



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

SELECTIVIDAD EN LAS REACCIONES DE
 α -AMINOÁCIDOS

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA
Q. HÉCTOR JACOBO RÍOS QUIROZ



TUTOR: Dr. JOSÉ ALFREDO VÁZQUEZ MARTÍNEZ AÑO: 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente	Dr. Luis Ángel Maldonado Graniel
Vocal	Dr. José Norberto Farfán García
Vocal	Dr. Jaime Escalante García
Vocal	Dr. René Miranda Ruvalcaba
Secretario	Dr. Marcos Hernández Rodríguez

Sitio donde se desarrollo el tema:

Laboratorio 203, Departamento de Química Orgánica
División de Estudios de Posgrado
Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

Asesor:

Dr. José Alfredo Vázquez Martínez

Sustentante:

Q. Héctor Jacobo Ríos Quiroz

Agradecimientos

Al M. en C. Fernando León Cedeño, por haber sido una piedra angular en el desarrollo del presente trabajo con la dedicación desinteresada, el tiempo y el apoyo académico que me proporciono durante mi estancia en el Laboratorio 203.

Al Dr. José Alfredo Vázquez Martínez, por su apertura, por el apoyo y los consejos en la realización de éste trabajo.

A todos los miembros de H. Jurado, por las aportaciones y los valiosos comentarios que han enriquecido el presente trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico proporcionado para el desarrollo y conclusión del presente trabajo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por todas las oportunidades que me ha brindado:

“Por mi raza hablará el espíritu”

A person starts to live when he can live outside himself.

Albert Einstein

Contenidos

Capitulo 1 Introducción	
1.1 Generalidades de los α -aminoácidos.	1
1.2 Importancia de los aminoácidos en la formación de péptidos	4
1.3 Importancia de los grupos protectores en síntesis peptídica.	5
Capitulo 2 Antecedentes	
2.1 Generalidades de los grupos protectores.	7
2.2 Protección del grupo α -amino.	10
2.3 Protección del grupo ácido carboxílico	15
2.4 Grupos protectores en la cadena lateral de algunos aminoácidos	20
2.5 Grupos protectores bidentados	25
2.6 9-Borabicyclo[3.3.1]nonano (9-BBN) en síntesis orgánica.	28
Capitulo 3 Objetivos	
3.1 Objetivo general.	32
Capitulo 4 Hipótesis	34
Capitulo 5 Análisis de Resultados	
5.1 Ruta sintética	35
5.2 Reacción de obtención de las diferentes oxazaborolidinonas.	36
5.3 Reacción de liberación del aminoácido.	44
5.4 Reacciones de protección de las cadenas laterales de las oxazaborolidinonas obtenidas.	49
Capitulo 6 Conclusiones	62
Capitulo 7 Desarrollo Experimental	
7.1 Métodos generales	64
7.2 Datos espectroscópicos	64
7.3 Procedimiento experimental	65
Capitulo 8 Bibliografía	74
Anexos Espectroscopia	77

Acrónimos

Al	Alilo
Alloc	Aliloxicarbonilo
Bn	Bencilo
Cbz	Benciloxicarbonilo
Bpoc	2-(4-Bifenil)isopropoxicarbonilo
^tBu	<i>tert</i> -Butilo
Boc	<i>tert</i> -Butoxicarbonilo
cHx	Ciclohexilo
ivDde	2-chlorobenciloxicarbonilo (Cl-Z), 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxiciclohex-1-ilideno)-3-metil-butilo
Dmb	2,4-Dimetoxibencilo
DMSO	Dimetilsulfóxido
Bsmoc	(1,1-Dioxobenzo[b]tiofen-2-ilo)metoxicarbonilo
Dts	Ditiasuccinoílo
Et	Etilo
Fmoc	9-Fluorenilmetoxicarbonilo
Fm	9-Fluorenilmetilo
Me	Metilo
MeOH	Metanol
<i>o</i>NBS	<i>o</i> -nitrobencensulfonilo
<i>p</i>NB	<i>p</i> -Nitrobencilo
Nsc	2-(4-Nitrofenilsulfonil)etoxicarbonilo
THF	Tetrahidrofurano
Tr	Tritilo

Capítulo 1

Introducción

La relación entre la estructura de un compuesto y la funcionalidad química presente en él, alcanza su máxima expresión en la química de los aminoácidos, péptidos y proteínas.

Los aminoácidos, como su nombre lo indica, son compuestos bifuncionales, ya que todos estos contienen por lo menos un grupo amino y un grupo carboxilo, aunque algunos de ellos pueden tener otros grupos funcionales presentes dentro de su estructura. Los aminoácidos se clasifican en α , β , γ , y así sucesivamente, según sea la posición del grupo amino en la cadena de carbonos que contiene además la función ácido carboxílico. Los α -aminoácidos adquieren mayor relevancia, ya que todos los aminoácidos de los cuales derivan los péptidos y las proteínas son α -aminoácidos^[1].

1.1 Generalidades de los α -aminoácidos.

Todos los α -aminoácidos con excepción de la L-prolina (**9**) tienen una función amina primaria unida al carbono α , por lo cual la estructura general para los α -aminoácidos se muestra en la Figura 1, donde R representa una cadena lateral, específica para cada uno de los α -aminoácidos.

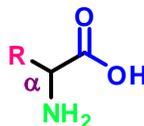


Figura 1. Estructura general de los α -aminoácidos.

α-Aminoácidos encontrados en las proteínas

Aminoácidos con cadenas laterales no polares

Glicina Gly (G)	Alanina Ala (A)	Valina Val (V)	Leucina Leu (L)	Isoleucina Ile (I)
1	2	3	4	5
Metionina Met (M)	Fenilalanina Phe (F)	Triptófano Trp (W)	Prolina Pro (P)	
6	7	8	9	

Aminoácidos con cadenas laterales no ionizadas

Asparagina Asn (N)	Glutamina Gln (Q)	Serina Ser (S)	Treonina Thr (T)
10	11	12	13

Aminoácidos con cadenas laterales ácidas

Ac. Aspártico Asp (D)	Ac. Glutámico Glu (E)	Tirosina Tyr (Y)	Cisteína Cys (C)
14	15	16	17

Aminoácidos con cadenas laterales básicas

Lisina Lys (K)	Arginina Arg (R)	Histidina His (H)
18	19	20

Tabla 1. α-Aminoácidos encontrados en las proteínas.

A pesar de conocerse la existencia de más de 700 aminoácidos, sólo un grupo de 20 son los que comúnmente se encuentran presentes formando parte de las proteínas (Tabla 1), adicionalmente se conocen dos aminoácidos la selenocisteína (**21**) y la pirrolisina (**22**), los cuales son menos comunes, pero se sabe que existe un codón que los codifica para su expresión en proteínas, con lo cual α -aminoácidos son clasificados como proteínogénicos y no proteínogénicos, según si son codificados o no para su aparición en proteínas naturales.

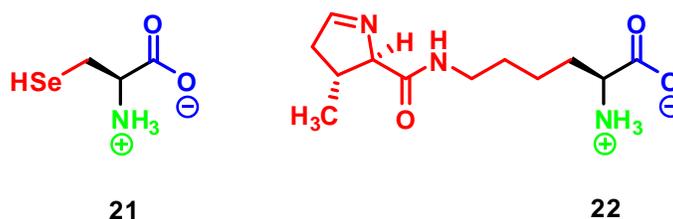
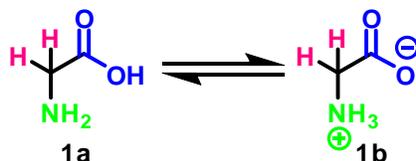


Figura 2. Estructuras de la L-selenocisteína y la L-pirrolisina.

La glicina (**1**) es el aminoácido más simple y el único de los aminoácidos proteínogénicos que es aquiral. En todos los demás aminoácidos, el átomo de carbono α es un centro estereogénico. Las configuraciones de los aminoácidos son especificadas normalmente mediante la notación *D-L* propuesta por Emil Fischer. Todos los aminoácidos obtenidos de proteínas tienen configuración *L* en torno a su átomo de carbono α . A pesar de ello, en la naturaleza se encuentra un número considerable de *D*-aminoácidos, que sin ser proteínogénicos tienen otras funciones, como por ejemplo la *D*-alanina, la cual es un constituyente de la pared celular bacteriana. Además de los descriptores *D-L*, también se utilizan los descriptores estereoquímicos *R* (rectus) y *S* (sinister), los cuales se asignan de acuerdo al sistema propuesto por Cahn-Ingold y Prelog.

Las propiedades físicas de los aminoácidos típicos, indican que son sustancias muy polares, mucho más de lo que se podría esperar basándose simplemente en su fórmula molecular. Por ejemplo, la glicina (**1**) es un sólido cristalino de fórmula molecular $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CO}_2\text{H}$, el cual se descompone al calentarlo a 233°C sin llegar a fundir. Además es muy soluble en agua, pero es prácticamente insoluble en disolventes orgánicos. Estas

propiedades se han explicado tomando en cuenta que la forma estable de la glicina es un zwitterión (**1b**) (Esquema 1).



Esquema 1. Forma estable de la glicina.

Es por ello que la glicina (**1**) como la mayoría de los aminoácidos, se caracteriza por dos valores de pK_a y de otra constante física denominada punto isoeléctrico (pI), que es el pH en el cual el aminoácido no posee carga neta, es decir es el pH en el cual la concentración del zwitterión (**1b**) es máxima.

1.2 Importancia de los aminoácidos en la formación de péptidos^[2].

Una reacción bioquímica clave es la formación de enlaces amida entre aminoácidos, lo cual se conoce como formación de enlaces peptídicos. Al producto de formación de un enlace peptídico entre dos aminoácidos se le llama dipéptido. La cadena peptídica puede alargarse para incorporar tres aminoácidos en un tripéptido, cuatro en un tetrapéptido, y así sucesivamente hasta dar origen a los polipéptidos, los cuales contienen muchas unidades de aminoácidos. Los polipéptidos a su vez dan origen a las proteínas, las cuales son polímeros naturales que contienen más de 50 unidades de aminoácidos.

Los químicos y bioquímicos distinguen varios niveles en una estructura peptídica. La estructura primaria de un péptido es su constitución y corresponde a su secuencia de aminoácidos. La determinación de la estructura primaria puede ser una tarea realmente retadora, puesto que los 22 α -aminoácidos proporcionan un número de bloques moleculares lo bastante grande como para producir una cantidad considerable de dipéptidos, tripéptidos, tetrapéptidos, etc. Por lo tanto, la secuenciación de péptidos es una actividad que requiere de habilidad experimental y un análisis sistemático de datos.

El principio básico en la secuenciación de péptidos, consiste en llevar a cabo la hidrólisis de la proteína, para posteriormente identificar los α -aminoácidos que componen un péptido, así como las proporciones en las que se encuentran presentes, mediante un análisis por cromatografía de intercambio iónico acoplada a espectrometría de masas.

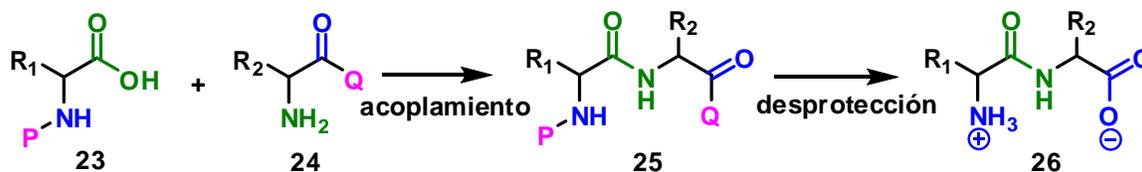
Un modo de confirmar que la secuencia de aminoácidos propuesta para un péptido es correcta, es sintetizar el péptido siguiendo la secuencia de aminoácidos propuesta y comparar ambas estructuras. Sin embargo, los químicos y bioquímicos no preparan péptidos solo para la corroboración estructural, sino también para mejorar el conocimiento de los mecanismos de acción. Alterando sistemáticamente la secuencia de un péptido conocido, es posible determinar la actividad específica de cada uno de los aminoácidos del péptido en el mecanismo de acción del mismo. Aunado a lo anterior en la búsqueda de nuevos fármacos se han preparado muchos péptidos sintéticos.

El objetivo al sintetizar un péptido puede enunciarse sencillamente como: conectar aminoácidos en una secuencia preestablecida por la formación de enlaces peptídicos entre ellos. Para tal efecto se han diseñado una serie de métodos y reactivos muy efectivos en la formación de los enlaces peptídicos. Sin embargo, existe una dificultad inherente a la naturaleza de los aminoácidos al llevar a cabo la síntesis de un péptido. Esta dificultad reside en asegurar que se obtiene la secuencia correcta, ya que en la síntesis de un péptido podrían estar implicados todos los grupos amino de los aminoácidos presentes así como también sus respectivos grupos carboxilo, lo cual podría generar una mezcla al azar de enlaces peptídicos.

1.3 Importancia de los grupos protectores en síntesis peptídica.

Para dirigir la síntesis de tal modo que solo se obtenga el enlace peptídico deseado, se debe proteger el grupo amino de un aminoácido y el grupo carboxilo de otro aminoácido, de tal forma que estos no reaccionen bajo las condiciones de formación del enlace peptídico. A continuación se presenta un ejemplo (Esquema 2) en el cual P y Q son los

grupos protectores que permiten proteger al grupo amino y al grupo carboxilo respectivamente.



Esquema 2. Reacción de obtención de un dipéptido.

Así, la síntesis de un dipéptido de secuencia prescrita requiere de al menos tres operaciones:

1. La protección del grupo amino del aminoácido N-terminal y el grupo carboxilo de aminoácido C-terminal.
2. La unión de ambos aminoácidos protegidos mediante el enlace peptídico.
3. La desprotección del grupo amino del extremo amino y del grupo carboxilo del extremo carboxílico.

Los péptidos superiores se preparan de forma análoga, aplicando esta misma secuencia de operaciones, la cual es general en síntesis peptídica.

Capítulo 2

Antecedentes

La química orgánica sintética se basa en la interacción entre reactivos y catalizadores para llevar a cabo la formación de nuevos enlaces. En algunos casos, para que la formación de dichos enlaces sea lo más eficiente posible, es necesario hacer uso de grupos protectores para prevenir la formación de enlaces no deseados o la aparición de reacciones laterales. Debido a ello, la elección del grupo protector adecuado en prometedoras rutas de síntesis es determinante para la obtención del compuesto final con éxito.

2.1 Generalidades de los grupos protectores.

Uno de los primeros en reconocer la necesidad de enmascarar temporalmente un grupo funcional para permitir la formación regioselectiva de un enlace en la síntesis de carbohidratos fue Emil Fischer. Sin embargo, el que es reconocido como el primer grupo protector moderno es el benciloxycarbonilo (Cbz)(**27**, Figura 3), el cual fue introducido por Bergmann y Zervas.^[3]

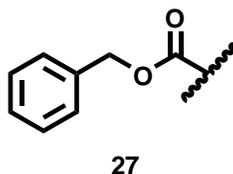


Figura 3. Estructura del benciloxycarbonilo.

El grupo Cbz (**27**) cuenta con las siguientes características que son deseables en un grupo protector:^[4]

- a) La posibilidad de ser introducido con relativa facilidad al grupo funcional.
- b) Ser estable en un amplio rango de condiciones de reacción.

- c) Su remoción es segura al final del proceso de síntesis o cuando el grupo funcional requiere de alguna manipulación.

2.1.1 Ortogonalidad en grupos protectores.

Una piedra angular más, aparece en el campo de los grupos protectores cuando Barany y sus colaboradores describen por primera vez el concepto de ortogonalidad^[5, 6], el cual explican en el sentido de que dos o más grupos protectores de diferente tipo puedan ser removidos por diferentes mecanismos ó condiciones de reacción. De tal forma que los grupos pueden ser removidos sin seguir un orden específico y sin afectar al resto de los grupos protectores presentes en la molécula.

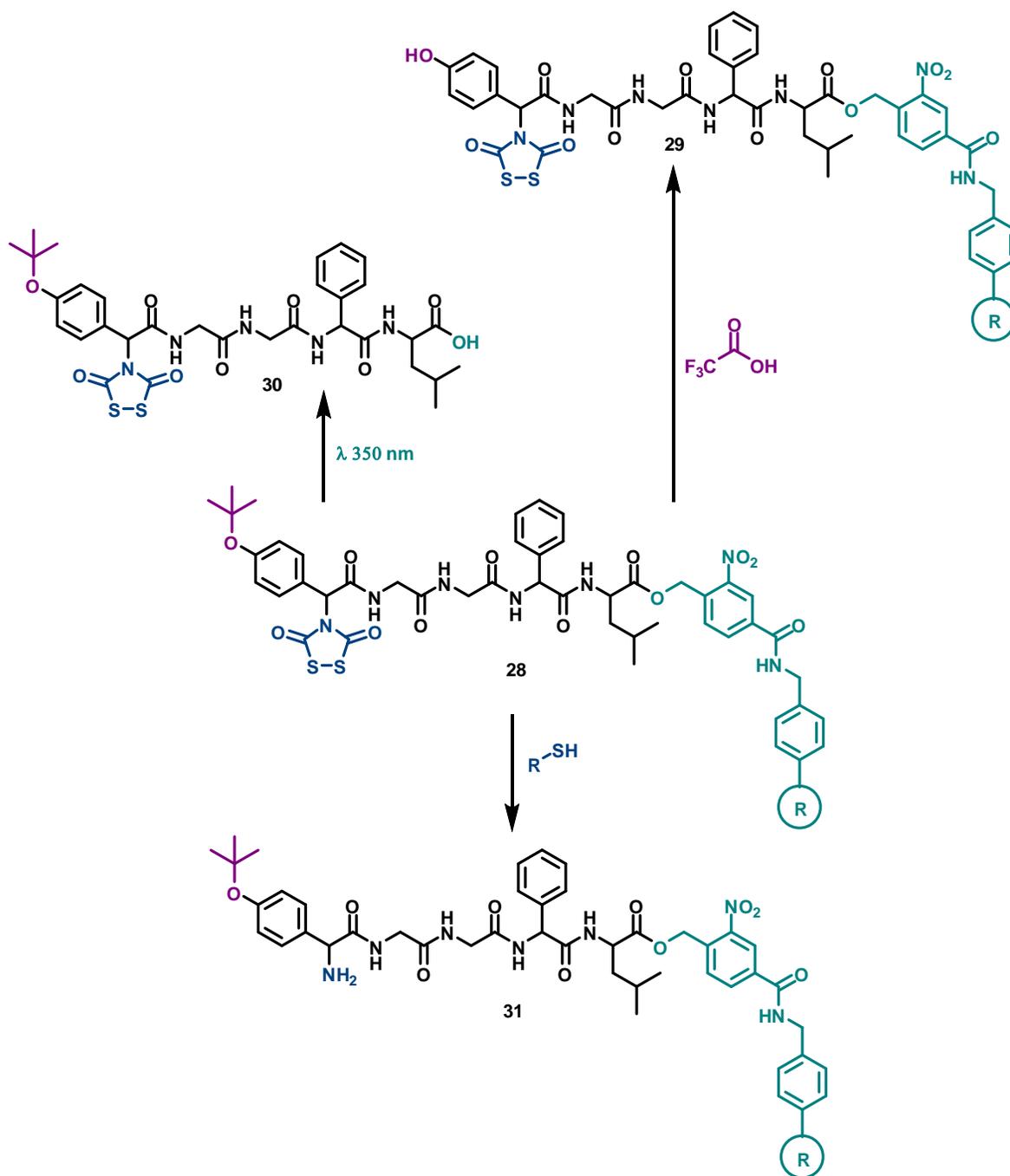
Una ventaja importante que presentan los mecanismo de protección ortogonal radica en el hecho de que estos requieren condiciones de reacción suaves, debido a que la desprotección selectiva no está gobernada por la rapidez de la reacción sino por un mecanismo de reacción alternativo.

El Esquema 3 ilustra con claridad el concepto de ortogonalidad, en una protección ortogonal tridimensional fue llevada a cabo por Barany, para la obtención del pentapéptido Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu, en el cual la desprotección del grupo amino *N*-terminal, del grupo carbonilo C-terminal y del grupo OH de la tirosina, pueden ser llevadas a cabo independientemente, sin que una afecte a las otras.

Los primeros trabajos en el campo de grupos protectores llevados a cabo por Bergmann y Zervas obedecen a una necesidad imperiosa en la síntesis de péptidos, ya que el desarrollo de nuevos y modernos grupos protectores estaba profundamente limitado al desarrollo de la química de moléculas polifuncionales, como es el caso de los péptidos, en los cuales la protección de algunos grupos es necesaria.

