UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

# “INFLUENCIA DE RADIACIÓN DE MICROONDAS EN LA HIDRÓLISIS DE α, α-PÉPTIDOS CON HIDRÓXIDO DE LITIO”

**TESIS**

Que presenta

**Francisco Javier Torres Mejía**

Para obtener el título de

**Químico Farmacobiólogo**

Asesor:

**Maestro en ciencias Químicas Ramón Guzmán Mejía**

Co-Asesora:

**Doctora en ciencias Químicas  Judit Araceli Aviña Verduzco**

Morelia, Michoacán, Enero 2015

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Síntesis de Química Orgánica del Instituto de Investigaciones de Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la dirección de M.C. Ramón Guzmán Mejía y de la D.C. Judit Araceli Aviña Verduzco, se realizó con financiamiento del Proyecto 2.34 aprobado por la coordinación de la investigación científica (ClC-UMSNH) y proyecto CB-2009-131812-Q de Ciencia Básica aprobado por el Consejo Nacional de Ciencia Y Tecnología (CONACyT). Se contó con una beca de titulación del Programa Nacional de Becas, Comisión Nacional de Becas de Educación Superior (CNBES)-SEP.

Parte de este trabajo se presentó en el XIX Congreso de la Investigación Científica y Tecnológica del Pacífico llevado a cabo en nuevo Vallarta Nayarit del 20 al 23 de agosto del 2014.

**DEDICATORIA**

Al creador de todas las cosas, el que me ha dado fortaleza para continuar, cuando a punto de caer he estado; Por ello con toda humildad puedo emanar, a dedicar primeramente este trabajo de tesis a **DIOS**, por quien me ha permitido concluir esta etapa de mi vida.

A mis padres **Mario Torres Sarabia**, y **Ma. Elena Mejía Solano**, por su amor, sacrificio, por sus consejos y la confianza que han depositado en mi durante estos años, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy, es un privilegio ser hijo, son los mejores padres.

A mi tío **Alberto Mejía Solano**, porque ha sido usted un pilar muy importante para mi superación personal, ya que me ha brindado un gran valioso apoyo y cariño día con día a lo largo de mi carrera y durante estos 23 años de vida, por lo que considero como mi segundo papá, gracias tío Beto.

A Mis hermanos **Jesús**, **Mario**, y **Alejandro**, porque a partir de ustedes he adquirido ejemplos, que me han servido para tomar decisiones e ir me por el camino correcto.

A mis sobrinos **Cintia**, **Lupita**, **Mayin**, **Alex**, y **Lupis,** a pesar de ser un Tío estricto por que hacen frustrar, en ustedes niños encuentro a dios, porque están llenos de ternura, de paz y de amor.

A mi abuelita **Senorína Sarabia Hernández†**, que a pesar de que yo era pequeño me enseñaste, a partir de tu personalidad fuerte, a proponerme objetivos y cumplirlos se ha cualquier el obstáculo que se presente.

A mi abuelita **Ofelia Solano Saldaña†,** por enseñarme a ser continuo, además adquirí tenacidad con tus sabios consejos de que terminara mi carrera, y a mi abuelito **Salvador Mejía López†**, porque de usted aprendí a tener paciencia y aceptar las cosas malas que se me presenten en la vida, y a pesar de las circunstancias que me pueda encontrar, me dejaste el gran ejemplo, que al contrario debo de disfrutar cada momento de mi vida y de ser fuerte con lo que me vaya enfrentar el día de mañana.

**AGRADECIMIENTOS**

Son muchas las personas especiales a las que me gustaría agradecer, por su amistad su apoyo, ánimo y compañía durante estos años. Algunas están aun conmigo y otras en mis recuerdos y en el corazón.

A mi asesor de tesis M.C. Ramón Guzmán Mejía agradecerle por sus conocimientos, sus orientaciones, su manera de trabajar, su paciencia y su motivación, que han sido fundamentales para la realización de este trabajo. Así como le agradezco por brindarme su amistad, su apoyo por sus sabios consejos, muchas gracias.

Agradezco a usted DC. Judit Araceli Aviña Verduzco, quien me abrió las puertas de su laboratorio y me permitió formar parte de su equipo de trabajo de investigación, así por enseñarme el área de la investigación científica y, además de contribuir y enriquecer en este trabajo de tesis con su gran conocimiento y preparación en ciencias químicas.

A las Doctoras J. Janett Betzabe González Campos, Gabriela Rodríguez Martínez, Yliana López Castro y a los Maestros en Ciencias Gerardo Morán López y Juan Pablo García Merinos por su disponibilidad para enriquecer enormemente el presente trabajo mediante sus observaciones y sugerencias, muchas gracias

Al M.C. Mario por darme la oportunidad de ser su compañero y capacitarme en el laboratorio de síntesis, que a pesar de que me dejaba hacer lo que a muchos no les gusta las cromatografías en columnas, pero aprendí mucho durante su realización de su proyecto de investigación de maestría.

Alejandro, y Maribel porque son unos grandes amigos que encontré en el laboratorio, con los cuales pasamos momentos muy agradables, gracias por su amistad.

A mis compañeros y amigos: Lupita, Juan Jourdán Jesús, Angy, Juan Carlos, Mayra, Miguel, Gera, Maribel, Jesy, Karina, Fany, Julio, Marisol, Omar , que entre todos hacen un lugar agradable para trabajar en el laboratorio, gracias por esos momentos de convivencia.

Jesica Vidal mi mejor amiga de la facultad que durante estos 5 años, hemos llevado una bonita amistad, apoyándonos en las buenas y en las malas, y pasando unos momentos agradables que ni nosotros mis nos aguantamos de reír de tanta….jeje cosa que decimos, gracias Jessica por tu amistad.

Pablo, Rosa, Iñaki, Lupita, Layt, Santander y Leocas, Xavier por ser mis amigos en la facultad, quienes me brindaron su sincera amistad, y a mis compañeros de la sección 06 de la facultad, gracias por los momentos de convivencia.

Mónica mi mejor amiga de la preparatoria, gracias por tu gran amistad y consejos y apoyo, y por tu sincera amistad.

A mí amigo de la infancia Cesar, gracias por tus consejos, y palabras de ánimo gracias amigo.

Q.F.B Antonio Mejía por que fue un pilar importante, en el rumbo que he decidido tomar que es la área de la investigación, ya que tú me abriste las puertas de tu laboratorio de análisis clínicos y me di cuenta que no me gustaba mucho esa área, además te agradezco por tus consejos.

C.P Humberto López por su amistad, y depositar su confianza en mí, gracias contador por su palabras de si se puede ¡te irá bien¡ gracias por abrirme las puertas de su casa y apoyarme durante este tiempo de mi formación , lo considero parte de la familia gracias Contador.

A la familia TORRES MEJIA por todos los que creyeron en mí y quienes nunca dudaron de que este momento llegaría.

## ÍNDICE

**ABREVIATURAS, SÌMBOLOS Y ACRONIMOS**..... 1
**RESUMEN**..... 3
**ABSTRACT**..... 4

**1.- INTRODUCCIÓN**..... 5

**2.- ANTECEDENTES**..... 8

2.1 Energía de microondas..... 8
2.2 Efecto de la radiación de microondas..... 10
2.3 Uso de las microondas en la síntesis orgánica..... 13
2.4 Aminoácidos y Péptidos..... 16
2.5 Uso de la radiación de microondas en la síntesis de péptidos..... 20

**3.- JUSTIFICACIÓN**..... 24

**4.- OBJETIVOS**..... 25

4.1 Objetivo general..... 25
4.2 Objetivos específicos..... 26

**5.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN**..... 28

5.1 Síntesis de péptidos..... 28
5.2 Reacción de hidrólisis básica asistida por microondas..... 33

**6.- CONCLUSIONES**..... 44

**7- PARTE EXPERIMENTAL**..... 45

7.1 Aspectos generales..... 45
7.2 Procedimiento general de la *N*-protección de aminoácidos con cloroformiato de bencilo (CbzCl)..... 46
7.2.1 Cbz-*N*-*L*-Triptófano, 4..... 46
7.2.2 Cbz-*N*-*L*-Fenilalanina 5..... 47
7.2.3 Cbz-*N*-*L*-Alanina, 6..... 48
7.3 Clorhidrato del α-aminoacetato de metilo, 8..... 48
7.4 Procedimiento general para el acoplamiento de aminoácidos vía anhídridos mixtos..... 49
7.4.1 Cbz-*N*-*L*-Trp-Gli-OMe, 9..... 50

7.4.2 Cbz-*N*-*L*-Phe-Gli-OMe, 10……. 50
7.4.3 Cbz-*N*-*L*-Ala-Gli-OMe, 11……..... 50
7.5 Procedimiento general para la desprotección-ciclación de los péptidos bajo irradiación de microondas……... 51
7.5.1 (*S*)-4-metilen-indolin-1-oxa-3,6-diazocan-2,5,8-triona, (*S*)-13…… 51
7.5.2 (*S*)-4-bencil-1-oxa-3,6-diazocan-2,5,8-triona, (*S*)-14…….. 52
7.5.3 (*S*)-4-metil-1-oxa-3,6-diazocan-2,5,8-triona, (*S*)-15……. 53
7.6 Cbz-*N*-*L*-Trp-Gli-OH, 9´……. 53
7.7 *N*-*L*-Trp-Gli-OH, 12…… 54

**8.- BIBLIOGRAFÍA**…….. 55

**ANEXOS**..... 57

## ABREVIATURAS, SÍMBOLOS y ACRÓNIMOS

| | |
|---|---|
| δ | Desplazamiento químico |
| Aa | Aminoácido |
| Ala | Alanina |
| α | Alfa |
| β | Beta |
| AcOEt | Acetato de etilo |
| BOC | ter-butoxicabonil |
| $^{o}C$ | Grados Celsius |
| Cbz | Benciloxicarbonil |
| CbzCl | Cloroformiato de bencilo |
| CER | Condiciones estándar de reacción |
| d | Señal doble |
| dd | Señal doble de doble |
| ddd | Señal doble de dobles de dobles |
| DCM | Dicloro metano |
| DMF | Dimetilformamida |
| DMSO | Dimeltilsulfoxido |
| EPA | Agencia de Protección al Ambiente |
| Fmoc | Fluoroenil |
| Gli | Glicina |
| h | hora |
| *i*-BBCl | Cloroformiato de isobutilo |

| | |
|---|---|
| *i*-PrOH | Isopropanol |
| QV | Química Verde |
| M | Concentración Molar |
| m | Señal multiple |
| MeOH | Metanol |
| MO | Microondas |
| MAOS | Síntesis química por Microondas |
| Mw | Radiación de Microondas |
| N | Concentración Normal |
| NMM | Metil Morfolina |
| Phe | Fenilalanina |
| R*f* | Factor de retención |
| RMN | Resonancia Magnética Nuclear |
| *s* | Señal simple |
| $SOCl_2$ | Cloruro de tionilo |
| *t* | Señal triple |
| THF | Tetrahidrofurano |

## RESUMEN

En las últimas dos décadas la preparación de compuestos orgánicos facilitada por las microondas se ha convertido en uno de los procedimientos más utilizados y apreciados en síntesis química. Se ha demostrado que la energía proporcionada por radiación de microondas conduce a una reducción notable de los tiempos de reacción, así como a un aumento en los rendimientos de la misma. Además, se ha observado una disminución en la formación de productos secundarios o generación de residuos, de modo que los productos de interés se obtienen en mayor rendimiento que el encontrado bajo condiciones de calentamiento tradicional.

Es así que en el presente trabajo se describe la hidrólisis básica de $\alpha,\alpha$-péptidos con LiOH utilizando la técnica de radiación de microondas, generando como producto de reacción heterociclos de 8 miembros. También se describe la caracterización de estos ciclos por medio de métodos espectroscópicos.

**Palabras clave:** Radiación de microondas, aminoácidos, hidrólisis.

## ABSTRACT

During the last two decades, the preparation of organic compounds using microwave radiation has become one of the most useful and appreciated procedures in organic synthesis. It has been demonstrated that the use of microwaves in chemical synthesis reduces reaction times considerably when compared with conventional methods of heating. Furthermore, the use of microwave radiation has shown to improve reaction yields as the formation of by-products is significantly reduced.

Described herein is the microwave-assisted alkaline hydrolysis of, α,α-peptides using LiOH and the formation of eight-membered heterocycles as reaction products. Spectroscopic characterisation of the compounds obtained is also provided.


**Key words:** Microwave radiation, amino acids, hydrolysis.

# 1.- INTRODUCCIÓN

Durante los últimos tiempos la química le ha proporcionado al ser humano bienestar y comodidad. Diversos productos de uso diario han dado lugar al mejor nivel de vida que disfrutamos en nuestros días. Sin embargo, también es cierto que la manera en que se elaboran dichos productos, ha tenido un impacto ambiental no deseable. La industria química está considerada entre las que liberan mayor cantidad y variedad de sustancias tóxicas al medio ambiente. La química verde (QV) es una propuesta para resolver los problemas de contaminación que aquejan a nuestro medio ambiente; consiste en el diseño y desarrollo de nuevos procesos para la obtención de productos que no sean dañinos al medio ambiente, la optimización de procesos para minimizar la generación de residuos contaminantes o bien, eliminar las sustancias químicas peligrosas, promoviendo la prevención del ecosistema, como una vía para contribuir al logro de un desarrollo sustentable.[1]

La QV también se define como el esfuerzo colectivo para reducir al mínimo, o de ser posible eliminar por completo la contaminación desde su inicio mediante el uso de procesos “limpios”, evitando al máximo el desperdicio o uso indiscriminado de materias primas no renovables, así como el empleo de materiales peligrosos o contaminantes en la elaboración de productos químicos “limpios”, que no atenten contra la salud o el ambiente.[2]

En este sentido, el programa de química verde de la Agencia de Protección al Ambiente (EPA) activó una iniciativa denominada Designfor the Environment Program basada en la prevención de contaminación mediante la concientización en el diseño de productos y procesos químicos, regidos por 12 principios fundamentales. Estos principios abarcan conceptos como el diseño de procesos que maximicen los rendimientos de la materia prima hacia los productos deseados; el uso de sustancias ambientalmente seguras, incluyendo disolventes,

cuando ello sea posible; el diseño de procesos energéticamente eficientes; la mejor forma de disposición de desechos, entre otras.[3]

Los doce principios de la química verde son:

1. Generar productos eficaces pero no tóxicos: Los productos químicos deberán ser diseñados de manera que mantengan la eficacia a la vez que reduzcan su toxicidad.
2. Utilizar materias primas renovables en vez de agotable, siempre que sea técnica y económicamente viable.
3. Utilizar catalizadores en lo posible, en lugar de reactivos estequiométricos.
4. Evitar los derivados químicos mediante el uso de inhibidores o grupos de protección o cualquier modificación temporal de ser posible.
5. Maximizar la economía atómica diseñando síntesis en las que el producto final contenga la máxima proporción de los materiales de partida.
6. Utilizar disolventes y condiciones de reacción más seguros: Evitar el uso de disolventes, agentes de separación u otros productos químicos auxiliares. Si estos productos químicos son necesarios, emplear aquellos que sean lo más inofensivos que se pueda.
7. Generar productos biodegradables.
8. Desarrollar metodologías analíticas para la monitorización en tiempo real para prevenir la formación de subproductos.
9. Minimizar el potencial de accidentes: Elegir las sustancias empleadas en los procesos químicos de forma que se minimice el riesgo de accidentes químicos, incluidas las emanaciones, explosiones e incendios.
10. Uso de metodologías que generen productos que tengan poca o ninguna toxicidad, tanto para el hombre como para el medio ambiente, siempre que sea posible.

11. Aumentar el rendimiento energético empleando condiciones de temperatura y presión suaves o atmosféricas en los procesos químicos, siempre que sea posible.

En este último punto es donde incide perfectamente el uso de la energía de las microondas como una fuente alterna ya que al incrementar los rendimientos de las transformaciones químicas el uso de la radiación de microondas disminuye la generación de residuos.

Por otra parte, en la síntesis de péptidos es necesario llevar a cabo reacciones de protección y desprotección de grupos funcionales que no intervienen en el proceso, con el fin de cambiar su reactividad y evitar reacciones colaterales o polimerización en cada etapa de síntesis. La desprotección del grupo carboxilo es un ejemplo de ellas, esta se realiza por medio de la hidrólisis (generalmente básica) del alquil éster presente en el fragmento de aminoácido *O*-terminal.

Es así que en el presente trabajo se propone realizar la hidrólisis básica de $\alpha,\alpha$- y $\alpha,\beta$-péptidos con LiOH utilizando la técnica de radiación de microondas contribuyendo así al incremento de nuevas alternativas en la síntesis de péptidos que lleven al desarrollo de procesos que minimicen la generación de residuos contaminantes o bien, eliminar las sustancias químicas peligrosas.

# 2.- ANTECEDENTES

## 2.1 Energía de microondas

Las microondas (MO) es una forma de energía electromagnética que cae en el extremo de baja frecuencia del espectro electromagnético, y se encuentra definido en el rango de frecuencia de 300 a aproximadamente 300000 MHz correspondiente a una longitud de onda (1 m -1 mm).[4]

Dentro de esta región de la energía electromagnética, no se ve afectada la estructura molecular de las especies, sólo se afecta la rotación molecular. (Figura 1)

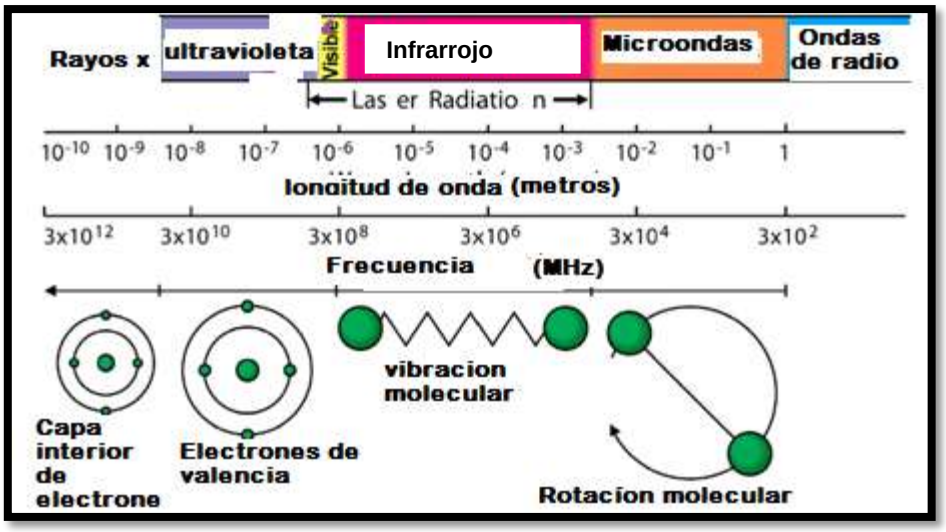



**Figura 1.** Espectro electromagnético.

La radiación de microondas, como cualquier radiación electromagnética, está constituida por un campo eléctrico y un campo magnético que se propaga de forma perpendicular, aunque solo el campo eléctrico transfiere la energía que conducen al calentamiento de las sustancias (Figura 2).[5]

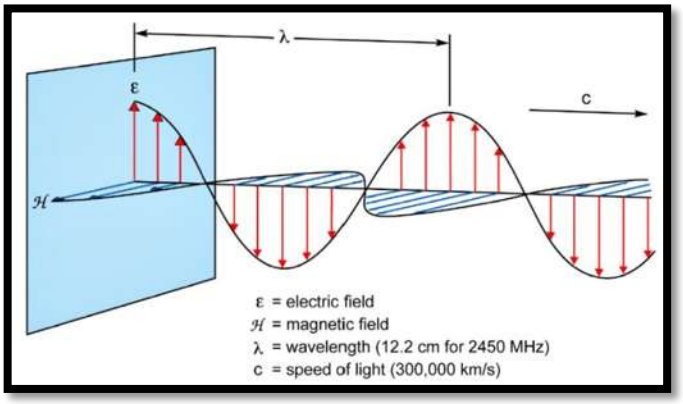



**Figura 2.**Onda electromagnética

Como se observa en la figura 2, las MO se mueven a la velocidad de la luz (300.000km/seg) sin embargo, la energía en fotones de microondas (0.037kcal/mol) es muy bajo en relación a la energía típica requerida para romper los enlaces moleculares (80-120 Kcal/mol); por lo tanto, las microondas no afectarán a la estructura de una molécula orgánica. En la excitación molecular, el efecto de absorción de microondas es puramente cinético.

