816
8	0.953	0.817	0.836	0.834	0.844	0.851	0.871

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (2R,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-fenil-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2a**).

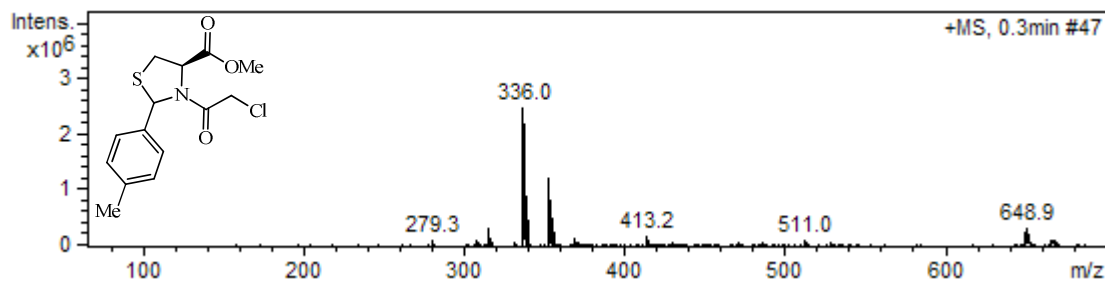
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.079	0.079	0.08	0.086	0.086	0.082
1	0.117	0.102	0.105	0.113	0.117	0.11	0.111
2	0.207	0.173	0.181	0.192	0.2	0.193	0.194
3	0.296	0.213	0.253	0.279	0.3	0.299	0.27
4	0.411	0.377	0.387	0.378	0.419	0.387	0.403
5	0.748	0.611	0.642	0.617	0.641	0.667	0.691
6	0.832	0.714	0.737	0.746	0.743	0.761	0.794
7	0.908	0.742	0.791	0.798	0.781	0.784	0.821
8	0.907	0.774	0.797	0.801	0.799	0.804	0.836

Anexo G. Espectros IR, RMN ¹H, RMN ¹³C y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (2R,4R)-3-(3-cloroacetil)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2b**).

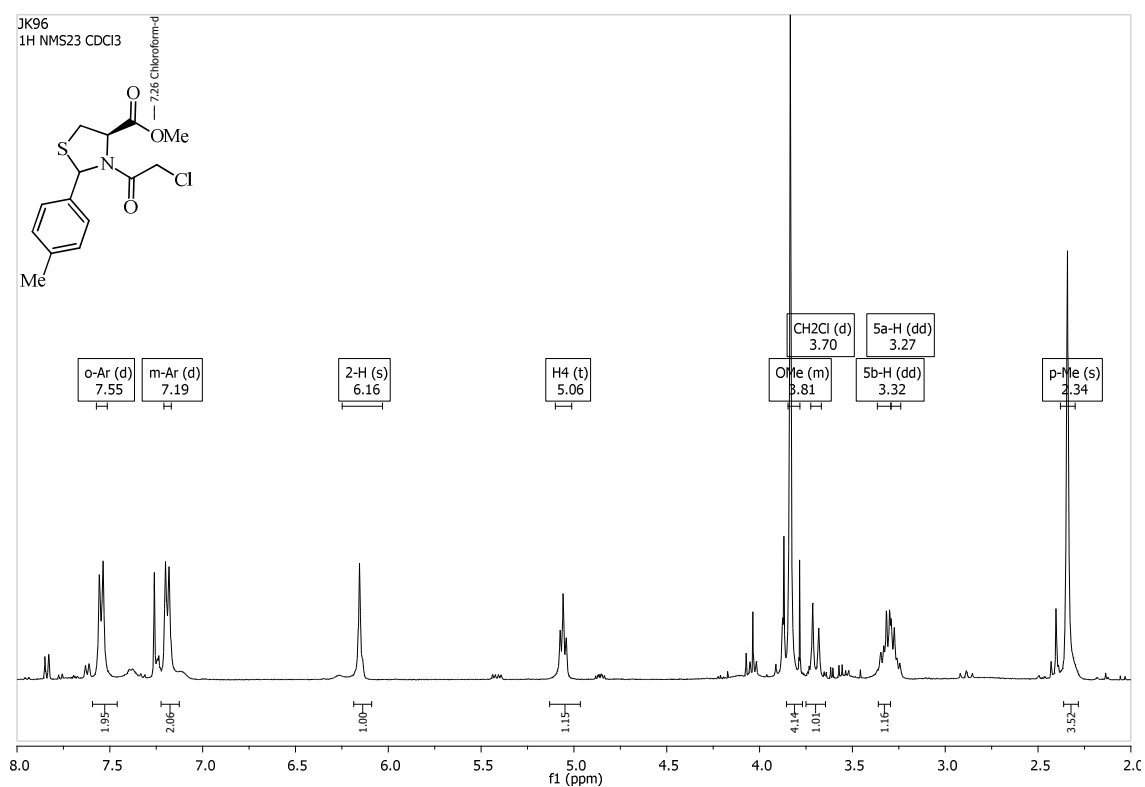
- Espectro infrarrojo del (2R,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2b**).



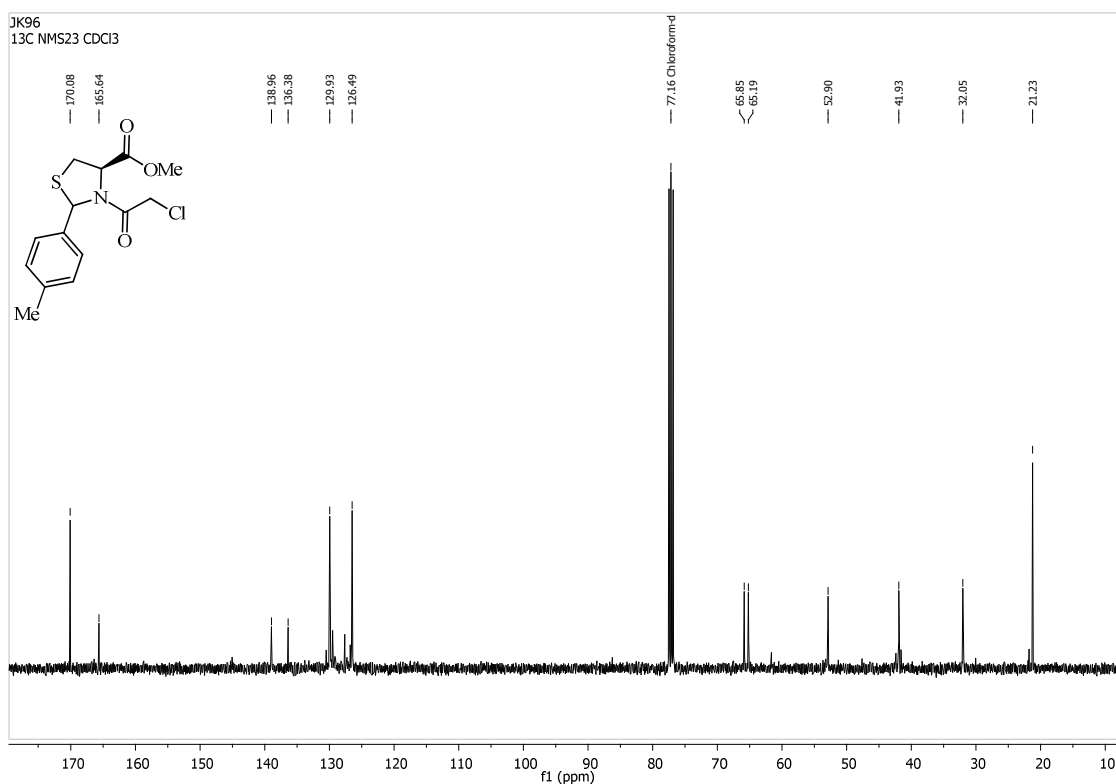
- Espectro ESI-MS del (2R,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2b**).



- Espectro de ¹H-RMN del (2R,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2b**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (2RS,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2b**).



- Datos ensayo en *Escherichia coli* del (2RS,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2b**).

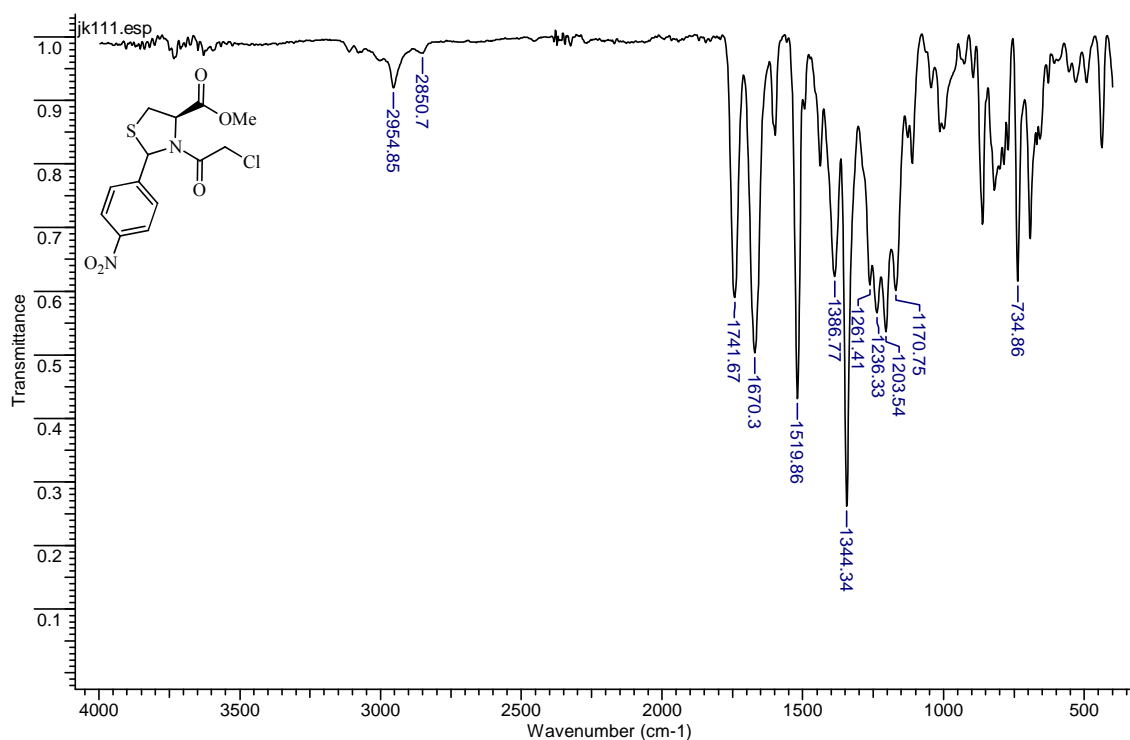
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.113	0.11	0.107	0.108	0.111	0.109
1	0.14	0.11	0.123	0.124	0.121	0.121	0.131
2	0.273	0.181	0.195	0.191	0.225	0.217	0.222
3	0.589	0.342	0.381	0.375	0.368	0.407	0.378
4	0.734	0.483	0.574	0.554	0.547	0.554	0.593
5	0.799	0.584	0.692	0.684	0.667	0.679	0.703
6	0.876	0.639	0.744	0.746	0.741	0.728	0.778
7	0.95	0.751	0.784	0.778	0.761	0.756	0.786
8	0.953	0.767	0.796	0.781	0.754	0.767	0.792

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (2R,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-(4-metilfenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2b**).

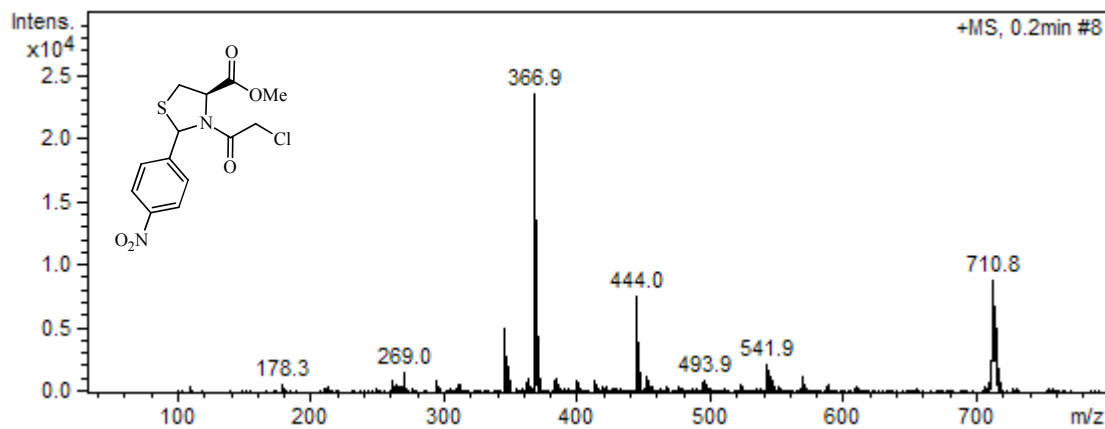
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.081	0.079	0.08	0.083	0.088	0.083
1	0.117	0.099	0.105	0.116	0.114	0.114	0.111
2	0.207	0.176	0.181	0.194	0.202	0.203	0.204
3	0.296	0.233	0.253	0.231	0.275	0.279	0.27
4	0.411	0.387	0.387	0.391	0.401	0.417	0.403
5	0.748	0.617	0.642	0.647	0.607	0.677	0.681
6	0.832	0.711	0.737	0.756	0.694	0.751	0.784
7	0.908	0.752	0.791	0.808	0.774	0.824	0.801
8	0.907	0.769	0.797	0.815	0.799	0.841	0.806

Anexo H. Espectros IR, RMN ¹H, RMN ¹³C y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (2R,4R)-3-(3-cloroacetil)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2c**).

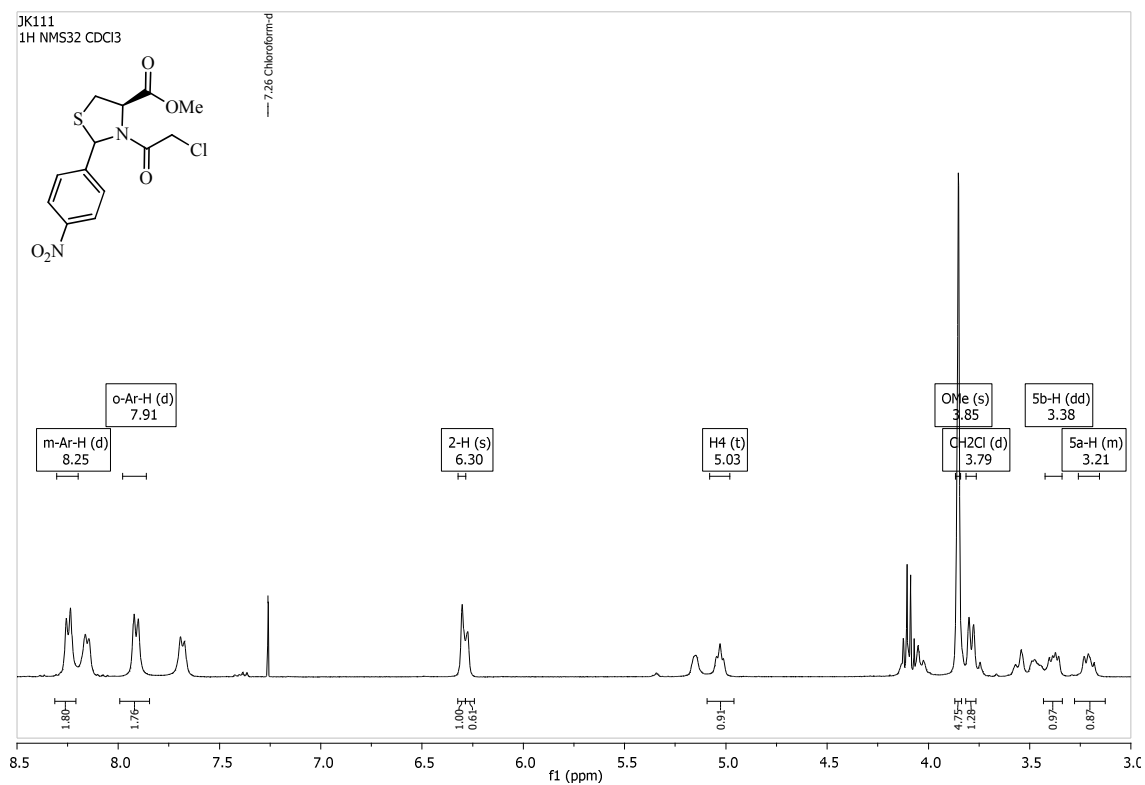
- Espectro infrarrojo del (2R,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2c**).



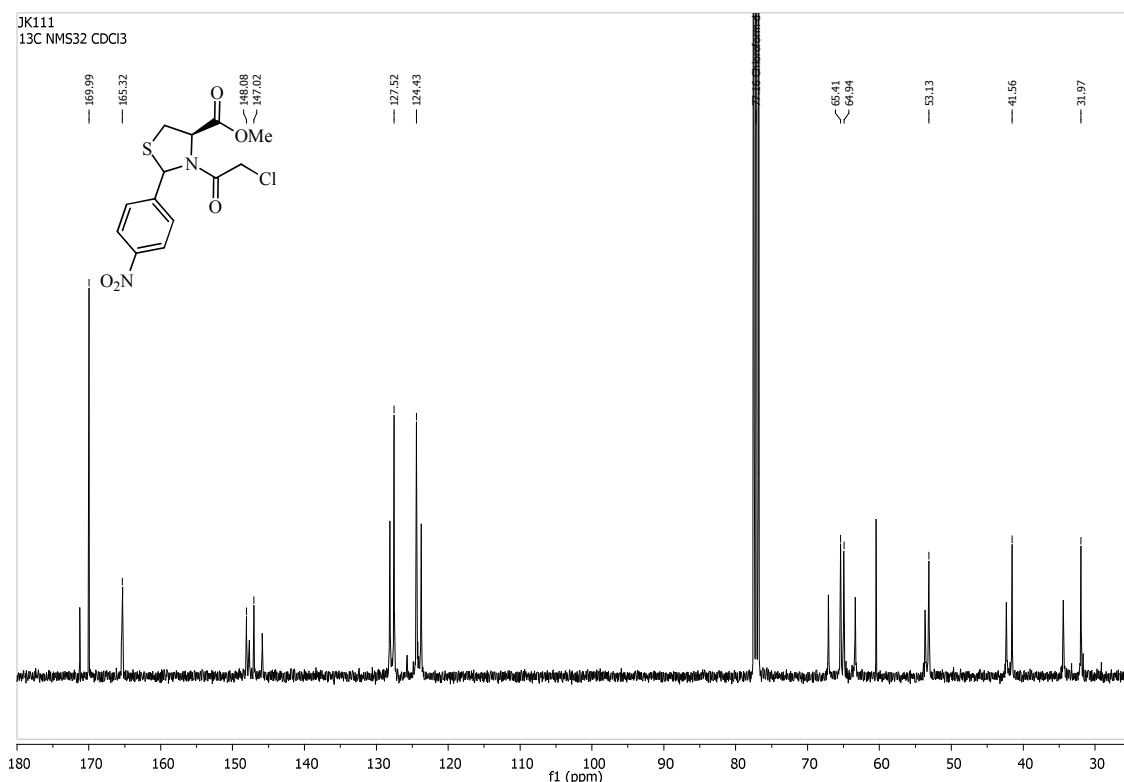
- Espectro ESI-MS del (2R,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2c**).



- Espectro de ¹H-RMN del (2R,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2c**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (2RS,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2c**).



- Datos ensayo en *Escherichia coli* del (2RS,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2c**).