Debido a la diversidad de los aminoácidos naturales, los péptidos pueden contener hasta ocho grupos funcionales presentes en su estructura, en adición a los anillos indólicos e imidazólicos, que en algunas ocasiones también deben protegerse, las reacciones de

protección son obligatorias en la síntesis de péptidos. El desarrollo de los grupos protectores en este tipo de química ha permitido su posterior extrapolación para la síntesis de otros compuestos que no necesariamente sean péptidos o aminoácidos.



Esquema 3. Ejemplo de ortogonalidad en grupos protectores.

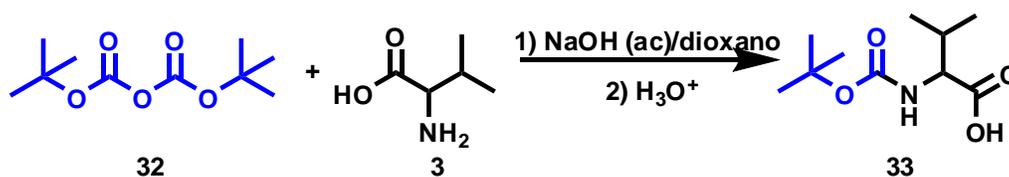
2.2 Protección del grupo α -amino.

La protección del grupo funcional α -amino de los aminoácidos es uno de los temas más importantes en la química de péptidos, pues resulta necesario llevar a cabo este tipo de reacciones para prevenir la polimerización una vez que se han activado los grupos funcionales para llevar a cabo el acoplamiento y formar un enlace peptídico.

Debido a que la mayoría de las síntesis de péptidos, tanto en fase sólida como en solución se llevan a cabo en la dirección C a N, los grupos protectores sobre el grupo amino, deben ser removidos varias veces durante el proceso de síntesis, es decir estos son grupos protectores temporales, y es deseable que su remoción implique condiciones de reacción moderadas que no afecten a los grupos protectores remanentes.

Otra característica deseable e importante de los protectores del grupo amino es el conferir solubilidad en la mayoría de los disolventes comunes y que además estos puedan prevenir la epimerización durante el proceso de acoplamiento. Finalmente, otra característica deseable para este tipo de grupos protectores es que los péptidos protegidos sean sólidos cristalinos para que se facilite su manipulación.

Al haber varios tipos de grupos protectores del grupo funcional α -amino, existe también un gran número de metodologías para llevar a cabo dicha protección^[1]. La mayoría de ellas se basan en la reacción de los aminoácidos libres o bien, protegidos en la cadena lateral (para algunos aminoácidos libres como la lisina (**18**) y la ornitina) con el haloformiato o el dicarbonato del grupo protector bajo las condiciones de la reacción de Schotten Baumann: condiciones básicas en sistemas bifásicos disolvente orgánico-agua Esquema 4.



Esquema 4. Protección típica de un aminoácido con el grupo Boc.

2.2.1 Grupos protectores del grupo amino removidos bajo condiciones de reacción ácidas.

tert-Butoxicarbonilo (Boc, 34).^[7,8] Los aminoácidos protegidos con el grupo Boc (**34**) (Boc-aminoácidos) son generalmente sólidos cristalinos, lo que permite que sean ampliamente usados en la síntesis de péptidos en fase sólida. Este grupo protector se ha usado con éxito en diversas síntesis de péptidos. Las condiciones para la remoción del grupo Boc (**34**) implican hacer uso de una solución de ácido trifluoroacético con una concentración del 20 al 50% en diclorometano, aunque se han empleado algunas otras condiciones, como por ejemplo el cloruro de trimetilsilano en diclorometano. El grupo Boc (**34**) es estable bajo condiciones de reacción básicas, así como también bajo las condiciones de reacción de una hidrogenación catalítica por lo cual es ampliamente usado en lo que suele llamarse la estrategia Boc/Bn en la síntesis de péptidos en fase sólida.

Tritilo (Tr, 35).^[9,10] Los acoplamientos efectuados con el grupo tritilo suelen dar un menor rendimiento comparado con aquellos protegidos con la funcionalidad carbamato. Sin embargo, a pesar de que el acoplamiento requiera de una activación más fuerte, se emplean debido a que el volumen del grupo tritilo protege al protón α de una posible abstracción de la base, lo cual hace que los Tr-aminoácidos sean más difíciles de racemizar. La liberación del aminoácido en los Tr-aminoácidos se lleva a cabo con soluciones diluidas de ácido trifluoroacético en diclorometano.

2-(4-Bifenil)isopropoxicarbonilo (Bpoc, 36).^[11,12] Este es un grupo muy sensible a las condiciones ácidas. Pertenece a la familia de los carbamatos que son los grupos protectores de la funcionalidad α -amino. Este grupo protector es removido con soluciones muy diluidas de ácido trifluoroacético (0.2-0.5%). La mayoría de los aminoácidos protegidos con el grupo Bpoc son aceites inestables, debido a que la acidez del grupo α -ácido carboxílico es lo suficientemente alta para liberar al grupo Bpoc.

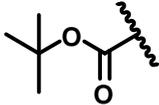
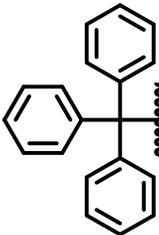
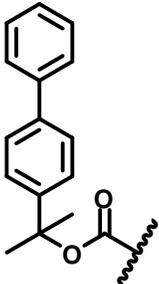
Grupos removidos en condiciones ácidas.	
Estructura	Condiciones de remoción
 <p>34</p>	<p>1) $\text{CF}_3\text{COOH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (25-50%)</p> <p>2) TMSCl (1M)$\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ (1M) CH_2Cl_2</p>
 <p>35</p>	<p>$\text{CF}_3\text{COOH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1%)</p>
 <p>36</p>	<p>$\text{CF}_3\text{COOH} \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ (0.2-0.5%)</p>

Tabla 2. Grupos protectores de la funcionalidad amino removidos en condiciones de reacción ácidas.

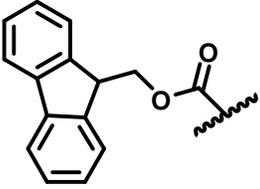
2.2.2 Grupos protectores del grupo amino removidos bajo condiciones de reacción básicas.

9-Fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc, 37). ^[13,14] Este grupo protector es fácilmente removido usando aminas secundarias y presenta como principal ventaja el ser estable a condiciones de reacción ácidas, aun cuando no es completamente estable bajo las condiciones de hidrogenólisis. Las condiciones de liberación son diversas y se ha usado desde amoníaco líquido en un tiempo de reacción de 10 h hasta morfolina o piperidina en un tiempo de reacción de minutos. A pesar del amplio uso que se le ha dado al grupo Fmoc (**37**) como grupo protector, este presenta como desventaja el que sus derivados muestran una baja solubilidad en la mayoría de los disolventes usados comúnmente, lo cual ha obligado al

desarrollo de nuevos grupos protectores que sean lábiles bajo condiciones de reacción básicas.

2-(4-Nitrofenilsulfonyl)etoxicarbonilo (Nsc, 38).^[15, 16] Este grupo protector es considerado como la mejor alternativa al uso del grupo Fmoc (**37**). Los Nsc-aminoácidos son normalmente sólidos cristalinos más solubles en disolventes orgánicos que los Fmoc-aminoácidos. La desprotección de los Nsc-aminoácidos puede llevarse a cabo usando una disolución de piperidina al 20% o bien con una solución de DBU al 1% en DMF o en DMF-dioxano. El grupo Nsc es tres veces más estable bajo condiciones básicas que el grupo Fmoc, lo cual representa una ventaja en síntesis peptídica cuando se involucran aminoácidos de cadena lateral básica, en los cuales la liberación prematura del grupo Fmoc (**37**) suele ser un inconveniente.

(1,1-Dioxobenzo[b]tiofen-2-ilo)metoxicarbonilo (Bsmoc, 39).^[17, 18] La principal diferencia de este grupo funcional frente a los dos anteriores, se basa en el mecanismo por el cual se lleva a cabo su ruptura. Mientras que para el caso de Fmoc (**37**) y del Nsc (**38**) el mecanismo de liberación es a través de una β -eliminación, para el Bsmoc (**39**) el mecanismo que opera es a través de una adición de Michael. Bsmoc-aminoácidos han sido utilizados en la síntesis de varios péptidos en los cuales, para su ruptura se utilizó una disolución de piperidina del 2 al 5 % en dimetilformamida.

Grupos removidos bajo condiciones básicas.	
Estructura	Condiciones de remoción
 <p style="text-align: center;">37</p>	<p style="text-align: center;">1) NH₃ (10 h)</p> <p style="text-align: center;">2) Piperidina o morfolina</p>

	piperidina DMF (20 %)
38	
	piperidina DMF (2-5%)
39	

Tabla 3. Grupos protectores de la funcionalidad amino removidos en condiciones de reacción básicas.

2.2.3 Otros grupos protectores

Benciloxycarbonilo (Cbz, 27).^[3] Este es uno de los grupos protectores más ampliamente usados para la protección del grupo funcional amino en procesos de síntesis peptídica en solución, debido a la fácil preparación y alta estabilidad que presentan los Z-aminoácidos, además de la versatilidad con la que este grupo puede ser removido del aminoácido. Es posible llevar a cabo la liberación por hidrogenólisis o bien con el uso de ácidos fuertes; como por ejemplo una disolución de HBr en ácido acético o bien ácido trifluoroacético a altas temperaturas.

Aliloxycarbonilo (Alloc, 40).^[19] La remoción de este grupo protector se lleva a cabo via la tranferencia de la unidad alilo a algún nucleófilo, la cual es catalizada por paladio y usualmente se utiliza Pd(PPh₃)₄ en un medio que pueda proveer protones. La presencia del nucleófilo en el medio de reacción es importante para prevenir la posible alilación del aminoácido, una vez que el grupo Alloc (**40**) ha sido removido. El uso del grupo Alloc es compatible con las estrategias Boc/Bn y Fmoc/^tBu.

Ditiasuccinoílo (Dts, 41).^[6] Una característica importante de este grupo protector es el poder ser removido bajo condiciones de reacción moderadas, via una reacción de tiólisis usando una disolución de β-mercaptoetanol 0.5 M y otra de N,N-diisopropiletilamina 0.5 M en diclorometano. A pesar de que el grupo Dts (**41**) no es de uso común en síntesis

peptídica, ha encontrado otros campos para sus aplicación como es el caso de algunos O-glicopéptidos o de péptidos unidos a ácidos nucleicos.

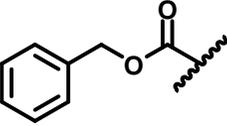
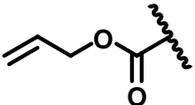
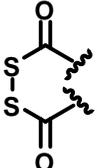
Otros grupos protectores.	
Estructura	Condiciones de remoción
 <p>27</p>	<p>1) H₂, catalizador</p> <p>2) HBr en AcOH, ó</p> <p>CF₃COOH alta temperature</p>
 <p>40</p>	<p>H₃N'BH₃, Pd(PPh₃)₄ cat.</p>
 <p>41</p>	<p>CH₃CH₂SH 0.5 M, DIPEA 0.5 M</p> <p>CH₂Cl₂</p>

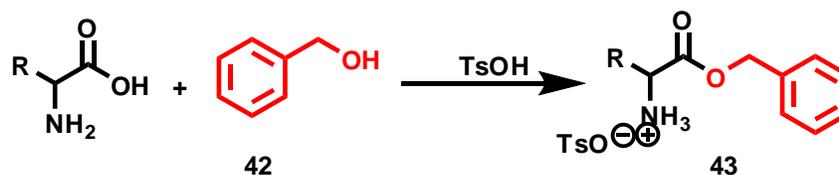
Tabla 4. Grupos protectores de la funcionalidad amino removidos en diferentes condiciones de reacción.

2.3 Protección del grupo ácido carboxílico.

A diferencia del grupo α -amino, la protección del grupo ácido carboxílico es diferente si la síntesis se lleva a cabo en fase sólida o en disolución. En la mayoría de las síntesis peptídicas en fase sólida, estas se llevan a cabo en la dirección C a N, en las que es común usar el soporte sólido para actuar también como grupo protector. Sin embargo, aunque menos frecuente, en algunas rutas de síntesis se requiere el uso de grupos protectores para el ácido carboxílico. Estos son los casos, en las que las síntesis se hacen en la dirección N a C o bien en las síntesis peptídicas que se llevan a cabo en disolución.

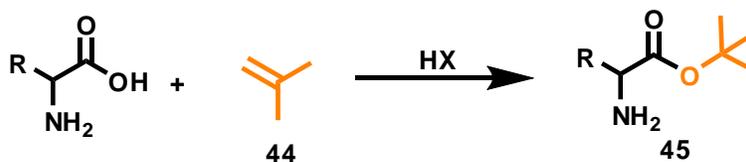
La protección del grupo α -ácido carboxílico se realiza principalmente por alguno de los siguientes métodos^[1]:

- 1) Reacción del aminoácido libre con un alcohol bajo condiciones de reacción ácidas.



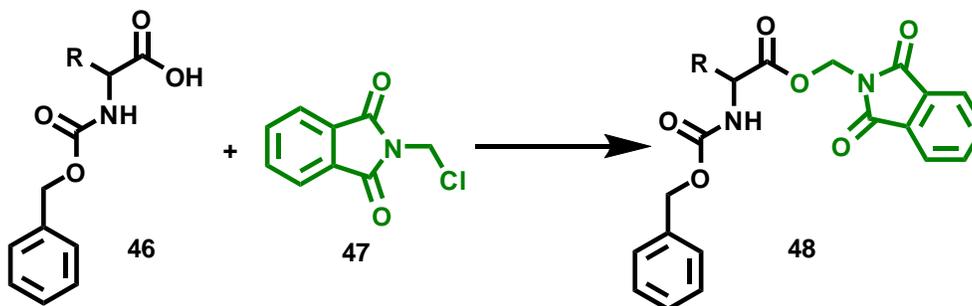
Esquema 5. Reacción de esterificación para la protección de la funcionalidad ácido carboxílico.

- 2) La protección con el grupo *tert*-butilo (**51**) se lleva a cabo mediante la reacción del aminoácido libre con isobuteno bajo condiciones ácidas.



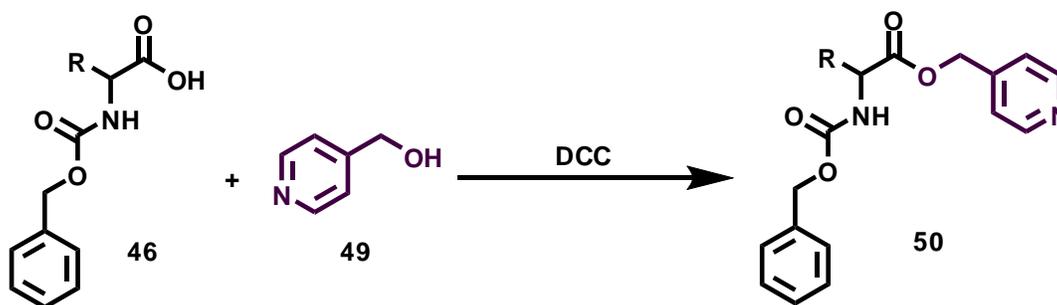
Esquema 6. Uso del grupo *tert*-butilo como grupo protector del ácido carboxílico.

- 3) La reacción de un aminoácido con el grupo amino protegido, con el halogenuro del grupo protector, en medio básico.



Esquema 7. Protección del ácido carboxílico usando halogenuros.

- 4) La reacción de un aminoácido con el grupo amino protegido con un alcohol y algún agente condensante como la dicitohexilcarbodiimida (DCC) en medio básico.



Esquema 8. Protección del ácido carboxílico con agentes acoplantes.

Para el caso específico de los ácidos aspártico (**14**) y glutámico (**15**), se siguen dos estrategias generales:

- 1) Después de la protección selectiva de la cadena lateral, lo cual usualmente se realiza vía la obtención del éster de la cadena lateral usando el aminoácido que se encuentra formando un complejo con cobre (Esquema 11).
- 2) La protección selectiva del α -ácido carboxílico vía la formación del anhídrido intramolecular entre los dos ácidos carboxílicos, usando como materia prima el aminoácido protegido en la funcionalidad α -amino.

2.3.1 Grupos protectores del grupo ácido carboxílico removidos en condiciones de reacción ácidas.

tert-Butilo (^tBu, 51).^[20] Este grupo protector es usado tanto en síntesis en fase sólida como en disolución. Es removido con altas concentraciones de ácido trifluoroacético o bien con HCl en disoluciones de algún disolvente orgánico. Cuando se usan estas últimas condiciones puede ser usado con Bpoc y Cbz-aminoácidos, debido a que presentan una alta estabilidad a la catálisis básica.

2,4-Dimetoxibencilo (Dmb, 52). ^[21] La desprotección de este grupo se lleva a cabo usando disoluciones de ácido trifluoroacético en diclorometano, y esta ocurre en pocos minutos. Debido a la labilidad de este grupo protector en condiciones de reacción ácidas este puede ser removido con facilidad en presencia del grupo ^tBu.

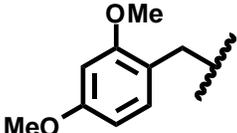
Grupos removidos en condiciones ácidas.	
Estructura	Condiciones de remoción
 51	1) CF ₃ COOH-CH ₂ Cl ₂ (90 %) 2) HCl dioxano 4M
 52	CF ₃ COOH-CH ₂ Cl ₂ (1 %)

Tabla 5. Grupos protectores de la funcionalidad ácido carboxílico removidos en condiciones de reacción ácidas.

2.3.2 Grupos protectores del grupo amino removidos en condiciones de reacción básicas.

9-Fluorenilmetilo (Fm, 53). ^[22] La remoción de este grupo protector de un aminoácido protegido se lleva a cabo con disoluciones de aminas secundarias en disolventes como diclorometano o N, N-dimetilformamida. Adicionalmente es posible llevar a cabo la desprotección vía una reacción de hidrogenación catalítica. Se usa principalmente para síntesis peptídica en fase sólida.

Metilo (Me) y Etilo (Et, 54) ^[23]. Los ésteres de etilo y metilo son removidos vía una reacción de saponificación usando hidróxido de litio, el cual tiene el inconveniente de que puede causar la epimerización y degradación de aminoácidos como la serina, cisteína y treonina.

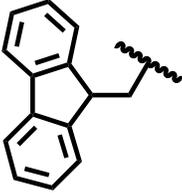
Grupos removidos en condiciones básicas.	
Estructura	Condiciones de remoción
 <p>53</p>	Piperidina DMF (20 %)
 <p>54</p>	LiOH

Tabla 6, Grupos protectores de la funcionalidad ácido carboxílico removidos en condiciones básicas de reacción.

2.3.3 Otros grupos protectores.

Bencilo (Bn, 55).^[24] Este grupo protector es usado principalmente en síntesis peptídica en disolución. La remoción de este grupo se lleva a cabo en condiciones de hidrogenólisis, aunque también puede efectuarse vía saponificación. La liberación del grupo en condiciones ácidas también es posible, aunque se debe evitar en la medida de lo posible, ya que requiere condiciones fuertemente ácidas.

Alilo (Al, 56).^[25] La remoción de este grupo protector requiere de un compuesto de paladio y de un nucleófilo. Dentro de las condiciones que se han descrito para llevar a cabo dicha reacción están las que utilizan morfolina como nucleófilo y Pd(PPh₃)₄ como catalizador en una mezcla THF-DMF como disolventes.

p-Nitrobencilo (pNB, 57).^[26] La característica principal de este grupo es que es muy estable a las condiciones ácidas de reacción. Para su remoción se usan una amplia variedad de agentes reductores tales como: Na₂S, Na₂S₂O₄ o SnCl₂ aún cuando también es posible su liberación vía hidrogenólisis.

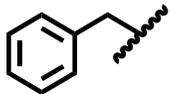
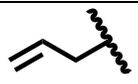
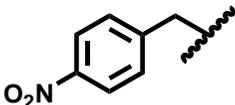
Otros grupos protectores.	
Estructura	Condiciones de remoción
 55	1) H ₂ , catalizador 2) HF 3) NaOH disolventes orgánicos
 56	Pd(PPh ₃) ₄ (0.1 eq), PhSiH ₃ (10 eq) CH ₂ Cl ₂
 57	1) SnCl ₂ en DMF, 2) Na ₂ S ₂ O ₄ , Na ₂ CO ₃ H ₂ O 40 °C.