La frecuencia de la radiación de MO está dividida en cuatro frecuencias mostradas en la tabla 1. Fuera de estas frecuencias y para evitar interferencias con las frecuencias de las telecomunicaciones, las aplicaciones en el calentamiento deben usar las bandas ISM (aplicaciones médicas, industriales y científicas) que se encuentran a 2.450 MHz. Esta región es preferida debido a que tiene una mayor profundidad de penetración, adecuada para interactuar con muestras a escala de laboratorio, además de que existen fuentes de energía disponibles para generar las microondas (MO).[6]

**Tabla 1**. Regiones en la que se subdivide la radiación de microondas

| Designación | Longitud (cm) | Frecuencias ( Hz) | Uso reportados |
|---|---|---|---|
| **Frecuencia muy altas** | $10^5$ a $10^2$ | 30 a 300 MHz | Radio |
| **Frecuencia ultra alta** | $10^2$ a 10 | 300 MHz a 3 GHz | Hornos de microondas |
| **Frecuencia súper alta** | 10 a 1 | 3 a 30 GHz | Telefonía celular |
| **Frecuencia extra alta** | 1 a 0.1 | 30 a 300 MGz | Satélites |

## 2.2 Efecto de la radiación de microondas

Los métodos de calentamiento convencionales suelen ser métodos de transferencia de energía lentos e ineficaces ya que depende de corrientes de convección y de la conductividad térmica, de los materiales que deben penetrar, lo que provoca que la temperatura del contenedor de reacción sea mayor que de la mezcla de reacción. Además el gradiente de temperatura puede llevar a una descomposición de reactivos o productos, (Figura 3).[4,7]

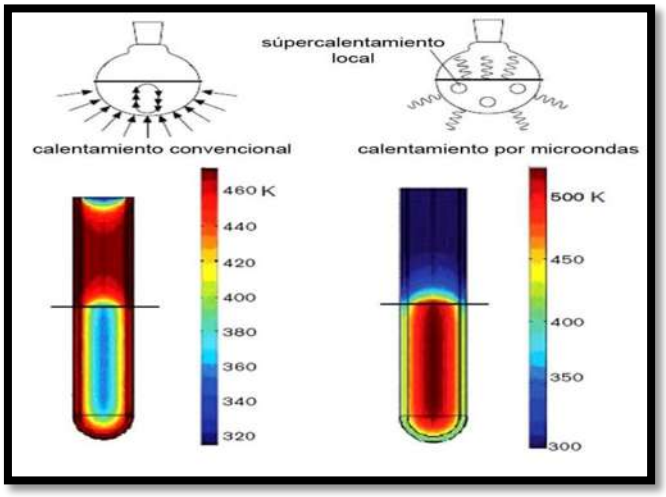



**Figura 3.** Proceso de calentamiento convencional y de microondas.

En cambio, el calentamiento por irradiación con microondas (Figura 3), utiliza la propiedad de algunas moléculas de transformas la energía electromagnética en calor, es decir que el efecto de una radiación electromagnética provoca la rotación de los dipolos dentro del líquido lo que causa que las moléculas polares se alinean y luego se relajen en el campo oscilante de la radiación electromagnética. Cuando la energía de la rotación de esos dipolos se disipa se produce el calentamiento del líquido, por eso, al producirse el calentamiento en el interior del líquido y no transferirse desde el vaso es por lo que el líquido está a mayor temperatura que el recipiente (Figura 4).

Adicionalmente, los materiales empleados son transparentes a las microondas por lo que la radiación pasa a través de las paredes directamente a todo el volumen de la reacción lo que provoca un gradiente de temperaturas inversa con respecto al calentamiento convencional.[7]

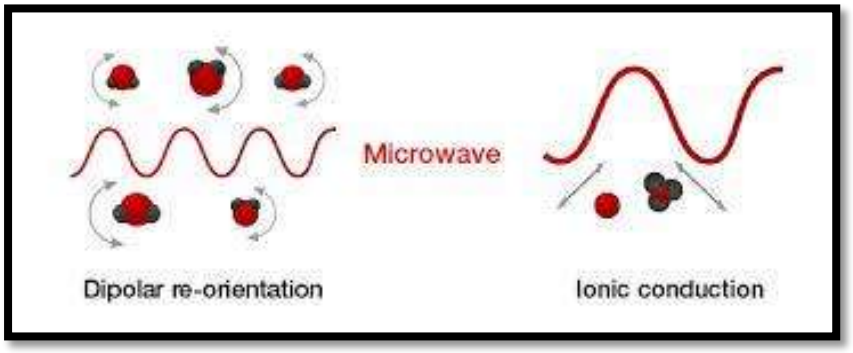



**Figura 4.** Mecanismo de transferencia de energía de microondas.

El acoplamiento de la energía de microondas en el medio a partir de la radiación de las microondas depende de propiedades como:

- ✓ **Constante dieléctrica:** Es la habilidad de un material de absorber y almacenar la energía del potencial eléctrico bajo la influencia de un campo eléctrico.
- ✓ **Factor de pérdida dieléctrica:** Es definida como la habilidad de una sustancia para transformar la energía de microondas en calor.
- ✓ **Factor de disipación:** Es la capacidad de un medio para transformar la energía electromagnética en calor para una frecuencia y temperatura dada. Es también considerada como la responsable de la alta susceptibilidad del material hacia la energía de microondas.[8]

Los materiales o sustancias con propiedades dieléctricas elevadas, presentan una fuerte absorción de las microondas y por tanto un fuerte calentamiento del material. Es decir que la pérdida de constante dieléctrica y el factor de disipación son elevados y la profundidad de penetración de las microondas en el medio es pequeña.[8]

Adicionalmente, la interacción de la radiación electromagnética con la mezcla de reacción se caracteriza por tres procesos: A) Reflexión (se encuentran todos los metales), B) Absorción de microondas (se encuentran la mayoría de los disolventes polares) y C) Transmisión (son todos los materiales que no interactúan con la radiación ejemplo de ellos teflón el vidrio y el cuarzo). Figura 5.

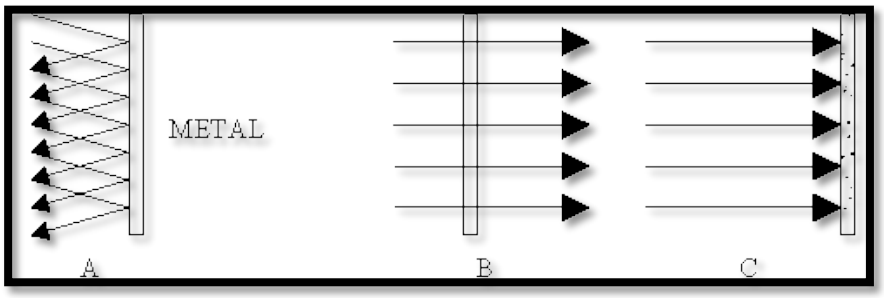



**Figura 5.** Interacción de la radiación de microondas con los materiales.

### 2.3 Uso de las microondas en la síntesis orgánica

En 1993 el químico norteamericano Paul Anastas estableció oficialmente el termino GREEN CHEMISTRY (Química verde, por sus siglas en inglés).[3]

La QV utiliza una serie de principios que reducen o eliminan el uso o generación de sustancias peligrosas, así como también promueven el diseño y optimización de los procesos ya existentes para minimizar la generación de residuos contaminantes o bien eliminar las sustancias químicas peligrosas.[9]

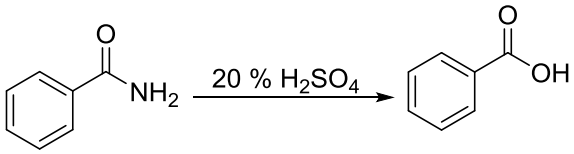
No obstante, históricamente, los químicos sintéticos no han tenido los temas medioambientales como una de sus mayores prioridades. Actualmente, con un incremento en la conciencia medioambiental a nivel global, existe un desafío para los químicos en desarrollar nuevos productos, procesos y servicios que alcancen los objetivos sociales, económicos y medioambientales necesarios.

Dentro de los procesos químicos y tecnológicos implicados en la “Química verde” se encuentra el uso de la radiación de microondas (RMO) como una fuente alterna de energía para la síntesis orgánica, ya que incide perfectamente con los principios de la química verde, la cual se caracteriza por aceleraciones del tiempo de reacción (ahorro energético), reacciones más seguras, y condiciones de reacción más suaves evitando la generación de residuos peligros.[10]

Muchas reacciones y procesos en química orgánica ocurren únicamente con adición de energía. En la mayoría de los casos es empleada la energía térmica. La radiación de microondas como una fuente de energía demuestra superioridad en comparación con los métodos de calentamiento convencional (fuente de calor externa, placa térmica, manta de calentamiento), los cuales resultan lentos y poco eficientes para transferir energía a un sistema.[5]

Cabe mencionar que el uso de radiación de microondas con el fin de acelerar las reacciones orgánicas comenzó en la década de 1980. Siendo los trabajos publicados por R. Gedye y R. J. Giguere el punto de partida de la síntesis orgánica asistida por microondas.[11]

En estos trabajos se describe la hidrólisis de benzamida en medio ácido asistida por microondas, esta reacción ocurría en pocos minutos cuando era irradiada con energía de microondas (Esquema 1).




Método convencional : 1 h 90 %

Método por microondas : 10 min 90 %

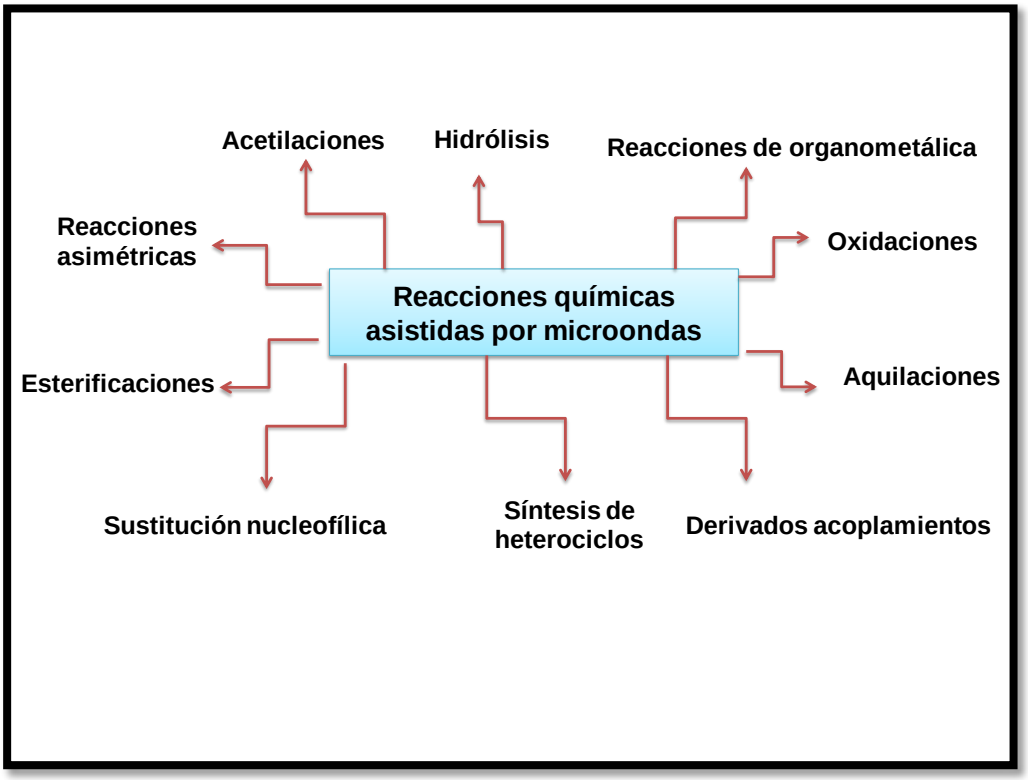
**Esquema 1.** Primera reacción activada por microondas.

A partir de entonces se da como consecuencia, el incremento espectacular del número de publicaciones relacionadas, con la síntesis química asistida por microondas (MAOS) convirtiéndose en una técnica útil en una gran variedad de reacciones químicas tanto en la industria como en la investigación.

La síntesis asistida por microondas representa un gran avance en la metodología de la química sintética lo que permite a los químicos orgánicos expandir su creatividad científica, comprobar nuevas teorías y desarrollar nuevos procesos.[14]

La MAOS se ha empleado para la realización de numerosas transformaciones químicas tales como, las ejemplificadas en el Esquema 3. Observándose en muchas de estas reacciones se una mejora en comparación con métodos tradicionales, implicado una o más de las siguientes características:[1,4]

- ✓ Reacciones más seguras.
- ✓ Aumento de la simplicidad en los procedimientos
- ✓ Aumento de los rendimientos de reacción.
- ✓ Disminución de los tiempos de reacción (ahorro energético).
- ✓ Gran selectividad.
- ✓ Disminución de residuos por la no utilización de disolventes y por la sustitución de ácidos minerales y bases homogéneas reciclables.
- ✓ Ahorro de agua como método de refrigeración.




**Esquema 2.** Reacciones químicas asistidas por microondas.[4,12]

Esta tecnología de MO también ha sido utilizada en la síntesis de compuestos orgánicos heterocíclicos como derivados de furanos, pirroles, tiofenos, índoles etc., y en la última década ha ganado un gran interés la síntesis de aminoácidos y péptidos asistida por microondas.[4,12]

## 2.4 Aminoácidos y Péptidos

Los aminoácidos son moléculas pequeñas formadas por átomos de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Estas moléculas se encuentran en todas las células de los seres vivos como responsables de la producción de proteínas. Estos aminoácidos se unen entre sí formando cadenas de diferentes tamaños dando lugar a miles de compuestos llamados proteínas. Se ha identificado una gran variedad de aminoácidos en los organismos vivos pero solo son 20 los que

son importantes para los humanos, de estos el cuerpo puede fabricar 12, llamados no esenciales. Los ocho restantes no los puede fabricar, pero se pueden adquirir a través de los alimentos y son llamados esenciales. En la naturaleza tienen la particularidad de que se presentan mayoritariamente en la forma *L,* excepto la glicina que carece de centro quiral.

Presentan como estructura fundamental un átomo de carbono asimétrico (carbono alfa), unido a cuatro grupos distintos: un grupo amino y un grupo carboxilo (de ahí su nombre), un hidrógeno y una cadena lateral (R). Es ésta cadena R la que confiere las diferencias físicas y químicas entre un aminoácido y otro (Figura 6).[13]

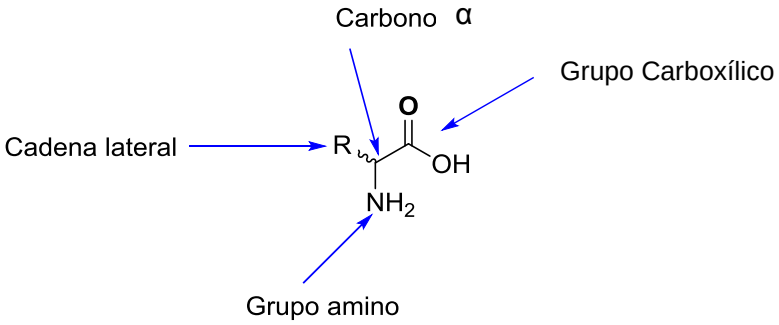
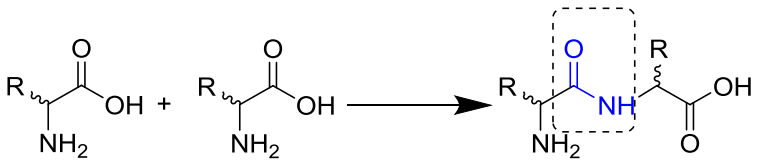



**Figura 6.** Estructura básica de una α-aminoácido.

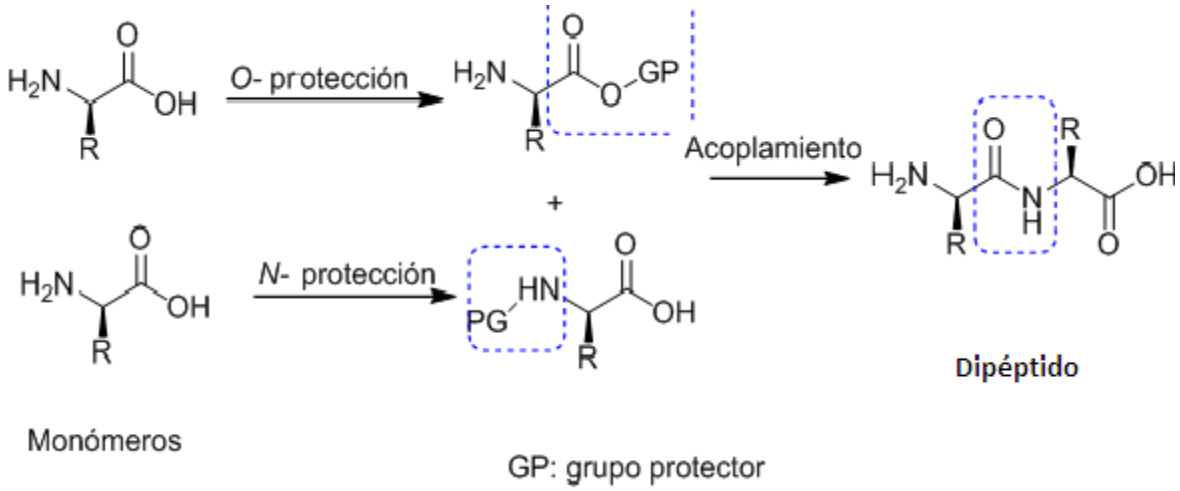
La unión entre dos aminoácidos, por la unión del grupo carboxilo de un aminoácido y el grupo amino del otro, da lugar a un dipéptido mediante la formación de un enlace amida denominado enlace peptídico como se muestra en el Esquema 3.[14]




**Esquema 3.** Formación del enlace peptídico.

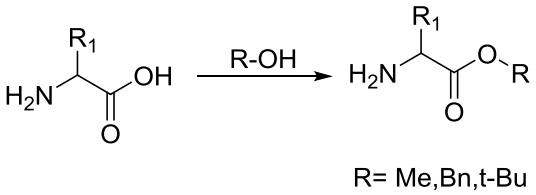
La síntesis de un dipéptido implica la formación del enlace. En orden para producir la secuencia y para prevenir la formación de una mezcla de péptido, el grupo amino del residuo *N*-terminal y el grupo carboxilo del residuo *C*-terminal son normalmente protegidos.

La síntesis de un dipéptido en general involucra 4 pasos: a) protección del grupo amino del aminoácido que se desea ser residuo *N*-terminal, b) protección del grupo carboxilo que se considera sea el residuo *C*-terminal en el dipéptido, c) activación del grupo carboxilo del aminoácido *N*-terminal y d) remover los grupos protectores. Si los aminoácidos involucrados presentan grupos funcionales como -$NH_2$, -COOH, -OH y –SH, podría ser considerado proteger estos grupos antes de la activación. Si el dipéptido va ha ser extendido a un tripéptido, el paso d) puede ser modificado para desproteger el grupo amino o carboxilo de forma selectiva. Ver Esquema 4[14]



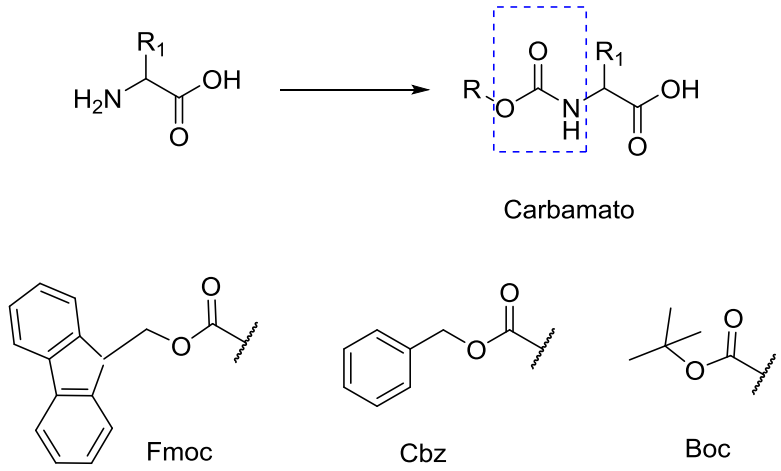

**Esquema 4.** Método general de acoplamiento.

El grupo *C*-terminal es protegido como un éster. Dentro de los grupos protectores más utilizados está el éster metílico, bencílico y terbutílico. Ver Esquema 5.




**Esquema 5**. O-protección de aminoácidos.

La protección del grupo amino no es sencilla, ya que mediante el proceso de la protección este debe cambiar a un grupo no nucleofílico y por tanto poco reactivo, como por ejemplo a una amida o más específicamente una alcoxiamida, en la cual la ruptura puede ocurrir bajo condición es aún más suaves que para las amidas normales. Dentro de los grupos protectores tenemos el Benciloxicarbonil (Cbz), Fluoroenil (Fmoc) y el *ter*-Butoxicarbonil (Boc), ver Esquema 6.[15]




**Esquema 6.** Protección del grupo amino y algunos grupos protectores.

Con tantos grupos protectores, es importante que exista ortogonalidad, es decir, alto grado de compatibilidad entre los diferentes tipos de grupos protectores de forma que un tipo de grupo protector pueda ser quitado en presencia de otro. Por ejemplo, si el grupo Cbz es para ser usado como *N*-protector, entonces, obviamente, ni la cadena de grupos protectores ni el *C*-terminal pueden ser protegidos con grupos bencílicos o por grupos que puedan ser removidos por hidrogenólisis, ya que no será conveniente al momento de querer desproteger un extremo para extenderlo.[16]

Una vez protegidos los grupos terminales, el siguiente paso es el acoplamiento entre dos residuos de aminoácidos. La reacción se inicia con la activación del ácido carboxílico y posterior ataque del grupo amino, para así llevar a cabo el acoplamiento entre los dos fragmentos y formar el enlace peptídico.