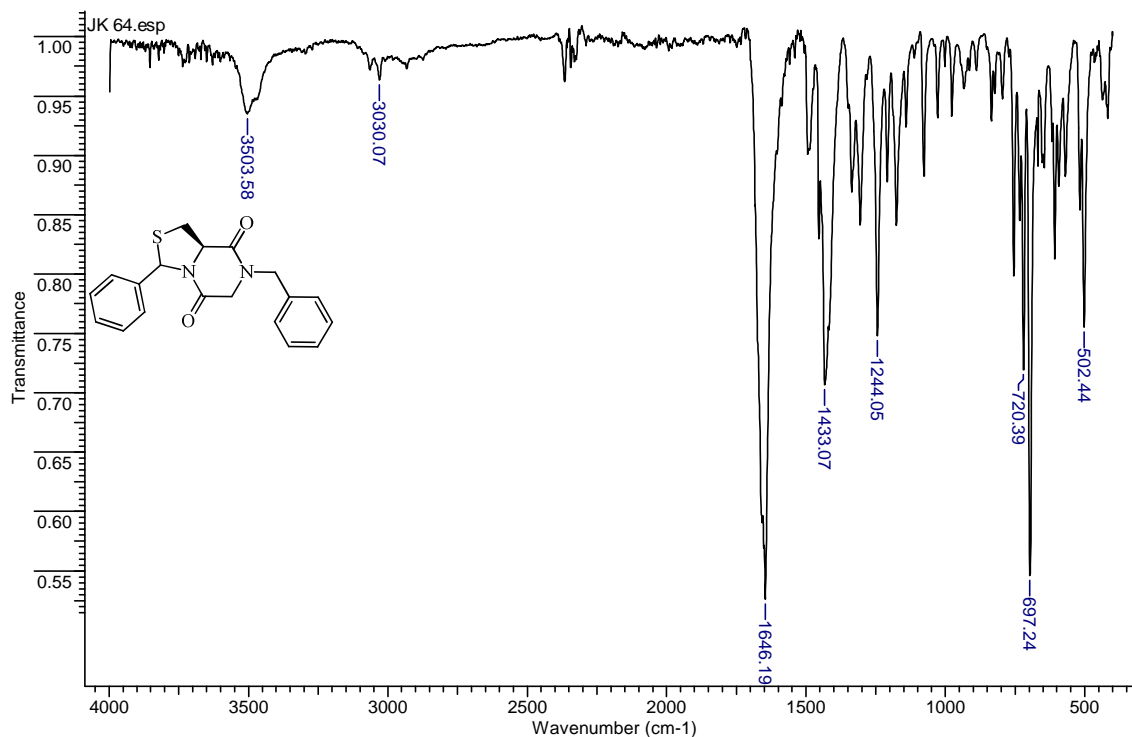
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.097	0.112	0.107	0.113	0.108	0.109
1	0.14	0.112	0.121	0.118	0.126	0.131	0.124
2	0.273	0.185	0.205	0.221	0.216	0.232	0.198
3	0.589	0.281	0.351	0.395	0.359	0.388	0.381
4	0.734	0.469	0.543	0.54	0.532	0.583	0.587
5	0.799	0.571	0.662	0.664	0.629	0.713	0.697
6	0.876	0.633	0.728	0.716	0.718	0.788	0.76
7	0.95	0.673	0.731	0.743	0.738	0.796	0.801
8	0.953	0.691	0.736	0.758	0.759	0.804	0.814

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (2RS,4R)-3-(2-cloroacetil)-2-(4-nitrofenil)-tiazolidin-4-metilcarboxilato (**2c**).

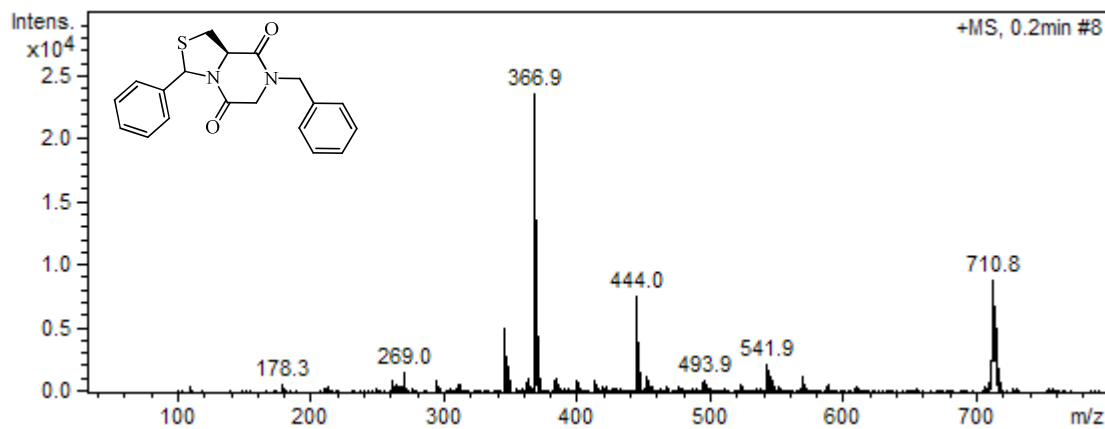
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.082	0.083	0.084	0.086	0.08	0.084
1	0.117	0.112	0.111	0.114	0.117	0.116	0.114
2	0.207	0.163	0.183	0.195	0.2	0.194	0.203
3	0.296	0.219	0.231	0.253	0.3	0.231	0.286
4	0.411	0.381	0.363	0.406	0.419	0.391	0.407
5	0.748	0.563	0.571	0.611	0.641	0.647	0.691
6	0.832	0.708	0.643	0.726	0.743	0.756	0.794
7	0.908	0.743	0.751	0.765	0.781	0.808	0.831
8	0.907	0.757	0.773	0.782	0.799	0.815	0.826

Anexo I. Espectros IR, RMN ¹H, RMN ¹³C, ¹H-¹H COSY, HSQC y HMBC y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3a**).

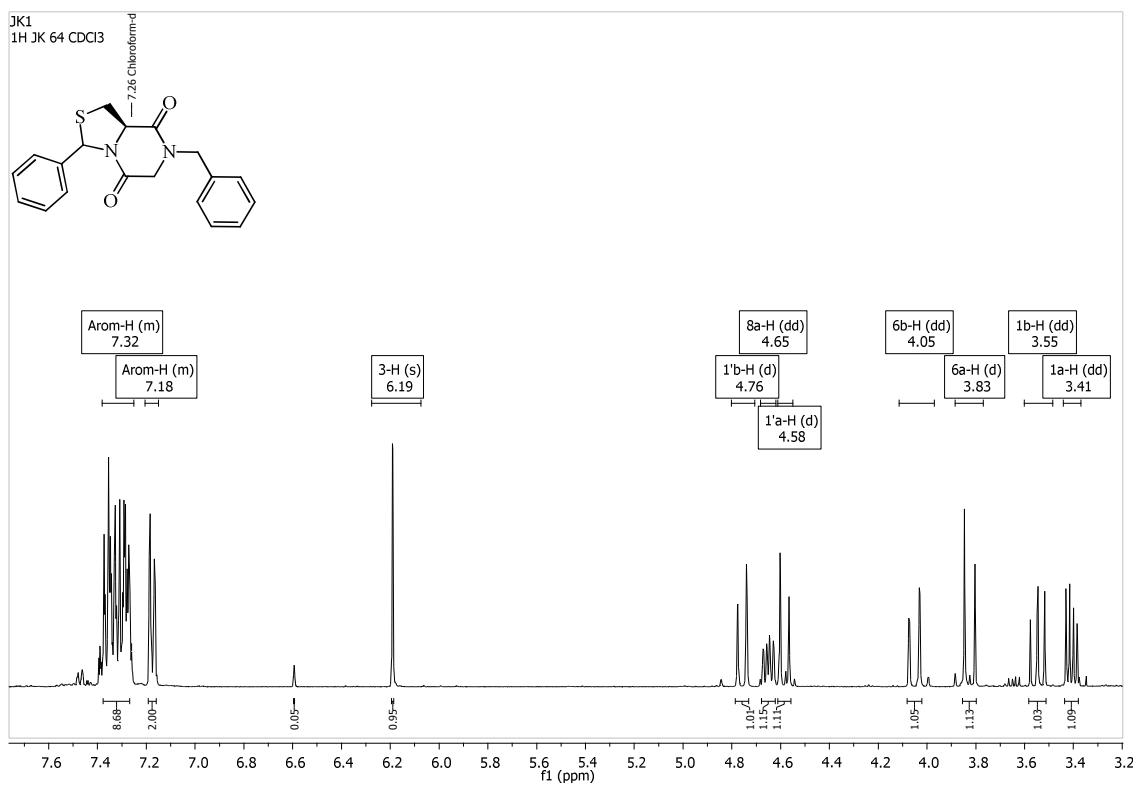
- Espectro infrarrojo del (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3a**).



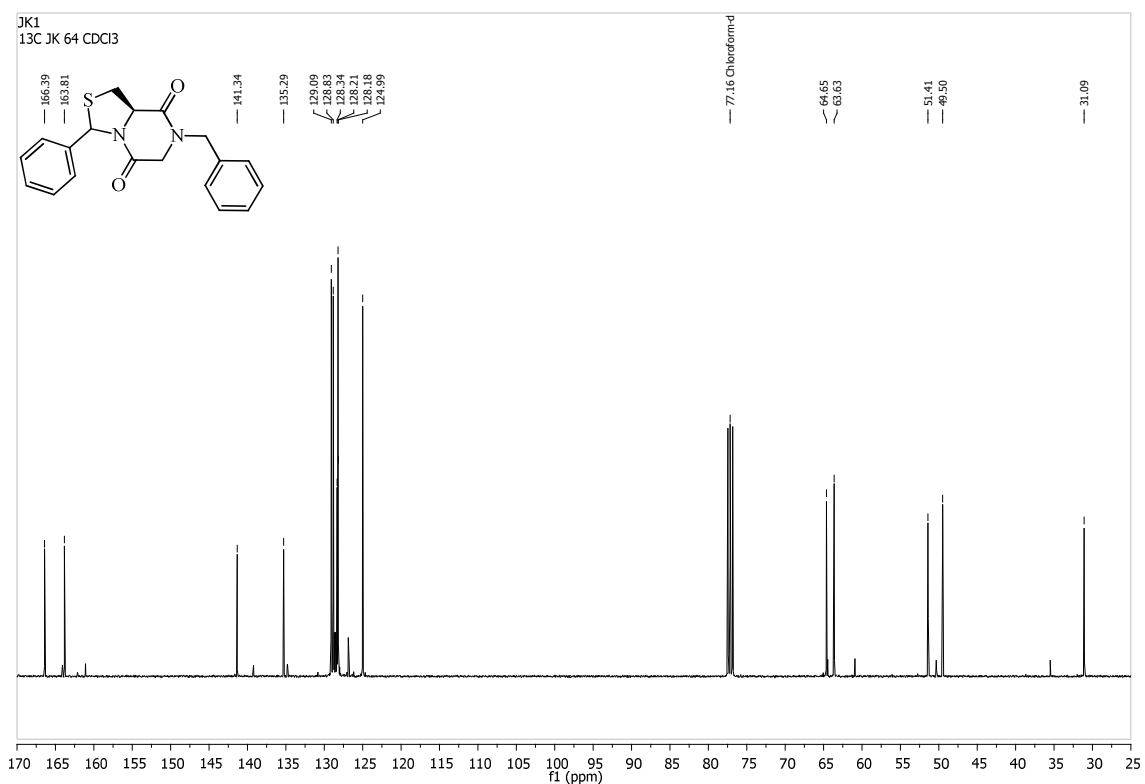
- Espectro ESI-MS del (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3a**).



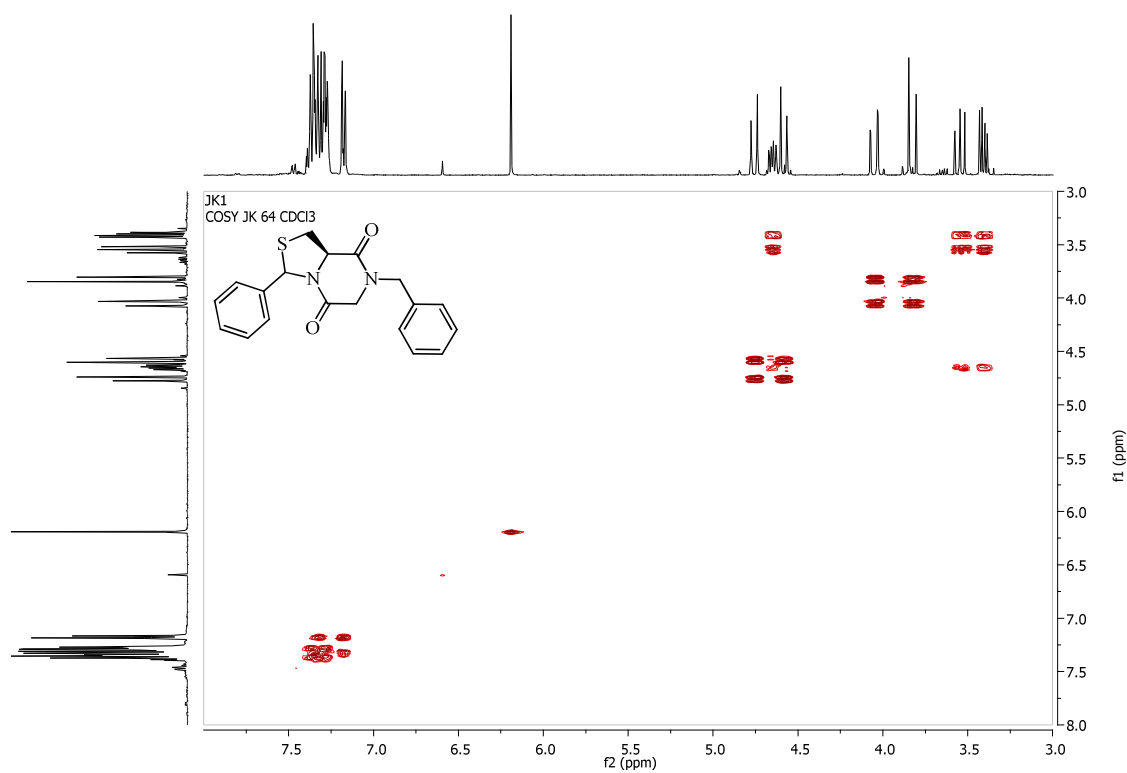
- Espectro de ^1H -RMN del (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3a**).



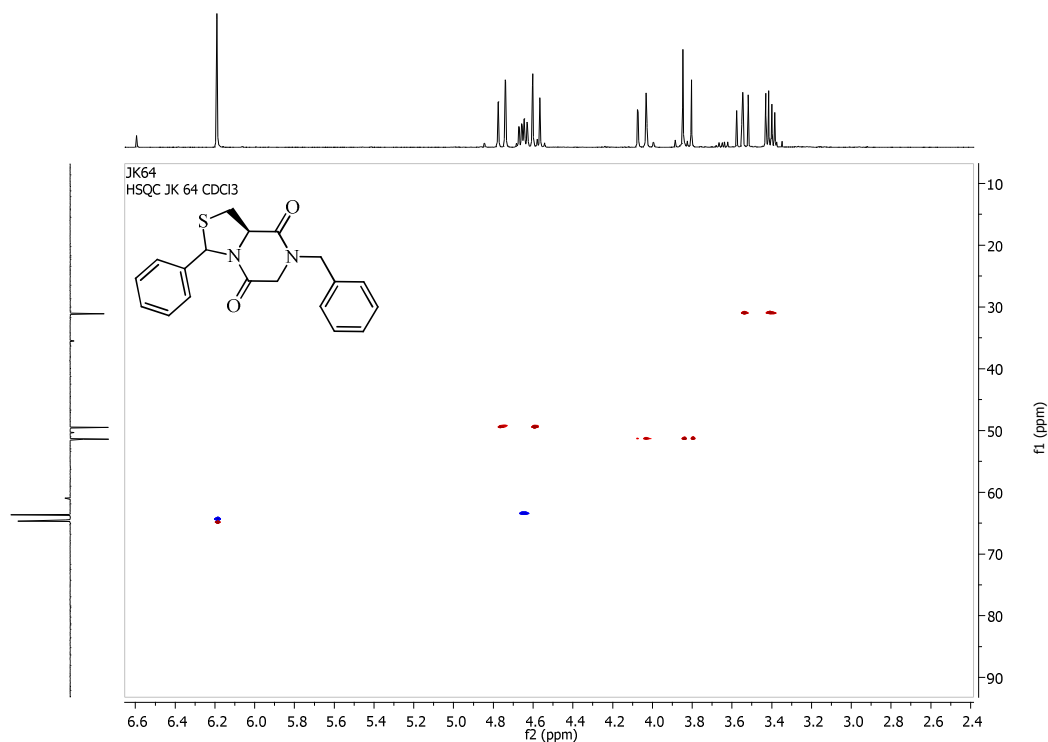
- Espectro de ^{13}C -RMN del (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3a**).



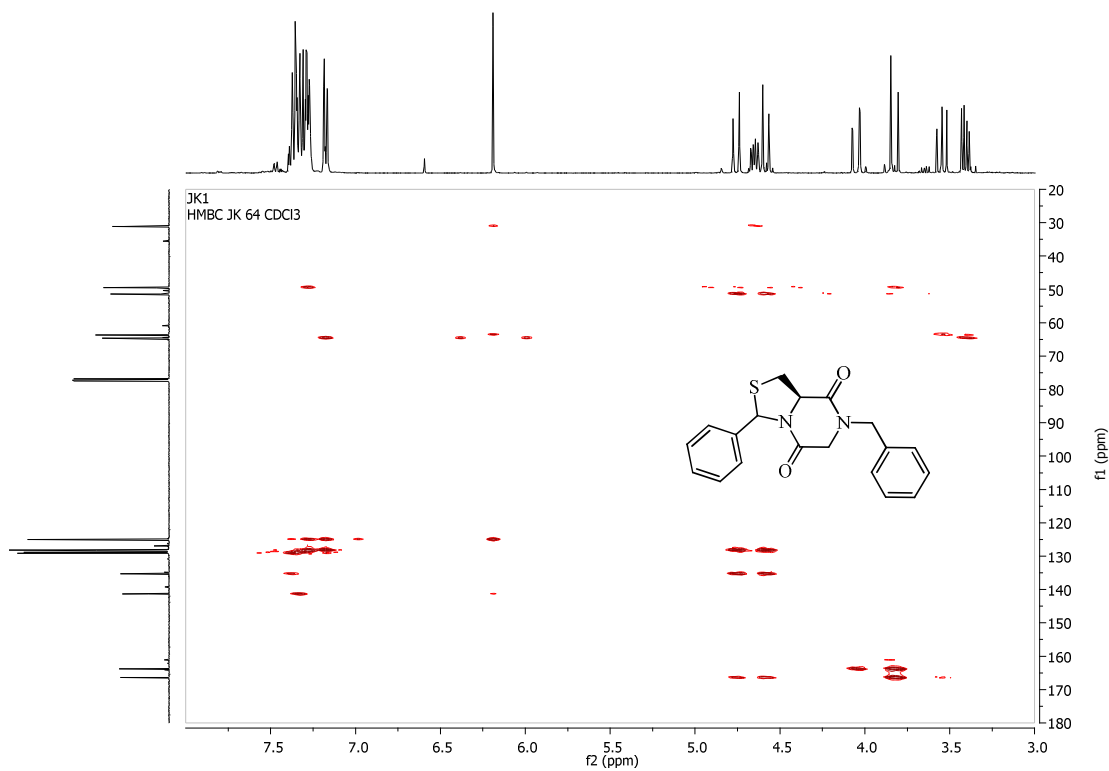
- Espectro ^1H , ^1H -COSY del (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3a**).



- Espectro HSQC del (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3a**).



- Espectro HMBC del (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3a**).



- Datos ensayo en *Escherichea coli* del (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3a**).

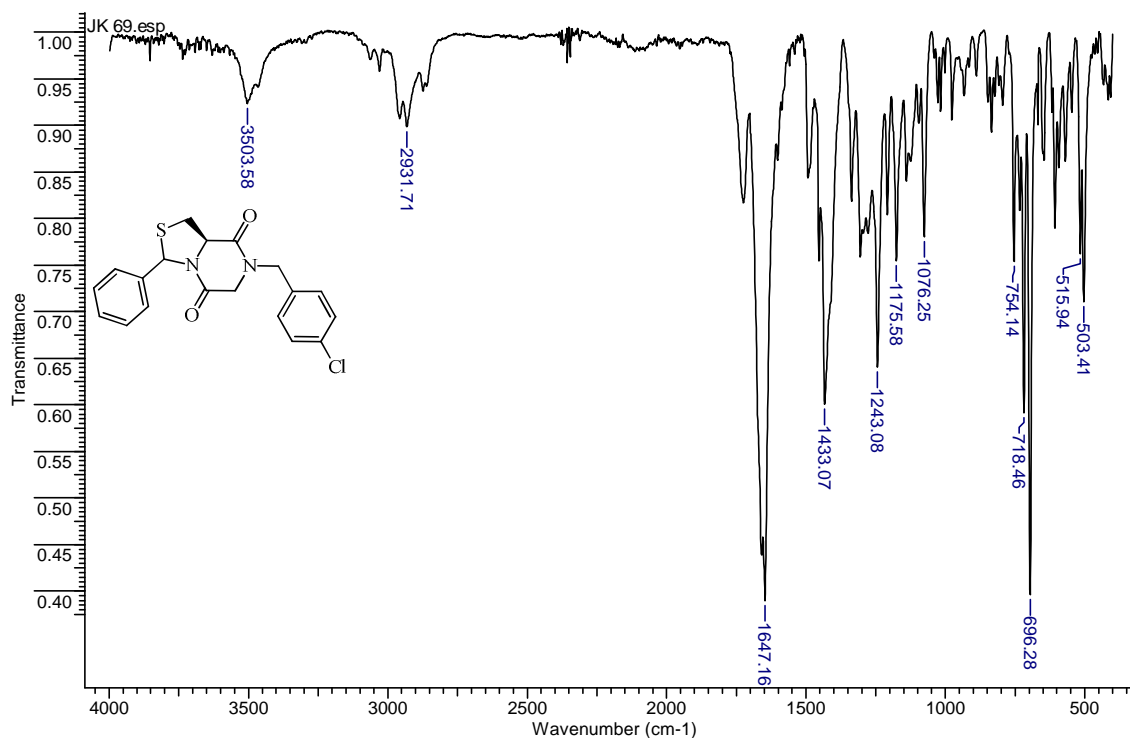
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.098	0.112	0.106	0.107	0.108	0.109
1	0.14	0.103	0.121	0.124	0.116	0.131	0.132
2	0.273	0.174	0.205	0.195	0.241	0.195	0.252
3	0.589	0.321	0.351	0.378	0.405	0.397	0.428
4	0.734	0.502	0.543	0.567	0.554	0.594	0.623
5	0.799	0.591	0.662	0.687	0.674	0.702	0.703
6	0.876	0.661	0.728	0.751	0.726	0.785	0.757
7	0.95	0.695	0.731	0.781	0.763	0.803	0.801
8	0.953	0.7	0.736	0.784	0.798	0.821	0.825

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (3RS,8aR)-7-bencil-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3a**).