Tabla 7. Otros grupos protectores de la funcionalidad ácido carboxílico.

2.4 Grupos protectores en la cadena lateral de algunos aminoácidos.

2.4.1 Grupos protectores de la cadena lateral de la Lisina.

La protección de algunos aminoácidos que contienen un grupo amino en su cadena lateral como es el caso de la lisina (**18**), es esencial en la síntesis peptídica para prevenir la formación de ramificaciones no deseadas en el péptido. Esto se hace generalmente por acilación del grupo amino de la cadena lateral.

Algunos de los grupos que se han empleado para la protección de la funcionalidad α-amino también han encontrado aplicación en la protección de las aminas presentes en las cadenas laterales; sin embargo debido a la alta basicidad de los grupos amino presentes en la cadena lateral, no todos estos métodos pueden ser usados.

La elección del grupo protector depende de diversos puntos a considerar. Por ejemplo si se quisiera hacer la protección selectiva del grupo ϵ -amino de la lisina (**18**), no se podría utilizar el aminoácido protegido en el grupo α -amino con Fmoc (**37**) debido a que la alta basicidad del grupo ϵ -amino en la cadena de la lisina liberaría prematuramente al grupo Fmoc.

Para el caso de la lisina es más común utilizar el grupo benciloxycarbonilo (Cbz, **27**) y el grupo *tert*-Butoxicarbonilo (Boc, **34**), para la protección del grupo ϵ -amino en la cadena lateral. La elección depende de la secuencia sintética así como de la naturaleza del péptido a sintetizar. Además de estos dos grupos protectores, también se han utilizado algunos otros específicos para el grupo ϵ -amino de la lisina (**18**) como 2-clorobenciloxycarbonilo (Cl-Cbz), el 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxiclohex-1-ilideno)-3-metil-butilo (ivDde, **58**) y el *o*-nitrobenzensulfonilo (*o*NBS,**59**).^[1]

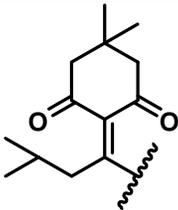
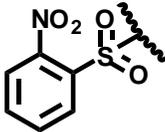
Grupos protectores para la lisina.	
2-chlorobenciloxycarbonilo (Cl-Z), 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxiclohex-1-ilideno)-3-metil-butilo (ivDde)	<i>o</i> -nitrobenzensulfonilo (<i>o</i> NBS).
	
58	59

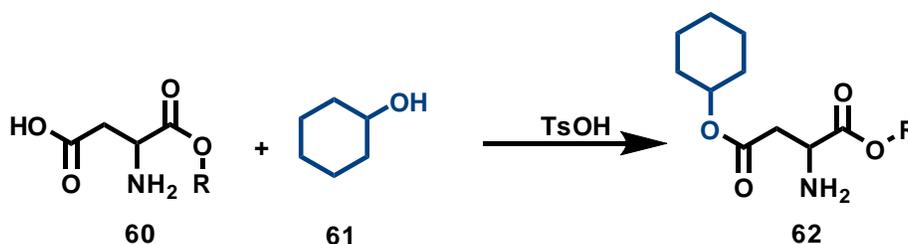
Tabla 8. Grupos protectores específicos para el grupo amino en la cadena lateral de la lisina.

2.4.2 Grupos protectores de la cadena lateral del ácido aspártico.

El objetivo principal al proteger los aminoácidos con cadenas laterales ácidas como es el caso del ácido aspártico (**14**) y del glutámico (**15**), es prevenir su activación durante la síntesis peptídica lo cual daría lugar a la formación de péptidos con ramificaciones laterales no deseadas.

En el caso particular del ácido aspártico (**14**) el grupo protector usado debe evitar en lo posible la formación de la aspartimida, debido a que la hidrólisis de ésta da lugar a la obtención de los péptidos α y β , siendo este último el producto principal en la mayoría de los casos.

Actualmente los grupos más utilizados para la protección del ácido carboxílico de la cadena lateral son el grupo *tert*-butilo (^tBu, **51**) y el grupo ciclohexilo (cHx, **61**), este último reemplaza al grupo bencilo (**55**) ya que su conformación estructural previene de mejor manera la formación de la aspartimida.^[27]



Esquema 9. Protección de la cadena lateral del ácido aspártico.

La protección de la cadena lateral del ácido aspártico (**14**) puede llevarse a cabo por varios métodos. El más simple de ellos es la esterificación del aminoácido libre vía una catálisis ácida, donde la protonación del grupo amino hace que el grupo α -ácido carboxílico sea menos reactivo, obteniendo entonces la protección selectiva del ácido carboxílico en la cadena lateral.

2.4.3 Grupos protectores de la cadena lateral de la arginina (**19**).

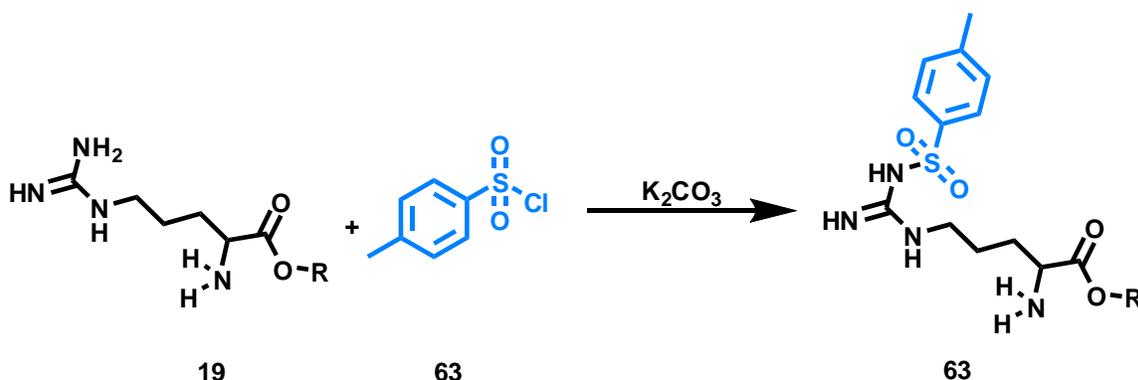
La protección del grupo guanidino en la cadena lateral de la arginina (**19**) es necesaria para prevenir la deguanidación del péptido o la formación de la δ -lactama como resultado de la alta nucleofilicidad del grupo guanidino. La protección de la cadena lateral de la arginina (**19**) aún no se ha resuelto completamente debido a la dificultad de la remoción de los grupos protectores probados hasta el momento.^[4]

Puesto que el grupo guanidino posee una alta basicidad ($pK_a = 12.5$), esta propiedad permite que dicho grupo permanezca protonado en la mayoría de las condiciones de

reacción usadas en la síntesis peptídica. Sin embargo, si la desprotonación llega a ocurrir, se presenta la desguanidación después de la acilación del grupo guanidino, por lo que es importante el desarrollo de grupos protectores para la arginina (**19**).

En principio, la protección de todos los nitrogénos del grupo guanidino es necesaria para enmascarar por completo el carácter nucleofílico del mismo. Sin embargo, las más empleadas son las mono y di protecciones, debido a la facilidad de llevarlas a cabo y a que cuando se usan grupos protectores electroattractores y voluminosos se minimiza en forma eficiente la aparición de reacciones laterales.

El grupo más ampliamente usado para llevar a cabo la protección del grupo guanidino es algún derivado sulfonilo (**63**), siendo el más usado el grupo tosilo. Este grupo es introducido usando el cloruro de p-toluensulfonilo (**63**) utilizando catálisis básica. Este grupo protector puede ser fácilmente removido con ácido fluorhídrico o bien mediante una reducción usando sodio en amoníaco líquido.^[1]



Esquema 10. Reacción de protección de la cadena lateral de la arginina.

2.4.4 Grupos protectores de la cadena lateral de la tirosina (**16**).

Si se llega a utilizar la tirosina (**16**) desprotegida en la síntesis peptídica, una reacción lateral que se puede presentar es la acilación del grupo fenólico, debido a la nucleofilicidad del ión fenolato bajo condiciones básicas de reacción. Además de ello, debido a que el anillo aromático presente en la tirosina (**16**) es rico en electrones, es

posible observar también la acilación del anillo aromático en la posición *orto* como una reacción lateral.

En síntesis peptídica el grupo funcional hidroxilo es protegido en forma de éteres, los cuales son mucho más estables que los carbamatos y los ésteres correspondientes. Los grupos protectores más usados para este tipo de funcionalidad son el bencilo (**55**) y el *tert*-butilo (**51**).^[4]

Para llevar a cabo la protección de la tirosina (**16**) es necesario que primero sean protegidos tanto el grupo amino como el grupo ácido carboxílico. Para la introducción del grupo *tert*-butilo (**51**) se usa isobutileno (**44**) en condiciones de reacción ácidas mientras que para la introducción del grupo bencilo (**55**) se utiliza el bromuro o yoduro de bencilo (**55**) en condiciones de reacción básicas.

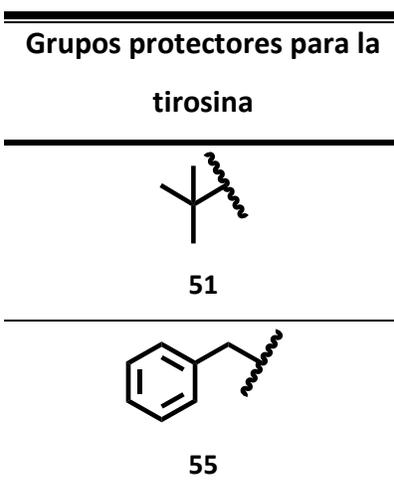


Figura 4, Grupos protectores comunes para la tirosina.

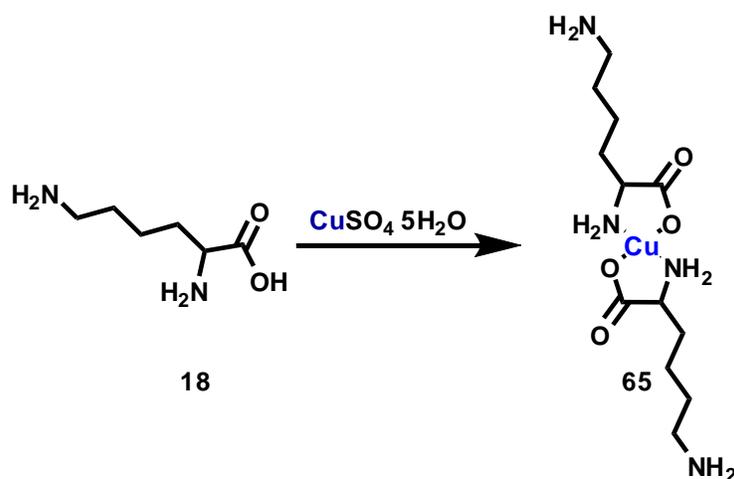
La remoción de ambos grupos requiere de un medio ácido, en el caso del grupo bencilo (**55**) la remoción se lleva a cabo con ácido fluorhídrico o bien usando una solución de ácido trifluoroacético al 50% en diclorometano. Para la remoción del grupo *tert*-butilo (**51**) se utiliza ácido trifluoroacético.

2.5 Grupos protectores bidentados.

Los métodos de inserción de los grupos protectores de las cadenas laterales plantean una nueva problemática, ya que la introducción de dichos grupos requiere en muchas ocasiones del enmascaramiento de las funcionalidades ácido carboxílico y amina, y de ser posible poder enmascararlos al mismo tiempo.

2.5.1 Cobre (II) en la protección de α -aminoácidos.

Uno de los métodos más seguros para la protección simultánea de las funciones amino y ácido carboxílico en los α -aminoácidos es el uso de sulfato de cobre $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, donde el α -aminoácido se coordina al cobre actuando como agente complejante a través del grupo amino y del carboxilato, lo cual permite llevar a cabo la protección selectiva de las cadenas laterales.^[28]



Esquema 11. Reacción de obtención del complejo de cobre.

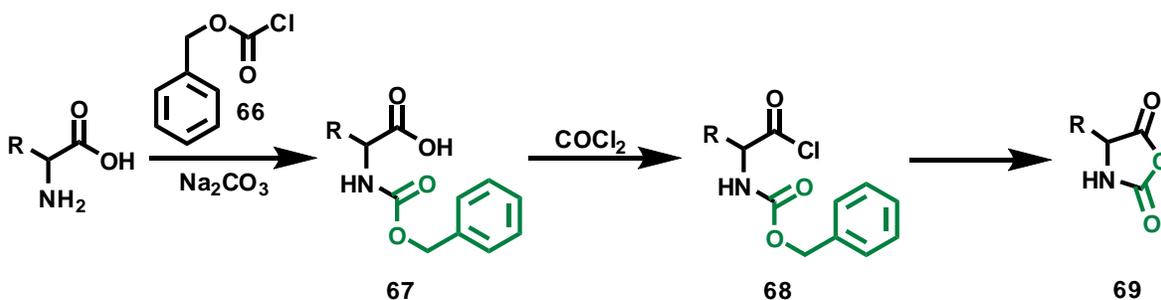
A pesar de que los α -aminoácidos tienen la capacidad para complejar una variedad de iones, enmascarando al mismo tiempo a los grupos coordinadores, su uso no ha podido ser expandido a otros cationes, pues no presentan ninguna ventaja. Entre dichos iones, el cobre (II) se distingue por que los complejos que se obtienen son estables, y la remoción del cobre puede llevarse a cabo con relativa facilidad.

A pesar del amplio uso que se les ha dado a los complejos α -aminoácido-cobre (II), su principal desventaja radica en su solubilidad, ya que son insolubles en muchos de los disolventes orgánicos empleados en la síntesis de péptidos, por lo cual ha sido necesario buscar alternativas a su uso.

2.5.2 Formación de N ^{α} -Carboxianhídridos.

Otra posibilidad para la protección simultánea del grupo amino y del grupo carboxilo es el uso de ligantes bidentados. Un ejemplo claro de este concepto es la formación de N-carboxianhídridos (**69**), compuestos que fueron descritos por primera vez por Hermann Leuchs, por lo que comúnmente son conocidos como anhídridos de Leuchs.^[29]

Los anhídridos de Leuchs pueden ser obtenidos con relativa facilidad a partir del aminoácido libre y un clorocarbonato, el cual formará con el grupo amino un carbamato (**67**) como intermediario. Posterior a la formación del carbamato (**67**), se prepara el halogenuro del ácido carboxílico del aminoácido (**68**), el cual no se aísla sino que espontáneamente forma el anhídrido de Leuchs. La formación de este compuesto ocurre por una sucesión de reacciones intramoleculares: primero el oxígeno del carbamato ataca al carbonilo del cloruro de ácido de ácido para que posteriormente el ion cloruro expulsado ataque al sustituyente del carbamato vía una reacción S_N2 para que finalmente se forme el anhídrido de Leuchs (**69**).



Esquema 12. Método general de obtención del anhídrido de Leuchs.

A primera vista parecería que este tipo de compuestos son ideales para su aplicación en la síntesis peptídica. Sin embargo, para que pudieran ser utilizados con éxito, no fue sino hasta 1966 cuando fueron encontradas las condiciones para su aplicación.^[30] Esto se debe a que los anhídridos de Leuchs son muy sensibles al pH y a la humedad.

2.5.3 Formación de Oxazaborolidinonas.

Otra alternativa que también se basa en la formación de complejos del aminoácido es la formación de complejos de boro usando como agente borante al trietil boro, el cual se coordina al grupo amino y al carboxilato del carbono α del aminoácido, dando lugar a una oxazaborolidinona (**70**).^[31]

Las oxazaborolidinonas (**70**, Figura 4) son compuestos que contienen un anillo de cinco miembros entre el α -aminoácido y el compuesto borado. Una característica estructural de dichos compuestos es la presencia de un enlace coordinado $B \rightarrow N$. Este tipo de compuestos han demostrado ser compuestos muy estables en condiciones incluso enérgicas tales como agua hirviendo, y mantienen una estabilidad hidrolítica en un pH entre 2 y 7. Por lo tanto se espera que puedan ser estables a distintas condiciones de reacción, lo cual permitiría la manipulación de la cadena lateral de diversos aminoácidos.

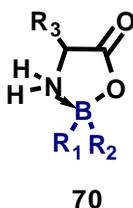


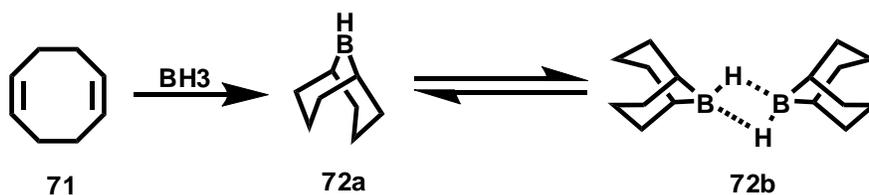
Figura 5. Estructura general de las oxazaborolidinonas.

Algunos hidruros de boro han mostrado ser eficientes en la formación de oxazaborolidinonas (**70**). El carácter de hidruro que presenta el hidrógeno unido al boro permite la reacción con el hidrógeno ácido del grupo carboxilo, lo que permite que el oxígeno quede unido al boro para posteriormente formar el anillo de cinco miembros con el nitrógeno del grupo amino en el carbono α .

2.6 El 9-Borabicyclo[3.3.1]nonano (9-BBN, 72) en síntesis orgánica.

Los boranos han sido apreciados como reactivos muy valiosos solo desde hace unas pocas décadas. Este tipo de compuestos se han utilizado sobre todo en la hidrobioración de alquenos y en la reducción de varios grupos funcionales. A pesar de ello el uso del borano ($\text{BH}_3\cdot\text{THF}$) presenta algunas dificultades en su uso, debido a su reactividad y a la baja selectividad que presenta en algunos casos.

En este sentido se han estudiado el uso de dialquilboranos, los cuales presentan una mayor selectividad que el borano, debido a factores estéricos y al hecho de que estas especies solo presentan un enlace B-H lo cual disminuye las posibilidades de reacciones colaterales. Uno de los dialquilboranos que ha presentado mayores usos y aplicaciones ha sido el 9-borabicyclo[3.3.1]nonano (9-BBN, **72**).^[32]



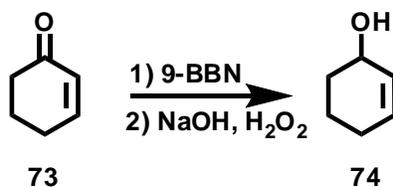
Esquema 13. Preparación del 9-borabicyclo[3.3.1]nonano (9-BBN).

El 9-borabicyclo[3.3.1]nonano (**72**), se prepara mediante la hidrobioración del 1,5-ciclooctadieno con borano y existe como dímero, el cual es estable a temperatura ambiente cuando se almacena bajo atmósfera inerte. Además, es comercialmente disponible en soluciones de THF o algún otro hidrocarburo. Aunque las primeras, son preferidas ya que en THF es más reactivo.

2.6.1 Reducciones.

El 9-BBN (**72**) se ha utilizado exitosamente en la reducción de aldehídos y cetonas en sus correspondientes alcoholes en presencia de diferentes grupos funcionales. Esta reactividad que presenta el 9-BBN (**72**), es complementaria a la actividad del borano, el cual presenta una alta reactividad en la reducción de olefinas y ácidos carboxílicos.

Un ejemplo de la selectividad del 9-BBN (**72**) es la reducción de aldehídos y cetonas α,β -insaturadas (**73**) para obtener el alcohol alílico (**74**). Otro ejemplo es la reducción inesperada de cloruros de ácido, lo cual fue una sorpresa, ya que los mismos sustratos habían mostrado ser no reactivos ante el borano y el disiamilborano.^[33]

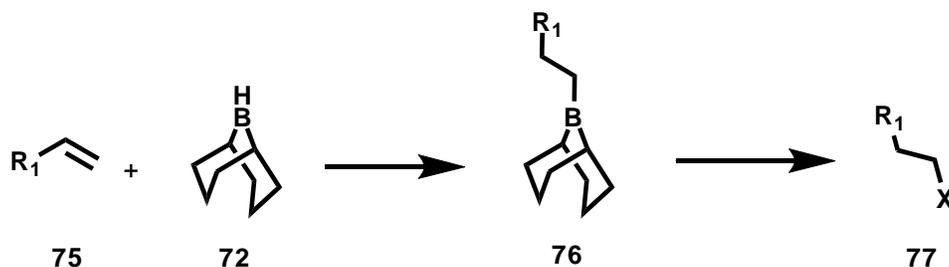


Esquema 14. Reacción de reducción de cetonas α,β -insaturadas usando 9-BBN.

