



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE QUÍMICO BIOLÓGICAS

“CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR
RADIACIÓN DE MICROONDAS”

TESIS

Que Presenta:

QFB. FRANCISCO JAVIER TORRES MEJÍA

Para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS

Asesora:

D.C. JUDIT ARACELI AVIÑA VERDUZCO

MORELIA, MICHOACÁN, MARZO DEL 2017

100 años
1917-2017
UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
Cuna de héroes, crisol de pensadores



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
QUÍMICO BIOLÓGICAS



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 la D.C. Judit Araceli Aviña Verduzco, se realizó bajo el financiamiento del proyecto 2.34 aprobado por la coordinación de la investigación científica (CIC-UMSNH) y el proyecto CB-2009-131812-Q de Ciencia Básica aprobado por el Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). Se contó con beca otorgada por el CONACyT con número de registro 575831.

Este trabajo se presentó en los siguientes foros:

- 11^a congreso de ciencia y tecnología e innovación y el quinto encuentro de jóvenes investigadores del estado de Michoacán, 2016 Morelia Michoacán.
 - 12^a reunión internacional de investigación en productos naturales, 2016 Xalapa Veracruz.
 - 3^a Semana del posgrado en Ciencias Químicas Morelia, Michoacán en el marco de aniversario, 28 de junio del 2016.
 - 2^a semana del posgrado en Ciencias Químicas Michoacán en el marco de aniversario, 11 de Noviembre de 2015.
 - 10^a congreso estatal de ciencia, tecnología e innovación y cuarto encuentro de jóvenes investigadores del estado de Michoacán, 2015 Morelia Michoacán.
 - Se obtuvo el primer lugar en el 3er. Concurso de Fotografía Científica con la obra titulada “LA QUÍMICA VISTA DESDE PERSPECTIVAS DIFERENTES” 3^a semana del posgrado en Ciencias Químicas, 2016 Morelia Michoacán.
-



Parte de este trabajo fue realizado en el laboratorio M3 del Centro multidisciplinario de estudios en biotecnología (CMEB), bajo la dirección de la D.C. Alejandra Ocho Zarzosa.



*Sí supiese que es lo que estoy haciendo no lo
Llamaría investigación ¿VERDAD?*

(Albert Einstein)



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.

Una segunda etapa en mi vida profesional vuelvo y no me cansare dedicarles mis logros 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 mí 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, gracias a dios por permitir me aun tenerlos conmigo y disfrutar de este logro.

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 apoyo y cariño día con día por lo que considero como mi segundo papá, gracias tío Beto por otros dos años más de permitirme formar parte de su vida de compartir momentos inolvidables y por abrirme las puertas de su casa 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 mis abuelitos dos ángeles **Ofelia Solano Saldaña[†]** y **Salvador Mejía López[†]** grandes ejemplos a seguir en todos los aspectos y vuelvo a dedicar otro logro más a ustedes porque me vieron crecer y sé que desde donde estén están orgullosos y recibiendo bendiciones.



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 aún conmigo y otras en mis recuerdos y en el corazón.

Mi asesora la **D.C. Judit Araceli Aviña Verduzco**, quien me abrió las puertas de su laboratorio y me permitió formar parte de su equipo de trabajo de investigación desde hace 8 años haciendo servicio social, Tesis de Licenciatura y ahora Tesis de Maestría, gracias 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.

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.

A las Doctoras **J. Janett Betzabe González Campos**, **Yliana López Castro** y **Luisa Urania Román Marín** y a los doctores **Rafael Herrera Bucio** y **Juan Diego Hernández Hernández** por su disponibilidad para enriquecer enormemente el presente trabajo mediante sus observaciones y sugerencias en cada seminario por lo que forman parte de este trabajo, muchas gracias.

Al equipo de análisis instrumental el IIQB **QFB. José Manuel**, **MC. Cony**, **MC. José Luis** y **DC. Pablo** agradecerles por procesar las muestras para elucidar los compuestos que están descritos en esta tesis.

D.C. Alejandra Ochoa Zarzoza por darme la oportunidad de realizar las pruebas biológicas en su Laboratorio M3 del CEMEF, así como al **M.C Iván** , **Ing. Mine**, y al equipo de la doctora Alejandra por su apoyo y orientación en la realización de esta parte experimental de esta tesis.

QFB. Jesica Vidal mi mejor amiga desde la facultad casi 8 años de amistad y como todo momento bajos y altos pero siempre apoyándonos en las buena y en las malas hemos fortalecido nuestra amistad durante estos dos años de la maestría



compartiendo momentos que no vamos a olvidar nunca, jajaja mentiritas piadosas jejeje con mamá TERE gracias por todo el apoyo y a seguir sonriendo en la vida que es algo que nos caracterizan jejejeje.....Mi amiga la Mega "Z". TQM jeje

Lic. Enf. Mónica amiga muchas gracias por tu amistad 11 años conociéndonos desde la prepa y aún seguimos juntos son de las amistades realmente valen la pena cuidar siempre apoyándonos en las buenas y en las malas sabemos muchas cosas uno del otro, gracias por tu apoyo en todos los sentidos y consejos, por estos años de convivencia sana jeje seguramente jejeje, viajes momentos inolvidables espero que así sigamos siempre, te quiero mucho y la **GENTE LO SABE** jejeje

Lic. D. Yulix sé que llevamos muy poco conociéndonos un 1 año espero que esta amista que encontré aquí en el IIQB perdure mucho tiempo que por lo visto si gracias por este año que empezamos a convivir viajes el "**TRIO VIAJERO**" con mony jejeje bonitos recuerdos y a seguir conociendo lugares y conviviendo, gracias por estar en las buenas y en las malas, nunca se me va olvidar que estuvieron al pendiente cuando me enferme y el apoyo también en todos los sentidos ya **SABES** jeje gracias por todo y la **GENTE LO SABE** jejeje

A mí amigo de la infancia **Prof. Cesar**, gracias por tus consejos, y palabras de ánimo gracias amigo por todos estos años de convivencia.

Lic. Adm. **Carlos Javier** amigo muchas gracias por este tiempo de convivencia muy padres y por tus concejos y apoyo en este tiempo que he recibido de tu parte espero así seguir fortaleciendo nuestra amistad, esperemos que así siga. Una frase en nuestra amistad **YA DÉJALO ASÍ** jejej.

A mi compañeros de **generación 2015-2017** gracias por estos dos años de trabajo, estudio y las convivencias en **PEPES HOUSE**.

A **blanquita** un gran ser humano siempre tan gentil y amable, **Irene** gracias por tu amistad.



C.P Humberto López por su amistad, apoyarme durante este tiempo de mi formación, lo considero parte de la familia gracias Contador y su equipo de trabajo del despacho a **Edit Yunuen** gracias por tu apoyo.

Agradecer a buenos Amigos **Rosa, Ere, Pablo, Layt, Santander, Leocas, Iñaki y Alfredo.**

QFB Gera gracias por tu apoyo estoy muy agradecido contigo, y al **MC. Cristian** de igual manera gracias por apoyarme.

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



INDICE

ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS	A
RESUMEN	B
ABSTRACT	C
1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- ANTECEDENTES	3
2.1 Química Verde.....	3
2.2 Energía de microondas.....	4
2.3 Efecto de la Radiación de Microondas.....	5
2.4 Síntesis Química Asistida por Microondas.....	7
2.5 Sistemas Heterocíclicos.....	10
2.6 Aminoácidos como precursores de sistemas heterocíclicos nitrogenados.....	11
2.7 <i>N</i> -Carboxianhídridos (NCAs) de derivado de α - aminoácidos.....	14
3.- JUSTIFICACIÓN	18
4.- OBJETIVOS	19
4.1 Objetivo General.....	19
4.2 Objetivos Específicos.....	19
5.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS	21
5.1 Síntesis de Péptidos.....	21
5.2 Ciclación de α -péptidos promovida por radiación de microondas.....	26
5.3 Evaluación de otras fuentes alternativas de energía en la ciclación α -dipéptidos protegidos.....	34
5.4 Evaluación de la influencia del fragmento glicina O-terminal en la formación de <i>N</i> -carboxianhídridos.....	38
5.5 Estudio del mecanismo de reacción mediante cálculos computacionales.....	46
5.6 Pruebas biológicas.....	50
5.6.1 Efecto de <i>N</i> -Carboxianhídridos derivados de α -Péptidos sobre la viabilidad de <i>E. coli</i> 011.....	52
5.6.2 Efecto de <i>N</i> -Carboxianhídridos derivados de α -Péptidos sobre la viabilidad de <i>S. aureus</i>	56
5.6.3 Efecto de <i>N</i> -Carboxianhídridos derivados de α -Péptidos sobre la viabilidad de <i>C. albicans</i>	59
6.- CONCLUSIÓN	65



7.-PARTE EXPERIMENTAL	68
7.1 Aspectos generales.....	68
7.2 Procedimiento general de la <i>N</i> -protección de aminoácidos con cloroformiato de bencilo (CbzCl).....	69
7.2.1 Cbz- <i>N</i> - <i>L</i> -Fenilalanina (7).....	69
7.2.2 Cbz-prolina (8).....	70
7.2.3 Cbz-Metionina (9).....	71
7.2.4 Cbz- <i>N</i> - <i>L</i> -Triptófano (10).....	71
7.2.5 Cbz- <i>N</i> - <i>L</i> -Alanina (11).....	72
7.2.6 Cbz- <i>N</i> - <i>L</i> -Valina (12).....	72
7.3 Clorhidrato de α -aminoacetato de metilo (14).....	73
7.4 Procedimiento general para el acoplamiento de aminoácidos.....	73
7.4.1 Cbz- <i>N</i> - <i>L</i> -Phe -Gli-OMe (15).....	74
7.4.2 Cbz- <i>N</i> - <i>L</i> -Pro-Gli-OMe (16).....	75
7.4.3 Cbz- <i>N</i> - <i>L</i> -Met-Gli-OMe (17).....	76
7.4.4 Cbz- <i>N</i> - <i>L</i> -Trp-Gli-OMe (18).....	77
7.4.5 Cbz- <i>N</i> - <i>L</i> -Ala-Gli-OMe (19).....	78
7.4.6 Cbz- <i>N</i> - <i>L</i> -Val-Gli-OMe (20).....	79
7.4.7 Cbz- <i>N</i> - <i>L</i> -Gli-Phe-OMe (28).....	80
7.4.7 Cbz- <i>N</i> - <i>L</i> -Gli-Pro-OMe (29).....	81
7.4.8 Cbz- <i>N</i> - <i>L</i> -Gli-Tip-OMe (30).....	82
7.5 Procedimiento general para la desprotección-ciclación de los péptidos bajo irradiación de microondas.....	83
7.5.1 (S)-4-bencil-1-oxa-3,6-diazocan-2,5,8-triona (21).....	83
7.5.2 (S)-4--1-oxa-6-diazocan-2,5, 8-triona (22).....	84
7.5.3 (S)-4-(BUTIL-11-tiol)- 1-oxa-6-diazocan-2, 5,8-triona (23).....	85
7.5.4 (S)-4-metilen-indolin-1-oxa-3, 6-diazocan-2,5,8-triona (24).....	85
7.5.5 (S)-4-metil-1-oxa-3,6-diazocan-2,5,8-triona (25).....	86
7.5.6 (S)-4-isopropil 1-oxa-6-diazocan-2, 5,8-triona (26).....	87
7.5.7 Cbz- <i>N</i> - <i>L</i> -Gli-Phe-OH (31).....	88
7.5.8 Cbz- <i>N</i> - <i>L</i> -Gli-Pro-OH (32).....	89
7.5.8 Cbz- <i>N</i> - <i>L</i> -Gli-Trip-OH (33).....	90
7.6- Ensayo de viabilidad por reducción metabólica de MTT.....	91
7.7 Análisis estadístico.....	91
8.-BIBLIOGRAFÍA	92
9.- ANEXOS	95



A.- ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS

δ	Desplazamiento químico
Ala	Alanina
α	Alfa
AcOEt	Acetato de etilo
Boc	ter-Butoxicarbonil
$^{\circ}\text{C}$	Grados Celsius
Cbz	Benciloxicarbonil
CbzCl	Cloroformiato de bencilo
COSY	Correlación homonuclear
<i>d</i>	Señal doble
<i>dd</i>	Señal doble de doble
<i>ddd</i>	Señal doble de dobles de dobles
DCM	Dicloro metano
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfoxido
EPA	Agencia de Protección al Ambiente
eV	Electrovoltio
EM	Espectrometría de masas
Fmoc	Fluoroenil
g	Gramos
GHz	GigaHertz
Gli	Glicina
h	Hora
Hz	Hertz
HETCOR	Heteronuclear Correlation
<i>i</i> -BBOCl	Cloroformiato de isobutilo
<i>i</i> -PrOH	Isopropanol
IE	Impacto electrónico
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
KHz	Kilohertz
kJ/mol	Kilo julio por mol
QV	Química Verde
+q	Carga positiva
-q	Carga negativa
M	Molar
m	Señal múltiple
MeOH	Metanol
MO	Microondas
SQM	Síntesis Química Asistida por Microondas.
mmol	Milimol
mL	Mililitro



m/z	Relación masa carga
MHz	Megahertz
Met	Metionina
MTT	Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)- 2,5-difeniltetrazol
NMM	<i>N</i> -Metilmorfolina
NCA _s	<i>N</i> -Carboxianhídridos
Fen	Fenilalanina
p.f.	Punto de fusión
Pro	Prolina
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RHF	Método de Hartree-Fock
s	Señal simple
<i>t</i>	Señal triple
%T	Porcentaje de trasmittancia
TLC	Cromatografía de capa fina
THF	Tetrahidrofurano
Trp	Triptófano
μ	Micro
UV	Ultravioleta
US	Ultrasonido
Val	Valina



B.- RESUMEN

La química verde es una propuesta para resolver los problemas de contaminación que aquejan a nuestro medio ambiente, como una vía para contribuir al logro de un desarrollo de un medio ambiente más sustentable. Entre las áreas de incidencia de la química verde se encuentra el uso de la radiación de microondas, en donde en las últimas dos décadas la preparación de compuestos orgánicos facilitada por esta tecnología se ha demostrado que la energía proporcionada por las MO conduce a una reducción notable de los tiempos de reacción, así como un aumento en los rendimientos de la misma, y la disminución en la formación de productos secundarios o generación de residuos, que el encontrado bajo condiciones de calentamiento tradicional.

Por otro lado los compuestos heterocíclicos nitrogenados despiertan un gran interés en la comunidad científica que además de formar parte de las biomoléculas, muestra un amplio rango de actividades biológicas y farmacéuticas. Por lo tanto la preparación de nuevos compuestos que contenga funciones nitrogenadas en su estructura es un área activa en química orgánica. Este es el caso de los α -aminoácidos que han actuado como precursores en la formación de estos compuestos.

Con base a lo anterior en el presente trabajo se describe la ciclación de α -dipéptidos protegidos por medio de la utilización de radiación de microondas, con la correspondiente formación de *N*-carboxianhídridos, contribuyendo así al incremento de nuevas alternativas en rutas sintéticas en la formación de sistemas heterocíclicos bajo condiciones de química verde. En este trabajo también se describe la elucidación estructural mediante resonancia magnética nuclear de una y dos dimensiones, espectroscopia de infrarrojo y espectrometría de masas.

Palabras clave: Radiación de microondas, aminoácidos, hidrólisis, péptidos, qv.



C.- ABSTRACT

Green chemistry is a proposal to solve the pollution problems that afflict our environment, as a way to contribute to the achievement of a more sustainable environment. Among the areas of incidence of green chemistry is the use of microwave radiation, where in the last two decades the preparation of organic compounds facilitated by this technology has been shown that the energy provided by the MO leads to a remarkable reduction Of the reaction times, as well as an increase in the yields of the same, and the decrease in the formation of by-products or generation of waste, than that found under traditional heating conditions.

On the other hand, nitrogen-containing heterocyclic compounds arouse great interest in the scientific community, which, in addition to being part of the biomolecules, shows a wide range of biological and pharmaceutical activities. Therefore the preparation of new compounds containing nitrogenous functions in its structure is an active area in organic chemistry. This is the case of α -amino acids that have acted as precursors in the formation of these compounds.

Based on the above in the present work the cyclization of protected α -dipeptides by the use of microwave radiation, with the corresponding formation of N-carboxyanhydrides is described, thus contributing to the increase of new alternatives in synthetic routes in the formation Of heterocyclic systems under green chemistry conditions. This work also describes structural elucidation using one and two dimensional nuclear magnetic resonance, infrared spectroscopy and mass spectrometry.

Key words: Microwave radiation, amino acids, hydrolysis

1.- INTRODUCCIÓN

En la actualidad la industria en general se ve inmersa en un ritmo creciente de producción para abastecer las necesidades de una población mundial en continuo crecimiento. La química ha sido reconocida como una ciencia importante que contribuye a la mejora de la calidad y bienestar de la humanidad. Sin embargo, uno de los mayores inconvenientes de la química es que los beneficios que produce no pueden realizarse a expensas del medio ambiente, por lo que ha causado una problemática en nuestro entorno por la generación de residuos y productos que afectan el medio ambiente.¹

En la década de los 90's y teniendo como propósito primordial el prevenir o disminuir la generación de contaminantes en los procesos de elaboración de productos químicos mediante el desarrollo de procesos químicos limpios, Paul T. Anastas Y Joseph J. Breen definieron el término de Química Verde (QV).²



La QV es considerada como una disciplina científica que se define como el desarrollo, diseño, y aplicación de productos químicos y procesos para reducir o eliminar el uso y, la generación de sustancias peligrosas para la salud humana o el medio ambiente.

Una de las áreas de incidencia de la química verde, es el empleo de la radiación de microondas en la síntesis química, como fuente de suministro de energía. Esta tecnología ha aportado ventajas en el área química creando condiciones de reacción más suaves, tiempos de reacción más cortos, incrementado los rendimientos de reacción de las transformaciones químicas, de tal manera que disminuye la generación de residuos peligrosos.



La radiación de microondas se ha vuelto muy importante en la síntesis química y es razonable afirmar que la activación de diversas reacciones ha demostrado ser mejorada usando el calentamiento por microondas para las transformaciones químicas.

Por otra parte, la preparación de compuestos estructuralmente complejos y diversos contribuye a poblar el espacio químico disponible y facilita el estudio de los sistemas biológicos. En este sentido, la síntesis de compuestos heterocíclicos ha recibido una especial atención en los últimos años, debido a las importantes actividades biológicas y farmacológicas mostradas por este tipo de compuestos.³

En la actualidad se han descrito una variedad de metodologías en las que debido a su versatilidad química se han incorporado aminoácidos total o parcialmente en la formación del sistema heterocíclico quirales enantiomericamente puros.^{4, 5,6}

Es así que en el presente trabajo se propone evaluar el efecto de la radiación de microondas en la ciclación de α -dipéptidos protegidos con LiOH, contribuyendo así al incremento de nuevas alternativas en rutas sintéticas en la formación de sistemas heterocíclicos bajo condiciones de QV.



2.- ANTECEDENTES

2.1 Química verde

El término “QUÍMICA VERDE” fue acuñado y definido por primera vez por Paul Anastas en 1997, y es hoy universalmente aceptado.² La química verde es considerada como una disciplina científica que se define como el desarrollo, diseño, y aplicación de productos químicos y procesos para reducir o eliminar el uso y, la generación de sustancias peligrosas para la salud humana o el medio ambiente.⁷

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 (figura 1). 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.⁸

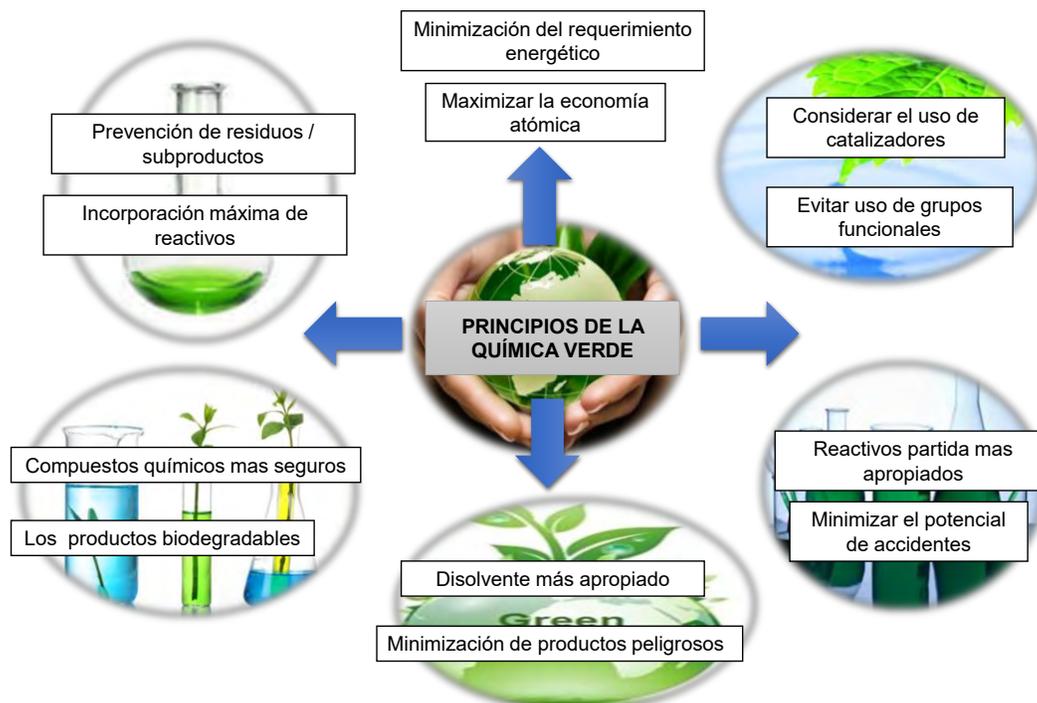


Figura 1. Principios de la química verde



Una de las áreas de incidencia de la QV es el empleo de la radiación de microondas en la síntesis química, como fuente de suministro de energía. Entre estos 12 principios de la química verde se establece la minimización del requerimiento energético, donde incide perfectamente el uso de la energía de las microondas como una fuente alterna ya que incrementa los rendimientos de las transformaciones químicas y disminuye la generación de residuos.³

2.2 Energía de microondas

En el espectro electromagnético, las microondas aparecen entre la región de la radiación infrarroja y la radiación de radiofrecuencias (figura 2). Las longitudes de onda de las microondas oscilan entre 1 cm y 1 m y las frecuencias entre 300 GHz y 300 MHz.⁹

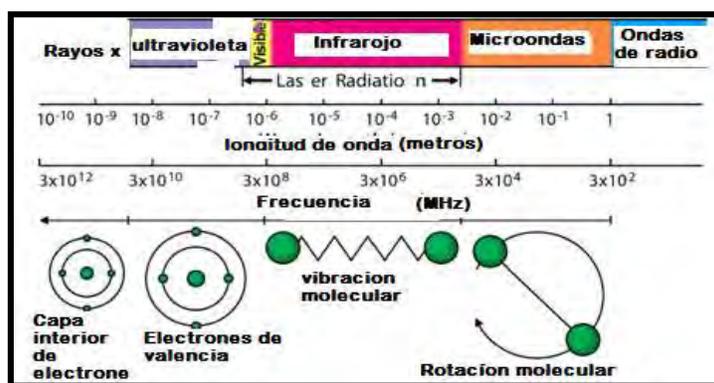


Figura 2. Espectro electromagnético

La radiación de microondas consiste en un campo eléctrico y un magnético (figura 3), la cual al interactuar con la materia causa movimientos moleculares de iones y la rotación de los dipolos, sin afectar a la estructura molecular, esto se debe principalmente a la energía de los fotones de microondas (0.037 Kcal/mol), que no son lo suficiente energéticos para romper los enlaces moleculares (80-120 Kcal/mol).¹⁰

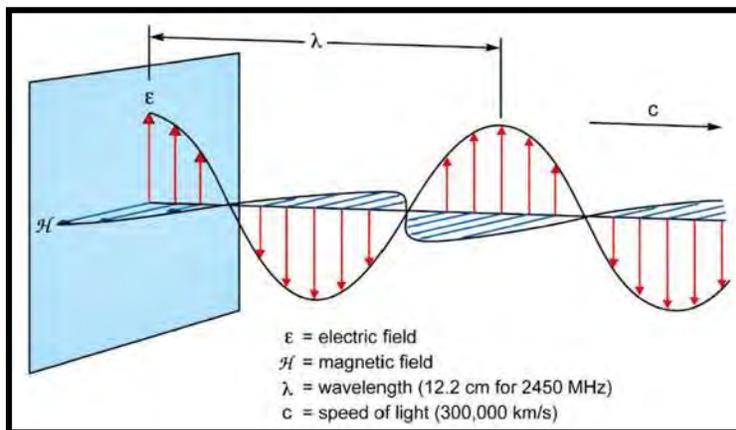


Figura 3. Onda electromagnética

2.3 Efecto de la radiación de microondas

Tradicionalmente, la síntesis química se ha realizado proporcionando energía térmica a las moléculas empleando una fuente de calor externa. Los métodos de calentamiento convencionales suelen ser métodos de transferencia de energía lentos e ineficaces ya que dependen 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 el de la mezcla de reacción generando un gradiente de temperatura, este gradiente puede llevar a una descomposición de reactivos o productos (figura 4).

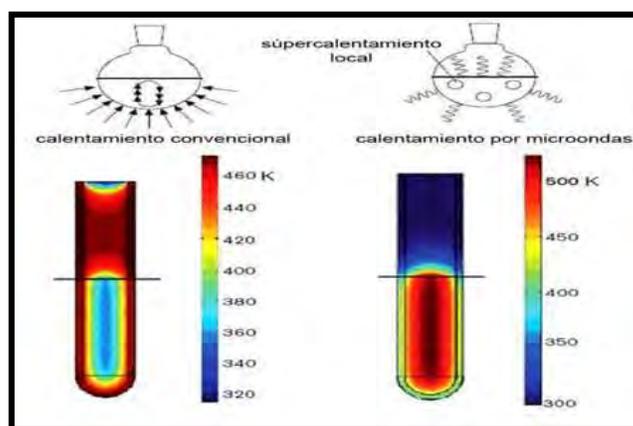


Figura 4. Proceso de calentamiento convencional y de microondas.



El calentamiento por microondas es un proceso muy diferente. Las microondas se acoplan directamente con las moléculas que están presentes en la mezcla de reacción permitiendo una rápida elevación de temperatura. El calentamiento por microondas también se denomina calentamiento dieléctrico. Este fenómeno depende de la capacidad de un material específico (disolvente o reactivo) para absorber energía de microonda y convertirla en calor. ^{11, 12}

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.

Existen dos mecanismos que describen la interacción que se produce entre los materiales y las microondas, estos son:

- Mecanismo por polarización dipolar o rotación de dipolo. La irradiación de la muestra con la radiación de microondas resulta en el alineamiento de los dipolos en el campo eléctrico aplicado. Como el campo aplicado oscila, el campo de los dipolos tiende a realinearse con el campo eléctrico oscilante y en el proceso, a través de la fricción y de la pérdida dieléctrica, se produce el calor (figura 5).

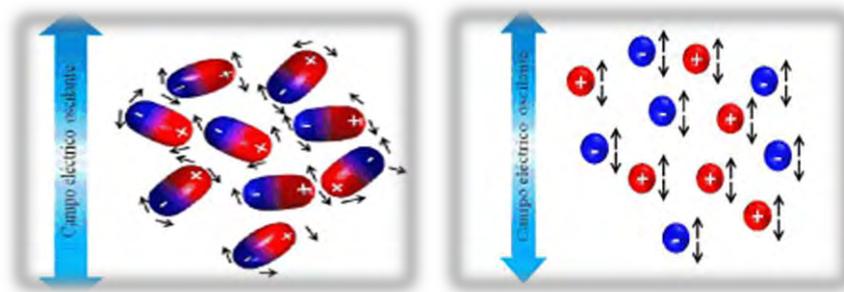


Figura 5. Mecanismo de transferencia de energía de microondas.

- Conducción iónica. El calor se genera a través de pérdidas por fricción, que tiene lugar a través de la migración de los iones disueltos cuando se someten a la acción del campo electromagnético. Estas dependen del tamaño, carga,



conductividad de los iones disueltos y de la interacción con el disolvente (figura 4).^{13,14}

Por otro lado, 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 6.

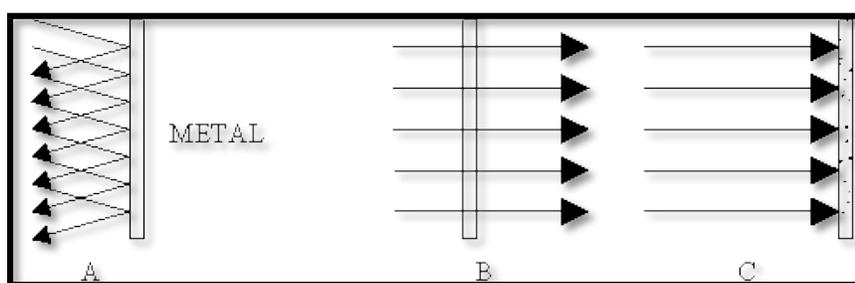


Figura 6. Interacción de la radiación de microondas con los materiales.

2.4.- Síntesis Química asistida por microondas (SQM)

El desarrollo y aplicación de la química ha recorrido un complejo camino que la ha llevado a ser vista en la actualidad como uno de los principales responsables del daño en el ecosistema, por lo que desde 1997 se han diseñado diversos programas para la prevención de la contaminación en la llamada “Química verde”, con la finalidad de evitar un incremento de sustancias peligrosas para el ser humano y el medio ambiente.

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

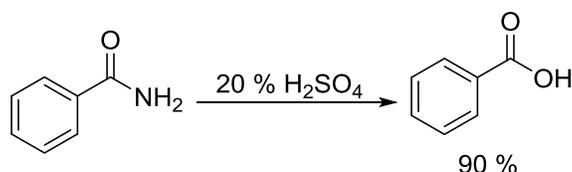
Dentro de los procesos químicos y tecnológicos implicados en la QV se encuentra el uso de la radiación de microondas como una fuente alterna de energía para la síntesis orgánica, ya que incide perfectamente con los principios de la QV la cual



se caracteriza por aceleraciones del tiempo de reacción (ahorro energético), reacciones más seguras, y condiciones de reacción más suaves evitando la generación de residuos peligrosos.¹⁵

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 SQM.¹⁶

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



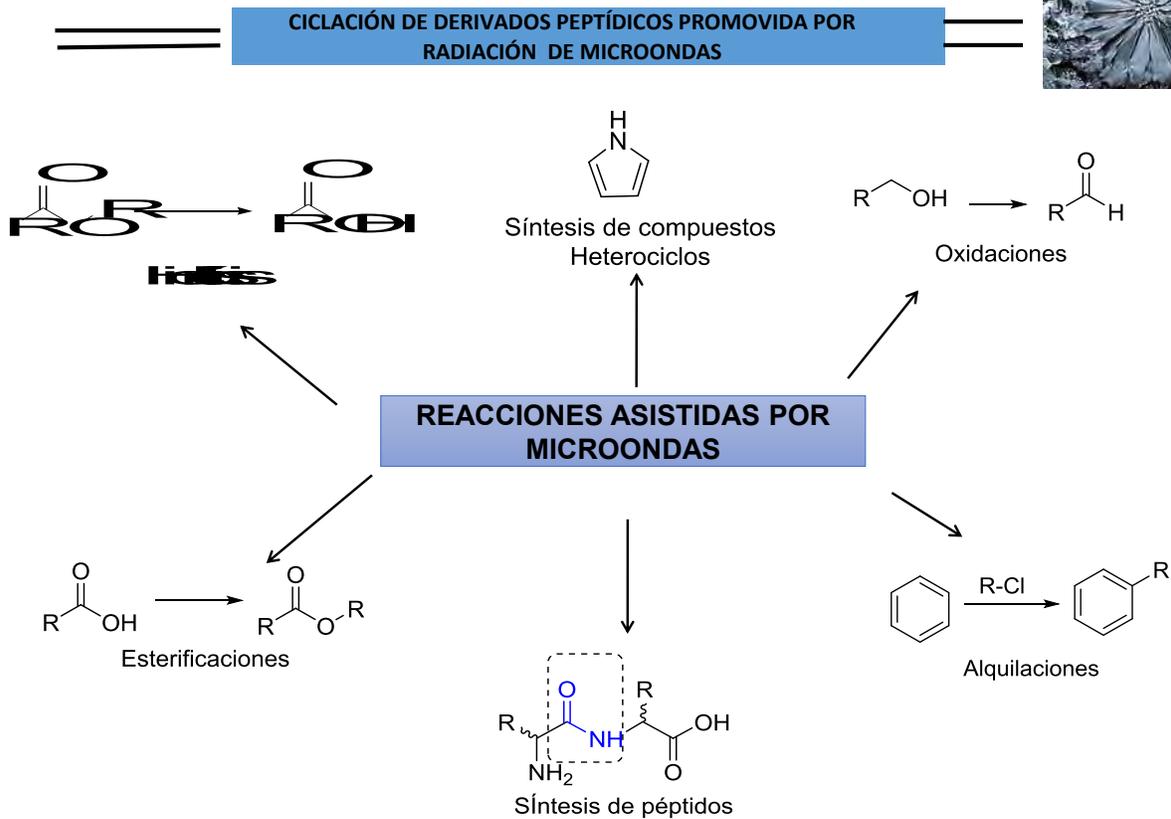
Método convencional : 1 h

Método por microondas : 10 min

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 SQM convirtiéndose en una técnica útil en una gran variedad de reacciones químicas tanto en la industria como en la investigación.

La SQM 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. Las MO se ha empleado para la realización de numerosas transformaciones químicas tales como las ejemplificadas en el esquema 2.



Esquema 2. Reacciones químicas asistidas por microondas.

Observándose en muchas de estas reacciones una mejora en comparación con métodos tradicionales, implicando una o más de las siguientes características ver figura 7.

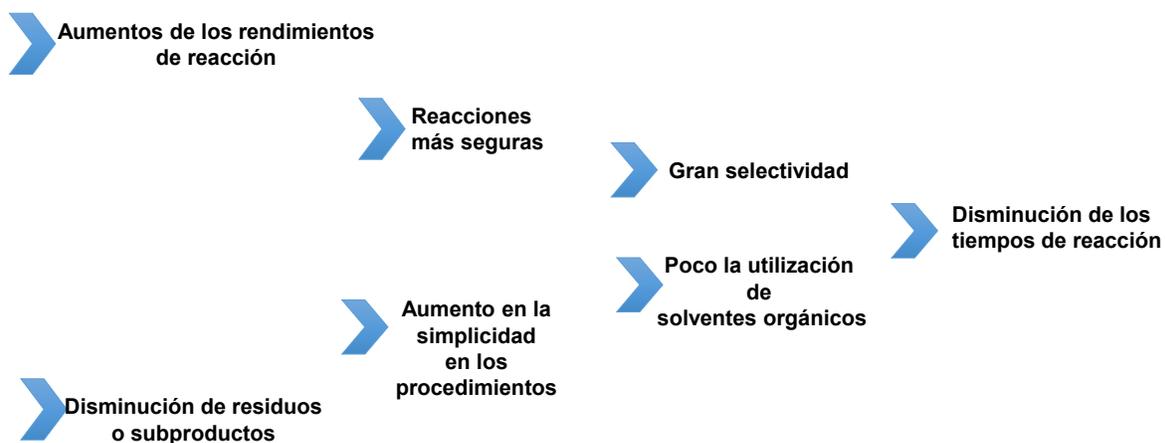


Figura 7. Ventajas de reacciones asistidas por microondas.



2.5 Sistemas Heterocíclicos

Durante el desarrollo de la Química Orgánica se ha caracterizado más de 20 millones de compuestos diferentes, de los que aproximadamente las dos terceras partes son compuestos heterocíclicos. Alguno de ellos juega un papel muy importante en procesos biológicos y forman parte de las principales constituyentes de las células.

Los heterociclos se han encontrado numerosas aplicaciones químicas de estos compuestos podemos citar su utilización como componentes y aditivos de una amplia variedad de cosméticos, plásticos, disolventes y antioxidantes.

Diversos núcleos heterocíclicos se consideran estructuras “privilegiadas” en química médica y farmacológica, lo que hace a este tipo de sistemas un interesante blanco sintético, por lo que ha recibido una especial atención en los últimos años, debido a las importantes actividades biológicas mostradas por este tipo de compuestos (figura 8).^{17,18}

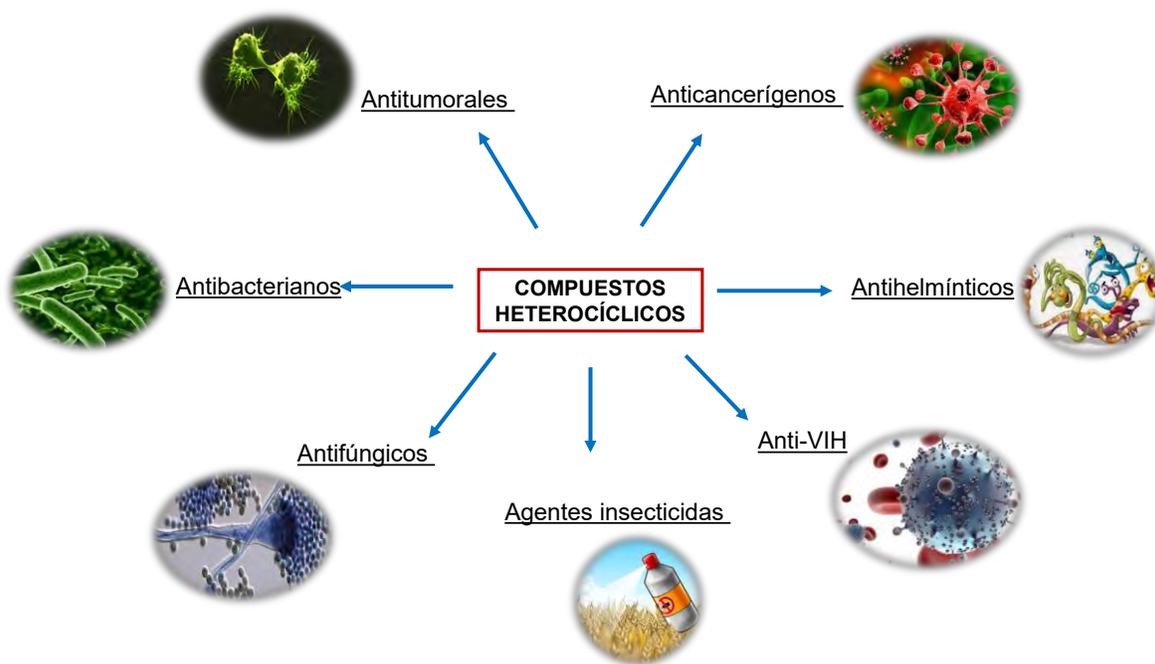


Figura 8. Propiedades biológicas de heterocíclicos.



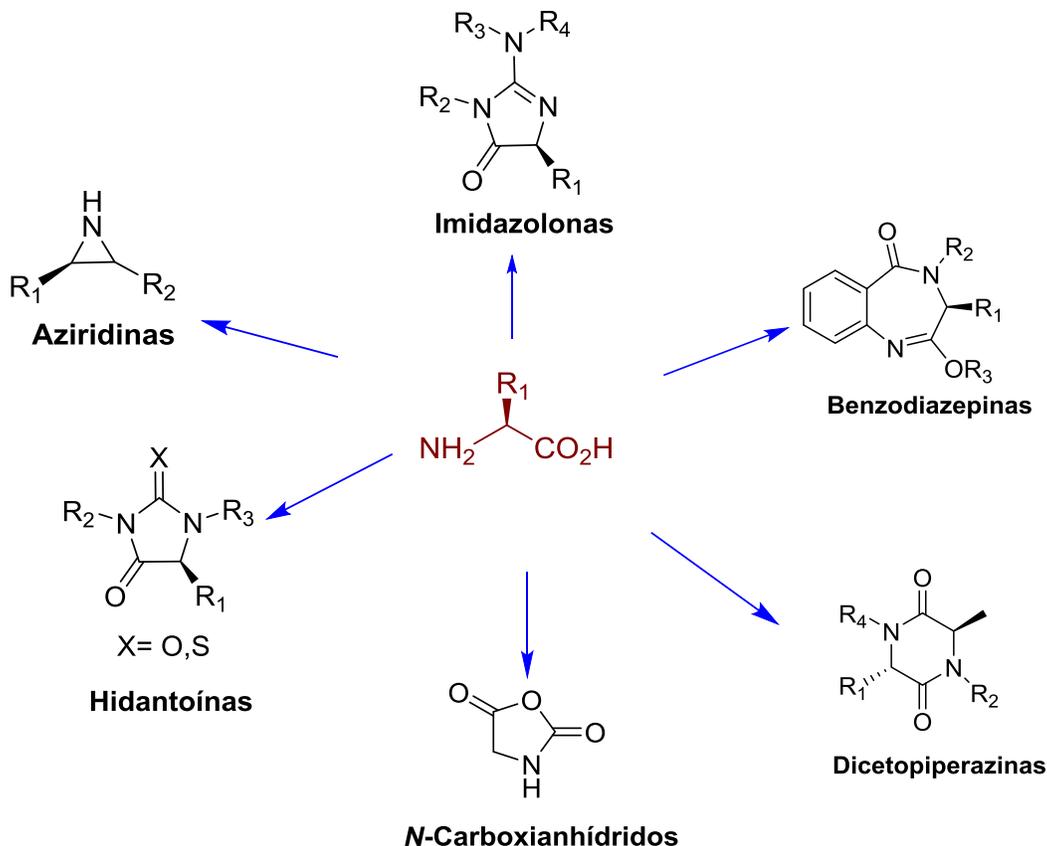
Dentro de la familia de los sistemas heterocíclicos destaca los compuestos nitrogenados. Estos juegan un papel relevante en química orgánica, forma parte de la estructura de varias biomoléculas, además de ser versátiles intermediarios sintéticos para la construcción de moléculas más complejas lo que se ha incentivado el desarrollo de nuevas metodologías para la síntesis de estos sustratos con interesantes propiedades biológicas o con aplicaciones químicas.¹⁹

2.6 Aminoácidos como precursores de sistemas heterocíclicos nitrogenados

En un mundo donde hay numerosos tipos de organismos vivos, hay millones de moléculas orgánicas diferentes cada una con propiedades químicas y físicas distintas. Muchas de estas moléculas forman parte de la vida y contienen átomos de nitrógeno. Este es el caso de las proteínas compuestas de α -aminoácidos que resultan fundamentales en la estructura y funcionamiento de la célula.¹⁷

Los compuestos nitrogenados despiertan un gran interés en la comunidad científica, que además de formar parte de las biomoléculas muestran un amplio rango de actividades biológicas y farmacológicas. Por lo tanto la preparación de nuevos compuestos que contenga funciones nitrogenadas en su estructura es un área activa en química orgánica. Este es el caso los α -aminoácidos han actuado como precursores en la formación de estos compuestos.²⁰

Los α -aminoácidos, moléculas pequeñas y quirales constituidas por un grupo amino, un carboxilo y un sustituyente R unido al átomo de carbono alfa, se han reportado una variedad de metodologías en las que se describe la incorporación total o parcial de estos compuestos en la formación sistemas heterocíclicos nitrogenados, entre las que se encuentran derivados de aziridinas, hidantoínas, imidazolonas, dicetopiperazinas y benzodiazepinas, y *N*-Carboxianhídridos (esquema 3).^{16, 21}



Esquema 3. Sistemas heterocíclicos derivados de aminoácidos.

La aplicación de la tecnología de microondas, en la síntesis de estos heterocícllos ha tenido avances significativos aportando beneficios y ventajas en las transformaciones, dando mejores rendimientos y pureza, comparado con los métodos convencionales.

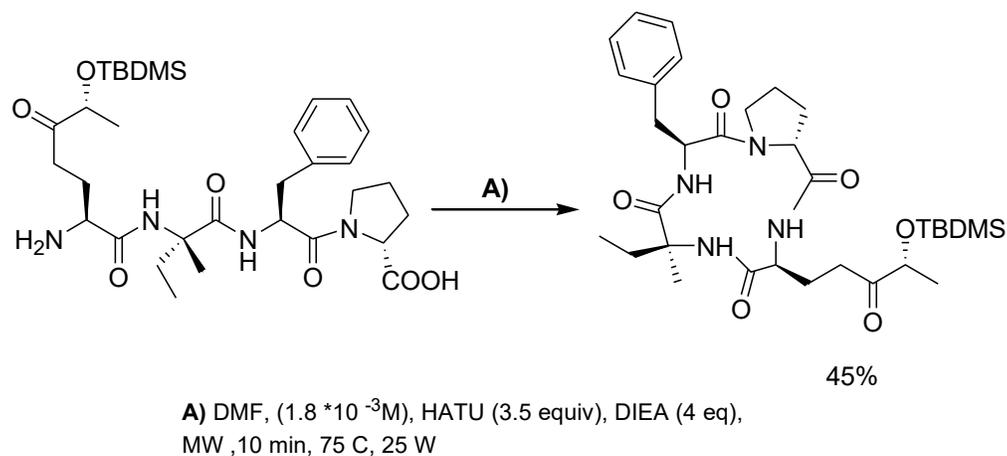
En este sentido, Beagle y colaboradores realizaron la preparación 2,5-dicetopiperazinas derivadas de tioésteres azido-dipeptídicos en solución y bajo condiciones de radiación de microondas. Estos heterocícllos fueron obtenidos en rendimientos del 72-81% (esquema 4).²²



Esquema 4. Síntesis de 2,5-dicetopiperazina asistida por microondas.