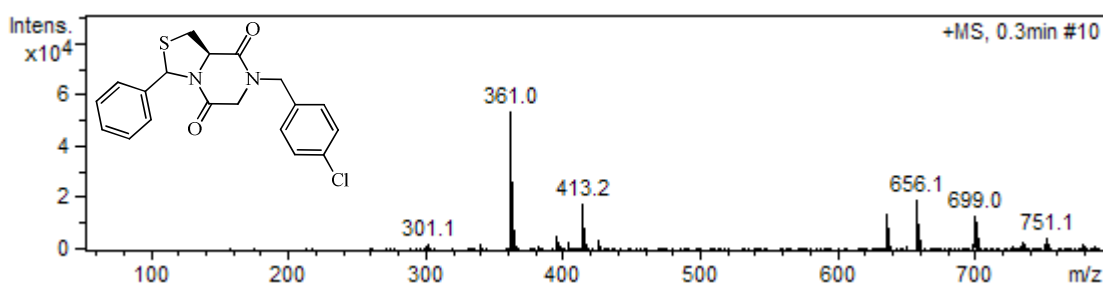
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.079	0.082	0.081	0.08	0.084	0.088
1	0.117	0.102	0.114	0.113	0.116	0.116	0.114
2	0.207	0.173	0.183	0.197	0.184	0.203	0.203
3	0.296	0.213	0.229	0.246	0.251	0.276	0.279
4	0.411	0.377	0.392	0.403	0.401	0.402	0.417
5	0.748	0.611	0.583	0.597	0.637	0.631	0.677
6	0.832	0.714	0.708	0.723	0.746	0.774	0.751
7	0.908	0.742	0.753	0.774	0.798	0.811	0.824
8	0.907	0.774	0.777	0.787	0.805	0.836	0.841

Anexo J. Espectros IR, RMN ¹H, RMN ¹³C y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (3RS,8aR)-7-(4-clorobencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3b**).

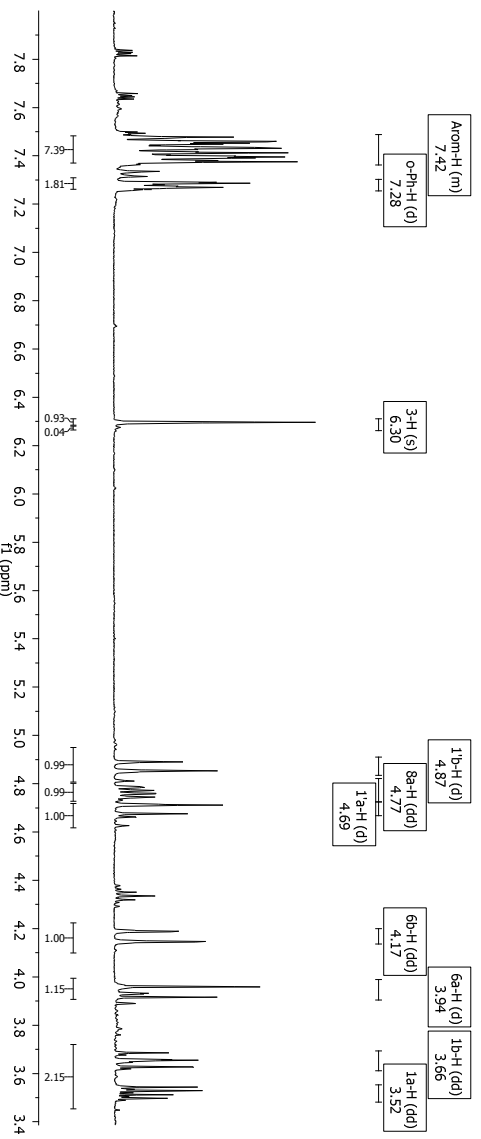
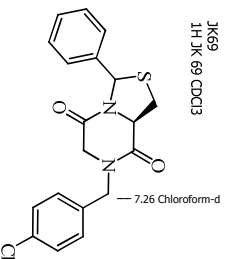
- Espectro infrarrojo del (3RS,8aR)-7-(4-clorobencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3b**).



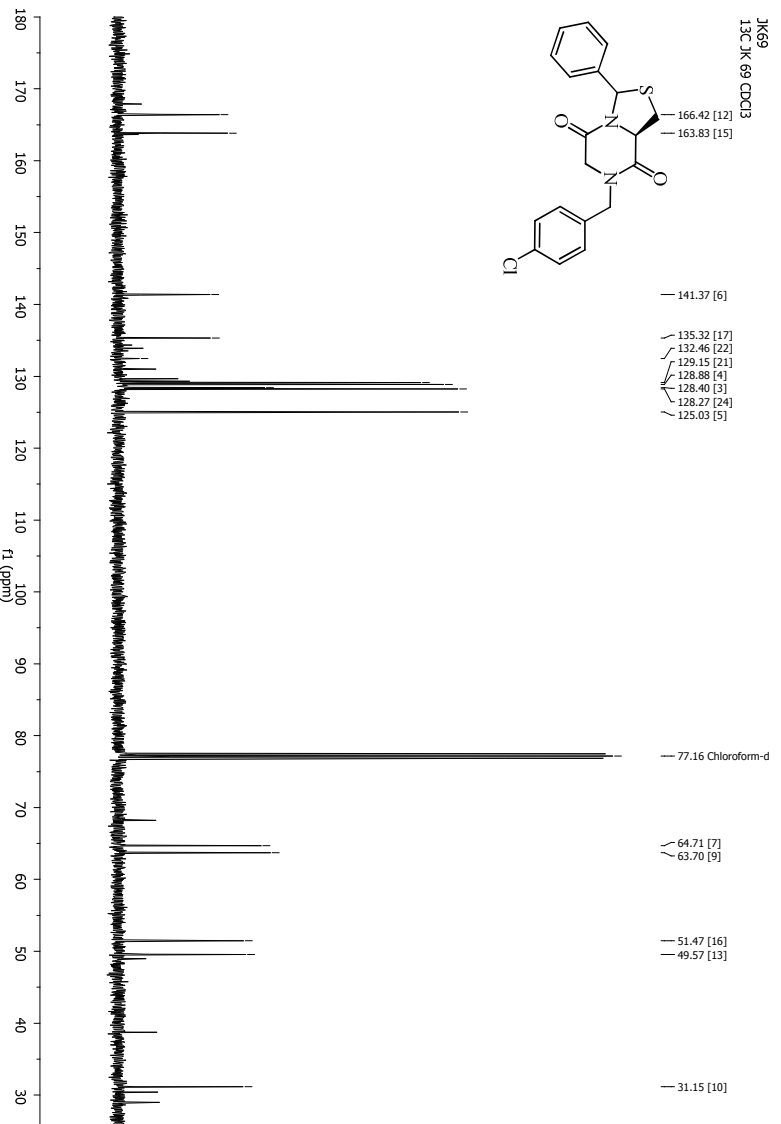
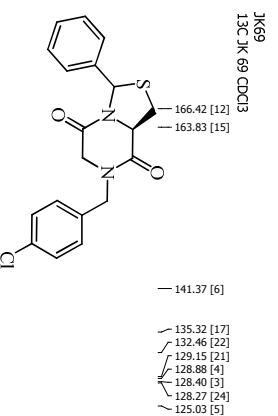
- Espectro ESI-MS del (3RS,8aR)-7-(4-clorobencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3b**).



- Espectro de ^1H -RMN del (3RS,8aR)-7-(4-clorobencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3b**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (3RS,8aR)-7-(4-clorobencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3b**).



- Datos ensayo en *Escherichea coli* del (3RS,8aR)-7-(4-clorobencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3b**).

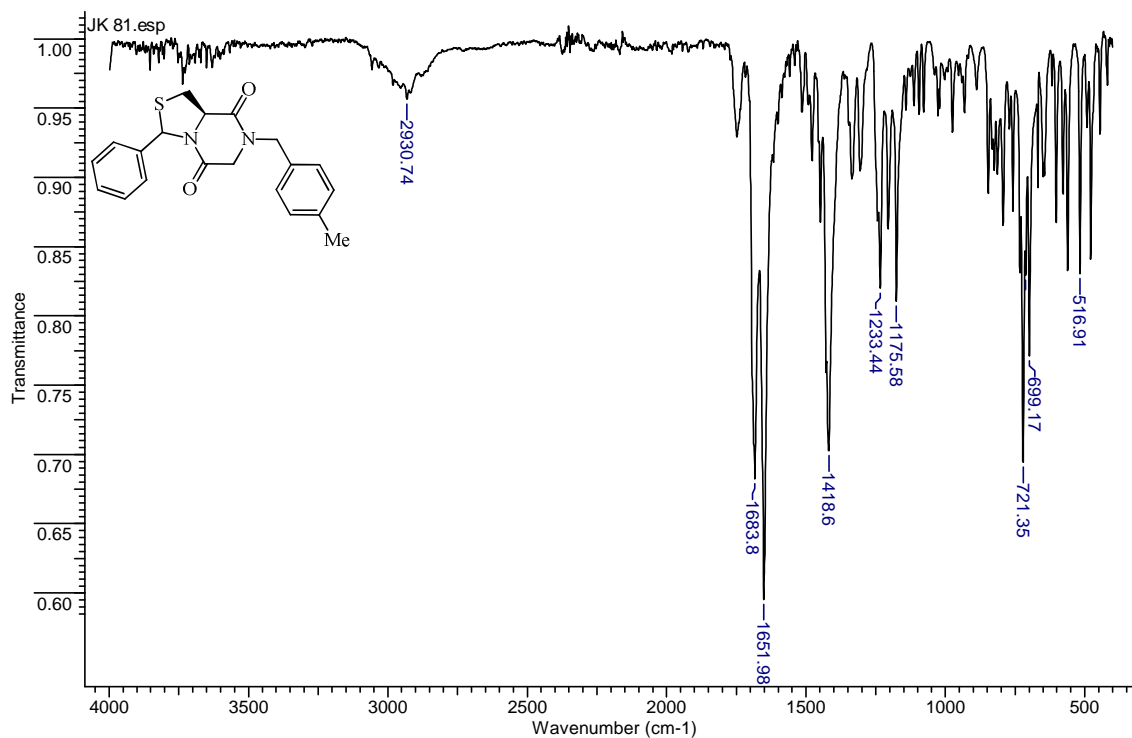
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.113	0.11	0.107	0.108	0.107	0.109
1	0.14	0.11	0.123	0.125	0.124	0.131	0.117
2	0.273	0.181	0.185	0.183	0.184	0.195	0.185
3	0.589	0.342	0.345	0.347	0.351	0.357	0.271
4	0.734	0.483	0.484	0.485	0.502	0.504	0.329
5	0.799	0.584	0.593	0.614	0.621	0.652	0.493
6	0.876	0.639	0.644	0.676	0.67	0.685	0.568
7	0.95	0.751	0.78	0.798	0.801	0.795	0.596
8	0.953	0.767	0.776	0.804	0.814	0.861	0.601

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (3RS,8aR)-7-(4-clorobencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3b**).

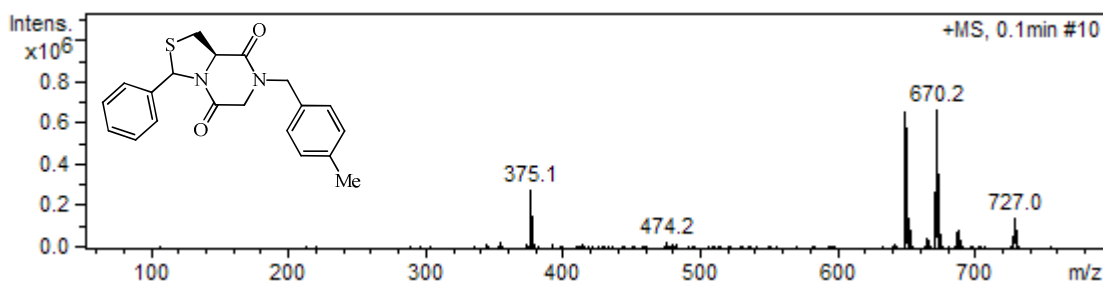
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.081	0.079	0.08	0.086	0.096	0.084
1	0.117	0.099	0.105	0.117	0.117	0.11	0.12
2	0.207	0.176	0.183	0.191	0.201	0.197	0.194
3	0.296	0.233	0.259	0.277	0.3	0.299	0.27
4	0.411	0.387	0.397	0.382	0.417	0.47	0.443
5	0.748	0.617	0.645	0.637	0.651	0.687	0.691
6	0.832	0.711	0.732	0.741	0.749	0.77	0.784
7	0.908	0.752	0.786	0.793	0.782	0.784	0.821
8	0.907	0.769	0.795	0.798	0.799	0.804	0.846

Anexo K. Espectros IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metilbencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3c**).

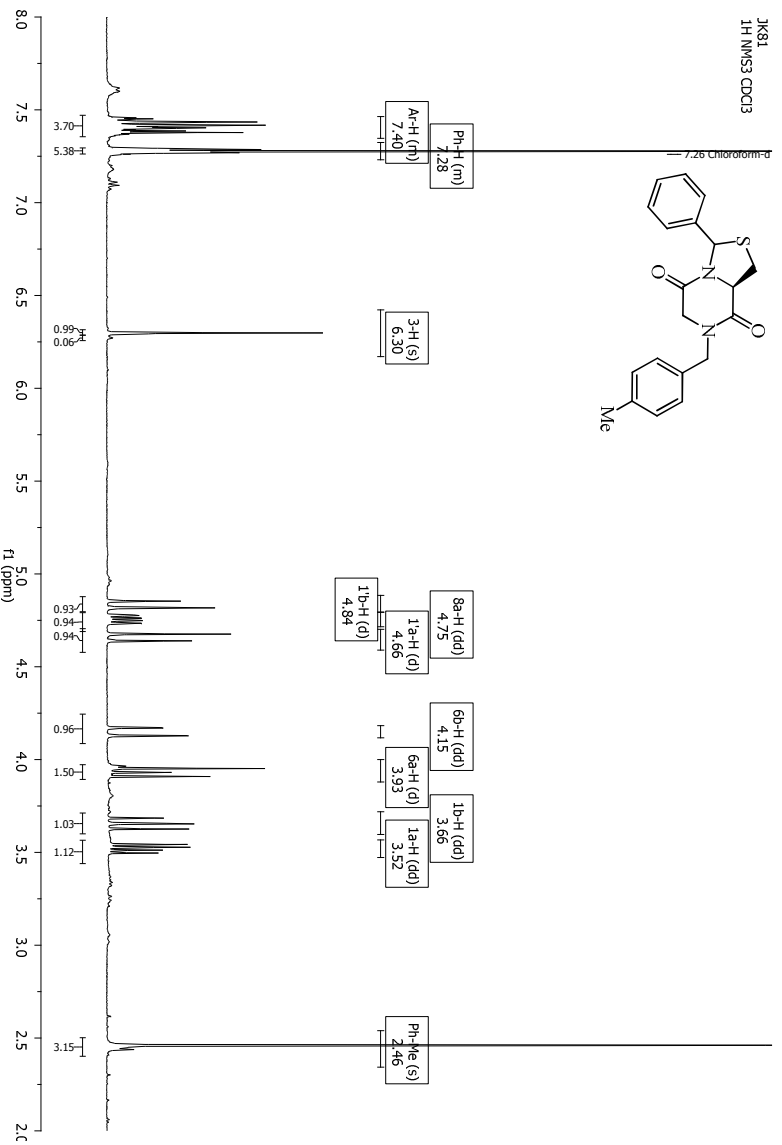
- Espectro infrarrojo del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metilbencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3c**).



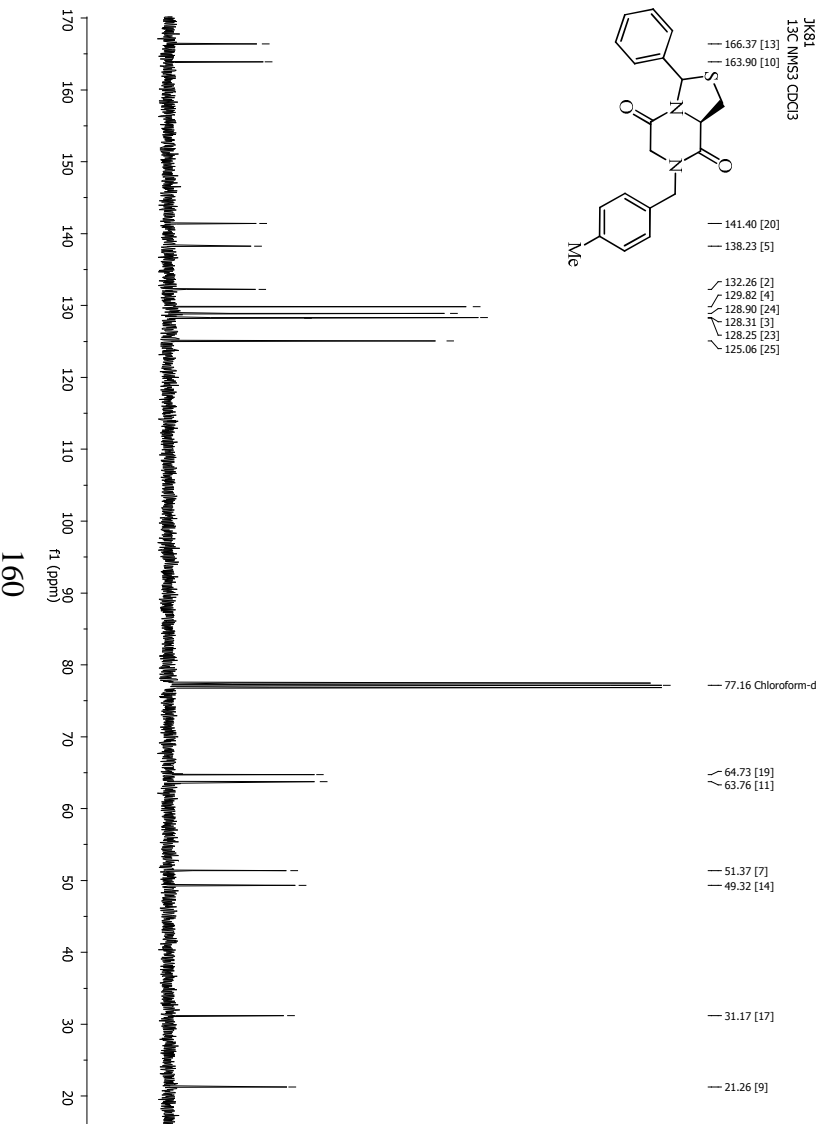
- Espectro ESI-MS del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metilbencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3c**).



- Espectro de ^1H -RMN del (3RS,8aR)-7-(4-metilbencil)-3-feniltetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3c**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (3RS,8aR)-7-(4-metilbencil)-3-feniltetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3c**).



- Datos ensayo en *Escherichea coli* del (3RS,8aR)-7-(4-metilbencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3c**).

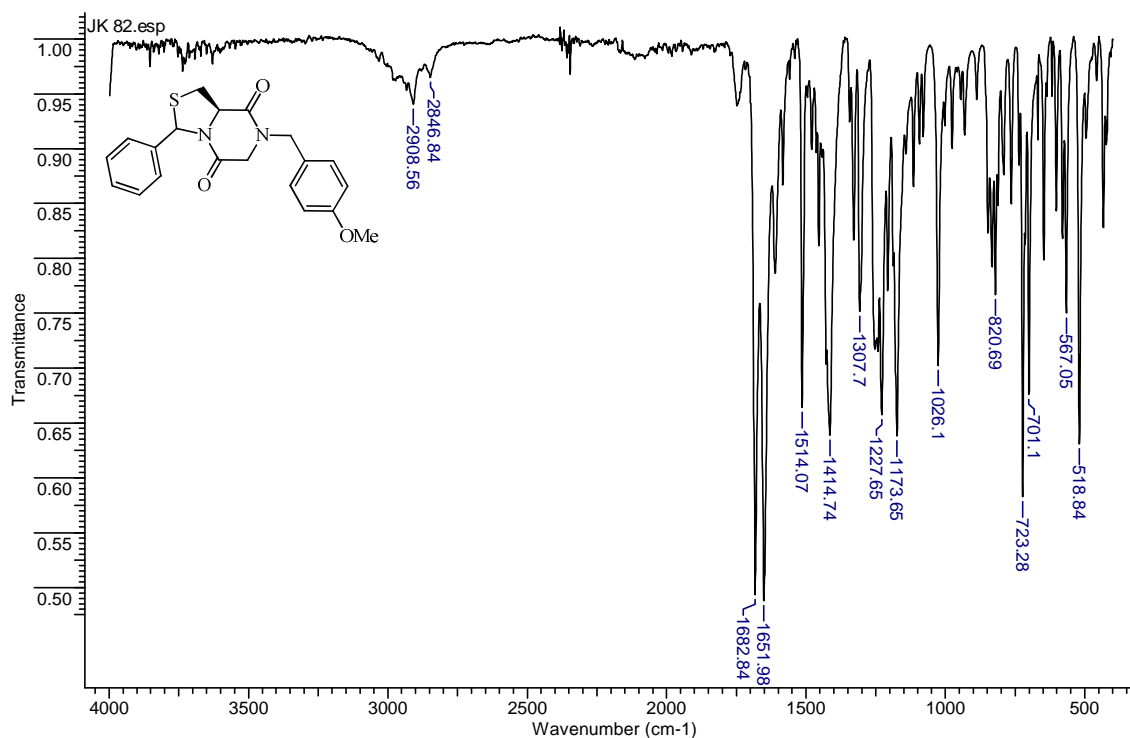
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.11	0.11	0.106	0.109	0.108	0.108
1	0.14	0.132	0.123	0.125	0.124	0.131	0.127
2	0.273	0.181	0.195	0.193	0.198	0.195	0.205
3	0.589	0.362	0.381	0.385	0.381	0.397	0.398
4	0.734	0.553	0.574	0.575	0.587	0.594	0.609
5	0.799	0.681	0.692	0.694	0.697	0.702	0.703
6	0.876	0.739	0.744	0.746	0.76	0.785	0.788
7	0.95	0.752	0.784	0.788	0.801	0.803	0.806
8	0.953	0.787	0.796	0.802	0.814	0.821	0.831

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (3RS,8aR)-7-(4-metilbencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3c**).