2.6.2 Hidroboración de dobles y triples enlaces

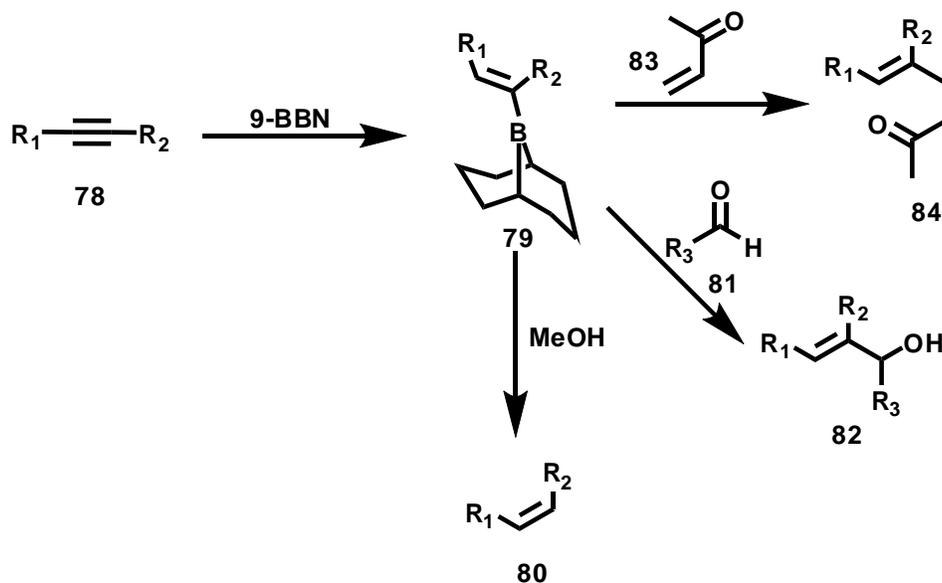
La hidroboración de olefinas con borano y sus derivados, ha sido ampliamente estudiada debido a que esta ocurre con una regioselectividad *anti*-Markovnikov. Además, los boranos obtenidos pueden ser convertidos en varios grupos funcionales.

Una de las desventajas de los trialquilboranos es que en muchas de sus reacciones solo se utiliza solo uno de los tres grupos unidos al boro. En consecuencia para la conversión de un alqueno importante el rendimiento máximo sería del 33%. Lo anterior puede ser superado usando derivados del B-9-alquil-BBN donde se obtiene un rendimiento mucho más alto basado en el alqueno de partida. Otra ventaja del 9-BBN (**72**) en las reacciones de hidroboración es su alta regioselectividad.



Esquema 15. Reacción de hidroboración de alquenos con 9-BBN.

En las reacciones de hidrobromación, los alquinos reaccionan más lentamente en comparación con los alquenos. La reacción con alquinos terminales dan mezclas de 1,1-diborilalcanos y vinilboranos; mientras que cuando se lleva a cabo la hidrobromación sobre alquinos internos con cantidades estequiométricas de 9-BBN (**72**), se obtienen como producto principal (*Z*)-vinilboranos (**79**). En estas reacciones la regioselectividad está determinada por efectos electrónicos y estéricos. Los 9-vinil-BBN (**79**) derivados pueden ser fácilmente protonados con metanol para dar el alqueno *Z* (**80**), o bien si se hacen reaccionar con aldehídos (**81**) se pueden obtener alcoholes alílicos (**82**), mientras que en una adición conjugada a enonas (**83**) se obtendrían cetonas γ,δ -insaturadas (**84**).^[34]

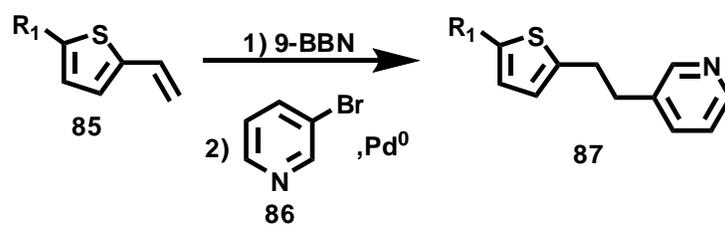


Esquema 16. Reacciones de hidrobromación en alquinos.

2.6.3 Transformaciones de 9-BBN derivados catalizadas por paladio.

En 1989 Suzuki y sus colaboradores encontraron que derivados de B-alkil-9-BBN, preparados *in situ*, se podían usar para llevar a cabo acoplamiento C-C con haloarenos (**86**) y haluros de vinilo en presencia de especies de paladio (0) que catalizan la reacción.^[35] Posteriormente se encontró que además de los derivados de B-alkil-9-BBN,

también se pueden usar triflatos de arilo y vinilo y aún más, los acoplamientos alquilo-alquilo son también posibles cuando se usan yoduros de alquilo primarios.



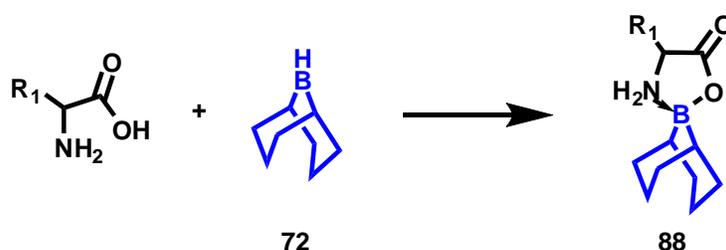
Esquema 17. Reacción de acoplamiento con derivados de B-alquil-9-BBN

Capítulo 3

Objetivos

3.1 Objetivo general:

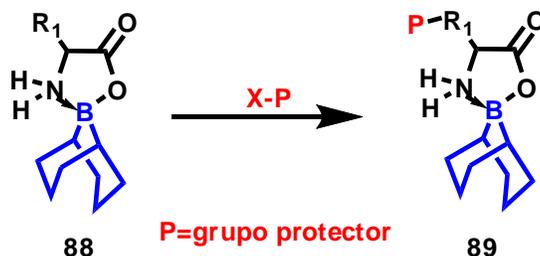
Probar la versatilidad del 9-BBN (9-borabicyclo[3.3.1]nonano, **72**) como grupo protector de α -aminoácidos, para la obtención de α -aminoácidos protegidos en la cadena lateral.



Esquema 18. Reacción de protección de α -aminoácidos usando 9-BBN (69).

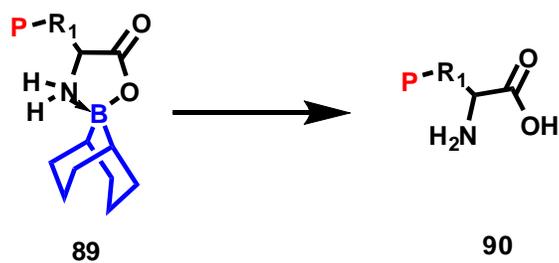
3.1.1 Objetivos particulares:

Una vez que se obtengan las oxazaborolidinonas **88** como productos de la protección de diversos α -aminoácidos, probar la estabilidad de estos compuestos en las condiciones de reacción comúnmente usadas en la protección de la cadena lateral de los aminoácidos respectivos.



Esquema 19. Protección de la cadena lateral.

Una vez que se logren modificar las cadenas laterales de los α -aminoácidos, determinar las condiciones de reacción necesarias para la regeneración del α -aminoácido correspondiente.



Esquema 20. Reacción de liberación del α -aminoácido

Capítulo 4

Hipótesis.

Usando el 9-borabicyclo[3.3.1]nonano (**72**) debe ser posible obtener diferentes oxazaborolidinonas derivadas de distintos α -aminoácidos. El anillo presente en el 9-borabicyclo[3.3.1]nonano (**72**) conferirá la estabilidad necesaria a las diferentes oxazaborolidinonas, en las diferentes condiciones de reacción usadas en la protección de las cadenas laterales de los diferentes α -aminoácidos usados. Con base en las propiedades fisicoquímicas mostradas por compuestos análogos, es de esperar que las diferentes oxazaborolidinonas obtenidas presenten buena solubilidad en los disolventes orgánicos comunes.

Estrategia experimental.

Para llevar a cabo la obtención de las diferentes oxazaborolidinonas será necesario llevar a cabo el estudio de las diferentes variables independientes de la reacción:

- Tiempo de reacción
- Temperatura de reacción
- Concentración de sustratos
- Influencia del disolvente

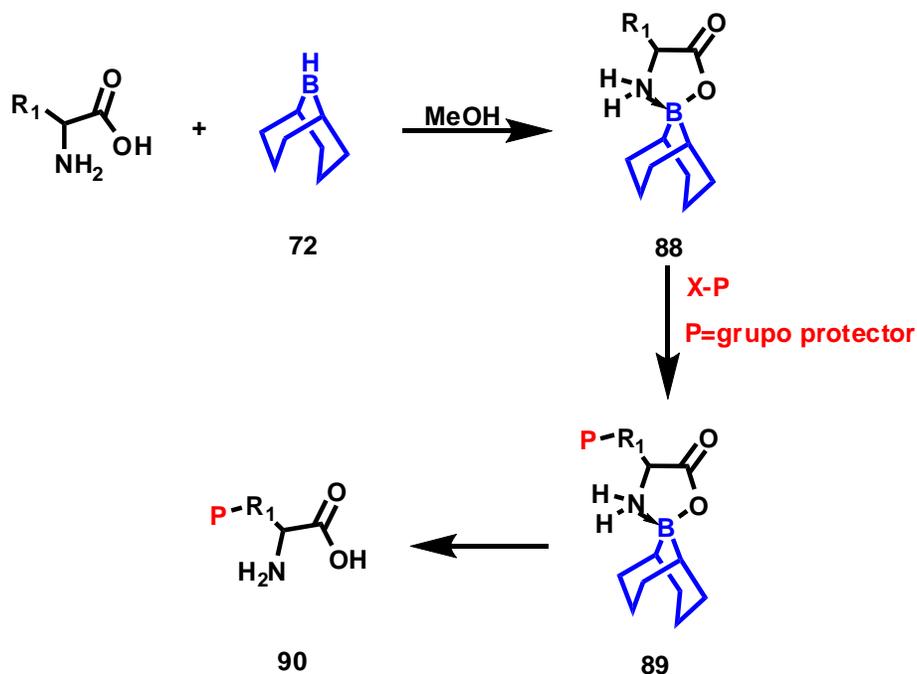
De igual forma se estudiará la influencia de las variables independientes para las reacciones de protección de las cadenas laterales de las diferentes oxazaborolidinonas obtenidas, así como también para la reacción de liberación del α -aminoácido empleado en la síntesis de las diferentes oxazaborolidinonas.

Capítulo 5

Análisis de Resultados.

5.1 Ruta sintética

El esquema de reacciones planteado, involucra el uso del 9-borabicyclo[3.3.1]nonano (**72**) como grupo protector de las funcionalidades amino y ácido carboxílico, obteniendo diferentes oxazaborolidinonas (**88**) como producto de dicha reacción. Una vez obtenidos dichos compuestos, se probará la versatilidad del grupo protector en las diferentes condiciones de reacción empleadas en la protección de las cadenas laterales de los diferentes α -aminoácidos empleados, para posteriormente probar las condiciones de reacción en las que es posible efectuar la liberación del α -aminoácido ya modificado (Esquema 21).



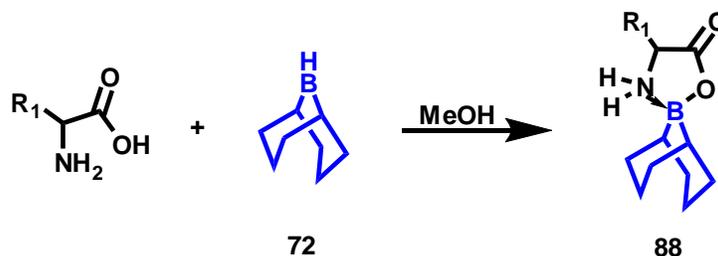
Esquema 21. Esquema sintético planteado.

5.2 Reacción de obtención de las diferentes oxazaborolidinonas.

De acuerdo al esquema de las reacciones planteadas (Esquema 21), la primera reacción a efectuar y analizar en términos de las variables independientes de la reacción, es la obtención de las diferentes oxazaborolidinonas de los α -aminoácidos empleados.

Para llevar a cabo dicha reacción se empleó el 9-borabicyclo[3.3.1]nonano (**72**) el cual se encuentra disponible comercialmente en dos presentaciones: en la forma de dímero el cual es estable en condiciones de atmósfera inerte, y en disoluciones 0.5 M de THF. En el presente trabajo se describen los resultados obtenidos usando las dos presentaciones disponibles del 9-BBN (**72**, Tabla 9).

La reacción de obtención de las diferentes oxazaborolidinonas (**88**) se llevó a cabo en metanol bajo calentamiento a reflujo en diferentes tiempos de reacción de acuerdo a la presentación del 9-BBN empleado y al α -aminoácido usado como materia prima.



Esquema 22. Reacción de obtención de las diferentes oxazaborolidinonas.

Reacción de obtención de las diferentes oxazaborolidinonas						
Presentación 9-BBN	Dímero			Disolución 0.5 M en THF		
Aminoácido	Tiempo (h)	Rendimiento (%)		Tiempo (h)	Rendimiento (%)	
Tirosina (16 , Tyr)	3	88a	90	24	88a	84
Arginina (19 , Arg)	1	88b	89	24	88b	83
Lisina (18 , Lys)	2.5	88c	91	24	88c	82
Cisteína (17 , Cys)	2	88d	63	24	88d	38
Ac. aspártico (14 , Asp)	3	88e	90	36	88e	70
Glicina (1 , Gly)	3	88f	95	36	88f	95

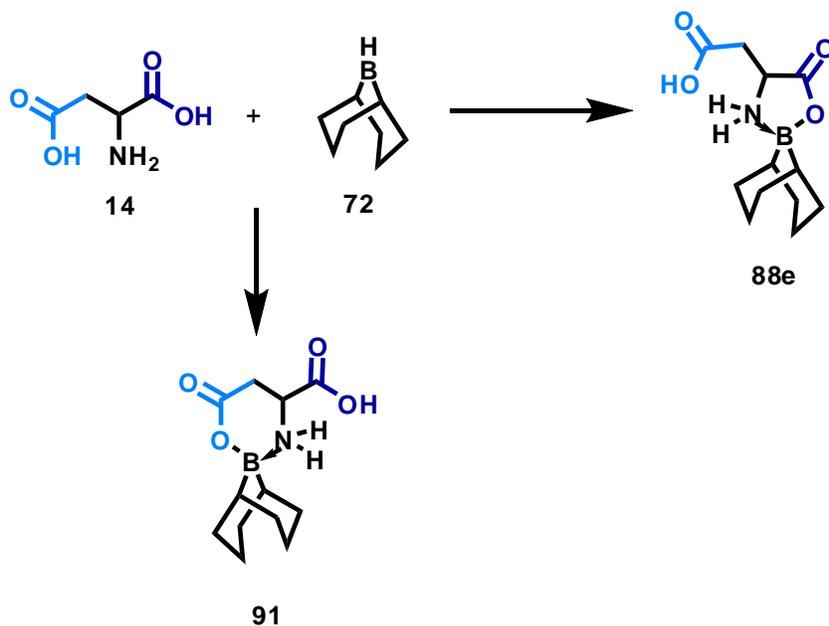
Tabla 9. Resultados obtenidos en la obtención de las oxazaborolidinonas.

Considerando los rendimientos mostrados en la Tabla 9, se llegó a la conclusión que cuando se usa el dímero del 9-BBN (**72**), los rendimientos son mayores y la reacción se completa en un tiempo menor. Los resultados obtenidos pueden ser explicados en términos de la solubilidad del aminoácido en el medio de reacción, ya que cuando se utiliza el 9-BBN en disolución de THF se adiciona una importante cantidad de THF al medio de reacción, con lo cual se disminuye la polaridad del medio y con ello la solubilidad del aminoácido en el medio de reacción.

Además de las diferencias que se observan en los rendimientos, es importante remarcar la gran diferencia que se observa en los tiempos de reacción, pues mientras que cuando se usa el 9-BBN (**72**) como dímero los tiempos de reacción van de 1 h hasta 3 h. Cuando se usa la disolución en THF el tiempo de reacción se extiende hasta las 36 h en el caso de los α -aminoácidos glicina (**1**) y ácido *L*-aspártico (**14**) por lo que la solubilidad debe estar jugando un papel importante.

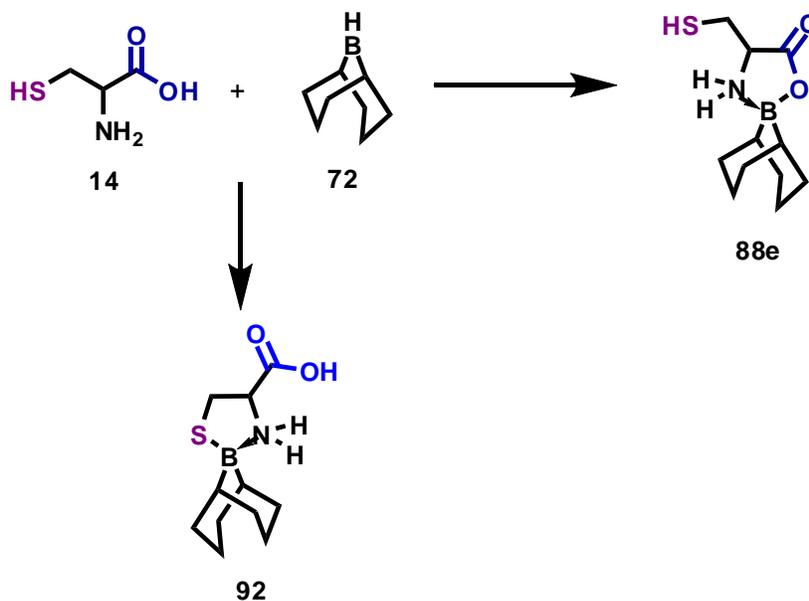
Para el caso específico de la glicina resulta importante resaltar que en ambos casos se obtuvo el mismo rendimiento pese a la gran diferencia en los tiempos de reacción. Comparando las estructuras de los α -aminoácidos empleados para la obtención de las diferentes oxazaborolidinonas (**88**), se observa que la glicina no posee una cadena lateral que pudiera actuar en competencia en la reacción de formación del complejo, lo cual se ve reflejado en el rendimiento obtenido.

El rendimiento obtenido para la oxazaborolidinona **88e** del ácido *L*-aspártico (**14**) es importante, ya que debido a la estructura de este aminoácido se podría esperar una competencia entre la formación de anillos de 5 miembros de la oxazaborolidinona deseada y un anillo de 6 miembros que se podría formar con el ácido carboxílico de la cadena lateral (Esquema 23). Al obtener un rendimiento del 90% para este α -aminoácido se confirma la regioselectividad de la reacción en la obtención de anillos de cinco miembros. Sin descartar que la formación de anillos de seis sea posible cuando no existe competencia con la formación de anillos de cinco miembros.



Esquema 23. Formación de un anillo de seis miembros para el caso del *L*-ácido aspártico **14**.

De los datos obtenidos en las síntesis de las diferentes oxazaborolidinonas (**88**) solamente la *L*-cisteína (**17**) da rendimientos por debajo del 80%, lo cual se puede adjudicar a la presencia del grupo tiol en la molécula de este aminoácido, el cual puede competir con el ácido carboxílico formando una tiazaborolidina (**92**) con lo cual se explica la disminución en rendimiento para la oxazaborolidinona **88d** (Esquema 24)



Esquema 24. Formación de tiazaborolidina

5.2.1 Caracterización de las oxazaborolidinonas **88** obtenidas.

Los compuestos obtenidos fueron caracterizados por sus propiedades espectroscópicas: resonancia magnética nuclear de hidrógeno RMN ^1H , resonancia magnética nuclear de carbono RMN ^{13}C , espectroscopia de infrarrojo IR y espectrometría de masas usando la técnica de impacto electrónico EMIE. Los datos obtenidos para cada uno de los compuestos se encuentran resumidos en la parte de desarrollo experimental del presente trabajo.

Para la oxazaborolidinona obtenida a partir de la glicina **88f** se presentan los resultados espectroscópicos obtenidos y se analizan a detalle por ser la estructura base de las otras oxazaborolidinonas.