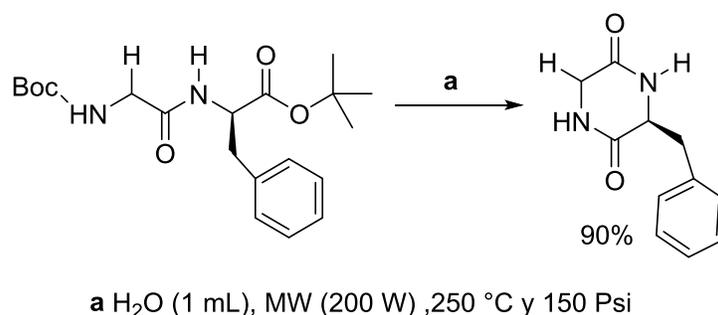


La ciclación de tetrapéptidos lineales mediante una condensación cabeza-cola de una cadena peptídica reportada por Cini, es otro ejemplo de la influencia de la radiación de microondas en la síntesis de heterociclos. La ciclación se produce rápidamente dando el producto en mayor pureza comparada con el método convencional y en un rendimiento del 45%. (esquema 5).²³



Esquema 5. Ciclación asistida por microondas del tetrapéptido.

Escalante y colaboradores reportaron la síntesis de estructuras diméricas basadas en la formación de dicetopiperazinas por medio de la reacción de condensación intermolecular de monómeros de *N*-Boc-glicina C-terminal activados (esquema 6).²⁴



Esquema 6. Síntesis de 2,5-diketopiperazina asistida por microondas.

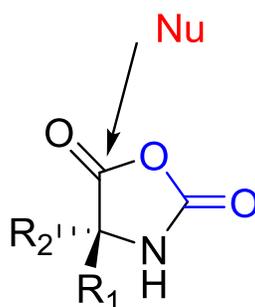
La desprotección-ciclación de ésteres de Boc-dipeptidil-*ter*-butilo y metilo bajo irradiación de microondas proporcionó excelentes rendimientos y la formación de las dicetopiperazinas correspondientes.



2.7 *N*-Carboxianhídridos derivados de α -aminoácidos

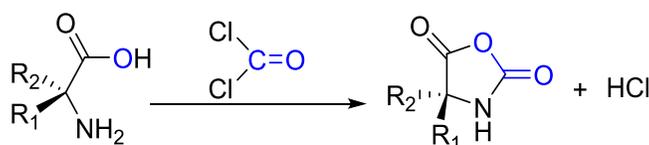
Los α -aminoácido *N*-Carboxianhídridos (NCAs) se han descubierto más de un siglo atrás teniendo un desarrollo importante en los últimos tiempos en la industria farmacéutica, así como aplicaciones en la síntesis química.

Los NCAs son formas activadas de α -aminoácidos que proporciona una alta reactividad electrofílica sobre el grupo carbonilo del α -aminoácido (esquema 7). Estos compuestos también pueden ser considerados como carbamatos internos de α -aminoácidos, que han sido ampliamente utilizados en síntesis peptídica ya que ofrecen la protección del grupo amino y la activación del grupo carboxilo de forma simultánea, lo que permite llevar a cabo reacciones de acoplamiento peptídico.^{25,26}



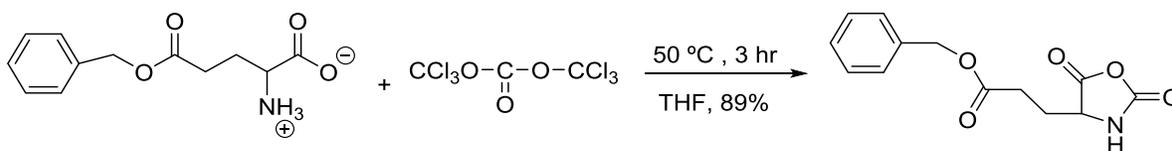
Esquema 7. Estructura general de un *N*-carboxianhídrido (NCAs).

Leuchs en 1992 informo la primera síntesis de NCAs de 5 miembros a partir de la reacción de fosgeno con un α -aminoácido. EL uso de fosgeno presentan inconvenientes como el empleo de altas y la generación de residuos peligrosos (esquema 8).²⁷



Esquema 8. Síntesis de *N*-carboxianhídridos (NCAs) con fosgeno.

Drew Poche describe la síntesis de NCAs de 5 miembros a partir del uso de trifosgeno como un sustituto de fosgeno con glutamato de bencilo evitando el uso de temperaturas relativamente altas. EL NCA se obtuvo en un rendimiento de 89% con un punto de fusión de 142 °C (esquema 9).²⁸

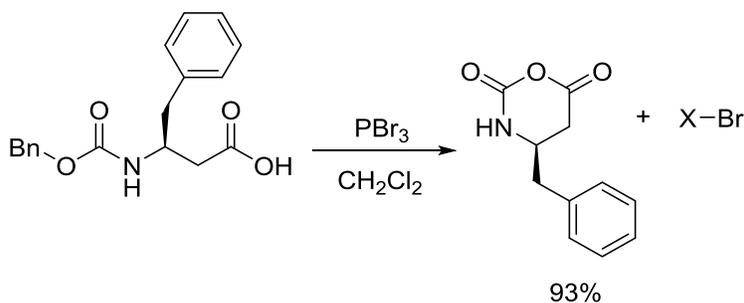


Esquema 9. Síntesis de α -NCAs descrita por Ponche.

Cabe destacarse que en los últimos años se ha llevado una mejora en el proceso de esta reacción en el desarrollo de metodologías alternativas basadas en sustitutos de fosgeno tales como carbonatos u otras formas activas de dióxido de carbono debido a que los procedimientos presentan inconvenientes como el empleo de altas temperaturas, la utilización de bases fuertes, agentes oxidantes y el uso de reactivos tóxicos.²⁹

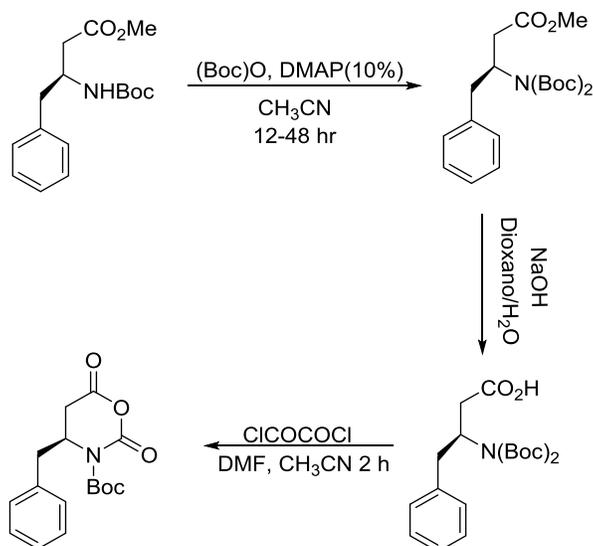
También se han reportado NCAs de 6 miembros derivados de β -aminoácidos, siendo inicialmente utilizados como precursores en la síntesis β -péptidos.

Joseph W. Ziller describe la síntesis de β -NCAs a partir de la ciclación de N - β -Boc o N -Cbz β -aminoácidos. N - β -Cbz-Phe se sometió en presencias de tribromuro de fosforo en CH_2Cl_2 , obteniendo en buenos rendimientos los β -NCAs correspondientes (esquema 10).³⁰



Esquema 10. Síntesis de β -NCAs a partir de N - β -Cbz-Phe.

Jacques Huck reporto en 2001 una estrategia general de 3 pasos para la síntesis de N -carboxianhídridos derivados de α -aminoácido N -protegidos con Boc.11).³¹



Esquema 11. Síntesis *N*-terbutiloxycarbonil- β -*N*-carboxianhídridos.

Por otra parte, solamente se tiene reporte de dos NCAs de ocho miembros, uno de ellos menciona la obtención del heterociclo como producto secundario en la polimerización de *L*-isoleucina y *L*-leucina en condiciones de fosgeno en reflujo de dioxano. En otro trabajo se menciona la utilización del NCA derivado de *L*-valina (figura 9) en la preparación de hidrogeles; sin embargo, no se reporta el procedimiento de síntesis.³²

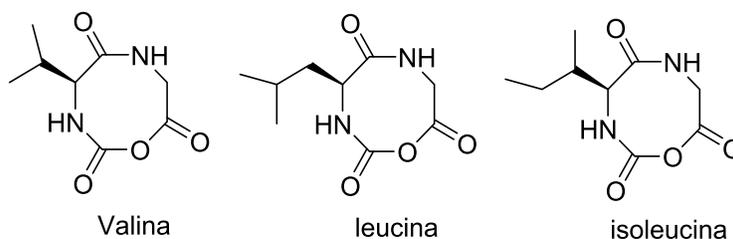
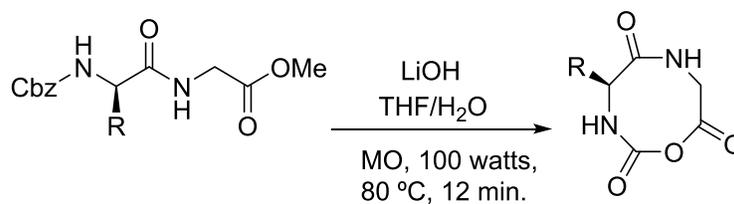


Figura 9. Estructuras de los NCAs de 8 miembros

Recientemente, en nuestro grupo de trabajo se realizó la síntesis en un solo paso (*one-pot*) de dos *N*-carboxianhídridos a partir de la reacción de desprotección-ciclación en medio básico Cbz-Fen-Gli-OMe y Cbz-Trip-Gli-OMe promovida por radiación de microondas, (esquema 12). La reacción procedió en un tiempo de 12 minutos y con rendimientos alrededor del 90%. Cabe hacer mención que no existe



evidencia en la literatura de la formación de estos heterociclos de ocho miembros promovida bajo estas condiciones de reacción.³³



Esquema 12. Reacción de desprotección-ciclación promovida por microondas.



3.- JUSTIFICACIÓN

El uso de la radiación de microondas 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 microondas como una fuente de energía alternativa viable en el área de la química verde. Por otro lado no existen reportes en la literatura de la formación de *N*-carboxianhídridos de ocho miembros promovida por condiciones básicas y radiación de microondas.

Es así que en el presente trabajo se propone sintetizar *N*-CAs a partir de una reacción de desprotección-ciclación de los ésteres metílicos derivados de *N*-Cbz- α dipéptidos, bajo condiciones básicas suaves y promovidas por radiación de microondas, contribuyendo así al incremento de nuevas alternativas como rutas sintéticas “amigables con el medio ambiente” en la formación de sistemas heterocíclicos.



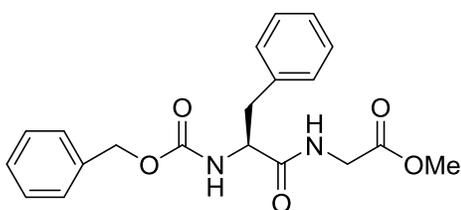
4.- OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

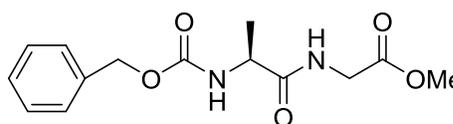
Sintetizar *N*-carboxianhídridos a partir de la ciclación de α -dipéptidos promovida por radiación de microondas.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

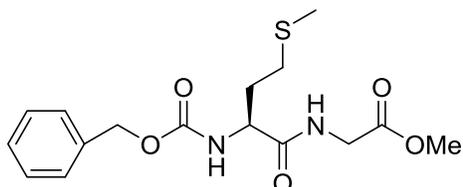
1.- Preparar los α -péptidos glicina-*O*-terminales.



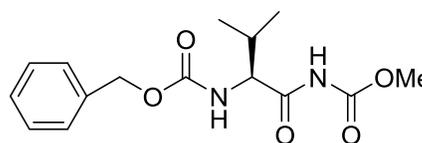
Cbz-N-Phe-Gli-OMe



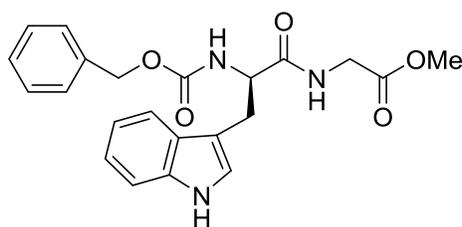
Cbz-N-Ala-Gli-OMe



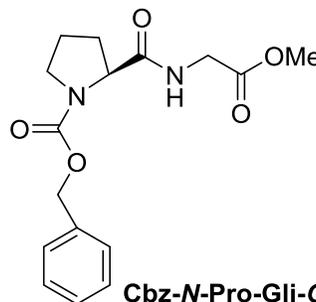
Cbz-N-Met-Gli-OMe



Cbz-N-Val-Gli-OMe

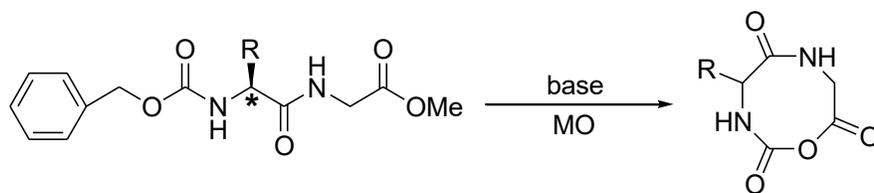


Cbz-N-Trip-Gli-OMe



Cbz-N-Pro-Gli-OMe

2.- Realizar la ciclación de los α -dipéptidos en medio básico y condiciones de radiación de microondas.



3.- Caracterizar los productos de reacción mediante técnicas espectroscópicas como RMN en una y dos dimensiones e infrarrojo, además de espectrometría de masas.

4.- Evaluar la influencia del fragmento glicina O-terminal en la formación del ciclo uretano.

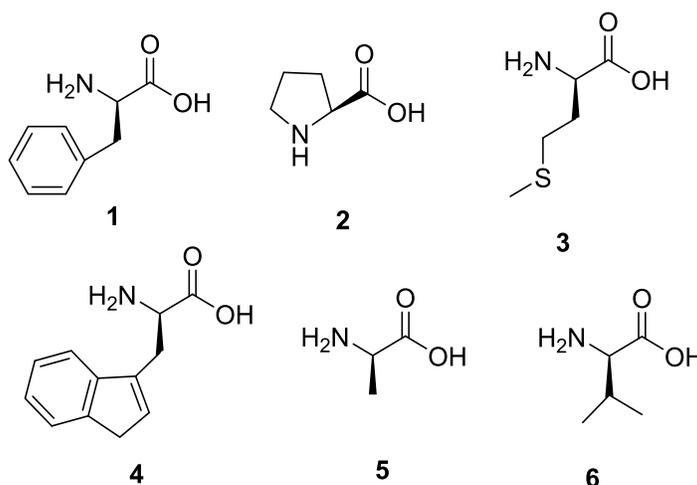
5.- Realizar el estudio del mecanismo de reacción mediante cálculos computacionales.



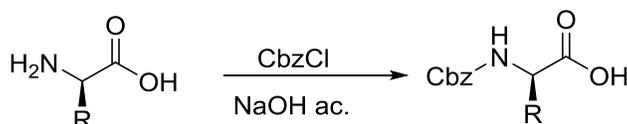
5.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS

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. En el presente trabajo se comenzó con la *N*-protección de los aminoácidos fenilalanina (**1**), prolina (**2**), metionina (**3**), triptófano (**4**), alanina (**5**), valina (**6**), todos de configuración *L*.



Para tal efecto, los aminoácidos **1**, **2**, **3**, **4**, **5** y **6** se hicieron reaccionar con cloroformiato de bencilo (CbzCl) en medio básico a 0 °C, para la formación de los carbamatos correspondientes, obteniéndose los compuestos **6**, **7**, **8**, **9** y **10** en buenos rendimientos (esquema 13). Todos los productos fueron caracterizados por medio de sus propiedades físicas (tabla 1) y espectroscopia de RMN.



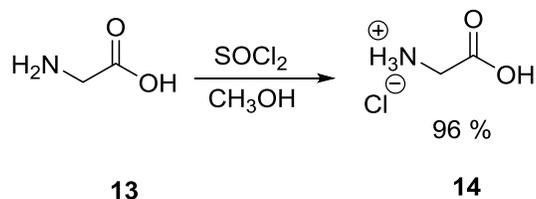
Esquema 13. *N*-protección de α -aminoácidos.



Tabla 2. Propiedades físicas de **6**, **7**, **8**, **9** y **10**.

R	Rto(%)	Estado físico	Punto fusión (°C)	Solubilidad
 7	89	sólido blanco	92-94	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt
 8	85	miel	-----	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt
 9	67	miel	-----	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt
 10	90	sólido blanco	140-142	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt
 11	92	sólido blanco	66-68	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt
 12	67	miel	-----	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt

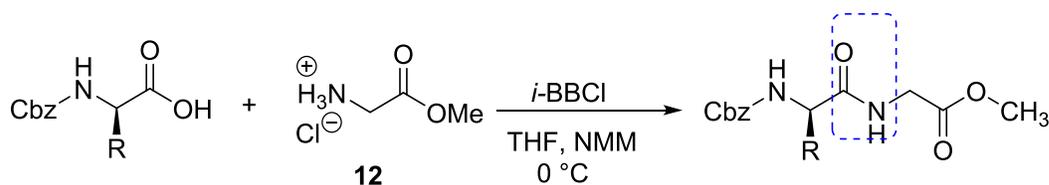
Después se realizó la O-protección de la glicina (**13**), para esto se llevó a cabo una reacción de esterificación por medio de un reflujo en metanol y usando cloruro de tionilo (SOCl₂) como catalizador, obteniéndose el éster metílico **14** en forma de clorhidrato y con un 96 % de rendimiento (esquema 14). Los datos espectroscópicos coincidieron con los reportados en la literatura.³⁴



Esquema 14. Esterificación de compuesto **13**.

El siguiente paso consistió en la formación del enlace peptídico e los aminoácidos **7,6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12** que mediante la reacción de acoplamiento usando cloroformiato de isobutilo (*i*-BBOCl) como agente activante, *N*-metilmorfolina (NMM) como base y tetrahidrofurano (THF) como disolvente, condujo a la formación del anhídrido mixto activando así al grupo carbonilo. Posteriormente se adicionó el amino éster **14** disuelto en THF, conduciendo de esta manera a los dipéptidos protegidos **15,16,17,18,19 y 20** en rendimientos por encima del 78% (esquema 15).

Los compuestos **15, 16, 17, 18, 19 y 20** fueron identificados por resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , espectrometría de masas, además de obtener algunas de sus propiedades físicas como punto de fusión, aspecto físico y solubilidad cuyos datos se encuentran resumidos en la tabla 2.



Esquema 15. Reacción de acoplamiento intermolecular.



Tabla 2. Propiedades físicas de **15**, **16**, **17**, **18**, **19** y **20**.

MOLÉCULA	Rto(%)	Solubilidad	P. fusión (°C)	[α] _D	Ión molecular
 15	89	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt	101-102	-17.89	m/z=370 [M-1] ⁺
 16	85	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt	*	-77.78	m/z=320 [M] ⁺
 17	92	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt	90-91	-27.34	m/z=354 [M] ⁺
 18	82	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt	139-140	-21.11	m/z=408 [M-1] ⁺
 19	79	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt	77-78	-27.28	m/z=294 [M] ⁺
 20	91	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt	119-120	-32.27	m/z=322.15 [M] ⁺

*= Estado físico miel

El espectro de RMN de ¹H del compuesto **17** (Figura 10), muestra alrededor de 7.35 ppm una señal múltiple que integra para 5 H's correspondiente a los protones H-20-24, una señal simple ancha en 6.75 ppm correspondiente al protón del grupo amino H-3, así como en 5.77 ppm se observa una señal doble ($J= 17.3$ Hz) que integra para un hidrógeno asignado al grupo NH amídico H-6. Adicionalmente, una señal dos señales dobles que forman un sistema AB ($J= 17.2, 12.2$ Hz) en 5.11 ppm que corresponde al metileno del grupo protector H-18, en 4.50 ppm se presenta una señal doble de doble ($J= 17.2, 12.4$ Hz) para el hidrógeno metínico H-5, en 4.12 ppm se observa dos señales doble de dobles ($J= 18.1, 5.5$ Hz), que corresponden al metileno 7 en 3.74 ppm se observa una señal simple que integra



para 3 H del metilo 10, en 2.65 ppm se observa una señal múltiple para metilo 14, en 2.21 ppm se observa una señal multiple para los hidrógenos del metileno 13 y en 2.07 ppm se observa una señal simple para el metilo H-16.

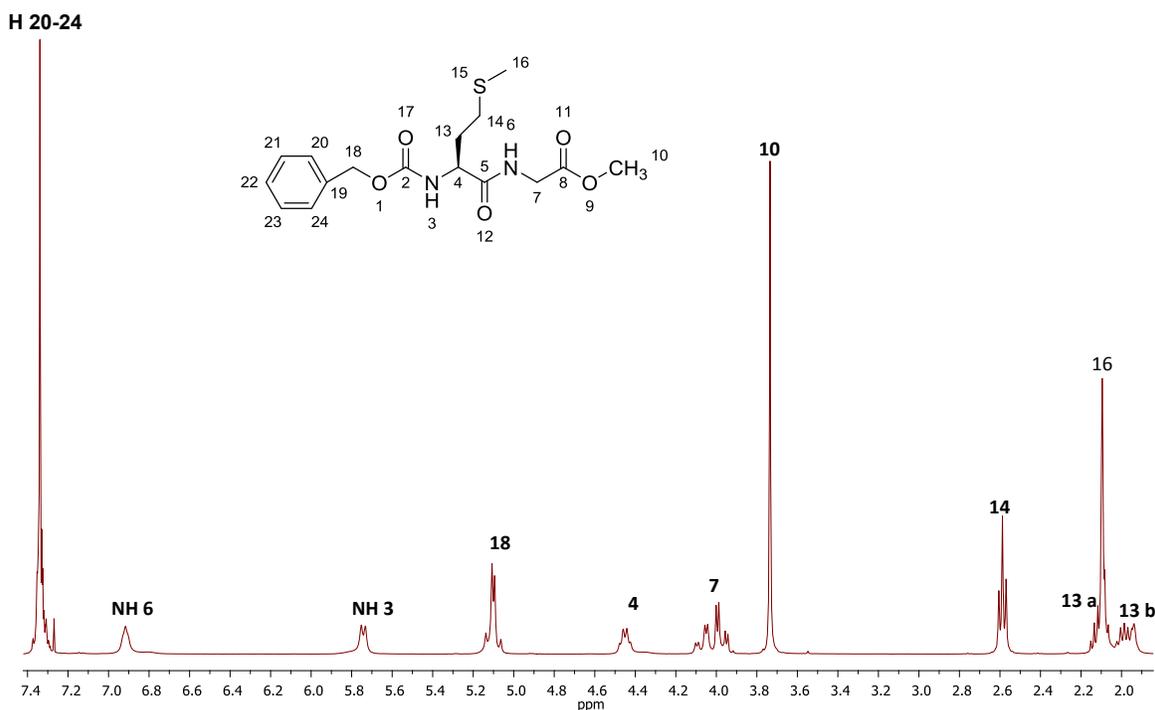


Figura 10. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del Cbz-*N*-L-Met-Gli-OMe (**17**), CDCl_3 .

Las asignaciones hechas en el espectro de la figura 11 del compuesto **17** se hicieron con ayuda de RMN en dos dimensiones. (ver anexos)

Adicionalmente, el espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **17** (figura 11) mostró a campo bajo, en 171.3, 169.9, 156.1 ppm tres señales correspondientes a los carbonilos C-9, C-5, C-2; en 136.2 ppm C-19, 128.4, 128.1, 127.9 ppm para los carbonos aromáticos C-20-24, en 67.0 ppm para el C-18, en 53.4 ppm C-4, en 51.5 ppm C-10, en 41.2 ppm C-7, a campo bajo en 33.2 ppm C-3, en 29.4 ppm C-14 y en 15.4 ppm para el C-16.

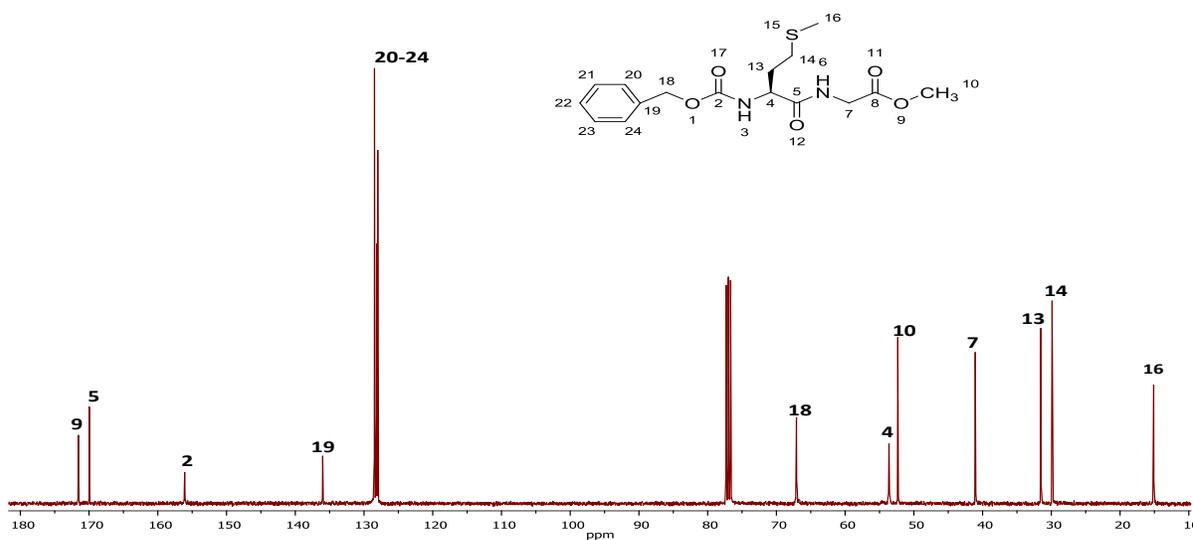
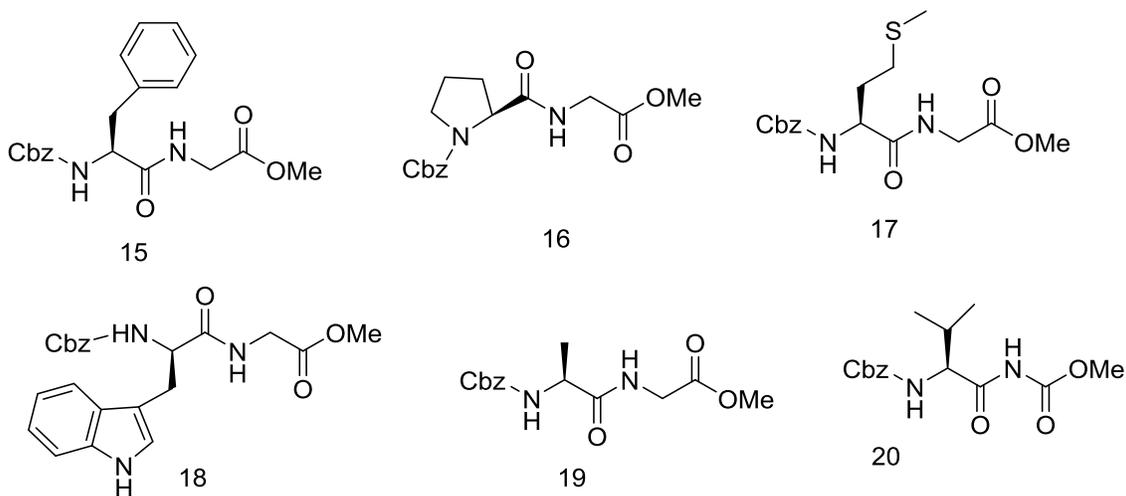
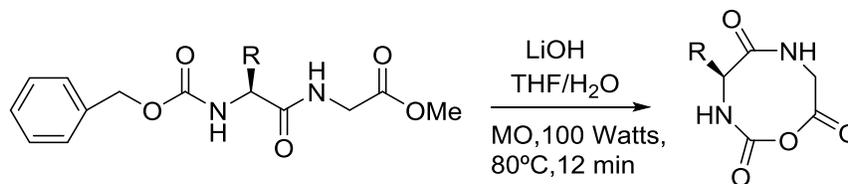


Figura 11. Espectro de ^{13}C para el compuesto 17.

5.2 Ciclación de α -péptidos promovida por microondas

Obtenidos los α -dipéptidos protegidos **15**, **16**, **17**, **18**, **19** y **20** fueron sometidos a radiación de microondas bajo condiciones básicas como se muestra en el esquema 16. La ciclacion de los dipéptidos protegidos procedió en un tiempo de 12 minutos y con buenos rendimientos obteniendo los compuestos **22**, **23**, **24**, **25** y **26**.





Esquema 16. Reacción de desprotección-ciclación de los dipéptidos promovida por MO.

Los compuestos **21**, **22**, **23**, **24**, **25** y **26** fueron identificados por resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , espectrometría de masas e IR, además de obtener algunas de sus propiedades físicas como punto de fusión, aspecto físico y solubilidad cuyos datos se encuentran resumidos en la tabla 5.

Tabla 5. Propiedades físicas de los compuestos **21**, **22**, **23**, **24**, **25** y **26**.

Molécula	Rto %	Solubilidad	Estado físico	P. fusión (°C)	$[\alpha]_D$	Ion molecular
<p>21</p>	95	Metanol CH_2Cl_2 (parcialmente)	sólido	109-110 °C	+3.83	$m/z=248[\text{M}]^+$
<p>22</p>	90	Cloroformo CH_2Cl_2 Metanol	sólido	98-100 °C	+38.29	$m/z=191.1[\text{M}+1]^+$
<p>23</p>	90	Metanol Parcialmente en CH_2Cl_2	sólido	169-170 °C	+2.20	$m/z=232[\text{M}]^+$
<p>24</p>	40	Metanol Parcialmente en CH_2Cl_2	sólido	214 °C punto de descompos ición	+18.21	$m/z=285[\text{M}-2]^+$



<p>25</p>	96	Metanol Parcialmente en CH ₂ Cl ₂	sólido	239 °C punto de descompos ición	+14.97	m/z=170.20[M-1] ⁺
<p>26</p>	93	Metanol	sólido	113-114 °C	+4.52	m/z=201.14[M+1] ⁺

Como se puede apreciarse en la tabla 5 los compuestos **21**, **22,23**, **25** y **26** se obtuvieron en excelentes rendimientos y con tiempos reacción relativamente cortos.

Todos ellos con estado sólido y solubles en solventes polares, entre las características observadas en especial de los compuestos **23,25** y **26** al estar en contacto con mezclas de disolvente donde se incluye un solvente polar, estos forman una especie de hidrogel (figura 12), propiedad de los *N*-carboxianhídridos reportados en la literatura en la química de polímeros.³² También guardan una relación en común en su estructura donde la cadena R es lineal hidrocarbonada, el cual sea el factor y entre otras más para formar estas redes tridimensionales. Otra particularidad en común es que son compuestos altamente higroscópicos, lo que es necesario almacenarlos en condiciones anhídras.



Figura 12. Propiedades de hidrogel de **23,25** y **26**.



Para el compuesto **24** se obtuvo en bajo rendimiento, esto debido principalmente a la formación de subproductos, lo que nos indica la existencia de reacciones colaterales debido a la reactividad que puede presentar el grupo Indol de la cadena R del triptófano, dicho compuesto se purificó por cromatografía en columna en una mezcla de MeOH/DCM, obteniendo un sólido café.

Los compuesto **21** y **22** se caracterizan por ser compuestos estables sólidos cristalinos, no son higroscópicos por lo que son relativamente estables.

En contexto estos *N*-carboxianhídridos de 8 miembros se obtuvieron de una forma amigable con el medio ambiente usando un fuente alternativa de energía las MO, de una forma rápida, en excelente rendimientos y puros, en comparación a las metodologías de síntesis reportadas para estos compuestos, empleando altas temperaturas, el uso de reactivos tóxicos y tiempos de reacción prolongado.

A continuación se describe los datos espectroscópicos obtenidos del compuesto **23**

El espectro de RMN de ^1H del compuesto **23** (figura 13), muestra alrededor de 6.54 ppm una señal doble que integra para un protón que corresponde al grupo NH asignado H-3, en 6.25 ppm una señal triple ($J= 5.7$ Hz) que integra para un hidrogeno asignado como H-6, en 4.19 ppm una señal múltiple para el protón asignado H-4, en 3.70 ppm una señal doble ($J= 5.7$ Hz) que integra para dos protones asignado como H-7, en 2.46 ppm una señal triple ($J= 7.5$ Hz) que entrega para dos protones asignados como H-10, en 2.09 un señal simple que integra para tres protones asignado como H-11, entre 1.97-1.86 ppm una señal múltiple que integra para un hidrógeno correspondiente al protón H-9a, y en 1.77-1.69 una señal múltiple correspondiente al protón H-9b.

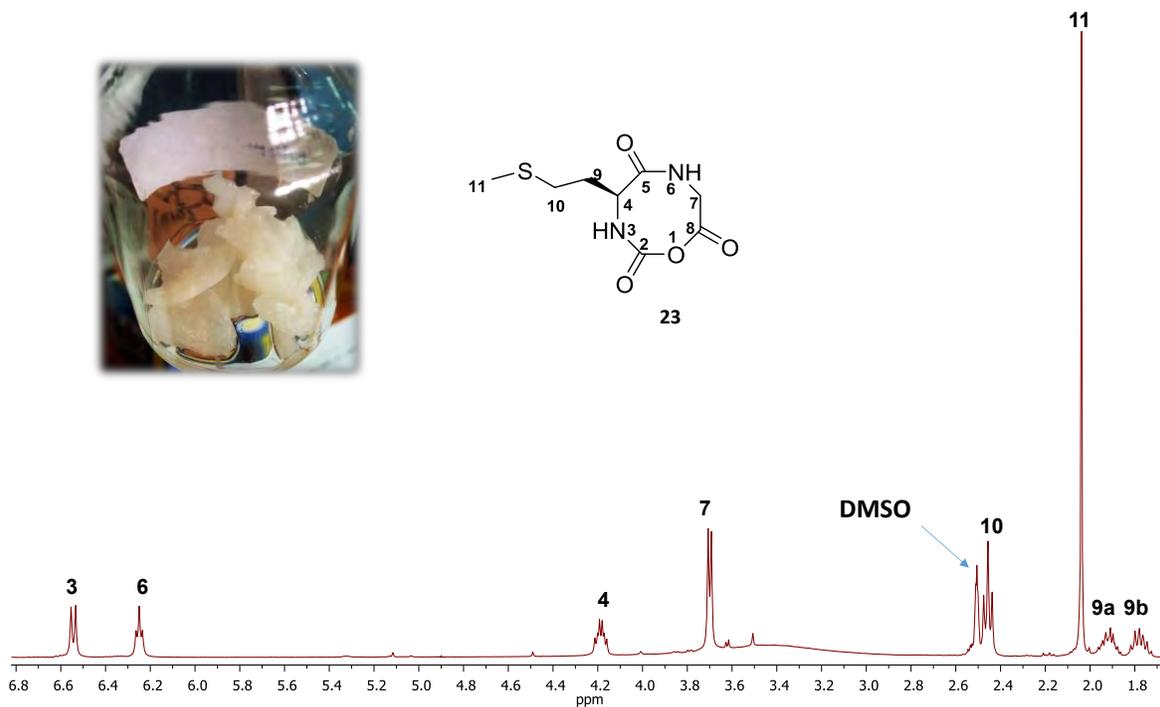


Figura 13. Espectro de RMN de ^1H de **23** (400 MHz), CD_3OD .

El espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **23** en la figura 14 mostró a campo bajo en 174.33, 172.43, 157.80 ppm correspondientes a 3 carbonilos C-5, C-2, C-11, en 52.06 ppm para el C-11, en 41.98 para el C-4, en 32.15 ppm para el C-7, en 29.67 ppm C-10 y en 14.77 ppm corresponde para el C-9.

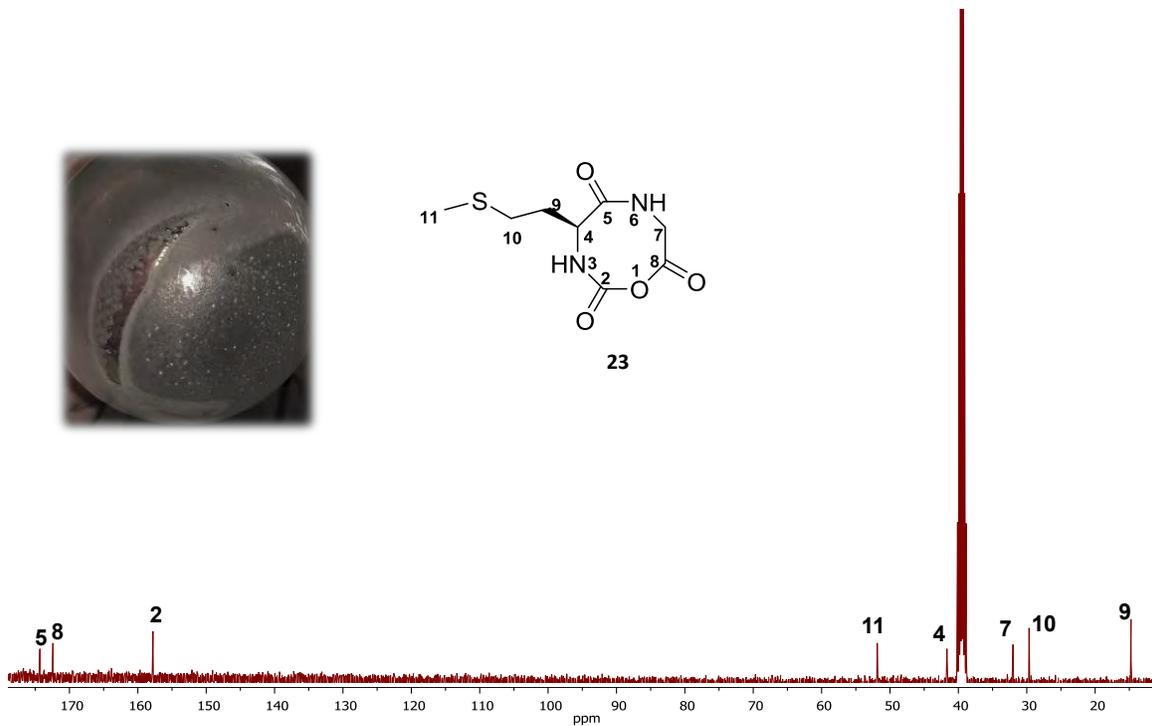
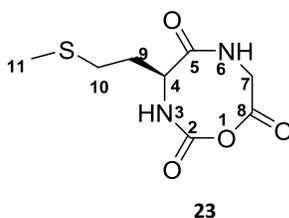


Figura 14. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del compuesto **23**.

Continuando con el análisis espectroscópico para comprobar la asignación correcta de señales se obtuvo el espectro de dos dimensiones COSY del compuesto **23** (figura 15), el cual se puede observar la correlación que existe en los hidrógenos gemíales asignando como 9a y 9b en 1.97 y 1.69 ppm y el hidrógeno vecinal 4 en 4.19 ppm en, así como la correlación que se observa entre el hidrógeno 3 en 6.54 ppm con el hidrógeno vecinal 4, de igual manera se observa la correlación entre el hidrógeno 7 en 3.70 ppm con los hidrógenos vecinales 6 en 6.25 ppm.

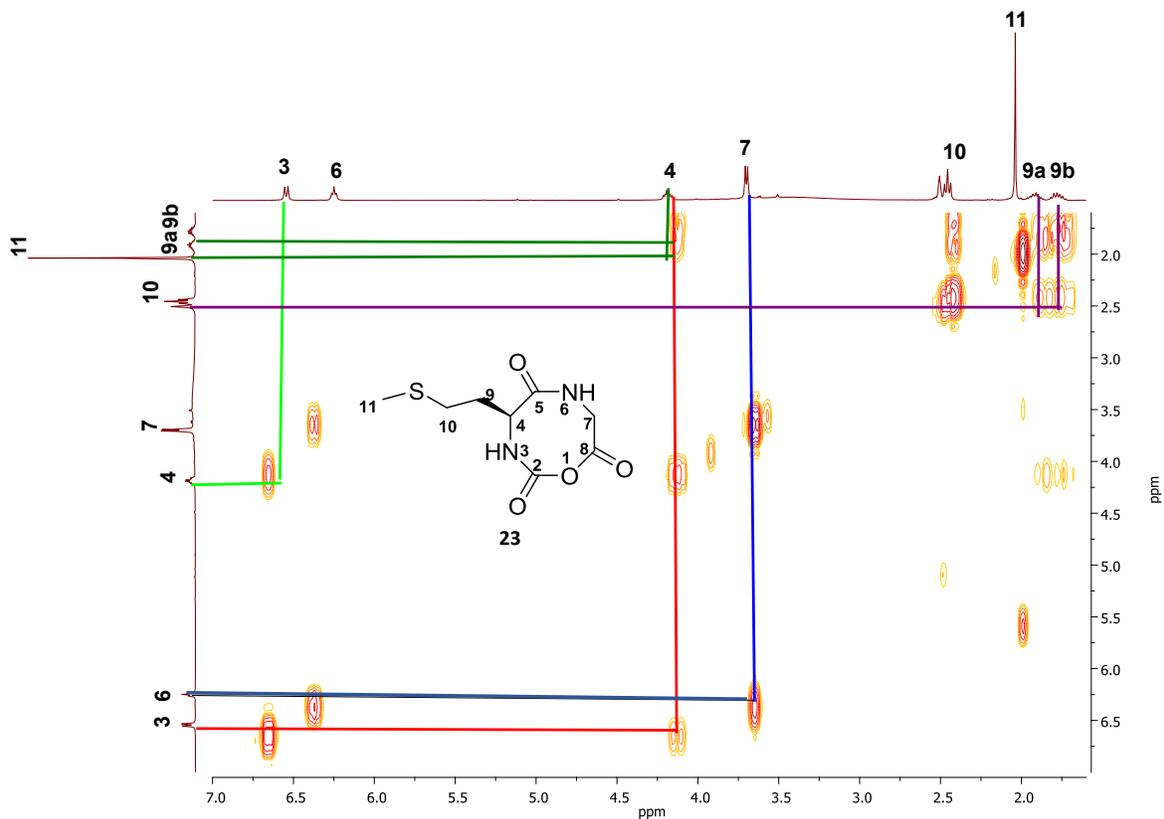


Figura 15. Espectro COSY en CD₃OD a 400 MHz del compuesto **23**.

En el espectro de IR en la figura 16 se observan bandas de estiramientos para el compuesto **23**. En 3296.36 cm⁻¹ se observan una vibración de estiramiento de amina secundaria, se observa en 1740.63 cm⁻¹, 1690.63 cm⁻¹ la vibración de estiramiento de grupo carbonilo de éster y amida, en 1644 cm⁻¹ se observa la vibración del grupo carbonilo de carbamato.

CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR RADIACIÓN DE MICROONDAS

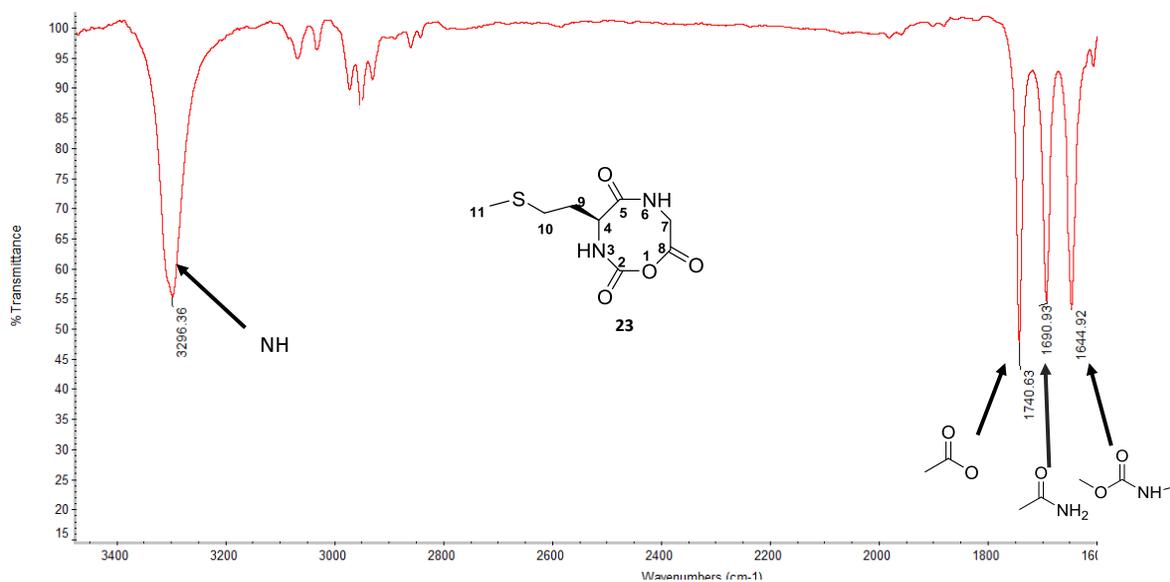


Figura 16. Espectro de IR del compuesto **23**.