Debe señalarse que en el caso de formación de enlaces peptídicos no es tan sencillo, y a que si el carbonilo es activado bajo condiciones fuertes puede dar lugar a una serie de reacciones colaterales, o más grave aún, puede ocurrir racemización ya que en el aminoácido o péptido existe un C-alfa quiral que es susceptible a racemizarse tanto bajo condiciones ácidas como básicas.

Por otro lado, la activación del grupo carboxilo bajo condiciones suaves involucra tiempos de reacción muy largo, y por tanto acoplamientos incompletos, aunque evita la racemización así como las reacciones colaterales.[16]

## 2.5 Uso de la radiación de microondas en la síntesis de péptidos

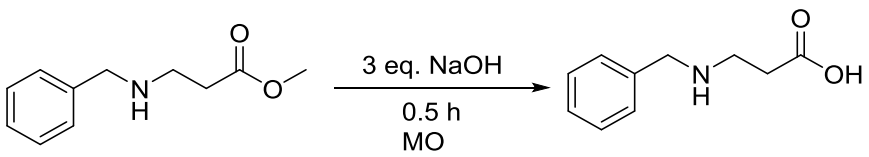
La síntesis química de péptidos es un área muy importante dentro de la química principalmente por su elevado potencial en la aplicación médica. La tecnología de radiación de microondas ha tenido avances significativos, aportando beneficios y ventajas en cada una de las etapas para la síntesis de péptidos.[17]

Cabe mencionarse que en los últimos cinco años la radiación de microondas ha destacado en la eficiencia de la síntesis química de péptidos tanto en fase sólida como líquida ya que potencializa la formación del enlace amida.[18]

La síntesis de péptidos no es una labor fácil, ya que involucra procesos laboriosos donde los tiempos de reacción son muy largos.

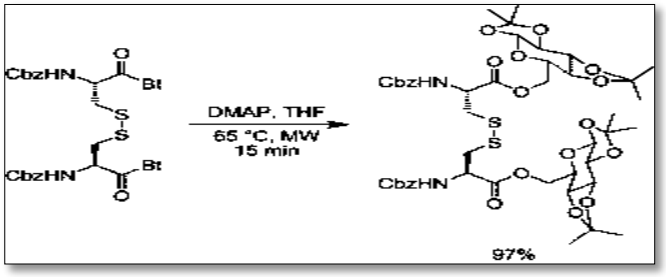
Mediante la implementación de microondas los tiempos de acoplamiento, desprotecciones, protecciones de los grupos funcionales, pueden llevarse en 5, 10 minutos a diferencia de las condiciones normales de temperatura que pueden efectuarse en por los menos 24 h.[1]

Tal es el caso del trabajo reportado por Cruz-Huerta y colaboradores, en el cual se reporta la *O*-desprotección de la *β*-alanina mediante la hidrólisis básica del ácido carboxílico. La reacción procede en 30 minutos y con un 84% de rendimiento, comparado con el método tradicional que es de 1 a 4 h (Esquema 7).[19]



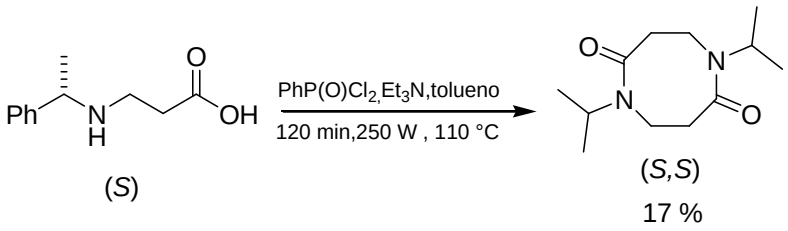

**Esquema 7.** Hidrólisis de amino éster de la *N*-bencil-β-alanina asistida por MO.

Las condiciones de microondas pueden ofrecer ventajas para la preparación de secuencias difíciles de péptidos, como es en el caso de la síntesis de glicopéptidos reportada por Katritzky, por medio del acoplamiento de azucares *C*-terminal a péptidos empleando aminoacil-benzotriazoles como agentes activantes y bajo condiciones de microondas (Esquema 8).[20]



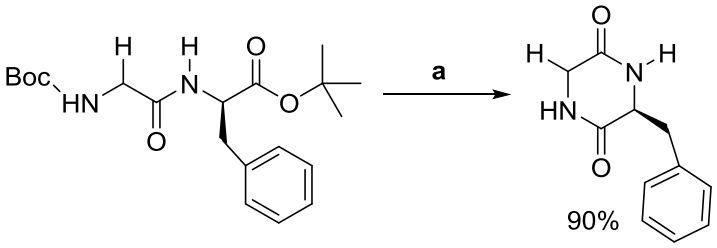

**Esquema 8.** Síntesis de glicopéptidos reportada por Katritzky.[20]

Otro ejemplo importante son las reacciones de ciclación en la síntesis de ciclo β-dipéptidos de ocho miembros que poseen el fragmento α-feniletilo donde utilizan irradiación de MO, logrando optimizar los rendimientos de la ruta sintética. Ver Esquema 9.[21]




**Esquema 9.** Preparación del *N*-(*S*)-α-feniletil ciclo β-dipéptido.[21]

También se ha reportado la síntesis de estructuras diméricas basadas en la formación de dicetopiperazina por medio de la reacción de condensación intermolecular de monómeros de glicina *C*-terminal activados (Esquema 10).[22]




**a** $H_2O$ (1 mL), MW (200 W) ,250 °C y 150 Psi

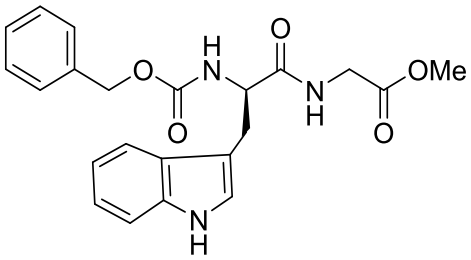
**Esquema 10**. Síntesis de 2,5-dicetopiperazina asistida por microondas.

La desprotección-ciclación de ésteres de Boc-dipeptidil-*ter*-butilo y metilo bajo irradiación de microondas proporcionó excelentes rendimientos y la formación de la dicetopiperazina correspondiente.

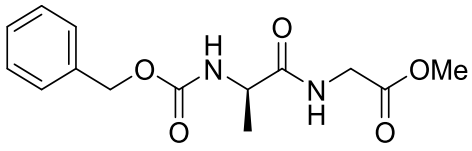
## 3.- JUSTIFICACIÓN

El uso de la radiación de MO como una tecnología de vanguardia, para la rápida optimización de procesos en la síntesis eficiente de nuevos compuestos químicos y descubrimiento de nuevos aspectos en la reactividad química ha llevado al desarrollo de las MO como una fuente de energía alternativa viable en el área de la química verde.

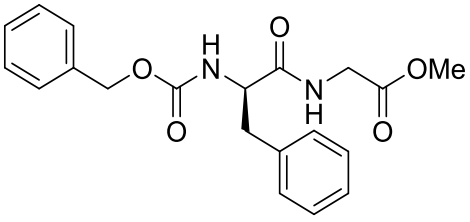
Por tal motivo en el presente trabajo se propone realizar la hidrólisis de los α,α-péptidos,Cbz-*N*-*L*-Triptófano-Glicina-OMe,(Cbz-*N*-*L*-Trp-Gli-OMe),Cbz-*N*-*L*-Fenilalanina-Glicina–OMe,(Cbz-*N*-*L*-Phe-Gli-OMe),Cbz-*N*-*L*-Alanina-Glicina–OMe (Cbz-*N*-*L*-Ala-Gli-OMe), bajo condiciones básicas suaves y empleando la tecnología de radiación de microondas contribuyendo así al incremento de nuevas alternativas metodológicas “amigables con el ambiente”.




Cbz-*N*-*L*-Trp-Gli-OMe




Cbz-*N*-*L*-Ala-Gli-OMe

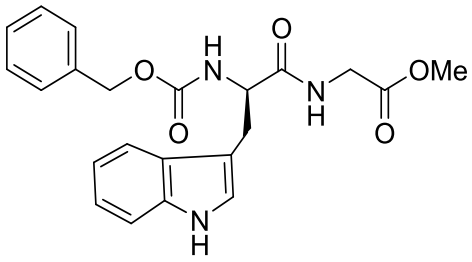



Cbz-*N*-*L*-Phe-Gli-OMe

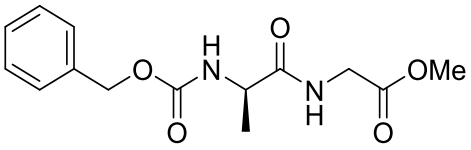
# 4.- OBJETIVOS

## 4.1.- OBJETIVO GENERAL

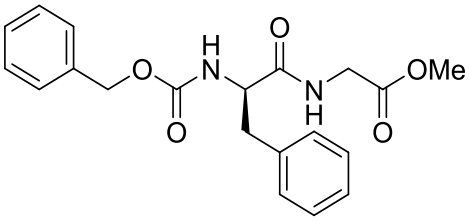
Evaluar el efecto de la radiación de microondas en la reacción de hidrólisis básica de los α,α-péptidos Cbz-*N*-*L*-Trp-Gli-OMe,Cbz-*N*-*L*-Phe-Gli-OMe y Cbz-*N*-*L*-Ala-Gli-OMe.




Cbz-*N*-*L*-Trp-Gli-OMe



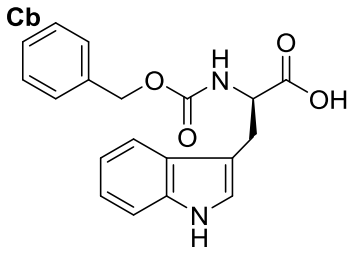

Cbz-*N*-*L*-Ala-Gli-OMe



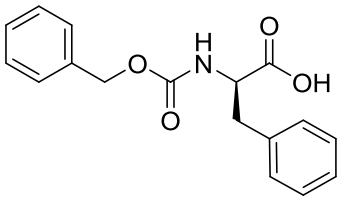

Cbz-*N*-*L*-Phe-Gli-OMe

## 4.2.- OBJETIVOS ESPECIFÍCOS

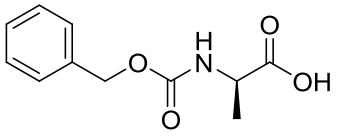
1. Preparar los aminoácidos protegidos Cbz-*N*-*L*-Trp, Cbz-*N*-*L*-Phe, Cbz-*N*-*L*-Ala, y Gli-*O*Me.



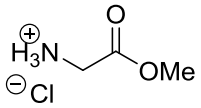

**Cbz-*N*-*L*-Trp**




**Cbz-*N*-*L*-Phe**

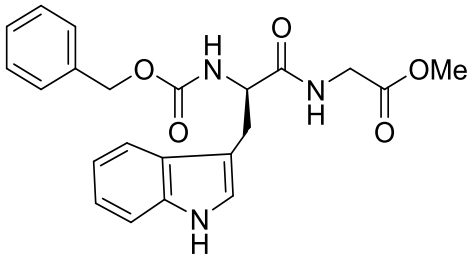



**Cbz-*N*-*L*-Ala**

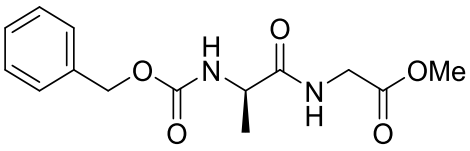



**Gli-OMe**

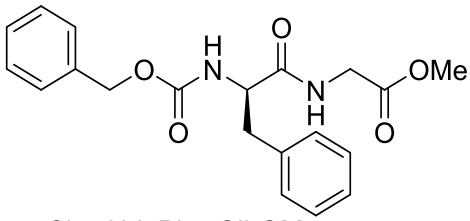
2.-Preparar los dipéptidos Cbz-*N*-*L*-Trp-Gli-OMe,Cbz-*N*-*L*-Phe-Gli-OMe y Cbz-*N*-*L*-Ala-Gli-OMe.




Cbz-*N*-*L*-Trp-Gli-OMe




Cbz-*N*-*L*-Ala-Gli-OMe




Cbz-*N*-*L*-Phe-Gli-OMe

3.- Realizar la hidrólisis con LiOH de los dipéptidos protegidos bajo condiciones de radiación de MO.

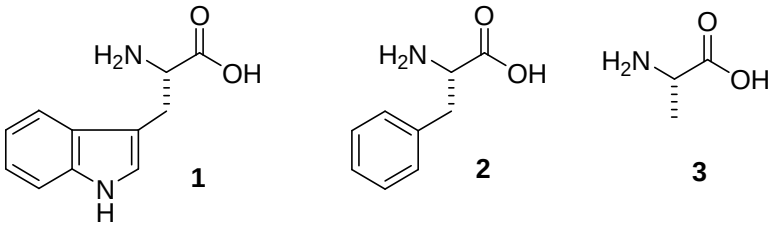
4.-Evaluar la eficiencia de la radiación de microondas en tiempo y rendimientos de reacción.

5.-Identificar los productos de reacción mediante técnicas espectroscópicas como RMN en una y dos dimensiones y espectrometría de masas.

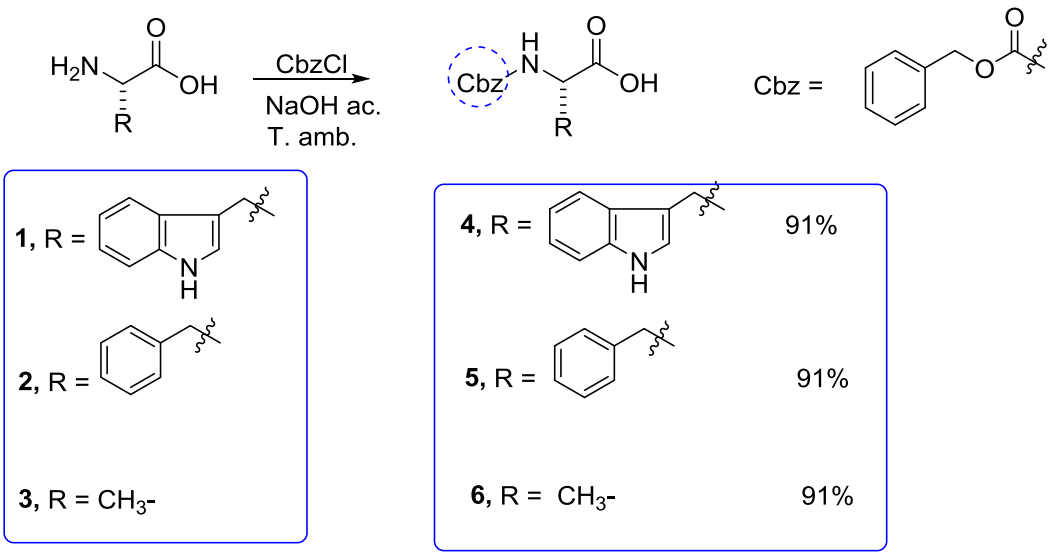
# 5.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 5.1 Síntesis de péptidos

Uno de los principales pasos para la síntesis de péptidos es la protección de los grupos funcionales de los aminoácidos, para evitar la formación de compuestos no deseados. Se comenzó con la *N*-protección de los aminoácidos: *L*-triptófano (*L*-Trp) **1**, *L*-fenilalanina (*L*-Phe) **2** y *L*-alanina (*L*-Ala) **3**:




Para tal efecto, los aminoácidos **1**, **2** y**3** se hicieron reaccionar con cloroformiato de bencilo (CbzCl) en medio básico a 0 °C, para la formación de los carbamatos correspondientes, obteniéndose los compuestos **4, 5** y **6** con rendimientos mayores al 90 % (Esquema 11).




**Esquema 11.** Reacción de *N*-protección de α-amino ácidos.

En el espectro de RMN de $^{1}$H del carbamato de la *L*-Phe **5** mostrado en la Figura 7, se pudo observar a campo bajo una señal múltiple en 7.27 ppm que integra para 10 H´s, indicando la presencia de dos grupos aromáticos, en 5.18 ppm se observa una señal doble ancha que integra para un protón asignada al grupo amino (NH), además en 5.09 ppm una señal simple que integra para dos protones, correspondiente al metileno del grupo protector (Cbz). En 4.70 ppm se observa una señal múltiple que corresponde al hidrógeno del metino 2, y en 3.20 ppm dos señales *dd* que integran para los hidrógenos del metileno bencílico 3.

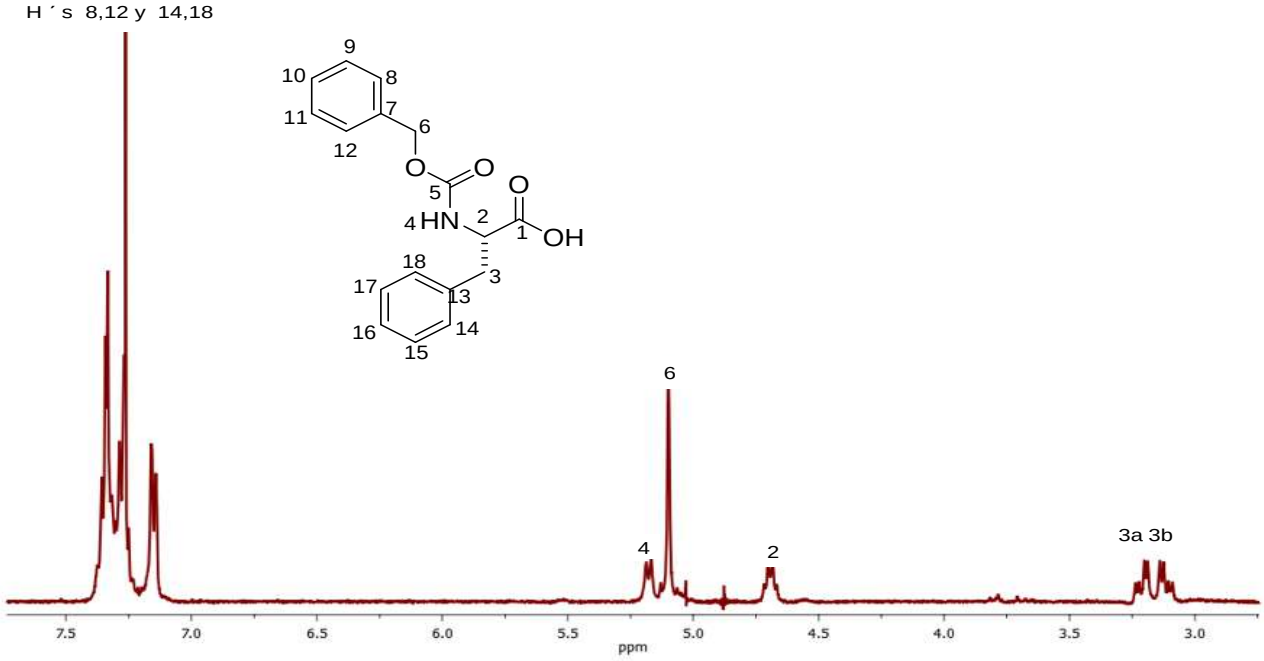
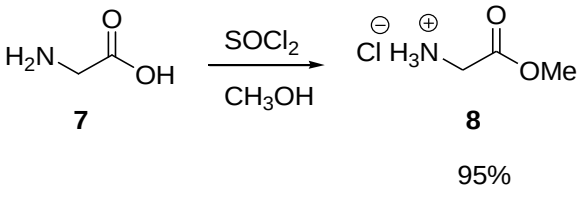


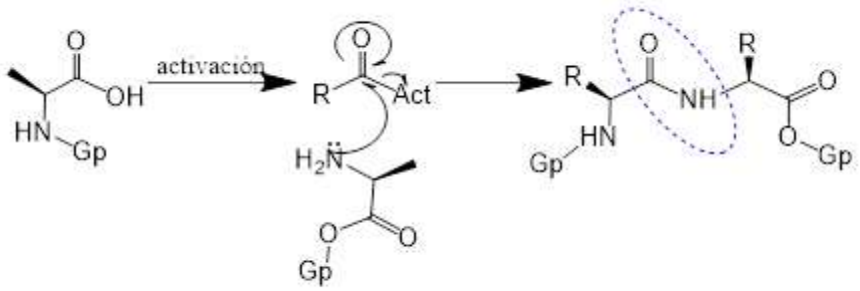

**Figura 7**. Espectro de RMN$^1$H (400 MHz) de la Cbz-*N*-*L*-Phe **5**, en $CDCl_3$**.**

El siguiente paso en la propuesta de síntesis fue la *O*-protección de la glicina (Gli) **7**, para esto se llevó a cabo una reacción de esterificación por medio de un reflujo en metanol y usando cloruro de tionilo ($SOCl_2$) como catalizador, obteniéndose el éster metílico **8** en forma de clorhidrato y con un 95 % de rendimiento. (Esquema 12).