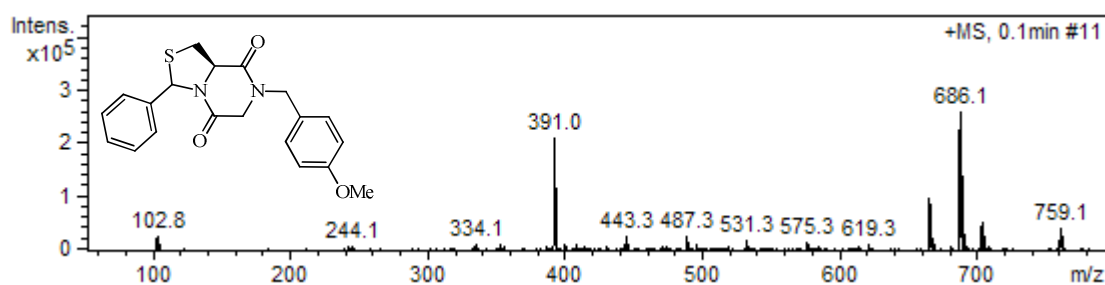
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.079	0.079	0.08	0.086	0.086	0.082
1	0.117	0.102	0.105	0.113	0.117	0.11	0.111
2	0.207	0.173	0.181	0.192	0.2	0.193	0.194
3	0.296	0.213	0.253	0.279	0.3	0.299	0.27
4	0.411	0.377	0.387	0.378	0.419	0.387	0.403
5	0.748	0.611	0.642	0.617	0.641	0.667	0.691
6	0.832	0.714	0.737	0.746	0.743	0.761	0.794
7	0.908	0.742	0.791	0.798	0.781	0.784	0.821
8	0.907	0.774	0.797	0.801	0.799	0.804	0.836

Anexo L. Espectros IR, RMN ¹H, RMN ¹³C y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3d**).

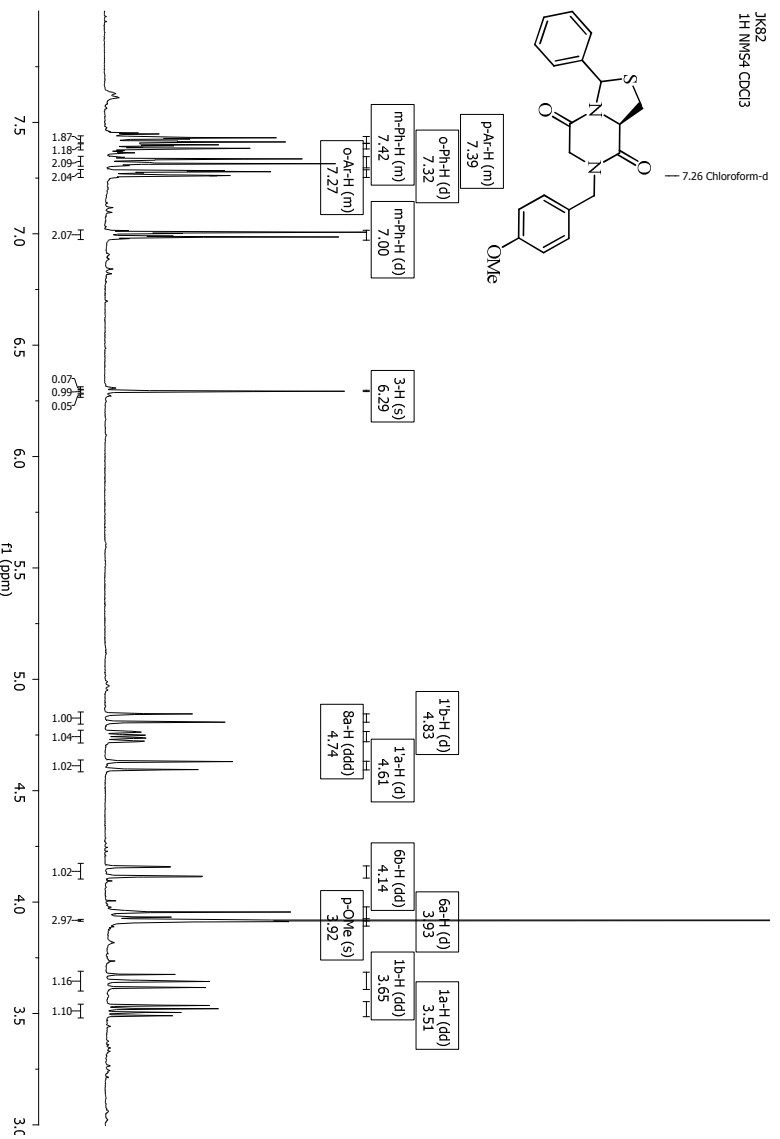
- Espectro infrarrojo del (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3d**).



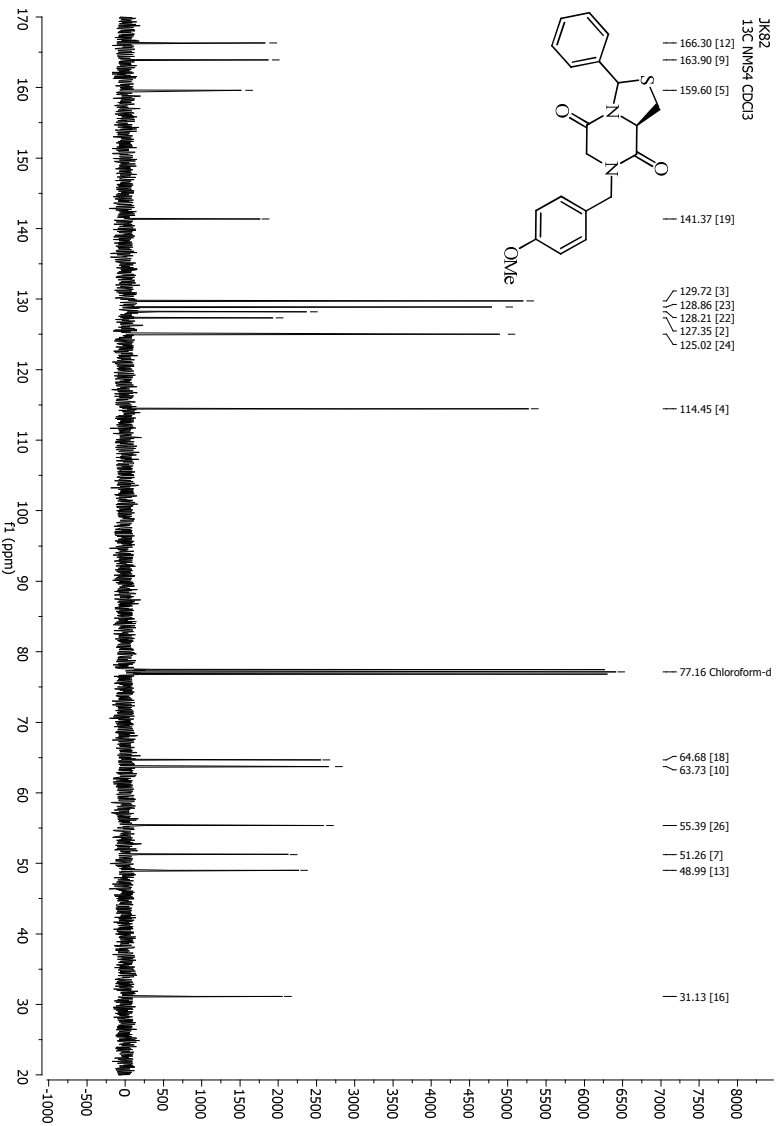
- Espectro ESI-MS del (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3d**).



- Espectro de ^1H -RMN del (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3d**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3d**).



- Datos ensayo en *Escherichea coli* del (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3d**).

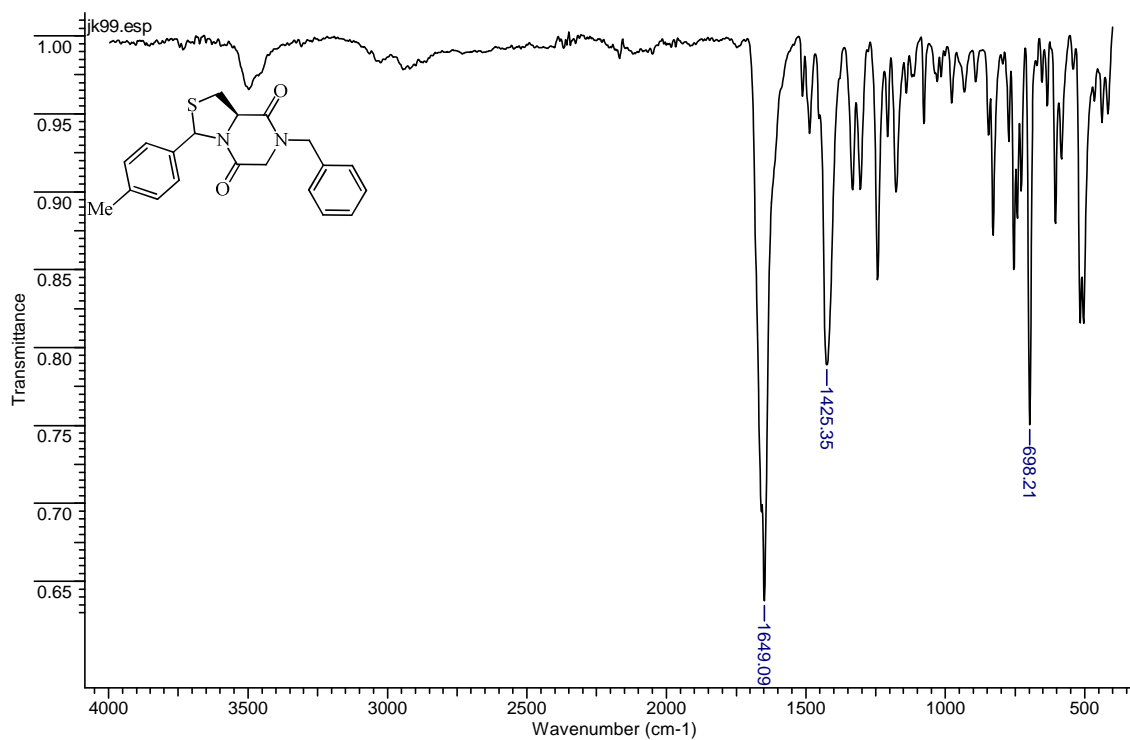
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.091	0.11	0.107	0.106	0.109	0.108
1	0.14	0.131	0.121	0.124	0.124	0.125	0.131
2	0.273	0.181	0.195	0.191	0.195	0.197	0.202
3	0.589	0.352	0.361	0.375	0.378	0.387	0.398
4	0.734	0.551	0.553	0.554	0.567	0.584	0.602
5	0.799	0.661	0.672	0.684	0.687	0.697	0.703
6	0.876	0.725	0.738	0.746	0.751	0.768	0.778
7	0.95	0.732	0.751	0.778	0.781	0.795	0.806
8	0.953	0.754	0.766	0.781	0.784	0.801	0.812

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-fenil-tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3d**).

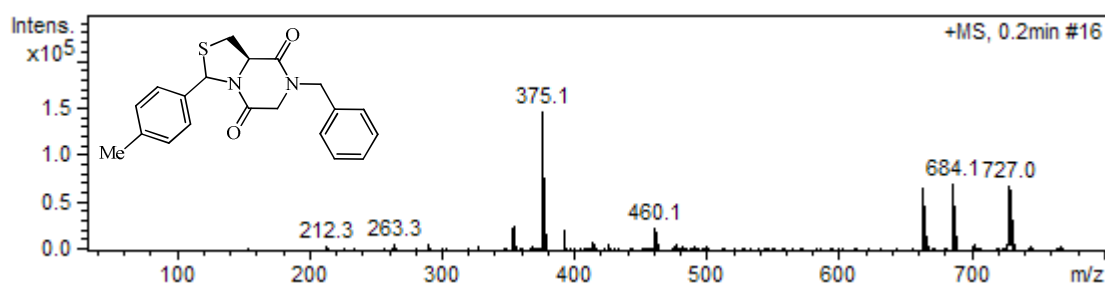
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.081	0.075	0.08	0.085	0.086	0.083
1	0.117	0.102	0.105	0.111	0.114	0.115	0.111
2	0.207	0.163	0.171	0.182	0.191	0.193	0.204
3	0.296	0.193	0.239	0.241	0.256	0.269	0.27
4	0.411	0.365	0.367	0.378	0.399	0.397	0.403
5	0.748	0.581	0.619	0.617	0.641	0.657	0.681
6	0.832	0.694	0.717	0.736	0.743	0.751	0.784
7	0.908	0.718	0.751	0.788	0.791	0.794	0.801
8	0.907	0.754	0.767	0.795	0.798	0.801	0.806

Anexo M. Espectros IR, RMN ¹H, RMN ¹³C y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (3RS,8aR)-7-bencil-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3e**).

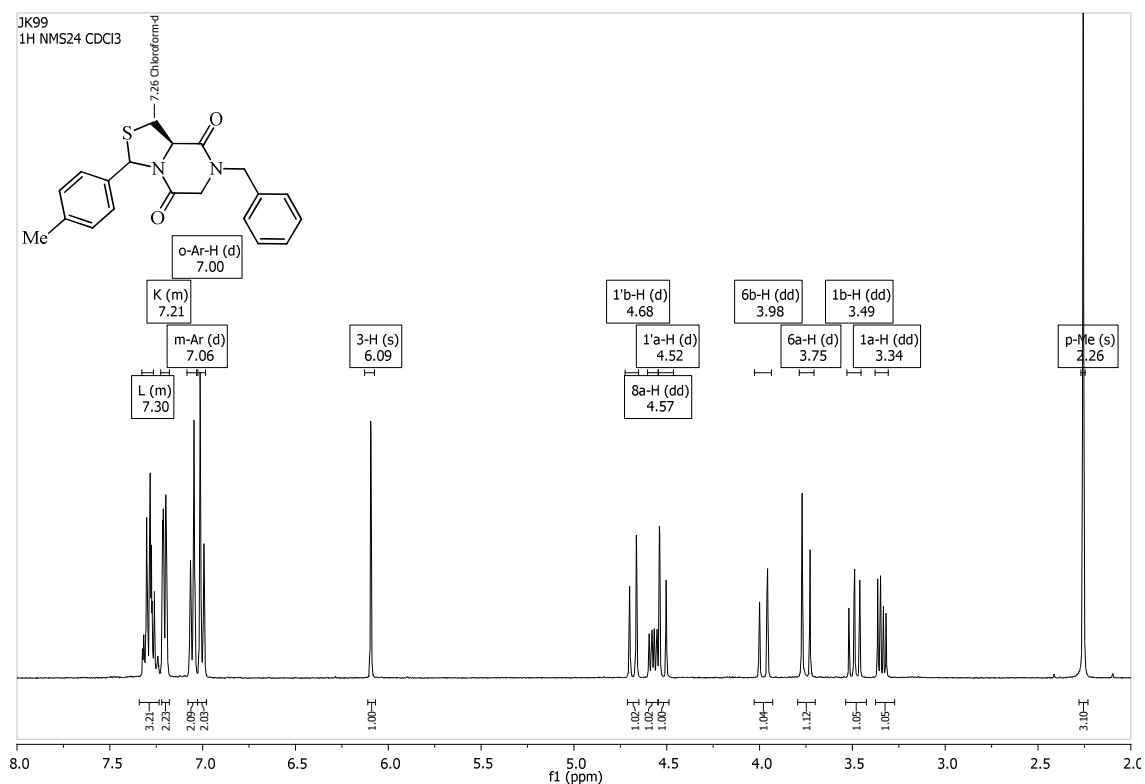
- Espectro infrarrojo del (3RS,8aR)-7-bencil-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3e**).



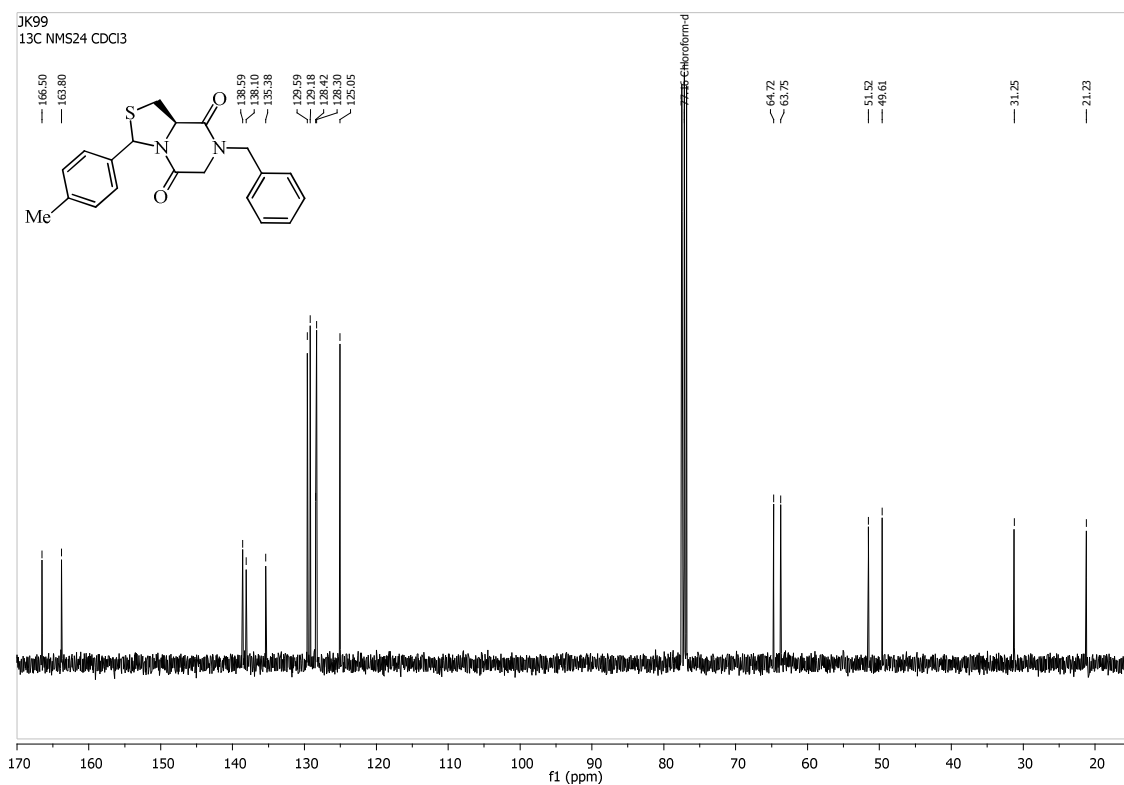
- Espectro ESI-MS del (3RS,8aR)-7-bencil-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3e**).



- Espectro de ^1H -RMN del (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3e**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3e**).



- Datos ensayo en *Escherichea coli* del (3RS,8aR)-7-bencil-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pyrazin-5,8-diona (**3e**).