El espectro de masas (IE) muestra un ión molecular de $m/z=232.21$ $[M]^+$ que concuerda con el peso molecular esperado para del compuesto **23** (figura 19).

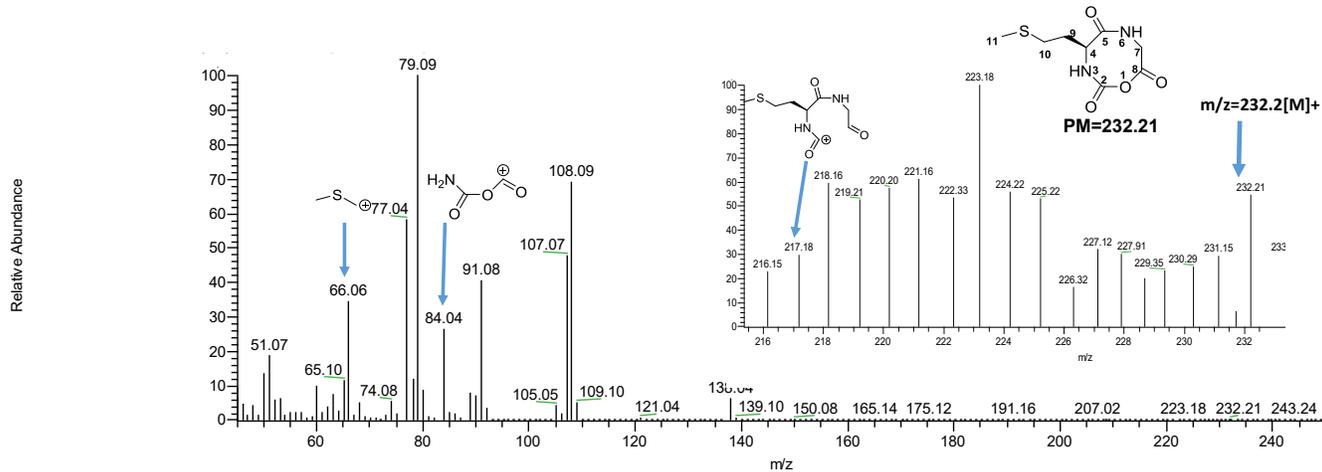


Figura 16. Espectro de masa del compuesto **23**.



5.3 Evaluación de otras fuentes alternativas de energía en la ciclación α -dipéptidos protegidos.

La química verde tiene por objeto promover tecnologías químicas innovadoras que reduzcan o eliminen el uso o generación de sustancias peligrosas en el diseño, fabricación y utilización de productos químicos. La química verde se abastece de 12 principios fundamentales entre ellos se encuentra disminuir el consumo energético.¹³

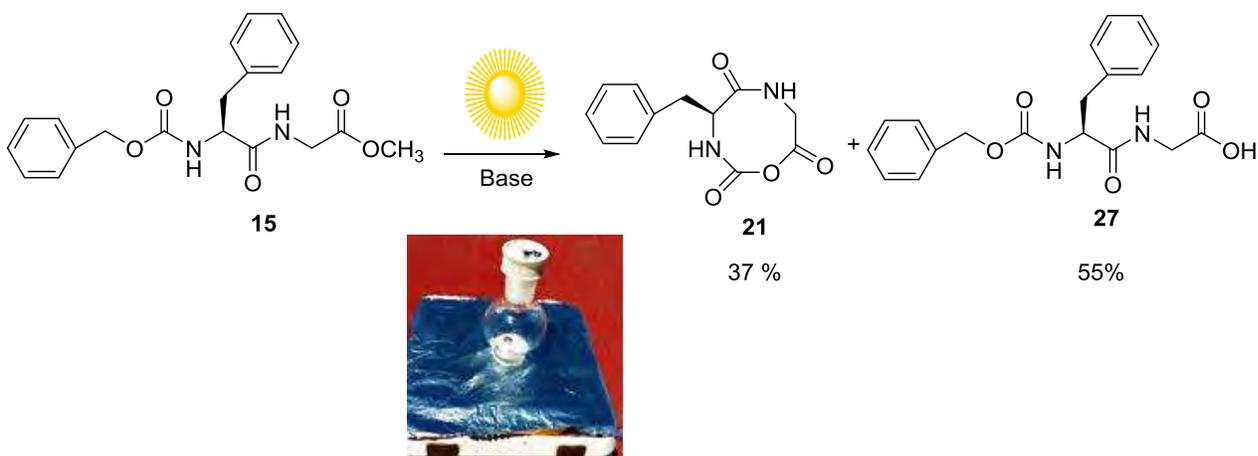
El desarrollo de métodos que cumplan con este principio ha llevado al desarrollo de metodologías que permiten el calentamiento del medio de reacción en muy poco tiempo a través del uso de microondas, infrarrojo y ultrasonido y radiación solar.

En base a lo anterior se llevó acabo la evaluación de fuentes alternativas de energía en la reacción de ciclación de α -dipéptidos protegidos.

Para ello, se comenzó con la evaluación de la energía solar (Fotoquímica) en la formación del ciclouretano **21** a partir de la ciclacion de dipéptido protegido **15**. La energía solar es una fuente de radiación directa que puede promover diversas transformaciones químicas por medio de calor, electricidad o directamente mediante foto-transformaciones es decir, reacciones fotoquímicas.³⁵

Para ello se colocó el péptido **15** en un matraz provisto de agitación magnética disuelto en THF/H₂O y en medio básico. La mezcla fue colocada en una parrilla de agitación y fue expuesta directamente a luz solar (esquema 17). La reacción fue monitoreada por medio de cromatografía en capa fina (TLC) observándose que en un tiempo de 2 horas se consumió totalmente la materia prima a la vez que se apreciaba la formación de dos compuestos los cuales fueron separados por cristalización obteniendo dos productos sólidos cristalinos.

CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR RADIACIÓN DE MICROONDAS



Esquema 17. Ciclación del dipéptido **15** promovida por radiación solar.

Una vez separados dichos compuestos fueron identificados por resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C como el NCAs **21** y el péptido Cbz-*N-L*-Fen-Gli-OH **27**. Al analizar sus espectros de RMN de ^1H (figura 17) en el espectro superior se aprecian señales características esperadas para el heterociclo **21** observando la desaparición de las dos señales dobles en 5.10 ppm correspondientes al metileno del grupo protector (Cbz). Por otro lado el espectro inferior muestra aun señales características de grupo protector (Cbz) en 5.01 ppm, así como la desaparición de una señal simple en 3.6 ppm del éster metílico por lo que nos indica que corresponde al producto hidrolizado **27**.

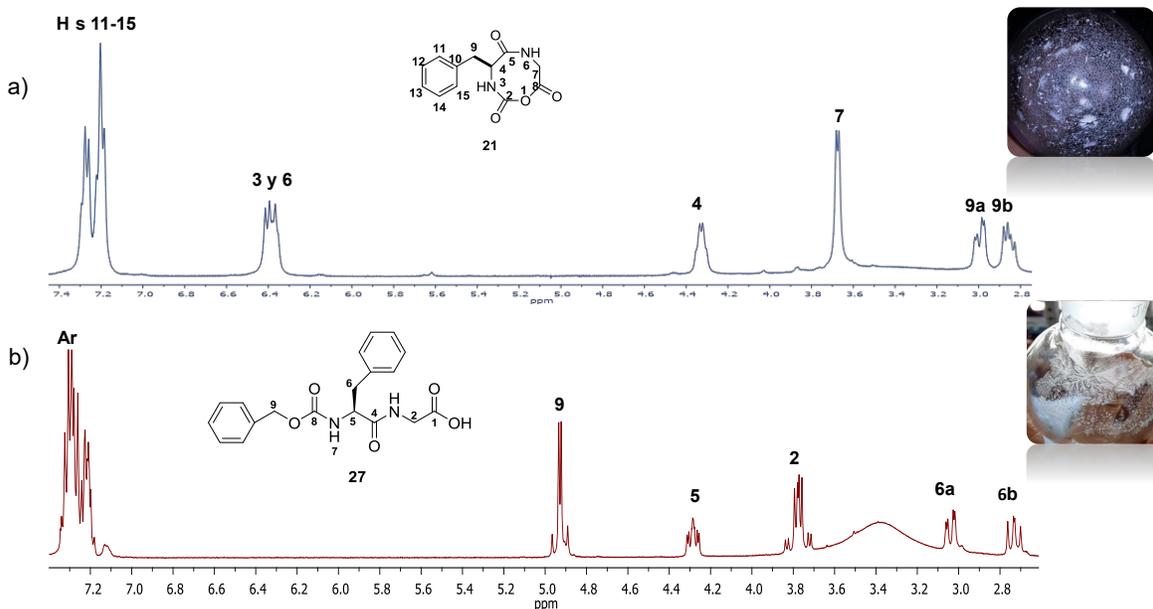


Figura 17. Espectros de RMN de ^1H de a) compuesto **21** y b) compuesto **27** DMSO_{d6}.



En el espectro de RMN del ^{13}C superior (figura 18 a) se observan las señales de los carbonos correspondientes al compuesto ciclado **21**, se aparecía la desaparición del carbono del metileno del grupo protector Cbz. Por otro lado el espectro inferior (figura 18 b) se observa la presencia del carbono 9 en 66 ppm correspondiente al grupo protector Cbz lo que nos indica también que corresponde al compuesto hidrolizado **27**.

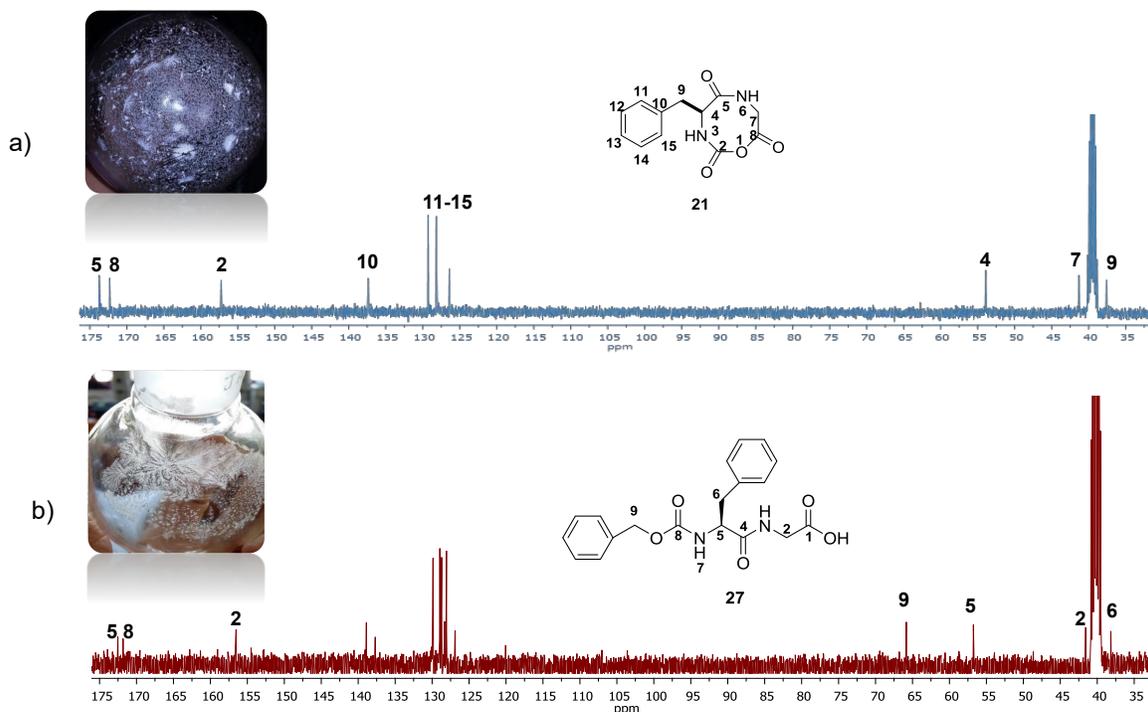


Figura 18. Espectros de RMN de ^{13}C de a) compuesto **21** y b) compuesto **27**, DMSO_{d_6} .

La luz ultravioleta es otra fuente alternativa de energía utilizada en la activación de numerosas transformaciones químicas. La principal característica de la radiación UV es la posibilidad de producir excitaciones en los átomos, que provocan reacciones químicas. En éstas se basan los diferentes efectos, que son dependientes de la energía, es decir, de la longitud de onda.³⁶



En base a lo anterior y teniendo como objetivo evaluar el efecto de la radiación ultravioleta en la ciclación del compuesto dipéptido protegido **15**.

Para ello se colocó el péptido **15** en un matraz provisto de agitación magnética disuelto en THF/H₂O y en medio básico. La mezcla fue colocada en una parrilla de agitación y fue expuesta directamente a radiación ultravioleta longitud corta 254 nm, 120 volts, 60 Hz (esquema 18). La reacción fue monitoreada por medio de cromatografía en capa fina (TLC) observándose que en un tiempo de 1 hora se consumió totalmente la materia prima a la vez que se apreciaba la formación de dos compuestos los cuales fueron separados por cristalización obteniendo dos compuestos sólidos cristalinos.



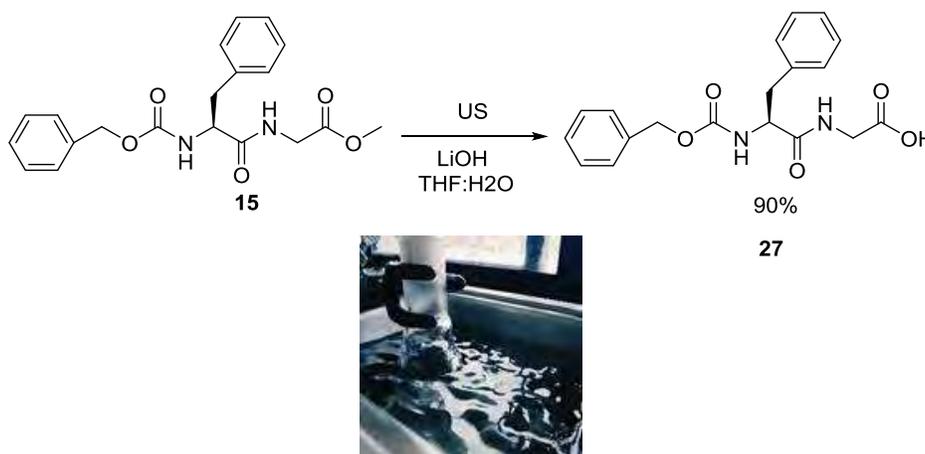
Esquema 18. Ciclación del dipéptido **15** promovida por radiación UV.

Los compuestos **21** y **27** obtenidos por radiación UV fueron caracterizados por espectroscopia de RMN H¹ y C¹³, el cual las señales presentadas en dichos espectros coinciden con las mostradas en las figuras 25 y 26 obtenidas por radiación solar.

Otra fuente de energía alternativa en la activación de reacciones químicas es el ultrasonido (US), se define como sonido de una frecuencia que está por encima del límite en el cual el oído humano puede responder. La sonoquímica generalmente usa frecuencias entre 20 y 40 kHz y este es el rango empleado en los equipos comunes de laboratorio.³⁷



En base a lo anterior y con el objetivo evaluar el efecto del ultrasonido en la ciclación de compuesto dipéptido protegido **15** se colocó el péptido **15** en un matraz provisto de agitación magnética disuelto en THF/H₂O y en medio básico. La mezcla fue colocada en el equipo generador de ultrasonido (esquema 19). La reacción fue monitoreada por medio de cromatografía en capa fina (TLC) observándose que en un tiempo de 1 hora se consumió totalmente la materia prima a la vez que se apreciaba la formación sólo del compuesto **27** que fue cristalizado y caracterizado por RMN ¹H y ¹³C el cual las señales presentadas en dichos espectros coinciden con las mostradas en las figuras 25 y 26 obtenidas por radiación solar.



Esquema 19. Ciclación del dipéptido **15** promovida por radiación US.

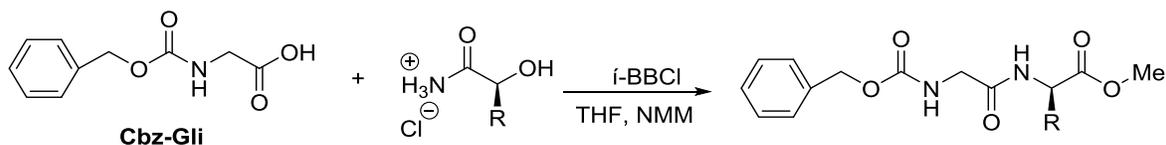
5.4 Evaluación de la influencia del fragmento glicina O-terminal en la formación de N-carboxianhídridos.

A hora bien con la finalidad de evaluar la influencia del fragmento Gli-O terminal en la ciclación de los N-Carboxianhídridos se invirtió la secuencia de los aminoácidos en los péptidos de partida.

Una vez realizada la reacción de acoplamiento intramolecular condujo a la formación de los α-dipéptidos protegidos Cbz-N-Gli-Fen-OMe (**28**), Cbz-N-Gli-Pro-OMe (**29**), Cbz-N-Gli-Trip-OMe (**30**) ver esquema 20.



Los compuestos **28**, **29** y **30** fueron identificados por resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , espectrometría de masas, además de obtener algunas de propiedades físicas, cuyos datos se encuentran resumidos en la tabla 6.



Esquema 20. Reacción de acoplamiento intermolecular.

Tabla 6.- Propiedades físicas elucidación de los compuestos **28,29** y **30**.

MOLÉCULA	Rto%	Estado físico	Solubilidad	Ión molecular
 28	81	Miel transparente	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt	m/z=370 [M-1] ⁺
 29	79	Miel transparente	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt	m/z=320 [M] ⁺
 30	71	Miel café marrón	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt	m/z=408 [M-1] ⁺

En el espectro de RMN de ^1H del compuesto **30** (figura 19), muestra alrededor de que una señal doble en 7.49 ppm para el protón asignado H-19 , en 7.35-7.34 ppm un señal multiple para los protones aromáticos. En 7.10-7.04 ppm un señal multiple para los protones H-24 y H-21, 6.98 ppm una señal doble de dobles para el protón H-20 , en 6.60 una señal doble que integra para un protón asignado como H-4, un señal simple en 5.42 ppm para el protón H-7, en 5.07 ppm dos señales dobles para H-9 , en 4.94-4.68 ppm un señal múltiple para el protón H-3, una señal multiple en



3.81 ppm para el protón H-6, en 3.66 ppm una señal simple que integra para tres protones asignado como H-1 y en 3.29 ppm un señal doble para el protón H-16.

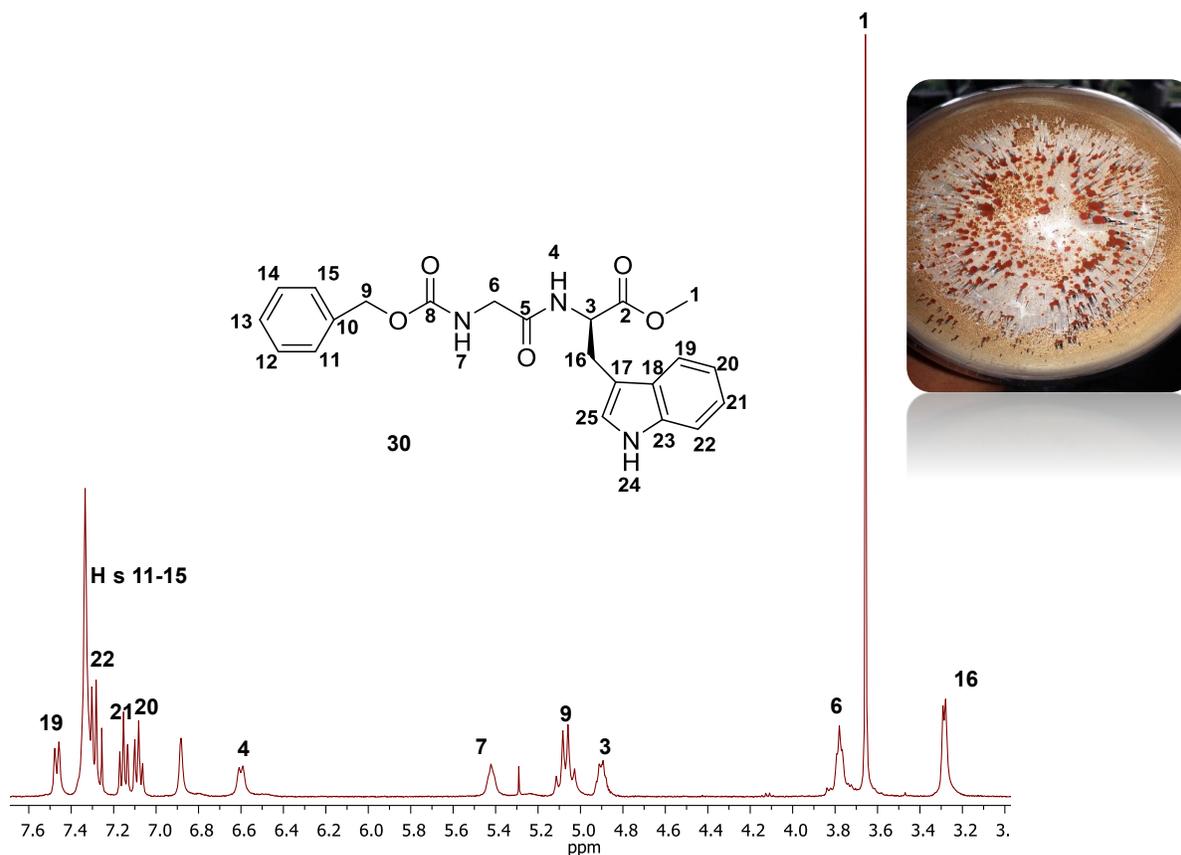


Figura 19. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) compuesto **30**.

EL espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **30** en la figura 20 mostró a campo bajo en 172.37, 170.01, 156.9 ppm correspondientes a 3 carbonilos C-2, C-6, C-8, en 136.08 ppm C-23, 128.62, 122.20, 128.19 ppm para los carbonos aromáticos C-11-15, en 127.39 ppm para el C-18, en 123.14 ppm C-25, 122.20 para el C-21, en 119.56 ppm C-20, en 118.32 ppm para el carbono C-22, en 67.15 ppm para el C-9, en 52.67 ppm C-3, en 52.52 ppm para el C-6, en 27.34 ppm para el C-16.

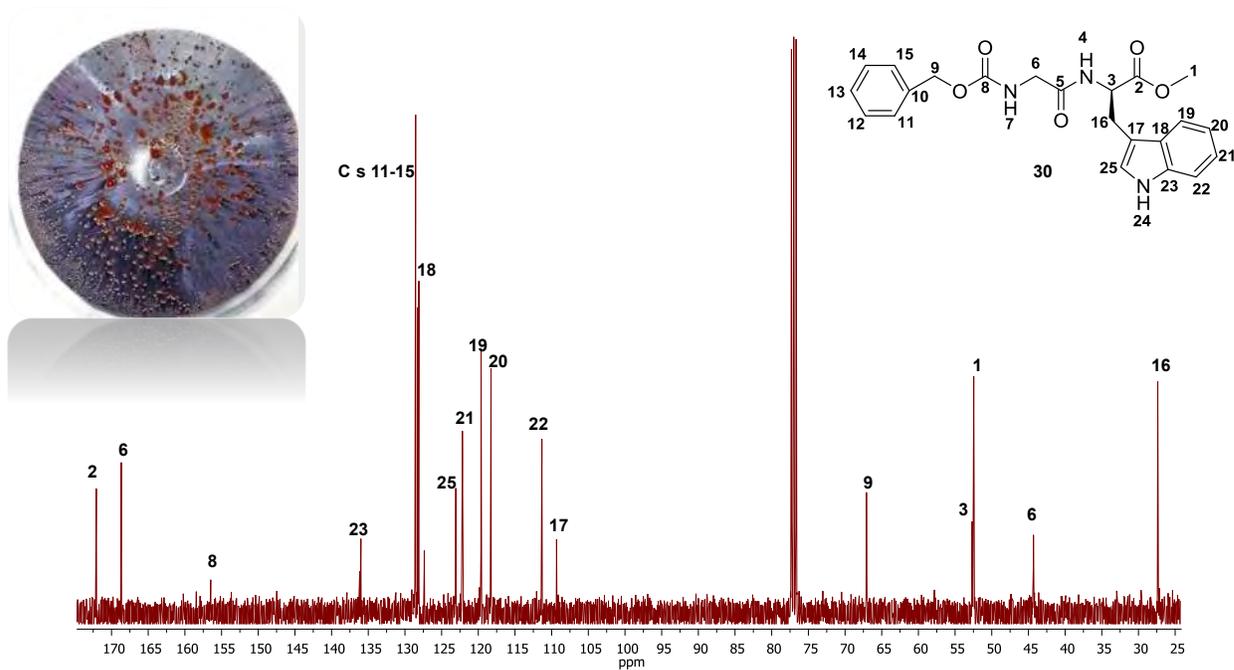
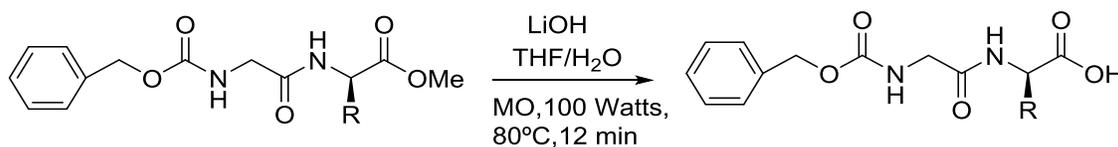


Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) compuesto 30.



Posteriormente los α -dipéptidos protegidos **28**, **29** y **30** fueron sometidos a condiciones de ciclación con energía de MO, esquema 21. La reacción fue monitoreada por medio de cromatografía en capa fina (TLC) observándose que en un tiempo de 12 minutos se consumió totalmente la materia prima a la vez se apreciaba la formación de un solo compuesto que fue purificado y posteriormente caracterizado por RMN ^1H y ^{13}C (figura 24 y 25). En base a los datos espectroscópicos obtenidos se observa que no fue favorecida la ciclacion y en todos los casos solo se observa el péptido hidrolizado **31**, **32** y **33**.

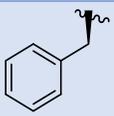
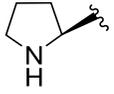
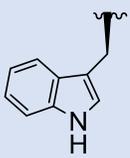


Esquema 21. Reacción de hidrolisis promovida por MO.

Los compuestos **31**, **32** y **33** fueron identificados por resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , espectrometría de masas, además de obtener algunas de propiedades físicas cuyos datos se encuentran resumidos en la tabla 7.



Tabla 7. . Propiedades físicas de los compuestos 31,32 y 33

Molécula	Rto %	Estado físico	Punto de fusión (°C)	Solubilidad	Ión molecular
 31	85	Sólido Blanco	149-150	Metanol	m/z=356.10[M] ⁺
 32	81	Sólido Blanco	118-120	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt	m/z=320.20[M] ⁺
 33	77	Miel Café Marrón	-----	Metanol CH ₂ Cl ₂ ACOEt	m/z= 395.15 [M] ⁺

El espectro de RMN de ¹H del compuesto **33** (figura 21) muestra alrededor una señal doble 7.43 ppm para el protón H-19, en 7.23-7.24 ppm una señal múltiple para los protones aromáticos, en 7.10-7.04 ppm una señal múltiple para el protón asignado H-21, 6.98 ppm una señal doble de dobles para el protón H-20, en 5.07 ppm una señal simple para el grupo protector Cbz. En 4.70 ppm una señal ancha para el protón asignado H-2, una señal doble de dobles en 3.52 ppm para el protón H-5, y en 3.14 una señal simple ancha para el protón H-15.

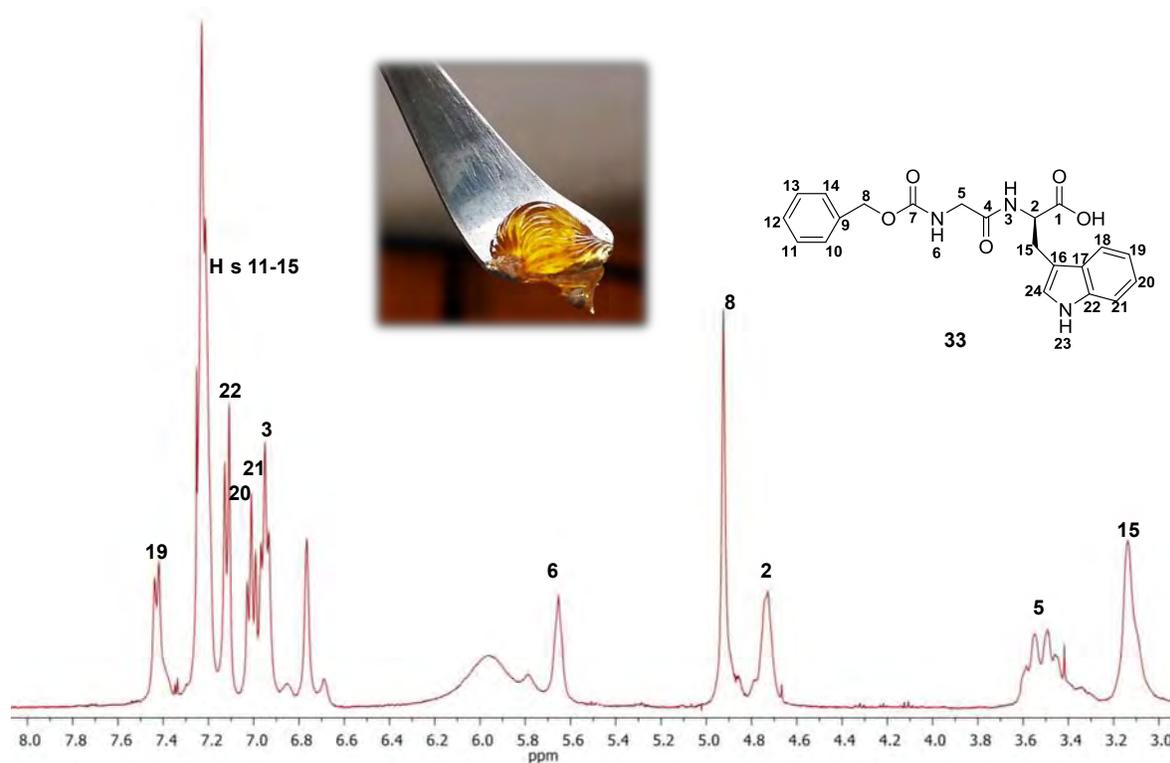


Figura 21. El espectro de RMN de ^1H (400 MHz) compuesto **33** CDCl_3 .

EL espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **33** en la figura 22 mostró a campo bajo en 174.26, 170.18, 156.91 ppm correspondientes a 3 carbonilos C-1, C-4, C-7, en 136.08 ppm C-22, 128.52, 122.25, 128.03 ppm para los carbonos aromáticos C-10-14, en 127.46 ppm para el C-17, en 123.54 ppm C-24, 121.97 para el C-20, en 119.51 ppm C-18, en 118.26 ppm para el C-19, en 119.44 ppm para el C-21, en 109.09 ppm para el carbono C-16, en 67.21 ppm para el C-8, en 53.13 ppm C-2, en 43.91 ppm para el C-5, en 29.67 ppm para el C-15.

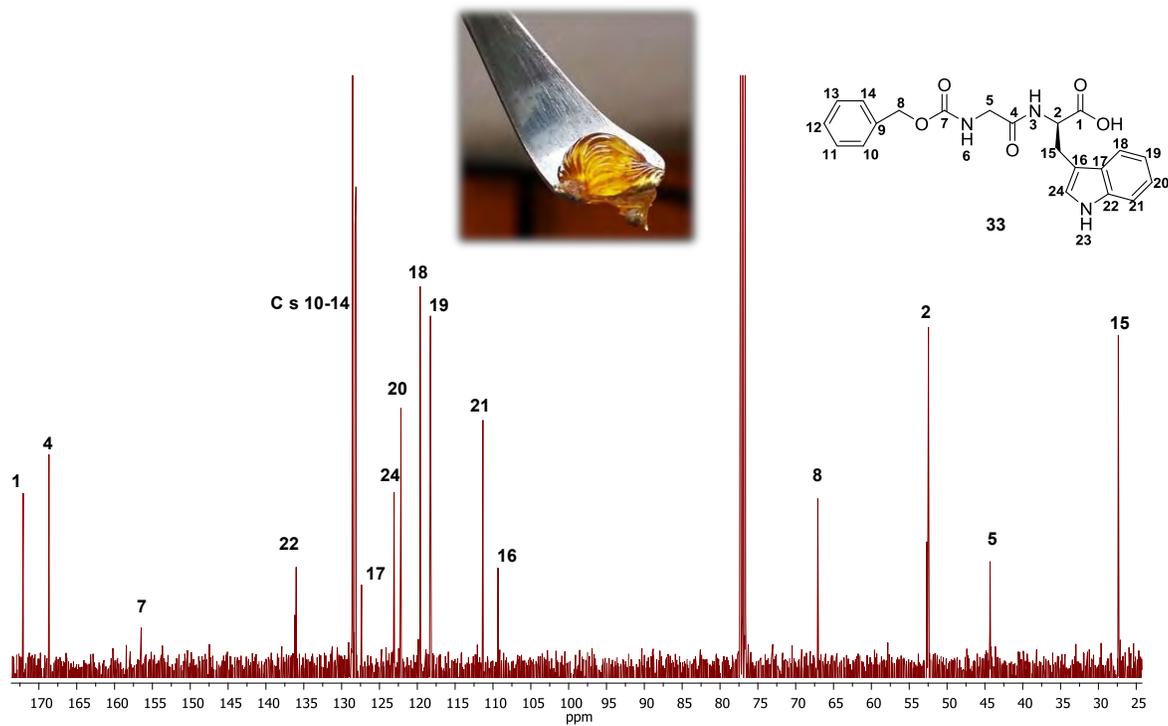


Figura 22. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) compuesto 33.



5.5 Estudio del mecanismo de reacción mediante cálculos computacionales

Cuando las moléculas se estudian desde una forma tridimensional, encontramos, entre otros, los isómeros conformacionales. Este tipo de isómeros tienen el mismo esqueleto pero difieren en cuanto a la posición relativa de ciertos átomos en el espacio tridimensional. Es por ello que el análisis conformacional es la exploración de todos los conformeros que se pueden obtener de una molécula al realizar torsiones alrededor de enlaces sencillos (grados de libertad conformacional), observando los cambios en la energía molecular asociados a esas torsiones.

En base a lo anterior se realizó un análisis conformacional por mecánica molecular en el programa Spartan14v110 del dipéptido *N*-Cbz-Ala-Gli-OMe (**19**), en el cual nos arrojó un conformero de mínima energía de $E = -95.97$ (kJ/mol) ver figura 23.



Figura 23. Conformero de mínima energía del compuesto **19**.

El conformero de mínima energía se sometió a optimización de geometría mediante el programa Gaussian 09 con el método B3LYP con una base 6-311+g (d,p) obteniendo la una energía mínima de (kJ/mol) ver figura 24. Donde podemos observar que los sitios reactivos para la ciclación de los α dipéptidos protegidos para la formación de los *N*-carboxianhídridos se encuentran aproximados en el espacio, y está disponible una de las caras del grupo carbonilo. Por otro lado uno de los mecanismo por el cual interactúa la radiación de microondas con la materia es por conducción, al existir especies radicalarias en el medio de reacción harán que estas se muevan a través de la solución bajo la influencia del campo eléctrico aplicado lo



que resultará en un incremento de las colisiones, lo que nos da un indicio que al estar aproximados los sitios reactivos se promueva la ciclacion.

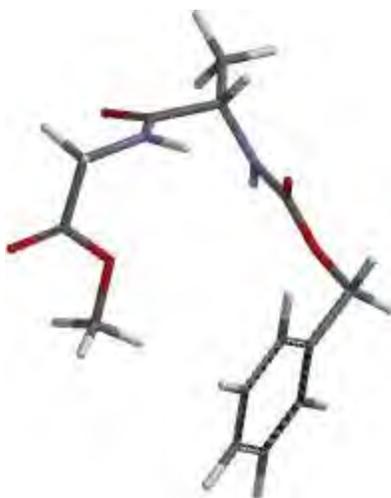


Figura 24. Geometría optimizada del compuesto **19**.

Por otro lado en el siguiente mapa de potencial electrostático del compuesto **19** ver figura 25 nos permite visualizar la manera en la que se distribuye los electrones en una molécula utilizando los colores del arco iris. El a región rojo indica las regiones donde la densidad electrónica es mayor tal es el caso de los grupo carbonilo de la amida, y del grupo éster, mientras que las regiones en azul indican una menor población electrónica como se observa sobre el grupo NH del carbamato, mientras en color verde o amarillo presenta un balance electrónico homogéneo como se aprecia en el resto de molécula.

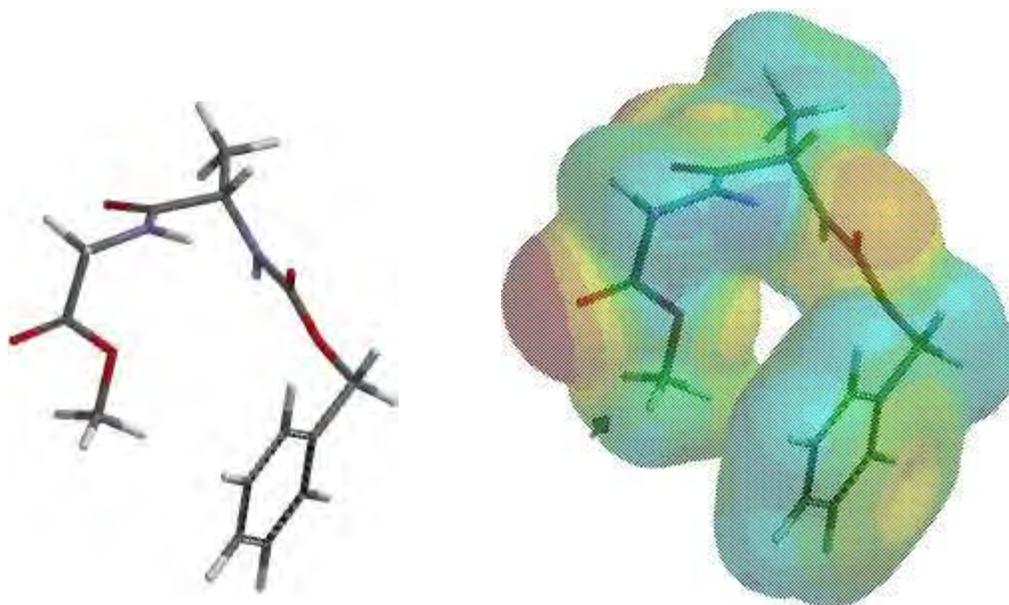


Figura 25. Mapa de potencial electrostático del compuesto **19**.

Los átomos y las moléculas están formados por unidades con carga eléctrica (protones, electrones, etc.), los cuales pueden ser estudiados a través de la mecánica cuántica. Un caso especial es el momento dipolar (μ), que surge de la existencia de dos partículas cargadas, $+q$ y $-q$, localizadas en dos puntos distintos del espacio, y que se define matemáticamente como el producto de la carga (por convención negativa) por la distancia que las separa. Por tanto, μ es una magnitud dirigida, es decir, es una cantidad vectorial que se suele representar gráficamente por una flecha con origen en la carga negativa. El momento dipolar del compuesto **19** es 5.00 debye como se observa en la figura 26, donde la flecha del momento dipolar nos indica que de la región del grupo protector CBZ se concentra la parte positiva y es dirigida a la parte más electronegativa del péptido hacia la región del grupo protector éster metílico .

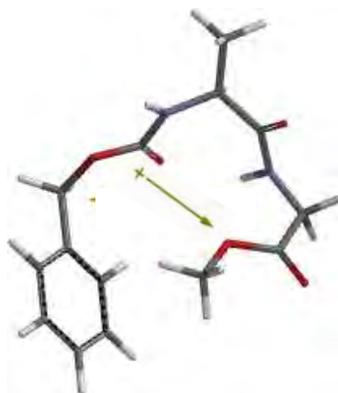


Figura 26. Momento dipolar del compuesto **19**.

Por otro lado se realizó un análisis conformacional por mecánica molecular en el programa Spartan14v110 del dipéptido *N*-Cbz-Gli-ala-OMe (**34**), en el cual nos arrojó un conformero de mínima energía de $E=-95.90$ (kJ/mol) ver figura 27.

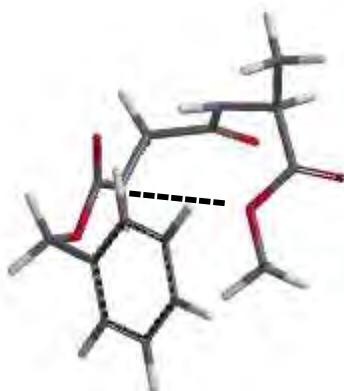


Figura 27. Conformer de mínima energía del compuesto **34**.

El conformero de mínima energía se sometió a optimización de geometría mediante el programa Gaussian 09 con el método B3LYP con una base 6-311+ (d,p) ver figura 28. Donde podemos observar que existe impedimento estérico generando entre el sustituyente R en el carbono alfa y el grupo protector Cbz, lo que evita el acercamiento de los grupos reactivos y por consecuencia no se lleve a cabo la ciclación.



Figura 28. Geometría optimizada del compuesto **34**.

5. 6.- Pruebas biológicas

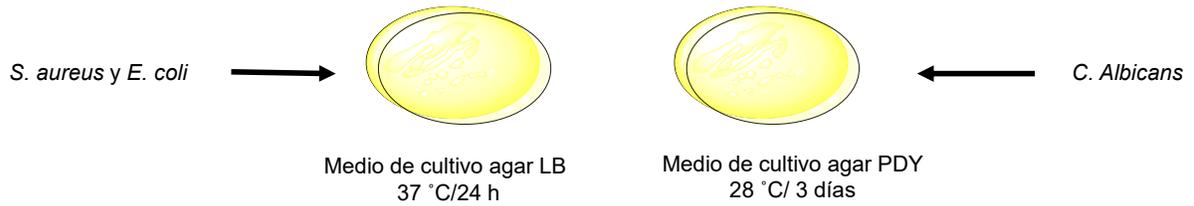
Con base en los antecedentes que muestran los heterociclos nitrogenados con propiedades antimicrobianas y antifúngicas.¹⁹ Los compuestos **21**, **22**, **23**, **24**, **25** y **26** se sometieron a pruebas biológicas con la finalidad de observar su efecto antimicrobiano frente a las cepas de *E. coli* 011 y *S. aureus* ATCC 27543, así como como su efecto antifúngico frente a *C. albicans* mediante el ensayo de viabilidad mediante la reducción metabólica del MTT (Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol).

Este ensayo se basa en la reducción metabólica del MTT realizada por la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa en un compuesto coloreado de color azul (formazan), permitiendo determinar la funcionalidad mitocondrial de las células tratadas. Este método ha sido muy utilizado para medir supervivencia y proliferación celular.