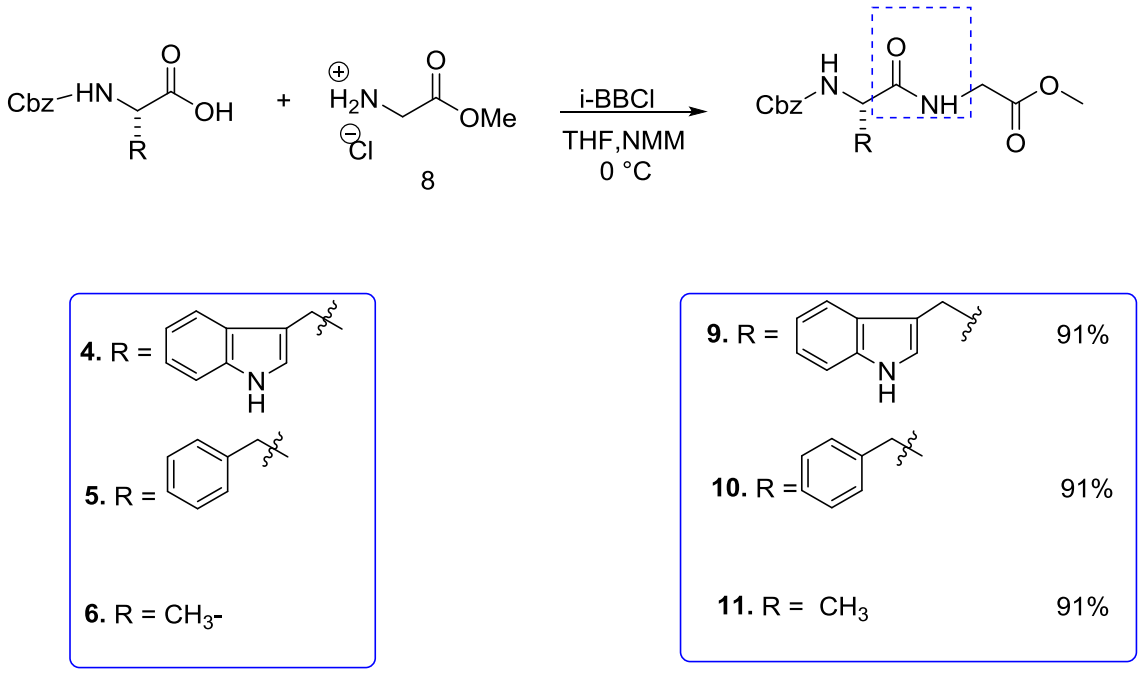

**Esquema 12.** *O*-protección de la Glicina **7**.

Una vez protegidos, el siguiente paso fue la formación del enlace peptídico, mediante una reacción de condensación entre el grupo amino y el grupo carboxílico de dos residuos de aminoácidos protegidos. La reacción ocurre a través del ataque nucleofílico del grupo amino al carbonilo del ácido carboxílico previamente activado, para así llevar a cabo el acoplamiento entre los dos fragmentos. (Ver Esquema 13).




**Esquema 13.**Formación del enlace peptídico.

Para esto se partió de los aminoácidos **4**, **5** y **6**, que mediante la reacción de acoplamiento usando cloroformiato de isobutilo (*i*-BBCl) como agente activante, *N*-metilmorfolina (NMM) como base y tetrahidrofurano (THF) como medio de reacción, condujo a la formación del anhídrido mixto activando así al grupo carbonilo. Posteriormente se adicionó el amino éster **8** disuelto en THF, conduciendo de esta manera a los dipéptidos diprotegidos **9, 10** y **11** en buenos rendimientos (Esquema 14)**.**




**Esquema 14.** Reacción de acoplamiento intermolecular.

El espectro de RMN de $H^1$ del péptido diprotegido *L*-Ala-Gli **11** (Figura 8), muestra alrededor de 7.35 ppm una señal múltiple que corresponde a los protones aromáticos, una señal simple ancha en 6.75 ppm correspondiente al protón del grupo amino, así como en 5.39 ppm se observa una señal ancha que integra para un hidrógeno asignado al grupo NH amídico. Adicionalmente, una señal doble de dobles en 5.12 ppm que corresponde al metileno del grupo protector H-10, en 4.30 ppm se presenta una señal múltiple para el hidrógeno metínico H-5 del fragmento Ala, en 3.75 ppm se observa una señal simple que corresponde al metilo del éster , en 4.02 ppm se observa una señal simple ancha que integra para dos protones que corresponden al metileno del residuo de glicina y en 1.42 ppm se observa una señal doble que integra para tres hidrógenos que corresponden al metilo 6 de la Ala.

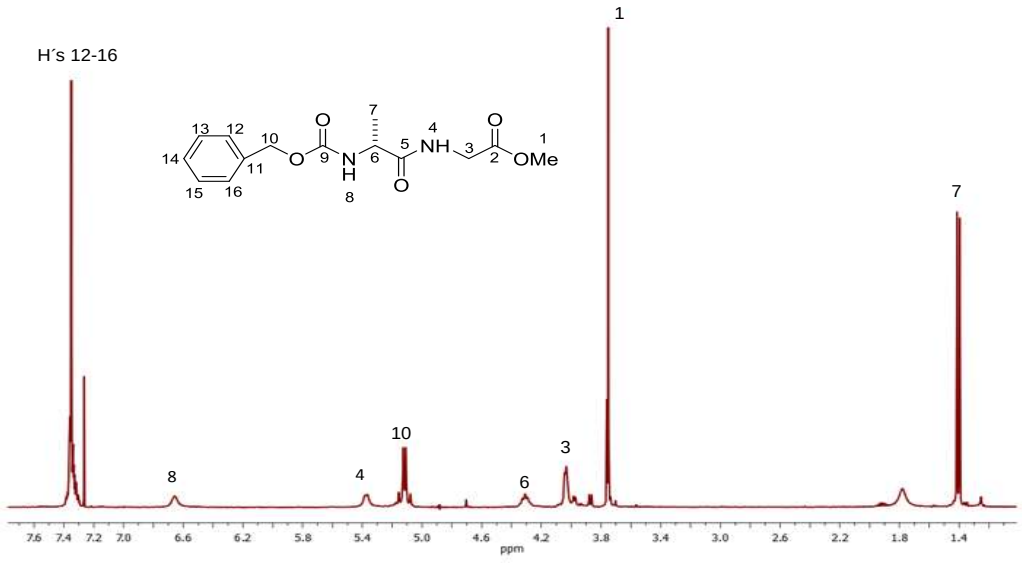


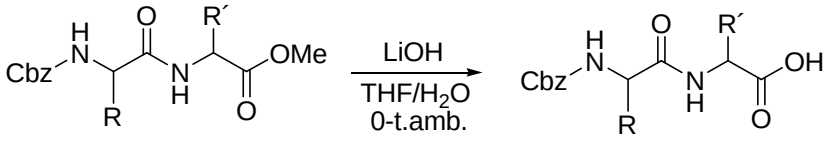

**Figura 8**. Espectro de RMN de $^{1}H$ (200 MHz) del *N*-Cbz-*L*-Ala-Gli-OMe **11**, $CDCl_3$.

## 5.2 Reacción de hidrólisis básica asistida por microondas

Dentro de las etapas incluidas en el protocolo para la preparación de un péptido, es la desprotección de los grupos funcionales no involucrados en los reacciones de acoplamiento peptídico.

La hidrólisis básica es una de las reacciones utilizadas para la desprotección del grupo carboxílico del *C*-terminal, generalmente es llevada a cabo empleando condiciones ácidas a reflujo o bien por una hidrólisis básica empleando bases fuertes como hidróxido de sodio, potasio y litio.[23] En nuestro equipo de investigación se efectúa en condiciones básicas, utilizado LiOH como base, con una mezcla THF-$H_2O$ (1:1) como medio de reacción, en agitación a una temperatura de 0 °C a temperatura ambiente (Esquema 15). El tiempo de reacción

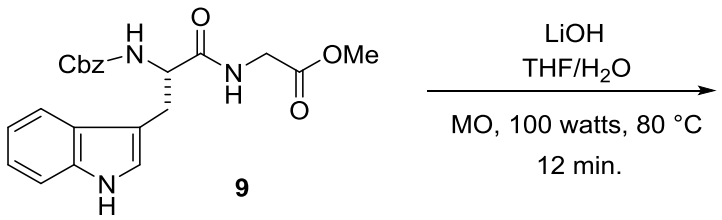
empleado para la hidrolisis está en un intervalo de tres horas y el producto hidrolizado en la mayoría de las ocasiones es necesario purificar principalmente por medio de cromatografía en columna o por cristalización.[24]




**Esquema 15**. *O*-desprotección de los péptidos protegidos.

Las microondas son una radiación electromagnética no ionizante, que no causa cambios en la estructura molecular pero que producen movimientos moleculares que generan fricción por colisión entre las moléculas, lo que hace que el material se caliente y exista una notable disminución de la energía de activación, teniendo como consecuencia que las condiciones de reacción sean más suaves, los tiempos más cortos, haya una disminución en la formación de productos secundarios y por ende los rendimientos de reacción aumenten considerablemente.[25]

En este sentido y teniendo como objetivo evaluar el efecto de la radiación de MO en la hidrólisis del fragmento *C*-terminal de los péptidos **9**, **10** y **11** en el tiempo de reacción, pureza y rendimiento de la hidrólisis; se procedió a realizar la *O*-desprotección del dipéptido **9** utilizado LiOH como base, con una mezcla THF-$H_2O$ (1:1) como medio de reacción, pero ahora con radiación de microondas a una potencia de 100 watts, y a una temperatura de 80 °C, como se muestra en el Esquema 16.




**Esquema 16**. Hidrólisis de *N*-Cbz-*L*-Trp-Gli-OMe **9** asistida por MO.

La reacción se monitoreó por medio de cromatografía en capa fina (TLC) observándose que en un tiempo de reacción de 12 minutos se consumió totalmente la materia prima. Después de la purificación por cromatografía en columna utilizando una mezcla de disolventes $CH_2Cl_2$/MeOH/$NH_4OH$ (95:5:0.1) como fase móvil y gel de sílice como fase estacionaria se obtuvo el producto puro como un aceite de color amarillo ocre. Al analizar el espectro de RMN de $^1H$ (Figura 8) se aprecia la desaparición de la señal simple en 3.8 ppm correspondiente al metilo del éster; además se observó la desaparición de las dos señales dobles en 5.10 ppm correspondiente al metileno del grupo protector (Cbz), por lo que inicialmente se pensó en que la radiación MO había favorecido no solo la desprotección del *C*-terminal sino que además se había promovido la *N*-desprotección del dipéptido *N*-Cbz-*L*-Trp-Gli-OMe **9** obteniendo el dipéptido lineal libre **12**.

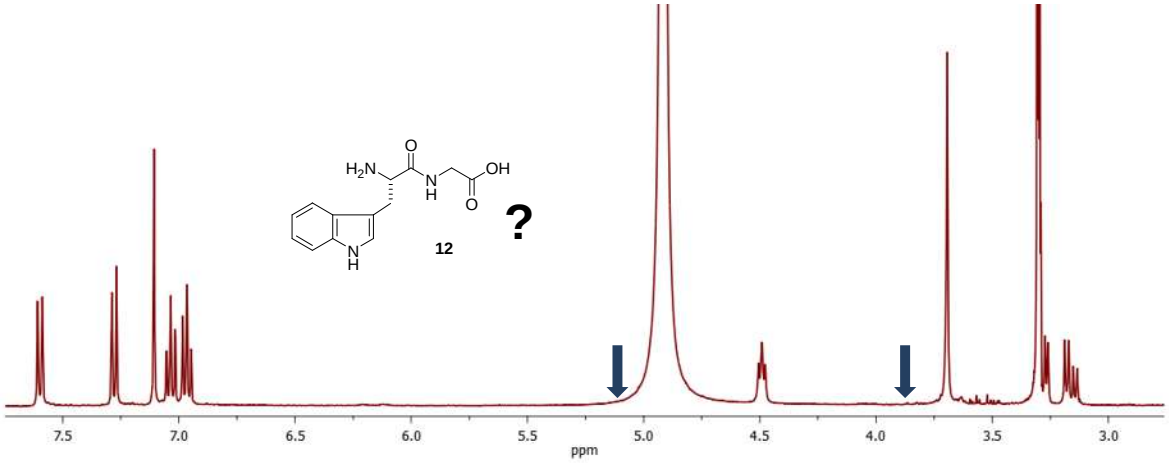
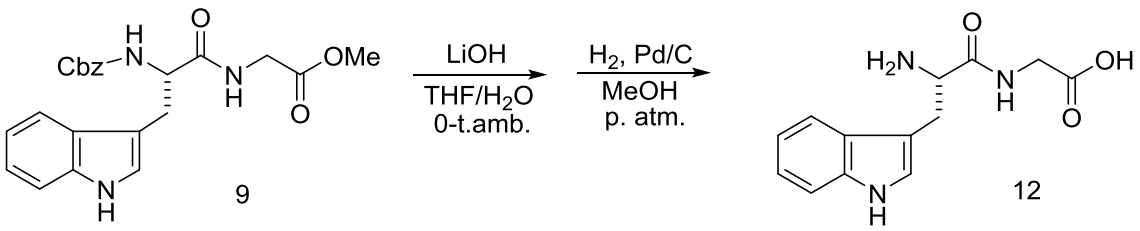



**Figura 9**. Espectro de RMN de $^{1}H$ del producto de hidrólisis asistida por MO.

Con la finalidad de comprobar que realmente se trataba del péptido **12**, se decidió llevar a cabo las reacciones de *N*-, *O*-desprotección del compuesto **9**, bajo condiciones estándar de reacción (CER), como se muestra en el esquema 17.




**Esquema 17**. *N*-, *O*-desprotección del péptido **9** bajo condiciones estándar.

El producto de reacción se comparó con el compuesto obtenido por MO. Los resultados se muestran en las tablas 2 y 3.

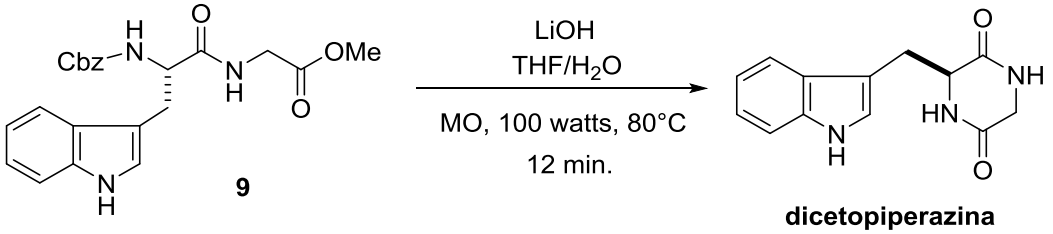
**Tabla 2.** Propiedades físicas de los compuestos obtenidos por MO y CER

| Compuesto obtenido por | Solubilidad | Edo. Físico | Punto de fusión (°C) |
|---|---|---|---|
| **MO** | MeOH | sólido | 180 |
| **CER** | MeOH | líquido | --- |

**Tabla 3**. RMN de $^{1}H$ de los compuestos obtenidos por radiación de microondas (MO) y condiciones estándar de reacción (CER).

| Hidrógeno | Desplazamiento Químico (multiplicidad) | |
|---|---|---|
| | **MO** | **CER** |
| $CH_2$**-CO** | 3.69 (s) | 3.50(d), 3.92(d) |
| **CH** | 4.49(dd) | 4.02(dd) |
| $CH_2$**-Indol** | 3.27(dd), 3.16 (dd) | 3.37(dd), 3.17(dd) |

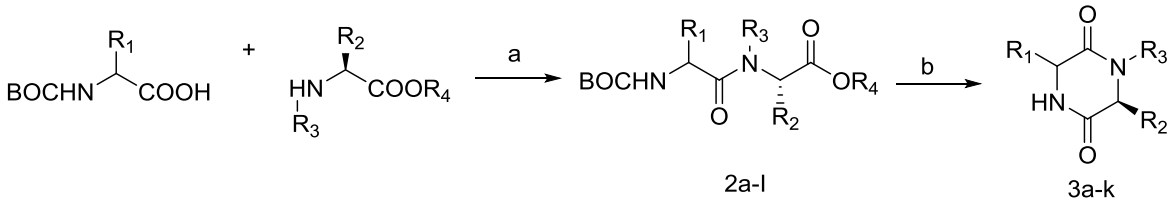
Como se puede observar el las tablas 2 y 3, el producto de la reacción promovido por radiación de MO no es el dipéptido líneal **12**, ya que tanto las propiedades químicas como las magnéticas son diferentes para los dos compuestos comparados. Con estos datos se propuso entonces la posibilidad de que la radiación de MO pudiera haber favorecido una reacción en cascada de desprotección-ciclación y llevado a la formación de una dicetopiperazina.




**Esquema 18**. Reacción de irradiación de microondas.

Revisando la literatura acerca del uso de las MO en la desprotección selectiva de α-péptidos solo se encontró un reporte en el que Escalante y colaboradores describieron la reacción de ciclación de ésteres de Boc-dipeptidil-*ter*-butilo y metilo en medio ácido y promovida por radiación de MO, obteniendo las correspondientes α-alquil-2,5-dicetopiperazinas (dipéptidos cíclicos) como se muestra en el esquema 19.[22]

Esta reacción se lleva a cabo a una presión de 150 psi, 250°C y 250 watts, en un tiempo de 10 minutos. Los rendimientos alcanzados son alrededor del 90%.




a) EDAC, HOBt, TEA/$CH_2Cl_2$, 5 C, toda la noche a t.amb
b) $H_2O$ (1ml) , MO (250 W, 150 ppi, 10 min).

**Esquema 19.** Síntesis de dicetopiperazinas por radiación de MO.

Al comparar los datos obtenidos por RMN de $^{1}H$ y $^{13}C$, se observó que tampoco correspondían con los reportados en la literatura.[22]

Adicionalmente, el espectro de RMN de $^{13}C$ mostró, además de las señales esperadas para la dicetopiperazina, tres señales a campo bajo en 174.3, 172.4 y 157.4 ppm correspondientes a tres grupos carbonilos y no dos como era de esperarse si se tuviera el péptido lineal libre o la dicetopiperazina (Figura 10).