5.2.1.1 Datos de espectrometría de masas de la 2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona (**88f**).

Los resultados obtenidos por espectrometría de masas muestra que el ión molecular m/z 195 corresponde con el peso molecular de la oxazaborolidinona **88f**, el espectro de masas para este compuesto proporciona información sobre la presencia del grupo 9-borabicyclo[3.3.1]nonano ya que el fragmento m/z 110 corresponde con el peso del ciclooctano unido al boro.

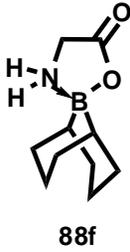
	Fragmento	Abundancia relativa (%)	m/z
 88f	M^+	100	195
	$[\text{M} - 57]^+$	36	138
	$[\text{M} - 85]^+$	47	110

Tabla 10. Datos de espectrometría de masas para **88f**.

5.2.1.2 Datos de espectroscopia infrarroja de la 2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona (88f).

En el espectro de infrarrojo de la oxazaborolidinona **88f** se observan las bandas en 3272-3163 cm^{-1} que corresponden a la vibración de los hidrógenos unidos a la sal de amonio, así como también en 1709 cm^{-1} la vibración del doble enlace carbono oxígeno del grupo carboxilo; ésta última banda aparece ligeramente desplazada debido a la presencia del boro en la molécula. Finalmente, el espectro de infrarrojo también proporciona evidencia de la presencia del boro en la molécula, ya que es posible distinguir la banda en 1217 cm^{-1} , la cual se debe la vibración de los enlaces boro carbono.

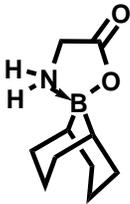
	Vibración	cm^{-1}
 <p>88f</p>	N - H	3272-3163
	C - H	2923-2803
	C = O v	1709
	C - B	1217

Tabla 11. Datos de espectroscopia infrarroja para el compuesto 88f.

5.2.1.3 Datos de resonancia magnética nuclear de hidrógeno RMN ^1H de la 2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona (88f).

Los datos de resonancia magnética nuclear de hidrógeno RMN ^1H permiten la identificación de cada uno de los hidrógenos presentes en la molécula. A campo alto aparecen los hidrógenos del ciclooctano unido al boro en 0.5 ppm como una señal simple, los cuales se encuentran desplazados a campo alto debido al efecto del átomo de boro unidos a estos dos carbonos sp^3 . En el intervalo de 1.57 a 1.75 ppm aparece un señal múltiple que corresponde con los hidrógenos H_d del anillo alifático. Finalmente en 1.41 ppm se pueden encontrar los cuatro protones H_e . En 3.36 se localizan los hidrógenos del carbono α al grupo carbonilo, como una señal triple, debido al acoplamiento con los hidrógenos unidos al nitrógeno, esta señal presenta una constante de acoplamiento $J =$

5.99 Hz que corresponde con lo esperado para los hidrógenos geminales. Finalmente se observa una señal simple que aparece en 6.23 ppm que corresponde a los hidrógenos unidos al nitrógeno, esta señal desaparece cuando se agrega óxido de deuterio.

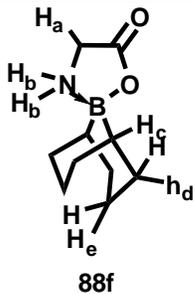
	H		J (Hz)	δ (ppm)	
 88f	H _a	t	J=5.99 Hz	3.36	2H
	H _b	s		6.23	2H
	H _c	s		0.50	2H
	H _d	m		1.57-1.75	8H
	H _e	s		1.41	4H

Tabla 12. Datos de resonancia magnética nuclear de hidrógeno RMN ^1H para el compuesto 88f.

5.2.1.4 Datos de resonancia magnética nuclear de carbono RMN ^{13}C de la 2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona (88f).

Los datos de resonancia magnética nuclear de carbono RMN ^{13}C , confirman la presencia del fragmento del aminoácido en la molécula, por señal en 171.9 ppm que corresponde con el desplazamiento químico esperado para el carbono sp^2 del grupo carboxilato y en 42.6 ppm aparece una señal para el carbono α del aminoácido. Los datos obtenidos de este espectro también muestran las señales en 22.7, 31.2 y 30.8 ppm que corresponden con los carbonos C_c, C_d y C_e respectivamente, los cuales forman parte del anillo de ciclooctano.

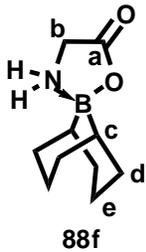
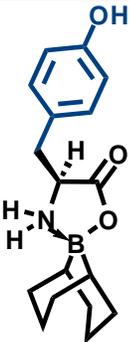
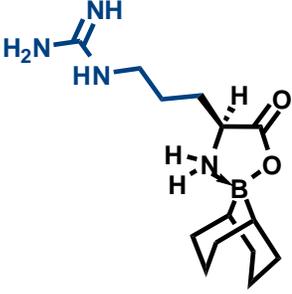
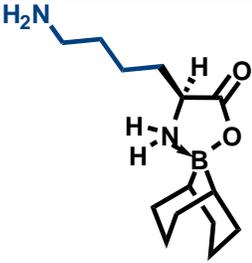
	C	δ (ppm)
 88f	C _a	171.9
	C _b	42.6
	C _c	22.7
	C _d	31.2
	C _e	30.8

Tabla 13. Datos de resonancia magnética nuclear de carbono RMN ^{13}C para el compuesto 88f.

5.2.2 Resonancia magnética nuclear de boro RMN ^{11}B para las diferentes oxazaborolidinonas.

Adicionalmente a las técnicas de caracterización convencionales que se emplean para compuestos orgánicos, las oxazaborolidinonas fueron sometidas a estudios de resonancia magnética nuclear de boro RMN ^{11}B . Este estudio resulta importante, ya que en la literatura existen pocos para los que se han informado estos datos^[36].

Los resultados obtenidos para cada una de la oxazaborolidinonas estudiadas se muestran a continuación en la Tabla 14.

	Aminoácido	δ RMN ^{11}B (ppm)
 <p>88a</p>	Tirosina (Tyr)	-3.69
 <p>88b</p>	Arginina (Arg)	0.49
 <p>88c</p>	Lisina (Lys)	9.99

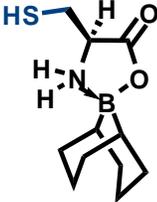
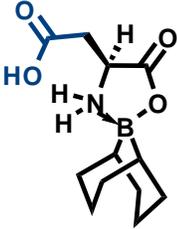
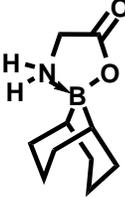
 <p>88d</p>	Cisteína (Cys)	9.44
 <p>88e</p>	Ac. Aspártico (Asp)	----
 <p>88f</p>	Glicina (Gly)	7.65

Tabla 14. Datos de RMN ^{11}B para las oxazaborolidinonas **85** obtenidas.

Dentro de los informes de resonancia magnética nuclear de boro RMN ^{11}B para diferentes compuestos orgánicos, en 1980 Contreras informó el valor del desplazamiento químico (δ) para el 9-BBN el cual es de 28.0 ppm cuando la muestra se encuentra disuelta en THF.^[37] Comparando los valores obtenidos para las diferentes oxazaborolidinonas (**88**) obtenidas, es evidente que la reacción se ha llevado a cabo ya que en todos los casos los desplazamientos químicos se encuentran desplazados hacia campo alto, lo cual implica que la geometría y el número de coordinación del boro en las oxazaborolidinonas (**88**) es diferente comparado con la estructura de la materia prima.

Adicionalmente, los valores obtenidos para los desplazamientos químicos del boro en las oxazaborolidinonas se encuentran en el intervalo de valores descritos para otras especies de boro del tipo $[\text{BR}_2\text{L}_2]^{-1}$ así como de oxazaborolidinonas provenientes de otras especies de boro (Tabla 15).

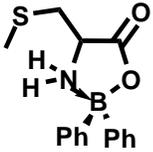
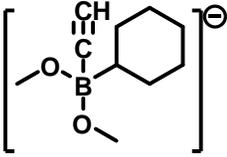
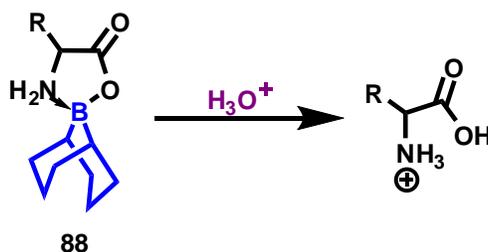
	δ RMN ^{11}B (ppm)
 <p>93</p>	5.3
 <p>94</p>	1.9

Tabla 15. Desplazamientos químicos de especies tipo $[\text{BR}_2\text{L}_2]^{-1}$ en RMN ^{11}B .

5.3 Reacción de liberación del aminoácido.

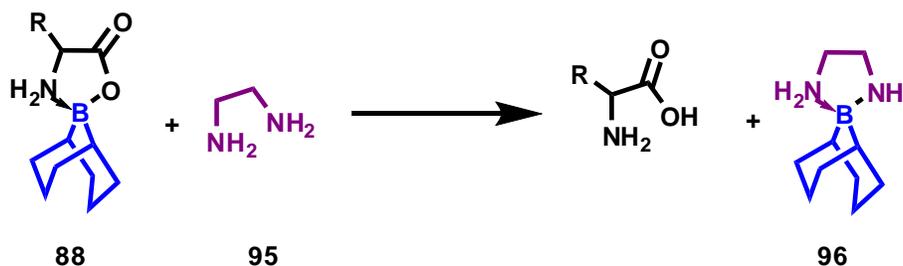
Una vez que se obtuvieron las diferentes oxazaborolidinonas derivadas de los diferentes α -aminoácidos empleados, el siguiente paso consistió en determinar las condiciones de reacción requeridas para llevar a cabo la liberación del α -aminoácido previamente protegido.

Para llevar a cabo la liberación del complejo, se probaron dos estrategias: la primera de ellas consistió en llevar a cabo la hidrólisis ácida del complejo. La hidrólisis de la oxazaborolidinona deja libre al α -aminoácido mientras que el grupo borado se descompone hasta ácido borínico (Esquema 25).



Esquema 25. Liberación del α -aminoácido empleando medio ácido.

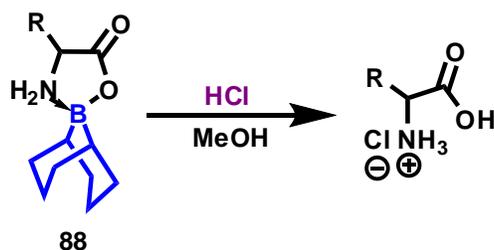
La segunda estrategia consiste en desplazar el aminoácido empleado con un agente liberador. Los agentes liberadores que se pueden emplear son moléculas con dos centros nucleofílicos capaces de formar anillos de 5 miembros, como la etilendiamina (**95**) para obtener la imidazoborolidina (**96**) correspondiente (Esquema 26).



Esquema 26. Reacción de liberación de α -aminoácido usando etilendiamina.

5.2.1 Reacción de liberación del aminoácido en medio ácido.

La primera de las estrategias que se empleó en la liberación del aminoácido fue la hidrólisis en medio ácido usando una disolución de ácido clorhídrico concentrado en metanol. Los resultados obtenidos para cada uno de los distintos aminoácidos se muestran en la Tabla 16.



Esquema 27. Liberación del α -aminoácido usando ácido clorhídrico (HCl) en metanol.

Compuesto	Rendimiento %	
85a	Tyr-9-BBN	80
85b	Arg-9-BBN	74
85c	Lys-9-BBN	91
85d	Cys-9-BBN	66
85e	Asp-9-BBN	81
85f	Gly-9-BBN	93

Tabla 16. Rendimientos de recuperación del α -aminoácido.

Los rendimientos que se muestran en la Tabla 16 indican que la reacción de hidrólisis del compuesto de boro es una buena alternativa para llevar a cabo la liberación del α -aminoácido. A pesar de que los rendimientos en los que fue posible recuperar el α -aminoácido son aceptables, es importante hacer notar que los obtenidos para α -aminoácidos que tienen un grupo sensible al medio ácido en su cadena lateral, son menores que cuando no lo tienen. Por ejemplo en el caso de la glicina (**1**) es de mayor del 90%.

5.2.2 Reacción de liberación del aminoácido usando etanolamina.

Debido al bajo rendimiento con el que se recuperaron algunos de los aminoácidos obtenidos mediante la hidrólisis ácida de las oxazaborolidinas, como en el caso de la *L*-cisteína (**17**), fue necesario probar otras condiciones de reacción en las que este rendimiento pudiera ser mayor.

En este sentido, se decidió abordar la segunda estrategia de liberación, para la cual se decidió probar con etilendiamina (**95**), etanolamina (**97**) y etilenglicol (**98**) como agentes liberadores, para obtener las imidazoborolidina, oxazaborolidina y el dioxaborolano correspondientes.

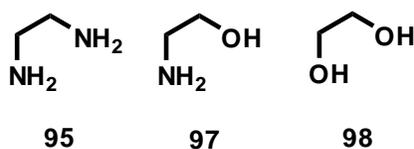
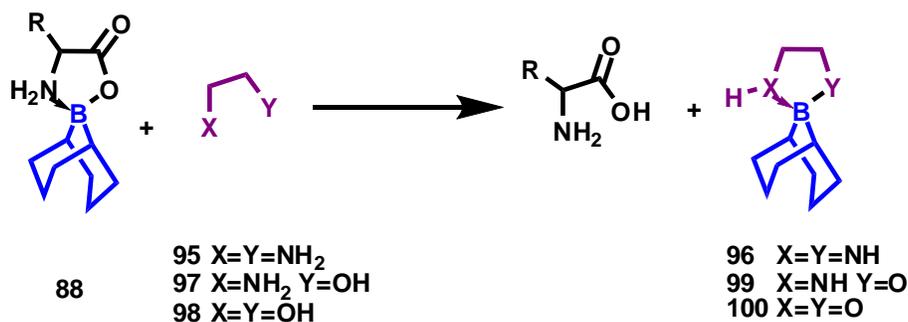


Figura 6. Grupos liberadores.

Para llevar a cabo la reacción de liberación del aminoácido se tomaron como base las condiciones de reacción descritas para la liberación de otras oxazaborolidinonas. En dichas técnicas, se adiciona la oxazaborolidinona (**88**) correspondiente a 10 eq. del agente liberador empleado, se calienta la mezcla al punto de ebullición y el aminoácido libre se precipita adicionando THF o acetona, dependiendo de la oxazaborolidinona usada como materia prima (Esquema 28).

Esquema 28. Reacción de liberación del α -aminoácido.

Los resultados obtenidos para esta reacción, en las condiciones de reacción previamente descritas, fueron los esperados excepto para el caso en el que se usó etilenglicol (**98**) como agente liberador, ya que en dichas reacciones se recuperó en todos los casos la materia prima. Por el contrario cuando se usó etilendiamina (**95**) y etanolamina (**97**), fue posible obtener los resultados que se presentan en la Tabla 17.

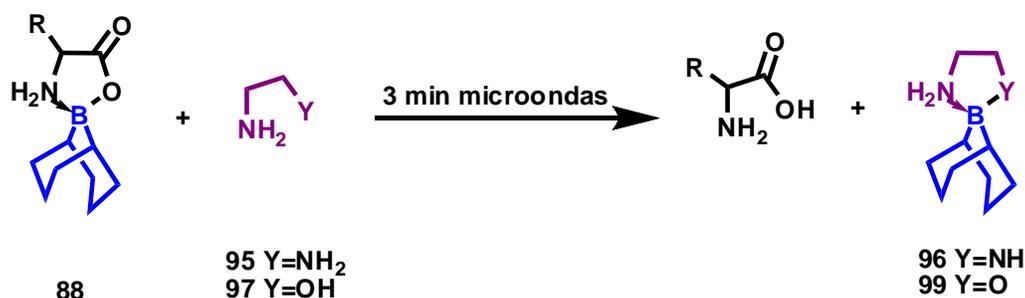
Compuesto	NH ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂ (%)	NH ₂ CH ₂ CH ₂ OH (%)
88a Tyr-9-BBN	29	30
88b Arg-9-BBN	45	50
88c Lys-9-BBN	50	33
88d Cys-9-BBN	45	50
88e Asp-9-BBN	60	72
88f Gly-9-BBN	39	54

Tabla 17. Reacción de liberación del α -aminoácido.

Los resultados obtenidos empleando esta estrategia de liberación se encuentran por debajo de aquellos obtenidos cuando se lleva a cabo la hidrólisis ácida. Sin embargo, es importante resaltar que se observa un ligero aumento cuando se usa etanolamina (**97**) como agente liberador.

Debido a que cuando se llevaron a cabo las reacciones anteriores era posible recuperar parte de la materia prima, se decidió cambiar las condiciones de reacción en cuanto al tiempo y a la temperatura en la que se lleva a cabo y para ello se utilizó calentamiento por irradiación de microondas. Para conseguir una mejor optimización, inicialmente la

reacción se llevó a cabo usando un horno de microondas convencional (multimodo) para después reproducir estos resultados en un horno de microondas monomodo. El tiempo de irradiación con el cual se obtuvieron los mejores resultados fue de 3 minutos. Los resultados obtenidos bajo estas nuevas condiciones de reacción se muestran en la Tabla 18.



Esquema 29. Liberación del aminoácido irradiando con microondas.

Compuesto		NH ₂ CH ₂ CH ₂ NH ₂ (%)	NH ₂ CH ₂ CH ₂ OH (%)
88a	Tyr-9-BBN	32	87
88b	Arg-9-BBN	40	93
88c	Lys-9-BBN	65	90
88d	Cys-9-BBN	25	89
88e	Asp-9-BBN	62	85
88f	Gly-9-BBN	44	95

Tabla 18. Resultados obtenidos irradiando con microondas.

Bajo las nuevas condiciones de reacción mostradas en el Esquema 29, los rendimientos con los que se recuperó cada uno de los α-aminoácidos presentaron un incremento importante cuando se utilizó etanolamina (**97**) como agente liberador, mientras que cuando se utilizó etilendiamina (**95**), los rendimientos se mantuvieron comparables con la técnica en la que se empleó el calentamiento convencional. La diferencia en los resultados obtenidos se puede explicar en términos de los puntos de ebullición ya que la etilendiamina (**95**) hierve a 116 °C, mientras que la etanolamina (**97**) lo hace en 170 °C, así como por la propia naturaleza de las sustancias usadas como agente liberador. En el caso de la etanolamina (**97**), al tener un mayor punto de ebullición, la reacción se lleva a cabo a una mayor temperatura permitiendo que la velocidad de la reacción se incremente.

Los resultados obtenidos usando etanolamina como agente liberador y calentamiento por irradiación de microondas son aceptables y en algunos casos mejores que los obtenidos con el método de la hidrólisis ácida. Por ejemplo, en el caso de la *L*-cisteína (**17**) la hidrólisis ácida de su oxazaborolidinona **88d** da un rendimiento del 66% para el α -aminoácido libre, mientras que cuando se usa etanolamina (**97**) el rendimiento para el α -aminoácido libre aumenta a un 89%.

Los aminoácidos liberados de las oxazaborolidinonas respectivas fueron caracterizados por espectroscopia infrarroja y dichos datos espectroscópicos se resumen en la Tabla 19.

Aminoácido	IR FT ATR (cm ⁻¹)
Tirosina (Tyr)	3199, 3105, 2959, 1583, 1511, 1329, 1243, 839, 793.
Arginina (Arg)	3357, 3295, 3252, 3053, 2944 2862, 1674, 1614,1553, 1420
Lisina (Lys)	3357, 3292, 2987, 2922 2850, 1575, 1403
Cisteína (Cys)	2990, 2941, 2540, 1574 1420, 1289.
Ac. Aspártico (Asp)	2954, 2867, 2731, 1688, 1641, 1503, 1246.
Glicina (Gly)	3156, 3007, 2970, 2604, 1582, 1500, 1407, 1330.

Tabla 19. Datos de espectroscopia infrarroja de los α -aminoácidos recuperados.