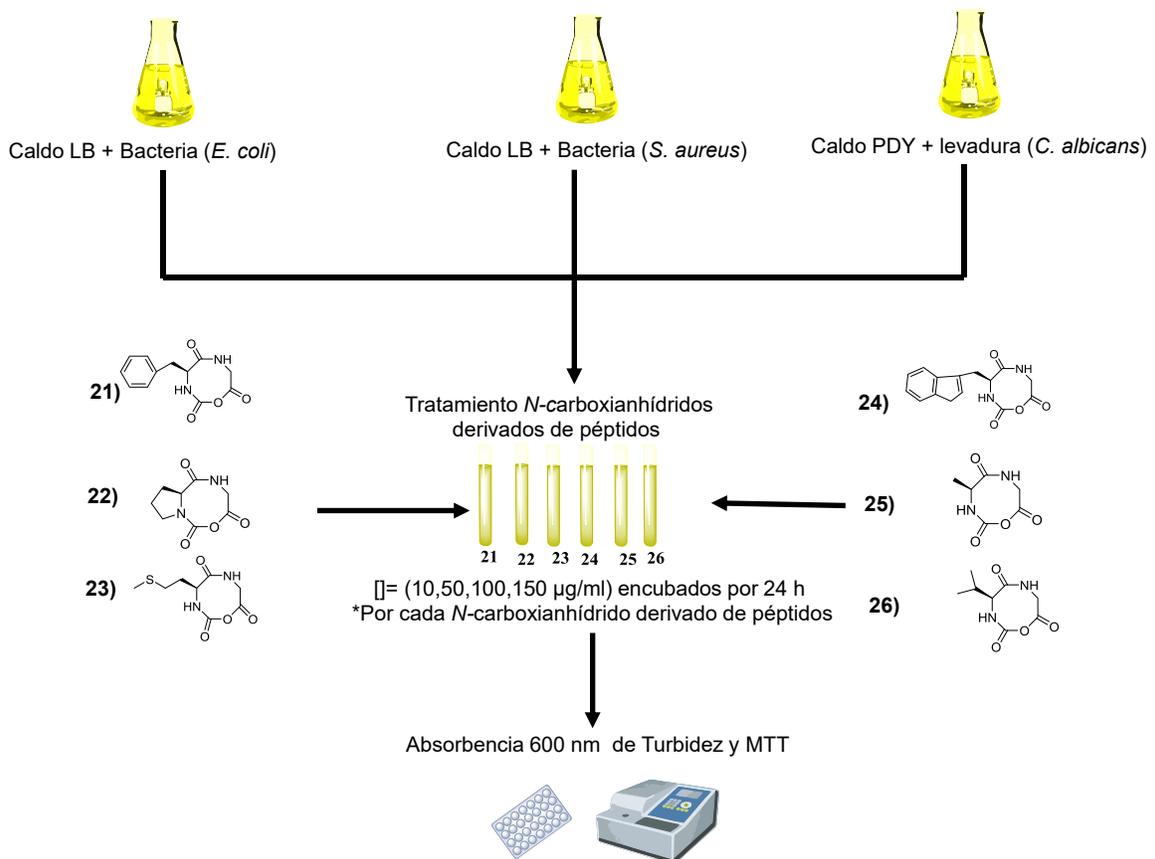
Como estrategia experimental se llevó a cabo bajo el siguiente protocolo:



a) Cultivo primario:



b) Ensayo de viabilidad por la reducción de MTT





5.6.1 Efecto de *N*-carboxianhídridos derivados de péptidos sobre la viabilidad de *E. coli*.

La viabilidad se determinó mediante la lectura de absorbancia de cinéticas de crecimiento a 600 nm por 24 hr, en ensayos de turbidez y reducción metabólica del MTT, incluyendo un control (LB (Caldo Luria Bertani)+ *E. coli*) y los respectivos tratamientos (LB + *E. coli* + *N*-carboxianhídrido) a concentraciones 1, 10, 50, 100 y 150 µg/ml, en cada uno de los siguientes resultados se muestra dos graficas:

- a) Representa el crecimiento bacteriano que es directamente proporcional a la absorbancia de la turbidez con respecto al tiempo.
- b) Representa el Pico máximo de crecimiento el cual es el representativo para observar el efecto de los compuestos sobre la viabilidad del modelo biológico que es directamente proporcional a la absorbancia de la reducción metabólica del MTT con respecto al tiempo.



De acuerdo con los resultados obtenidos el tratamiento del compuesto **21** (figura 29 a, b) inhibió el crecimiento de *E. coli* 011 a una concentración de 1 µg/ml teniendo una diferencia significativa con respecto al control en el tiempo de 4 horas siendo el pico máximo de crecimiento bacteriano, afectando la viabilidad de la bacteria.

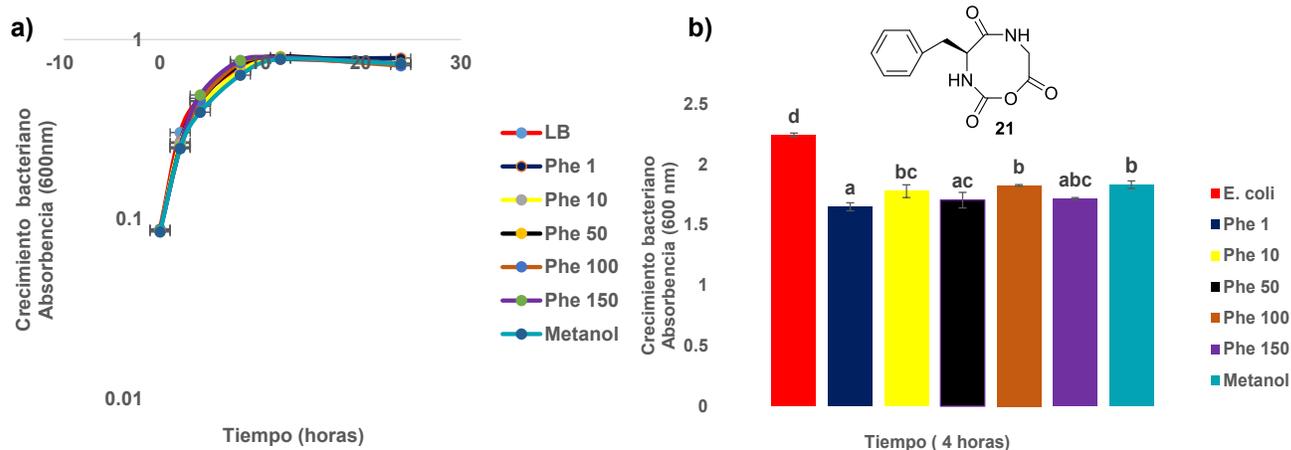


Figura 29. Efecto del compuesto 21 sobre la viabilidad de *E. coli* 011. La bacteria fue cultivada toda la noche. Se ajustó a la DO_{600} a 0.2 (9.2×10^7 /ml), y se adicionó el tratamiento con el compuesto **21** (1, 10, 50, 100 y 150 µg/ml) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad bacteriana se determinó mediante cinéticas de crecimiento (a) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (b). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (LB+ *E. coli*) en el tiempo correspondiente.

De igual manera para el compuesto **22** (figura 30 a y b) inhibió el crecimiento de *E. coli* 011 en todas las concentración probadas, la más significativa fue la concentración de 150 µg/ml con respecto al control en el tiempo de 4 hr siendo el pico máximo de crecimiento bacteriano, afectando la viabilidad de la bacteria.

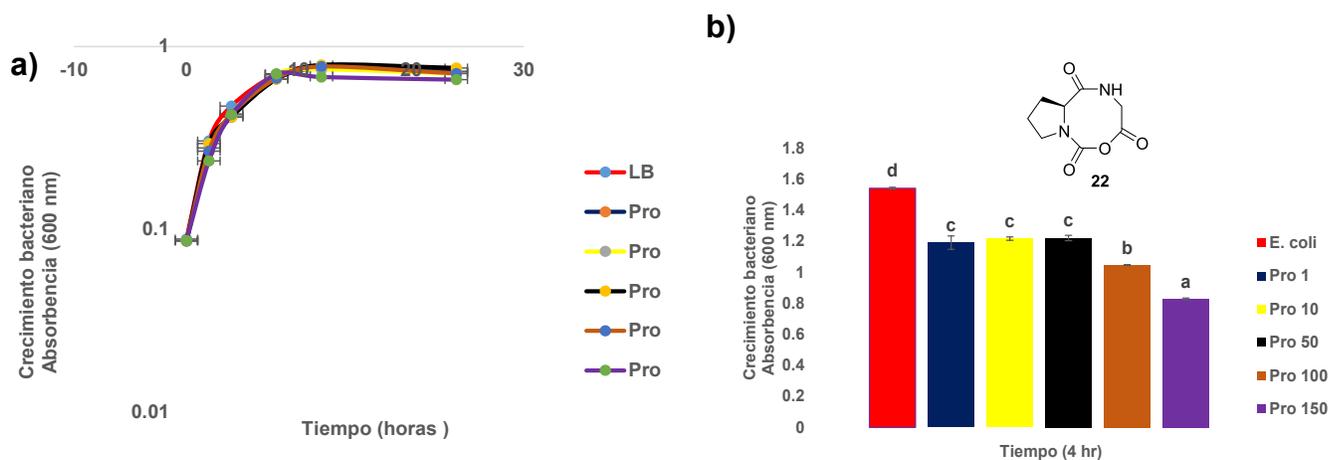


Figura 30. Efecto del compuesto 22 sobre la viabilidad de *E. coli* 011. La bacteria fue cultivada toda la noche. Se ajustó a la DO_{600} a 0.2 (9.2×10^7 /ml), y se adicionó el tratamiento con el compuesto **22** (1, 10, 50, 100 y 150 µg/ml) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad bacteriana se determinó mediante cinéticas de crecimiento (a) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (b y c). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (LB+ *E. coli*) en el tiempo correspondiente.



Para el tratamiento del compuesto **23** (figura 31 a y b) inhibió el crecimiento de *E. coli* 011 en todas las concentraciones en el tiempo de 4 horas pico máximo de crecimiento, siendo la concentración de un 1 µg/ml la más significativa con respecto al control (LB+ *E. coli* 011), afectando la viabilidad de la bacteria.

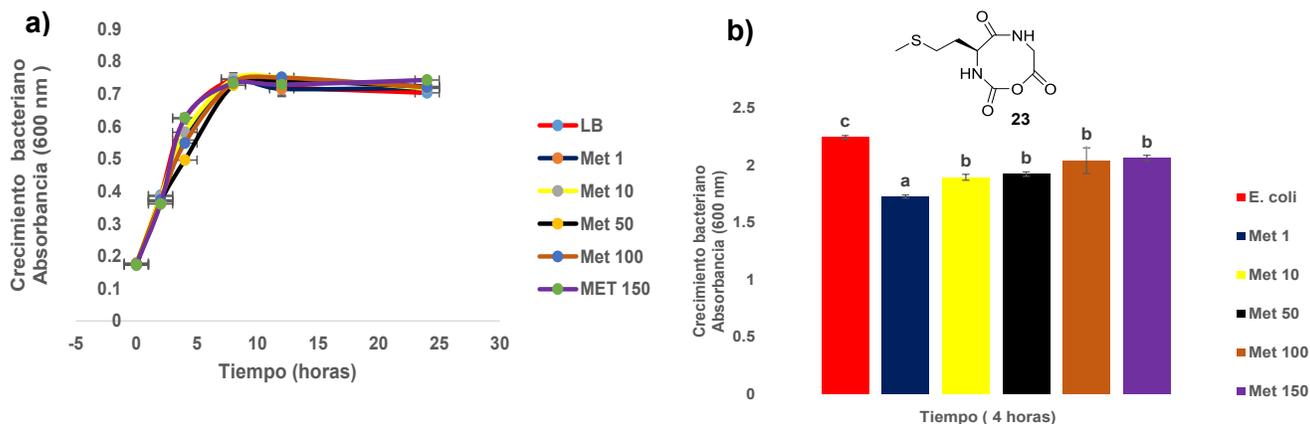


Figura 31. Efecto del compuesto 23 sobre la viabilidad de *E. coli* 011. La bacteria fue cultivada toda la noche. Se ajustó a la DO_{600} a 0.2 (9.2×10^7 /ml), y se adicionó el tratamiento con el compuesto **23** (1, 10, 50, 100 y 150 µg/ml) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad bacteriana se determinó mediante cinéticas de crecimiento (a) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (b). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (LB+ *E. coli*) en el tiempo correspondiente.

El compuesto **24** (figura 32 a y b) inhibió el crecimiento de *E. coli* 011 en todas las concentraciones en el tiempo de 4 horas pico máximo de crecimiento, siendo la concentración 100 µg/ml que tuvo más diferencia significativa con respecto al control (LB+ *E. coli* 011), afectando la viabilidad de la bacteria.

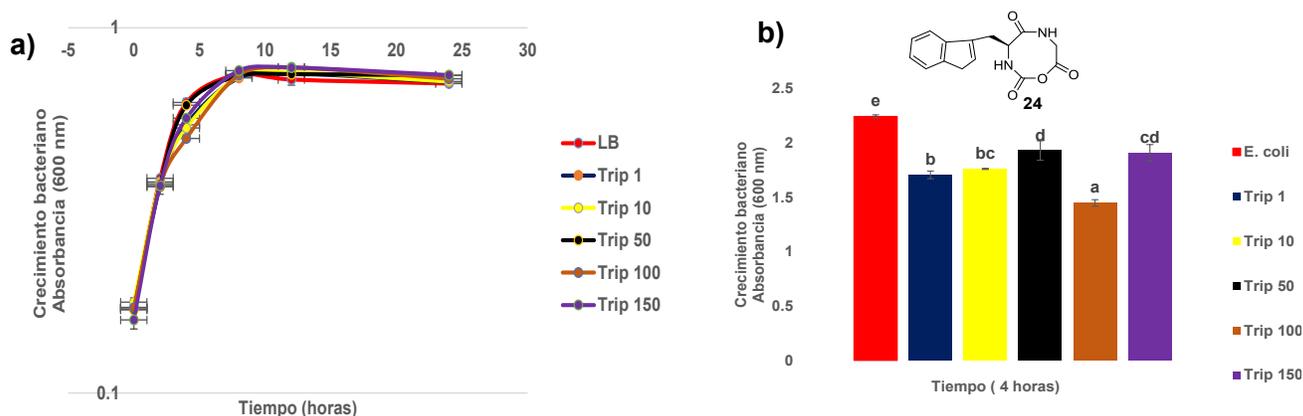


Figura 33. Efecto del compuesto 24 sobre la viabilidad de *E. coli* 011. La bacteria fue cultivada toda la noche. Luego se ajustó a la DO_{600} a 0.2 (9.2×10^7 /ml), y se adicionó el tratamiento con el compuesto **24** (1, 10, 50, 100 y 150 µg/ml) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad bacteriana se determinó mediante cinéticas de crecimiento (a) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (b). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (LB+ *E. coli*) en el tiempo correspondiente.



El compuesto **25** (figura 34 a y b) inhibió el crecimiento de *E. coli* 011 en todas las concentraciones en el tiempo de 4 horas pico máximo de crecimiento, siendo la concentración 150 $\mu\text{g/ml}$ que tuvo más diferencia significativa con respecto al control (LB+ *E. coli* 011), afectando la viabilidad de la bacteria.

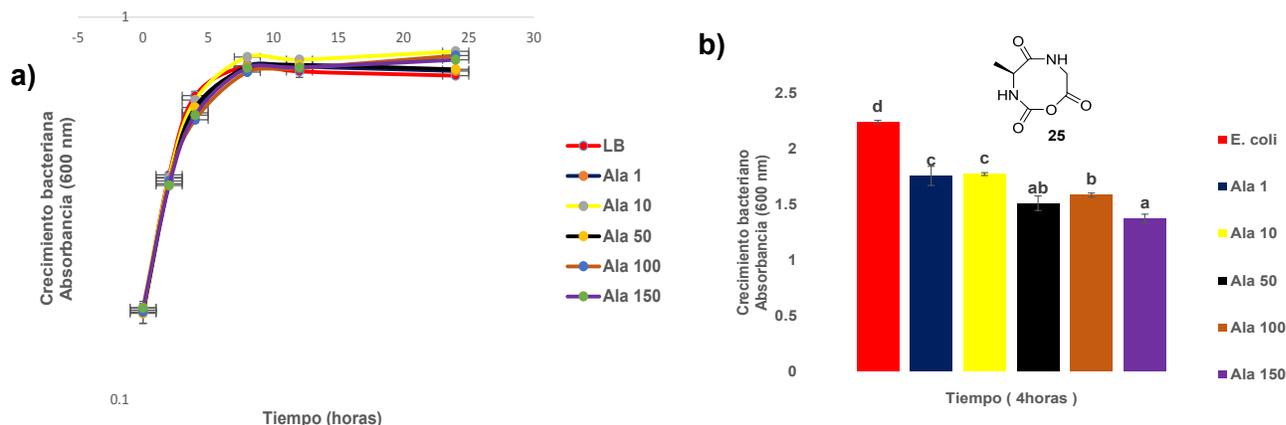


Figura 34. Efecto del compuesto 25 sobre la viabilidad de *E. coli* 011. La bacteria fue cultivada toda la noche. Luego se ajustó a la DO_{600} a 0.2 ($9.2 \times 10^7/\text{ml}$), y se adicionó el tratamiento con el compuesto **25** (1, 10, 50, 100 y 150 $\mu\text{g/ml}$) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad bacteriana se determinó mediante cinéticas de crecimiento (a) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (b). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (LB+ *E. coli*) en el tiempo correspondiente.

El compuesto **26** (figura 35 a y b) inhibió el crecimiento de *E. coli* 011 en todas las concentraciones en el tiempo 4 pico máximo de crecimiento, siendo la concentración 1 $\mu\text{g/ml}$ que tuvo más diferencia significativa con respecto al control (LB+ *E. coli* 011), observando que el efecto es dependiente de la concentración afectando la viabilidad de la bacteria.

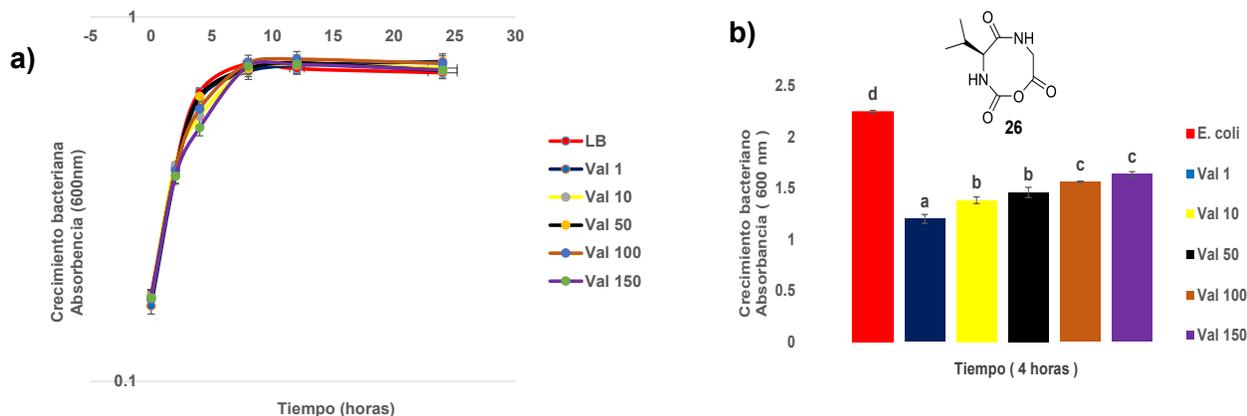


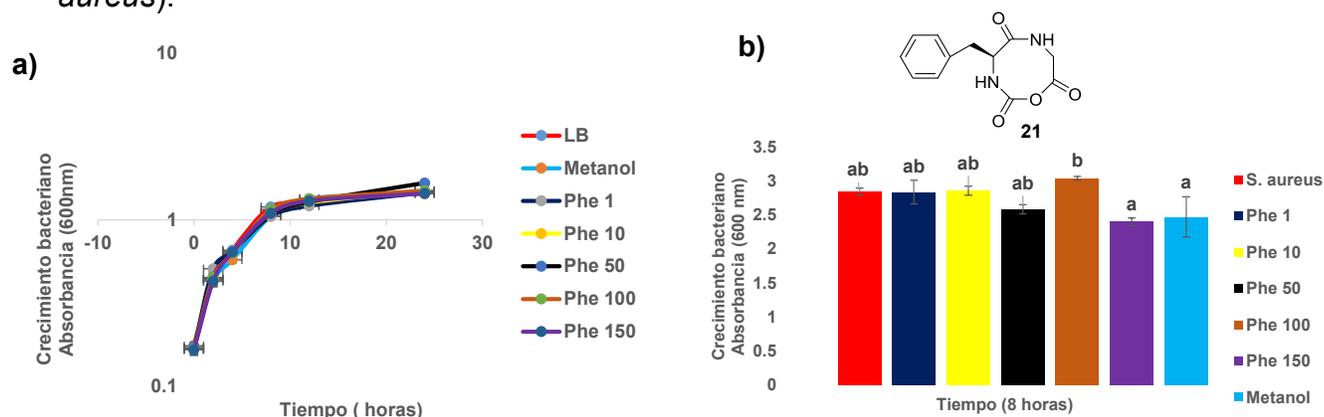
Figura 35. Efecto del compuesto 26 sobre la viabilidad de *E. coli* 011. La bacteria fue cultivada toda la noche. Luego se ajustó a la DO_{600} a 0.2 ($9.2 \times 10^7/\text{ml}$), y se adicionó el tratamiento con el compuesto **26** (1, 10, 50, 100 y 150 $\mu\text{g/ml}$) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad bacteriana se determinó mediante cinéticas de crecimiento (a) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (b). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (LB+ *E. coli*) en el tiempo correspondiente.



5.6.2.- Efecto de *N*-carboxianhídridos derivados de péptidos sobre la viabilidad de *S. aureus*

La viabilidad se determinó mediante la lectura de absorbancia en cinéticas de crecimiento, en ensayos de reducción metabólica del MTT.

De acuerdo a los resultados obtenidos comenzando con el compuesto **21** (figura 36 **a** y **b**) no inhibió el crecimiento de *S. aureus* en las concentraciones evaluadas en el tiempo de 8 horas pico máximo de crecimiento, respecto al control (LB+ *S. aureus*).



El compuesto **22** (figura 37 **a** y **b**) inhibió el crecimiento de *S. aureus* en la concentración 150 μ g/ml en el tiempo 8 pico máximo de crecimiento, siendo la concentración que tuvo más diferencia significativa con respecto al control (LB+ *S. aureus* ATCC 27543).

**CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR
RADIACIÓN DE MICROONDAS**

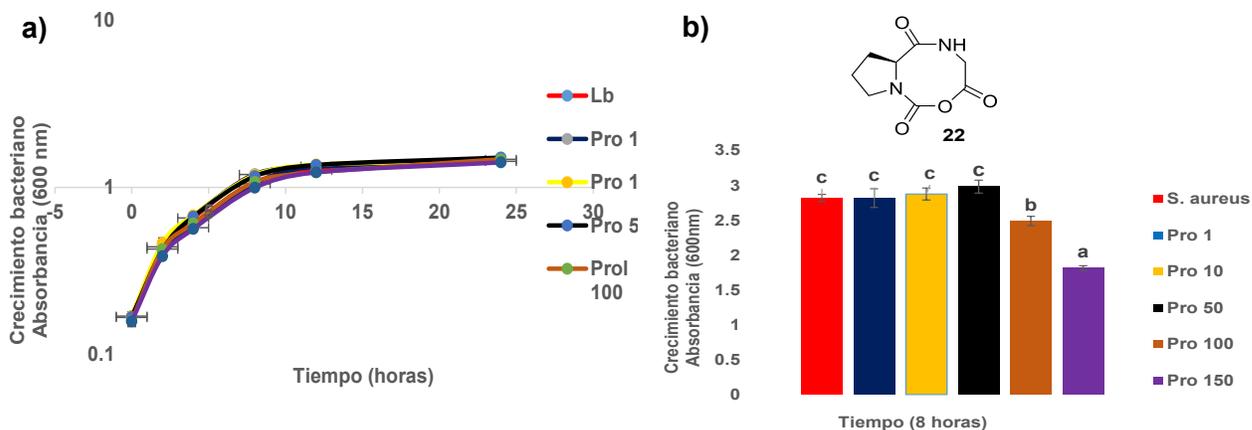


Figura 37. Efecto del compuesto 22 sobre la viabilidad de *S. aureus* ATCC 27543. La bacteria fue cultivada toda la noche. Luego se ajustó a la DO_{600} a 0.2 (9.2×10^7 /ml), y se adicionó el tratamiento con el compuesto 22 (1, 10, 50, 100 y 150 µg/ml) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad bacteriana se determinó mediante cinéticas de crecimiento (a) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (b). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (LB+ *S. aureus*) en el tiempo correspondiente.

El ensayo con el compuesto 23 (figura 38 a y b), no inhibió el crecimiento de *S. aureus* en ninguna de las concentraciones en el tiempo 8 pico máximo de crecimiento, con respecto al control (LB+ *S. aureus* ATCC 27543).

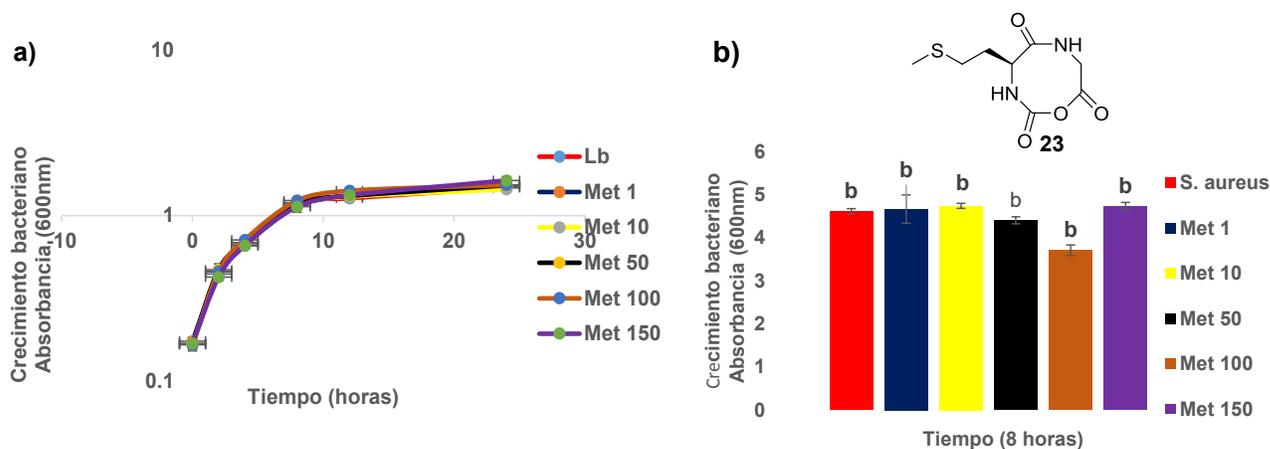


Figura 38. Efecto del compuesto 23 sobre la viabilidad de *S. aureus* ATCC 27543. La bacteria fue cultivada toda la noche. Se ajustó a la DO_{600} a 0.2 (9.2×10^7 /ml), y se adicionó el tratamiento con el compuesto 23 (1, 10, 50, 100 y 150 µg/ml) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad bacteriana se determinó mediante cinéticas de crecimiento (a) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (b). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (LB+ *S. aureus*) en el tiempo correspondiente.



El ensayo con el compuesto **24** (figura 39 a y b), inhibió el crecimiento de *S. aureus* en la concentración de 1, 10 y 50 $\mu\text{g/ml}$ en el tiempo 8 pico máximo de crecimiento, siendo la concentración que tuvo más diferencia significativa con respecto al control (LB+ *S. aureus* ATTC 27543).

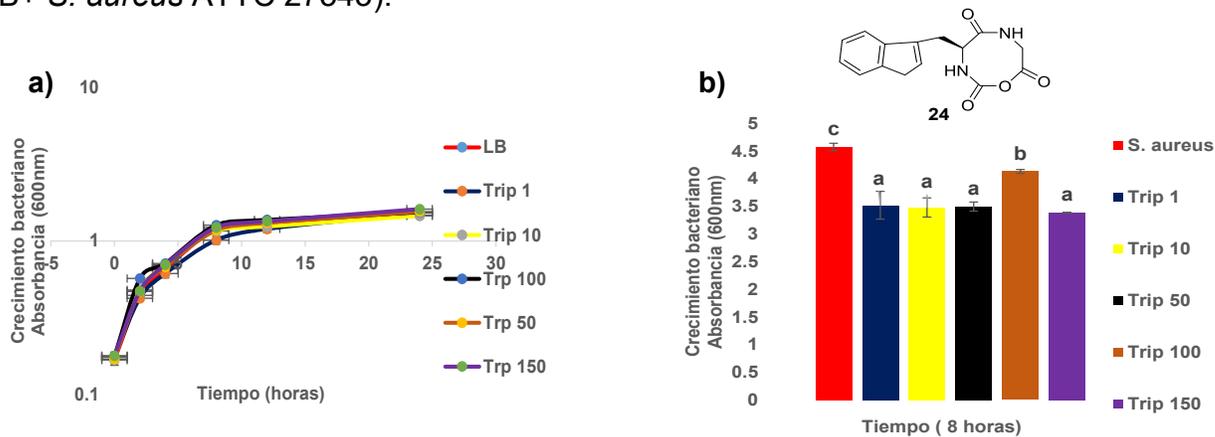


Figura 39. Efecto del compuesto 24 sobre la viabilidad de *S. aureus* ATTC 27543. La bacteria fue cultivada toda la noche. Luego se ajustó a la DO_{600} a 0.2 ($9.2 \times 10^7/\text{ml}$), y se adicionó el tratamiento con el compuesto **24** (1, 10, 50, 100 y 150 $\mu\text{g/ml}$) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad bacteriana se determinó mediante cinéticas de crecimiento (a) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (b). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (LB+ *S. aureus*) en el tiempo correspondiente.

El ensayo con el compuesto **25** (figura 40 a y b), inhibió el crecimiento de *S. aureus* en la concentración 1 y 10 $\mu\text{g/ml}$ en el tiempo 8 pico máximo de crecimiento, siendo las concentraciones que tuvieron más diferencia significativa con respecto al control (LB+ *S. aureus* ATTC 27543).

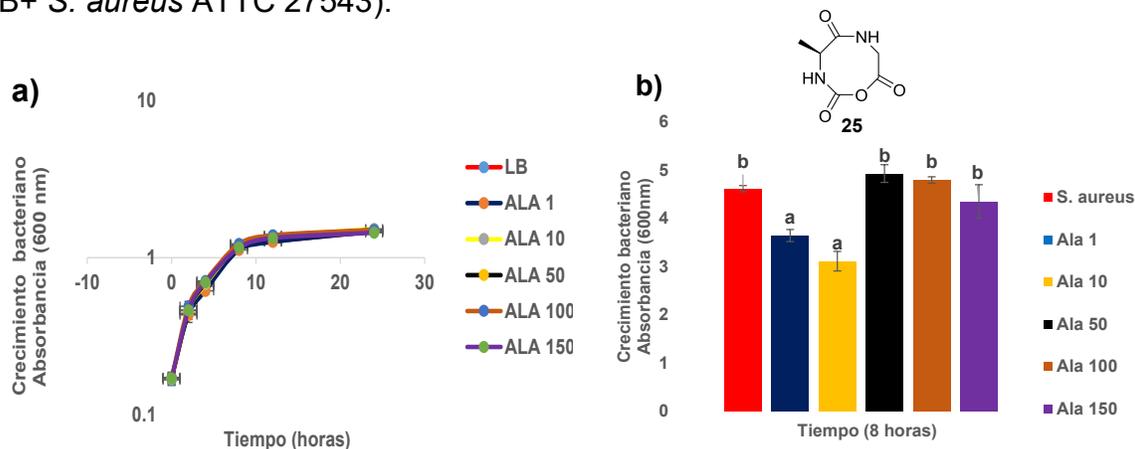


Figura 40. Efecto del compuesto 25 sobre la viabilidad de *S. aureus* ATTC 27543. La bacteria fue cultivada toda la noche. Se ajustó a la DO_{600} a 0.2 ($9.2 \times 10^7/\text{ml}$), y se adicionó el tratamiento con el compuesto **25** (1, 10, 50, 100 y 150 $\mu\text{g/ml}$) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad bacteriana se determinó mediante cinéticas de crecimiento (a) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (b). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (LB+ *S. aureus*) en el tiempo correspondiente.



El ensayo con el compuesto **26** (figura 41 a y b), inhibió el crecimiento de *S. aureus* en la concentración 100 µg/ml en el tiempo 8 pico máximo de crecimiento, siendo la concentración que tuvo más diferencia significativa con respecto al control (LB+ *S. aureus* ATTC 27543).

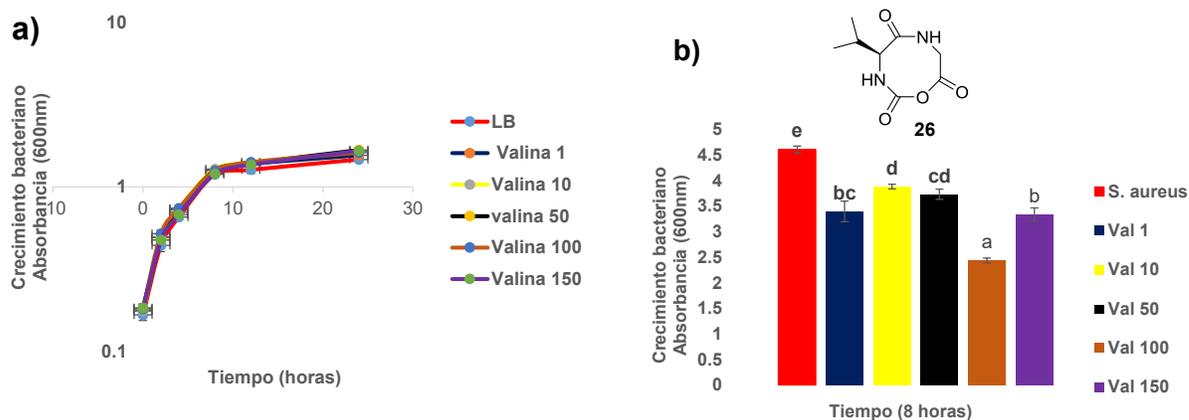


Figura 41. Efecto del compuesto 26 sobre la viabilidad de *S. aureus* ATTC 27543. La bacteria fue cultivada toda la noche. Se ajustó a la DO_{600} a 0.2 (9.2×10^7 /ml), y se adicionó el tratamiento con el compuesto **26** (1, 10, 50, 100 y 150 µg/ml) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad bacteriana se determinó mediante cinéticas de crecimiento (a) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (b). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (LB+ *S. aureus*) en el tiempo correspondiente.

5.6.3.- Efecto de *N*-carboxianhídridos derivados de péptidos sobre la viabilidad de *C. albicans*

La viabilidad se determinó mediante la lectura de absorbancia de cinéticas de crecimiento a 600 nm por 24 hr, en ensayos de turbidez y reducción metabólica del MTT, incluyendo un control (PDY (Caldo papa destroxa) + *C. albicans*) y los respectivos tratamientos (PDY+ *C. albicans* + *N*-carboxianhídrido) a concentraciones 1, 10, 50, 100 y 150 µg/ml.



De acuerdo a los resultados obtenidos comenzando con el compuesto **21** (figura 42 a y b), inhibió el crecimiento de *C. albicans* en todas las concentraciones en el tiempo 24 horas pico máximo de crecimiento, siendo las concentraciones 1, 10 y 50 $\mu\text{g/ml}$ que tuvieron más diferencia significativa con respecto el control.

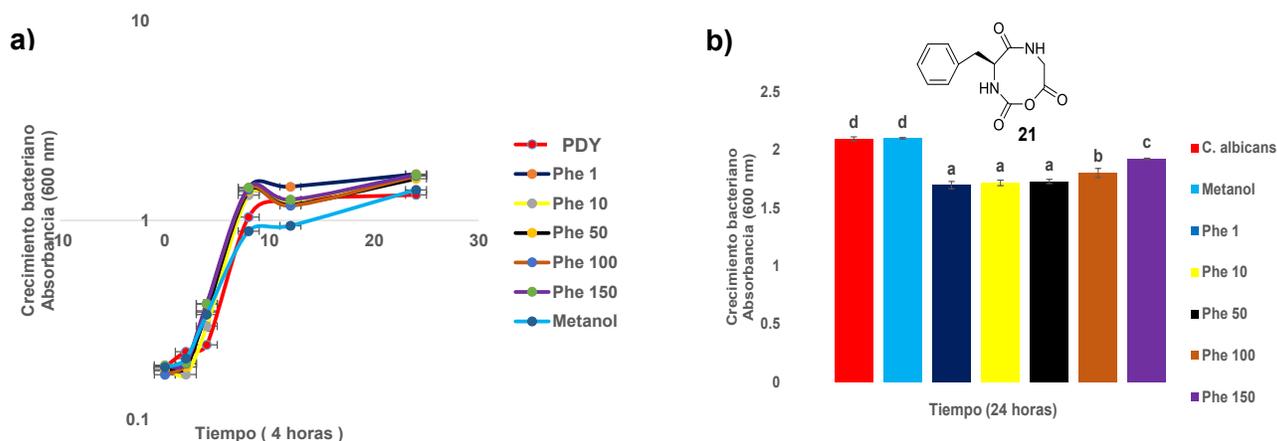


Figura 42. Efecto del compuesto 21 sobre la viabilidad de *C. albicans*. La levadura fue cultivada por 48 hr. Luego se ajustó a la DO_{600} a 0.2 ($9.2 \times 10^7/\text{ml}$), y se adicionó el tratamiento con el compuesto **21** (1, 10, 50, 100 y 150 $\mu\text{g/ml}$) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad de la levadura se determinó mediante cinéticas de crecimiento (a) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (b). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (PDY+ *C. albicans*) en el tiempo correspondiente.

De acuerdo a los resultados obtenidos comenzando con el compuesto **22** (figura 43 a y b), inhibió el crecimiento de *C. albicans* en la concentración 1 $\mu\text{g/ml}$ en el tiempo 24 horas pico máximo de crecimiento, tuvo más diferencia significativa con respecto el control (PDY+ *C. albicans*).

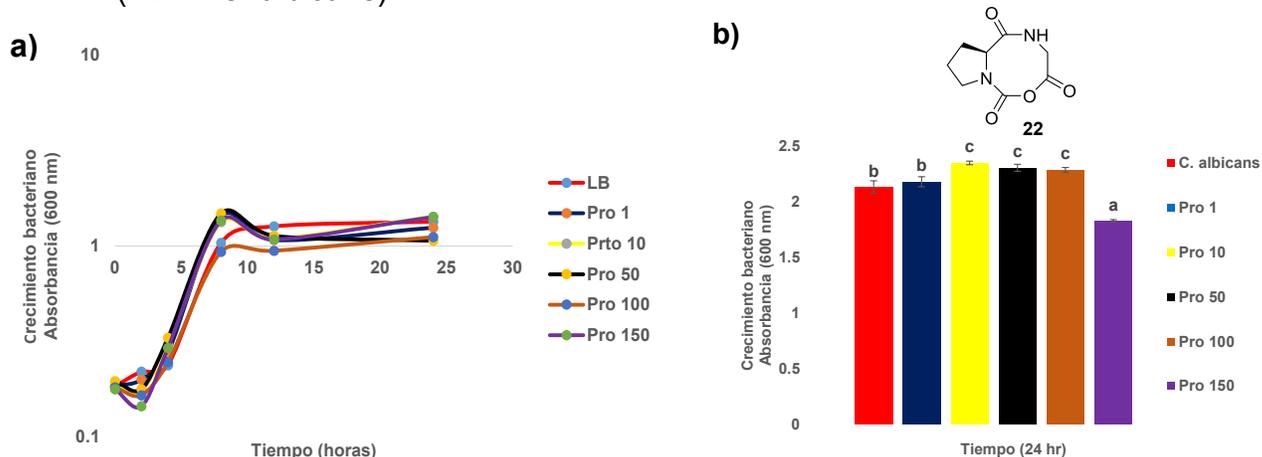


Figura 43. Efecto del compuesto 22 sobre la viabilidad de *C. albicans*. La levadura fue cultivada por 48 hr. Se ajustó a la DO_{600} a 0.2 ($9.2 \times 10^7/\text{ml}$), y se adicionó el tratamiento con el compuesto **22** (1, 10, 50, 100 y 150 $\mu\text{g/ml}$) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad de la levadura se determinó mediante cinéticas de crecimiento (a) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (b). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (PDY+ *C. albicans*) en el tiempo correspondiente.



El compuesto **23** (figura 44 **a y b**) inhibió el crecimiento de *C. albicans* la concentración 100 $\mu\text{g/ml}$ en el tiempo de 24 horas pico máximo de crecimiento, siendo la que tuvo más diferencia significativa con respecto al control (PDY + *C. albicans*), afectando la viabilidad de la levadura.

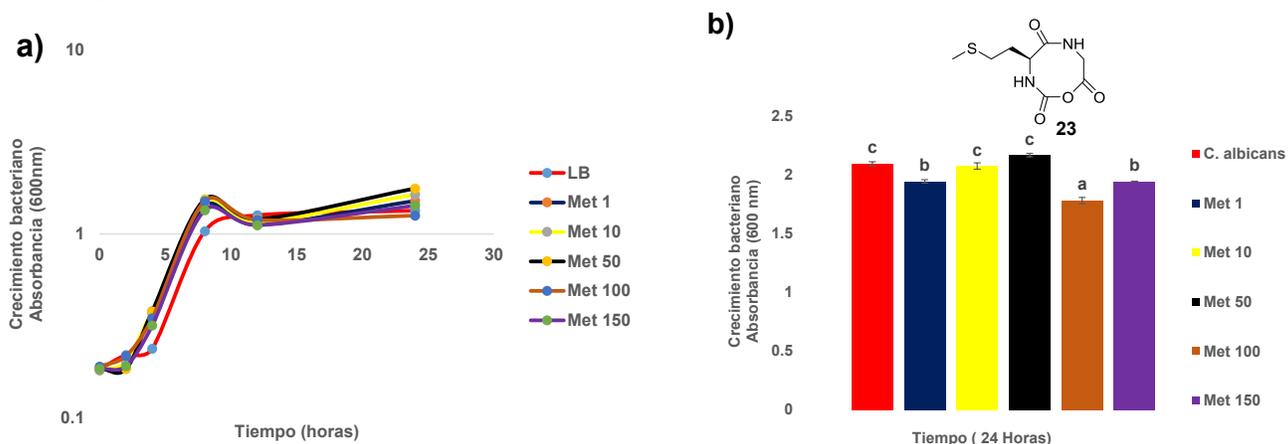


Figura 44. Efecto del compuesto 23 sobre la viabilidad de *C. albicans*. La levadura fue cultivada por 48 hr. Luego se ajustó a la DO_{600} a 0.2 ($9.2 \times 10^7/\text{ml}$), y se adicionó el tratamiento con el compuesto **23** (1, 10, 50, 100 y 150 $\mu\text{g/ml}$) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad de la levadura se determinó mediante cinéticas de crecimiento (**a**) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (**b**). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (PDY+ *C. albicans*) en el tiempo correspondiente.

El compuesto **24** (figura 45 **a y b**) no inhibió el crecimiento de *C. albicans* en las concentraciones evaluadas en el tiempo de 24 horas pico máximo de crecimiento, respecto al control (PDY+ *C. albicans*), por lo que no se ve afectada la viabilidad de la levadura.

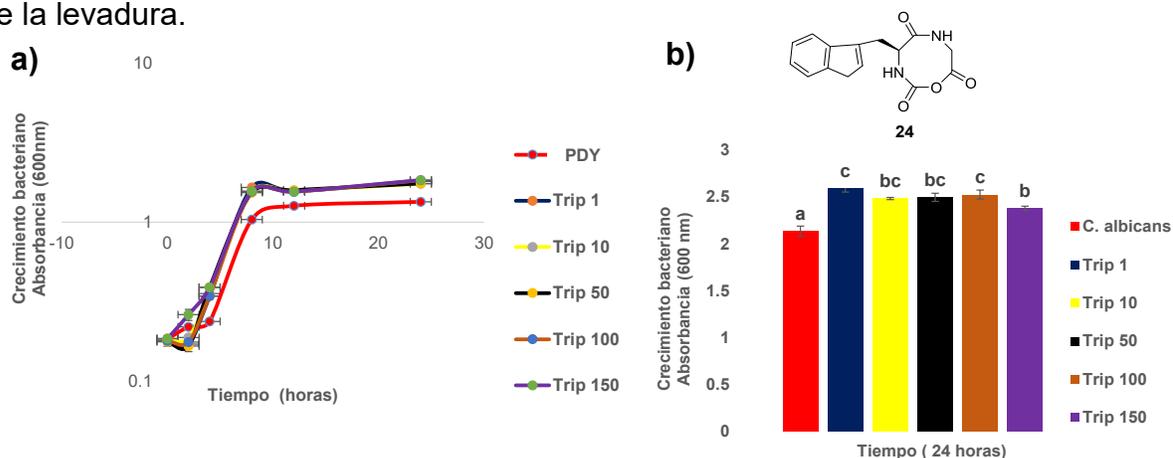


Figura 45. Efecto del compuesto 24 sobre la viabilidad de *C. albicans*. La levadura fue cultivada por 48 hr. Se ajustó a la DO_{600} a 0.2 ($9.2 \times 10^7/\text{ml}$), y se adicionó el tratamiento con el compuesto **24** (1, 10, 50, 100 y 150 $\mu\text{g/ml}$) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad de la levadura se determinó mediante cinéticas de crecimiento (**a**) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (**b**). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (PDY+ *C. albicans*) en el tiempo correspondiente.



El compuesto **25** (figura 46 **a** y **b**) no inhibió el crecimiento de *C. albicans* en las concentraciones evaluadas en el tiempo de 24 horas pico máximo de crecimiento, respecto al control (PDY+ *C. albicans*), por lo que no se ve afectada la viabilidad de la levadura, por lo contrario induce el crecimiento de la levadura.