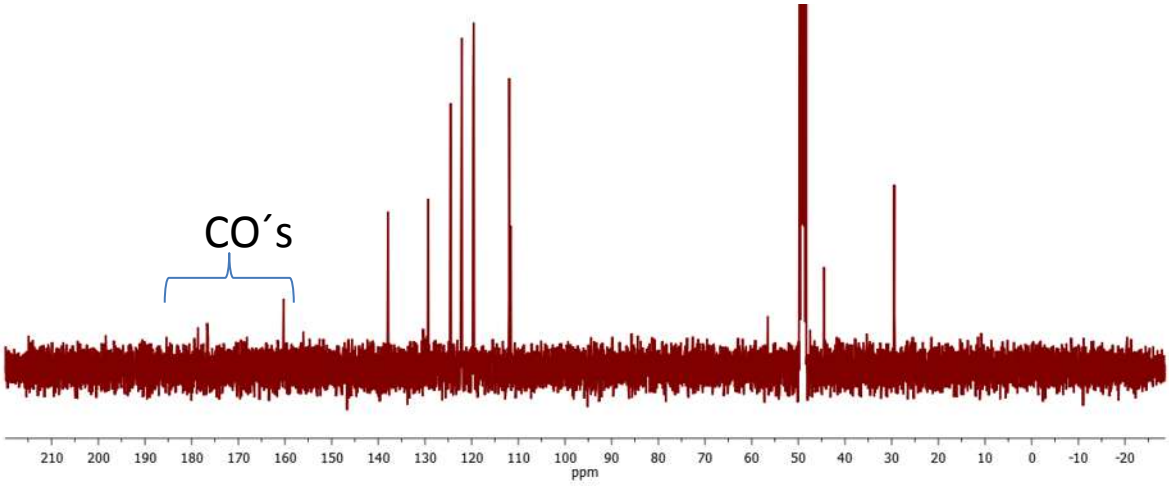
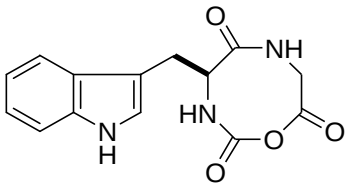


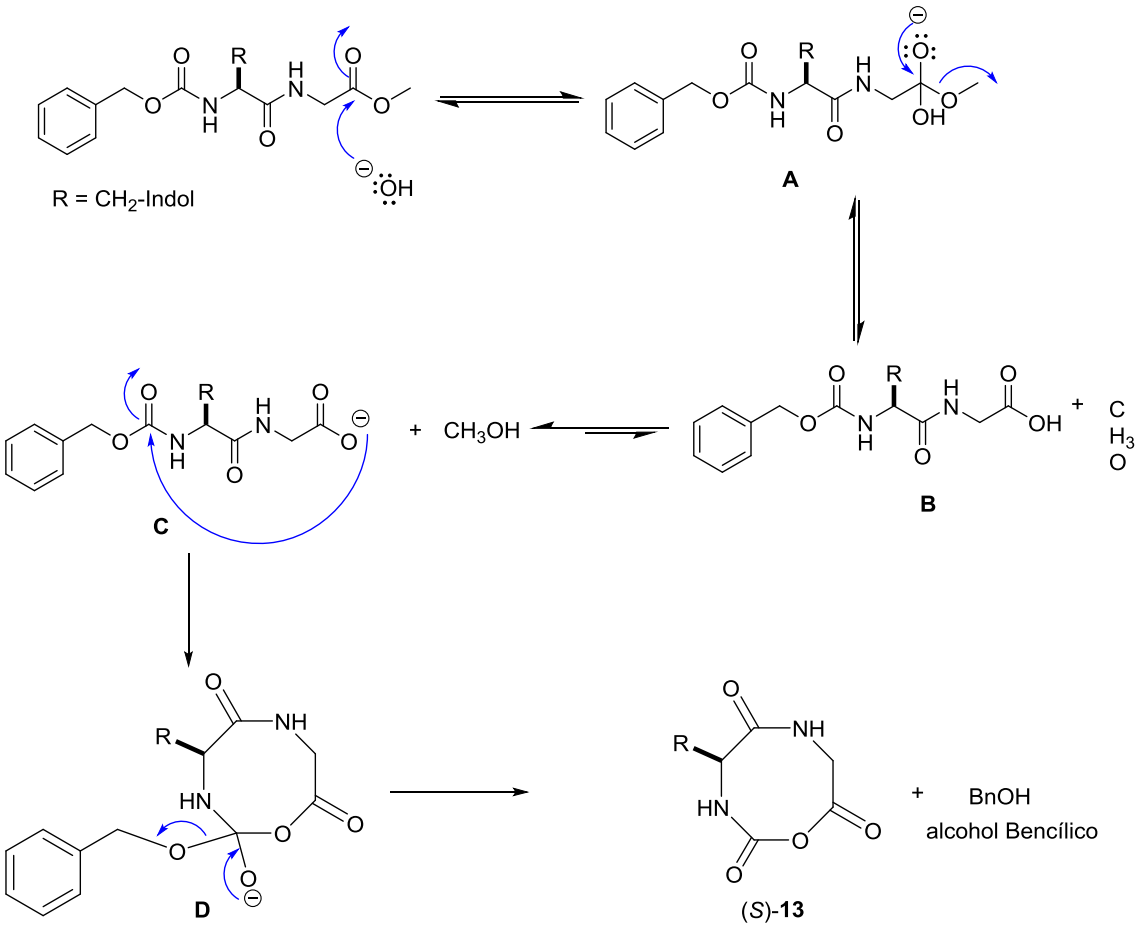

**Figura 10**. Espectro de RMN de $^{13}C$ del producto de hidrólisis asistida por MO.

En base a estos resultados se propuso la formación del uretano cíclico (*S*)-**13**.




(*S*)-**13**

En este sentido, se plantea primeramente la adición nucleofílica del grupo hidróxilo al carbonilo del éster formando un intermediario tetraédrico **A** (Esquema 20). Cuando se regenera el grupo carbonilo se produce la eliminación del ión alcóxido y se forma un ácido carboxílico **B**. Una rápida transferencia de protón forma el carboxilato **C** y el alcohol. Este último paso es muy exotérmico y desplaza los dos equilibrios anteriores hacia el carboxilato, haciendo que el proceso sea irreversible. En este proceso el carboxilato actúa como nucleófilo atacando al carbonilo del carbamato formando primeramente el intermediario **D**, finalmente la eliminación del ión benciléxido produce el uretano cíclico (*S*)-**13**




**Esquema 20.** Mecanismo de reacción para la formación de (*S*)-**13.**

El espectro de masas (IE) muestra un ión molecular de m/z = 285 [$M^+$-2H], que concuerda con el peso molecular esperado para (*S*)-**13**, (Figura 10).

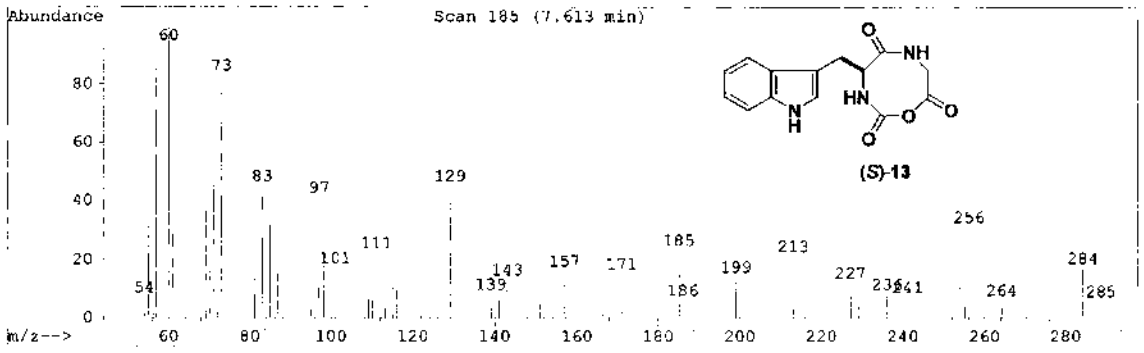
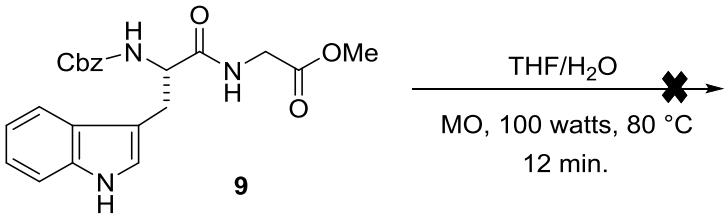


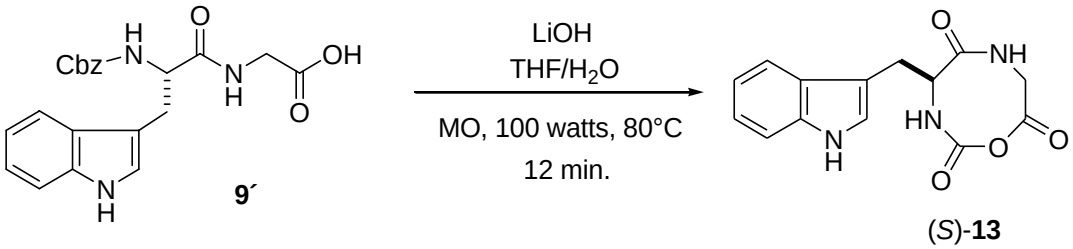

**Figura 10.** Espectro de masas del uretano (*S*)-**13**.

En este mismo contexto y teniendo como finalidad comprobar si la ciclación del péptido Trp-Gli (*S*)-**13** era promovida solamente por la radiación de MO y no por el medio básico en la reacción, como se reporta para el caso de las dicetopiperazinas;[22] se realizó nuevamente la reacción de desprotección pero ahora sin LiOH (*N*-Cbz-*L*-Trp-Gli-OMe **9**, THF-$H_2O$, MO a 100 watts y 80 °C durante 12 minutos), (Esquema 21). En este caso la reacción no procedió, observándose exclusivamente materia prima.



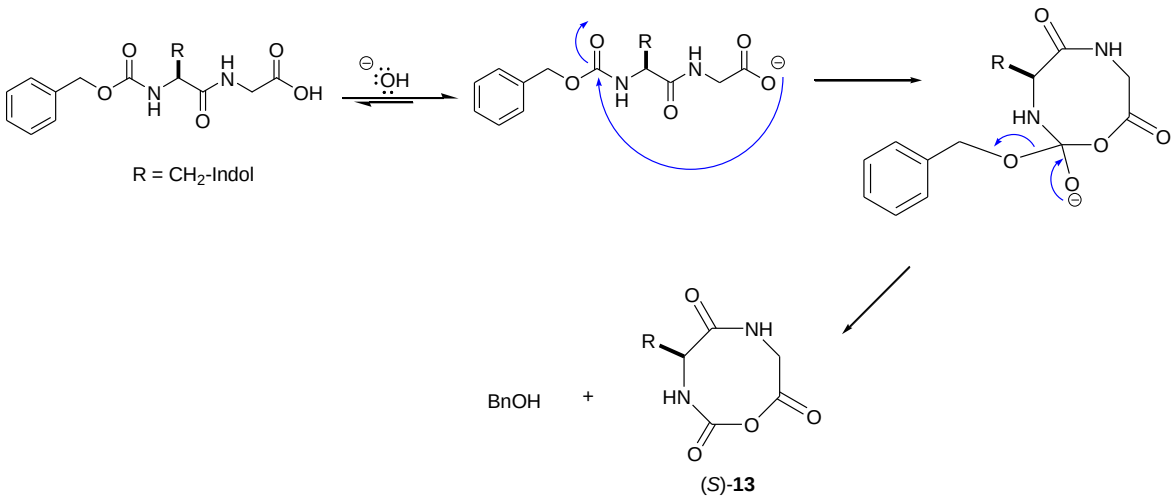

**Esquema 21.** Reacción con irradiación de microondas

Por otra parte, para comprobar que la reacción procede vía un ataque nucleofílico del carboxilato hacia el carbonilo del carbamato con eliminación del alcohol bencílico, como se propone en el esquema 22, se procedió a realizar la reacción con LiOH y 100 watts, pero ahora sobre el dipéptido con el ácido terminal libre **9´**.




**Esquema 22.** Formación de (*S*)-**13** a partir de **9´**.

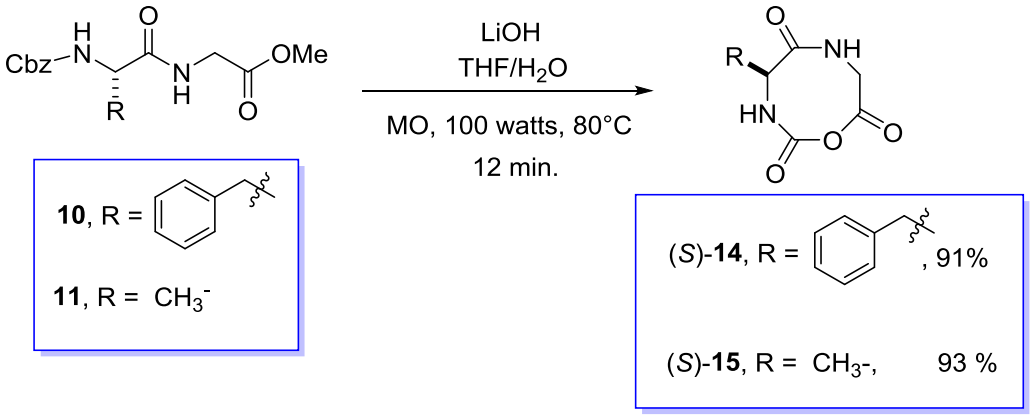
En este caso el LiOH actúa como base desprotonando el ácido carboxílico, el cual ataca al carbonilo del carbamato, eliminando posteriormente alcohol bencílico. Esquema 23.




**Esquema 23.**Mecanismo de reacción para la formación de (*S*)-**13** a partir de **9´**.

Los datos de propiedades físicas y RMN del producto de la reacción muestran que se trata del ciclo (*S*)-**13**.

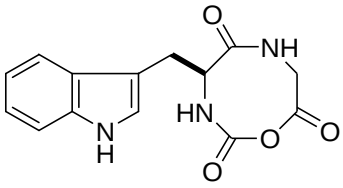
Posteriormente, se realizó la reacción de desprotección-ciclación en medio básico y promovida por MO de los dipéptidos *N*-Cbz-*L*-Phe-Gli-OMe **10** y *N*-Cbz-*L*-Ala-Gli-OMe **11** (Esquema 24). En este caso se obtuvieron los α-metil- y α -bencil-uretanos (*S*)-**14** y (*S*)-**15**, respectivamente. Cabe destacar que ambos productos se obtienen puros por TLC y en excelentes rendimientos por arriba del 90 %. Estos compuestos fueron caracterizados por RMN en una y dos dimensiones e infrarrojo.



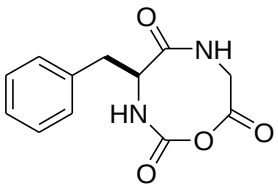

**Esquema 24.** Reacción de desprotección-ciclación de los dipéptidos **10** y **11** promovida por MO.

## 6. CONCLUSIONES

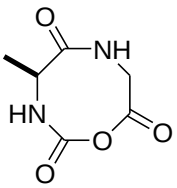
La radiación de MO favoreció la síntesis en cascada de α-alquil-ciclouretanos a partir de la reacción de desprotección-ciclación del *N*-Cbz-(*S*)-dipeptidil-metil-esteres (*S*)-**13**, (*S*)-**14** y (*S*)-**15** en medio básico y agua. La reacción procedió en un tiempo de 12 minutos y en rendimientos por encima del 90 %.




(*S*)-**13**




(*S*)-**14**




(*S*)-**15**

La influencia de la radiación de MO en la reacción promueve la formación de los ciclouretanos de forma rápida, bajo condiciones suaves, altamente eficiente y amigable con el ambiente.

Siendo este el primer reporte de ciclación de estos compuestos promovida por MO en medio básico, abre la puerta al estudio de la reactividad de otros derivados aminoacilos ante la radiación de MO bajo condiciones de reacción similares.

# 7.- PARTE EXPERIMETAL

## 7.1 Aspectos generales

El material de vidrio, cánulas, barras de agitación, etc., empleados en la realización de esta tesis se lavaron perfectamente, enjuagado con *i*-PrOH y secado en una estufa a 120°C por lo menos durante 12 h.

Los disolventes utilizados como el hexano, AcOEt, DCM se destilaron en torre de vigreux.

El tetrahidrofurano (THF) usado en las reacciones, se destiló sobre hidróxido de sodio y posteriormente se secó a reflujo con sodio metálico y benzofenona como indicador de humedad hasta observación de una coloración azul intenso. A continuación, se destiló el disolvente bajo condiciones anhidras con flujo de nitrógeno.

Los reactivos de partida fueron adquiridos grado reactivo de la casa comercial Sigma-Aldrich.

El monitoreo de las reacciones se efectuó mediante cromatografía en capa fina utilizando cromatofolios Merk de sílica 60 $F_{254}$ y como reveladores se utilizó luz UV y vapores de yodo.

La purificación de los compuestos se realizó por medio de cromatografía en columna usado como soporte estacionario gel de sílice de 300- 400 Merk.

Las reacciones asistidas por radiación de microondas se llevaron a cabo en un reactor CEM Discover Focussed Microwave System.

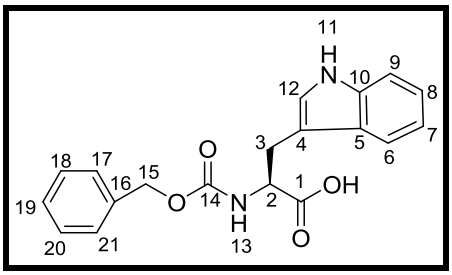
Los puntos de fusión fueron determinados mediante el método de Fischer en un equipo marca EVEL mod. 1237 y no están corregidos.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear ($^{1}H$, $^{13}C$, HETCOR, COSY y DEPT) se realizaron en equipos Varian Mercury Plus 400. Los desplazamientos químicos ($\delta$) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (*J*) se describen en Hertz (Hz), utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los disolventes deuterados utilizados para la obtención de los espectros fueron cloroformo ($CDCl_3$) y metanol ($CD_3OD$). Los espectros de masas fueron obtenidos a 70 eV en un espectrómetro Hewlett Packard modelo 5989B.

## 7.2 Procedimiento general de la *N*-protección de aminoácidos con cloroformiato de bencilo (CbzCl)

En un matraz balón provisto con agitador magnético, y en baño de hielo, se disolvió 1 equivalente de aminoácido en una solución de NaOH(ac) 1N. Posteriormente se adicionaron 1.12 equivalentes de cloroformiato de bencilo (CbzCl). La reacción se dejó reaccionar por una hora a una temperatura de 0°C y toda la noche a temperatura ambiente. El crudo de reacción se lavó con cloruro de metileno (2X30 mL). La fase acuosa se acidificó con HCl 1 N hasta pH 3.

Posteriormente la fase acuosa se extrajó con DCM (2X50 mL), la fase orgánica se secó sobre $Na_2SO_4$ anhídro para eliminar humedad, se filtró por gravedad y se concentró a presión reducida en rotavapor. El producto de reacción se purificó mediante cristalización, utilizando varias mezclas de disolventes.



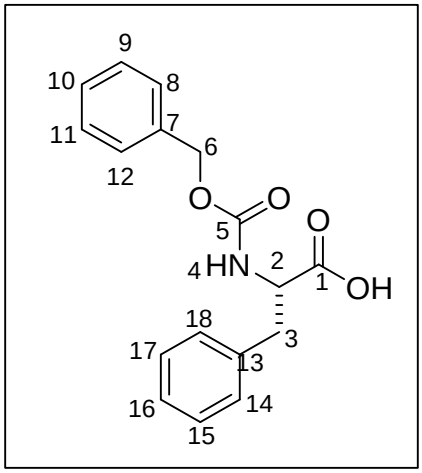

### 7.2.1 Cbz-*N*-*L*-Triptófano, 4.

Siguiendo el procedimiento general para la *N*-protección de aminoácidos, en un matraz balón provisto con una barra de agitación se adicionaron 1 g (5.0 mmol) de *L*-Trp, 40 mL de

NaOH 1 N y 0.76 ml (5.6 mmol) de CbzCl. Se obtuvieron 1.520 g del producto como un sólido blanco, con un rendimiento del 91%. P.f. 140°C.

$^{1}$H RMN.($CDCl_3$, 200 MHz) δ 8.11 (s, 1H, H-11), 7.59 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-9), 7.45 (d, *J* = 7.87 Hz, 1H, H-6), 7.23-7.33 (m, 6H, H´s-17-21 y H-12), 7.10-7.04 (m, 2H, H-7, H-8), 5.28 (a, 1H, H-13), 5.04 (m, 2H,H-15), 4.47-4.51 (a, 1H, H-2), 3.33 (dd, *J*= 4.94 y 14.46 Hz, 2H, H-3)

$^{13}$C RMN. ($CDCl_3$, 75 MHz) δ 28.5 (C-3), 56.3 (C-2), 67.5 (C-15), 111, 112.2, 119.2, 119.7, 122.3, 124.4, 128.6, 128.8 y 129.4 (C´s-17-21), 138.2 (C-16), 154.7 (C-14), 175.2 (C-1).

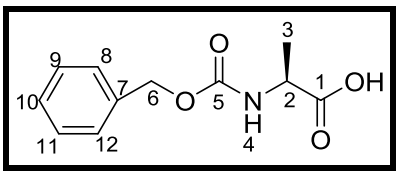



### 7.2.2 Cbz-*N*-*L*-Fenilalanina, 5

Siguiendo el procedimiento general para la *N*-protección de aminoácidos, en un matraz balón provisto con una barra de agitación magnética, se adicionaron 1 g (11.0mmol) de *L*-Phe, 40 mL de NaOH 1 N y 0.95 mL (7 mol) de CbzCl. Se obtuvieron 1.701g del producto como un sólido blanco de punto de fusión de 100°C y con un rendimiento del 91%.

$^{1}$H RMN. ($CDCl_3$, 200 MHz) δ 7.11-7.32 (m, 10H, H´s-8-12 y 14-18), 5.25 (d, *J* = 8.0, 1H, H-4), 5.08 (s, 2H, H-6), 4.65 (dd, *J* = 6.0, 13.6 Hz, 1H, H-2), 3.21 (dd, *J* =5.4, 14 Hz, 1H, H-3a), 3.08 (dd, *J*= 6.2, 14 Hz, 1H, H-3b).

$^{13}$C RMN. ($CDCl_3$, 75 MHz) δ 37.6 (C-3), 54.1 (C-2), 67.1 (C-6), 127.2, 128.0, 128.2, 128.5, 128.6, 128.3 (C´s-8-12 y 14-18) 135.8, 136.0 (C´s-7,13) 155.8 (C-5), 176.0 (C-1).

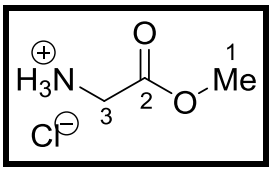



### 7.2.3 Cbz-*N*-*L*-Alanina, 6

Siguiendo el procedimiento general para la *N*-protección de aminoácidos, en un matraz balón provisto con una barra de agitación se adicionaron 1 g (11.2mmol) de *L*-alanina, 40 mL de NaOH 1 N y 1.77 mL (12.0mmol) de CbzCl. Se obtuvieron 1.320 g del producto como un sólido blanco, con un rendimiento del 92%. Punto de fusión 66°C.