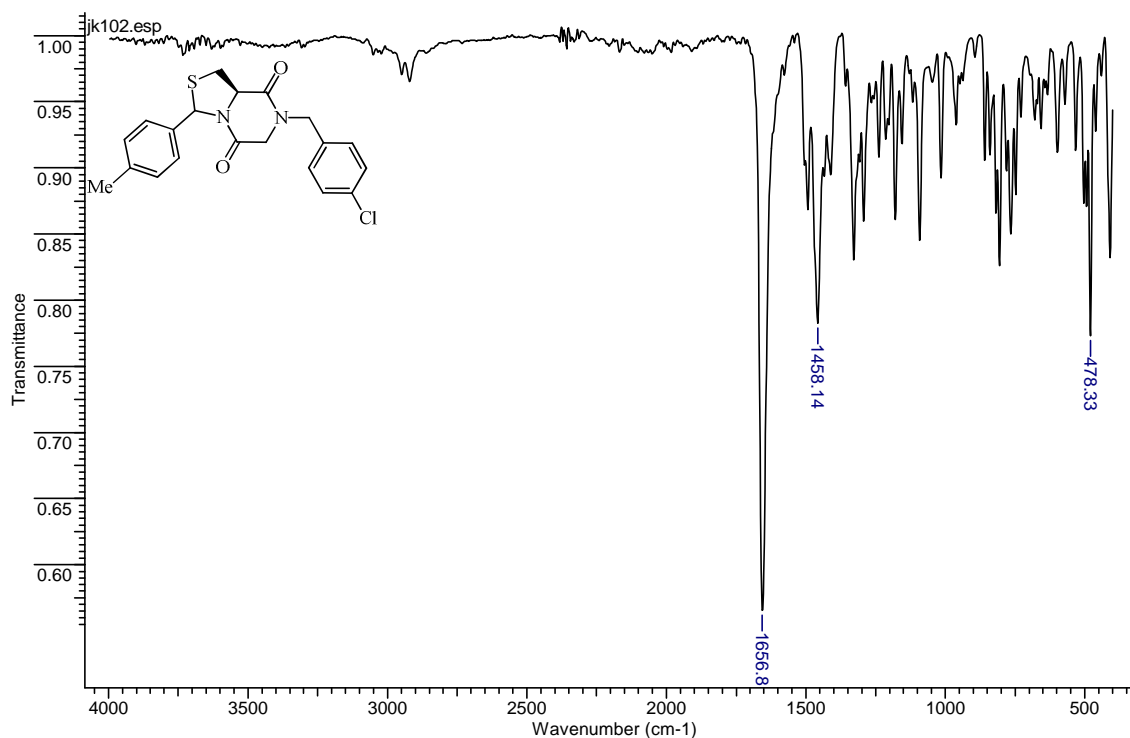
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.096	0.111	0.108	0.108	0.11	0.108
1	0.14	0.111	0.111	0.113	0.121	0.135	0.131
2	0.273	0.181	0.201	0.211	0.225	0.227	0.232
3	0.589	0.332	0.341	0.355	0.368	0.377	0.388
4	0.734	0.511	0.513	0.524	0.547	0.564	0.583
5	0.799	0.629	0.642	0.654	0.667	0.697	0.713
6	0.876	0.695	0.718	0.726	0.741	0.758	0.788
7	0.95	0.702	0.721	0.739	0.761	0.775	0.796
8	0.953	0.706	0.716	0.738	0.754	0.761	0.804

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (3RS,8aR)-7-bencil-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pyrazin-5,8-diona (**3e**).

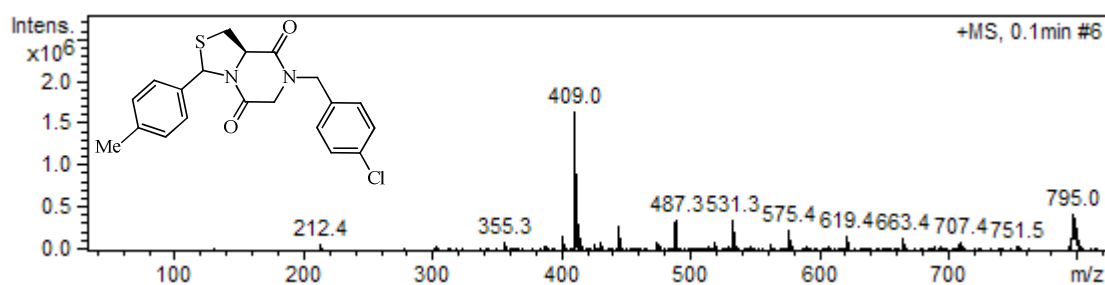
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.079	0.085	0.08	0.085	0.089	0.087
1	0.117	0.112	0.115	0.115	0.104	0.113	0.116
2	0.207	0.191	0.193	0.196	0.201	0.202	0.206
3	0.296	0.236	0.239	0.241	0.256	0.269	0.276
4	0.411	0.394	0.407	0.401	0.422	0.407	0.4033
5	0.748	0.599	0.593	0.627	0.633	0.647	0.661
6	0.832	0.714	0.717	0.716	0.733	0.771	0.784
7	0.908	0.768	0.773	0.788	0.798	0.814	0.831
8	0.907	0.785	0.797	0.811	0.828	0.844	0.876

Anexo N. Espectros IR, RMN ¹H, RMN ¹³C y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (3*RS*,8*aR*)-7-(4-clorobencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3f**).

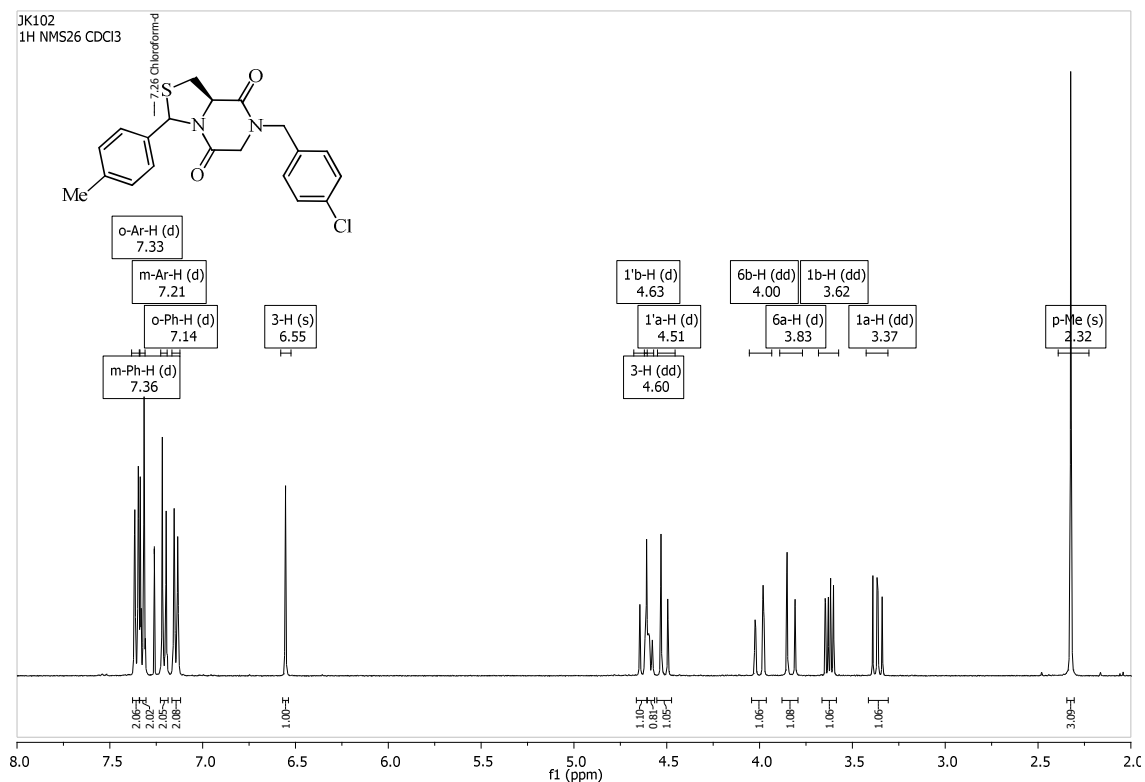
- Espectro infrarrojo del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-clorobencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3f**).



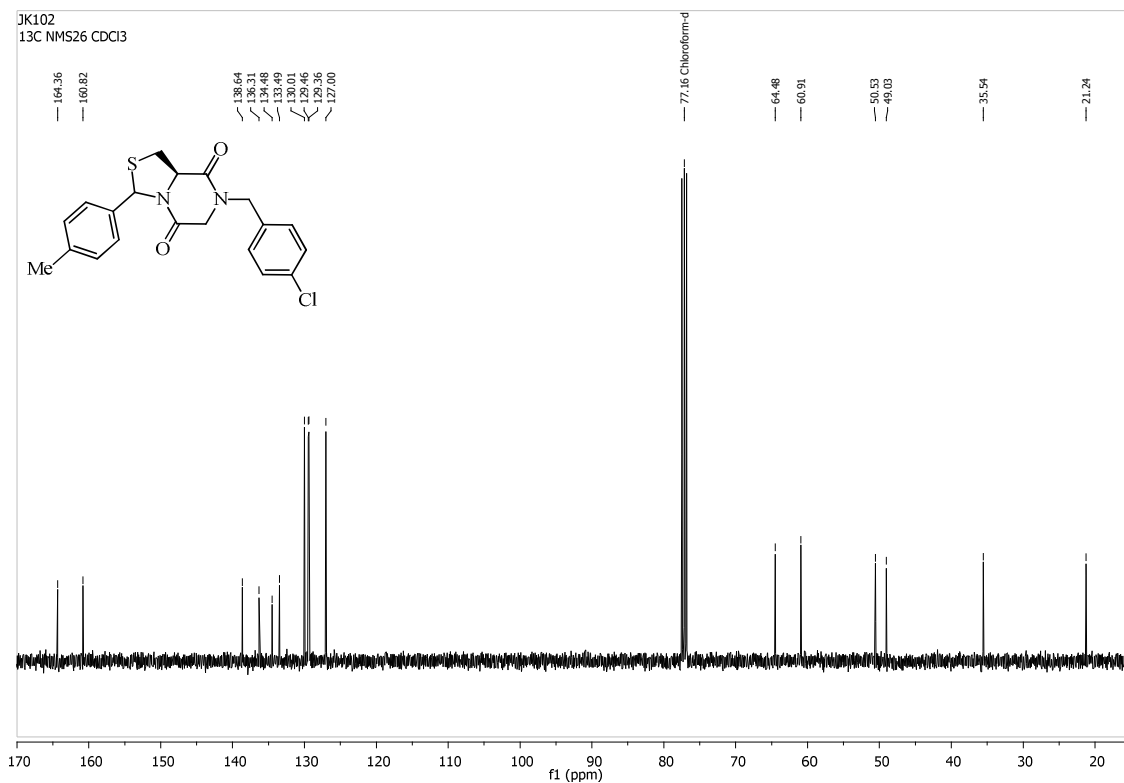
- Espectro ESI-MS del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-clorobencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3f**).



- Espectro de ^1H -RMN del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-clorobencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3f**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-clorobencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3f**).



- Datos ensayo en *Escherichea coli* del (3RS,8aR)-7-(4-clorobencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pyrazin-5,8-diona (**3f**).

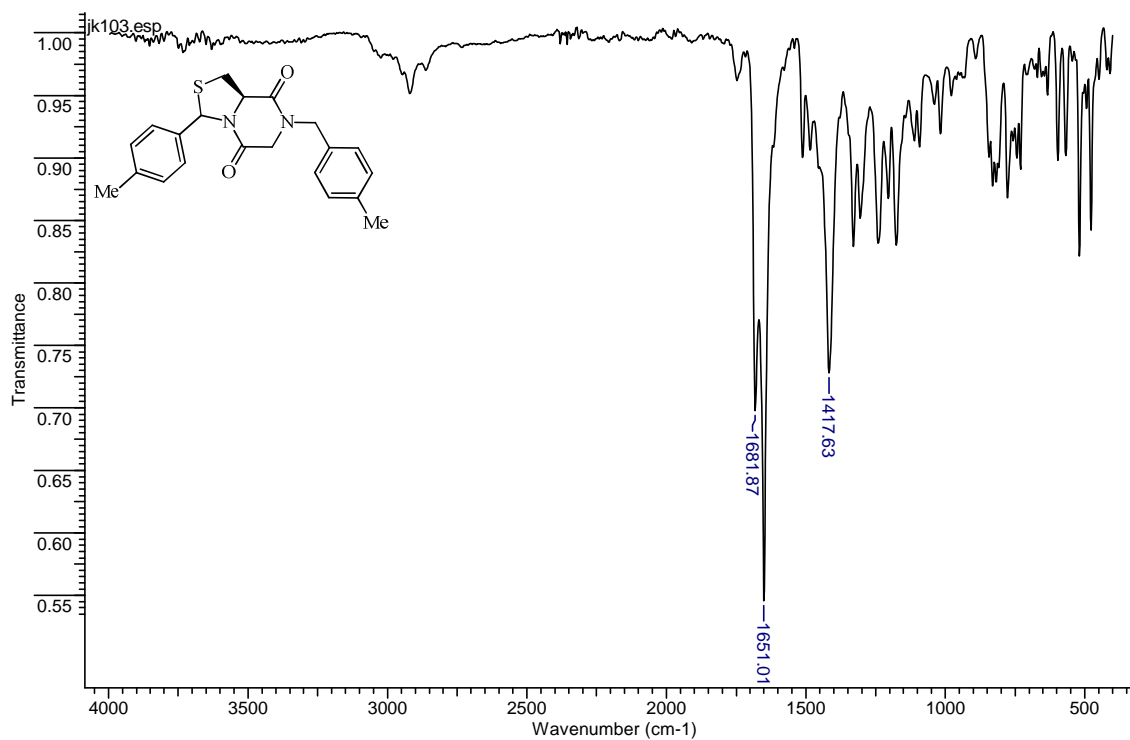
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.097	0.11	0.107	0.108	0.11	0.109
1	0.14	0.113	0.122	0.118	0.12	0.123	0.132
2	0.273	0.171	0.211	0.221	0.235	0.247	0.252
3	0.589	0.366	0.383	0.395	0.408	0.417	0.428
4	0.734	0.521	0.533	0.54	0.567	0.584	0.623
5	0.799	0.623	0.642	0.664	0.677	0.689	0.703
6	0.876	0.692	0.708	0.716	0.721	0.738	0.757
7	0.95	0.704	0.721	0.743	0.763	0.785	0.801
8	0.953	0.721	0.731	0.758	0.804	0.811	0.825

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (3RS,8aR)-7-(4-clorobencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pyrazin-5,8-diona (**3f**).

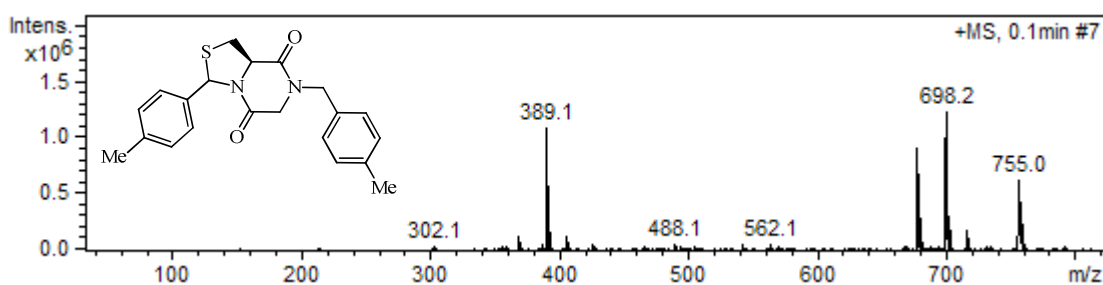
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.083	0.082	0.082	0.08	0.086	0.083
1	0.117	0.11	0.112	0.111	0.114	0.114	0.116
2	0.207	0.161	0.163	0.186	0.191	0.196	0.199
3	0.296	0.206	0.219	0.221	0.236	0.243	0.262
4	0.411	0.365	0.381	0.391	0.402	0.407	0.402
5	0.748	0.553	0.563	0.585	0.597	0.617	0.626
6	0.832	0.684	0.708	0.712	0.723	0.736	0.754
7	0.908	0.725	0.743	0.758	0.774	0.785	0.796
8	0.907	0.74	0.757	0.771	0.786	0.798	0.805

Anexo O. Espectros IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metilbencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3g**).

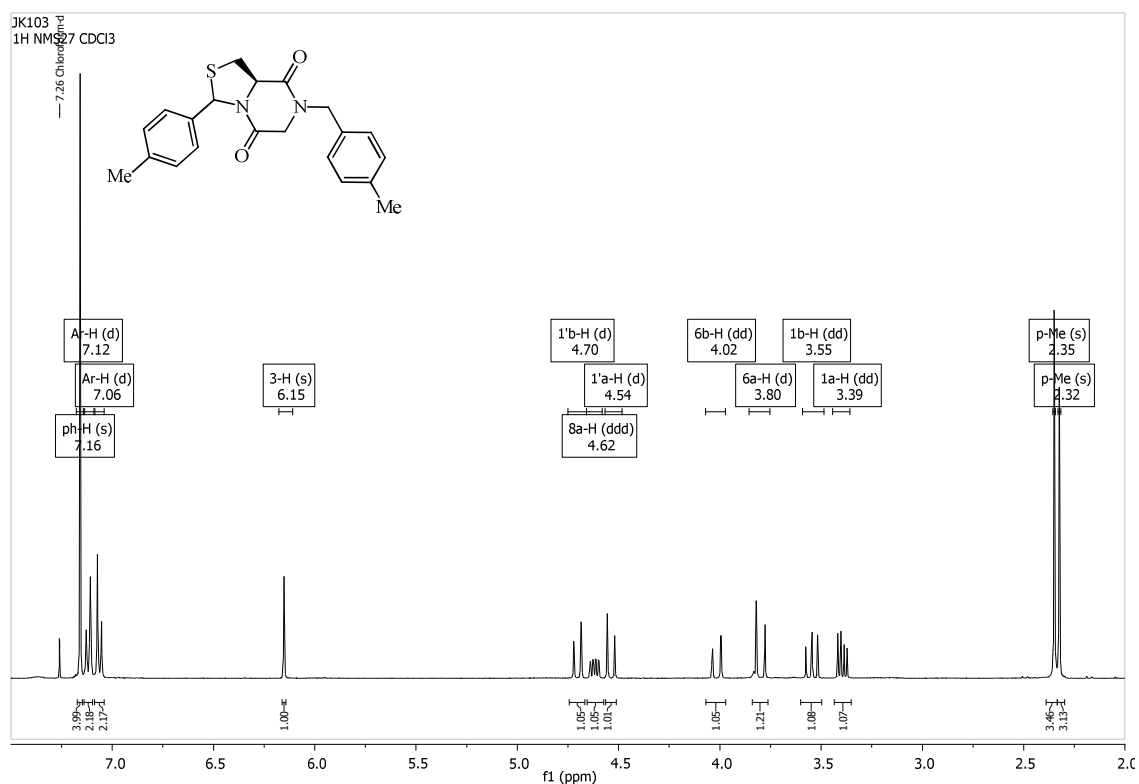
- Espectro infrarrojo del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metilbencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3g**).



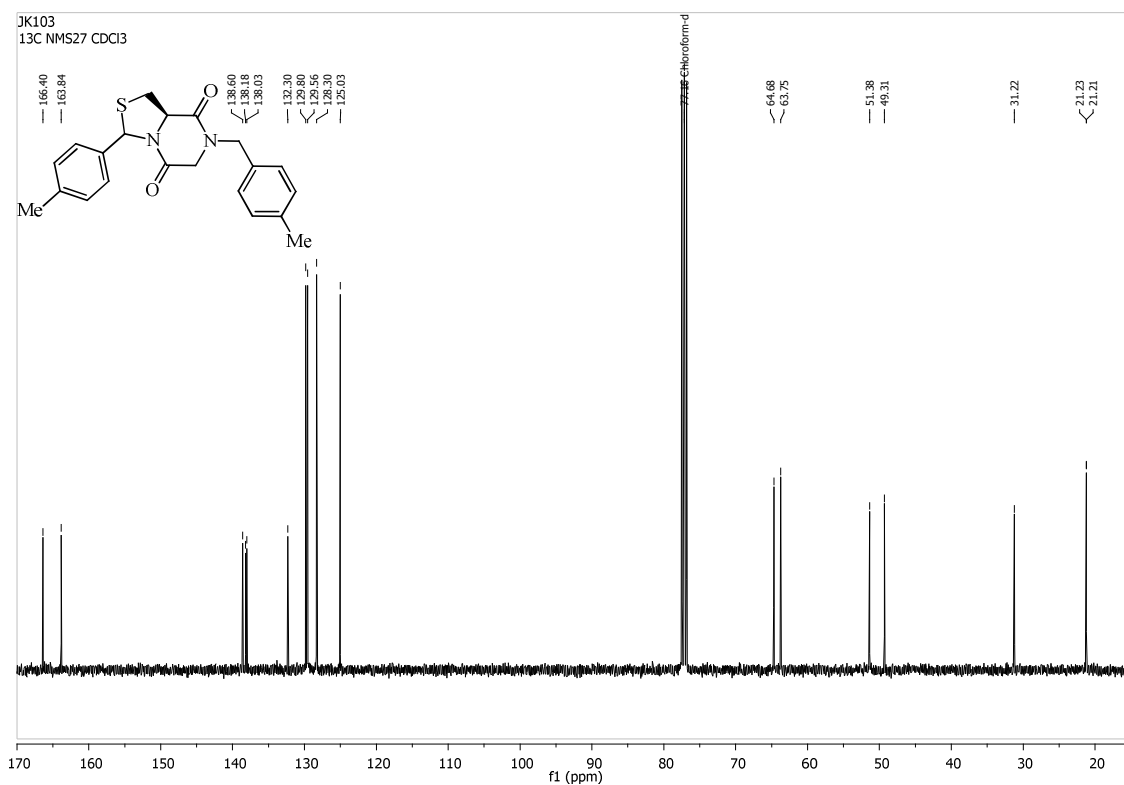
- Espectro ESI-MS del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metilbencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3g**).