5.4 Reacciones de protección de las cadenas laterales de las oxazaborolidinonas **88** obtenidas.

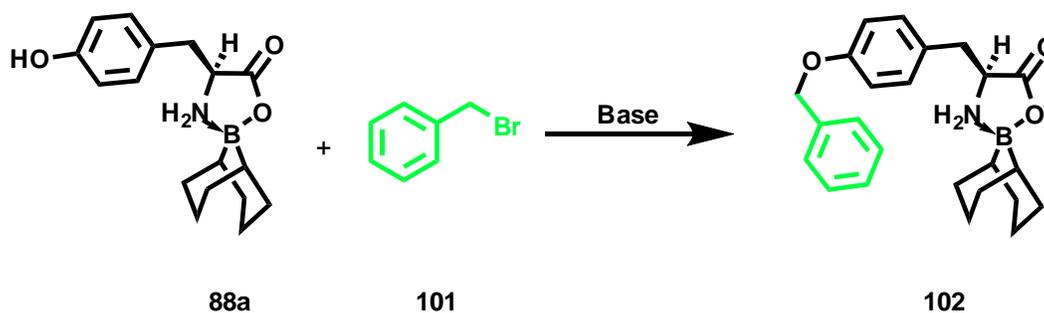
Una vez que se obtuvieron las oxazaborolidinonas (**88**) de cada uno de los diferentes α -aminoácidos y habiendo encontrado la condiciones de reacción adecuadas para la liberación de cada uno de los α -aminoácidos empleados, se continuó la síntesis planteada en el (Esquema 20), para lo cual se estudiaron las condiciones de reacción para llevar cabo la protección de los grupos funcionales presentes en las diferentes cadenas laterales de los distintos α -aminoácidos.

Las oxazaborolidinonas seleccionadas para este estudio fueron los compuestos **88a**, **88b**, **88c** y **88e**. Los compuestos anteriores fueron seleccionados por la diferencia de reactividad de los diferentes grupos funcionales presentes en sus cadenas laterales y por las diferentes condiciones de reacción que se requieren para la introducción del grupo protector de la cadena lateral.

5.4.1 Reacción de protección del grupo hidroxilo de la *L*-tirosina **16**.

El primer compuesto con el que se trabajó para llevar a cabo las reacciones sobre la cadena lateral, fue **88a** el cual es la oxazaborolidinona de la *L*-tirosina (**16**). En este compuesto el grupo funcional a proteger es el hidroxilo del fenol de la *L*-tirosina, el cual tiene carácter ácido y su base conjugada es un buen nucleófilo, siendo ésta característica la que puede ser aprovechada para introducir el grupo protector.

De los grupos protectores que se han usado para la tirosina, el más común es el grupo bencilo (**55**), ya que este grupo protector es estable en condiciones de reacción básica y su liberación se lleva a cabo usualmente en condiciones de hidrogenólisis. Usando el bromuro de bencilo (**101**) como materia prima y aprovechando las propiedades ácido base de la *L*-tirosina es posible introducir el grupo bencilo recurriendo a una reacción de Williamson, usando las condiciones de reacción descritas en el Esquema 30.



Esquema 30. Reacción de protección de la cadena lateral de la *L*-tirosina.

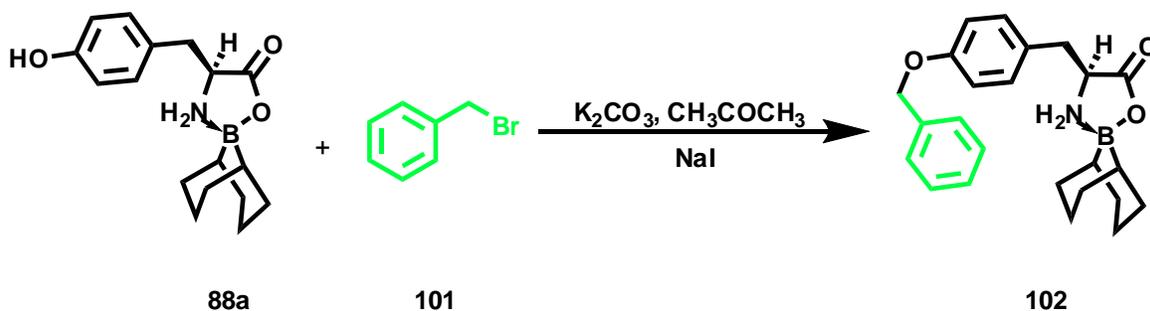
Para obtener el producto de protección **102** se probaron diferentes bases y disolventes. Las condiciones de reacción probadas se resumen en la Tabla 20.

Protección del grupo hidroxilo de la L-tirosina.		
Base	Disolvente	Rendimiento (%)
NaOH 1 eq	Metanol	11
NaOH 1eq	Etanol/Agua 1:1	5
K ₂ CO ₃ 1.5 eq	Acetona	40

Tabla 20. Condiciones de reacción para la protección del grupo hidroxilo de la L-tirosina.

Se puede observar que los resultados no fueron buenos, aunque fueron positivos en términos de la obtención o no del producto. Es decir, en los tres casos se confirmó la obtención del producto de protección **102**.

De las tres bases empleadas, la más débil carbonato de potasio (K₂CO₃) mostró el mejor rendimiento y para optimizar éste método, se procedió a realizar el intercambio del halógeno de la materia prima vía una reacción de Filkenstein. Esto se consiguió al convertir *in situ* el bromuro de bencilo (**101**) en el yoduro de bencilo con yoduro de sodio y bajo estas condiciones se consiguió aumentar el rendimiento del producto de protección (**102**) de un 40 a un 78% (Esquema 31).



Esquema 31. Condiciones de reacción optimizadas para la protección del hidroxilo de la L-tirosina 16.

El producto de protección **102** fue caracterizado por sus propiedades espectroscópicas (Resonancia magnética nuclear de hidrógeno RMN ^1H , resonancia magnética nuclear de carbono RMN ^{13}C , espectroscopia de infrarrojo IR y espectrometría de masas usando la técnica de impacto electrónico EMIE)

Caracterización de la (S)-4-(4-(benciloxi)bencil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona	
EM EI (70 eV) m/z (% ar):	391 (17) M ⁺ , 300 (46), 107 (100), 91 (76).
IR-FT ATR (cm⁻¹)	3203 (N-H), 2914-2848 (C-H alifático), 1713 (C=O carboxilato), 1514 (C=C aromático), 1246 (C-B-C), 1174 (C-O éter)
RMN-¹H (300.1 MHz, DMSO-d₆, δ)	0.44(d, J = 18 Hz, 2H), 1.31-1.74 (m, 16H), 2.81 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.77 (t, J ₁ = 9 Hz, J ₂ = 7.5 Hz, 2H), 5.08 (s, 2H), 5.68 (t, J = 9 Hz, 1H), 5.68 (t, J = 9 Hz, 1H), 6.95 (d, J = 9 Hz, 2H), 7.26 (d, J = 9 Hz, 2H), 7.36-7.47 (m, 5H)
RMN-¹³C (75.8 MHz, DMSO-d₆, δ)	23.8, 24.4, 30.6, 31.3, 35.2, 55.6, 68.9, 114.6, 127.5, 127.7, 128.4, 129.4, 130.3, 137.2, 157.2, 173.1.

Tabla 21. Caracterización del producto de protección 102 del grupo hidroxilo de la L-tirosina

Con los datos espectroscópicos de la Tabla 21 fue posible confirmar la estructura propuesta para el compuesto **102**. En resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN ^1H), aparecen las señales que permiten confirmar la estructura propuesta, ya que se observa, con un desplazamiento químico (δ) de 5.08 ppm una señal simple que corresponde con los hidrógenos del metileno del grupo éter formado entre el oxígeno del fenol y el carbono bencílico del grupo protector, el grupo bencilo se confirma con la señal múltiple que se encuentra entre 7.36 y 7.47 ppm, la cual presenta una integración para los 5 hidrógenos del anillo aromático. En resonancia magnética de carbono (RMN ^{13}C) aparece una señal en 68.9 ppm que es la esperada para el desplazamiento químico del metileno unido al oxígeno del fenol y al anillo aromático.

5.4.2 Reacción de protección del grupo ácido carboxílico del L-ácido aspártico 14.

Para la protección de la cadena lateral de la oxazaborolidinona derivada del L-ácido aspártico (**88e**) se eligió el grupo metilo como grupo protector debido a la gran cantidad de métodos que se encuentran descritos en la literatura para llevar a cabo la metilación de los ácidos carboxílicos.

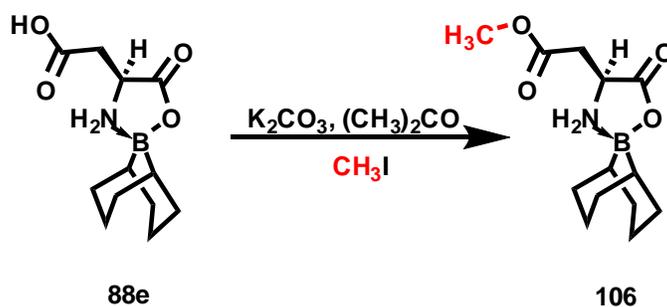
La primera aproximación que se usó para llevar a cabo la metilación, por la sencillez del procedimiento de síntesis y por la disponibilidad de los reactivos, fue el uso de las condiciones de reacción de Williamson. Estas implican un medio básico para llevar a cabo la desprotonación del ácido carboxílico (**103**) formando un carboxilato el cual reacciona posteriormente con un centro electrofílico, usualmente un halogenuro de alquilo (**104**), para que a través de una reacción S_N2 se obtenga el producto de alquilación (**105**)

Esquema 32



Esquema 32. Metilación de ácidos carboxílicos

En el caso de la protección de la oxazaborolidinona derivada del ácido carboxílico (**88e**) se encontró que el mejor rendimiento se obtiene cuando se emplea acetona como disolvente, carbonato de potasio (K₂CO₃) como base y yodometano como agente alquilante. Bajo las condiciones descritas (Esquema 33) se obtuvo el producto **106** con rendimiento de 82 %.



Esquema 33. Protección del ácido carboxílico de la cadena lateral del L-ácido aspártico.

Otras condiciones de la reacción de protección que se probaron fueron con hidróxido de sodio (NaOH) y carbonato de potasio (K₂CO₃) como bases, en acetona y metanol como disolventes. Los resultados obtenidos en estas pruebas se muestran en la Tabla 22.

Protección del grupo ácido carboxílico del L-ácido aspártico.		
Base	Disolvente	Rendimiento (%)
NaOH 1 eq	Metanol	5
K ₂ CO ₃ 1.5 eq	Metanol	25
K ₂ CO ₃ 1.5 eq	Acetona	82

Tabla 22. Protección del ácido carboxílico en el L-ácido aspártico.

El rendimiento más alto obtenido fue un poco inesperado ya que bajo las condiciones de la reacción de Williamson, los rendimientos suelen ser moderados, los cuales se encuentran dentro del intervalo 40 y 60% para el producto de alquilación (**106**). El alto rendimiento obtenido puede explicarse como consecuencia de la estabilidad de la oxazaborolidinona **88e** cuando se disuelve en acetona.

El producto de protección **106** fue caracterizado por sus propiedades espectroscópicas (Resonancia magnética nuclear de hidrógeno RMN ¹H, resonancia magnética nuclear de carbono RMN ¹³C, espectroscopia de infrarrojo IR, espectrometría de masas usando la técnica de impacto electrónico EMIE)

Caracterización de la(S)-4-(2-metoxi-2-oxoetil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona

EM EI (70 eV) <i>m/z</i> (% ar):	267 (15) M ⁺ , 128 (100), 102 (82), 70 (51)
IR-FT ATR (cm ⁻¹)	3247 (N-H), 2951-2839 (C-H alifático), 1752 (C=O, éster), 1703 (C=O carboxilato), 1224 (C-B-C) 1182(C-O)

RMN-¹H (300.1 MHz, MeOD, δ)	0.68(s, 2H), 1.54-1.95 (m, 13H), 3.02 (d, <i>J</i> = 6 Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 4.1 (t, <i>J</i> = 6 Hz, 1H), 4.84 (s, 2H).
RMN-¹³C (75.8 MHz, MeOD, δ)	23.8-24.7, 30.9, 31.5, 33.4, 51.6, 171, 174.3.

Tabla 23. Datos espectroscópicos del producto de protección 106.

Los datos obtenidos mediante las técnicas espectroscópicas permiten ratificar la asignación estructural para el producto de protección **106**. En espectroscopia infrarroja los datos más importantes son la disminución en las señales en la región de 3000 a 3500 cm⁻¹, donde aparecía la señal que corresponde al enlace O-H del ácido carboxílico de la materia prima y además se observa en 1752 cm⁻¹ la señal del carbonilo del éster formado en la región esperada para este grupo funcional. En resonancia magnética nuclear de hidrógeno (RMN ¹H) la señal simple que aparece en un desplazamiento químico (δ) 3.78 ppm y con una integración para tres hidrógenos es la confirmación de que la metilación se ha llevado a cabo, ya que de acuerdo al desplazamiento químico, esta señal corresponde a los hidrógenos del grupo éster formado. En resonancia magnética nuclear de carbono no fue posible identificar la señal del metilo ya que el desplazamiento químico esperado para este carbono coincide con el desplazamiento químico del metanol deuterado (47 ppm).

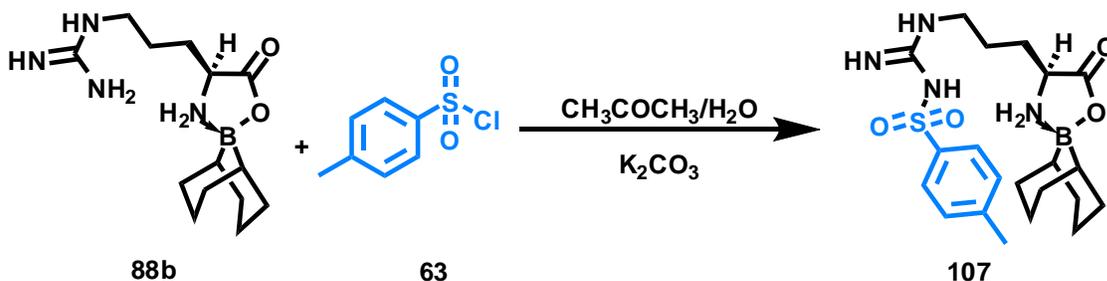
5.4.3 Reacción de protección del grupo guanidino de la *L*-arginina (19).

Para la protección del grupo guanidino de la *L*-arginina se escogió como grupo protector al grupo *p*-toluensulfonilo (**63**). La reacción de protección de la oxazaborolidinona correspondiente a la *L*-arginina (**88b**), se llevó a cabo usando como materia prima el cloruro de *p*-toluensulfonilo (**63**) en medio básico.

Para llevar a cabo la protección del grupo guanidino de la oxazaborolidinona derivada de la *L*-arginina (**88b**), se probaron dos estrategias de síntesis. La primera de ellas se llevó a cabo en disolución y la segunda en condiciones heterogéneas.

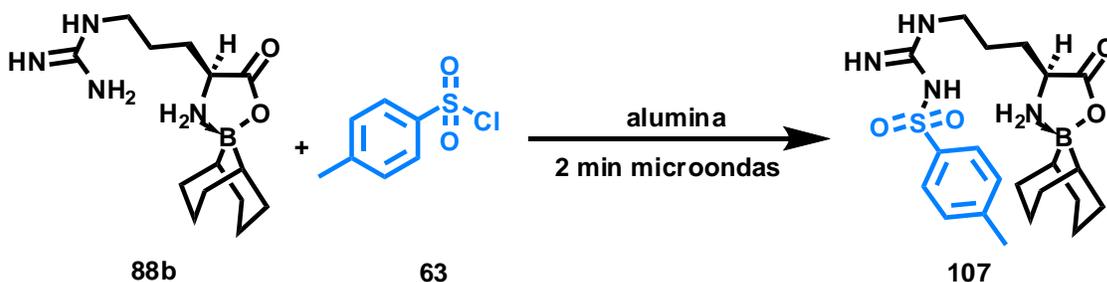
En la primera estrategia de síntesis se usó una mezcla de disolventes acetona/agua (3:1) y carbonato de potasio como base. Los resultados obtenidos bajo estas condiciones de reacción no fueron satisfactorios ya que se obtiene una mezcla de reacción compleja, la

cual cuando se analizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y no fue posible observar el ión molecular que se esperaba para el compuesto de protección **107**.



Esquema 34. Protección del grupo guanidino de la L-arginina en disolución.

Al no obtener resultados satisfactorios empleando el método en disolución, se probó una segunda estrategia la cual es un método libre de disolvente. En éste método se utilizó alúmina básica tanto como soporte como catalizador de la reacción. La mezcla de la oxazaborolidinona **88b**, el cloruro de *p*-toluensufonilo (**63**) y la alúmina básica se irradió con microondas durante 2 minutos (Esquema 35), para posteriormente aislar por extracción el producto de protección, el cual se obtuvo con un rendimiento del 68%.



Esquema 35. Protección del grupo guanidino de la L-arginina en condiciones heterogéneas.

El producto de la protección del grupo guanidino de la L-arginina (**107**) fue caracterizado por sus propiedades espectroscópicas (Resonancia magnética nuclear de hidrógeno RMN ^1H , resonancia magnética nuclear de carbono RMN ^{13}C , espectroscopia de infrarrojo IR, espectrometría de masas usando la técnica de impacto electrónico EMIE)

Caracterización de la (S)-4-(3-(3-tosilguanidino)propil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazoborolidin-5-ona	
EM EI (70 eV) m/z (% ar):	294 (2) M^+ , 67 (100), 69 (93) 56 (64), 82 (54)
IR-FT ATR (cm^{-1})	3334 (N-H guanidino), 3162 (N-H), 2920-2845 (C-H alifático), 1673 (C=O carboxilato) 1632 (C=N guanidino), 1216 (C-B-C)
RMN-^1H (300.1 MHz, MeOD, δ)	0.6(s, 2H), 1.32-1.97 (m, 16H), 3.28 (t, $J = 9$ Hz, 2H), 3.67 (t, $J = 9$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 7.78 (d, $J = 9$ Hz, 2H)
RMN-^{13}C (75.8 MHz, MeOD, δ)	21.5, 24.3, 29.7, 31.7, 43.9, 49.5, 126.9, 129.7, 137.5, 144.7, 157.6, 177.4

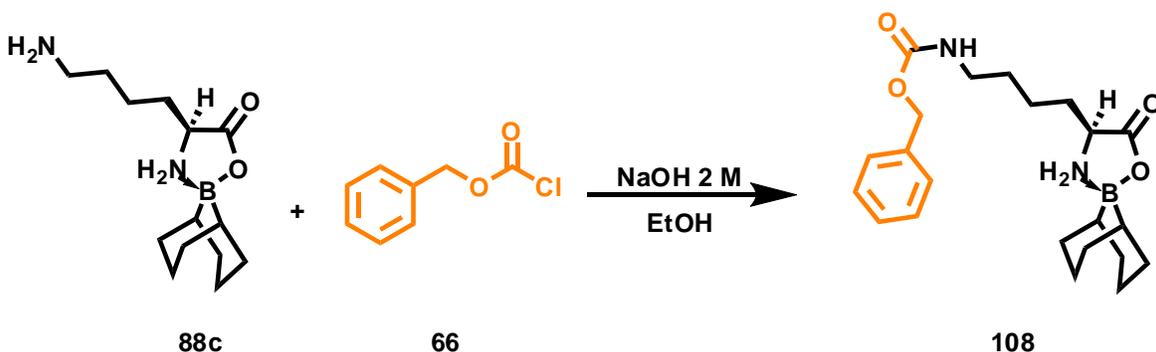
Tabla 24. Caracterización del producto de protección del grupo guanidino de la L-arginina **107**.

Los datos espectroscópicos resumidos en la Tabla 24, confirman la estructura propuesta para el producto de protección **107**, siendo los datos más importantes los obtenidos a partir de la resonancia magnética nuclear de hidrógeno RMN ^1H en donde en 7.31 y 7.78 ppm se observan dos señales dobles que son características de los hidrógenos de un anillo bencénico *para* sustituido; estos hidrógenos corresponden con los del grupo *p*-toluensulfonilo (**63**). El cálculo de las constantes de acoplamiento para estas señales ($J = 9$ Hz) coincide también para un sistema AA'BB'. En resonancia magnética nuclear de carbono RMN ^{13}C la señales que aparecen en 137.5 y 144.7 ppm coinciden con el desplazamiento químico esperado para los carbonos *ipso* del grupo *p*-toluensulfonilo (**63**), lo cual confirma la presencia de dicho grupo en la molécula.

5.4.4 Reacción de protección del grupo amino de la *L*-lisina (**18**).

La protección del grupo ϵ -amino de la lisina se llevó a cabo usando el cloruro de benciloxycarbonilo (**66**), para introducir el grupo benciloxycarbonilo (Cbz, **27**) como grupo protector, de la oxazaborolidinona derivada de la *L*-lisina (**88c**). Para llevar a cabo la reacción de protección se probaron algunas de las condiciones de reacción típicas para la protección de un grupo α -amino en cualquier α -aminoácido^[2]. Dichas condiciones de reacción implican el uso de una base en una mezcla de disolventes no miscibles entre sí a la temperatura de un baño de hielo-agua.