$^{1}$H RMN[26] ($CDCl_3$, 400 MHz) $\delta$ 7.10-7.30 (*m*, 5H, H´ 8-12), 5.35 (*a,* 1H, H-4), 5.09 (*d*, *J*=6.59 Hz, 2H, H-6), 4.41 (*c, J*=7.14 Hz, 1H, H-2), 1.46 (*d, J*=7.3 Hz, 3H, H-3).

$^{13}$C RMN ($CDCl_3$, 100 MHz) $\delta$ 18.4 (C-3), 49.5 (C-2), 67.1 (C-6), 128.1, 128.2, 128.5 (C´s -8-12), 136.0 (C-7), 155.8 (C-5) 177.6 (C-1).




### 7.3 Clorhidrato del α-aminoacetato de metilo, 8.

En un matraz balón provisto de agitación magnética y en baño de hielo, se adicionó 1 g (13mmol) de glicina disuelto en 40 mL de MeOH. Posteriormente se adicionaron lentamente 1.45 mL (15.6 mmol) de cloruro de tionilo ($SOCl_2$) y se dejó en agitación por 12 h. Transcurrido el tiempo de reacción, se evaporó el disolvente en el rotavapor, empleando una trampa de hidróxido de sodio para neutralizar los vapores del HCl que se desprenden. Posteriormente se realizaron lavados con un DCM con el fin de purificar el éster. Se obtuvieron 1.601 g del compuesto en forma de clorhidrato con un rendimiento del 95%, como un sólido cristalino higroscópico.

$^{1}$H RMN[27] ($CD_3OD$, 200 MHz) $\delta$ 3.82 (*s,* 2H, H-2), 3.81 (*s,* 3H, H-1).

$^{13}$C RMN ($CD_3OD$, 75 MHz) $\delta$ 40.9 (C-3), 53.4 (C-1), 168.9 (C-2).

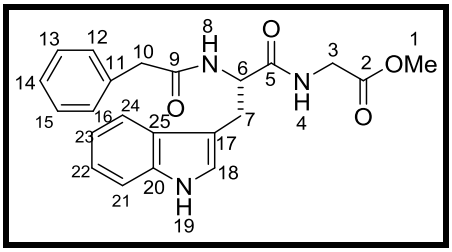
### 7.4 Procedimiento general para el acoplamiento de aminoácidos vía anhídridos mixtos.

**Mezcla A:** En un matraz balón provisto de agitación magnética bajo corriente de nitrógeno se adicionó 1 equivalente del amino éster correspondiente disuelto en THF/DMSO a una concentración de 0.2 M; posteriormente se adicionaron 2 equivalentes de 4-metilmorfolina (NMM). La mezcla de reacción se dejó reaccionar por un periodo de 1 h a temperatura ambiente en condiciones anhidras.

**Mezcla B:** En un matraz balón de 3 bocas provisto de dos embudos de adición, agitación magnética y corriente de nitrógeno, se colocó1.1 equivalentes del aminoácido *N*-protegido disuelto en THF a una concentración 0.2 M. La solución se enfrió a -10°C (baño de hielo húmedo y cloruro de sodio). Una vez enfriada la solución se adicionaron 1.1 equivalentes de NMM y se dejó en agitación por un periodo de 5 minutos. Transcurrido el tiempo, se adicionaron lentamente 1.05 equivalentes de cloroformiato de isobutilo (*i*-BBCl) disueltos en THF a una concentración 0.2 M. La mezcla se dejó reaccionar por un periodo de 20 minutos.

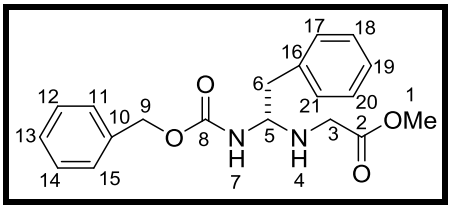
Posteriormente se adicionó la **mezcla A** lentamente (gota a gota) a la **mezcla B**. La mezcla de reacción se agitó por una hora más a -10°C y dejando subir la temperatura hasta alcanzar la temperatura ambiente para después dejar reaccionar toda la noche.

Transcurrido el tiempo de reacción se evaporó el disolvente a presión reducida en el rotavapor, posteriormente se extrajo con acetato de etilo (AcOEt) y se lavó con HCl al 10%, $H_2O$ (2X20 mL), solución saturada de $NaHCO_3$ (2X20 mL), $H_2O$ (2X20 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhídro y finalmente se concentró en el rotavapor. El producto de reacción se purificó por medio de cromatografía en columna, empleando gel de sílice como fase estacionaria y mezclas de disolventes compuestas de hexano, AcOEt, metanol y DCM como fase móvil.



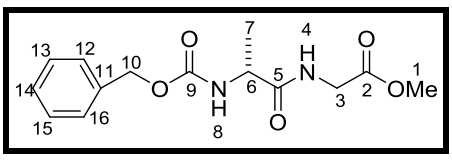
### 7.4.1 Cbz-*N*-*L*-Trp-Gli-*O*Me, 9

De acuerdo con el procedimiento general de acoplamiento, 1.192 g (3.50 mmol) de Cbz-*N*-*L*-triptófano **4** fueron tratados con 0.38 mL (3.5 mmol) de NMM en 23.85 mL de THF y 0.46 mL (3.58 mmol) de i-BBl disueltos en 2 mL de THF anhidro, seguido de la adición de la mezcla formada por 0.400 g (3.1 mmol) del éster metílico de la glicina **8**, 0.4 mL (3.8 mmol) de NMM, 9.28 mL de THF y 2 mL de DMSO. Después de la purificación por recristalización se aislaron 1.177 g (82% de rendimiento) del compuesto **9** como un sólido color amarillo ocre de punto de fusión de 140 °C. Los datos espectroscópicos coincidieron con los reportados en la literatura.[28]



### 7.4.2 Cbz-*N*-*L*-Phe-Gli-*O*Me, 10

De acuerdo con el procedimiento general de acoplamiento, 0.7 g (3.0 mmol) de Cbz-*N*-*L*-Pen **5** fueron tratados con 0.92 mL de NMM (3.0mmol) en 14 mL de THF y 0.4 ml (3.0mmol) de IBCF disueltos en 2 mL de THF anhidro, seguido de la adición de la mezcla formada por 0.285 g (2.0mmol) del éster metílico de la Gli **8**, 0.34 mL (3.1 mmol) de NMM ,6.61 mL de THF y 2mL de DMSO. Después de la purificación por recristalización en una mezcla DCM/Hexano se aislaron 0.608 g (89.2 % de rendimiento) del compuesto **10** como un sólido blanco de punto de fusión de 100 °C.Los datos espectroscópicos coincidieron con los reportados en la literatura.[28]



### 7.4.3 Cbz-*N*-*L*-*Ala*-Gli-OMe, 11

De acuerdo con el procedimiento general de acoplamiento, 0.44g (1.98 mmol) de Cbz-*N*-*L*-Alanina **6** fueron tratados con 0.92 mL de NMM (3.0mmol) en 14 mL de THF y 0.4

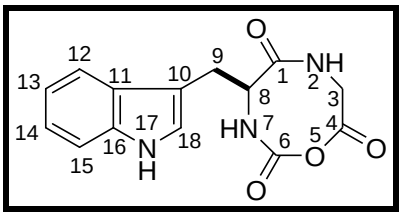
ml (3.1 mmol) de *i*-BBCl disueltos en 2 mL de THF anhidro, seguido de la adición de la mezcla formada por 0.250 g (1.99 mmol) del éster metílico de la Gli **8**, 0.2 mL (2.3 mmol) de NMM, 5.8 mL de THF y 2 mL de DMSO. Después de la purificación por recristalización se aislaron 0.31 g (55 % de rendimiento) del compuesto **11** como un sólido blanco.

$^{1}$H RMN[29] ($CDCl_3$ 200 MHz) $\delta$ 7.26-7.54 (*m*, 5H, H´s 12-16), 6.68 (*s*, 1H, H-8), 5.41 (*s*, 1H, H-4), 5.22 (2*d*, *J*=12.2 Hz 2H, H-10), 4.30 (*m*, 1H, H-6), 4.04 (*d*, *J* = 5.3 Hz, 2H, H-3),3.76 (*s*, 3H, H-1),1.41 (*d*, *J* = 7.1 Hz, 3H,H-7).

$^{13}$C RMN. ($CDCl_3$ 75 MHz) $\delta$ 18.4 (C-7), 41.1 (C-3), 50.4 (C-6), 52.4 (C-1), 67.1 (C-10), 128.1, 128.2, 128.5 (C´s, 12-16), 136.03 (C-11), 156.0 (C-9), 170.0 (C-5) 172.3 (C-2).

## 7.5 Procedimiento general para la desprotección-ciclación de los péptidos bajo irradiación de microondas.

En un matraz para microondas provisto de agitación magnética se peso un equivalente de *N*-Cbz-α,α-dipéptido y se disolvió en una mezcla de THF/$H_2O$ (1:1)a una concentración 2 M, posteriormente se adicionaron 3 equivalentes de hidróxido de litio. La mezcla de reacción fue llevada a una temperatura de 80°C, a 100 w de potencia de MO por un tiempo de 12 minutos. Transcurrido el tiempo de reacción (monitoreado por TLC, en sistema de Hexano/AcOEt, 1:1) se evaporó el disolvente. El crudo de reacción se acidificó con HCl al 10 % a un pH de 4, posteriormente se extrajo con AcOEt, se lavó con $H_2O$, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se evaporó en el rotavapor a presión reducida.




### 7.5.1 (*S)*-4-metilen-indolin-1-oxa-3,6-diazocan-2,5,8-triona, (*S)*-13

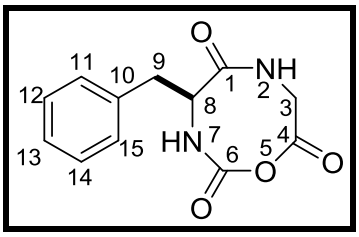
Siguiendo el procedimiento general para la desprotección-ciclación promovida por MO, se

sometieron a reacción 0.500 g (1.21 mmol) del dipéptido Cbz-*N*-*L*-Trp-Gli-*O*Me **9** disueltos en 20 mL de THF/$H_2O$, con 0.15 g (3.6 mmol) de LiOH. La mezcla resultante fue sometida a MO. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna empleando gel de sílice 300-400, con una mezcla 97:2:1 DCM/MeOH/$NH_4OH$ como eluente, obteniéndose 0.450 g de un sólido café con un rendimiento del 63 % y un punto de fusión de 180 °C.

$^1$H RMN (400 MHz, $CD_3OD$) δ 7.60 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H-12), 7.28 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, H-15), 7.11 (s, 1H, H-18), 7.03 (dd, *J* = 8.1Hz 1H, H-14), 6.97 (dd, *J* =8.0 Hz, 1H, H-13), 4.49 (dd, *J* = 5.7 Hz,1H, H-8), 3.69 (s, 2H, H-3), 3.27 (dd, *J* = 14.5, 5.0 Hz 1H, H-9a), 3.16 (dd *J* = 14.5, 6.7 Hz, 1H, H-9b).

$^{13}$C RMN (100 MHz, $CD_3OD$) δ 178.61 (C-1) 176.63 (C-4), 160.29 (C-6), 137.87 (C-16), 129.26 (C-11), 124.49 (C-18), 122.08 (C-14), 119.67 (C-12), 119.55 (C-13), 111.96 (C-15), 111.56 (C-10), 56.51(C-8), 44.50 (C-3), 29.44 (C-9).

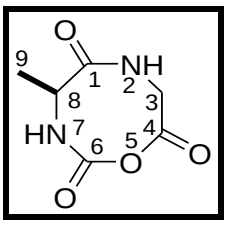
EM m/z ( 20 eV) 285 (M-2H), 228, 185, 171, 130, 116.




**7.5.2 (S)-4-bencil-1-oxa-3, 6-diazocan-2,5,8-triona, (S)-14**

Siguiendo el procedimiento general para la desprotección-ciclación promovida por MW, se sometieron a reacción 0.118 g (0.34mmol) del dipéptido Cbz-*N*-*L*-Phe-Gli-*O*Me **10** disueltos en 6 mL de THF/$H_2O$, con 0.043 g (1.03 mmol) de LiOH. La mezcla resultante fue sometida a MO. Se obtuvieron 0.105 g del compuesto (*S)*-**14** en forma de cristales blancos, con un punto de fusión de 110 °C y con un rendimiento del 91%.

$^1$H RMN (400 MHz, $CD_3OD$) δ 7.35 – 7.10 (m, 5H, H´s-11-15), 4.53 (dd, *J* = 7.5, 5.4 Hz, 1H, H-8), 3.82 (dd, *J* = 18.1, 9.1 Hz, 2H, H-3), 3.13 (dd, *J* = 13.8, 5.4 Hz, 1H, H-9), 2.99 (dd, *J* = 13.8, 7.1 Hz, 1H, H-9).

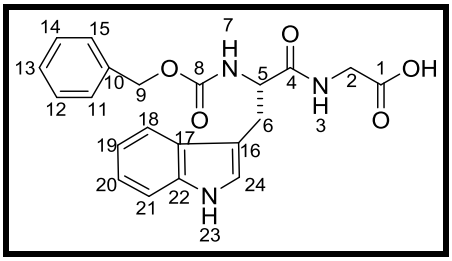


**7.5.3 (*S)*-4-metil-1-oxa-3,6-diazocan-2,5,8-triona, (*S)*-15**

Siguiendo el procedimiento general para la desprotección-ciclación promovida por MO, se sometieron a reacción 0.149 g (0.51 mmol) del dipéptido Cbz-*N*-*L*-Ala-Gli-*O*Me **11** disueltos en 6 mL de THF/$H_2O$, con 0.064 g (1.5 mmol) de LiOH. La mezcla resultante fue sometida a MO. Posteriormente se evaporó el disolvente de la mezcla de reacción y el producto se purificó por medio de cromatografía en columna utilizando como eluente una mezcla de $CH_2Cl_2$/MeOH (95:5). Se obtuvieron 0.138 g del compuesto (*S)*-**15** en forma de un sólido blanco, con un punto de fusión de 108 °C y con un rendimiento del 93 %.

$^1$H RMN (400 MHz, DMSO) δ 6.47 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H-7), 6.24 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H, H-2), 4.06 (m, 1H, H-8), 3.68 (2dd, *J* = 6.0, 18.1 Hz, 2H, H-3), 1.21 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H, H-9).

$^{13}$C RMN (100 MHz, DMSO) δ 175.21 (C-6), 172.48 (C-1), 157.31 (C-4), 48.14 (C-8), 41.42 (C-3), 18.44 (C-9).

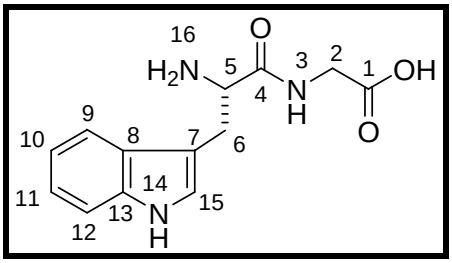


**7.6 Cbz-*N*-*L*-Trp-Gli-OH, 9´**

En un matraz balón provisto de agitación magnética y baño de hielo, se pesaron 0.050 g (0.12 mmol) el Cbz-*N*-*L*-Trp-Gli-OMe **9** y se disolvieron en 2 mL de una mezcla de THF/$H_2O$ (1:1) a una concentración 2 M, posteriormente se adicionaron 0.015 g (0.37mmol) de LiOH. La mezcla de reacción fue llevada a una temperatura de 0 °C. Y se dejo reaccionar por un tiempo de 2 horas. Transcurrido el tiempo de reacción (monitoreado por TLC, en sistema de hexano/AcOEt, 1:1) se evaporó el disolvente. El crudo de reacción se acidificó con HCl al 10 % a un pH de 4, posteriormente se extrajo con AcOEt, se lavó con $H_2O$, se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó en el rotavapor a presión reducida. Se obtuvieron 0.04 g del compuesto **9´** como una miel color ámbar, con un rendimiento del 87.5 %.

$^{1}$H RMN (400 MHz, $CD_3OD$) δ 7.59 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-18), 7.35 -7.24 (m, 6H, H-11-15, H-21), 7.10-7.04 (m, 2H, H-24, H-20), 6.98 (dd, *J* = 7.1 Hz, 1H, H-19), 5.01 (*2d*, *J*=6.5 Hz, 2H, H-9), 4.46 (dd, *J* = 8.7, 5.0 Hz, 1H, H-5), 3.75 (dd, *J* = 4.16, 14.9 Hz, 2H, H-2), 3.34 (dd, *J* = 14.7, 5.0 Hz, 1H, H-6a), 3.08 (dd, *J* = 14.6, 8.8 Hz, 1H, H-6b).

$^{13}$C RMN (100 MHz, $CD_3OD$) δ 175.4 (C-1), 174.1 (C-4), 158.3 (C-8), 138.0 (C-10), 137.9 (C-22), 129.4 ,128.8,128.6(C s´11-15), 128.1 (C-17), 124.5 (C-24), 122.2 (C-20), 119.7 (C-18), 119.3 (C-19), 112.2 (C-21), 111.1 (C-16), 67.5 (C-9), 57.4 (C-5), 44.1 (C-2), 29.0 (C-6).




**7.7 *N-L*-Trp-Gli-OH, 12**

En un matraz de hidrogenación provisto con agitación magnética, atmósfera de nitrógeno y Pd/C al 10 % (w/w) como catalizador, se adicionaron 0.01 g (0.039 mmol) del compuesto *N*-protegido **9´**disuelto en 10 mL de metanol. A continuación, el matraz de reacción se saturó con $H_2$ gas y la hidrogenación se llevó a cabo a presión atmosférica por 3 h. Finalmente, la mezcla se filtró a través celita, se hicieron lavados con metanol y se concentró en el rotavapor a presión reducida. Se obtuvo el compuesto **12** en forma de miel y con un rendimiento del 95%.

$^{1}$H NMR (400 MHz, $CD_3OD$) δ 7.63 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H-9), 7.35 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, H-12), 7.17 (s, 1H, H-15), 7.11 (ddd, *J* = 8.2, 7.1, 1.2 Hz, 1H, H-11), 7.04 (ddd, *J* = 8.0, 7.0, 1.1 Hz, 1H, H-10), 4.02 (dd, *J* = 7.7, 6.7 Hz, 1H, H-5), 3.92 (d, *J* = 17.1 Hz, 1H, H-2), 3.50 (d, *J* = 17.1 Hz, 1H, H-2), 3.37 (dd, *J* = 14.7, 6.2 Hz, 1H, H-6a), 3.17 (dd, *J* = 14.7, 7.9 Hz, 1H, H-6b).

$^{13}$C NMR (100 MHz, $CD_3OD$) δ 174.93 (C-1), 169.73 (C-4), 136.97 (C-13), 127.16 (C-8), 124.13 (C-15), 121.52 (C-11), 118.95 (C-9), 117.88 (C-10), 111.32 (C-12), 107.45 (C-7), 54.37(C-5), 43.16 (C-2), 27.77 (C-6).

## 8.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1.- Juaristi, E.*Aplicaciones de microondas en química y en la biología*,Colegio Nacional,México, D.F, **2009**.

2.- Dallinger, D. *Chemical reviews*, **2007,** 2563.

3.- Anastas, P.; Warner, J.*Green Chemistry:Theory and Practice*,Oxford University Press, Nueva York,**1998.**

4.- Hayes, B. L. *Microwave Synthesis Chemistry at the Speed of Light*. CEM. **2007**

5.- Aradilla, D.; Oliver, R.; Estrani, F.,*Técnica Industrial,* **2009***,* 54-59.

6.-Makul, N.; Rattanadecho, P.; Agrawal, D. K. *Renewable and Sustainable Energy Reviews,* **2014**, *37*, 715-733.

7.-Herrero, M. A.; Kremsner, J. M.; Kappe, C. O.*Journal of Organic Chemistry,* **2008**, *73*, 36-47.

8.-Padro-Gonial, J.; Morán, *J. Ann. Quim*. **2011**, *107*, 129-136.

9.- Calvino, V.; Martín, R.; López, A. J.; *Vida Científica*, **2008**, *1*, 116-121.

10.- Polshettiwar, V.; Varma, R. S. *Accounts of Chemical Research* **2008**, *41*, 629-639.

11.-Gedye, R.*Tetrahedron Letters* **1986**, *27*, 279-282.

12.- Galanis, A. S.; Alberticio, F.; Grotli, M..Organic Letters **2009,** *11*, 4488-4491.

13.- Bischoff. R.; Schutler, H. Journal of Proteomics **2012**, *75*, 2275-2296.

14.-Andrew B. Hughes. Aminoacids, *Peptides and Proteins in Organic chemistry*, Volumen 5, WILEY –VCH,**2011.**

15.-Smith M.B . *Organic Synthesis* McGraw-Hill Education :Singapore; **2004.**

16.-Leo Benoiton, N.*Chemistry of Peptide Synthesis*, Taylor & Fancis, **2006.**

17.-Caddick, S.; Fitzmaurice, R.Tetrahedron,**2009**, *65*, 3325-3355.