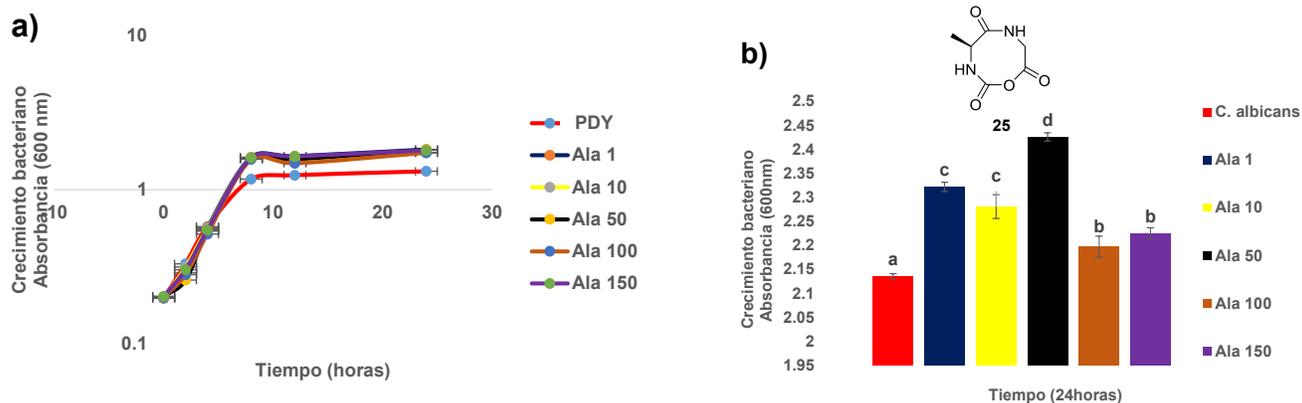


Figura 46. Efecto del compuesto 24 sobre la viabilidad de *C. albicans*. La levadura fue cultivada por 48 hr. Se ajustó a la DO_{600} a 0.2 (9.2×10^7 /ml), y se adicionó el tratamiento con el compuesto **24** (1, 10, 50, 100 y 150 μ g/ml) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad de la levadura se determinó mediante cinéticas de crecimiento (**a**) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (**b**). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (PDY+ *C. albicans*) en el tiempo correspondiente.

El compuesto **26** (figura 47 **a** y **b**) inhibió el crecimiento de *C. albicans* en las concentraciones 1 y 10 μ g/ml evaluadas en el tiempo de 24 horas pico máximo de crecimiento, de manera significativa con respecto al control (PDY+ *C. albicans*), por lo que se ve afectada la viabilidad de la levadura, observando que altas concentraciones no hay efecto.

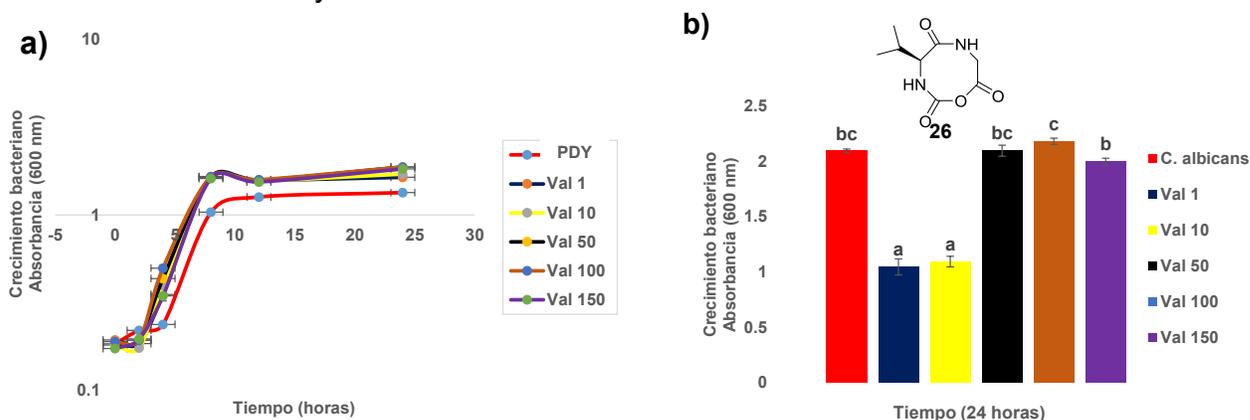
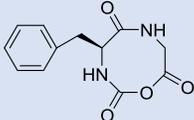
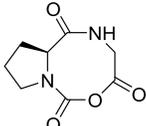
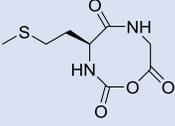
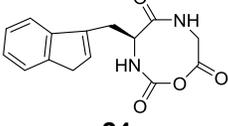
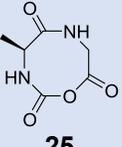
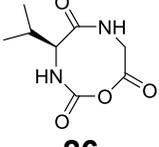


Figura 47. Efecto del compuesto 26 sobre la viabilidad de *C. albicans*. La levadura fue cultivada por 48 hr. Se ajustó a la DO_{600} a 0.2 (9.2×10^7 /ml), y se adicionó el tratamiento con el compuesto **26** (1, 10, 50, 100 y 150 μ g/ml) durante 2, 4, 8, 12 y 24 h. La viabilidad de la levadura se determinó mediante cinéticas de crecimiento (**a**) y el ensayo de reducción metabólica del MTT (**b**). Los resultados correspondieron al promedio de 1 experimentos por duplicado. $P \leq 0.05$. La significancia se estableció respecto al tratamiento con el control (PDY+ *C. albicans*) en el tiempo correspondiente.



Los ensayos de los compuestos **21**, **22**, **23**, **24,25** y **26** se observa un efecto importante sobre la viabilidad de *E. coli*, *C. albicans* y *S. aureus* que se determinó mediante la lectura de absorbancia en cinéticas de crecimiento, en ensayos de reducción metabólica del MTT, los resultados se ven resumidos en la siguiente tabla 6.

Tabla 6. Efecto de N-Carboxianhídridos sobre *E. coli*, *C. albicans* y *S. aureus*

Compuesto	<i>E. coli</i> 011	<i>S. aureus</i> ATTC 27543	<i>C. albicans</i>
 <p>21</p>	Efecto [] 1 µg/ml	No efecto	Efecto [] 1, 10 y 50 µg/ml
 <p>22</p>	Efecto [] 150 µg/ml	Efecto [] 150 µg/ml	Efecto [] 150 µg/ml
 <p>23</p>	Efecto [] 1 µg/ml	No efecto	Efecto [] 100 µg/ml
 <p>24</p>	Efecto [] 100 µg/ml	Efecto [] 1,10 y 50 µg/ml	Inductor de crecimiento
 <p>25</p>	Efecto [] 150 µg/ml	Efecto [] 1 y 10 µg/ml	Inductor de crecimiento
 <p>26</p>	Efecto [] 1 µg/ml	Efecto [] 100 µg/ml	Efecto [] 1 y 10 µg/ml

[]= concentración de efecto sobre la viabilidad



Como se puede apreciarse en la tabla 6 los *N*-Carboxianhídridos tuvieron efecto importante sobre la viabilidad de dichos microorganismos. Donde todos los compuestos sobre *E. coli* 011 tuvieron efecto importante sobre su viabilidad a diferentes concentraciones; tal es caso de **21**, **23** y **26** que muestra que a concentraciones bajas en 1 µg/ml se observa el efecto, mientras que **25**, **24** y **22** en altas concentraciones entre el rango de 100 y 150 µg/ml.

Sobre *S. aureus* ATTC 27543 los compuestos **21** y **23** no tuvieron efecto en ninguna de las concentraciones probadas con respecto al control; mientras el resto si presentaron efecto importante.

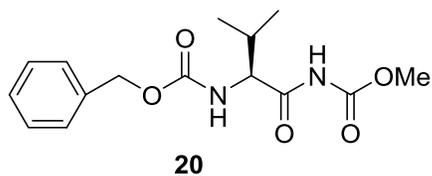
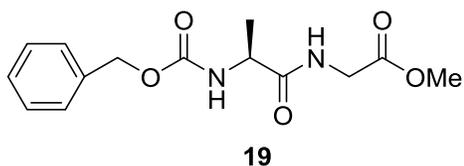
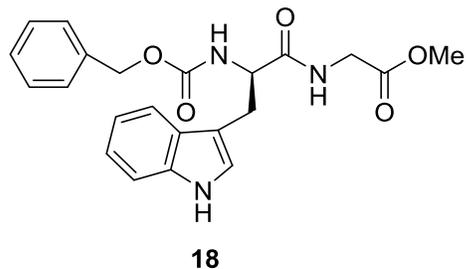
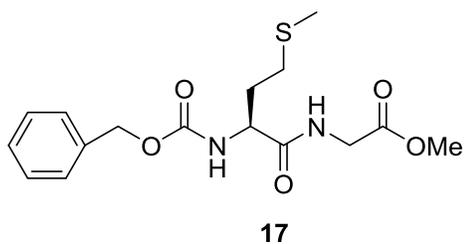
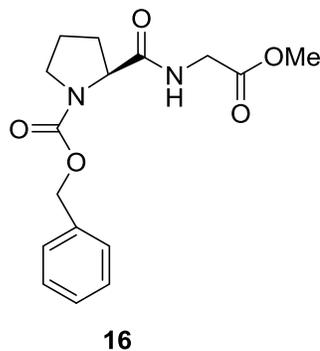
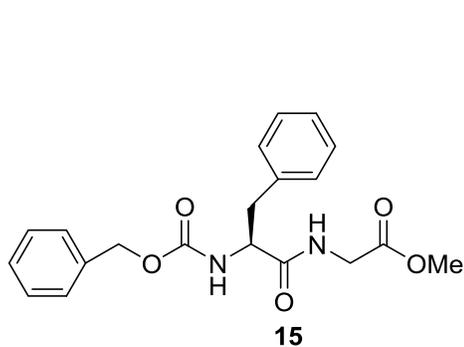
En *C. albicans* los compuestos **24** y **25** se observa un efecto inductor de crecimiento sobre la levadura con respecto al control, el cual es un efecto importante desde un punto de vista biológico, ya que el ciclo de crecimiento de los hongos es lento por lo que estos ciclos estén actuando sobre un receptor e induzca el crecimiento.

En contexto estos compuestos despiertan un interés importante a nivel biológico como antimicrobianos sobre estos agentes biológicos.



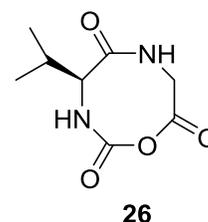
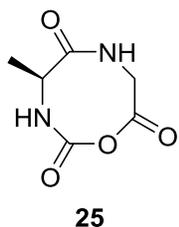
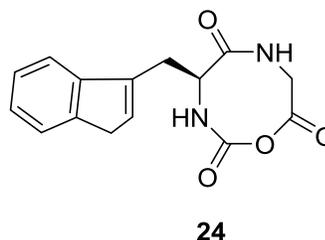
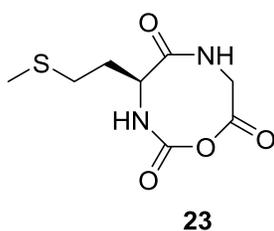
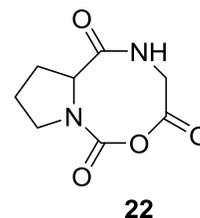
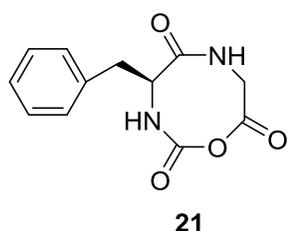
6.-CONCLUSIONES

La reacción de acoplamiento intramolecular a partir de los *N*-aminoácidos protegidos **7,8,9,10,11** y **12**, con el amino éster **14** condujo a la formación de los dipéptidos protegidos **15,16,17,18,19** y **20**. Los dipéptidos protegidos fueron elucidados mediante técnicas de espectroscopia de RMN ^1H y C^{13} , IR, y espectrometría de masas.





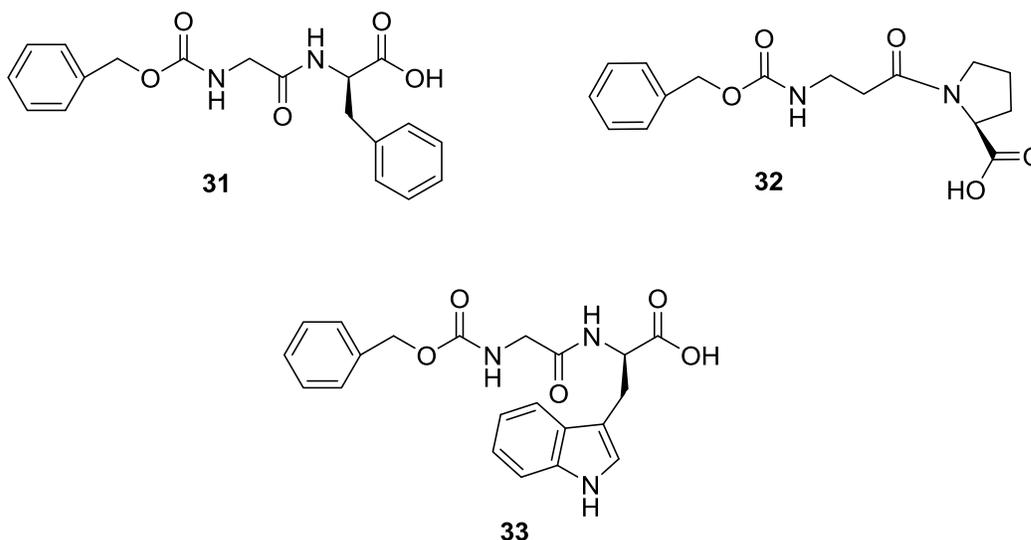
La radiación de MO favoreció la síntesis en cascada de *N*-Carboxianhídridos a partir de la reacción de desprotección-ciclación del *N*-Cbz-(*S*)-dipeptidil-metil ester **21**, **22**, **23**, **24**, **25** y **26** en medio básico y agua. La reacción procedió en un tiempo de 12 minutos y en rendimientos por encima del 90 %. Los *N*-Carboxianhídridos fueron elucidados mediante técnicas de espectroscopia de RMN ^1H y ^{13}C , IR, y espectrometría de masas. La influencia de la radiación de MO en la reacción promueve la formación de los *N*-carboxianhídridos de forma rápida, bajo condiciones suaves, altamente eficiente y amigable con el ambiente.



Las fuentes de energía como la solar y la luz ultravioleta favorecieron la ciclación del compuesto **15**, sin embargo la reacción procedió con tiempos más prologados en comparación de las MO, y se promueve la formación preferentemente del compuesto hidrolizado **27**. Cabe mencionarse que las MO mostraron ser la mejor fuente de energía para ciclación en tiempos, rendimiento y pureza de la reacción.



La evaluación de influencia glicina terminal de los dipéptidos **28,29** y **30** fue importante ya que al intercambiar los fragmentos de posición no se logra la ciclación al someterlos a condiciones de MO, obteniendo los compuestos hidrolizados **31,32** y **33**.



En contexto con la finalidad de explicar el por qué no se promueve la ciclación al intercambiar los fragmentos, se realizó cálculos computacionales obteniendo el confórmero de mínima energía y la optimización de geometría del compuesto **34** donde se pudo observar que existe impedimento estérico lo que evita el acercamiento de los grupos reactivos y por consecuencia no se promueve la ciclación. Mientras que cuando se tiene la glicina terminal se observó que están disponibles los sitios reacción sin impedimento estérico para promover la ciclación.

Los ensayos de las pruebas biológicas de los *N*-carboxianhídridos se observa un efecto importante sobre la viabilidad de *E. coli*, *C. albicans* y *S. aureus* mostrando que los heterociclos **21**, **22**, **23**, **24**, **25** y **26** tuvieron un efecto importante sobre la viabilidad *E. coli* 011 a diferentes concentraciones con respecto al control. Con respecto a *S. aureus* los heterocíclos **21** y **23** no tuvieron un efecto significativo de inhibición. Por otro lado los heterocíclos **24** y **25** tuvieron efecto de inductor del crecimiento con respecto al control sobre *Cándida albicans*. Cabe destacarse que los heterocíclos **23** y **26** fueron los mejores teniendo efecto sobre los tres microorganismos.



7.- PARTE EXPERIMENTAL

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 F₂₅₄ 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 (¹H, ¹³C, HETCOR, COSY y DEPT) se realizaron en equipos Varian Mercury Plus 400. Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de

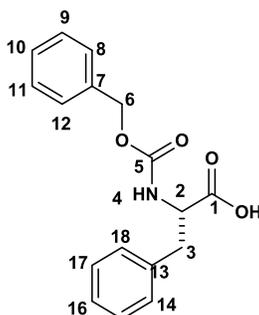


acoplamiento (J) se describen en Hertz (Hz), utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los disolventes deuterados utilizados para la obtención de los espectros fueron cloroformo (CDCl_3) y metanol (CD_3OD).

7.2 Procedimiento general de la N -protección de α -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 mezcla 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 extrajo con DCM (2X50 mL), la fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro para eliminar humedad, se filtró por gravedad y se concentró a presión reducida en rotavapor. El producto de reacción se purificó mediante cristalización, utilizando mezclas de disolventes.

7.2.1 Cbz- N -L-Fenilalanina (7)



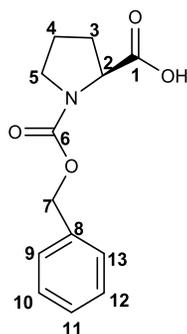
Siguiendo el procedimiento general para la N -protección de aminoácidos, se mezclaron 1 g (11.0mmol) de L -Fen 40 mL de NaOH 1 N y 0.95 mL (7 mol) de CbzCl. Se obtuvieron 1.701g del producto como un sólido blanco de punto de fusión de 100°C y con un rendimiento del 89%.



^1H 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, $J = 6.0, 13.6\text{Hz}$, 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).

7.2.2 Cbz-*N*-L-Prolina (8)



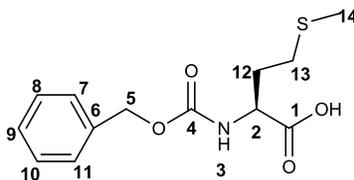
Seguendo el procedimiento general para la *N*-protección de aminoácidos, se mezclaron 1 g (8.68 mmol) de *L*-Prolina, 40 mL de NaOH 1 N y 1.36 mL (10.89 mmol) de CbzCl. Se obtuvieron 1.83g del producto como una miel blanca, con un rendimiento del 85%.

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8.83 (s, 1H, OH), 7.47-7.17 (m, 5H, H's 9-13), 5.32-5.02 (m, 2H, H-5), 4.51-4.22 (m, 1H, H-2), 3.85-3.25 (m, 2H, H-5), 2.35-2.08 (m, 2H, H-5), 2.05-1.74 (m, 2H, H.3).

^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ 177.98 (C-1), 155.57 (C-6), 136.22 (C-7), 128.54, 128.11, 127.68 (C's 13-9), 67.39 (C-7), 59.23 (C-2), 46.44 (C-5), 29.45 (C-4), 29.22 (C-3).



7.2.3 Cbz-*N*-*L*-Metionina (9)

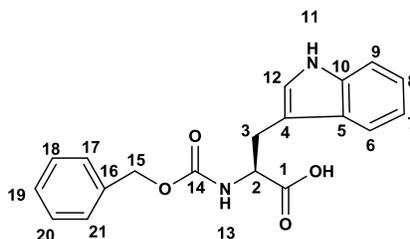


Siguiendo el procedimiento general para la *N*-protección de aminoácidos, se mezclaron 1 g (6.70 mmol) de *L*-Metionina, 40 mL de NaOH 1 N y 1.055 mL (7.5 mmol) de CbzCl. Se obtuvieron 1.380g del producto como una miel blanca, con un rendimiento del 73%.

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7.44 (m, 5H, H's 7-11), 5.77 (d, *J*= 8.11 Hz, H-3), 5.22 (dd *J*= 12.5, 12.3 Hz, H-5), 2.61 (t, *J*= 7.0 Hz, H-13), 2.12 (m, 2H, H-12), 2.8 (s, 1H, H-14).

¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 178.46 (C-1), 156.31 (C-4), 135.92 (C-6), 128.54, 128.30, 128.11 (C7-11), 67.49 (C-5), 53.15 (C-2), 31.63 (C-14), 29.61 (C-13), 15.2 (C-12).

7.2.4 Cbz-*N*-*L*-Tryptófano (10)



Siguiendo el procedimiento general para la *N*-protección de aminoácidos, se mezclaron 1 g (5.0mmol) 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.

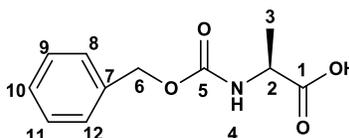
¹H RMN.(CDCl₃, 200 MHz) δ 8.11 (s, 1H, H-11), 7.59 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-9), 7.45 (d, *J* = 7.87 Hz, 1H, H-6), 7.23-7.33 (m, 6H, H's-17-21 y H-12), 7.10-7.04 (m, 2H, H-



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).

7.2.5 Cbz-*N*-L-Alanina (11)

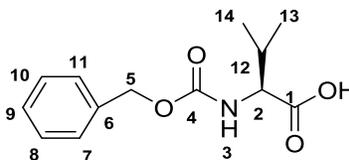


Siguiendo el procedimiento general para la *N*-protección de aminoácidos, se mezclaron 1 g (11.2 mmol) de *L*-alanina, 40 mL de NaOH 1 N y 1.77 mL (12.0 mmol) de CbzCl. Se obtuvieron 1.320 g del producto como un sólido blanco, con un rendimiento del 92%. Punto de fusión 66°C .

^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 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) δ 181.4 (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).

7.2.6 Cbz-*N*-L-Valina (12)



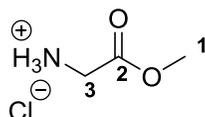
Siguiendo el procedimiento general para la *N*-protección de aminoácidos, se mezclaron 1 g (8.53 mmol) de *L*-Valina, 40 mL de NaOH 1 N y 1.34 mL (9.5 mmol) de CbzCl. Se obtuvieron 1.560g del producto como una miel, con un rendimiento del 73%.



^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7.35-7.10 (*m*, 5H, H's 11-7), 5.4 (*d*, $J= 9.0$ Hz, 1H, H-3), 5.21 (*m*, 2H, H-5), 4.35 (*dd*, $J= 9.0, 4.5$ Hz, 1H, H-2), 2.22 (*m*, 1H, H-12), 0.99 (*d*, $J= 6.8$ Hz, 3H, H-13), 0.91 (*d*, $J= 6.9$ Hz, 3H, H-14)

^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ 177.06 (C-4), 155.92 (C-6), 128.47, 128.17, 128.08 (C's 7-11), 67.60 (C-5), 59.61 (C-2), 31.02 (C-12), 18.58 (C-13), 17.17 (C-14).

7.3 Clorhidrato de α -aminoacetato de metilo (14)



En un matraz balón provisto de agitación magnética y en baño de hielo, se adicionó 1 g (13 mmol) 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.

^1H RMN (CD_3OD , 200 MHz) δ 3.82 (*s*, 2H, H-2), 3.81 (*s*, 3H, H-1).

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

7.4 Procedimiento general para el acoplamiento de aminoácidos

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 colocaron 1.1 equivalentes del

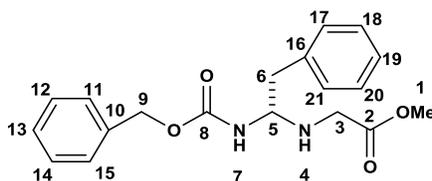


aminoácido *N*-protegido disuelto en THF a una concentración 0.2 M. La solución se enfrió a -10°C (baño de hielo húmedo y cloruro de sodio). Una vez enfriada la solución se adicionaron 1.1 equivalentes de NMM y se dejó en agitación por un periodo de 5 minutos. Transcurrido el tiempo, se adicionaron lentamente 1.05 equivalentes de clorofornato de isobutilo (*i*-BBO) 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 resultante 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 (2X20mL), solución saturada de NaHCO_3 (2X20mL), H_2O (2X20mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro 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-Phe -Gli-OMe (15)



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 l (3.0 mmol) de *i*-BBO disueltos en 2 mL de THF anhidro, seguido de la adición de la mezcla formada por 0.285 g (3.0 mmol) del éster metílico de la Gli, 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



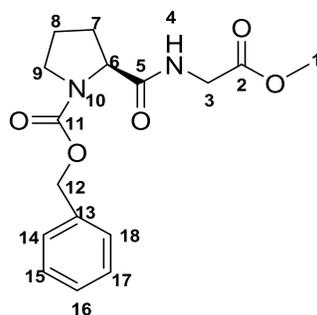
rendimiento) del compuesto como un sólido blanco de punto de fusión de 101 °C. Los cuales los datos espectroscópicos correspondieron a los reportados en la literatura.³⁸

IR (KBr, cm⁻¹) (%T): 3296.3 (N-H), $\nu_{\text{CO-OR}}=1743.73$, $\nu_{\text{CO-NH}_2}= 1691.51$, $\nu_{\text{O-CO-NH}}= 1647.53$, $\nu_{\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2\text{Ar}} = 1540.36, 1450.49$

EM m/z (70 eV) = 370 [M-1]₊

[α]_D = -17.89 (c=10, MeOH)

7.4.2 Cbz-N-L-Pro-Gli-OMe (16)



De acuerdo con el procedimiento general de acoplamiento, 0.500g (2.14 mmol) de Cbz-N-L-Val fueron tratados con 0.26 mL de NMM (2.24 mmol) en 14 mL de THF y 0.31 mL (2.4 mmol) de *i*-BtCl disueltos en 2 mL de THF anhidro, seguido de la adición de la mezcla formada por 0.269 g (2.14 mmol) del éster metílico de la Gli , 0.3 mL (2.57 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 0.530g (85 % de rendimiento) del compuesto como una miel blanca.

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7.34 (m ancha, 5H, H's 14-18), 6.56 (s ancha, 1H, H-4), 5.12 (m ancha, 2H, H-3), 3.72 (s ancha, 3H, H-1), 3.51 (m ancha, 2H, H-9), 2.15 (m ancha, 2H, H-7) 1.93 (m ancha, 2H, H-8).



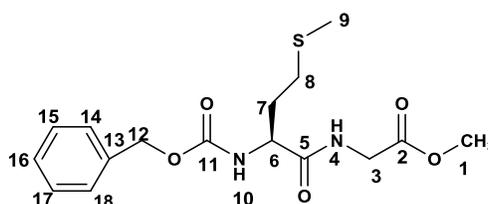
^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ 172.41 (C-2), 170.045 (C-5), 156.01 (C-11), 136 (C-13), 128.37, 127.96, 127.78 (C's 14-18), 67.96 (C-12), 60.66 (C-3), 52.14 (C-1), 46.92 (C-9) 41.04 (C-8), 30.97 (C-7).

IR (KBr, cm^{-1}) (%T): ν_{NH} = 3329.53, $\nu_{\text{Ar-H}}$ = 2973.24, $\nu_{\text{CO-OR}}$ =1754.32 (74%), $\nu_{\text{CO-NH}_2}$ = 1697.01, $\nu_{\text{CO-NH}}$ = 1669.43, $\nu_{\text{H}_2\text{C=CH}_2}$ Ar = 1534.86, 1416.49

$[\alpha]_D = -77.78$

EM m/z (70 eV) = 320 $[\text{M}]^+$ (c=10, MeOH)

7.4.3 Cbz-N-L-Met-Gli-OMe (17)



De acuerdo con el procedimiento general de acoplamiento, 0.300 g (1.50 mmol) de Cbz-N-L-Met fueron tratados con 0.181 mL de NMM (1.65 mmol) en 14 mL de THF y 0.218 (1.68 mmol) de *i*-BbCl disueltos en 2 mL de THF anhidro, seguido de la adición de la mezcla formada por 0.3147 g (1.50 mmol) del éster metílico de Gli, 0.198 mL (1.80 mmol) de NMM, 6.61 mL de THF y 2 mL de DMSO. Después de la purificación por recristalización en una mezcla DCM/hexano se aislaron 0.352 g (92 % de rendimiento) del compuesto como un sólido blanco de punto de fusión 91-92°C.

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7.42-7.35 (m, 5H, H's 14-18), 6.92 (s, 1H, H-4), 5.74 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H-10), 5.11 (dd, J =17.2, 12.1 Hz, 2H, H-12), 4.50 (dd J = 14.1, 7.1 Hz 1H, H-6), 4.01 (dd, J = 15.5, 7.4 Hz, 1H, H-3), 3.73 (s, 1H, H-1), 2.59 (t, J =7.2 Hz, 2H, H-8), 2.19-1.90 (m, 2H, H-7), 2.10 (s, 1H, H-9).



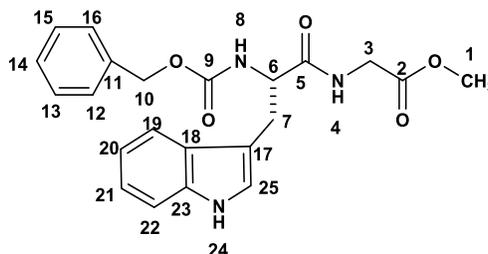
^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ 1771.57 (C-2), 170.25 (C-5), 156.39 (C-11), 136.04 (C-13), 128.48, 128.17, 127.99 (C's 14-18), 67.24 (C-12), 53.66 (C-6), 52.56 (C-1), 41.18 (C-3), 31.66 (C-7), 29.86 (C-8), 15.18 (C-9).

IR (KBr, cm^{-1}) (%T): ν_{NH} = 3287.5, $\nu_{\text{NAr-H}}$ = 3035.18, $\nu_{\text{CO-OR}}$ =1758.73, $\nu_{\text{CO-NH}_2}$ = 1743.51, $\nu_{\text{O-CO-NH}}$ = 1648.53, $\nu_{\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2\text{Ar}}$ = 1537.36, 1440.49.

$[\alpha]_D$ = -27.34 ($c=10$, MeOH)

EM m/z (70 eV) = 354 $[\text{M}]^+$

7.4.4 Cbz-*N-L*-Trp-Gli-OMe (18)



De acuerdo con el procedimiento general de acoplamiento, 1.192 g (3.50 mmol) de Cbz-*N-L*-triptófano 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*-BtCl disueltos en 2 mL de THF anhidro, seguido de la adición de la mezcla formada por 0.400 g (3.50 mmol) del éster metílico de la glicina, 0.4 mL (3.8 mmol) de NMM, 9.28 mL de THF y 2 mL de DMSO. Después de la purificación por recristalización con mezcla DCM/hexano se aislaron 1.177g (82% de rendimiento) del compuesto como un sólido color amarillo ocre de punto de fusión de 140-142°C. Los datos espectroscópicos coincidieron con los reportados en la literatura.

^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7.59 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H-19), 7.35 -7.24 (m, 5H, H-12-16, H-22), 7.10-7.04 (m, 2H, H-24, H-21), 6.98 (dd, J = 7.1 Hz, 1H, H-20), 5.01 (2d, J =6.5 Hz, 2H, H-10), 4.46 (dd, J = 8.7, 5.0 Hz, 1H, H-6), 3.82 (s, 3H, H-1) 3.75 (dd, J = 4.16, 14.9 Hz, 2H, H-3), 3.34 (dd, J = 14.7, 5.0 Hz, 1H, H-7a), 3.08 (dd, J = 14.6, 8.8 Hz, 1H, H-7b).



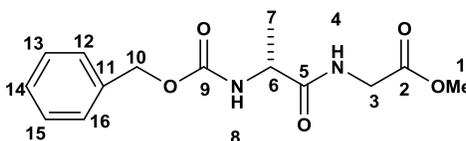
^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ 175.4 (C-2), 174.1 (C-5), 158.3 (C-9), 138.0 (C-11), 137.9 (C-23), 129.4, 128.8, 128.6 (C's 12-16), 128.1 (C-18), 124.5 (C-25), 122.2 (C-21), 119.7 (C-19), 119.3 (C-20), 112.2 (C-22), 111.1 (C-17), 67.5 (C-10), 58.9 (C-1), 57.4 (C-6), 44.1 (C-3), 29.0 (C-7).

EM m/z (70 eV) = 408 [M-1] +

IR (KBr, cm^{-1}) (%T): ν_{NH} = 3395.49, $\nu_{\text{CO-OR}}$ = 1751.96, $\nu_{\text{CO-NH}_2}$ = 1686.93, $\nu_{\text{O-CO-NH}}$ = 1650.29, $\nu_{\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2\text{Ar}}$ = 1538.88, 1499.49.

$[\alpha]_D = -21.11$ (c=10, MeOH)

7.4.5 Cbz-N-L-Ala-Gli-OMe (19)



De acuerdo con el procedimiento general de acoplamiento, 0.440g (1.98 mmol) de Cbz-N-L-Alanina fueron tratados con 0.92 mL de NMM (3.0mmol) en 14 mL de THF y 0.4 ml (3.1mmol) de *i*-BBCl disueltos en 2 mL de THF anhidro, seguido de la adición de la mezcla formada por 0.250 g (1.98 mmol) del éster metílico de Gli, 0.2 mL (2.3 mmol) de NMM, 5.8 mL de THF y 2mL de DMSO. Después de la purificación por recristalización con mezcla DCM/hexano se obtuvo 0.310 g (79 % de rendimiento) del compuesto como un sólido blanco. Punto de fusión 79-80 °C

^1H RMN (CDCl_3 200 MHz) δ 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) δ 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).

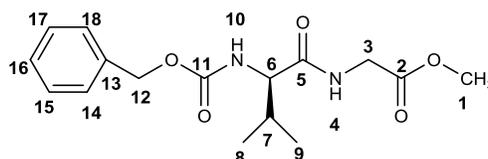


IR (KBr, cm^{-1}) (%T): $\nu_{\text{NH}} = 3285.55$, $\nu_{\text{CO-OR}} = 1735.49$, $\nu_{\text{CO-NH}_2} = 1687.93$, $\nu_{\text{O-CO-NH}} = 1652.29$

EM m/z (70 eV) = 294 [M]⁺

[α]_D = -27.28 (c=10, MeOH)

7.4.6 Cbz-*N-L*-Val-Gli-OMe (20)



De acuerdo con el procedimiento general de acoplamiento, 0.500g (2.089 mmol) de Cbz-*N-L*-Val fueron tratados con 0.25 mL de NMM (1.65 mmol) en 14 mL de THF y 0.30 mL (2.34 mmol) de *i*-BBCL disueltos en 2 mL de THF anhídrido, seguido de la adición de la mezcla formada por 0.262 g (1.50 mmol) del éster metílico de Gli (14), 0.275 mL (2.08 mmol) de NMM, 6.61 mL de THF y 2 mL de DMSO. Después de la purificación por recristalización en una mezcla DCM/hexano se aislaron 0.586g (87 % de rendimiento) del compuesto como un sólido blanco de punto de fusión 85-87 °C.

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7.41-7.28 (m, 5H, H's 14-18), 6.75 (s, 1H, H-4), 5.53 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, H-10), 5.09 (dd, $J = 12.2, 6.1$ Hz, 2H, H-12), 4.21-3.89 (2 dd $J = 13.0, 5.1$ Hz, 2H, H-6), 3.74 (s, 1H, H-1), 2.15 (dq, $J = 13.1, 6.5$ Hz, 1H, H-7), 0.98 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-8), 0.94 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, H-9).

¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 171.65 (C-2), 170.07 (C-5), 156.44 (C-11), 136.12 (C-13), 128.49, 128.15, 127.98 (C 14-18), 67.044 (C-12), 60.21 (C-3), 52.32 (C-1), 41.02 (C-6), 31.02 (C-6), 19.13 (C-8), 17.69 (C-19).

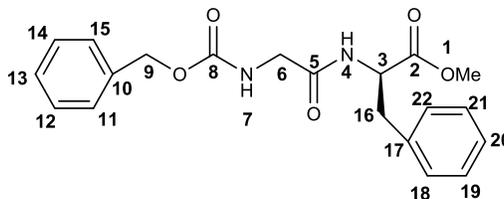
IR (KBr, cm^{-1}) (%T): $\nu_{\text{NH}} = 3390.5$, $\nu_{\text{CO-OR}} = 1760.32$, $\nu_{\text{CO-NH}_2} = 1734.23$, $\nu_{\text{O-CO-NH}} = 1631.43$.

[α]_D = -19.23 (c=10, MeOH)



EM m/z (70 eV) = 322 [M]⁺

7.4.7 Cbz-*N*-L-Gli-Fen-OMe (28)



De acuerdo con el procedimiento general de acoplamiento, 0.300g (1.43 mmol) de Cbz-*N*-L-Gli fueron tratados con 0.17 mL de NMM (1.57 mmol) en 14 mL de THF y 0.20 mL (1.60 mmol) de *i*-BBCl disueltos en 2 mL de THF anhidro, seguido de la adición de la mezcla formada por 0.308 g (1.43 mmol) del éster metílico de la Fen 0.181 mL (1.72 mmol) de NMM, 6.61 mL de THF y 2 mL de DMSO. Después de la purificación por columna en un sistema 1:1 Hexano-Acetato se obtuvo una miel transparente en un rendimiento del 81%.

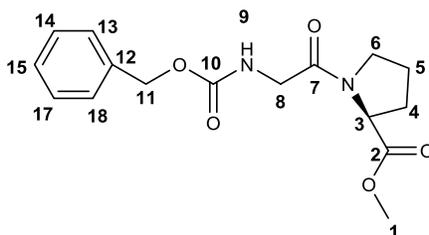
¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7.39-7.21 (m, 10H, H's 11-15 y 18-22), 6.57 (d, *J*=7.4 Hz, 1H, H-7), 5.48 (s, 1H, H-4), 5.11 (s, 2H, H-9), 4.88 (dd *J*= 5.9, 7.8 Hz, H-3), 3.95-3.74 (m, 1H, H-6), 3.71 (s, 1H, H-1), 3.18-2.97 (m, 2H, H-16).

¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 171.60 (C-1), 168.59 (C-5), 156.55 (C-8), 136.56 (C-17), 135.44 (C-10), 129.18, 128.56, 128.51, 128.19, 128.06, 127.16, (C's 11-15 y 18-22), 67.30 (C-9), 53.01 (C-3), 52.42 (C-11), 44.53 (C-6), 37.92 (C-16).

EM m/z (70 eV) = 370 [M-1]⁺



7.4.8 Cbz-*N*-*L*-Gli-Pro-OMe (29)



De acuerdo con el procedimiento general de acoplamiento, 0.250g (1.19 mmol) de Cbz-*N*-*L*-Gli fueron tratados con 0.135 mL de NMM (1.31 mmol) en 14 mL de THF y 0.20 mL (1.60 mmol) de *i*-BBCL disueltos en 2 mL de THF anhidro, seguido de la adición de la mezcla formada por 0.155 g (1.19 mmol) del éster metílico de la Pro, 0.157 mL (1.43mmol) de NMM, 6.61 mL de THF y 2 mL de DMSO. Después de la purificación por columna en un sistema 1:1 Hexano-AcOEt se obtuvo una miel transparente en un rendimiento del 79%.

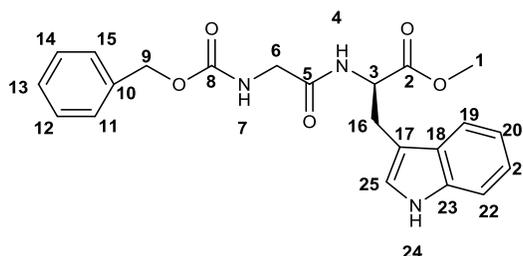
¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7.43–7.22 (m, 5H, H's 13-18), 5.74 (s, 1H, H-9), 5.13 (d, *J* = 12.5 Hz, 2H, H-11), 4.52 (dd, *J* = 8.6, 3.4 Hz, 1H, H-3), 4.03 (dd, *J* = 14.8, 8.4 Hz, 1H, H-8), 3.73 (s, 1H, H-1), 3.71–3.24 (m, 2H, H-6), 2.26 – 2.12 (m, 1H, H-2), 2.12 – 1.94 (m, 2H, H-5).

¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 172.35 (C-1), 166.89 (C-7), 156.38 (C-10), 136.59 (C-12), 128.37, 127.95, 127.89 (C's 13-18), 66.94 (C-11), 59.02 (C-13), 52.15 (C-1), 45.51 (C-6), 43.10 (C-4), 29.13 (C-4), 24.49 (C-5).

EM m/z (70 eV) = 320 [M]⁺



7.4.9 Cbz-*N*-*L*-Gli-Tip-OMe (30)



De acuerdo con el procedimiento general de acoplamiento, 0.200g (0.956 mmol) de Cbz-*N*-*L*-Gli fueron tratados con 0.44 mL de NMM (1.31 mmol) en 14 mL de THF y 0.20 mL (1.60 mmol) de *i*-BBrCl disueltos en 2 mL de THF anhidro, seguido de la adición de la mezcla formada por 0.242 g (0.956 mmol) del éster metílico de la Trip, 0.12 mL (1.33 mmol) de NMM, 6.61 mL de THF y 2 mL de DMSO. Después de la purificación por columna en un sistema 1:1 Hexano-AcOEt se obtuvo una miel transparente en un rendimiento del 71%.

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7.49 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-19), .35-7.34 (m, 5H, H-11-15, H-22), 7.10-7.04 ppm (m, 2H, H-24, H-21), 6.98 (dd, *J* = 7.1 Hz, 1H, H-20), 6.60 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H, H-4), 5.42 (s, 1H, H-7), 5.07 (2d, *J* = 12.5 Hz, 2H, H-9), 4.94 – 4.86 (m, 1H, H-3), 3.81 (m, 2H, H-6), 3.66 (s, 3H, H-1), 3.29 (d, *J* = 4.9 Hz, 3H, H-16).

¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 172.37, 170.01, 156.9 (C-2, C-6, C-8), 136.08 (C-23), 128.62, 122.20, 128.19 (C-11-15), 127.39 (C-18), 123.14 (C-25), 122.20 (C-21), 119.56 (C-20), 118.32 (C-22), 67.15 (C-9), 52.67 (C-3), 52.52 (C-6), 27.34 (C-16).

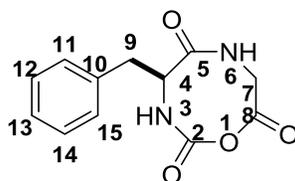
EM m/z (70 eV) = 408 [M-1]⁺



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

En un matraz para microondas provisto de agitación magnética se pesó un equivalente de *N*-Cbz- α -dipéptido y se disolvió en una mezcla de THF/H₂O (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. Posteriormente se extrajo con AcOEt, se lavó con H₂O, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se evaporó en el rotavapor a presión reducida.

7.5.1 (S)-4-bencil-1-oxa-3,6-diazocan-2,5,8-triona (21)



Siguiendo el procedimiento general para la desprotección-ciclación promovida por MO, se sometieron a reacción 0.118 g (0.34mmol) del dipéptido **15** disueltos en 6 mL de THF/H₂O, con 0.043 g (1.03 mmol) de LiOH. Se obtuvieron 0.105 g del compuesto en un sólido blanco, con un punto de fusión de 110-111 °C y con un rendimiento del 91%.

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) 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-4), 3.69 (s, 2H, H-7), 3.27 (dd, J = 14.5, 5.0 Hz 1H, H-9a), 3.16 (dd J = 14.5, 6.7 Hz, 1H, H-9b).

¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 178.61 (C-5) 176.63 (C-8), 160.29 (C-2), 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-4), 44.50 (C-7), 29.44 (C-9).

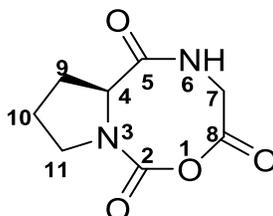
EM m/z (70 eV) = 285 (M-2H)⁺, 228, 185, 171, 91.06.



IR (KBr, cm^{-1}) (%T): $\nu_{\text{NH}} = 3400.48$, $\nu_{\text{CO-NH}} = 1620.82$

$[\alpha]_{\text{D}} = +18.213$ (c=10, MeOH)

7.5.2 (S)-4-Azolidin-1-oxa-6-diazocan-2,5, 8-triona (22)



Siguiendo el procedimiento general para la desprotección-ciclación promovido por MO, se sometió a reacción 0.100 g (0,32 mmol) de **16** en 4 mL de THF/H₂O, con 0,041 g (0.98 mmol) de LiOH. Posteriormente se evaporó el disolvente de la mezcla de reacción y el producto fue purificado por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de CH₂Cl₂/MeOH (8:2). Se obtuvieron 0.071 g del compuesto en forma de cristales blancos con un punto de fusión de 98-99 °C y con un rendimiento del 90 %.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 5.02 (s, 1H, H-6), 4.45 (dd, $J = 8.2, 3.0$ Hz, 1H, H-4), 4.11 (dd, $J = 18.3, 5.6$ Hz, 1H, H-7), 3.92 (dd, $J = 18.3, 4.8$ Hz, 1H, H-7), 3.5 (m, 1H, H-11), 3.4 (m, 1H, H-11), 2.27-2.11 (m, 2H, H-9), 2.06-1.98 (m, 2H, H-10).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 173.67 (C-5), 171.38 (C-2), 155.90 (C-8), 59.26 (C-4), 45.74 (C-11), 42.49 (C-7), 29.68 (C-9), 24.59 (C-10).