Para la protección de la cadena lateral del compuesto **88c** observamos que cuando se usa una disolución acuosa de hidróxido de sodio 2 M, con una disolución del compuesto **86c** en etanol y el cloruro de benciloxycarbonilo (**66**), se obtiene el rendimiento más alto para el producto de protección **108** (Esquema 36).



Esquema 36. Protección del grupo ϵ -amino del compuesto **88c**.

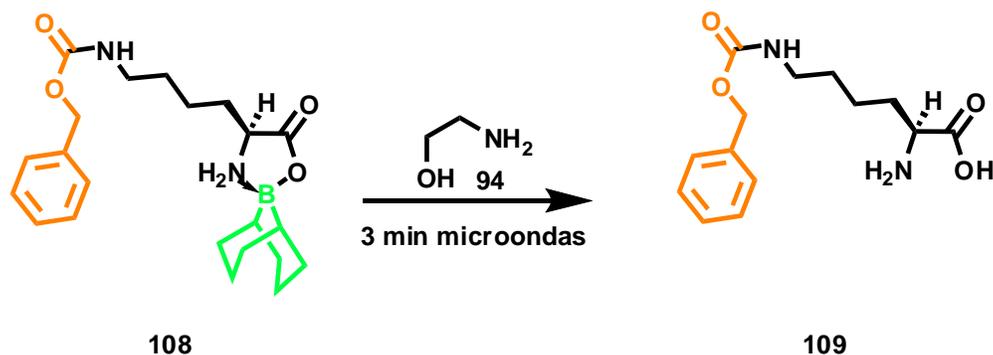
Además de las condiciones de reacción descritas en el Esquema 36, también se probaron otras concentraciones de la disolución de hidróxido de sodio, así como también diferentes mezclas de disolventes para poder llevar a cabo la introducción del grupo Cbz (**27**). Las diferentes condiciones de reacción probadas para esta reacción se resumen a continuación, así como también los rendimientos en los que fue posible obtener el producto de protección **108** (Tabla 25)

Protección del grupo amino de la L-lisina.		
Base	Disolventes	Rendimiento (%)
NaOH 1 M	dioxano/agua 1:1	13
NaOH 2 M	dioxano/agua 1:1	17
NaOH 1 M	THF/agua 1:1	7
NaOH 2 M	THF/agua 1:1	31
NaOH 2 M	THF/agua 2:1	35
NaOH 1 M	EtOH/agua 1:1	55
NaOH 2 M	EtOH/agua 2:1	82
NaOH 2 M	EtOH	63

Tabla 25. Condiciones de reacción para la protección del grupo ϵ -amino del compuesto **88c**.

Estos resultados, muestran que la concentración de la disolución de hidróxido de sodio es determinante en el avance de la reacción, ya que en todos los casos se obtiene un mayor rendimiento cuando se emplea la disolución de hidróxido de sodio 2 M. La elección de la mezcla de disolventes es también importante para la obtención del producto de protección **108** en un buen rendimiento. La elección de la mezcla de disolventes ideal parece estar determinada por la solubilidad de la oxazaborolidinona **88c**, ya que el compuesto **88c** es más soluble en etanol que en tetrahidrofurano.

Debido a que no fue posible obtener el compuesto **108** como un sólido, sino como una goma ligeramente amarilla, la determinación de los rendimientos mostrados en la Tabla 25, corresponden con los rendimientos con los que se recuperó el α -aminoácido libre. La liberación de la L-lisina protegida en el grupo ϵ -amino, se llevó a cabo utilizando el método indicado previamente (sección 5.2.2, pag. 46).



Esquema 37. Reacción de liberación de la L-lisina protegida en el grupo ϵ -amino 109.

La L-lisina libre protegida en el grupo ϵ -amino (**109**) fue caracterizada por sus propiedades espectroscópicas (Resonancia magnética nuclear de hidrógeno RMN ^1H , resonancia magnética nuclear de carbono RMN ^{13}C , espectroscopia de infrarrojo IR, espectrometría de masas usando la técnica de impacto electrónico EMIE)

Caracterización del ácido (S)-2-amino-6-(benciloxycarbonilamino)hexanoico	
EM EI (70 eV) m/z:	280 (1) M^+ , 108 (56), 91 (77), 79 (100), 77 (63)
IR-FT ATR (cm^{-1})	3343 (N-H amida) 3061-3032 (C-H aromático), 2947-2866 (C-H alifático), 1689 (C=O carbamato, ac. carboxílico), 1527 (C = C, aromático)
RMN-^1H (300.1 MHz, MeOD, δ)	1.58(m, 4H), 1.95(m, 2H), 3.18 (t, J=6 Hz, 2H), 3.99 (t, J=6 Hz, 1H), 5.11 (s, 2H), 7.39 (m, 5H)
RMN-^{13}C (75.8 MHz, MeOD, δ)	22, 28.8, 29.1, 39.5, 52.2, 65.6, 127.4, 127.7, 136.6, 157.3, 161.2, 170.3.

Tabla 26. Datos espectroscópicos para la L-lisina protegida en el grupo ϵ -amino 109.

Los datos espectroscópicos obtenidos para el compuesto **109**, concuerdan con los datos esperados para la estructura propuesta para dicho compuesto. En espectrometría de masas se alcanza a observar el ión molecular en m/z 280, que concuerda con el peso molecular esperado. Sin embargo, en espectrometría de masas el fragmento de m/z 108

proporciona mayor información sobre la estructura ya que este coincide con el peso molecular del grupo benciloxicarbonilo (**27**). En espectroscopia infrarroja la señal de confirmación para la protección de la L-lisina (**18**), la encontramos en 1521 cm^{-1} , la cual corresponde a la vibración del esqueleto del anillo aromático presente en el grupo benciloxicarbonilo (**27**). Los datos de resonancia magnética de hidrógeno RMN ^1H confirman la presencia del grupo protector con la señal múltiple que se observa en un desplazamiento químico de 7.39 ppm, que corresponde a los hidrógenos del anillo aromático, así como también la señal simple que aparece en 5.11 ppm que corresponde con el desplazamiento químico esperado para los hidrógenos del metileno del grupo protector. En resonancia magnética de carbono RMN ^{13}C , la señal más importante es la que se encuentra en 65.6 ppm que corresponde con el desplazamiento químico esperado para el carbono del metileno del grupo protector.

Capítulo 6

Conclusiones.

Se desarrolló una metodología eficiente para la protección selectiva de α -aminoácidos. La cual se basa en la formación de oxazaborolidinonas entre el grupo α -amino y el carboxilato al reaccionar con 9-borabicyclo[3.3.1]nonano (9-BBN, **72**). La metodología desarrollada permite llevar a cabo reacciones de manera selectiva, sobre los grupos funcionales presentes en las cadenas laterales de algunos α -aminoácidos. Las oxazaborolidinonas obtenidas fueron caracterizadas usando métodos utilizando métodos espectroscópicos (RMN ^1H , ^{13}C y ^{11}B) y espectrométricos.

Así mismo, se estudiaron las condiciones para la liberación de los diferentes α -aminoácidos del complejo formado con 9-BBN (**72**). Las mejores condiciones de reacción probadas fueron:

- a) una nueva metodología que emplea etanolamina como agente liberador y calentamiento por irradiación con microondas
- b) la hidrólisis de cada una de las oxazaborolidinonas (**88**) empleando una disolución metanólica de ácido clorhídrico concentrado.

Se consiguió llevar a cabo la protección selectiva de las cadenas laterales de diferentes aminoácidos. Las reacciones de protección se efectuaron sobre diferentes grupos funcionales empleando condiciones de reacción apropiadas que se resumen a continuación:

- 1- Protección del grupo hidroxilo de la *L*-tirosina (**16**). En este caso se utilizó como grupo protector el grupo bencilo (**55**), el cual se introdujo utilizando como materia prima el bromuro de bencilo, bajo las condiciones de una reacción de Williamson, usando carbonato de potasio como base y acetona bajo calentamiento a reflujo.

- 2- Protección del grupo ácido carboxílico del *L*-ácido aspártico (**14**). Para la protección de grupo ácido carboxílico se recurrió a una reacción de metilación usando condiciones de reacción de Williamson, las cuales son poco comunes para este tipo de reacciones. Se usó carbonato de potasio como base y acetona como disolvente.
- 3- Protección del grupo guanidino de la *L*-arginina (**19**). La protección del grupo guanidino se llevó a cabo sin disolvente usando el grupo *p*-toluensulfonilo (**63**) el cual fue introducido empleando el cloruro de *p*-toluensulfonilo (**63**) como reactivo con alúmina básica como catalizador de la reacción.
- 4- Protección del grupo amino de la *L*-lisina (**18**). El grupo ϵ -amino de la *L*-lisina fue protegido con el grupo benciloxycarbonilo (**27**), empleando como reactivo el cloruro de benciloxycarbonilo y condiciones de reacción de Schotten-Baumann, que usa hidróxido de sodio como base y una mezcla de metanol/agua como medio de reacción.

Las reacciones exitosas llevadas a cabo sobre la cadena lateral probaron la versatilidad del 9-borabicyclo[3.3.1]nonano (**72**, 9-BBN) como agente protector de α -aminoácidos, formando las distintas oxazaborolidinonas (**88**). Es de notar que para las reacciones de protección se utilizaron diferentes condiciones de reacción, tales como: disoluciones básicas, calentamiento a reflujo o con microondas y en todos los casos las oxazaborolidinonas mostraron ser estables a las distintas condiciones de reacción empleadas, obteniéndose los productos de protección de la cadena lateral en rendimientos mayores al 70% en todos los casos. Es importante resaltar como ventaja experimental, que el método empleado no requiere de cromatografía en columna para la purificación de los productos obtenidos.

Capítulo 7

Desarrollo experimental

7.1 Métodos generales

Los disolventes utilizados se destilaron antes de usarse. Los disolventes anhidros se destilaron bajo atmósfera de argón de la siguiente manera: tetrahidrofurano (THF) y éter etílico sobre sodio metálico en presencia de benzofenona; metanol (MeOH) sobre magnesio activado con un 5 % de yodo y la acetona sobre sulfato de cobre (II) (CuSO_4).

Todos los experimentos que involucraron compuestos sensibles al aire y/o humedad, se llevaron a cabo en matraces redondos secados en una estufa y provistos de un septum de hule, a los cuales se introdujo una aguja adaptada a un globo lleno de argón o nitrógeno según fuera el caso. Los baños para reacciones a baja temperatura fueron: hielo-agua (0 °C), hielo-NaCl 3:1 w/w (-20 °C), y $\text{CO}_2(\text{s})$ /acetona (-78 °C).

Las cromatografías en capa fina preparativas se llevaron a cabo en placas de vidrio (10 x 20 cm) recubiertas (0.25 mm) con gel de sílice SIL G-50 UV254. Los compuestos fueron detectados por visualización bajo una lámpara de luz ultravioleta (254 nm). En las placas de seguimiento, los compuestos se detectaron tanto por luz ultravioleta como por inmersión de la placa en una solución de ácido fosfomolibdico, seguido de calentamiento. Todas las mezclas de disolventes usadas como eluyentes se dan como soluciones v/v.

7.2 Datos espectroscópicos

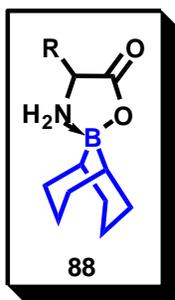
Los espectros de masas de baja resolución (EMBR) fueron obtenidos en un espectrómetro JEOL SMX-102a. La ionización por impacto electrónico (IE), se llevó a cabo a 70eV. Los espectros de infrarrojo se obtuvieron en un espectrómetro marca Perkin Elmer modelo 1605 utilizando KBr y sólo se reportan las bandas diagnóstico. Los espectros de resonancia magnética nuclear de hidrógeno y carbono (RMN ^1H y RMN ^{13}C) se determinaron en un equipo Varian Unity Inova 300, generalmente en disoluciones de CD_3OD ó DMSO-d_6 a 300

MHz para ^1H y 75 MHz para ^{13}C , utilizando TMS como referencia interna. Los espectros de resonancia magnética nuclear de boro (RMN ^{11}B) se determinaron en un equipo Jeol Eclipse 400, en disoluciones de DMSO- d_6 a 87 MHz para ^1H , utilizando BF_3 como referencia interna. Los desplazamientos químicos (δ) y las constantes de acoplamiento (J) se determinaron asumiendo un comportamiento de primer orden. La multiplicidad está indicada por una o más de las siguientes siglas: s (simple), d (doble), t (triple), c (cuarteto), m (múltiple). Las constantes de acoplamiento (J) están expresadas en Hz. Las señales en RMN ^1H se asignaron con base a su desplazamiento químico, multiplicidad y consistencia con una serie de estructuras similares. Las señales en RMN ^{13}C y RMN ^{11}B se asignaron tomando como base el desplazamiento químico, y consistencia con una serie de estructuras similares.

7.3 Procedimiento experimental.

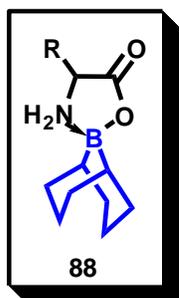
7.3.1 Síntesis de las diferentes oxazaborolidinonas 88

Procedimiento general usando una disolución de 9-BBN 0.5 M en THF Sigma-Aldrich.

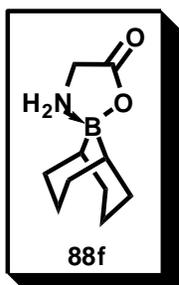


En un matraz de fondo redondo de 50 mL con dos bocas esmeriladas, se colocó el α -aminoácido respectivo (3.125 mmol) bajo atmósfera de nitrógeno. Se agregaron 20 mL de metanol anhidro y la mezcla resultante se mantuvo bajo calentamiento en agitación para solubilizar el α -aminoácido lo más posible. Después de 15 minutos de calentamiento a reflujo se agregó el 9-BBN (**72**, 6.7 mL, 3.125 mmol) y se continuó con el calentamiento a reflujo hasta que la mezcla de reacción se tornó transparente. Se concentró por evaporación y el residuo se redisolvió en 15 mL de tetrahidrofurano caliente, se filtró el sólido sobrenadante formado y se concentró el filtrado obtenido. El residuo obtenido se lavó y se trituroó con hexano caliente obteniendo así la oxazaborolidinona respectiva como un sólido amorfo. Los productos obtenidos fueron caracterizados por sus propiedades espectroscópicas (EMBR IE, IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C , RMN ^{11}B). Ver rendimientos en Tabla 9.

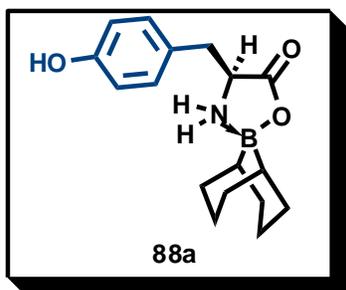
Procedimiento general usando el dímero del 9-BBN.



En un matraz de fondo redondo de 250 mL con tres bocas esmeriladas y bajo atmósfera de argón se disolvieron 1.1 eq. del dímero del 9-BBN (**69**) en 150 mL de metanol anhidro a reflujo por 30 min. Transcurrido el tiempo de reacción se agregaron 25 mmol del α -aminoácido y se continuó con el calentamiento a reflujo sobre la mezcla de reacción, hasta que cesó la evolución de gas generado y el sólido quedó completamente disuelto. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se redisolvió en 100 mL de tetrahidrofurano caliente, se filtró el sólido sobrenadante formado y posteriormente el filtrado obtenido se concentró nuevamente por evaporación. El residuo obtenido, se lavó y se trituró con hexano caliente obteniendo así la boroxazolidinona respectiva como un sólido amorfo. Los productos obtenidos fueron caracterizados por sus propiedades espectroscópicas (EMBR IE, IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C , RMN ^{11}B).

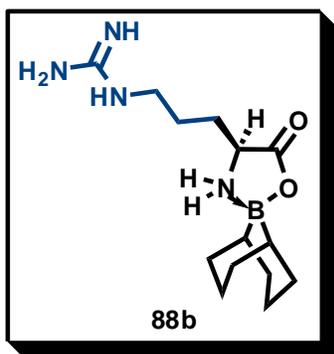


2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona: EM EI (70 eV) m/z (% ar): 195 (100) M^+ , 138 (36), 136 (13); IR-FT ATR (cm^{-1}): 3224 (N-H sal de amonio, O-H fenol), 2920-2842, 1614-1515 1703, 1217; RMN- ^1H (299.7 MHz, CD_3OD , δ): 0.5(s, 2H), 1.41(s, 4H), 1.57-1.75 (m, 8H), 3.36 (t, $J=5.99$ Hz, 2H), 6.23 (s, 2H); RMN- ^{13}C (75.8 MHz, CD_3OD , δ): 22.66-24.23, 30.81, 31.15, 42.62, 171.92; RMN- ^{11}B (87MHz, DMSO-d_6 , δ): 7.65.



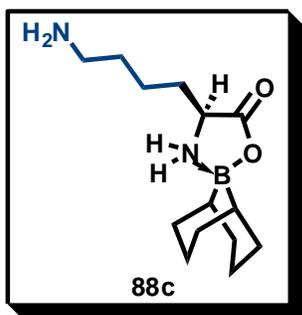
(S)-4-(4-hidroxibencil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona: EM EI (70 eV) m/z (% ar): 301 (4), M^+ , 107 (100), 110 (47); IR-FT ATR (cm^{-1}): 3272-3163, 2923-2803, 1709, 1217; RMN- ^1H (300.1 MHz, DMSO-d_6 , δ): 0.36 (s, 1H), 0.46 (s, 1H), 1.77-1.35 (m, 14H), 3.35(s, 2H), 3.59 (t, $J = 6$ Hz, 1H), 5.54 (t, $J = 12$ Hz, 1H), 6.45 (t, $J = 12$ Hz, 1H), 6.7 (d, $J = 9$

Hz, 2H), 7.11 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 9.24 (s, 1H); RMN- ^{13}C (75.8 MHz, DMSO-d $_6$, δ): 22.8, 24.6, 25.1, 25.8, 26.6, 31.2, 35.9, 56.8, 67.5, 115.9, 128.2, 130.9, 156.5, 174.3; RMN- ^{11}B (87MHz, DMSO-d $_6$, δ): -3.69.



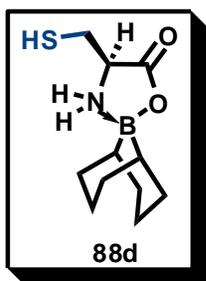
(S)-4-(3-guanidinopropil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona: EM EI (70 eV) m/z (% ar): 294 (2) M^+ , 67 (100), 69 (93) 56 (64), 82(54); IR-FT ATR (cm^{-1}): 3334, 3162, 2920-2845, 1673, 1632,, 1216; RMN- ^1H (299.7 MHz, DMSO-d $_6$, δ): 0.6(s, 2H), 1.45-1.92 (s, 16H), 3.25 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 4.98 (s, 6H); RMN- ^{13}C (75.8 MHz, DMSO-d $_6$, δ): 14.9, 22.1, 23.2, 24.5, 25.7, 31.1, 32.4, 47.5, 157.2, 174.1; RMN- ^{11}B (87MHz,

DMSO-d $_6$, δ): 0.49



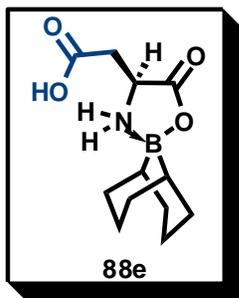
(S)-4-(4-aminobutil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona: EMBR EI (70 eV) m/z (% ar): 266 (24) M^+ , 209 (27), 84 (100); IR-FT ATR (cm^{-1}): 3260, 3224, 2915-2842, 1709, 1252; RMN- ^1H (300.1 MHz, DMSO-d $_6$, δ): 0.24(s, 1H), 0.34(s, 1H), 1.07-1.58 (m, 16H), 2.37 (t, $J = 9$ Hz, 2H), 3.37 (t, $J = 6$ Hz, 1H), 5.63 (t, $J = 12$ Hz, 1H), 6.24 (t, $J = 12$ Hz, 1H); RMN- ^{13}C (75.8 MHz, DMSO-d $_6$, δ): 14.9, 23.9, 24.5, 25.4, 30.9, 31.4, 33.2,

42.3, 55.1, 174.4; RMN- ^{11}B (87MHz, DMSO-d $_6$, δ): 9.99.