- Espectro de ^1H -RMN del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metilbencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3g**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metilbencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3g**).



- Datos ensayo en *Escherichea coli* del (3RS,8aR)-7-(4-metilbencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pyrazin-5,8-diona (**3g**).

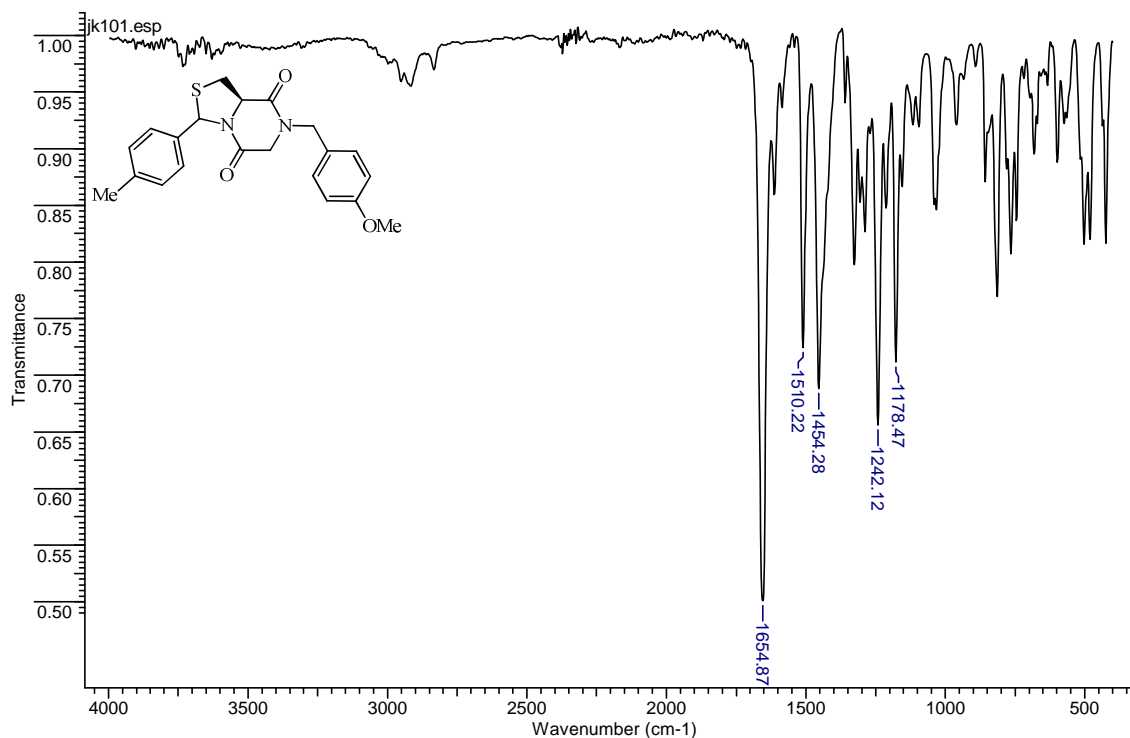
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.098	0.11	0.108	0.106	0.111	0.11
1	0.14	0.103	0.121	0.119	0.12	0.121	0.129
2	0.273	0.174	0.181	0.197	0.205	0.217	0.232
3	0.589	0.321	0.343	0.365	0.388	0.407	0.428
4	0.734	0.502	0.509	0.519	0.537	0.554	0.597
5	0.799	0.591	0.622	0.644	0.657	0.679	0.693
6	0.876	0.661	0.695	0.706	0.711	0.728	0.747
7	0.95	0.695	0.703	0.721	0.743	0.756	0.771
8	0.953	0.7	0.711	0.739	0.754	0.767	0.791

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (3RS,8aR)-7-(4-metilbencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pyrazin-5,8-diona (**3g**).

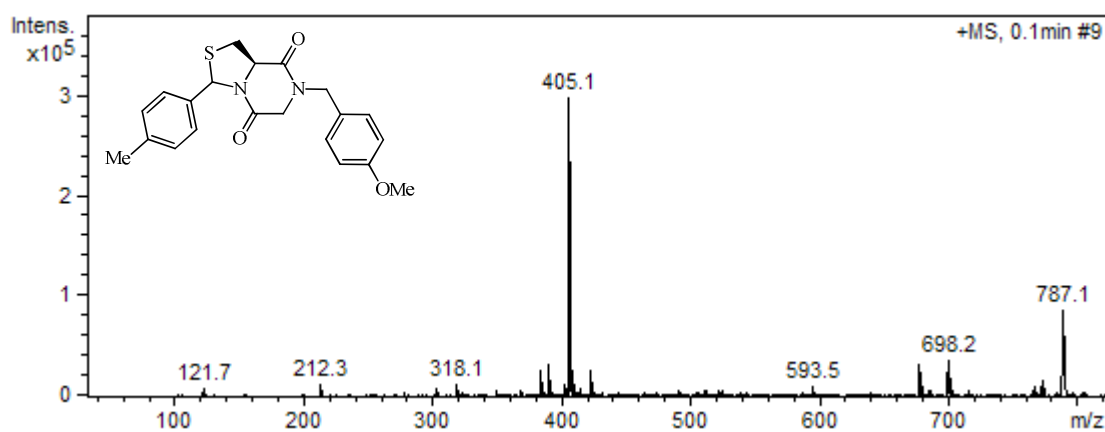
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.081	0.082	0.082	0.081	0.085	0.084
1	0.117	0.121	0.112	0.113	0.113	0.114	0.116
2	0.207	0.173	0.183	0.196	0.197	0.199	0.2049
3	0.296	0.225	0.239	0.241	0.246	0.253	0.262
4	0.411	0.381	0.393	0.401	0.403	0.407	0.403
5	0.748	0.574	0.583	0.595	0.597	0.608	0.606
6	0.832	0.696	0.708	0.712	0.723	0.746	0.754
7	0.908	0.739	0.743	0.768	0.774	0.785	0.796
8	0.907	0.758	0.777	0.781	0.787	0.801	0.821

Anexo P. Espectros IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3h**).

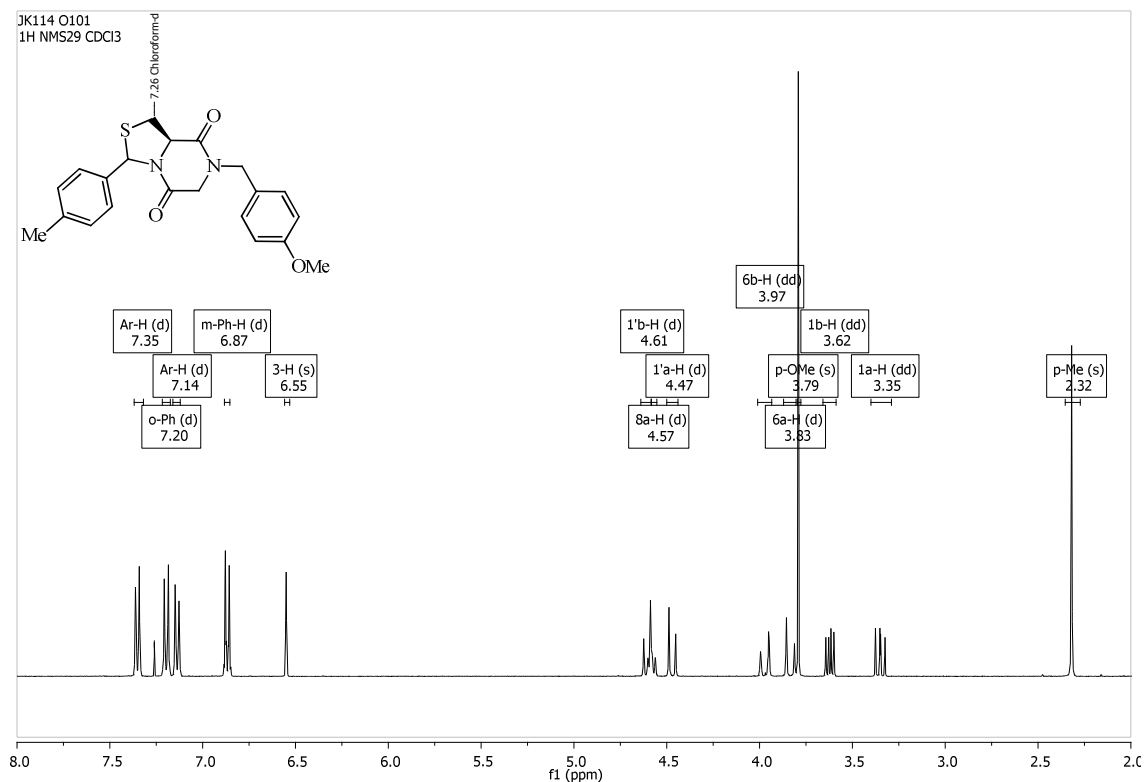
- Espectro infrarrojo del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3h**).



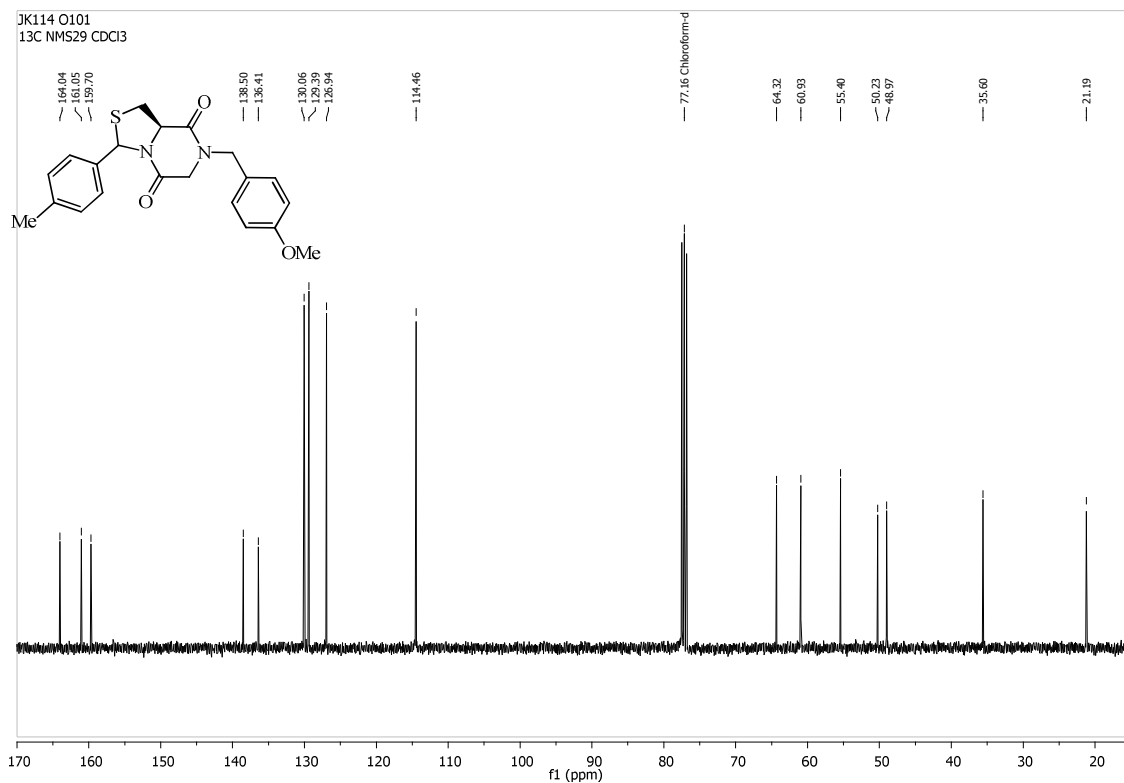
- Espectro ESI-MS del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3h**).



- Espectro de ^1H -RMN del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3h**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3h**).



- Datos ensayo en *Escherichea coli* del (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pyrazin-5,8-diona (**3h**).

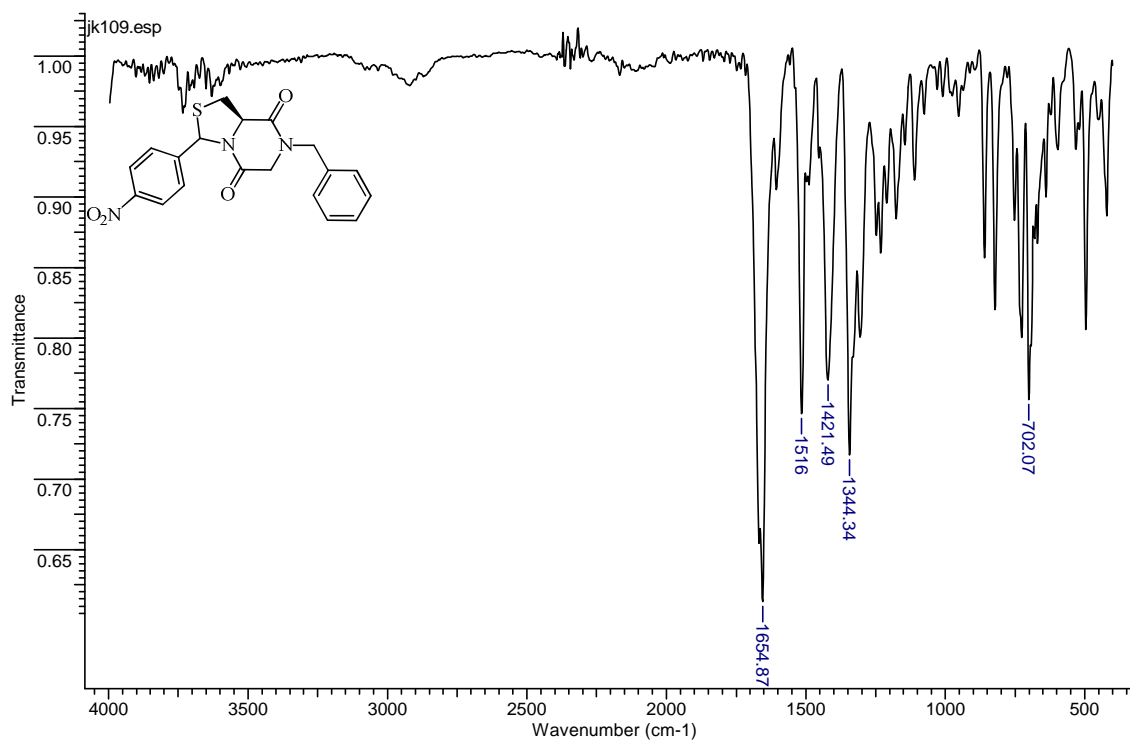
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.097	0.11	0.107	0.108	0.11	0.107
1	0.14	0.113	0.121	0.116	0.121	0.125	0.131
2	0.273	0.191	0.231	0.241	0.255	0.267	0.262
3	0.589	0.372	0.392	0.405	0.418	0.427	0.438
4	0.734	0.532	0.543	0.554	0.567	0.584	0.693
5	0.799	0.643	0.662	0.674	0.687	0.699	0.713
6	0.876	0.705	0.718	0.726	0.741	0.768	0.788
7	0.95	0.722	0.741	0.763	0.773	0.785	0.806
8	0.953	0.756	0.772	0.798	0.814	0.821	0.841

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-metilfenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pyrazin-5,8-diona (**3h**).

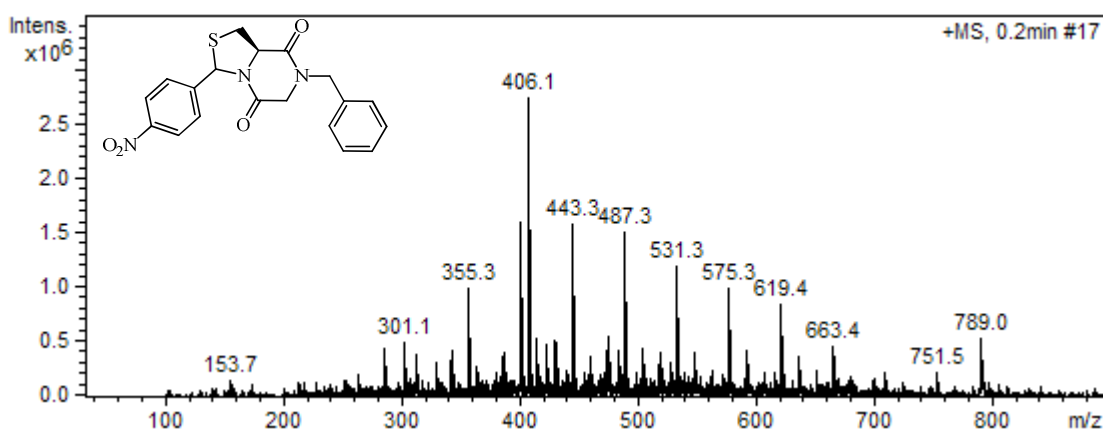
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.081	0.082	0.081	0.085	0.09	0.084
1	0.117	0.111	0.114	0.113	0.114	0.112	0.116
2	0.207	0.181	0.183	0.186	0.191	0.202	0.203
3	0.296	0.226	0.229	0.231	0.246	0.269	0.276
4	0.411	0.384	0.392	0.401	0.412	0.407	0.402
5	0.748	0.579	0.583	0.607	0.613	0.617	0.631
6	0.832	0.704	0.708	0.716	0.733	0.756	0.774
7	0.908	0.748	0.753	0.778	0.784	0.794	0.811
8	0.907	0.761	0.777	0.791	0.808	0.817	0.836

Anexo Q. Espectros IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3i**).

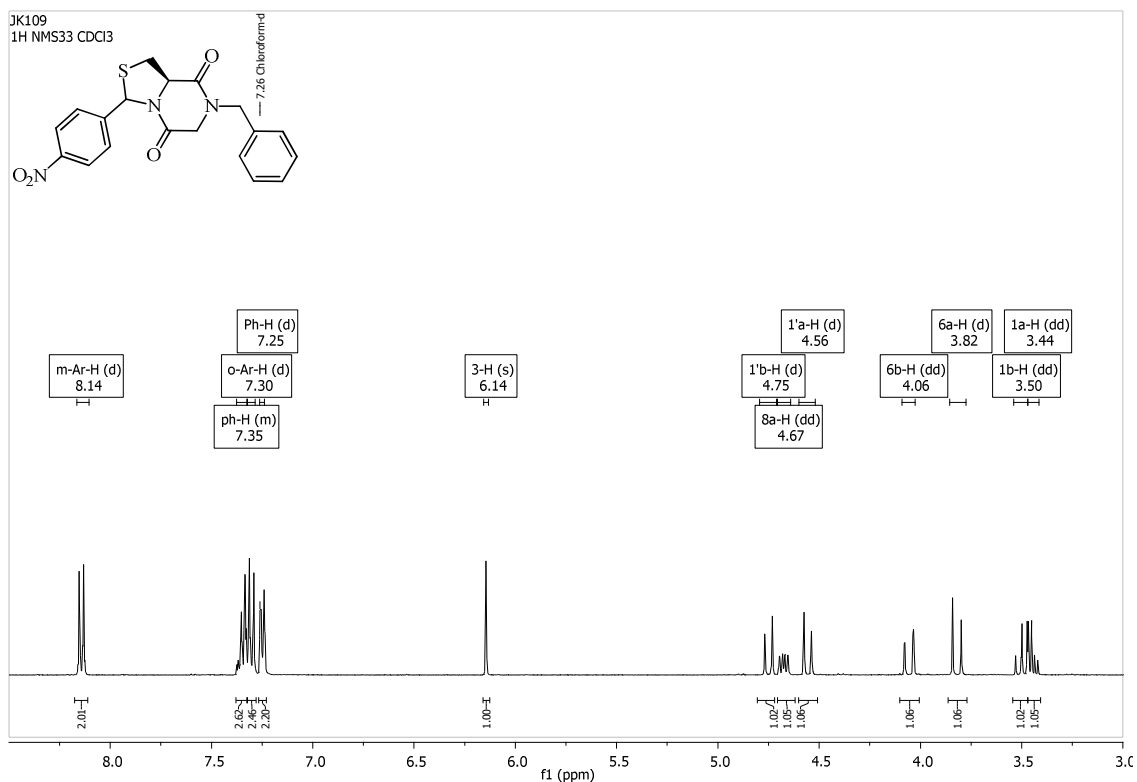
- Espectro infrarrojo del (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3i**).