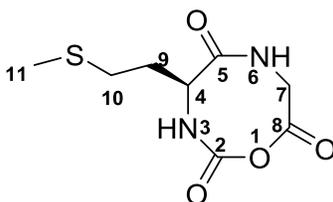
EM m/z (70 eV) = 191.1 [M+1]⁺, 185.11, 128.08, 70.06.

IR (KBr, cm^{-1}) (%T): $\nu_{\text{NH}} = 3464.20$, $\nu_{\text{CO-OR}} = 1746.43$, $\nu_{\text{CO-NH}_2} = 1631.63$, $\nu_{\text{O-CO-NH}} = 1540.92$

$[\alpha]_{\text{D}} = +38.29$ (c=10, MeOH)



7.5.3 (S)-4-(tiol)- 1-oxa-6-diazocan-2, 5,8-triona (23)



Siguiendo el procedimiento general para la desprotección-ciclación fueron sometidos a la reacción 0.100 g (0.028mmol) de **17** disuelto en 6 mL de THF/H₂O, con 0.034g (0.84 mmol) de LiOH. La mezcla resultante fue sometida a MO. Se obtuvieron 0,105 g del compuesto en sólido, con un punto de fusión de 169-170°C y con un rendimiento del 90%.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 6.54 (d *J*= 8.2 Hz , 1H , H-), 6.25 (t, *J*= 5.7 Hz, 1H, H-), 4.19 (td *J*= 8.3,4.7 Hz, 1H, H-4), 3.70 (d, *J*= 5.7 Hz, 2H, H-7), 2.46 (t, *J*= 7.5 Hz, 2H, H-10), 2.09 (s, 3H, H-11), 1.97-1.86 (m, 1H, H-9a), 1.77-1.69 (m, 1H , H-9b).

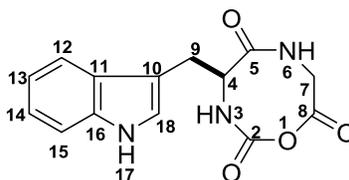
¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 174.33 (C-5), 172.436 (C-8) ,157.80 (C-2), 52.06 (C-11), 41.98 (C-4), 32.15 (C-7), 29.67 (C-10) 14.77 (C-9).

EM m/z (70 eV) = 232[M]⁺, 223.18, 108.09, 79.09,77.04.

IR (KBr, cm⁻¹) (%T): νNH =3379.00, ν -CO-NH = 1675.02.

[α]_D = +2.208 (c=10, MeOH)

7.5.4 (S)-4-metilen-indolin-1-oxa-3, 6-diazocan-2,5,8-triona (24)



Siguiendo el procedimiento general para la desprotección-ciclación se sometieron a reacción 0.100 g (1.21mmol) de **18** disueltos en 6 mL de THF/H₂O, con 0.030 g (0.73 mmol) de LiOH. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en



columna empleando gel de sílice, con una mezcla 97:3:0.5 DCM/MeOH/NH₄OH como eluente, obteniéndose 0.030g de un sólido café con un rendimiento del 63 % y un punto de fusión de 180-181 °C.

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) 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-4), 3.69 (s, 2H, H-7), 3.27 (dd, *J* = 14.5, 5.0 Hz 1H, H-9a), 3.16 (dd *J* = 14.5, 6.7 Hz, 1H, H-9b).

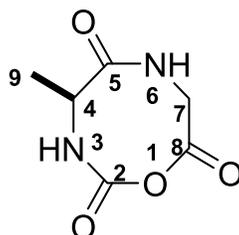
¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 178.61 (C-5) 176.63 (C-8), 160.29 (C-2), 137.87 (C-16), 129.26 (C-11), 124.49 (C-18), 122.08 (C-14), 119.67 (C-12), 119.55 (C-13), 111.96 (C-15), 111.56 (C-10), 56.51(C-4), 44.50 (C-7), 29.44 (C-9).

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

IR (KBr, cm⁻¹) (%T): ν_{NH} = 3400.48, ν_{CO-NH} = 1620.82

[α]_D = +18.21 (c=10, MeOH)

7.5.5 (S)-4-metil-1-oxa-3,6-diazocan-2,5,8-triona (25)



Siguiendo el procedimiento general para la desprotección-ciclación se sometieron a reacción 0.100 g (0.035 mmol) **19** disueltos en 6 mL de THF/H₂O, con 0.044g (1.062 mmol) de LiOH. 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 CH₂Cl₂/MeOH (95:5). Se obtuvieron 0.055 g del compuesto en forma de un sólido blanco, con un punto de descomposición 239 °C y con un rendimiento del 96 %.



¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 6.47 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H-3), 6.24 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H, H-6), 4.06 (m, 1H, H-4), 3.68 (2dd, *J* = 6.0, 18.1 Hz, 2H, H-7), 1.21 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H, H-9).

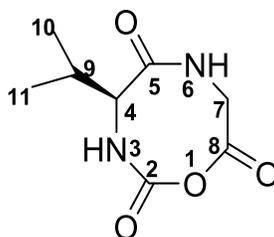
¹³C RMN (100 MHz, DMSO) δ 175.21 (C-2), 172.48 (C-5), 157.31 (C-8), 48.14 (C-4), 41.42 (C-7), 18.44 (C-9).

EM m/z (70 eV) = 170.20[M-1]⁺, 108.08, 79.07, 77.03

IR (KBr, cm⁻¹) (%T): ν_{NH} = 3464.20, ν_{CO-NH} = 1675.02.

[α]_D = +14.97 (c=10, MeOH).

7.5.6 (S)-4-isopropil-1-oxa-6-diazocan-2, 5,8-triona (26)



Seguendo el procedimiento general para la desprotección-ciclación se sometieron a reacción 0,100 g (0.31 mmol) de **20** disuelto en 6 mL de THF/H₂O, con 0,039 g (0.93 mmol) de LiOH. Posteriormente se evaporó el disolvente de la mezcla de reacción y el producto fue purificado por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de CH₂Cl₂/MeOH (8:2). Se obtuvieron 0.057 g del compuesto en la forma de un sólido blanco con un punto de fusión de 113-114°C y con un rendimiento del 93 %.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 4.8 (d, *J*=4.8 Hz, 1H, H-4), 3.70 (q, *J*= 17.1 Hz, 2H, H-7), 2.8-2.06 (m, 1H, H-9), 0.95 (d, *J*= 6.8 Hz, 3H, H-10), 0.8 (d *J*= 6.8 Hz, 3H, H-11).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 179.8 (C-5), 177.50 (C-8), 159.1(C-2), 61.97 (C-4) 45.50 (C-7), 32.66 (C-9), 20.26 (C-10), 18.22 (C-11).

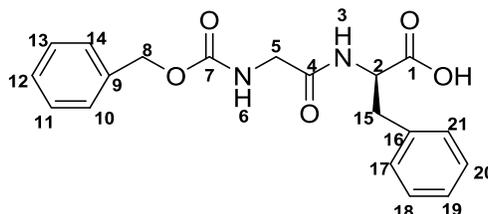
EM m/z (70 eV) = 201.14 [M+1]⁺, 108.08, 79.07, 77.04.



IR (KBr, cm^{-1}) (%T): $\nu_{\text{NH}}=3464.20$, $\nu_{\text{CO-O}}=1675.02$.

$[\alpha]_{\text{D}} = +4.521$ ($c=10$, MeOH)

7.5.7 Cbz-*N*-L-Gli-Fen-OH (31)



Seguendo el procedimiento general para la desprotección-ciclación promovido por MO, Se sometieron a reacción 0.100g (0.269 mmol) de Cbz-*N*-L-Gli-Fen-OME disueltos en 6 ml de THF/ H_2O , con 0.041g (0.98 mmol) de LiOH. Posteriormente se evaporó el disolvente de la mezcla de reacción. El crudo de reacción se acidificó con HCl al 10 % a un PH 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. El producto fue purificado por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de hexano-AcOEt (1:1). Se obtuvo un compuesto en la forma de un sólido blanco con un punto de fusión de 149-150 °C y con un rendimiento del 85 %.

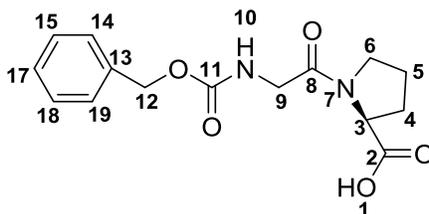
$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.25 – 7.09 (m, 10H, H's 10-14 y 17-21), 5.12 – 4.93 (m, 2H, H8), 4.26 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H, H-2), 3.74 – 3.52 (m, 2H, H-5), 3.00 (ddd, $J = 20.2, 13.4, 5.7$ Hz, 2H, H-15).

$^{13}\text{C RMN}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 175.17 (C-1), 168.06 (C-4), 156.37 (C-7), 138.99 (C-16), 137.11 (C-9), 129.81, 128.35, 127.50 (C's 4-10, 17-21), 64.94 (C-8), 55.14 (C-2), 44.07 (C-6), 37.76 (C-16).

EM m/z (70 eV) = 356.10 $[\text{M}]^+$



7.5.8 Cbz-*N-L*-Gli-Pro-OH (32)



Siguiendo el procedimiento general para la desprotección-ciclación se sometieron a reacción 0,100g (0.326 mmol) de Cbz dipéptido *N-L*-Gli-Fen-OMe disuelto en 6 mL de THF/H₂O, con 0.013g (0.80 mmol) de LiOH. Posteriormente se evapora el disolvente de la mezcla de reacción. El crudo de reacción se acidificó con HCl al 10 % a un PH 4, posteriormente se extrajo con AcOEt se lavó con H₂O se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se evaporó en el rotavapor a presión reducida. El producto fue purificado por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de hexano-AcOEt (1:1). Se obtuvo un compuesto en la forma de un sólido blanco con un punto de fusión de 118-119 °C y con un rendimiento del 81 %.

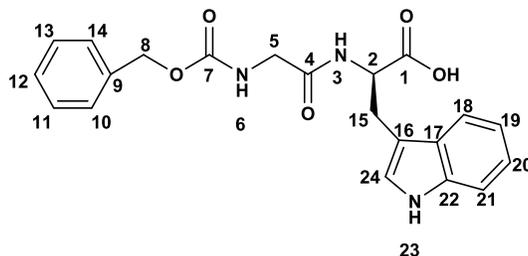
¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,38-7.20 (m, 5H, H 14-19), 5.96 (s ancha, 1H, H-10), 5.10 (d, *J*= 3.4 Hz, 2H, H-12), 4.52 (t, *J*= 5.9 Hz, 1H, H-3), 4.01 (ddd, *J*= 21.0, 17.2, 4.7 Hz, 2H, H-9), 3.54 (dd, *J*= 18.2, 8.4 Hz, 1H, H-6), 3.44 (dd, *J*= 16.9, 7.5 Hz, 1H, H-6), 2.15-2.06 (m, 2H, H-4), 1.95 (m, 2H, H-5).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 173.76 (C-2), 168.65 (C-8), 156.57 (C-11), 136.33 (C-13), 128.47, 128.08, 128.00 (C-14-19), 67.14 (C-12), 59.35 (C-3), 46.07 (C-6), 42.99 (C-9), 28.46 (C-4), 24.59 (C-5).

EM *m/z* (70 eV) = 320.20[M]⁺



7.5.9 Cbz-*N*-L-Gli-Trip-OH (33)



Siguiendo el procedimiento general para la desprotección-ciclacion, se sometieron a reacción 0,100g (0.253 mmol) de Cbz dipéptido *N*-L-Gli-Phe-OMe disuelto en 6 mL de THF/H₂O, con 0.033g (0.75mmol) de LiOH. Posteriormente se evapora el disolvente de la mezcla de reacción. El crudo de reacción se acidificó con HCl al 10 % a un PH 4, posteriormente se extrajo con AcOEt se lavó con H₂O se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se evaporo en el rotavapor a presión reducida. El producto fue purificado por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de hexano-AcOEt (1:1). Se obtuvo un compuesto en la forma de miel café marrón y con un rendimiento del 77%.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7.43 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, H-19), 7.23-7.24 (m, 5H, H-10-14, H-22), 7.10-7.04 (m, 2H, H-24, H-21), 6.98 (dd, *J* = 7.1 Hz, 1H, H-20), 5.07 (s, 2H, H-8), 4.70 (s, 1H, H-2), 3.52 (dd, *J* = 36.8, 13.9 Hz, 2H, H-5), 3.14 (s, 2H, H-15).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 174.26, 170.18, 156.91 (C-1, C-4, C-7), 136.08 (C-22), 128.52, 122.25, 128.03, 128.52, 122.25, 128.03 (C-10-14), 127.46 (C-17), 123.54 (C-24), 121.97 (C-20), 119.51 (C-18), 118.26 (C-19), 119.44 (C-21), 109.09 (C-16), 67.21 (C-8), 53.13 (C-2), 43.91 (C-5), 29.67 (C-15).

EM *m/z* (70 eV) = 395.15 [M+1]⁺



7.6- Ensayo de viabilidad por reducción metabólica de MTT

Se crecieron la cepa *S. aureus* ATTC 27543 y *E. coli* 011 en caldo LB incubándose 24 h a 37 °C en agitación. Se ajustó la DO (600 nm) del cultivo bacteriano a 0.2 (9×10^7 UFC/ml) y se adicionaron 5 ml del cultivo en un tubo de 15 ml. Por otro lado *C. albicans* se creció en caldo PDY incubándose por 48 h a 28 °C

Los cultivos se trataron con distintas concentraciones de los macrociclos derivados de péptidos **21, 22, 23, 24, 25 y 26** (1, 10, 50, 100, 150 µg/ml) y se incubaron 2, 4, 8, 12 y 24 h a 37 °C para *S. aureus* y *E. coli* y *C. albicans* a 28 °C.

Para la lectura en cada condición se adicionaron 100 µl del cultivo en una caja de cultivo de 96 pozos (Costar-Corning). Se realizó la lectura de absorbancia de los cultivos a 600 nm. Paralelamente se realizó el ensayo de viabilidad por reducción de MTT adicionando 10 µl de MTT (3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difenil tretazolio), y 50 µl de la disolución Isopropanol/ ácido clorhídrico 1N, y llevándose a incubar por 15 minutos a 37 °C, para posteriormente hacer la lectura de la absorbancia a 600 nm. Como control se utilizó un cultivo bacteriano sin tratamiento con los NACs derivados de péptidos.

7.7 Análisis estadístico

Los datos se obtuvieron de tres experimentos independientes por duplicado se compararon mediante el análisis de varianza de una vía seguida de una prueba post-hoc Duncan (ensayo de viabilidad de las bacterias *S. aureus* ATTC 27543 y *E. coli* 011 y la levadura *C. albicans*) (STATISTICA 7). Los resultados se presentan con \pm errores estándar considerando los valores de $P \leq 0.05$ como estadísticamente significativos.



8.-BIBLIOGRAFÍA

- 1.-VARGASAFANADOR, Edwin O. y Lyda P. RUIZ PIMIENTO: "Química verde en el siglo XXI; química verde, una química limpia", *Revista cubana de química*, n. 19, **2007**, pp. 29-32.
2. - Paul T. Anastas. ; Joseph J. Breen. ; *J. Cleaner Prod.* **1997**, 5(1-2), 97-102.
3. - Polshettiwar, V.; Varma, R.S. *Accounts of Chemical Research*, **2008**, 41, 629-639.
- 4.-Royer, J.; *Asymmetric Synthesis of Nitrogen Heterocycles*. Ed. Wiley-VCH: Weinheim, **2009**.
- 5.-Coppola, G. M.; *Asymmetric Synthesis*, **1987**.
- 6 Nefzi, A.; Ostresh, J. M.; Yu, J.; *Org. Chem.* **2004**, 69, 3603-3609.
- 7 Doria-Serrano, M. C., Química Verde: Un nuevo enfoque para el cuidado del medio ambiente, *Educ. quím.* , 20, 412-420, **2009**.
- 8.- Agnieszka Gałuszka.; Zdzisław Migaszewski.; Jacek Namies'nik. *Trends in Analytical chemistry* **2013**, 50, 78-84.
- 9.- Martínez Rafael.; *Química en Microondas*, CEM Publishing, **2006**.
- 10.- Macul, N.; Rattanadecho, P.; *Renewable and sustainable Energy Reviews*, **2014**, 37, 715-733.
- 11.- Hayes,B.L. *Microwave Synthesis Chemistry at the Seed of Light*. CEM. **2007**
- 12.-Herrero, M. A.; Kreamsner, J. M.; Kappe, C. O. *Journal of Organic Chemistry*, **2008**, 73, 36-47.
- 13.-Padro-Gonial, J.; Morán, *J. Ann. Quim*, **2011**, 107, 129-136.
- 14.- Juaristi, E. *Aplicaciones de microondas en química y en la biología*, Colegio Nacional, México, D.F, **2009**
- 15.- Hansen, F. K.; Beagle, L. K.; Todadze, E.; Katritzky, A. R. *Heterocycles*, 84, 515, **2012**.
16. - 18 11.-Gedye, R. *Tetrahedron Letters*, **1986**, 27, 279-282.
- 17.- Hansen, F. K.; Beagle, L. K.; Todadze, E.; Katritzky, A. R. *Heterocycles*, 84, 515, **2012**.
- 18.- R.D. Taylor, M. MacCoss, and A.D.G. Lawson, *J. Med. Chem.*, 57, 5845, **2014**.
- 19.-Louis D. Quin.; Jonhn A. Tyrell.; *Fundamentals of Heterocyclic. Importance in Nature and in the Synthesis of Pharmaceuticals*, ISBN, 978-0-470-566695, **2010**.



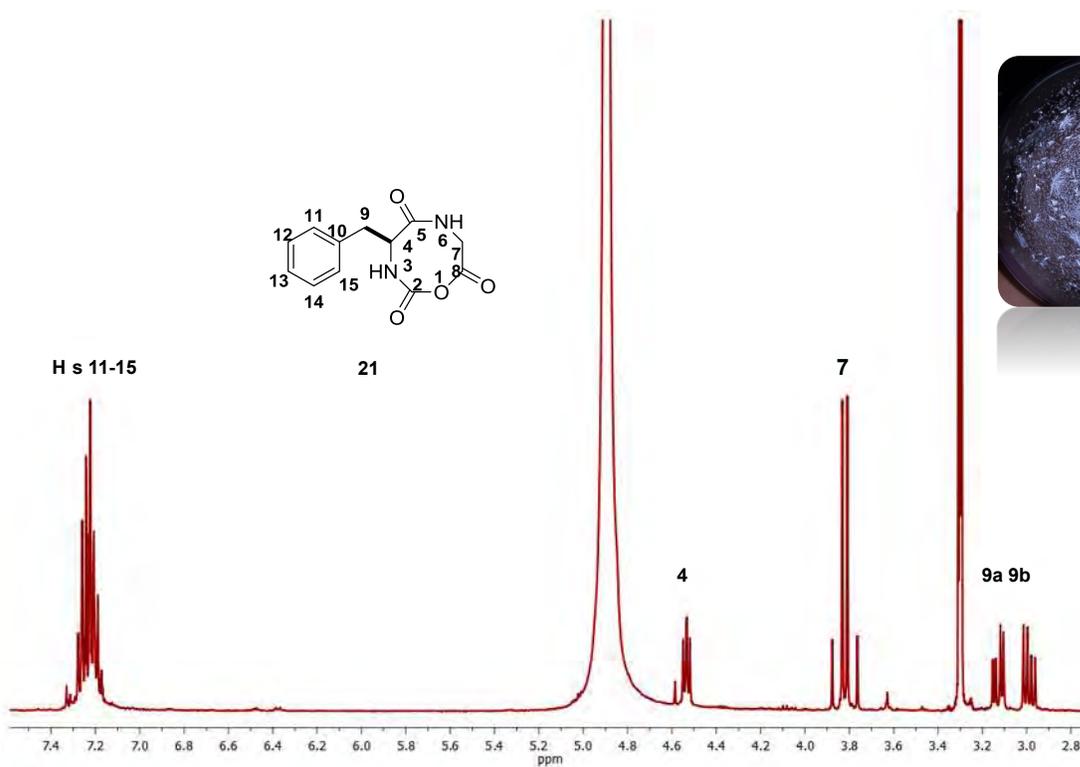
- 20.- Kumar, K.; Waldmann, H. *Angew. Chem. Int. Ed*, 48, 3224-3242, **2009**.
- 21.- Dinsmore, C. J.; Beshore, D. C. *Tetrahedron*, 58, 3297-3312. **2002**.
- 22.- Hansen, F. K.; Beagle, L. K.; Todadze, E.; Katritzky, A. R. *Heterocycles* **2012**, 84, 515.
- 23.-Cini, Elena.; Botta, B. Cinzia. *Tetrahedron Letters*, **2009**, 50, 7159-7161.
- 24.- Escalante J.; *Molecules*, **2009**, 14, 2836-2849.
- 25.- Kumar, K.; Waldmann, H. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 48, 3224-3242, **2009**.
- 26.-Kricheldorf, H. R. *α -Amino Acid N-Carboxy Anhydrides and Related Heterocycles*; Springer-Verlag: Berlín. **1987**.
27. - P. L. Fuchs, *Chem. Ber.*, (55), 2943, **1922**
- 28.- H. Eckert and B. Forster, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 26, 894, **1987**.
- 29.- Okada, M.; Aoi, K.; Tsutsumiuchi, K. *Proc. Japan Acad.* **1997**, 73 Ser. B, 205.
- 30.-J.W. Ziller.; *Synthesis of Optically Active α -Amino Acid N-Carboxyanhydrides*, *Organic Letters.*, 2, 1943-1946, **2000**.
- 31.- Jacques Huck and Jean-Alain Fehrentz;. *Urethane N-Carboxyanhydrides from α -Amino Acids*, *J. Org. Chem.*, 66, 6541-6544, **2001**.
- 32.- Kubota, S.; Fasman, G. D. *Biopolymers* **1975**, 14, 605-631.
- 33- Torres Mejía, F.J. Tesis de Licenciatura, Facultad de Q.F.B. UMSNH, Morelia Michoacán, México, **2015**.
- 34.- Solorio López, M. *Tesis de Maestría*, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas-UMSNH, Morelia Michoacán, México, **2013**.
- 35.- José G.Ávila;. *Síntesis fotoquímica mediante luz solar*, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México, DF. **2014**.
- 36.- H. B. Wright y W. L. Cairns;. *ULTRAVIOLET LIGHT*, Ontario, Canadá. **2014**.
- 37.- María A. Schiel;. *Use of Ultrasound in the Synthesis of Heterocycles of Medicinal Interest*, Departamento de Química, Instituto de Química del Sur, Bahía Blanca, Argentina, **2015**.
- 38.-Colín Aviles, R. *Tesis de Maestría*, Facultad de Q.F.B. UMSNH, Morelia Michoacán, México, **2011**.



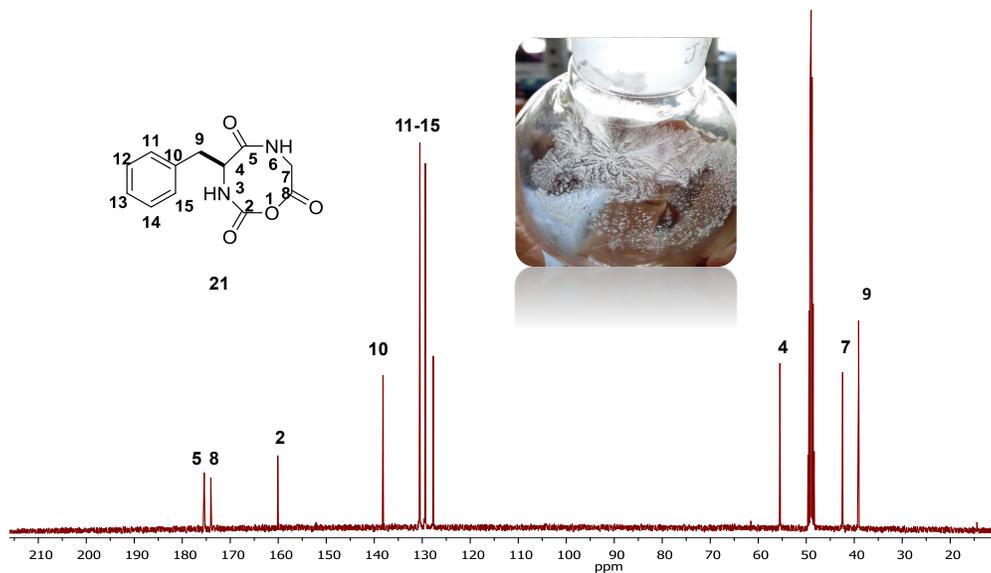


ANEXOS

CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR RADIACIÓN DE MICROONDAS

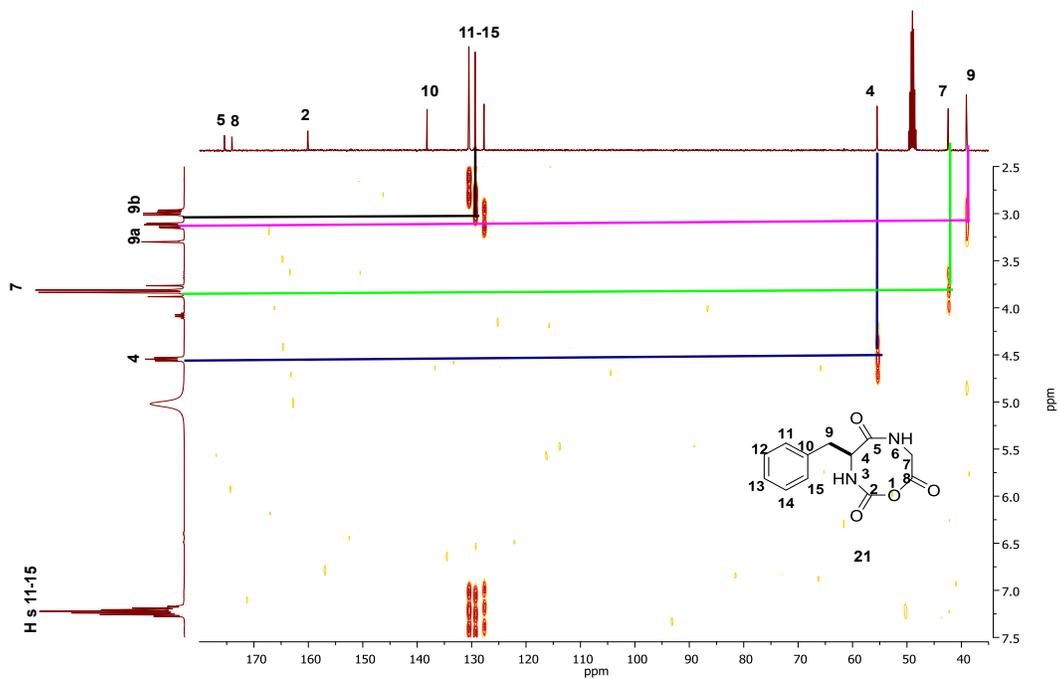


Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de compuesto **21**, CD_3OD

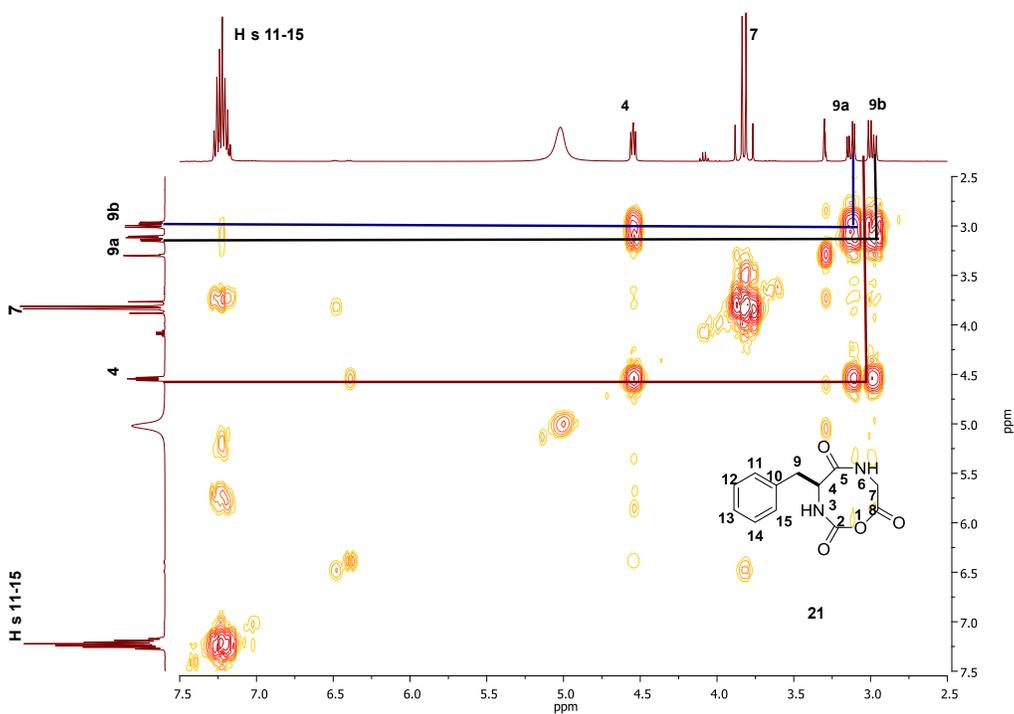


Espectro de RMN de ^{13}C (400 MHz) del compuesto **21**, CD_3OD

CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR
RADIACIÓN DE MICROONDAS

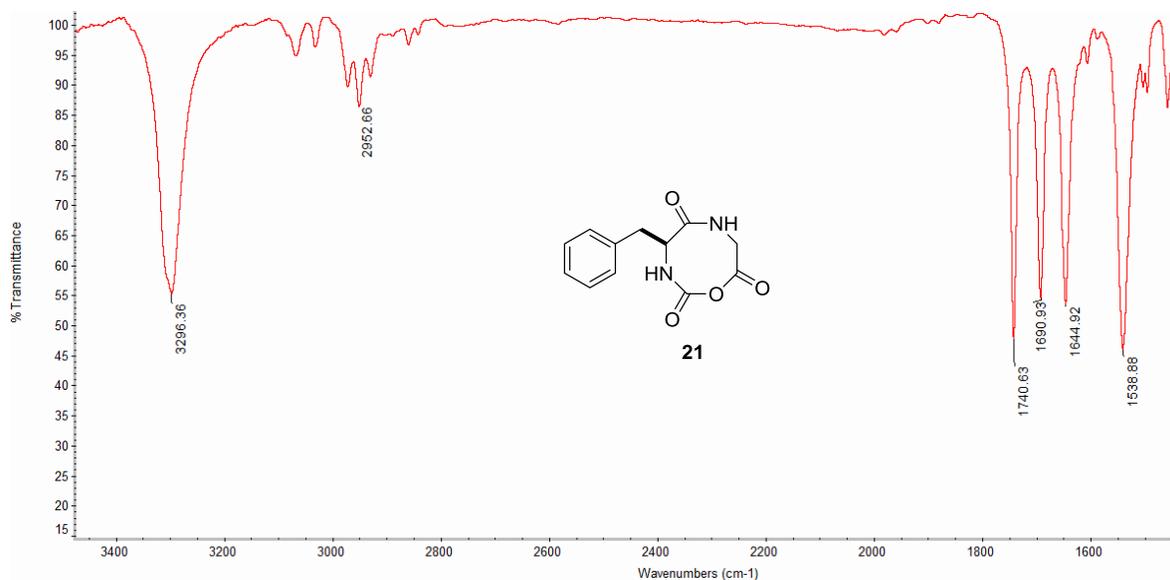


Ampliación del espectro HECTCOR en CDCl_3 a 400 MHz del compuesto **21**

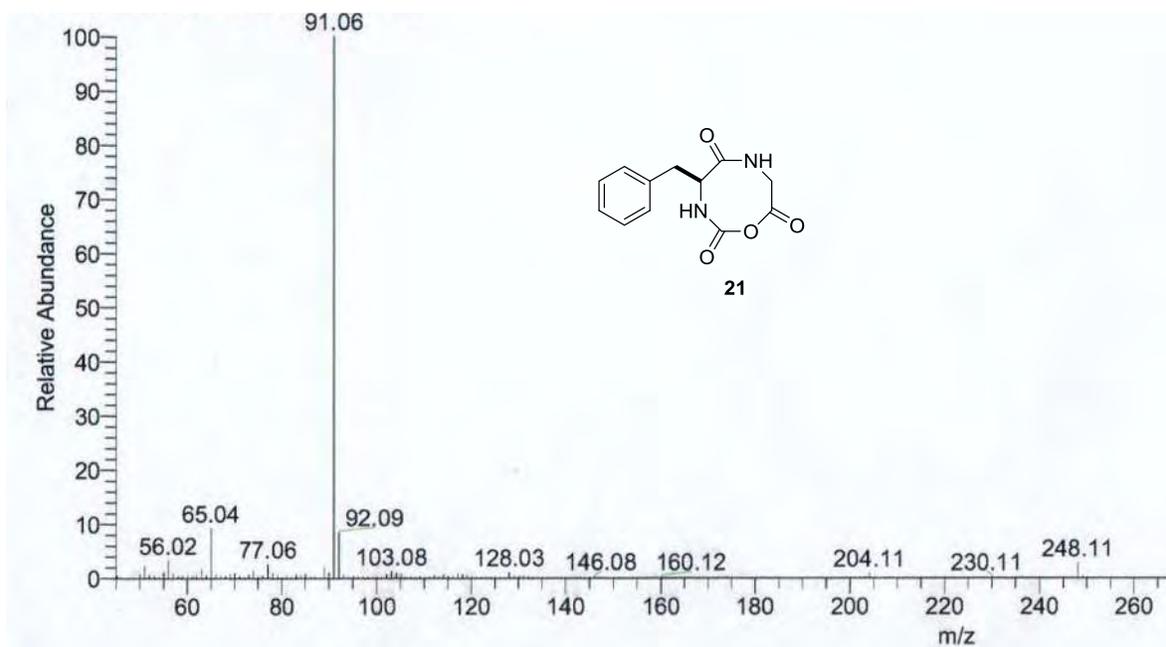


Ampliación del espectro COSY en CDCl_3 a 400 MHz del compuesto **21**

CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR
RADIACIÓN DE MICROONDAS

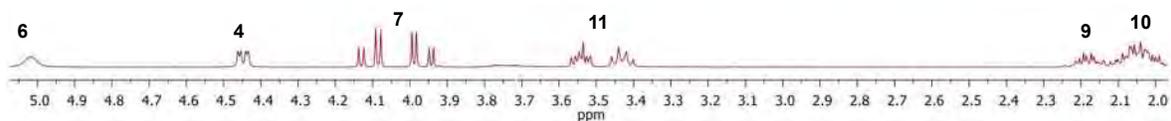
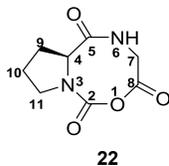


Espectro de IR de compuesto **21**

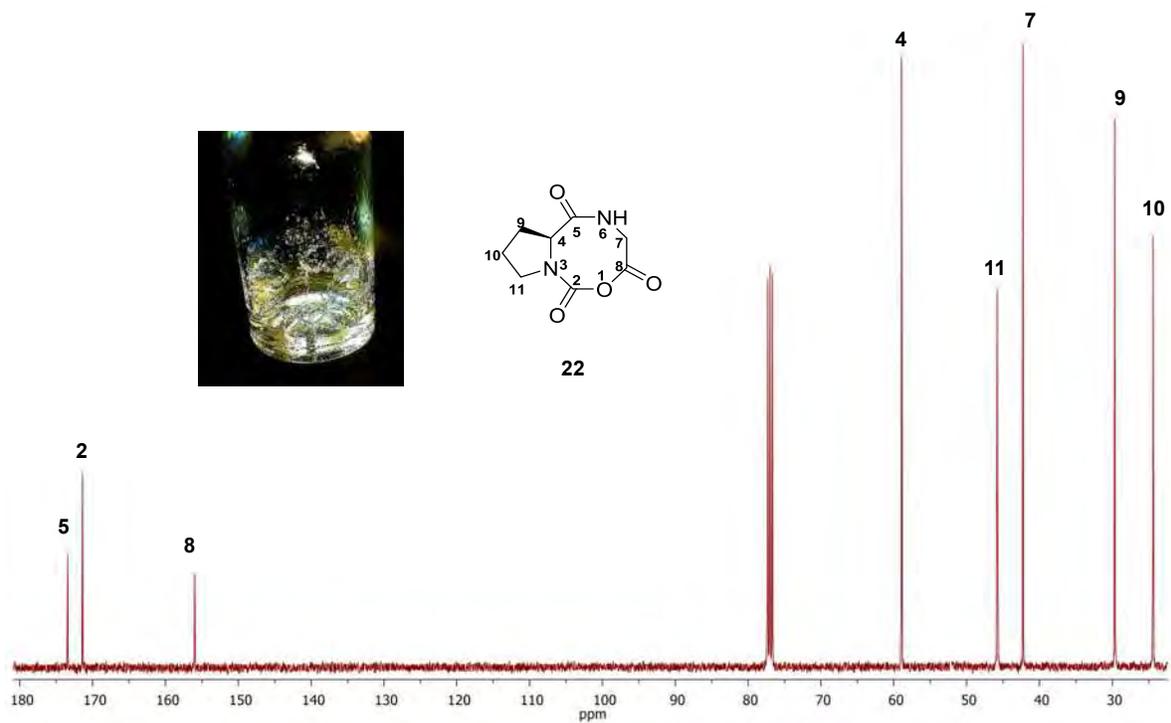


Espectro de EM de compuesto **21**

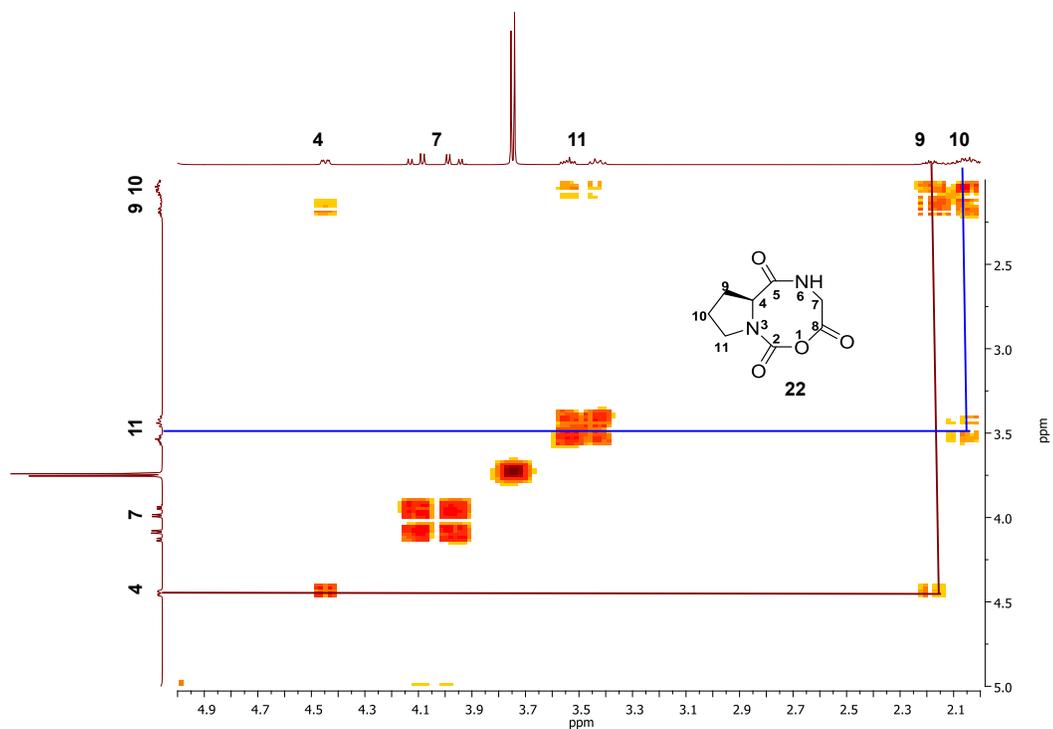
CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR
RADIACIÓN DE MICROONDAS



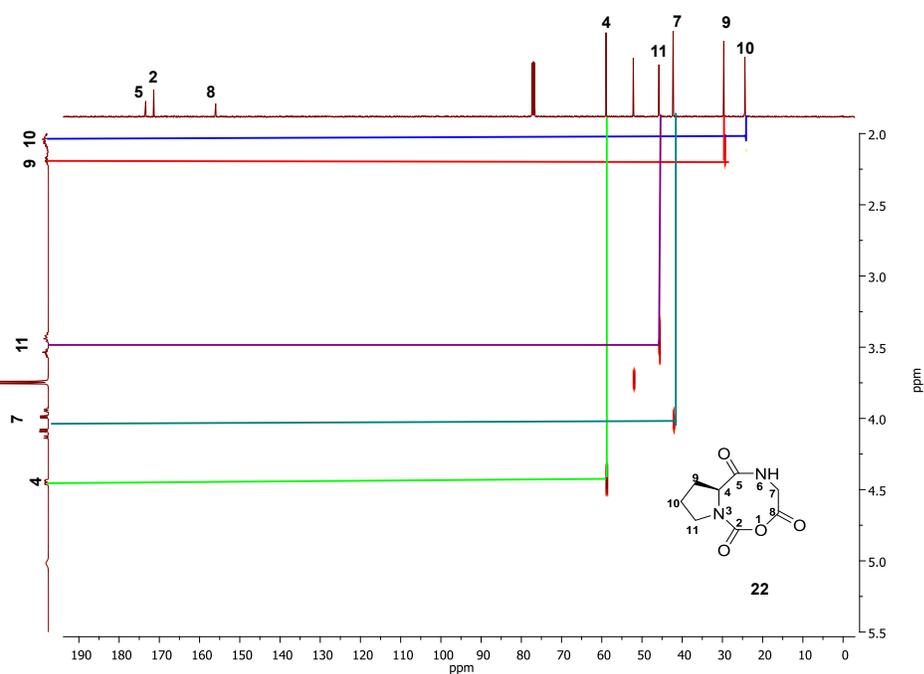
Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del compuesto **22**, Cl_3CD