18.-Reynoso-Soto, E.; Rivero, I. *Journal of the Mexican Chemical Society*, **2010**, *54*, 160-163**.**

19.-Cruz-huerta, J.; Carrillo-Morales, M.; SantaCruz-Juárez E.; Hernádez-Ahuactzi, I.F.; Escalante-García, J.; Godoy-Alcantar, C.;Guerrero-Álvares, J. A.; Sánchez, M.*Inorg.Chem.* **2008**, *47*, 9874-9885.

20.- Katritzky, A.; Abdel-Fattah, A. A. A.; El-Gendy, B.; Soloducho, J.Tetrahedron**2007**, *63*, 6477-6484.

21**.-**Aviña Verduzco J., *Tesis doctoral*, Cinvestav-IPN,México, D.F., **2004.** Bandala ,Y.; Melgar, R.; Guzmán-Mejía, R.; Olivares, J. L. Juaristi, E.*J. Mex. Chem.* **2010**, *53*, 146-153.

22.- Perez-Picaso, L.;Escalante, J.; Olivo, H. F.; Rios, M. Y. *Molecules,* **2009**, *14*, 2836-2849.

23.- T. W. Graham Solomons. *Fundamentos de Química Orgánica*. Limusa, **2004.**

24.- Jones, R.C.F.; Crumpling, L.J.; Iley, J.N. *ARKIVOC* **2011**, *iv*, 82-103.

25.- Mavandadi, F; Pilotti, A.*Drug Dsicovery Today* **2006**, *11*, 165-175.

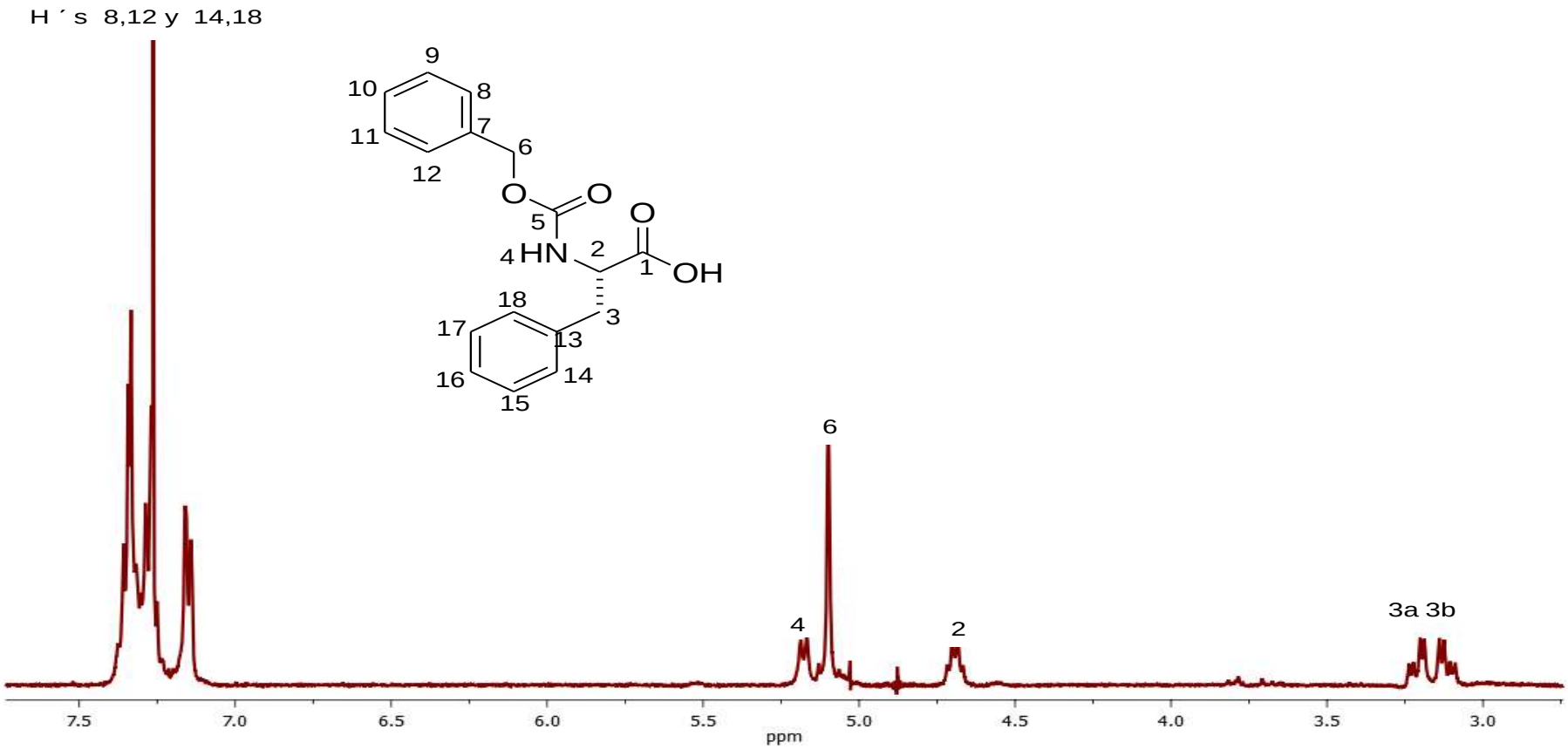
26.-Guzmán Rodriguez, J. J.*Tesis de Licenciatura*, Facultad de Q.F.B. UMSNH, Morelia Michoacán, México, **2009**.

27.-Solorio López, M**.** *Tesis de Maestría*, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas-UMSNH, Morelia Michoacán, México, **2013**.

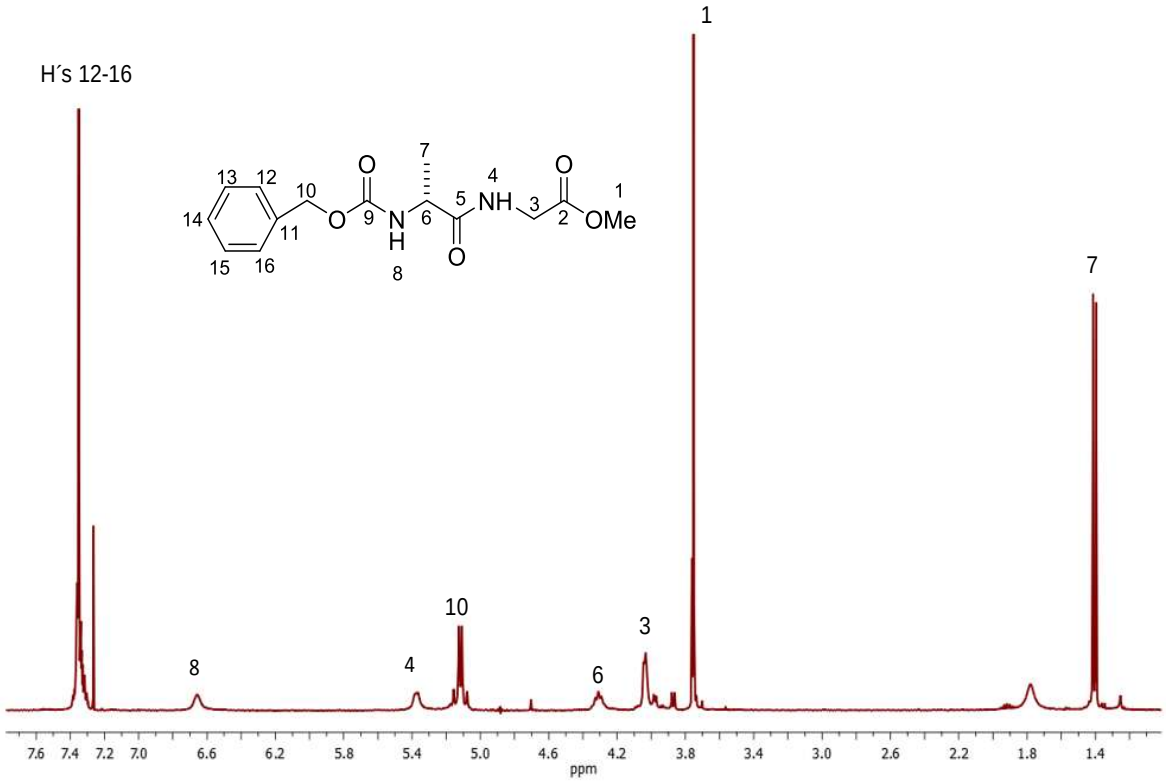
28.-Colín Aviles, R.*Tesis de Maestría*, Facultad de Q.F.B. UMSNH, Morelia Michoacán, México, **2011.**

29.-Espinosa Chávez, J. A. *Tesis de Maestría*, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas-UMSNH, Morelia Michoacán, México, **2013**.

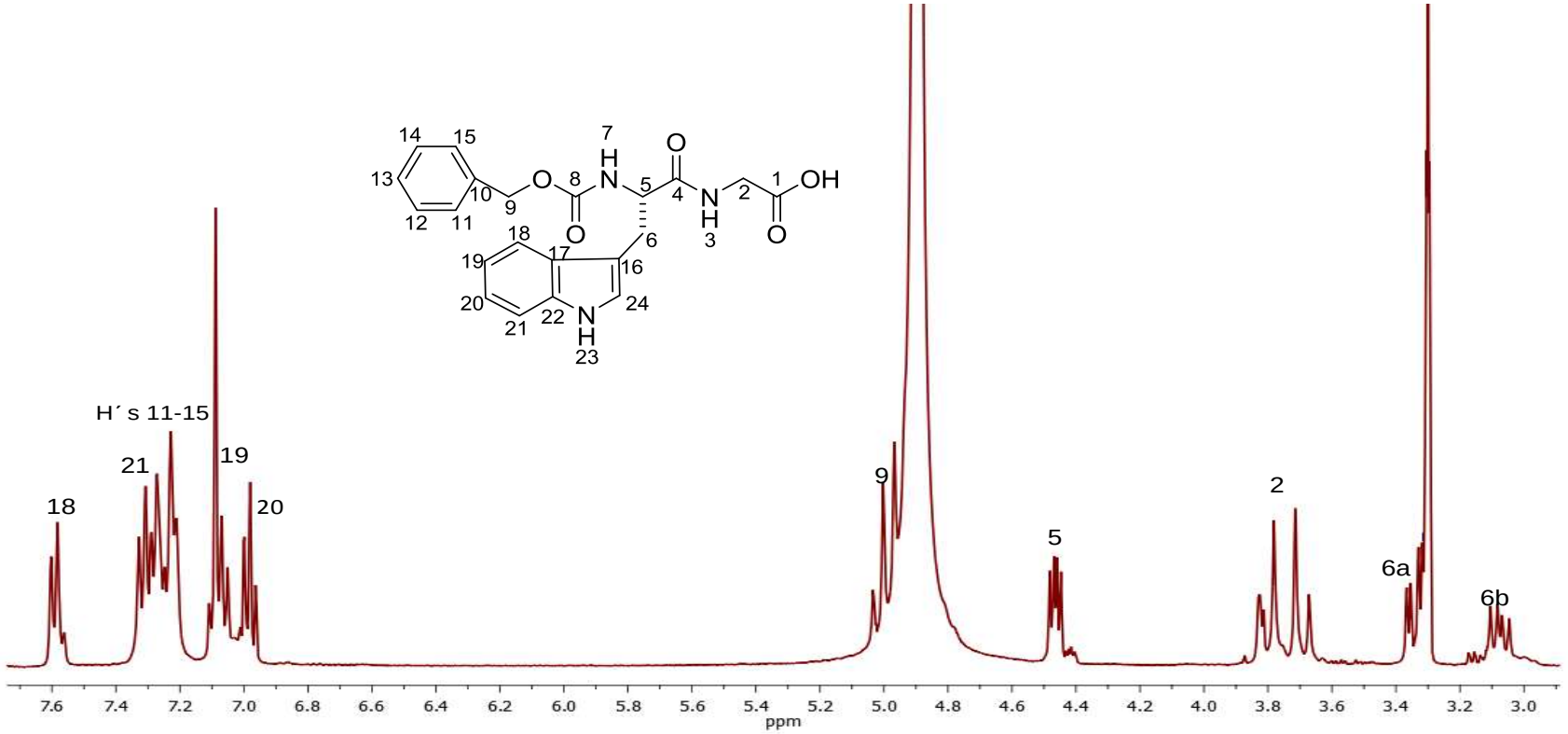
# ANEXOS



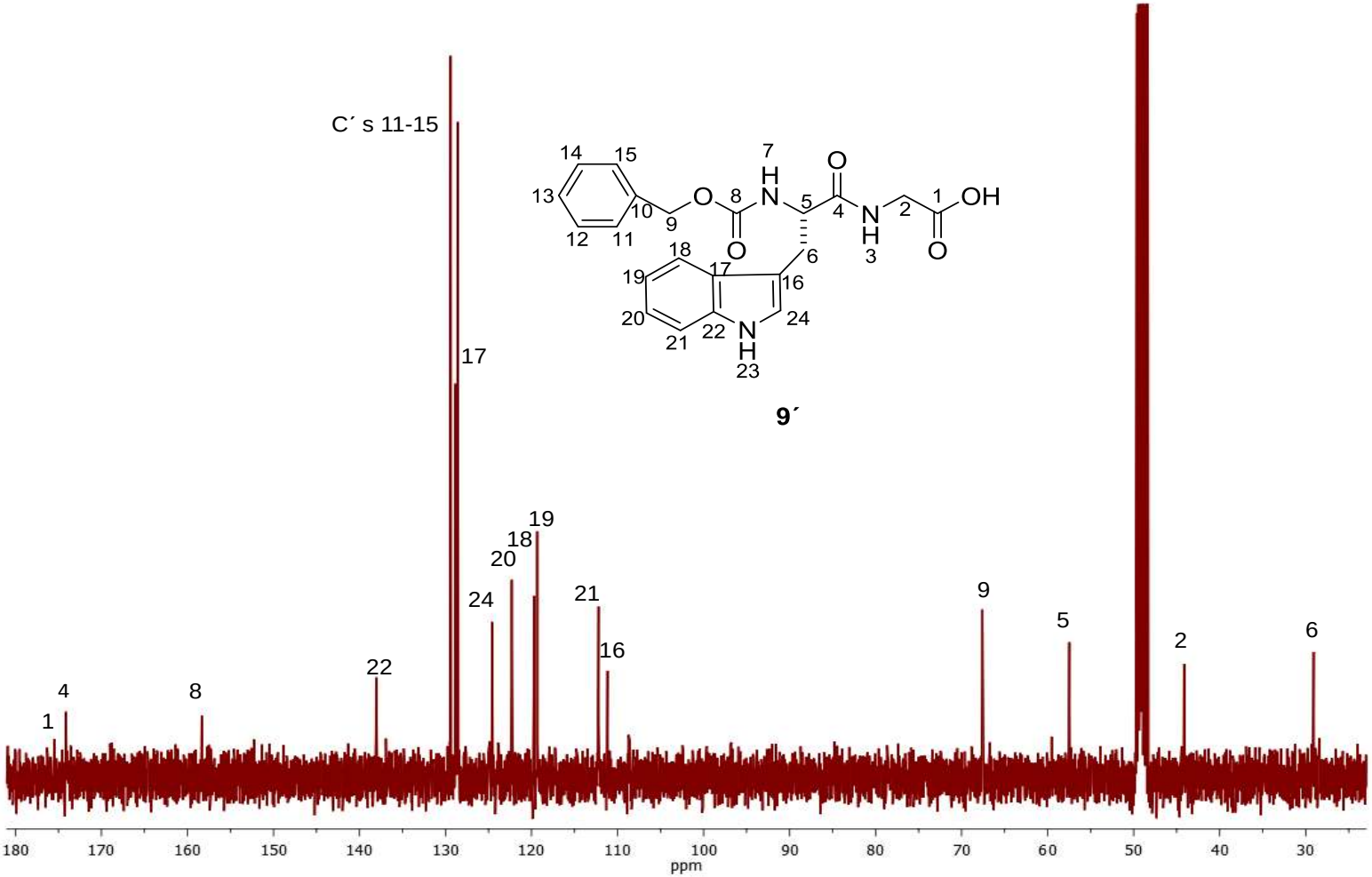

Espectro de RMN de $^{1}H$ (200 MHz) de Cbz-*N*-*L*-Fenilalanina **5**, en $CDCl_3$




Espectro de RMN de $^{1}H$ (200 MHz) del *N*-Cbz-*L*-Ala-Gli-OMe **11**, $CDCl_3$

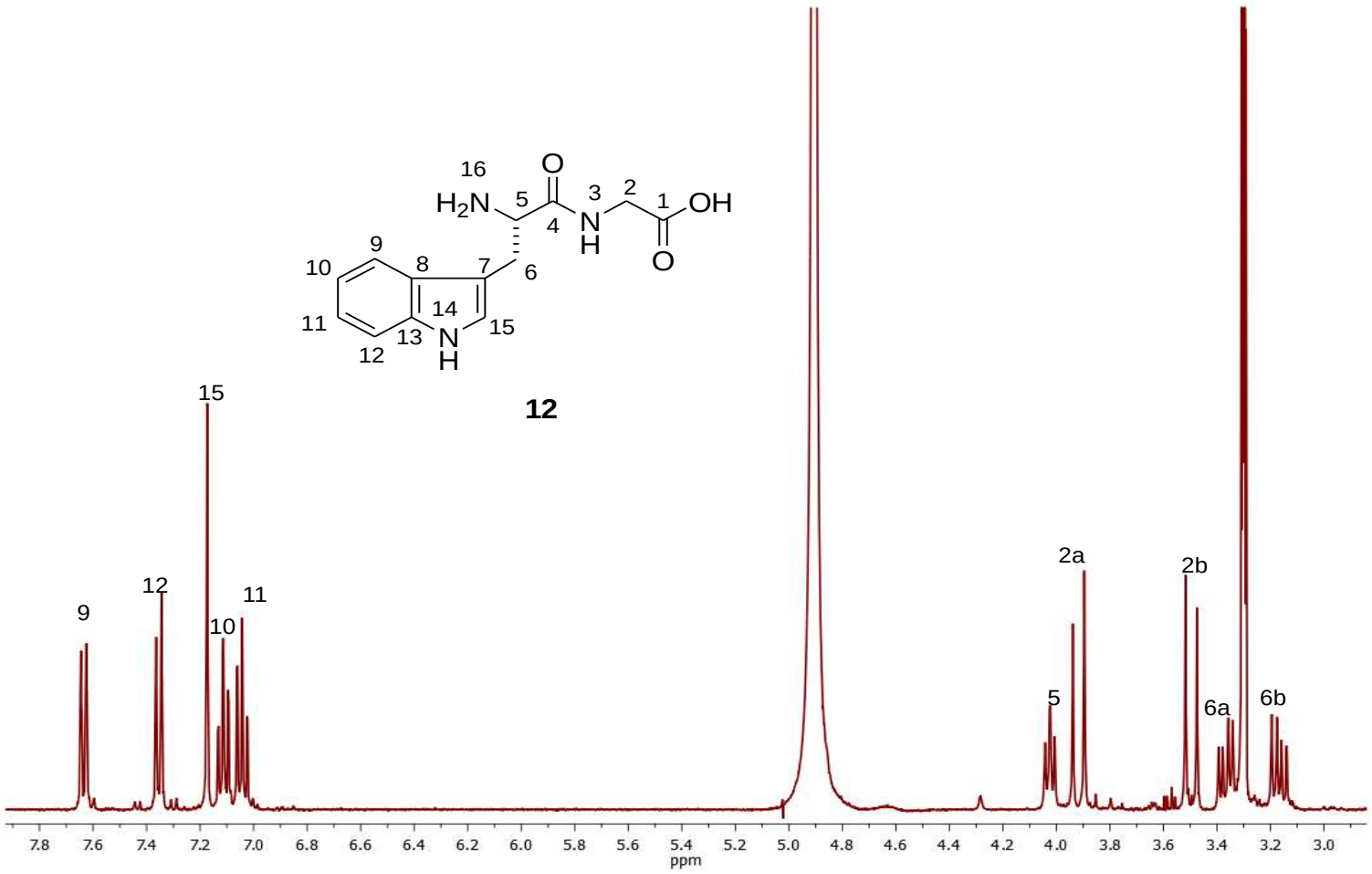



Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz) del Cbz-*N*-*L*-Trp-Gli-OH **9´**, $CD_3OD$