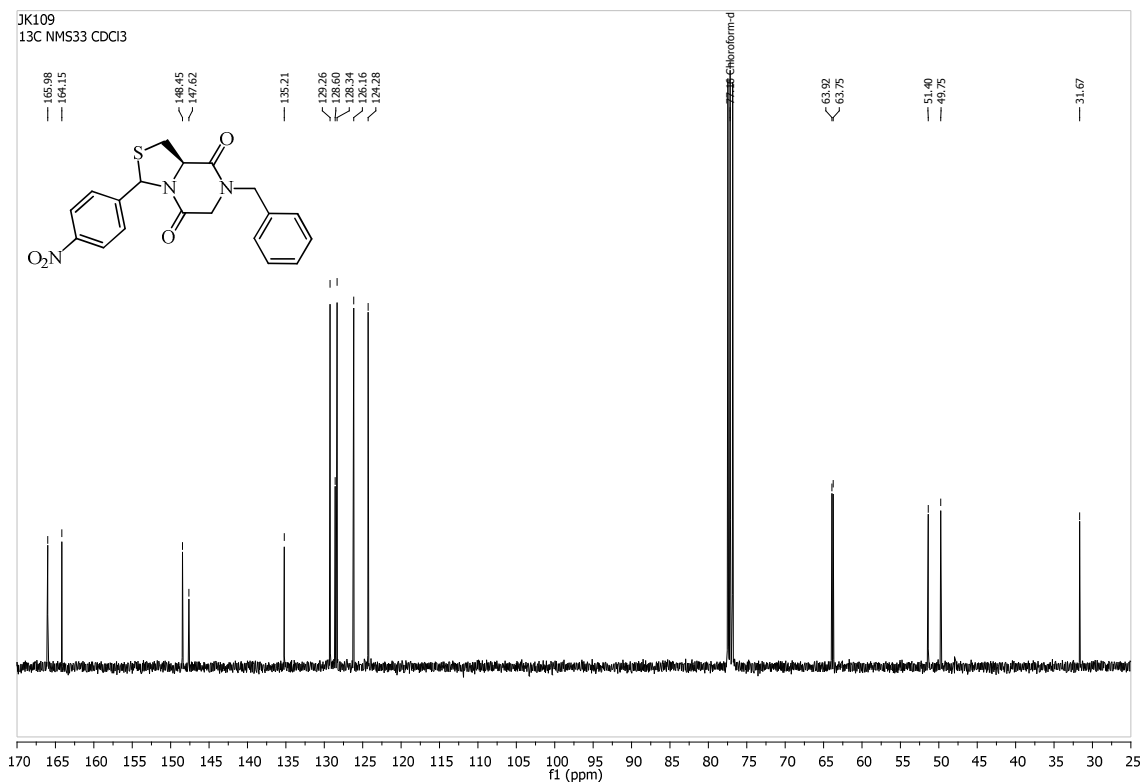
- Espectro ESI-MS del (3*RS*,8*aR*)-7-bencil-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3i**).



- Espectro de ^1H -RMN del (3RS,8aR)-7-bencil-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3i**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (3RS,8aR)-7-bencil-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3i**).



- Datos ensayo en *Escherichea coli* del (3RS,8aR)-7-bencil-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pyrazin-5,8-diona (**3i**).

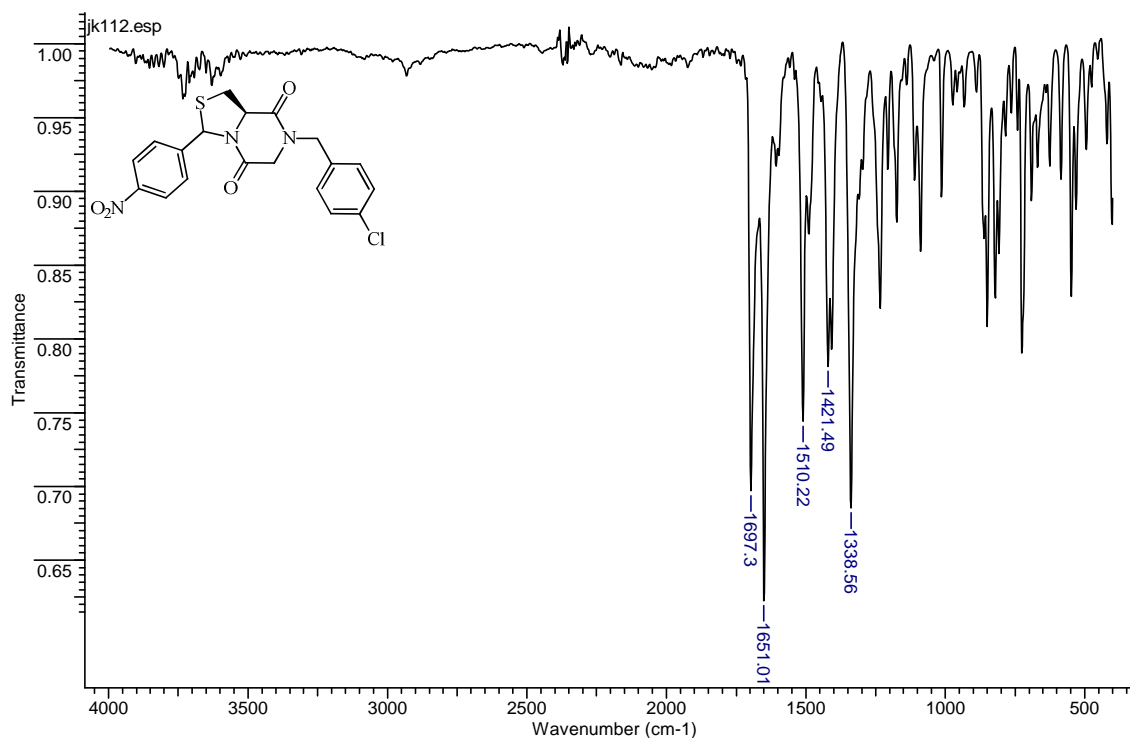
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.098	0.11	0.109	0.106	0.111	0.11
1	0.14	0.113	0.12	0.121	0.123	0.121	0.139
2	0.273	0.184	0.191	0.195	0.201	0.207	0.232
3	0.589	0.311	0.323	0.345	0.368	0.379	0.408
4	0.734	0.492	0.506	0.509	0.527	0.544	0.567
5	0.799	0.581	0.601	0.624	0.637	0.659	0.673
6	0.876	0.641	0.655	0.683	0.695	0.708	0.727
7	0.95	0.657	0.673	0.701	0.713	0.726	0.741
8	0.953	0.683	0.701	0.719	0.734	0.747	0.761

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (3RS,8aR)-7-bencil-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pyrazin-5,8-diona (**3i**).

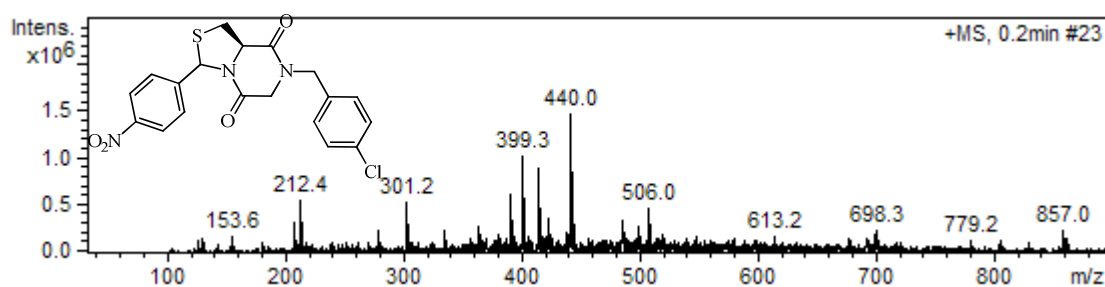
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.081	0.081	0.081	0.08	0.084	0.083
1	0.117	0.111	0.11	0.111	0.113	0.114	0.119
2	0.207	0.153	0.163	0.186	0.191	0.195	0.204
3	0.296	0.204	0.229	0.241	0.245	0.253	0.262
4	0.411	0.343	0.372	0.391	0.401	0.406	0.404
5	0.748	0.551	0.563	0.585	0.597	0.611	0.626
6	0.832	0.651	0.671	0.692	0.703	0.726	0.734
7	0.908	0.721	0.733	0.748	0.754	0.765	0.786
8	0.907	0.728	0.747	0.751	0.777	0.782	0.801

Anexo R. Espectros IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (3*RS*,8*aR*)-7-(4-clorobencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3j**).

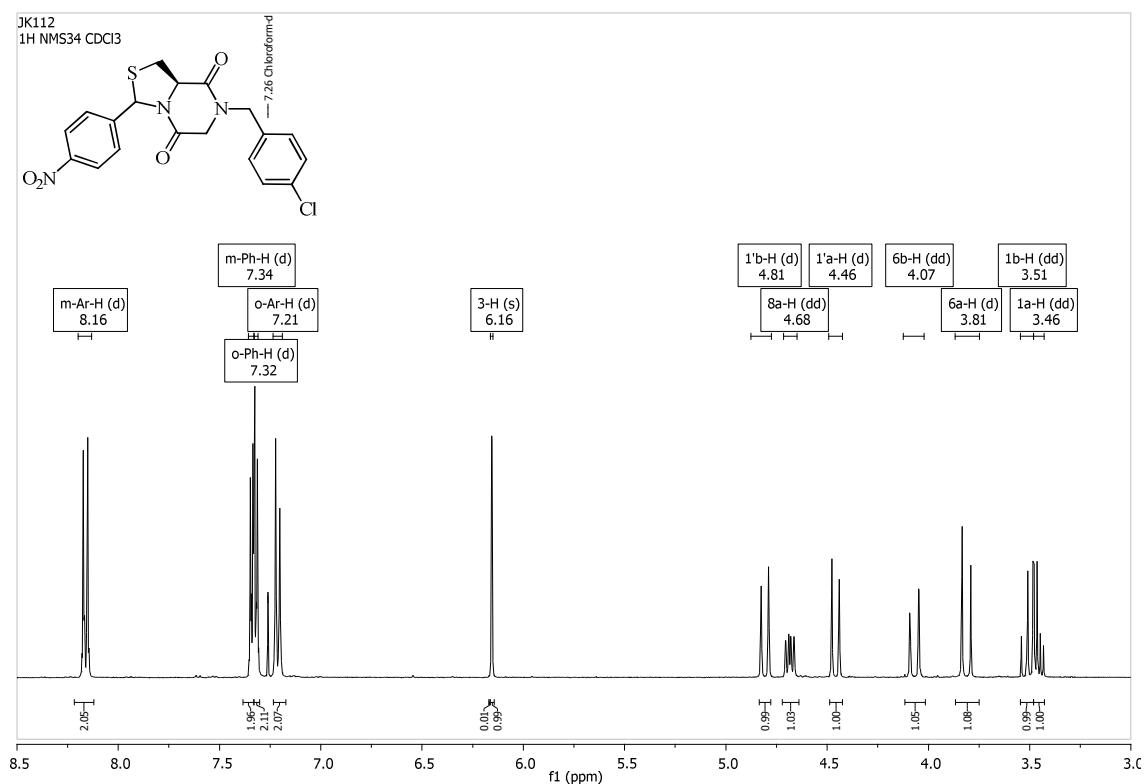
- Espectro infrarrojo del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-clorobencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3j**).



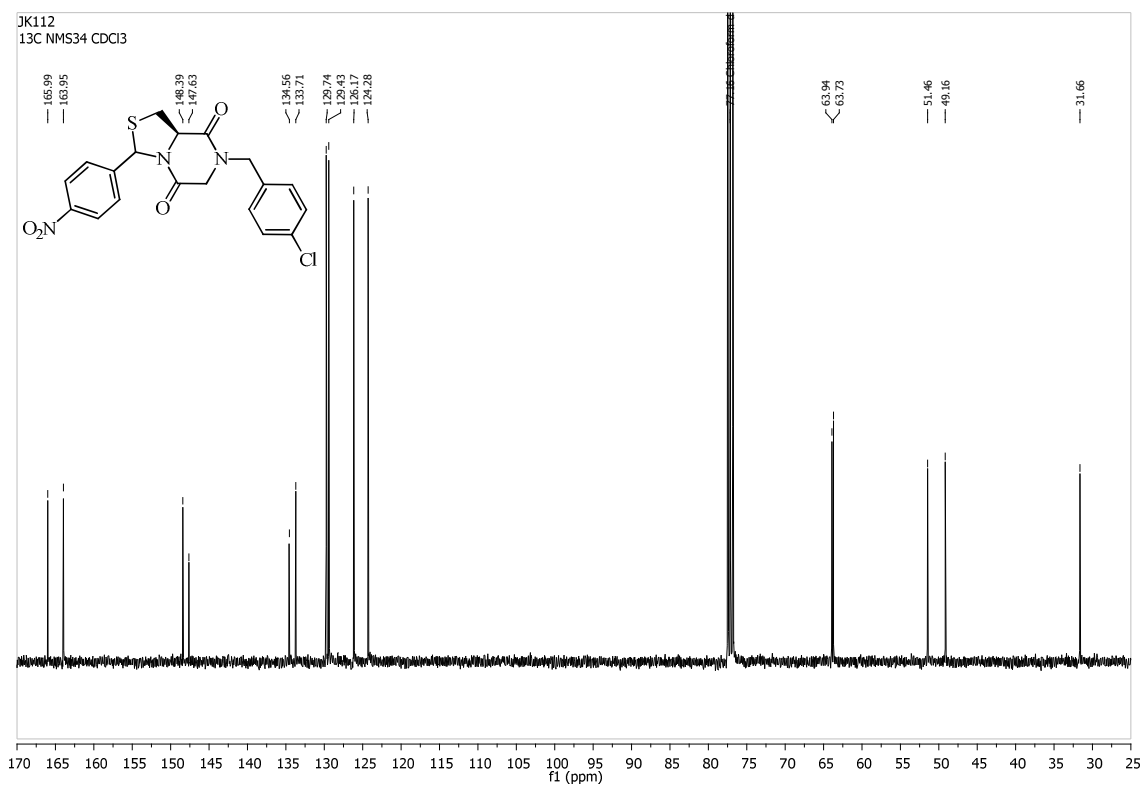
- Espectro ESI-MS del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-clorobencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3j**).



- Espectro de ^1H -RMN del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-clorobencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3i**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-clorobencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3i**).



- Datos ensayo en *Escherichea coli* del (3RS,8aR)-7-(4-clorobencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pyrazin-5,8-diona (**3j**).

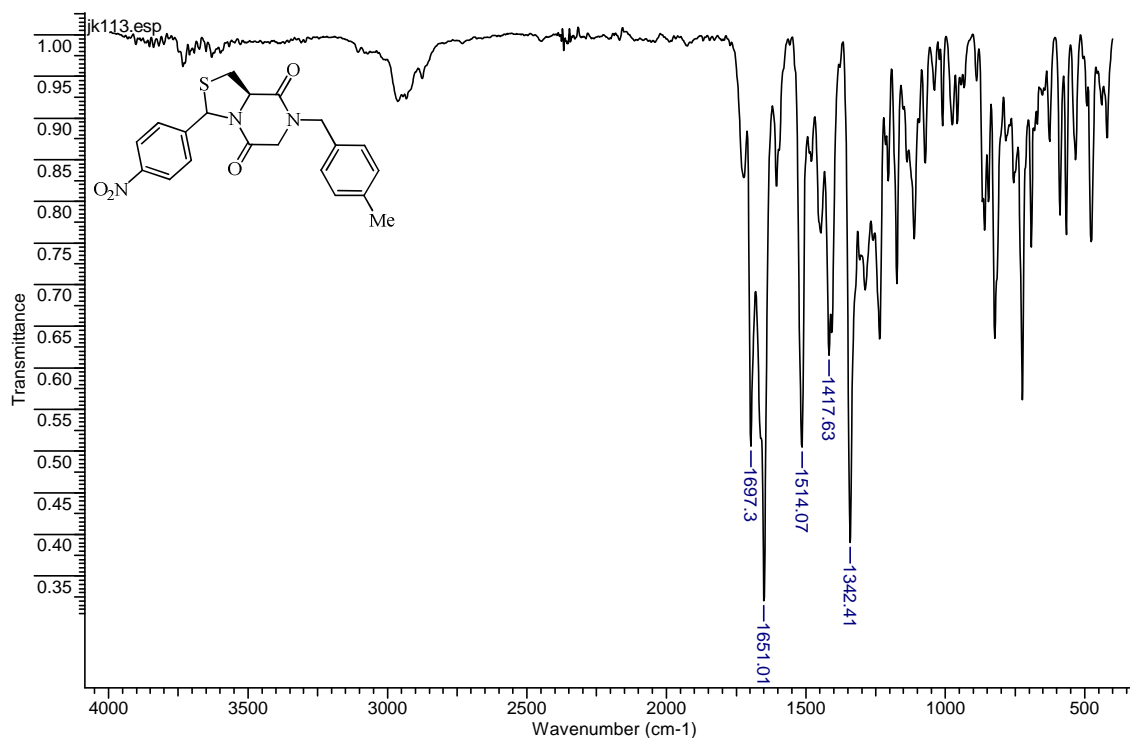
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.099	0.113	0.107	0.108	0.113	0.11
1	0.14	0.113	0.122	0.121	0.123	0.122	0.129
2	0.273	0.195	0.201	0.205	0.211	0.217	0.232
3	0.589	0.301	0.323	0.345	0.358	0.379	0.398
4	0.734	0.499	0.506	0.519	0.527	0.542	0.557
5	0.799	0.591	0.604	0.614	0.637	0.649	0.663
6	0.876	0.663	0.675	0.693	0.705	0.718	0.737
7	0.95	0.697	0.703	0.721	0.731	0.746	0.751
8	0.953	0.712	0.721	0.739	0.754	0.769	0.789

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (3RS,8aR)-7-(4-clorobencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pyrazin-5,8-diona (**3j**).

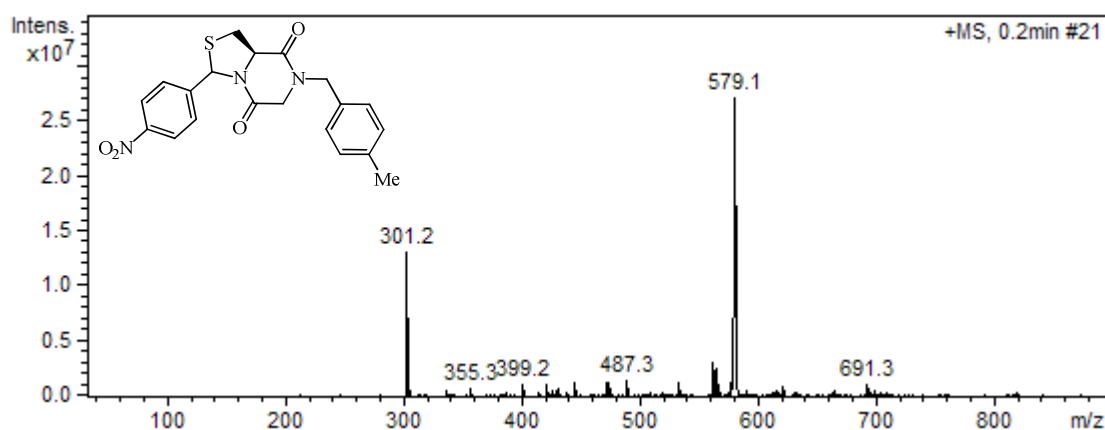
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.082	0.08	0.081	0.08	0.084	0.083
1	0.117	0.112	0.111	0.112	0.114	0.113	0.117
2	0.207	0.173	0.183	0.196	0.198	0.195	0.204
3	0.296	0.234	0.241	0.261	0.275	0.283	0.292
4	0.411	0.353	0.372	0.397	0.401	0.406	0.405
5	0.748	0.572	0.583	0.605	0.617	0.625	0.646
6	0.832	0.653	0.681	0.691	0.703	0.716	0.734
7	0.908	0.741	0.754	0.768	0.774	0.785	0.796
8	0.907	0.768	0.787	0.791	0.797	0.802	0.823

Anexo S. Espectros IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C , ^1H - ^1H COSY, HSQC y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metilbencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3k**).

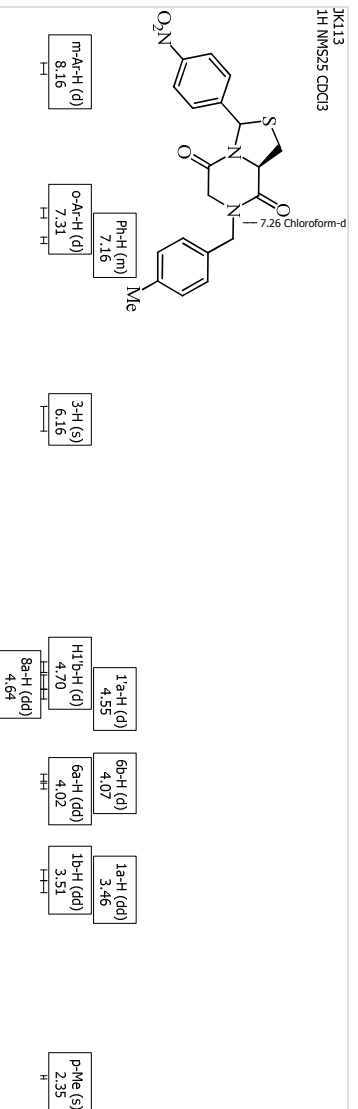
- Espectro infrarrojo del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metilbencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3k**).