Espectro de RMN de ^{13}C (400 MHz) del compuesto **22**, CDCl_3

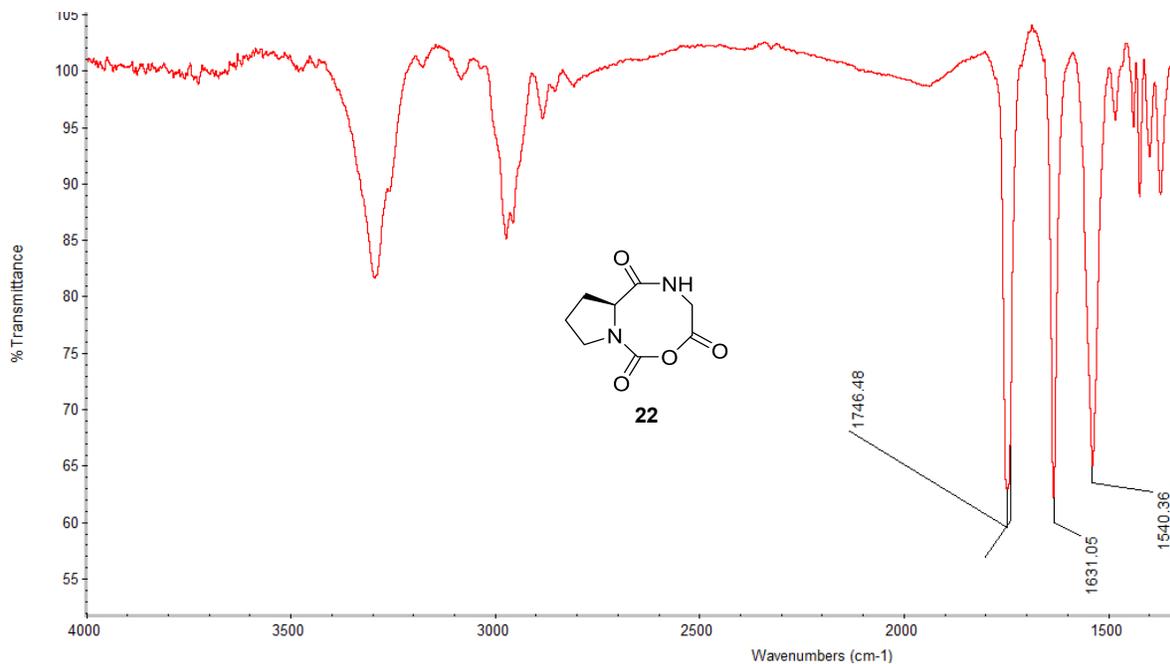


Ampliación del espectro COSY en CDCl_3 a 400 MHz del compuesto **22**

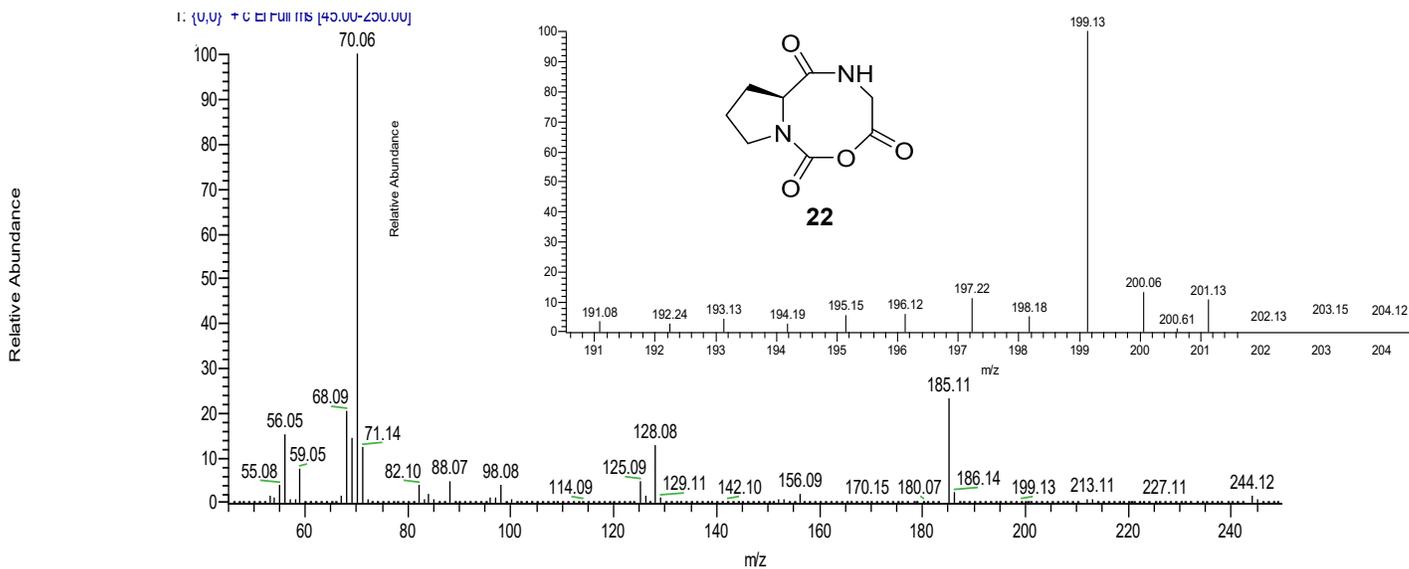


Ampliación del espectro HETCOR en CDCl_3 a 400 MHz del compuesto **22**

CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR
RADIACIÓN DE MICROONDAS

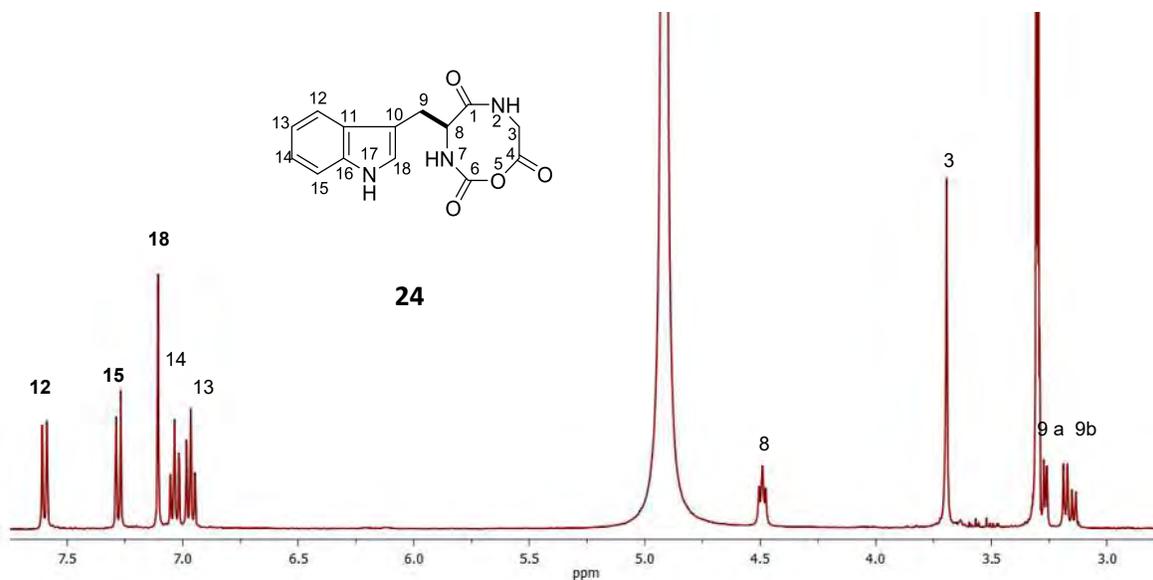


Espectro de IR de compuesto 22

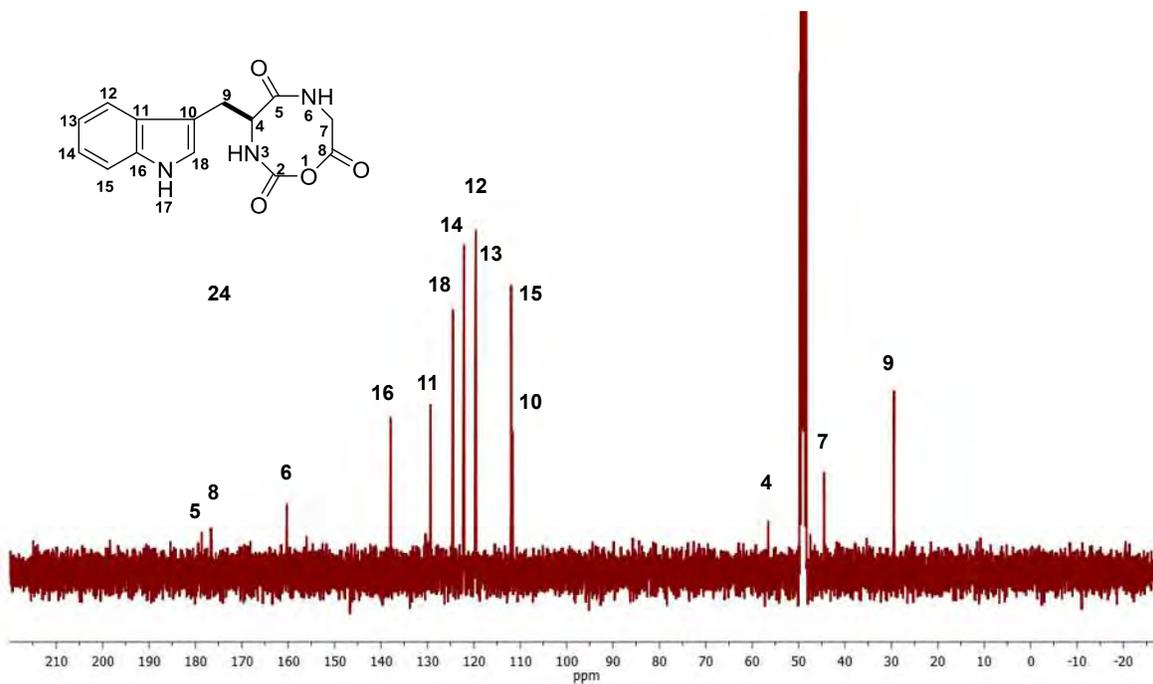


Espectro de masas IE del compuesto 22.

CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR
RADIACIÓN DE MICROONDAS

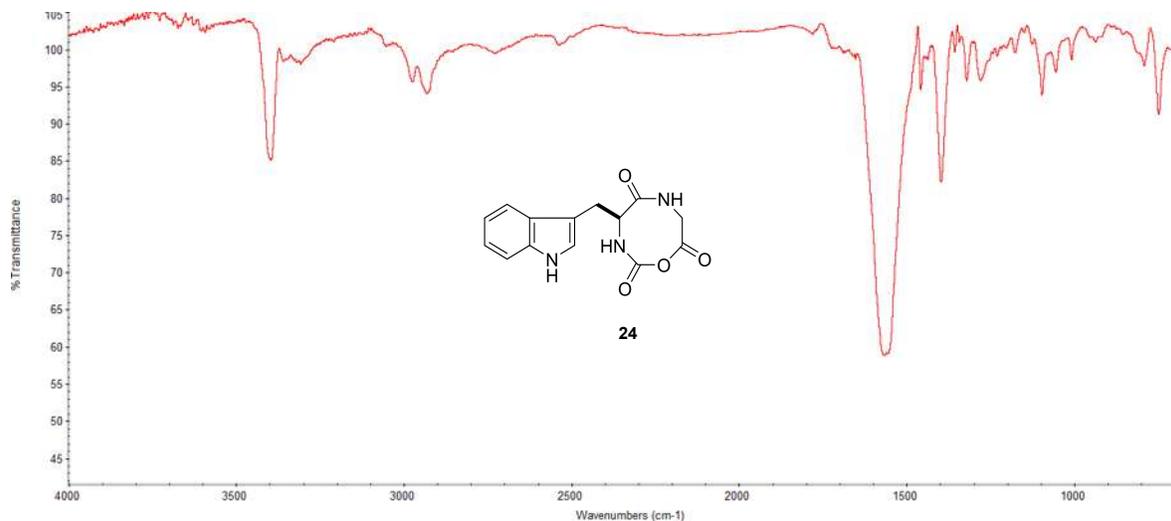


Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) del compuesto **24**, CDCl₃

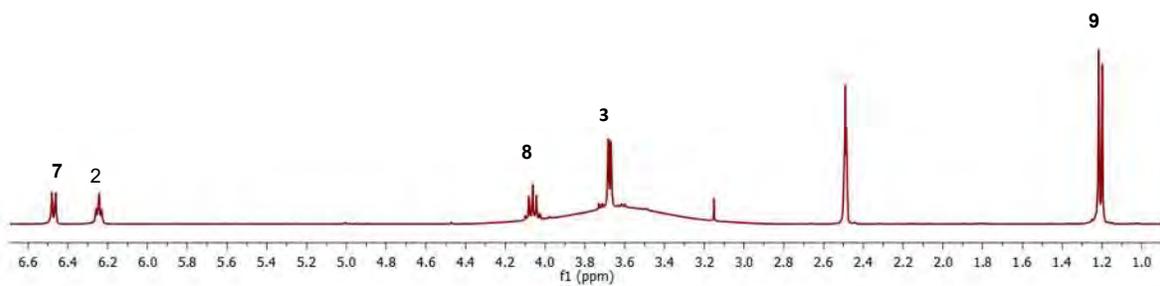
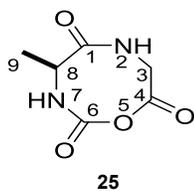


Espectro de RMN de ¹³C (400 MHz) del compuesto **24**, CDCl₃

CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR
RADIACIÓN DE MICROONDAS

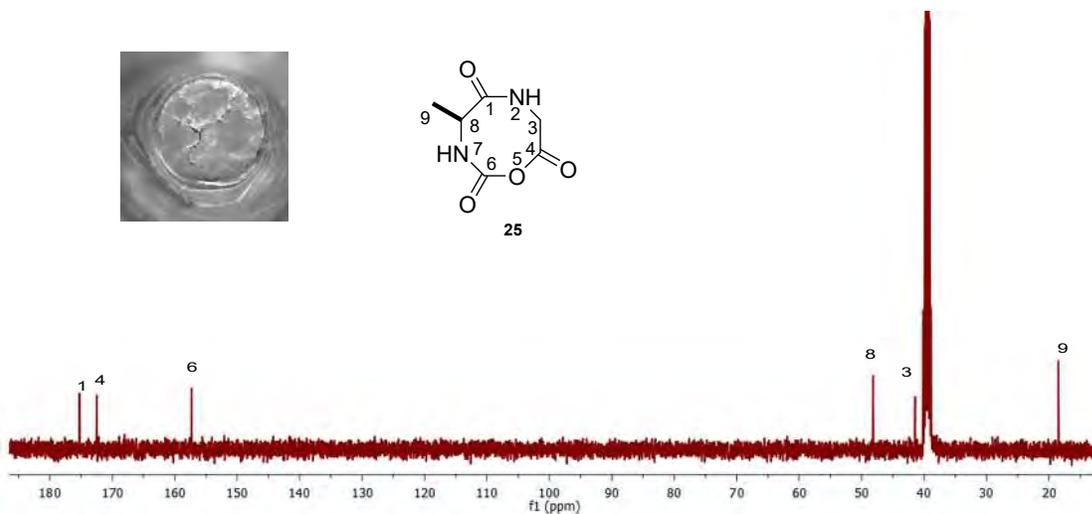
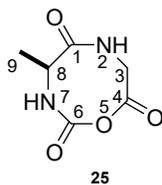


Espectro de IR de compuesto **24**

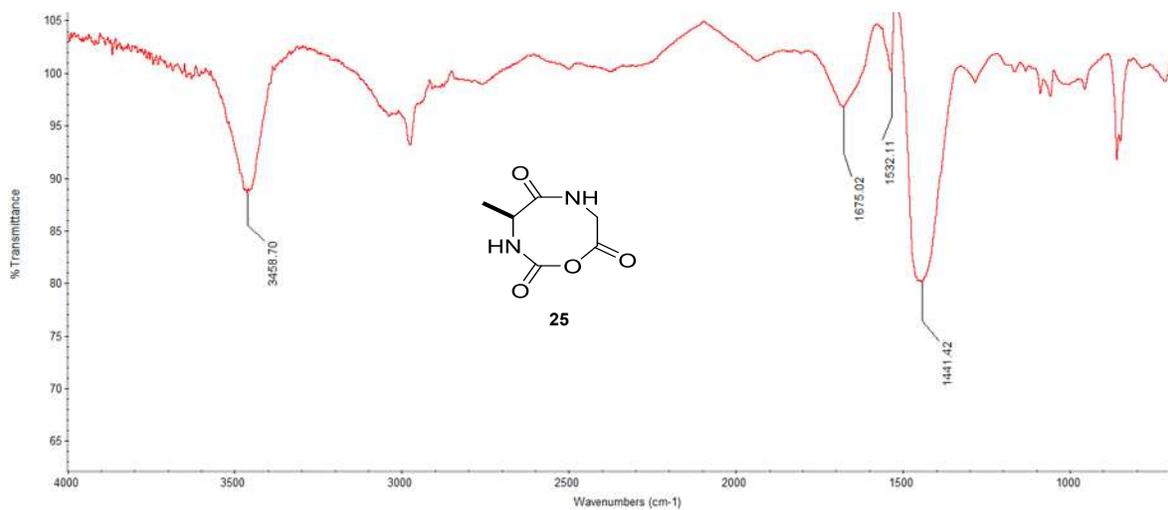


Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) del compuesto **25**, CDCl₃

CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR RADIACIÓN DE MICROONDAS



Espectro de RMN de ^{13}C (400 MHz) del compuesto **25**, CDCl_3

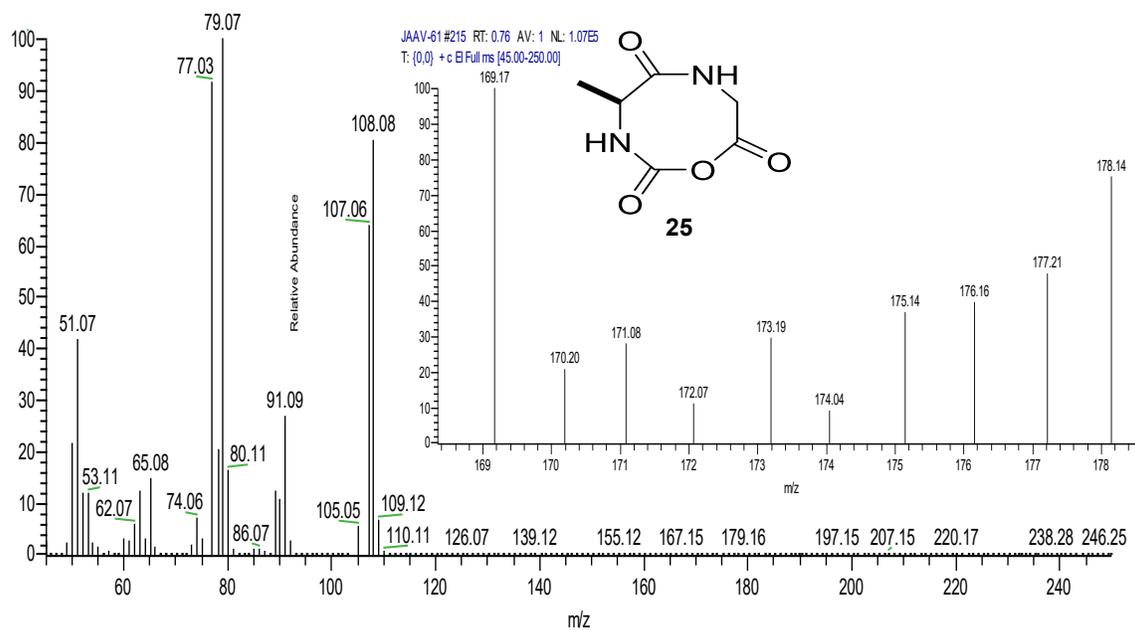


Espectro de IR de compuesto **25**

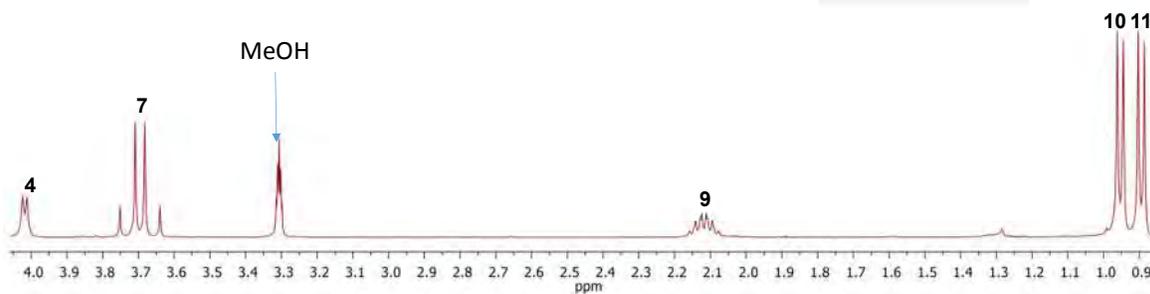
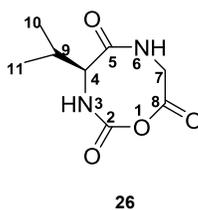
CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR RADIACIÓN DE MICROONDAS



Relative Abundance

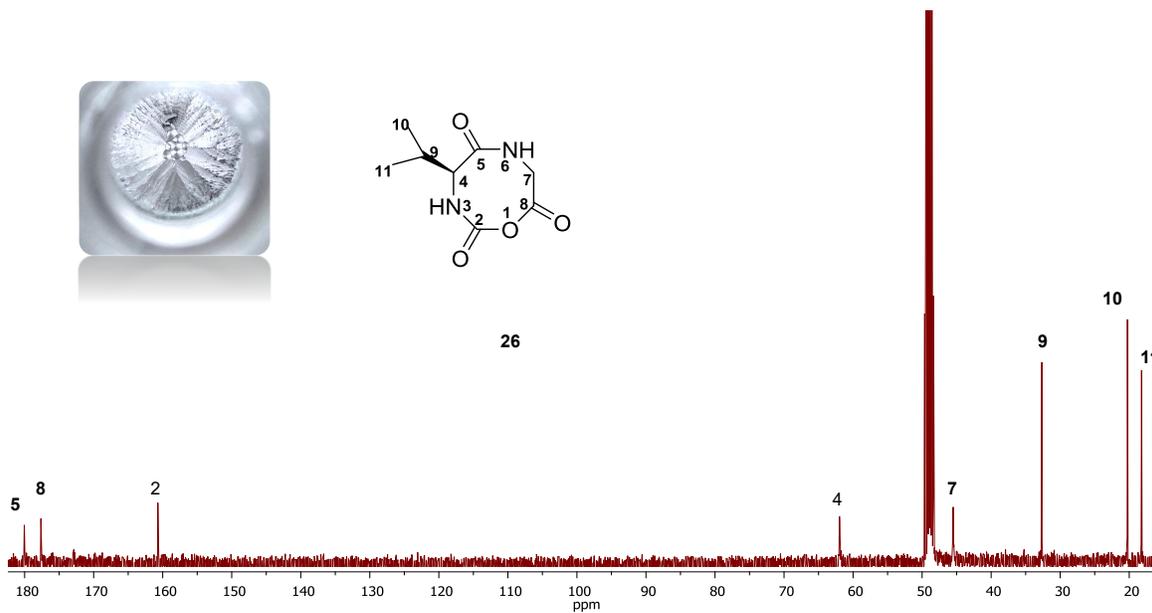
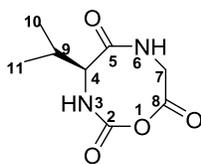


Espectro de masas IE del compuesto **25**.

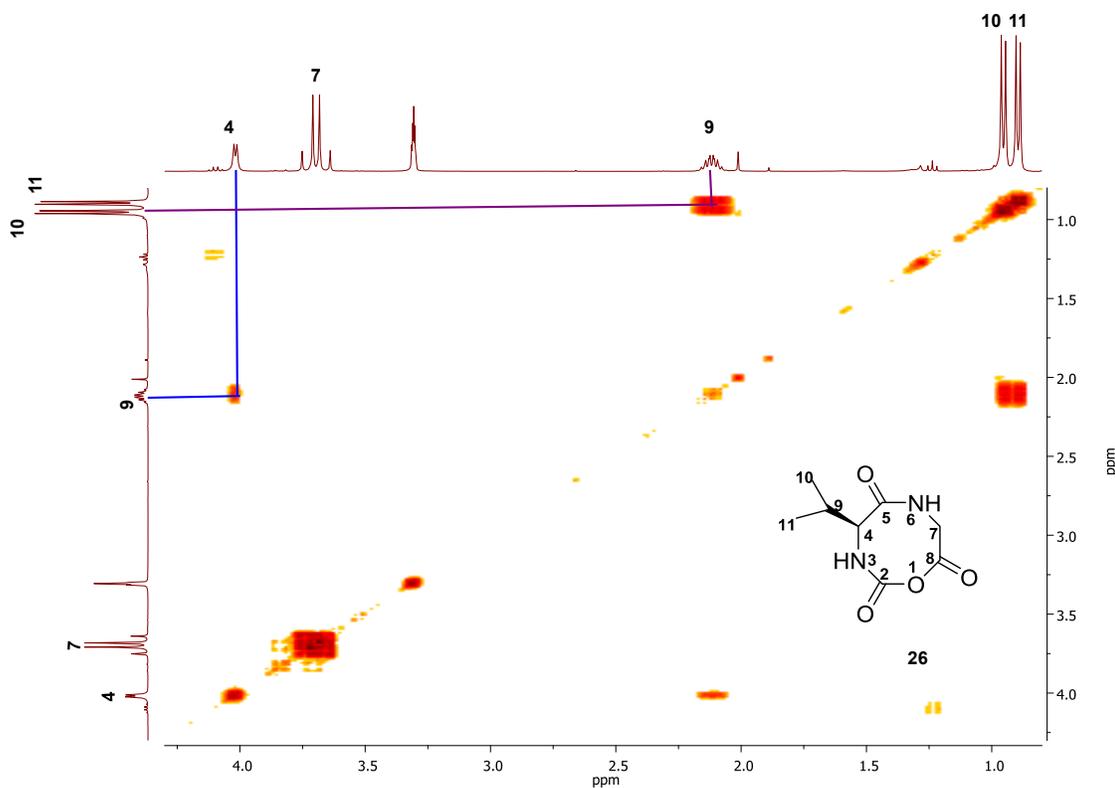


Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del compuesto **26**, CDCl_3

CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR RADIACIÓN DE MICROONDAS



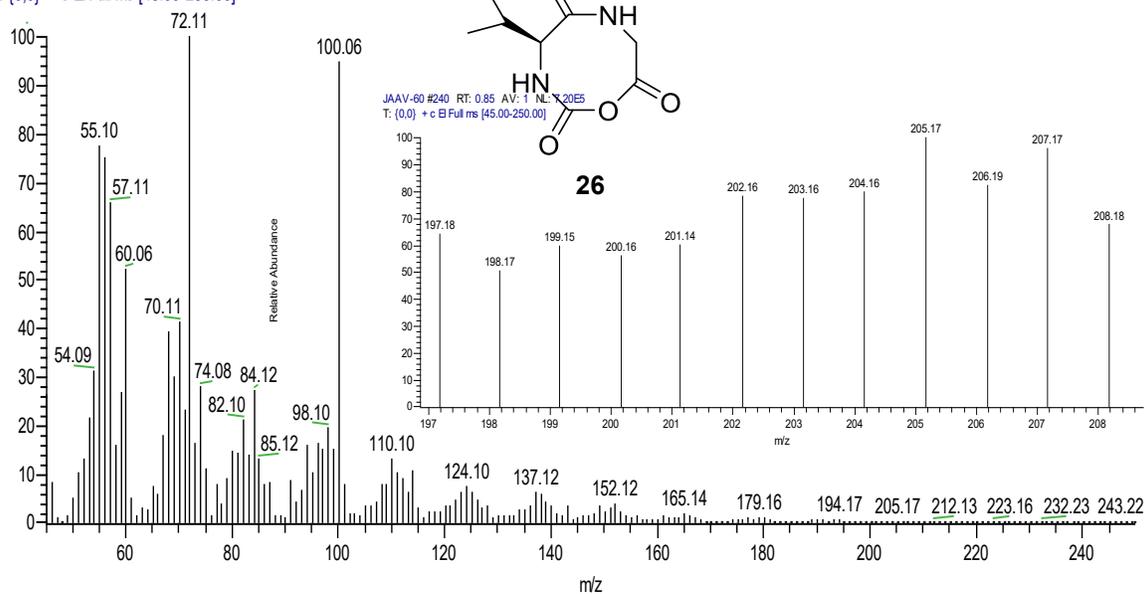
Espectro de RMN de ^{13}C (400 MHz) del compuesto **26**, CDCl_3



Ampliación del espectro COSY en CDCl_3 a 400 MHz del compuesto **26**



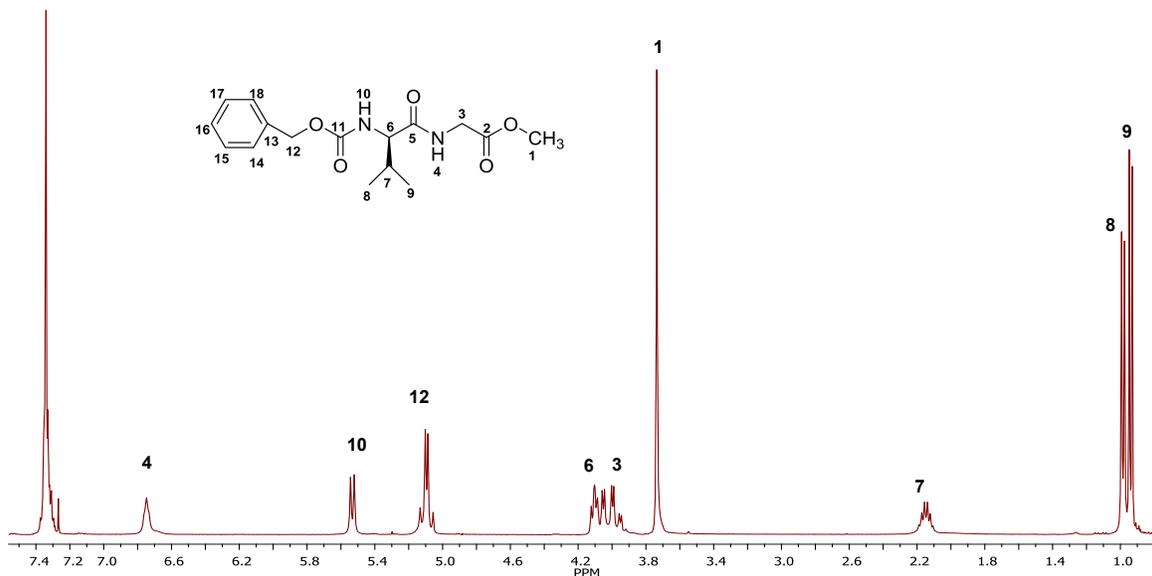
JAAV-60 #240 RT: 0.85 AV: 1 NL: 2.34E8
T: {0,0} + c EI Full ms [45.00-250.00]



Espectro de masas IE del compuesto **26**.

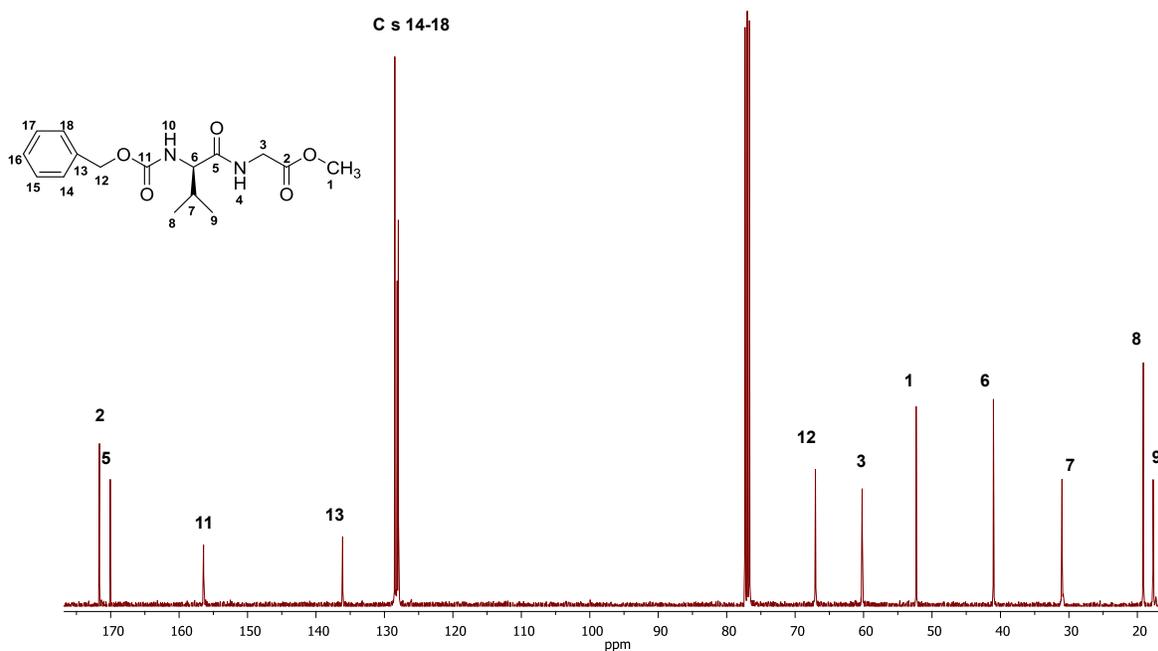


H s 14-18



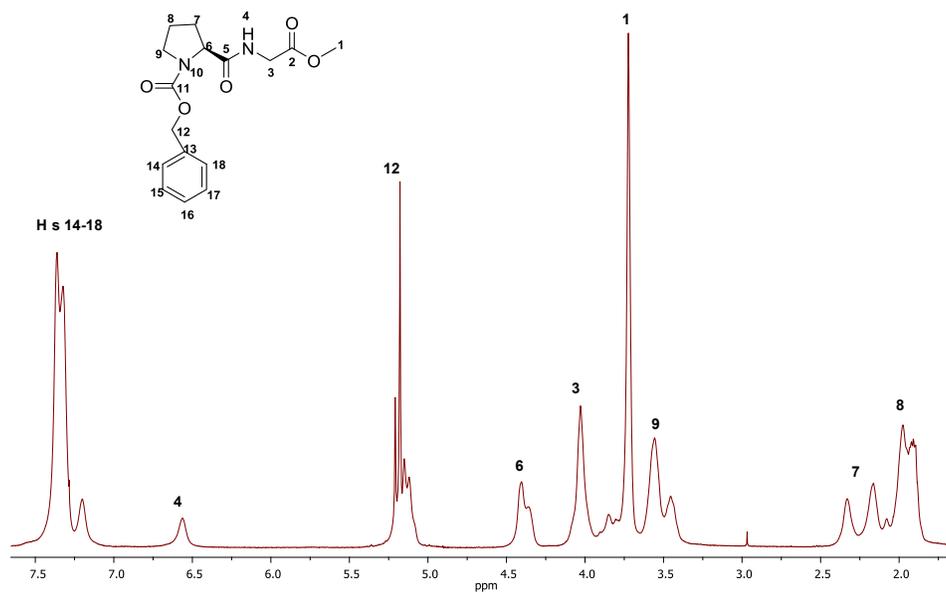
Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del Cbz-*N*-L-Valina -Gli-O, CDCl_3

C s 14-18

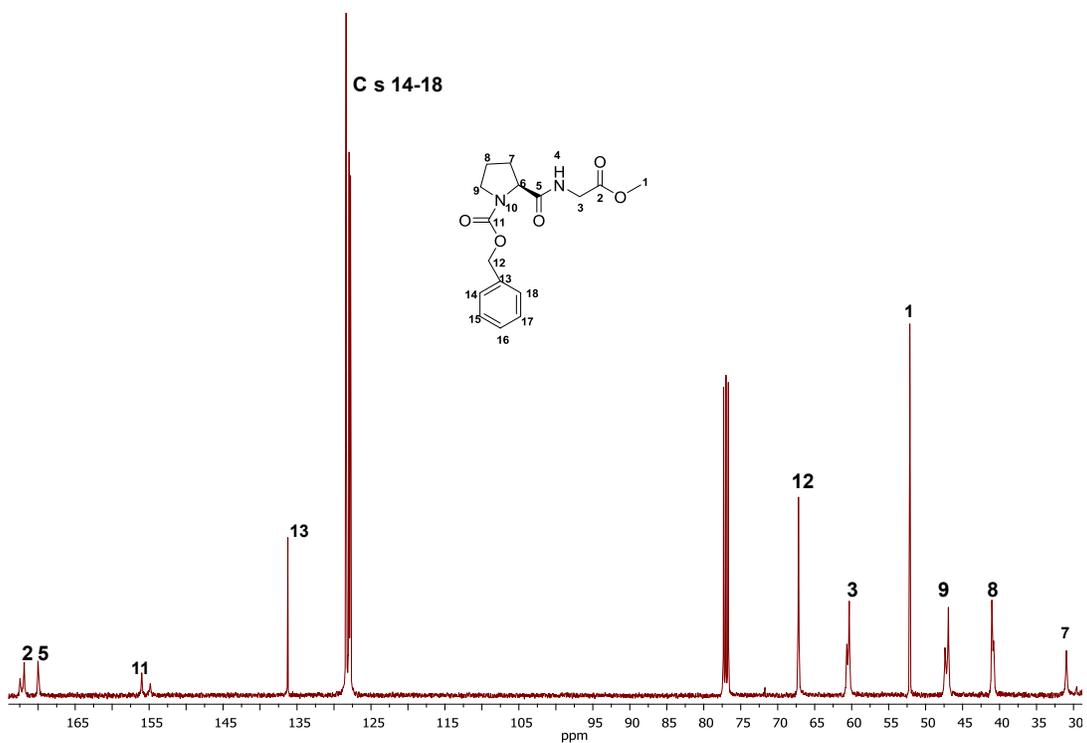


Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del Cbz-*N*-L- valina -Gli-O, CDCl_3

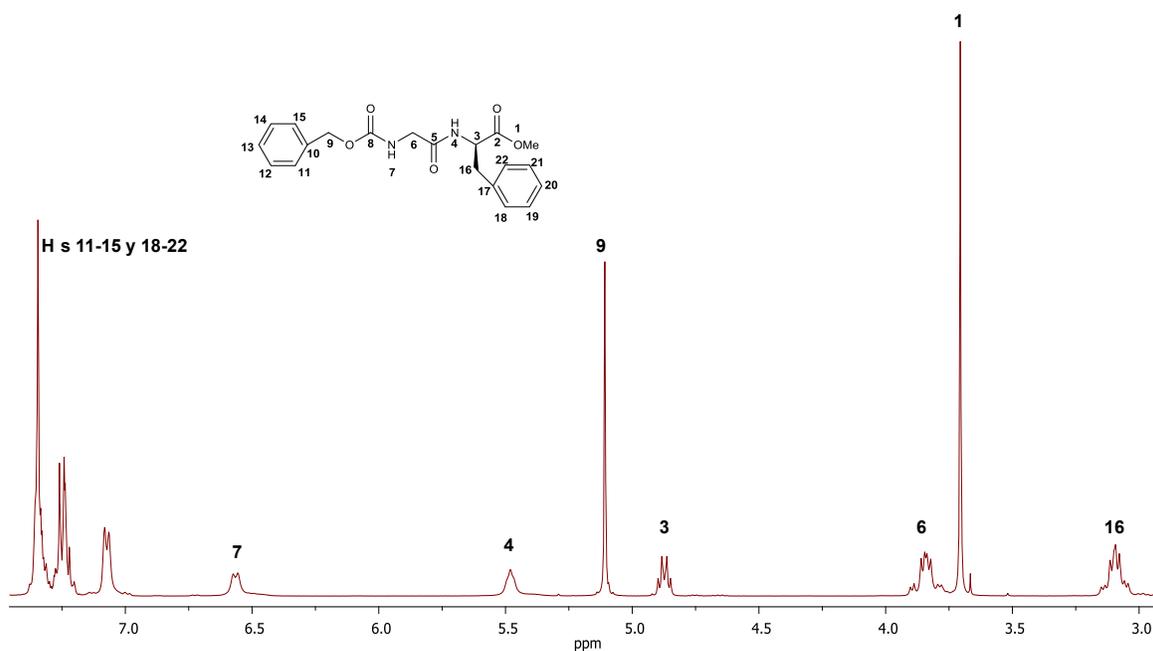
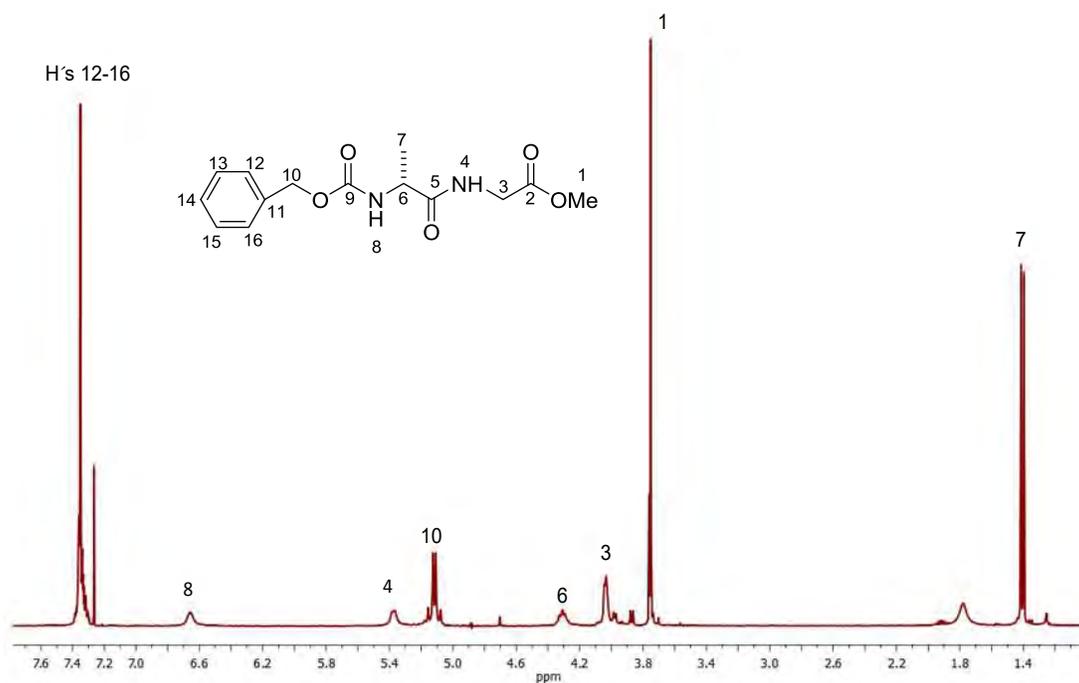
CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR
RADIACIÓN DE MICROONDAS



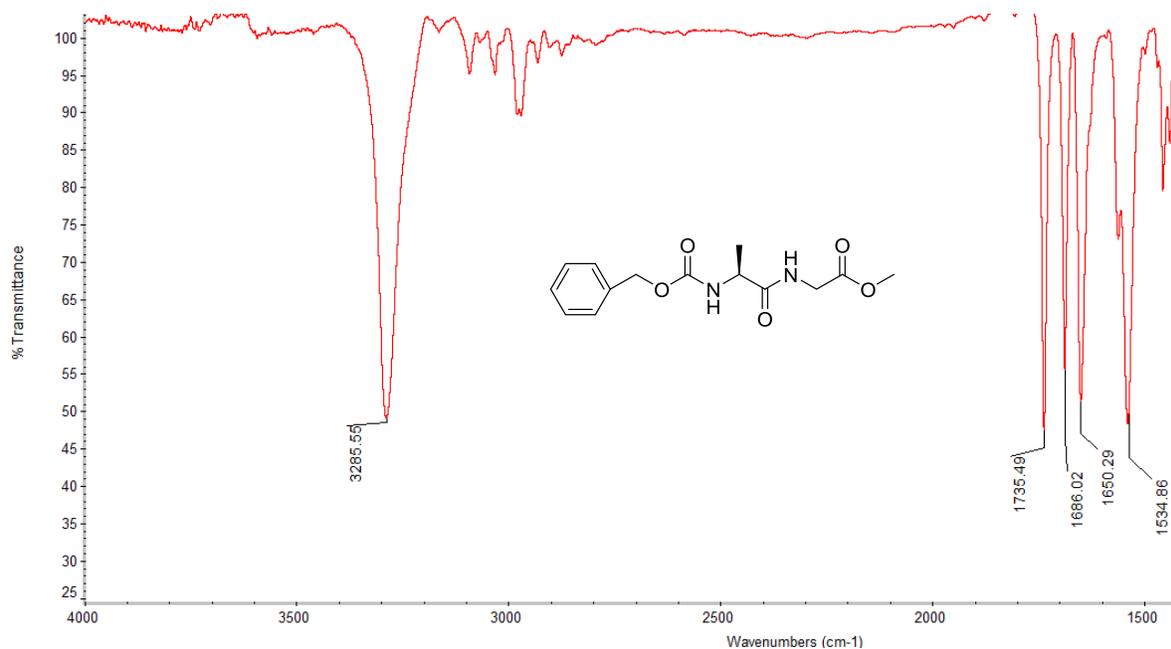
Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del Cbz-*N*-L-Pro-Gli-O, CDCl_3



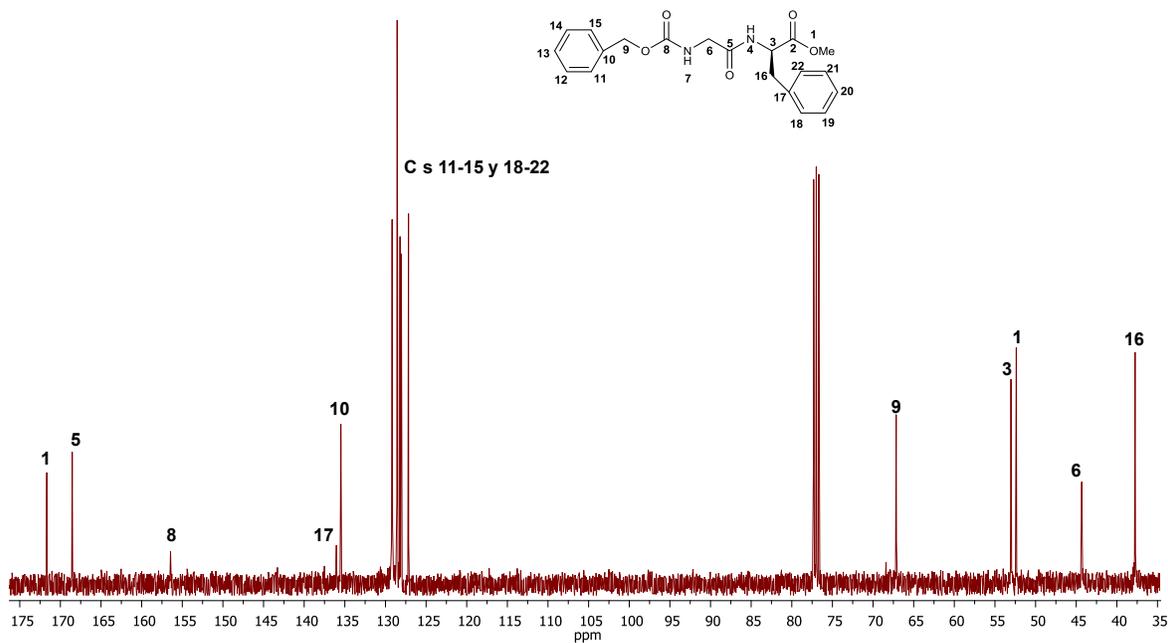
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del Cbz-*N*-L-Pro-Gli-O, CDCl_3



CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR
RADIACIÓN DE MICROONDAS

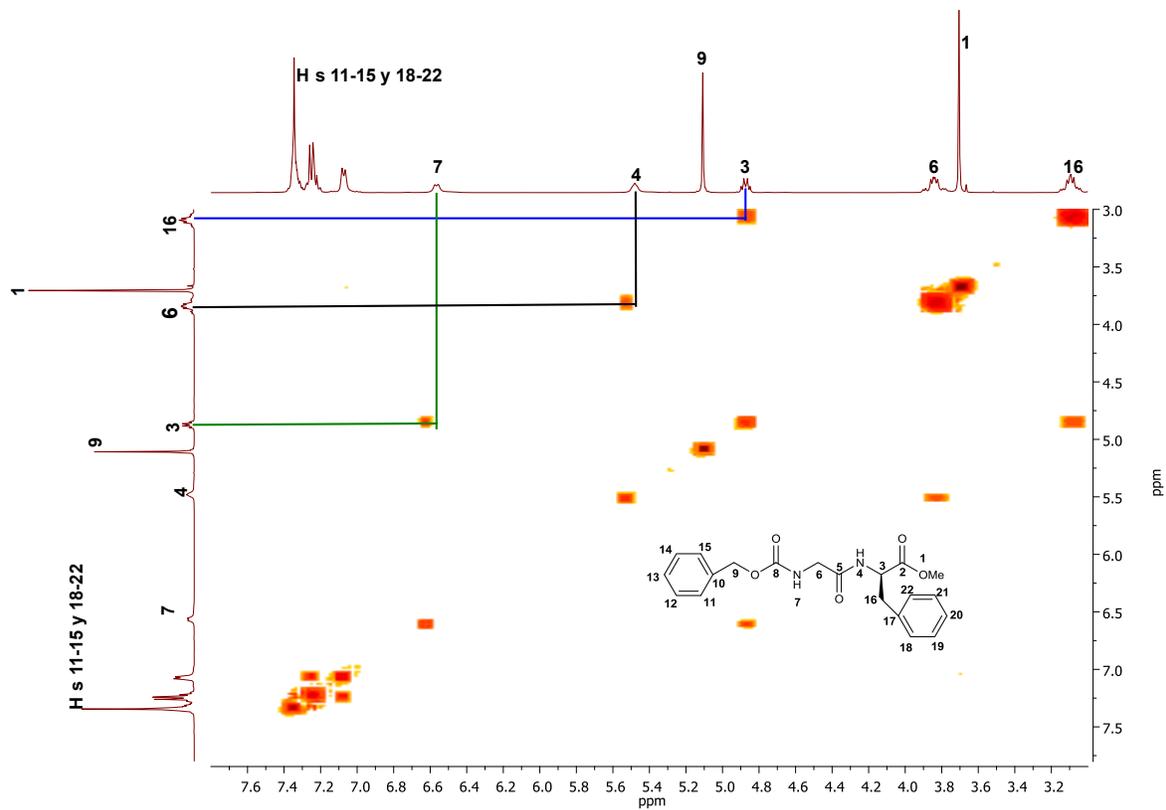


Espectro de IR- Cbz-*N*-L-Ala-Gli-O

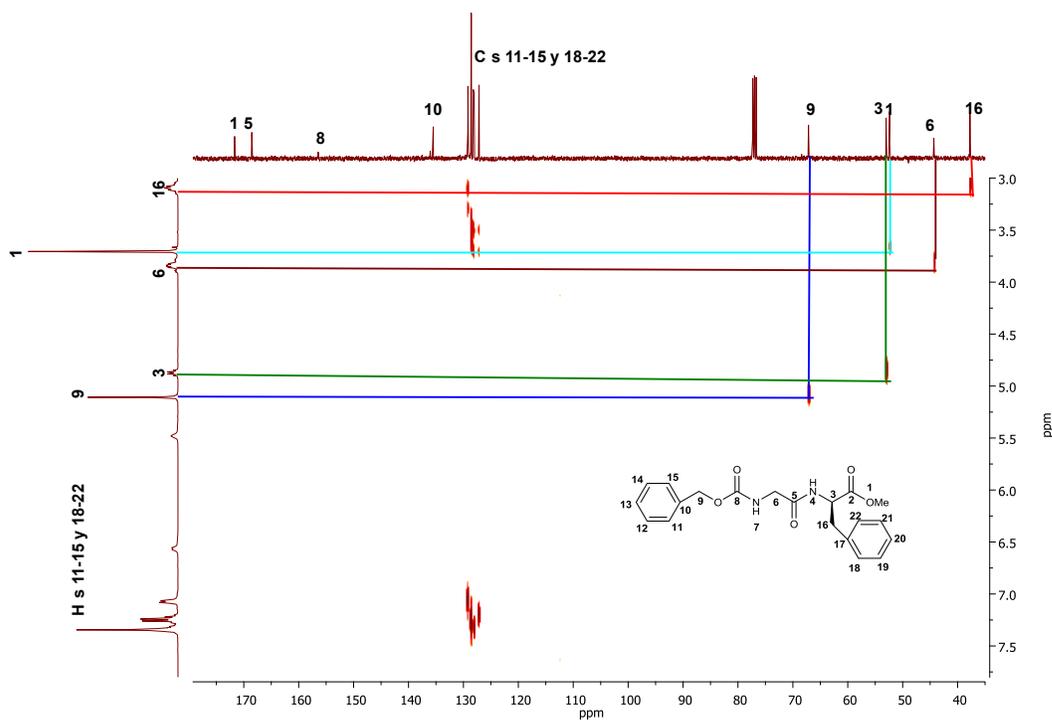


Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del Cbz-*N*-L-Gli-Phe-O, CDCl_3

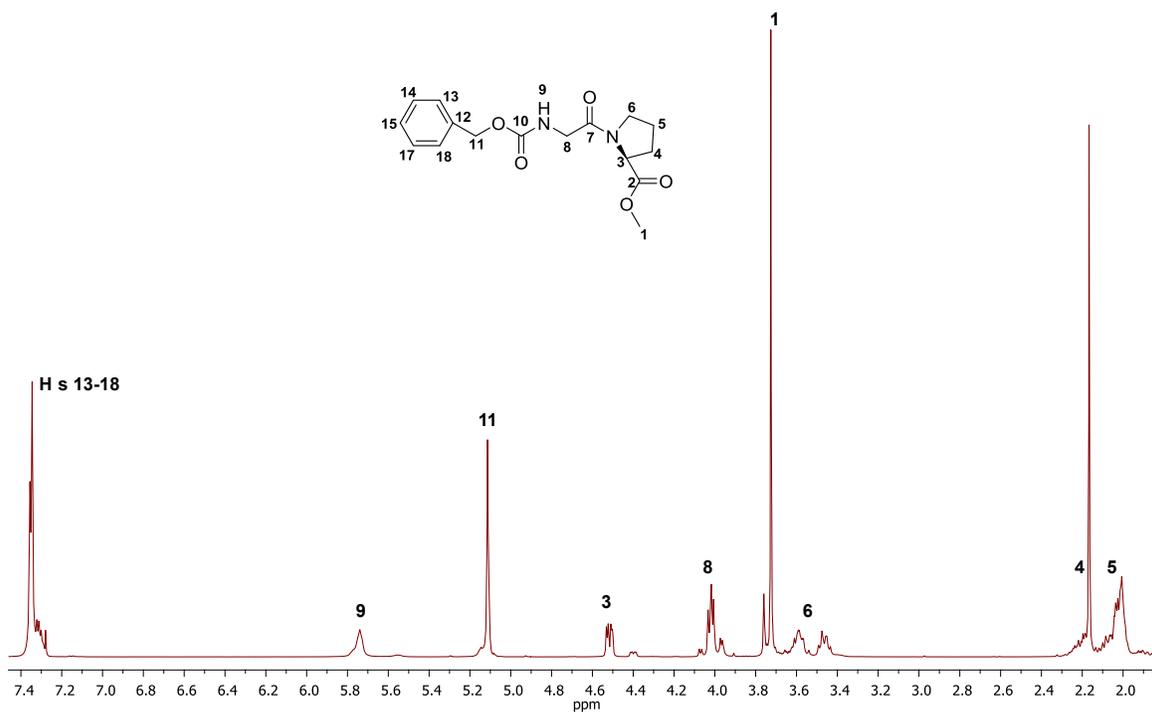
CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR RADIACIÓN DE MICROONDAS



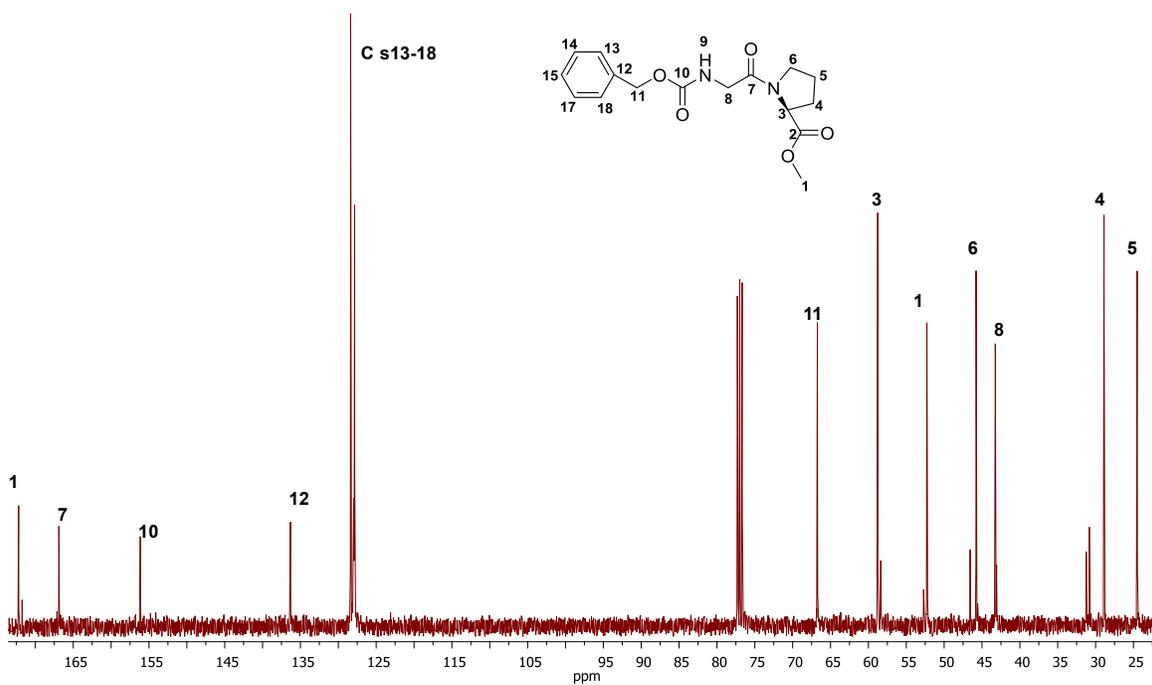
Ampliación del espectro COSY en CDCl_3 a 400 MHz del Cbz-*N*-L-Gli-Phe-O.



Ampliación del espectro HETCOR en CDCl_3 a 400 MHz del Cbz-*N*-L-Gli-Phe-O

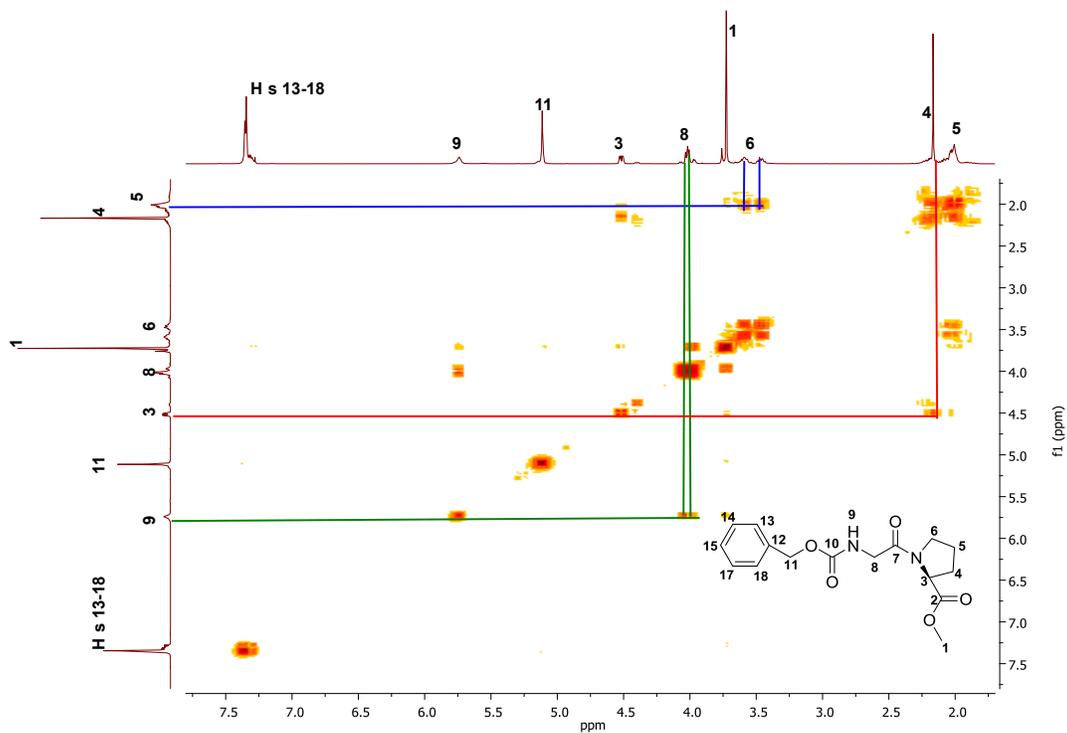


Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del Cbz-*N*-L-Gli-Pro-O, CDCl_3

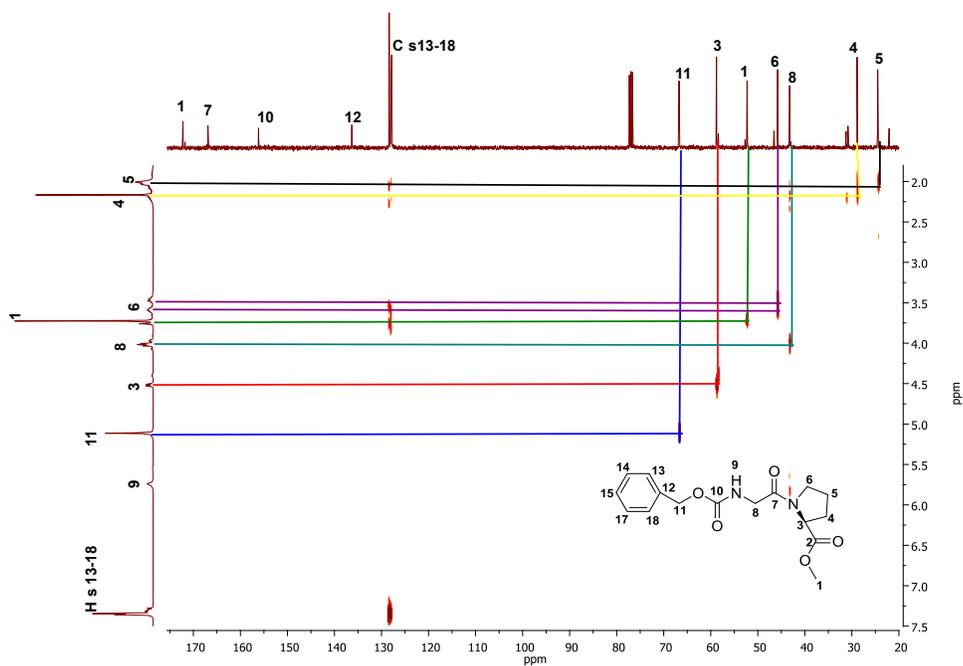


Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del Cbz-*N*-L-Gli-Pro-O, CDCl_3

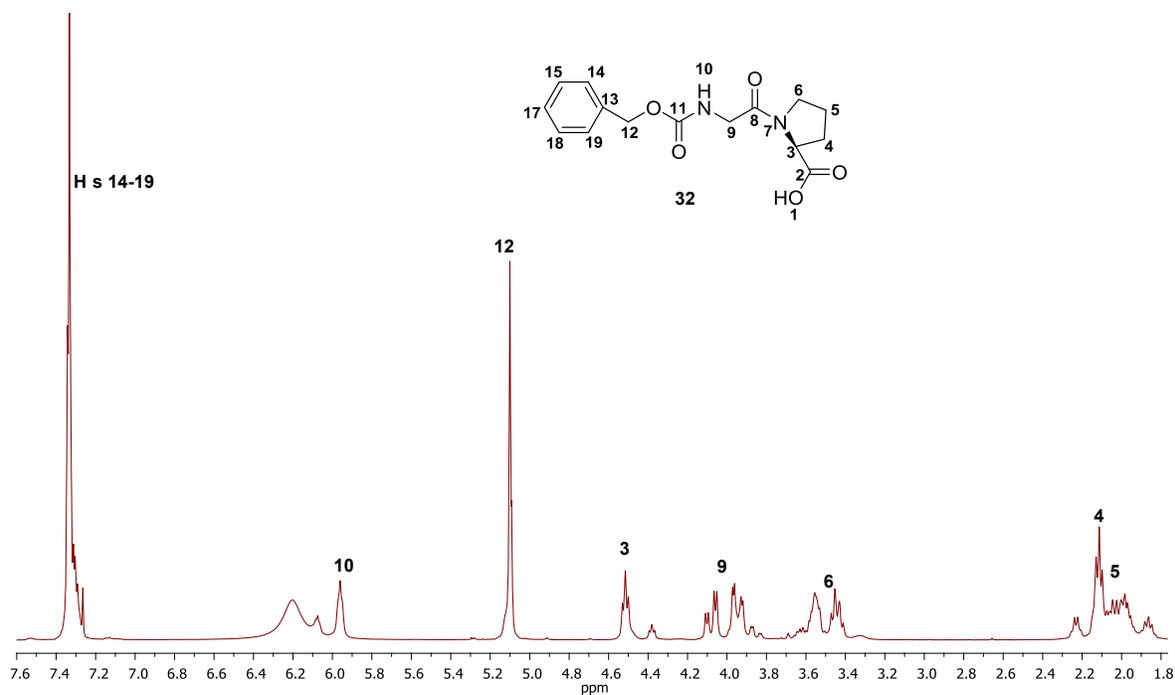
CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR
RADIACIÓN DE MICROONDAS



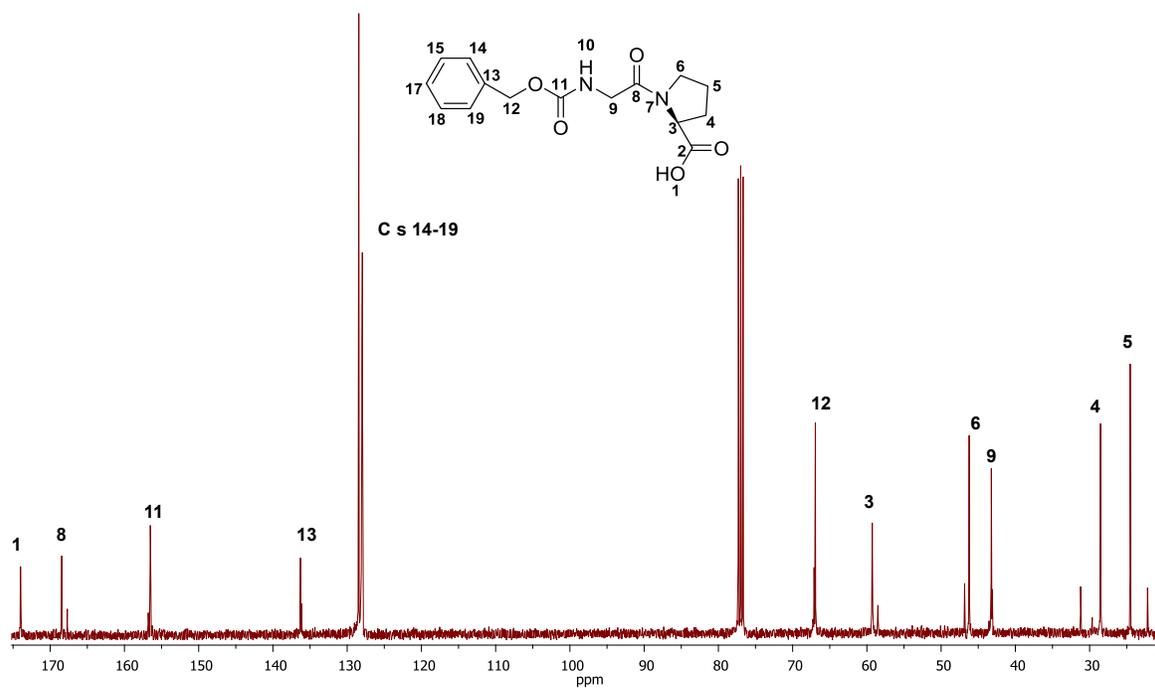
Ampliación del espectro COSY en CDCl_3 a 400 MHz del Cbz-*N*-L-Gli-Phe-O



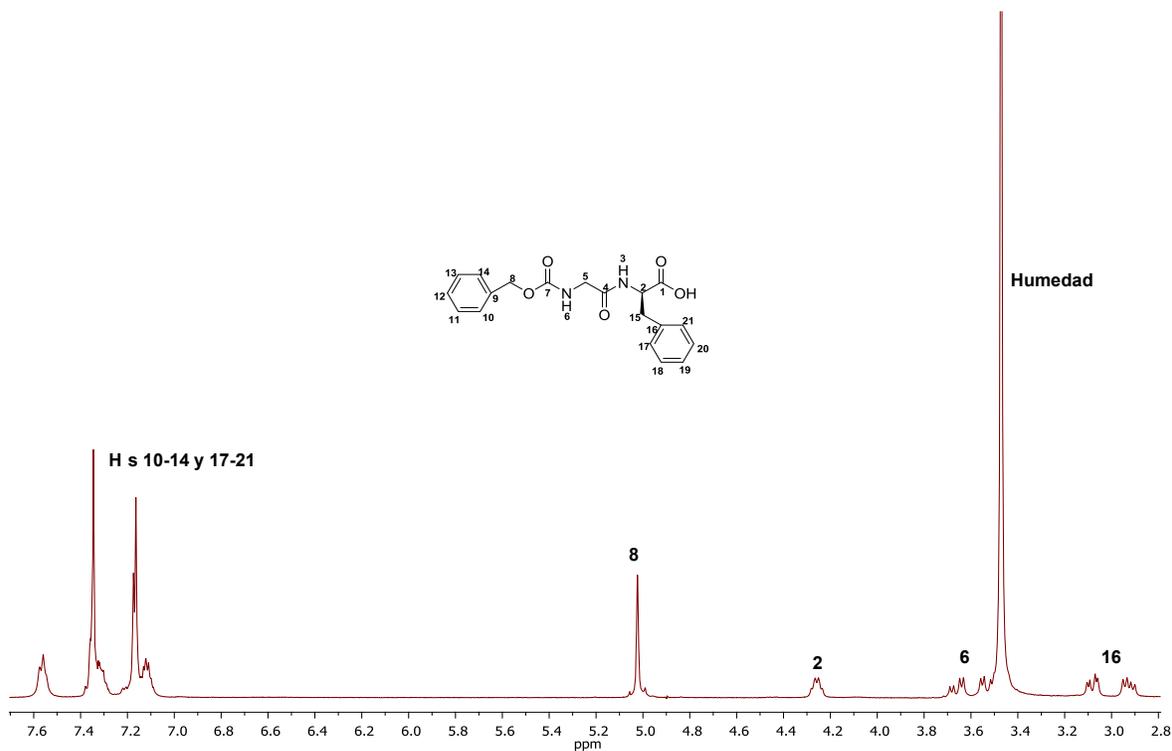
Ampliación del espectro HETCOR en CDCl_3 a 400 MHz del Cbz-*N*-L-Gli-Phe-O



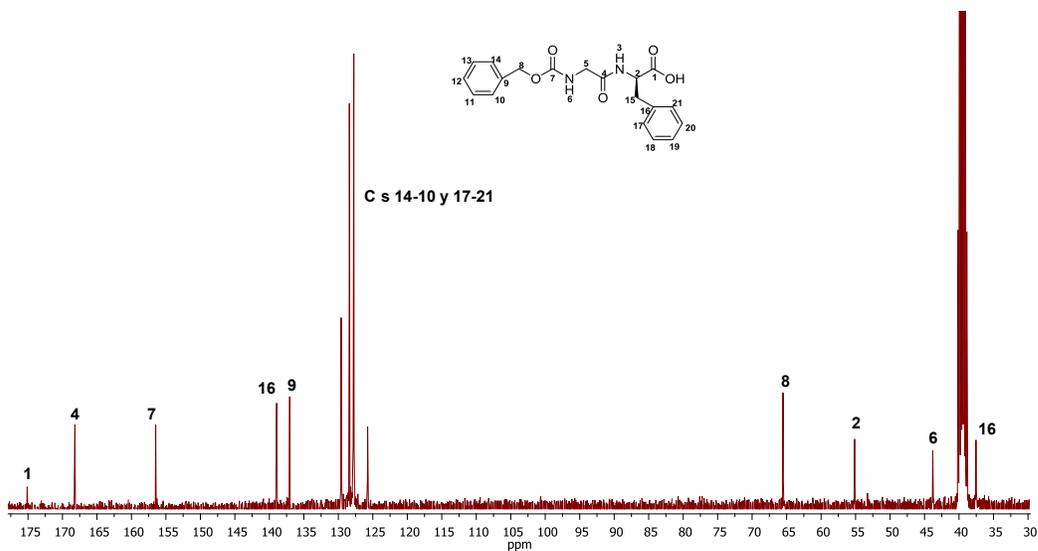
Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) del Cbz-N-L-Gli-Pro-OH, CDCl₃



Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) del Cbz-N-L-Gli-Pro-OH, CDCl₃

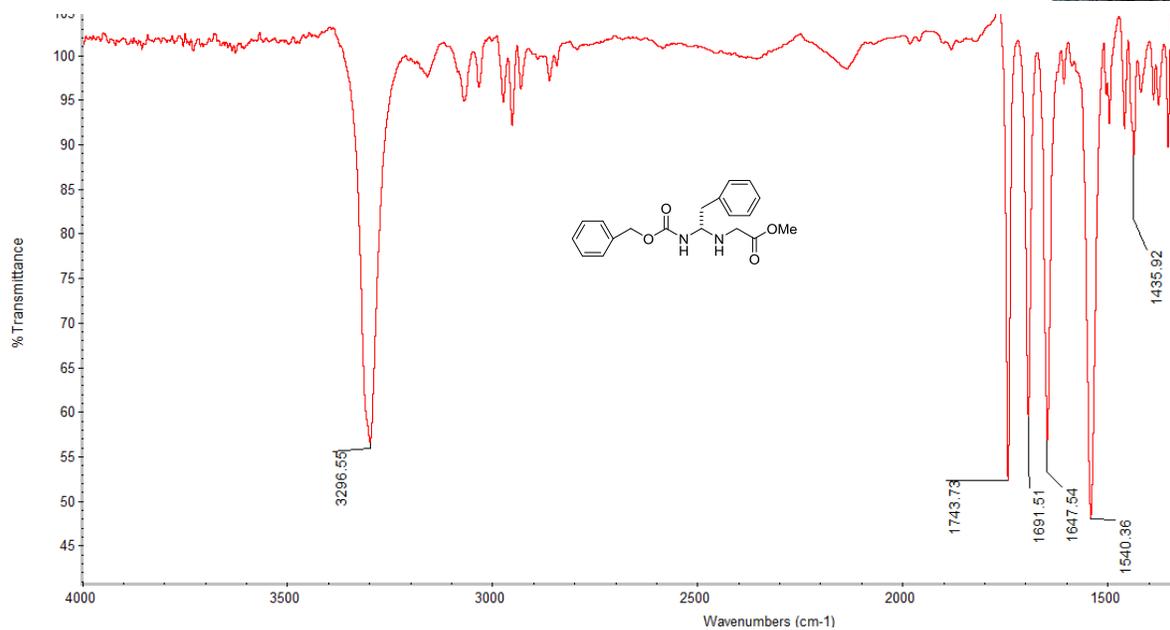


Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del Cbz-*N*-L-Gli-Phe-OH, CDCl_3

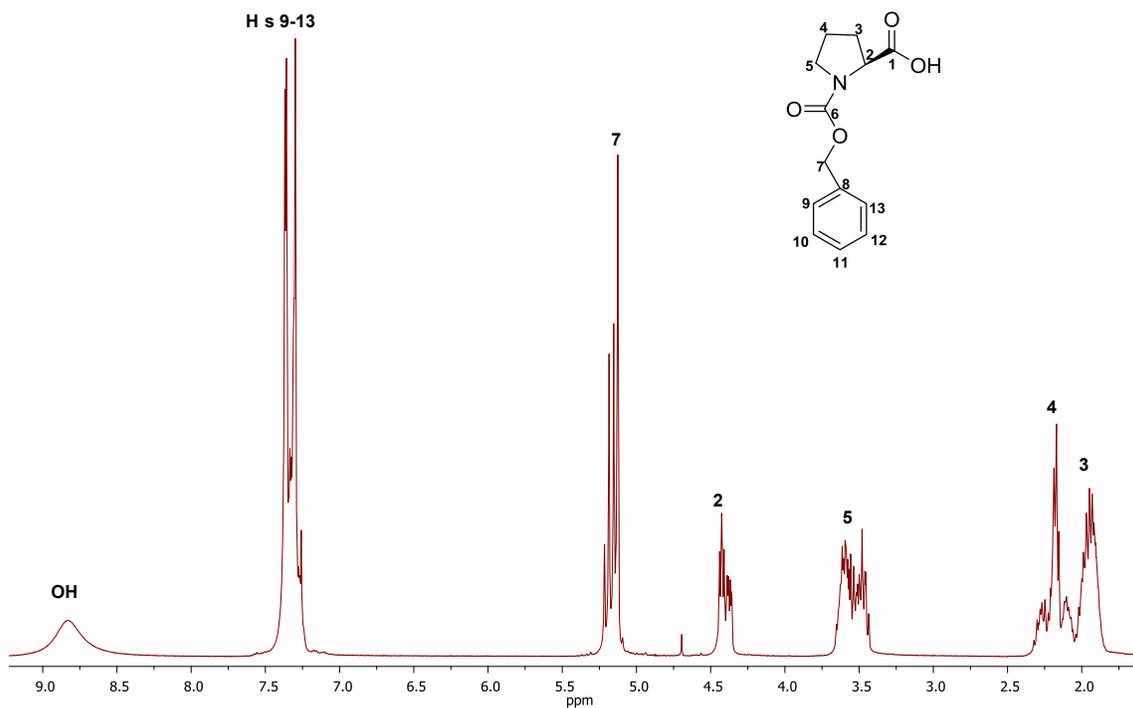


Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del Cbz-*N*-L-Gli-Phe-OH, CDCl_3

CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR
RADIACIÓN DE MICROONDAS

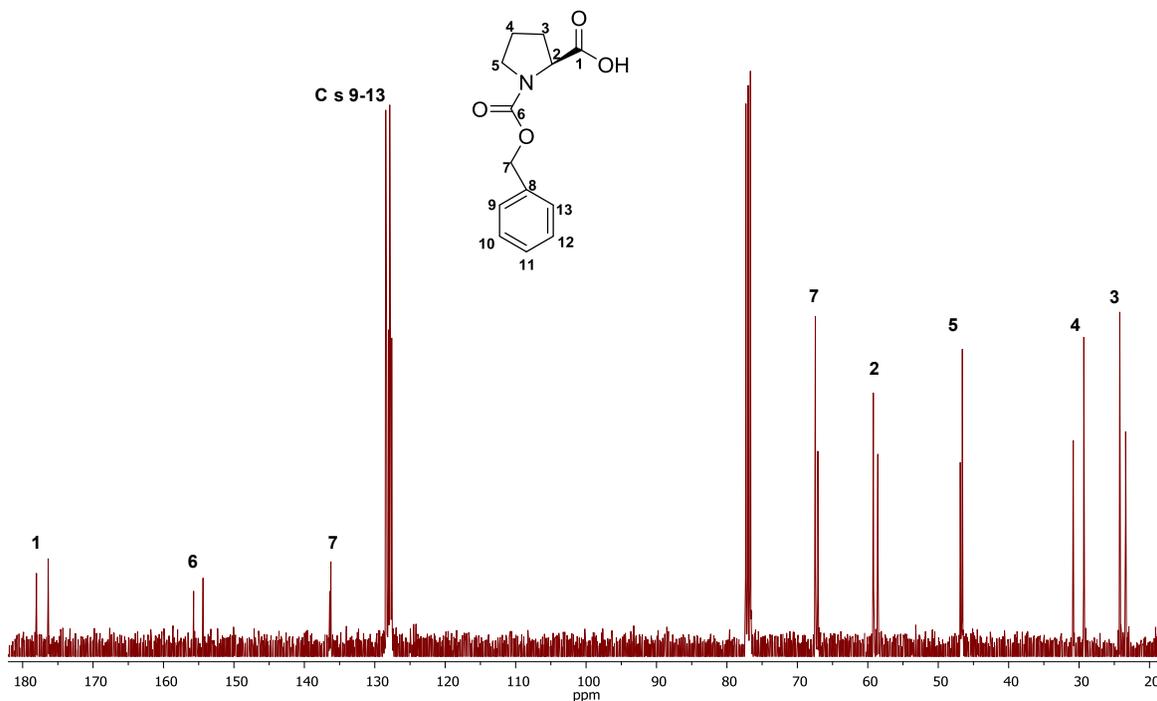


Espectro de IR- Cbz-*N-L*-Fen-Gli-O

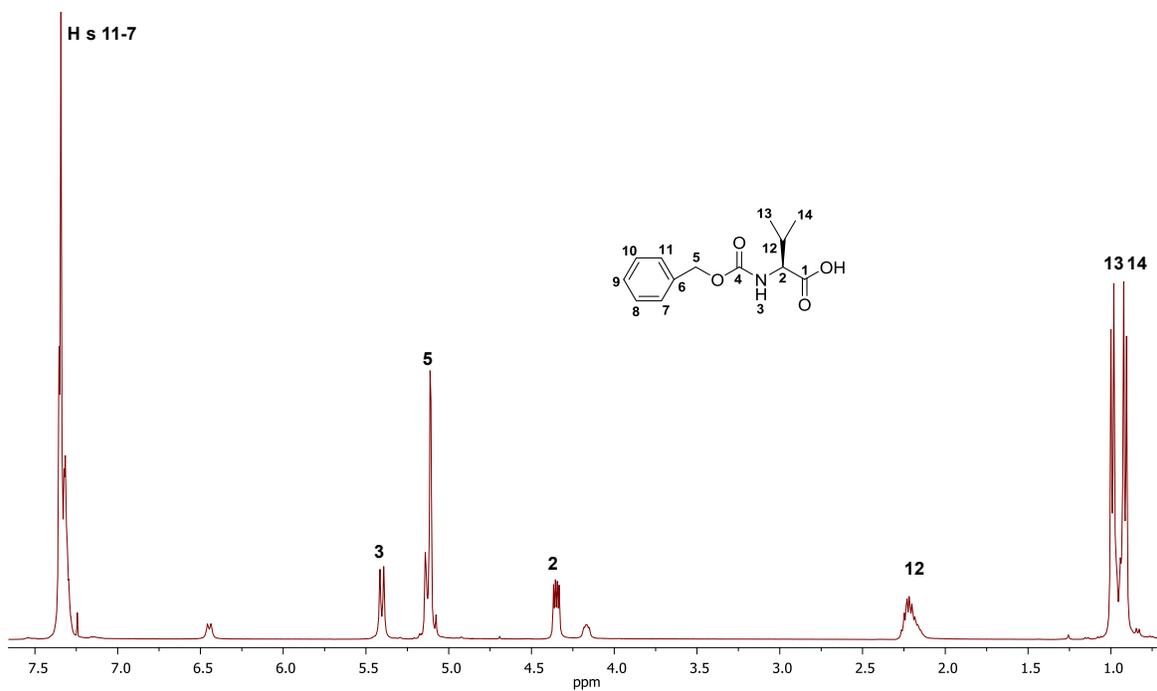


Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del Cbz-*N-L*-Pro, CDCl_3

CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR
RADIACIÓN DE MICROONDAS

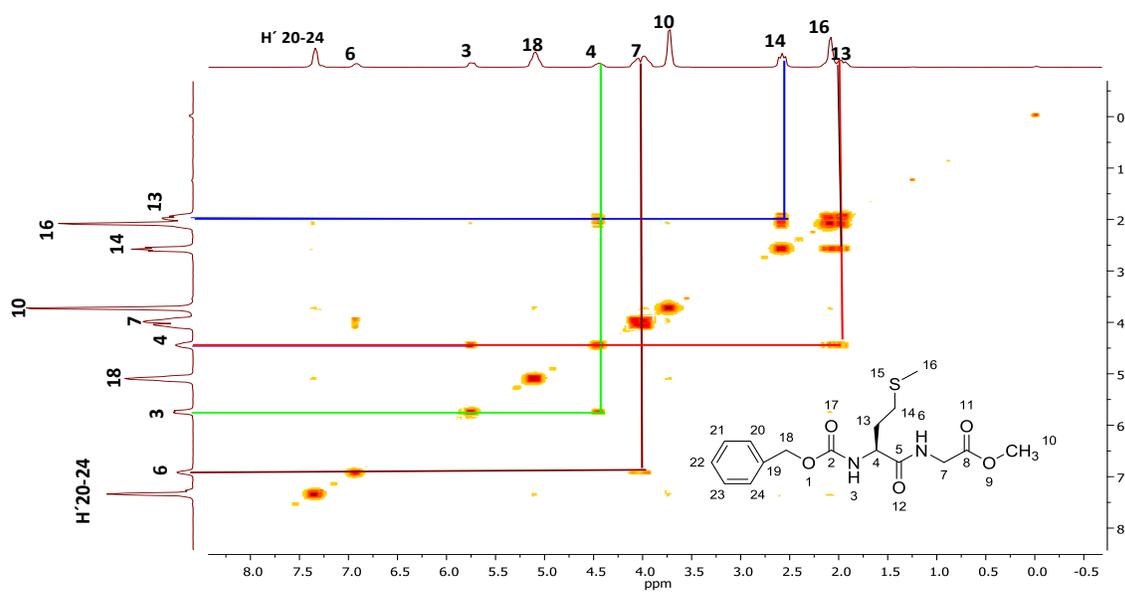
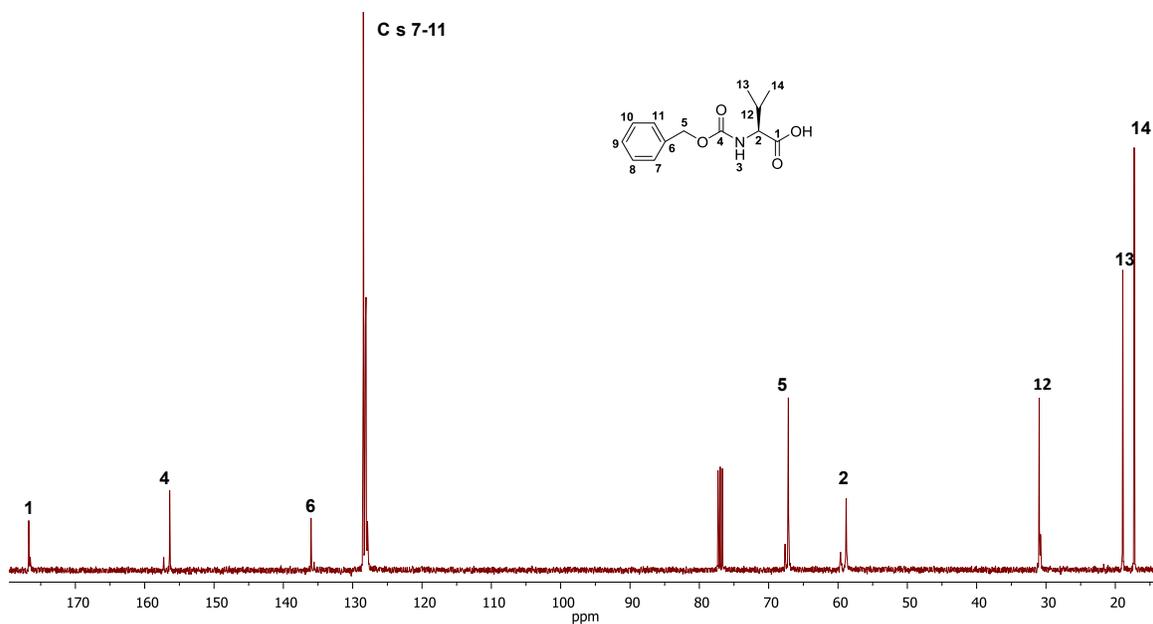


Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) del Cbz-*N*-*L*-Pro, CDCl_3

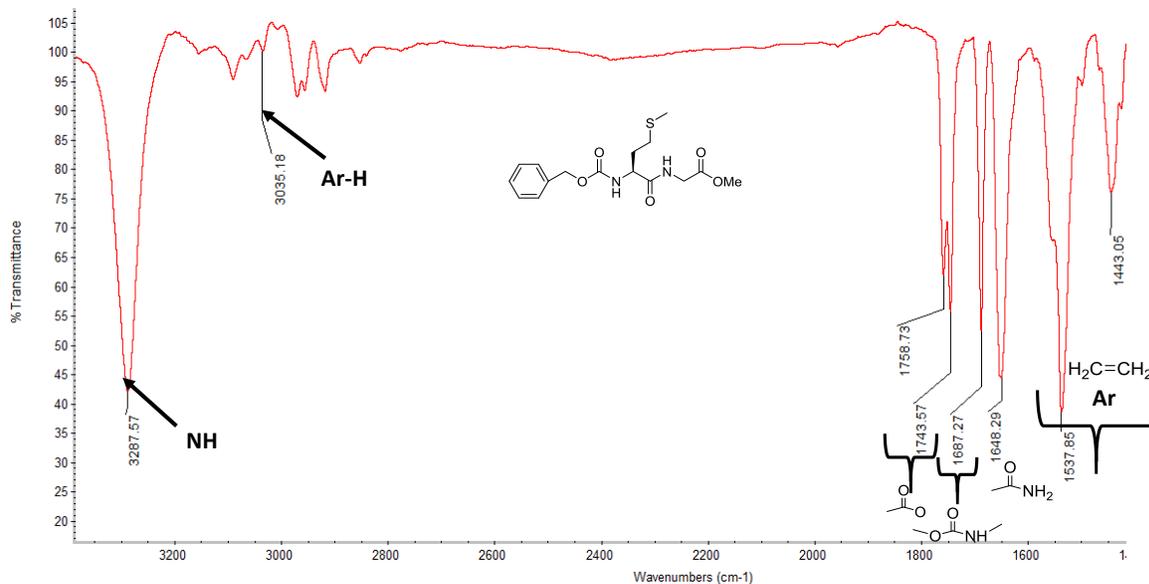


Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del Cbz-*N*-*L*-Val, CDCl_3

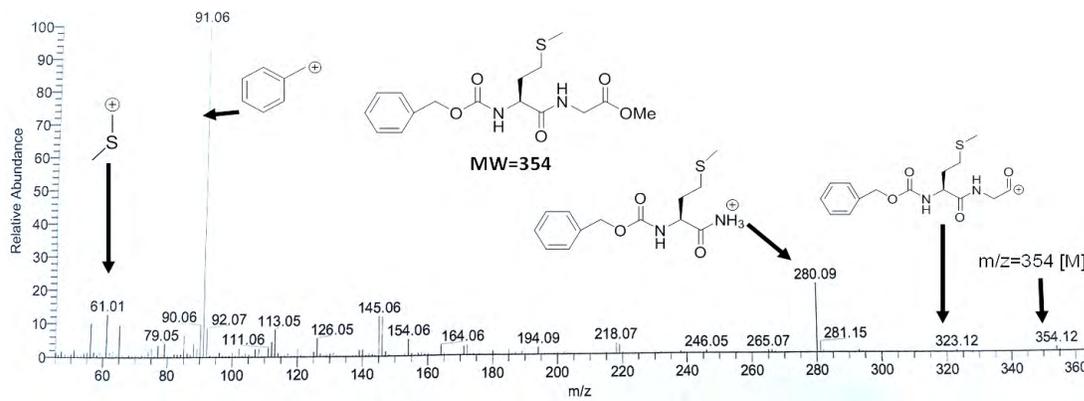
CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR
RADIACIÓN DE MICROONDAS



CICLACIÓN DE DERIVADOS PEPTÍDICOS PROMOVIDA POR RADIACIÓN DE MICROONDAS



Espectro de IR del compuesto Cbz-N-L- Met-Gli-OMe



Espectro de EM del compuesto Cbz-N-L- Met-Gli-OMe