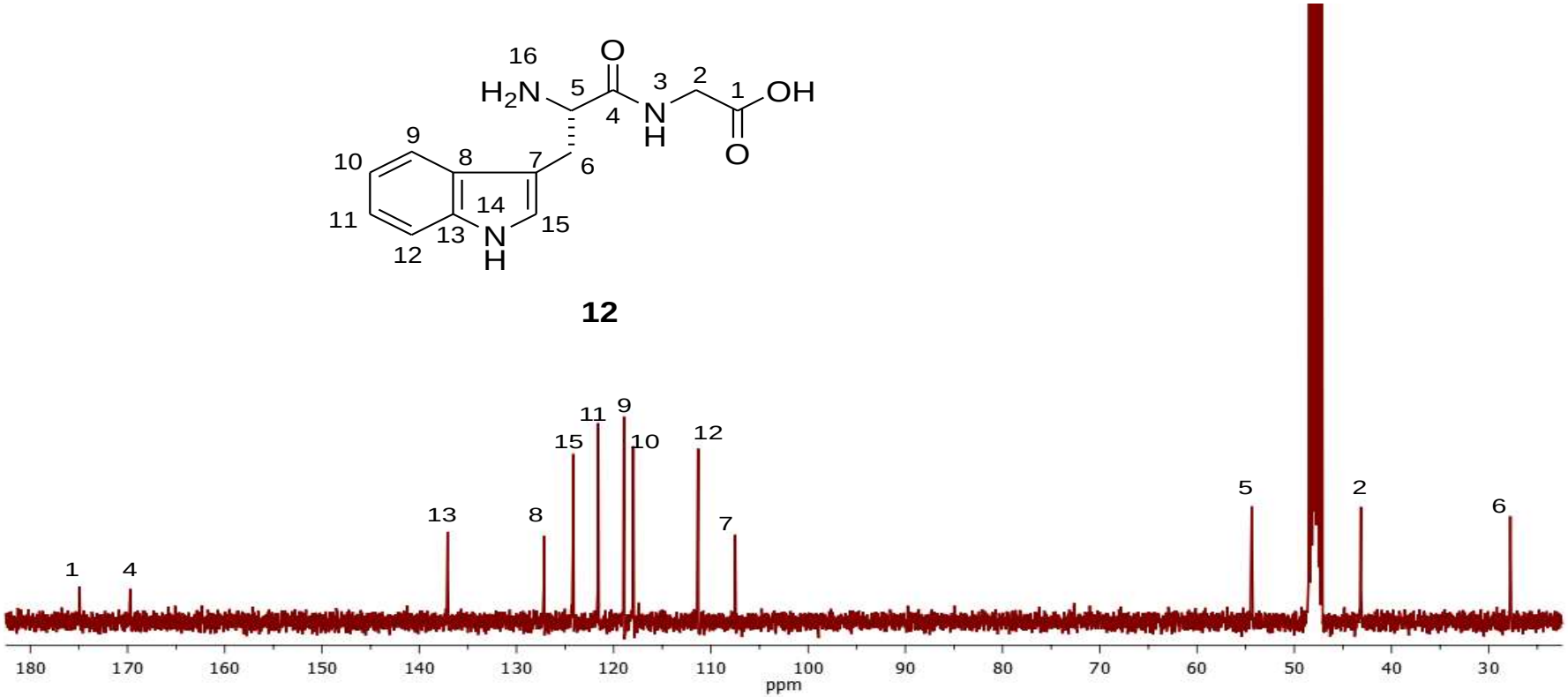

**9´**

Espectro de RMN de $^{13}C$ (400 MHz) del Cbz-*N*-*L*-Trp-Gli-OH **9´**, $CD_3OD$



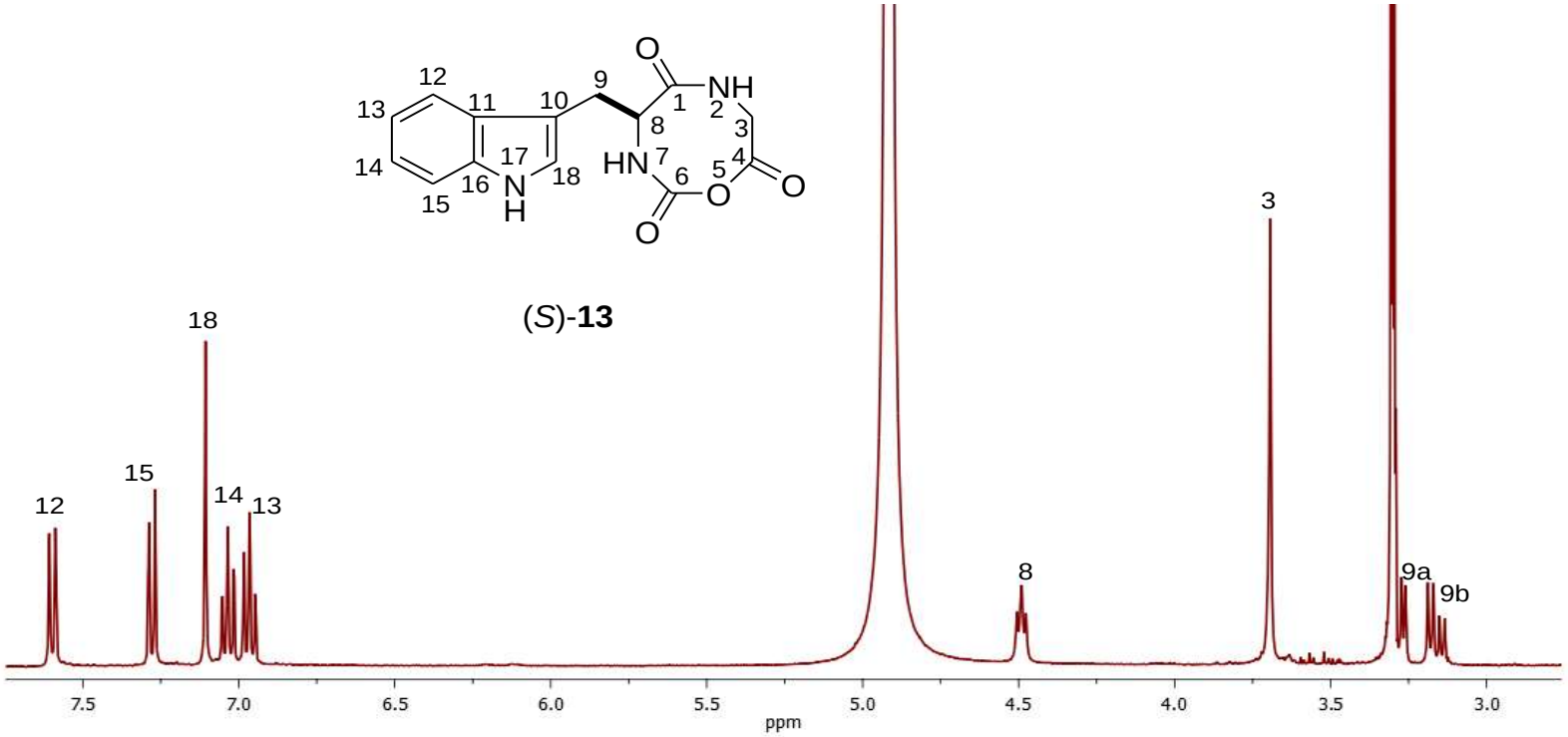

**12**

Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz) del $H_2$*N*-*L*-Trp-Gli-OH **12,** $CD_3OD$

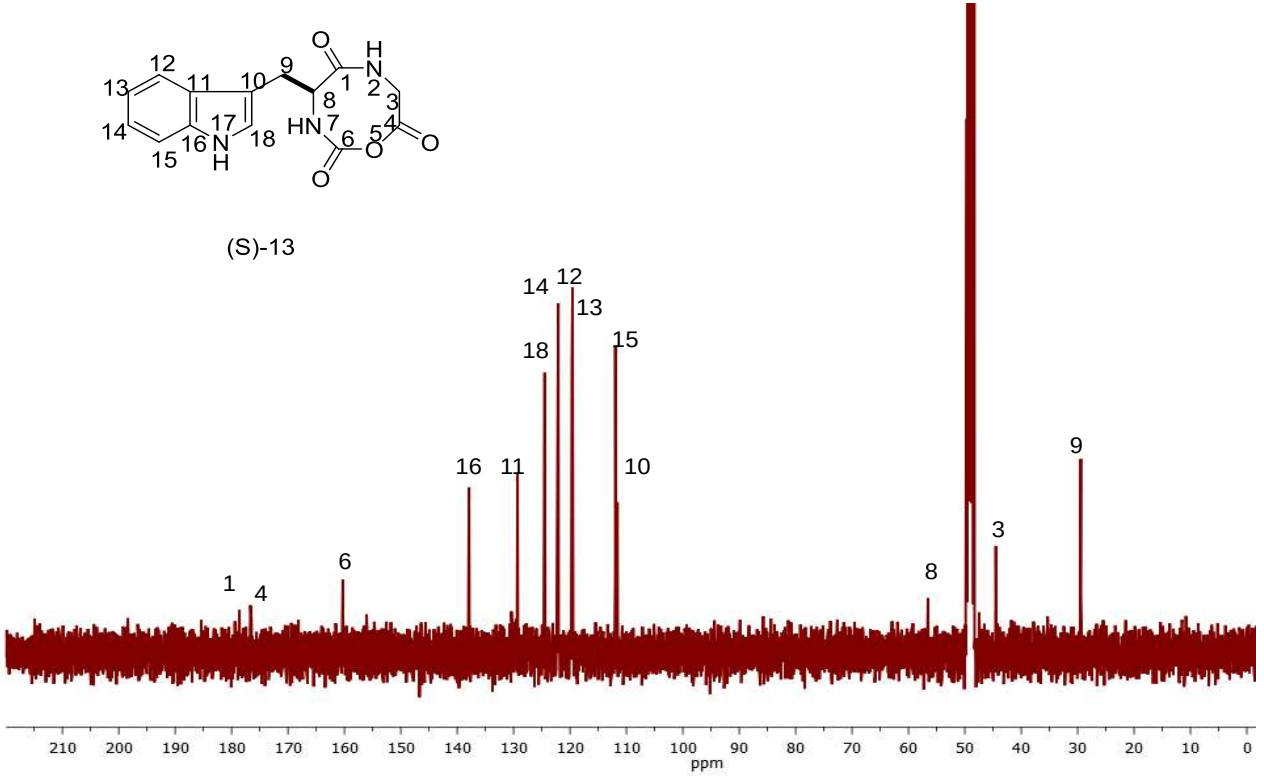



**12**

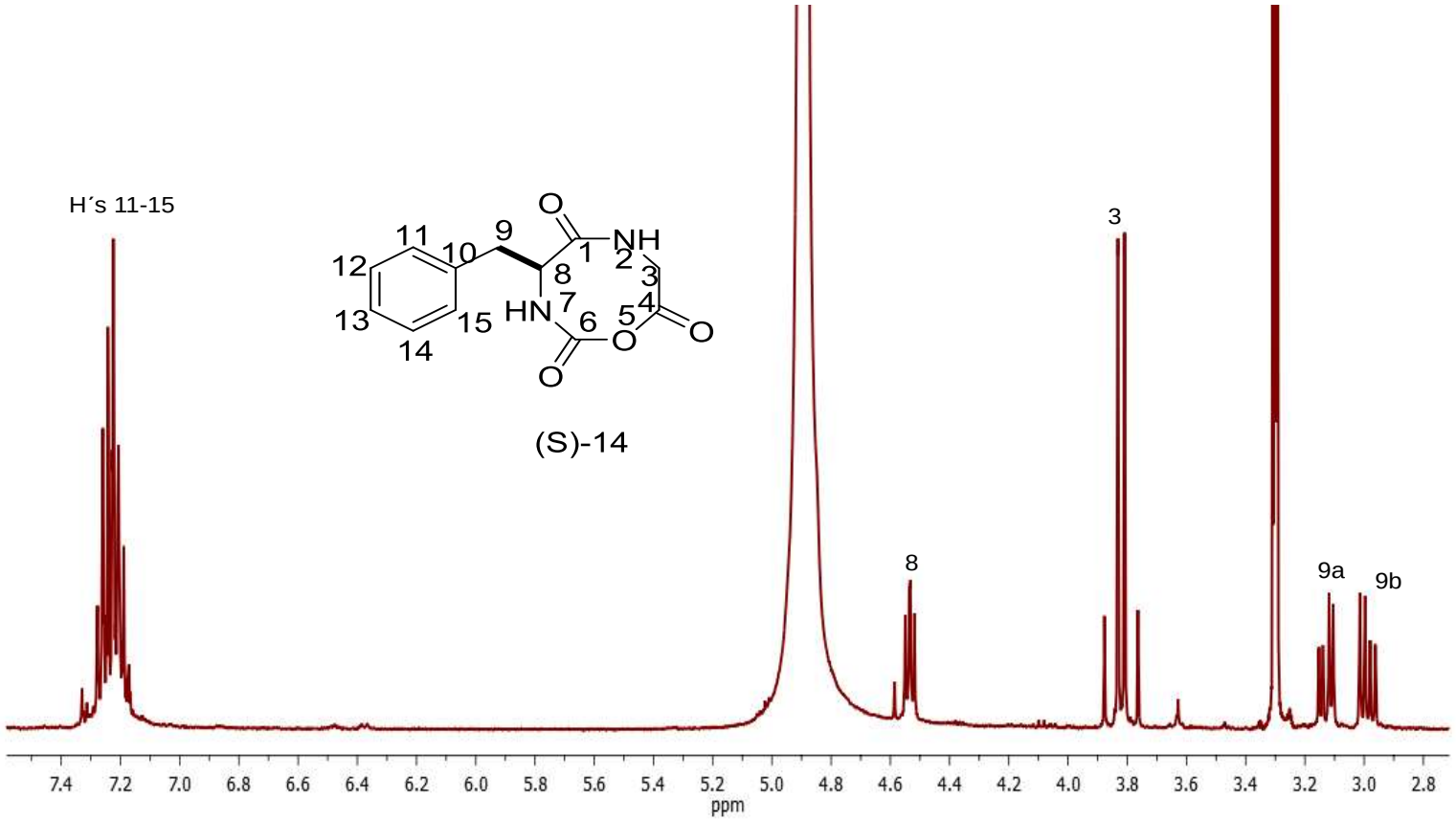
Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz) del $H_2$*N*-*L*-Trp-Gli-OH **12,** $CD_3OD$



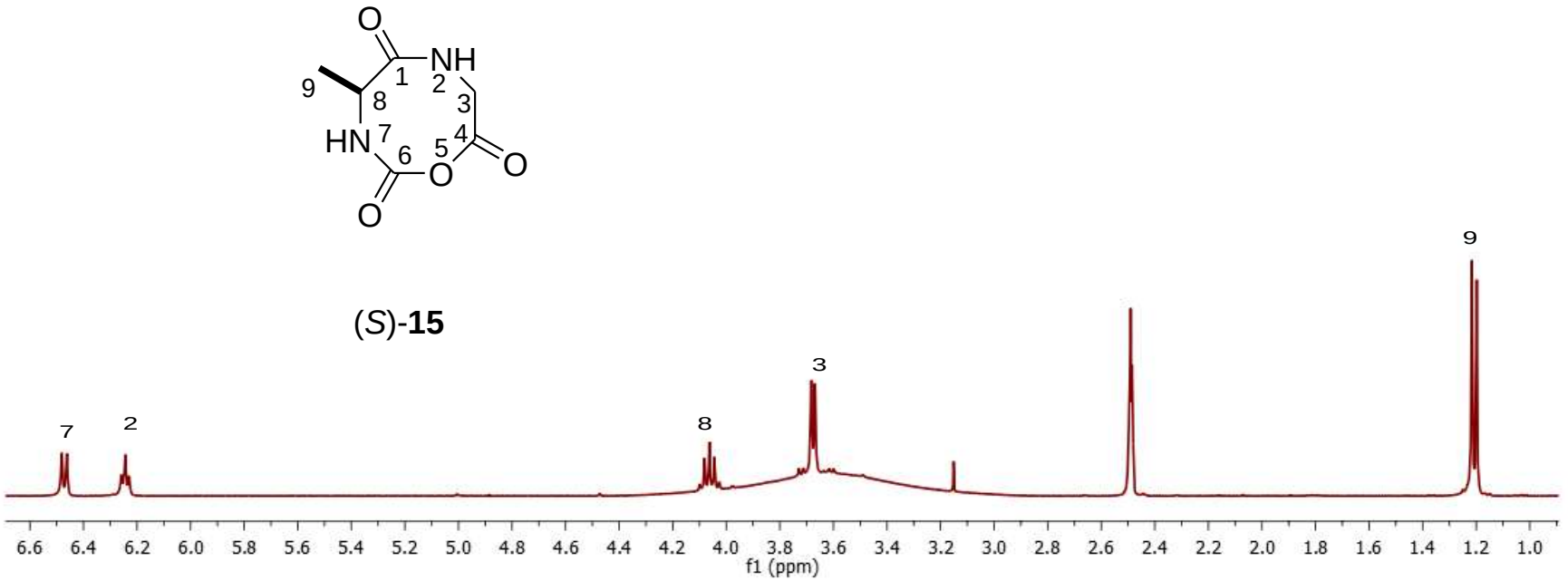

Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz) del (*S)*-4-metilen-indolin-1-oxa-3,6-diazocan-2,5,8-triona, (*S)*-**13,** $CD_3OD$



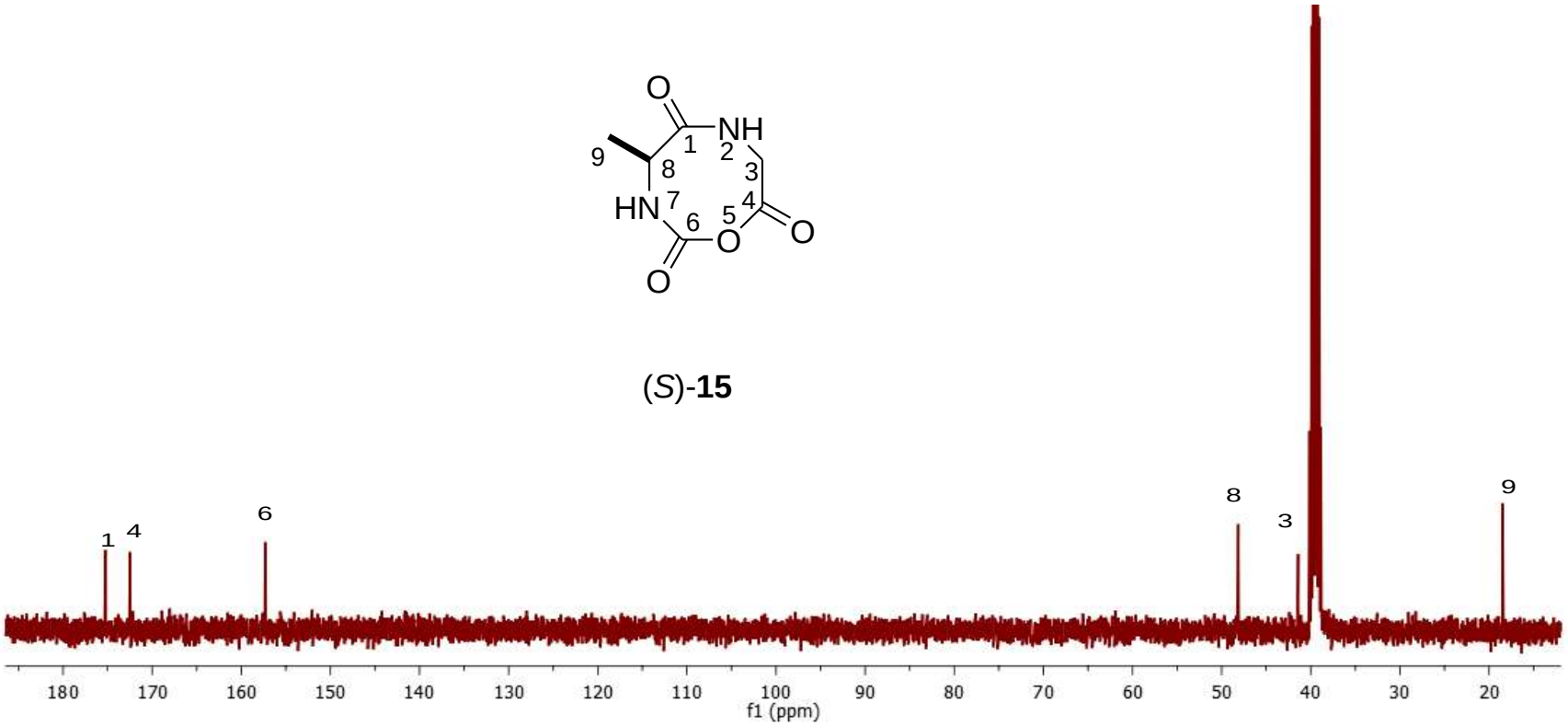

Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz) del (*S)*-4-metilen-indolin-1-oxa-3,6-diazocan-2,5,8-triona, (*S)*-**13,** $CD_3OD$




Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz) del (*S)*-4-bencil-1-oxa-3,6-diazocan-2,5,8-triona, (*S)*-**14,** $CD_3OD$




Espectro de RMN de $^{1}H$ (400 MHz) del (*S)*-4-metil-1-oxa-3,6-diazocan-2,5,8-triona, (*S)*-**15,**DMSO-$d_6$




Espectro de RMN de $^{13}C$ (100 MHz) del (*S)*-4-metil-1-oxa-3,6-diazocan-2,5,8-triona, (*S)*-**15,**DMSO-$d_6$