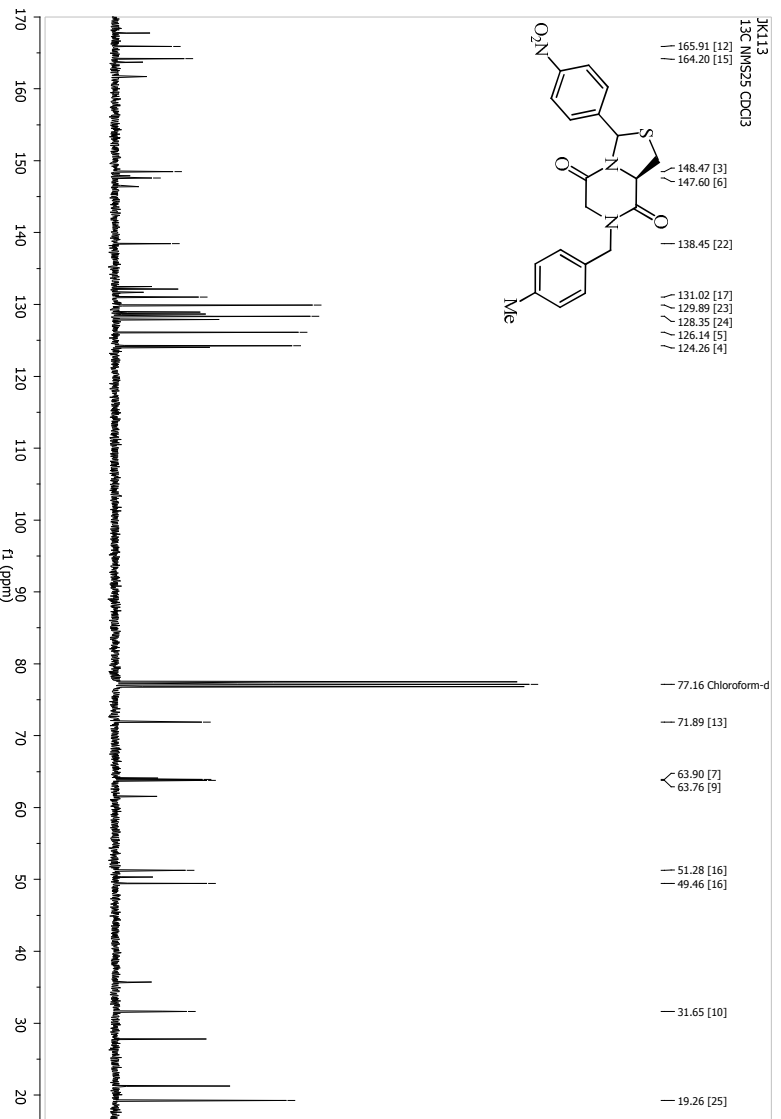
- Espectro ESI-MS del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metilbencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3k**).



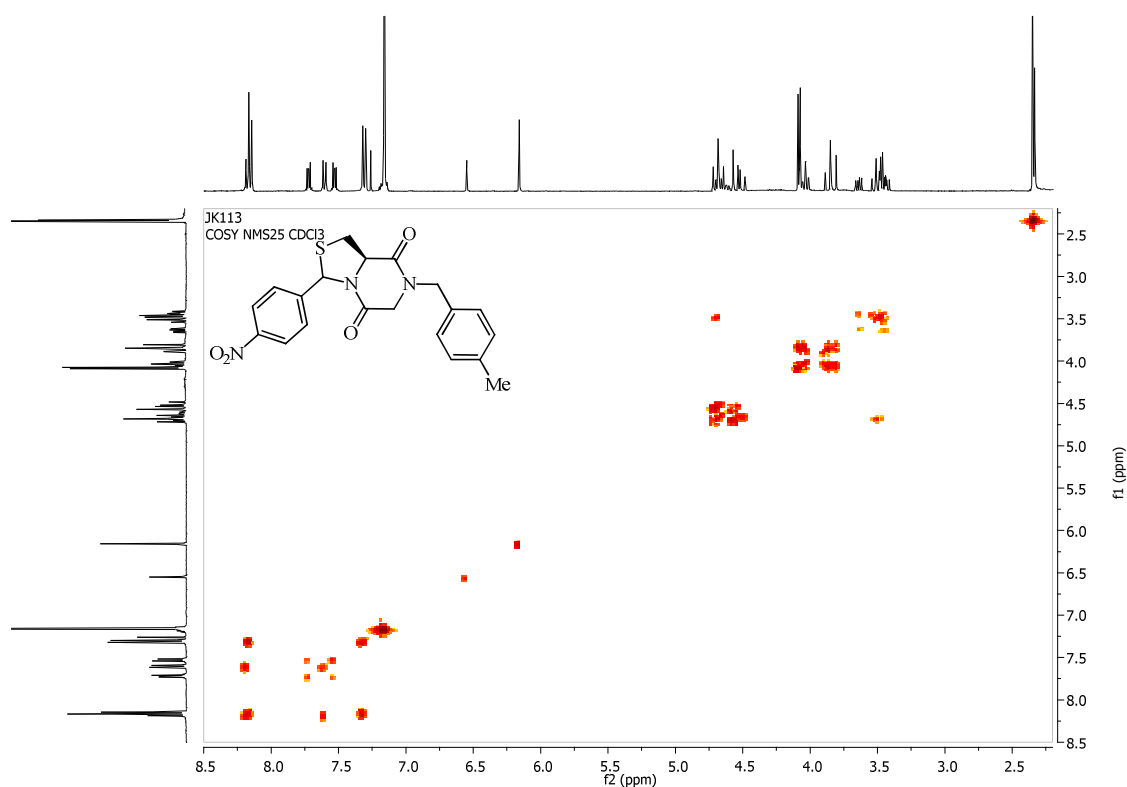
- Espectro de ^1H -RMN del (3RS,8aR)-7-(4-metilbencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolol[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3k**).



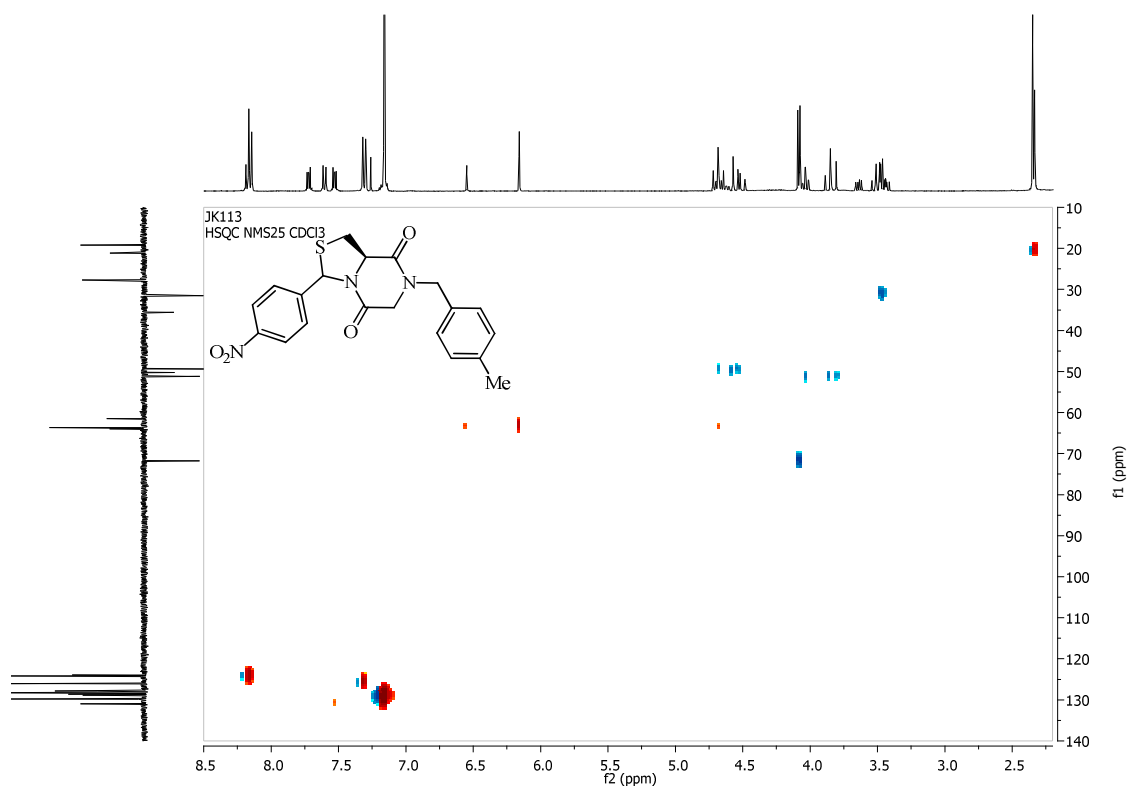
- Espectro de ^{13}C -RMN del (3RS,8aR)-7-(4-metilbencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolol[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**3k**).



- Espectro $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metilbencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3k**).



- Espectro HSQC del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metilbencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3k**).



- Datos ensayo en *Escherichea coli* del (3RS,8aR)-7-(4-metilbencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pyrazin-5,8-diona (**3k**).

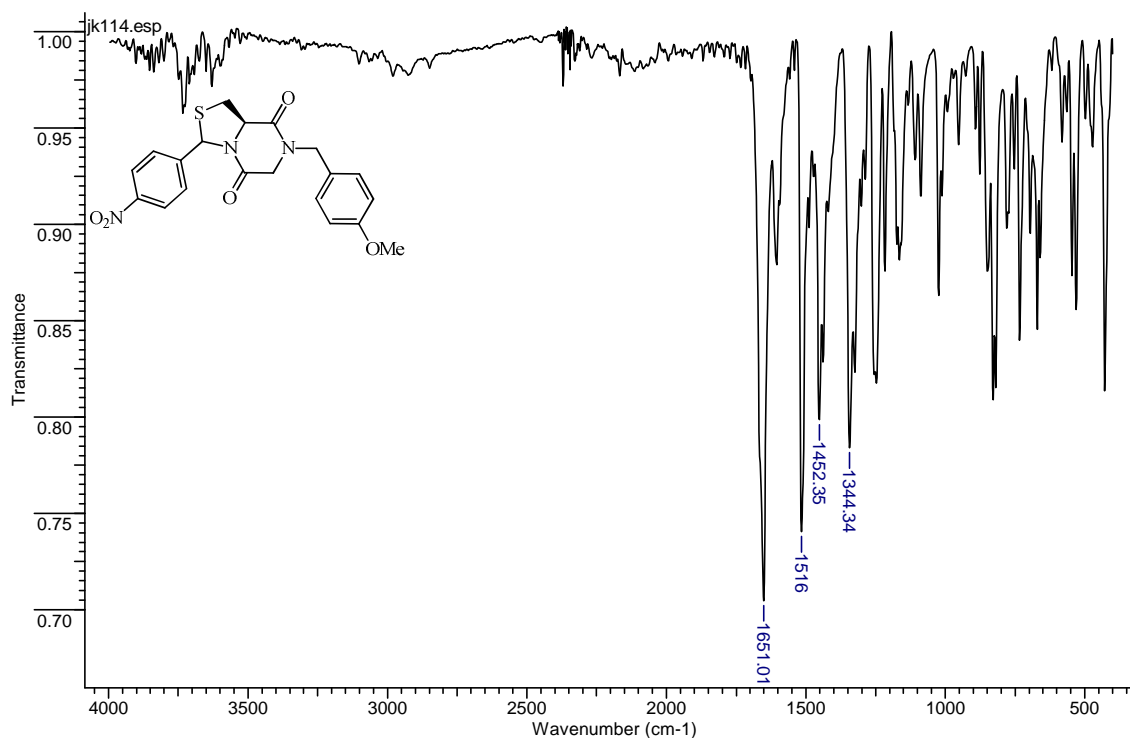
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.092	0.112	0.108	0.106	0.109	0.109
1	0.14	0.111	0.121	0.123	0.122	0.125	0.131
2	0.273	0.181	0.205	0.211	0.215	0.217	0.222
3	0.589	0.342	0.351	0.365	0.378	0.377	0.378
4	0.734	0.541	0.543	0.544	0.557	0.574	0.593
5	0.799	0.649	0.662	0.674	0.677	0.697	0.703
6	0.876	0.705	0.728	0.736	0.751	0.768	0.778
7	0.95	0.712	0.731	0.759	0.771	0.775	0.786
8	0.953	0.726	0.736	0.768	0.774	0.781	0.792

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (3RS,8aR)-7-(4-metilbencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pyrazin-5,8-diona (**3k**).

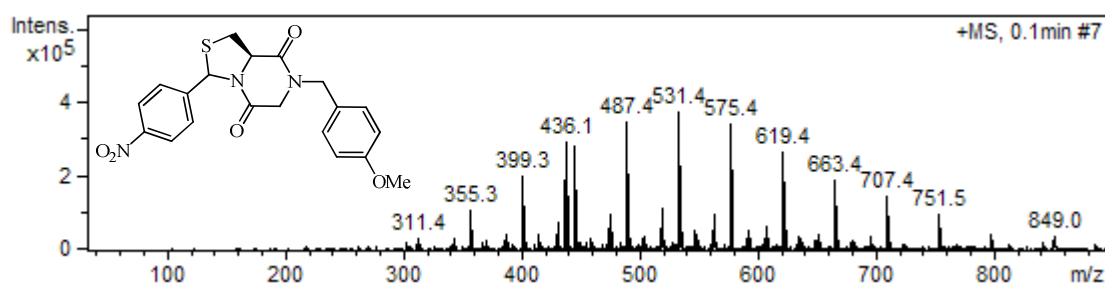
Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.079	0.079	0.08	0.085	0.087	0.084
1	0.117	0.112	0.115	0.116	0.114	0.115	0.114
2	0.207	0.183	0.181	0.184	0.201	0.203	0.203
3	0.296	0.216	0.219	0.251	0.266	0.289	0.286
4	0.411	0.384	0.397	0.401	0.409	0.407	0.407
5	0.748	0.589	0.603	0.637	0.663	0.687	0.691
6	0.832	0.714	0.727	0.746	0.763	0.761	0.794
7	0.908	0.758	0.773	0.798	0.801	0.814	0.831
8	0.907	0.774	0.797	0.805	0.818	0.821	0.826

Anexo T. Espectros IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C y datos de ensayos biológicos en *E. coli* y *S. aureus* de (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**31**).

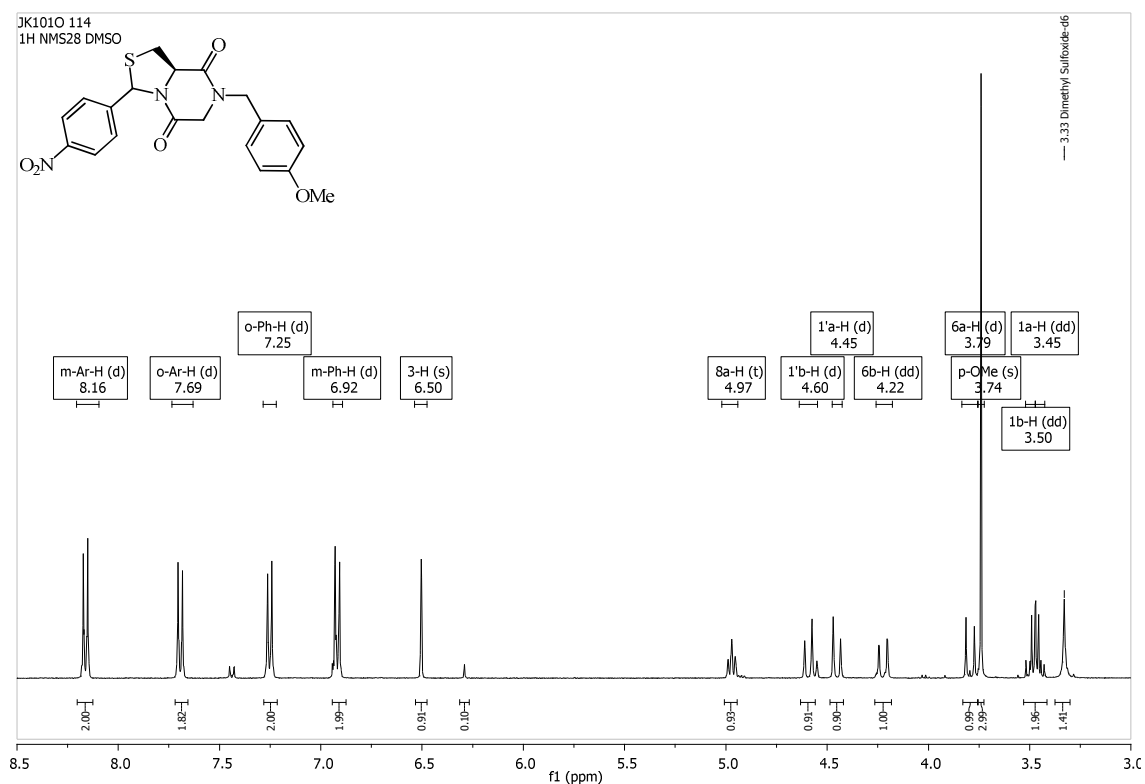
- Espectro infrarrojo del (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**31**).



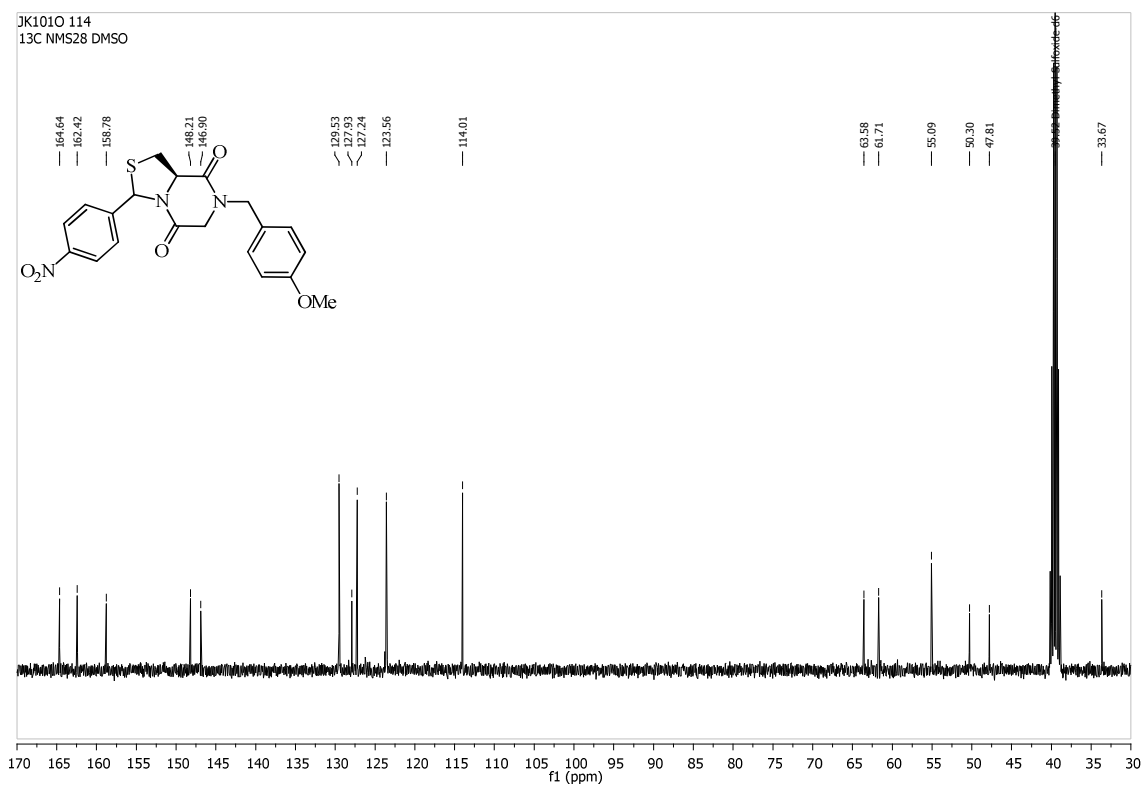
- Espectro ESI-MS del (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pirazin-5,8-diona (**31**).



- Espectro de ^1H -RMN del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3**).



- Espectro de ^{13}C -RMN del (3*RS*,8*aR*)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-*a*]pirazin-5,8-diona (**3**).



- Datos ensayo en *Escherichea coli* del (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pyrazin-5,8-diona (**3I**).

Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.1	0.094	0.112	0.108	0.106	0.109	0.109
1	0.14	0.111	0.121	0.123	0.122	0.125	0.131
2	0.273	0.191	0.205	0.211	0.215	0.217	0.222
3	0.589	0.352	0.351	0.365	0.378	0.377	0.378
4	0.734	0.531	0.543	0.544	0.557	0.574	0.593
5	0.799	0.639	0.662	0.674	0.677	0.697	0.703
6	0.876	0.715	0.728	0.736	0.751	0.768	0.778
7	0.95	0.732	0.731	0.759	0.771	0.775	0.786
8	0.953	0.746	0.736	0.768	0.774	0.781	0.792

- Datos ensayo en *Staphylococcus aureus* resistente a metilcilina (SARM) del (3RS,8aR)-7-(4-metoxibencil)-3-(4-nitrofenil)tetrahidrotiazolo[3,4-a]pyrazin-5,8-diona (**3I**).

Tiempo	Blanco	100	50	25	10	5	0.5
0	0.082	0.089	0.089	0.08	0.085	0.088	0.087
1	0.117	0.114	0.115	0.116	0.114	0.114	0.114
2	0.207	0.193	0.191	0.194	0.201	0.203	0.205
3	0.296	0.226	0.229	0.231	0.256	0.279	0.286
4	0.411	0.384	0.387	0.391	0.419	0.417	0.407
5	0.748	0.579	0.583	0.647	0.663	0.677	0.691
6	0.832	0.704	0.717	0.756	0.743	0.751	0.784
7	0.908	0.748	0.753	0.808	0.818	0.824	0.831
8	0.907	0.764	0.767	0.815	0.838	0.841	0.856