(S)-4-(mercaptometil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona: EM EI (70 eV) m/z (% ar): 241 (35) M^+ , 195 (100), 76 (98); IR-FT ATR (cm^{-1}): 3215, 2981-2876, 2837, 1701, 1294; RMN- ^1H (300.1 MHz, DMSO-d $_6$, δ): 0.47(s, 1H), 0.59 (s, 1H), 1.41-1.77 (m, 12H), 2.87 (d, $J=3$ Hz, 2H), 3.84 (t, $J = 6$ Hz, 1H), 5.76 (t, $J = 12$ Hz, 1H), 6.61 (t, $J = 12$ Hz, 1H); RMN- ^{13}C (75.8 MHz, DMSO-d $_6$, δ): 21.3,

22.6, 24.3, 30.7, 31.5, 56.8, 171.7;RMN- ^{11}B (87MHz, DMSO-d $_6$, δ): 9.44

**(S)-4-(carboximetil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano****1,3,2-**

oxazaborolidin-5-ona: EM EI (70 eV) m/z (% ar): 253 (7) M^+ , 208 (37), 114 (100) 88 (65), 70 (73); IR-FT ATR (cm^{-1}): 3346, 3221, 2920-2847, 1717, 1681, 1203, 1115; RMN- ^1H (300.1 MHz, DMSO- d_6 , δ): 0.52(d, $J = 6$ Hz, 2H), 1.39-1.78 (m, 13H), 2.72 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 3.79 (s, 1H), 5.98 (t, $J = 12$ Hz, 1H), 6.45 (t, $J = 12$ Hz, 1H); RMN- ^{13}C (75.8 MHz, DMSO- d_6 , δ): 20.2, 21.8, 30.7, 31.4, 34.8, 51.7, 172, 173.6.

7.3.2 Reacciones de liberación del aminoácido.**Procedimiento general usado para la hidrólisis ácida de las diferentes oxazaborolidinonas 88.**

En un matraz Erlenmeyer de 50 mL se disolvieron 4 mmol de la oxazaborolidinona correspondiente (**88**) en 8 mL de metanol. A la disolución anterior se adicionaron 4 mL de ácido clorhídrico concentrado. La mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación por 30 minutos, y posteriormente se concentró por evaporación. Al residuo resultante se adicionaron 20 mL de tetrahidrofurano caliente y se procedió a agitar la mezcla por 15 minutos más. El precipitado obtenido se filtró usando un embudo Büchner de filtración al vacío, el sólido obtenido se lavó con tres porciones de 10 mL de tetrahidrofurano y secado al vacío por 1 h. Los productos obtenidos se caracterizaron con base en espectroscopia infrarroja.

Procedimiento general usado para la liberación del α -aminoácido usando etanolamina.

En un matraz Erlenmeyer de 50 ml que contenía 1 mL de etanol amina, se adicionó 1.5 eq de la oxazaborolidinona correspondiente (**88**), la mezcla de reacción se homogenizó y se irradió con microondas durante 3 minutos, posteriormente se dejó enfriar la mezcla de reacción por 15 minutos, una vez fría se adicionaron 10 mL de acetona y 2 mL de tetrahidrofurano, esta nueva mezcla se agitó durante 15 minutos más y posteriormente se dejó reposar durante 15 minutos

para que el sólido formado se asentara. El sólido obtenido se filtró en un embudo Büchner al vacío, lavando el sólido con tres porciones de 3 mL de acetona y una porción de 3 mL de tetrahidrofurano frío. Los productos obtenidos fueron caracterizados por espectroscopia infrarroja.

L-glicina: IR-FT ATR (cm^{-1}): 3156-2604, 2885-2820, 2123, 1582.

L-tirosina: IR-FT ATR (cm^{-1}): 3199, 3105-3040, 2979-2879, 1583, 1511, 1329.

L-arginina: IR-FT ATR (cm^{-1}): 3357,3295, 3252, 3053, 2944, 2862, 1614, 1553, 1420, 1330.

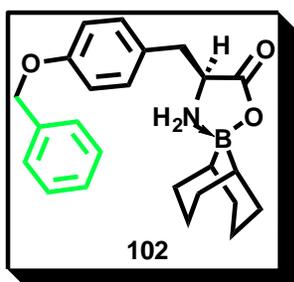
L-Lisina: IR-FT ATR (cm^{-1}): 3357, 3292, 2987, 2922-2850, 1575, 1403.

L-cisteina: IR-FT ATR (cm^{-1}): 2990, 2941, 2540, 1574, 1393.

L-ácido aspártico: IR-FT ATR (cm^{-1}): 2954, 2867, 1688, 1599, 1503, 1246.

7.3.2 Reacciones en la cadena lateral de diferentes oxazaborolidinonas.

Síntesis de la (S)-4-(4-(benciloxi)bencil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona.



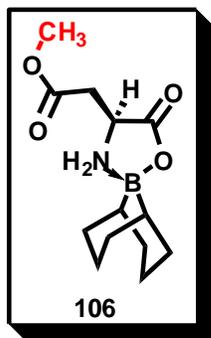
En un matraz de fondo redondo de dos bocas esmeriladas con un refrigerante adaptado en posición de reflujo, se colocó carbonato de potasio anhidro (0.385 g, 3.5 mmol), la oxazaborolidinona derivada de la tirosina (**88a**) (1g, 3.3 mmol) y se adicionó acetona recién destilada sobre sulfato de cobre anhidro (20 mL). La mezcla anterior se mantuvo bajo atmósfera

de nitrógeno en agitación y bajo calentamiento a reflujo durante 15 minutos. Se adaptó un embudo de adición de presión compensada, en el que se adicionó yoduro de sodio (0.525 g, 3.5 mmol) y bromuro de bencilo (0.4 mL, 3.5 mmol) dejando gotear el contenido lentamente sobre la mezcla en el matraz de fondo redondo, de tal forma que la adición se hiciera en un periodo de 30 minutos y se continuó con el calentamiento a reflujo durante 3 h. La mezcla de reacción se concentró por evaporación, se adicionaron 15 mL de una solución saturada de ácido cítrico al residuo y el producto de reacción (**102**) se aisló por extracción líquido-líquido con acetato de etilo (3 X 15 mL). Los extractos de acetato de

etilo se secaron con sulfato de sodio anhidro y se concentraron por evaporación dando un rendimiento para el producto de protección de 78 %. El producto final fue caracterizado en base a sus propiedades espectroscópicas.

(S)-4-(4-(benciloxi)bencil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona: EM EI (70 eV) m/z (% ar): 391 (17) M^+ , 300 (46), 107 (100), 91 (76), ; IR-FT ATR (cm^{-1}): 3203, 2914-2848, 1713, 1514, 1246, 1174; RMN- ^1H (299.7 MHz, DMSO- d_6 , δ): 0.44(d, $J = 18$ Hz, 2H), 1.31-1.74 (m, 16H), 2.81 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.77 (t, $J_1 = 9$ Hz, $J = 7.5$ Hz, 2H), 5.08 (s, 2H), 5.68 (t, $J = 9$ Hz, 1H), 5.68 (t, $J = 9$ Hz, 1H), 6.95 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 7.26 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 7.36-7.47 (m, 5H); RMN- ^{13}C (75.8 MHz, DMSO- d_6 , δ): 23.89, 24.45, 30.68, 31.30, 35.20, 55.69, 68.92, 114.61, 127.55, 127.7, 128.39, 129.40, 130.36, 137.21, 157.25, 173.08.

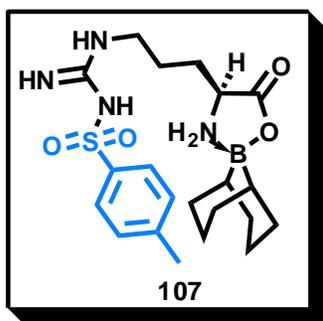
Síntesis de (S)-4-(2-metoxi-2-oxoetil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona.



En un matraz de fondo redondo de 50 mL se colocó carbonato de potasio anhidro (0.165 g, 1.5 mmol) y la oxazaborolidinona derivada del ácido aspártico (**88e**) (0.3 g, 1.2 mmol). Se purgó el sistema con nitrógeno y se adicionó acetona (recién destilada sobre sulfato de cobre anhidro, 10 mL), manteniendo la atmósfera de nitrógeno durante todo el proceso. La mezcla anterior se mantuvo en agitación bajo calentamiento durante 15 minutos, se adicionó yodometano (2 mL,) y se prosiguió el calentamiento 2 h más. Se concentró por evaporación, el residuo se redisolvió en 15 ml de una solución saturada de ácido cítrico para posteriormente aislar el producto **106** por extracción líquido-líquido con acetato de etilo (3 X 15). Los extractos de acetato de etilo se secaron con sulfato de sodio anhidro y se concentraron para obtener el producto final en un rendimiento del 85 %. El producto final fue caracterizado en base a sus propiedades espectroscópicas.

(S)-4-(2-metoxi-2-oxoetil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona. EM EI (70 eV) m/z (% ar): 267 (15) M^+ , 128 (100), 102 (82) 70 (51), IR-FT ATR (cm^{-1}): 3247 (N-H sal de amonio), 2951-2839 (C-H alifático), 1752 (C=O, éster), 1703 (C=O carboxilato), 1224 (C-B-C) 1182(C-O); RMN- ^1H (300.1 MHz, CD_3OD , δ): 0.68(s, 2H), 1.54-1.95 (m, 13H), 3.02 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 4.1 (t, $J = 6$ Hz, 1H), 4.84 (s, 2H). RMN- ^{13}C (75.8 MHz, CD_3OD , δ): 23.8-24.7, 30.9, 31.5, 33.4, 51.6, 171, 174.3.

Síntesis de la (S)-4-(3-(3-tosilguanidino)propil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona

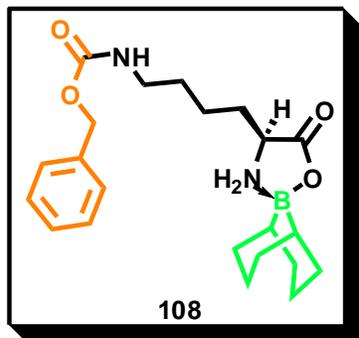


Se colocó la oxazaborolidinona derivada de la *L*-arginina (**88b**, 0.588 g, 2 mmol), cloruro de *p*-toluensulfonilo (0.342 g, 1.8 mmol) y 1 g de alúmina básica activada (150 mallas marca Sigma-Aldrich) en un vaso de precipitados de 50 mL y la mezcla se homogenizó con un agitador de vidrio. Posteriormente se adicionó tetrahidrofurano (2 mL) y se volvió a homogenizar la muestra. A continuación se irradió

con microondas la mezcla de reacción durante 2 minutos y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se agregó acetona (15 mL) y la suspensión se agitó vigorosamente durante 15 min. El sólido obtenido se filtró y el filtrado se concentró por evaporación. Al residuo obtenido se le agregó una solución saturada de ácido cítrico (15 mL) y el producto de protección **107** se aisló por extracción líquido-líquido con acetato de etilo (3 X 15 mL). Los extractos de acetato de etilo se secaron con sulfato de sodio anhidro y se concentraron dando un rendimiento del 62% para el producto de protección.

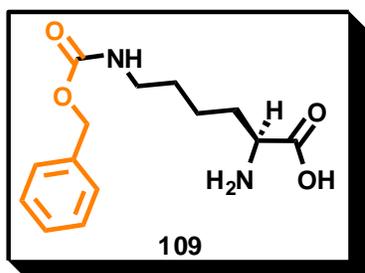
(S)-4-(3-(3-tosilguanidino)propil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona: EM EI (70 eV) m/z : 294 (2) M^+ , 67 (100), 69 (93) 56 (64), 82(54); IR-FT ATR (cm^{-1}): 3334, 3162, 2920-2845, 1673, 1632, 1216; RMN- ^1H (299.7 MHz, CD_3OD , δ): 0.6(s, 2H), 1.32-1.97 (m, 16H), 3.28 (t, $J = 9$ Hz, 2H), 3.67 (t, $J = 9$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 7.78 (d, $J = 9$ Hz, 2H); RMN- ^{13}C (75.8 MHz, CD_3OD , δ): 21.5, 24.3, 29.7, 31.7, 43.9, 49.5, 126.9, 129.7, 137.5, 144.7, 157.6, 177.4

Síntesis de la (S)-4-(4-(benciloxycarbonilamino)butil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano 1,3,2-oxazaborolidin-5-ona.



En un matraz Erlenmeyer de 50 mL se disolvió la oxazaborolidinona de la *L*-lisina (**88c**) (0.8 g, 3 mmol) en etanol (10 mL). La disolución se enfrió en un baño hielo y una vez fría se adicionó una disolución de hidróxido de sodio 2 M (5 mL). Se agito durante 5 minutos, se adicionó cloruro de benciloxycarbonilo (0.5 mL, 3.5 mmol) y se dejó agitando en el baño de hielo por 30 minutos más. A

continuación se retiró el baño de hielo y se dejó en agitación durante 1 h a temperatura ambiente. Se concentró por evaporación y el residuo se redisolvió en agua (10 mL). La disolución obtenida se aciduló con bisulfato de potasio (pH=3) y se aisló el producto por extracción líquido-líquido con acetato de etilo (3 X 25). Los extractos se reunieron y se secaron con sulfato de sodio anhidro, se evaporó el acetato de etilo para obtener el producto de protección **108** como una goma ligeramente amarilla. El producto de protección **108** fue liberado de acuerdo al procedimiento descrito en la sección 7.3.2 empleando etanol amina como agente liberador, obteniéndose el producto **109** con un rendimiento del 77 %.



Ácido (S)-2-amino-6-(benciloxycarbonilamino)hexanoico:

EM EI (70 eV) m/z (% ar): 280 (1) M^+ , 108 (56), 91 (77), 79 (100), 77 (63); IR-FT ATR (cm^{-1}): 3343, 3061-3032, 2947-2866, 1689, 1527; RMN- 1H (299.7 MHz, CD_3OD , δ): 1.58(m, 4H), 1.95(m, 2H), 3.18 (t, J=6 Hz, 2H), 3.99 (t, J=6 Hz, 1H) 5.11 (s,2H), 7.39 (m, 5H); RMN- ^{13}C (75.8 MHz,

CD_3OD , δ): 22, 28.8, 29.1, 39.5, 52.2, 65.6, 127.4, 127.7, 136.6, 157.3, 161.2, 170.3.

Capítulo 8

Bibliografía.

- [1] Bodanszky, M.; Bodanszky, A. *The practice of peptide synthesis*, 2nd ed; Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, **1994**.
- [2] Carey, F. A. *Organic Chemistry*, 6th ed, Mc Graw-Hill, New York US, 2003.
- [3] Bergmann, M.; Zervas, L. *Ber. Deut. Chem. Ges.* **1932**, 65B, 1192.
- [4] Isidro-Llobet, A.; Ivarez, M.; Albericio, F. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 2455–2504
- [5] Barany, G.; Merrifield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99(22), 7363-7365
- [6] Barany, G.; Albericio, F. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 4936-4942
- [7] Carpino, L. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 4427.
- [8] Anderson, G. W.; Alberston, N. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 6180.
- [9] Barlos, K.; Mamos, P.; Papaioannou, D.; Patrianakou, S.; Sanida, C.; Schaefer, W. *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 12, 1025.
- [10] Bodanszky, M.; Bednarek, M. A.; Bodanszky, A. *Int. J. Pept. Prot. Res.* **1982**, 20, 387.
- [11] Wang, S. S.; Yang, C. C.; Kulesha, I. D.; Sonenberg, M.; Merrifield, R. B. *Int. J. Pept. Prot. Res.* **1974**, 6, 103.
- [12] Mojsov, S; Merrifield, R. B. *Biochemistry* **1981**, 20, 2950.
- [13] Carpino, L. A.; Han, G. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 574.
- [14] Carpino, L. A.; Han, G. Y. *J. Org. Chem.* **1972**, 37, 3404.
- [15] Samukov, V. V.; Sabirov, A.; Pozdnyakov, P. I. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 7821.
- [16] Sabirov, A. N.; Kim, Y.-D.; Kim, H.-J.; Samukov, V. V. *Protein Peptide Lett.* **1997**, 4, 307.

- [17] Carpino, L. A.; Philbin, M.; Ismail, M.; Truran, G. A.; Mansour, E. M. E.; Iguchi, S.; Ionescu, D.; El-Faham, A.; Riemer, C.; Warrass, R.; Weiss, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9915.
- [18] Carpino, L. A.; Philbin, M. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4315.
- [19] Stevens, C. M.; Watanabe, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 725.
- [20] Anderson, G. W.; Callahan, F. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 3359.
- [21] McMurray, J. S. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 7679.
- [22] Thieriet, N.; Guibe', F.; Albericio, F. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1815.
- [23] Deimer, K-H. In *XV/1. Synthesis of Peptides, Protecting Groups I (Houben-Weyl: VII. The Synthesis of Peptides; Wunsch, E., Ed.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart; p 332, 2001.*
- [24] Lloyd-Williams, P.; Albericio, F.; Giralt, E. *Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins; CRC Press: Boca Raton, FL, 1997.*
- [25] Jensen, K. J.; Alsina, J.; Songster, M. F.; Va'gner, J.; Albericio, F.; Barany, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 5441.
- [26] Isidro-Llobet, A.; Alvarez, M.; Albericio, F. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7733.
- [27] Norbert, Sewald, Hans-Dieter Jakubke. *Peptides: Chemistry and Biology.* Wiley-VCH Verlag GmbH & Co: Weinheim, **2002**; pp 135-268.
- [28] Kurtz, A. *J. Biol. Chem.*, *180*, **1949**, 1253-1267.
- [29] Hermann, L. *Chemische Berichte*, **1906**, *31(1)*, 857.
- [30] Hirschmann, R.; Denkwalter, R. G.; Schwam, H.; Strachan R. G.; Beesley, T. E.; Veber, D. F.; Schoenewaldt, E.F.; Barkemeyer, H.; Paleveda, W. J.; Jacob, J. T. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 3163.

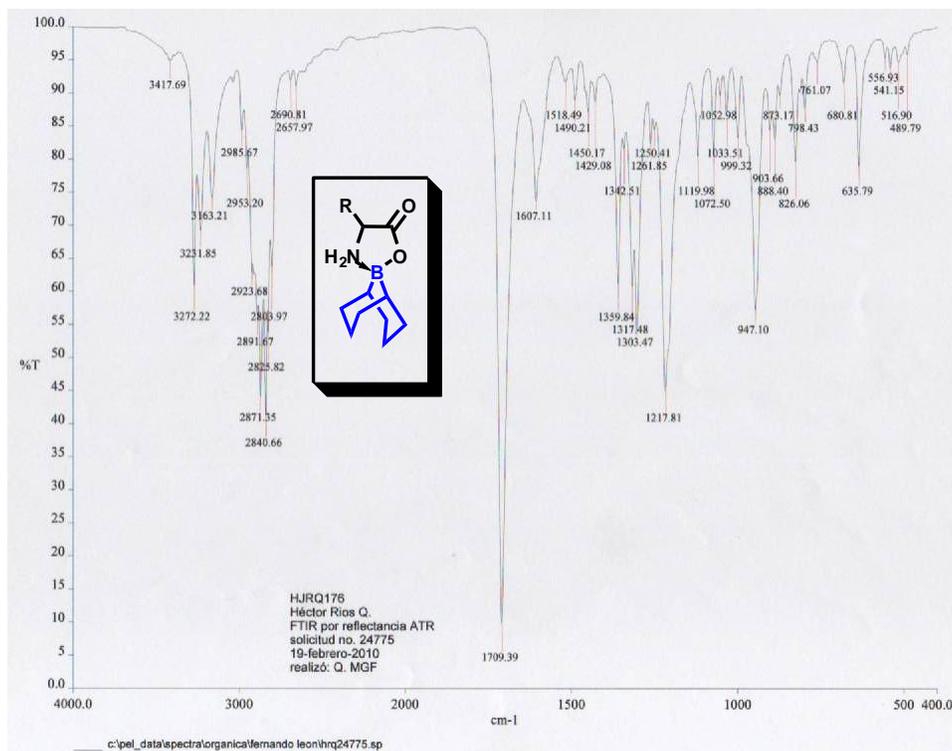
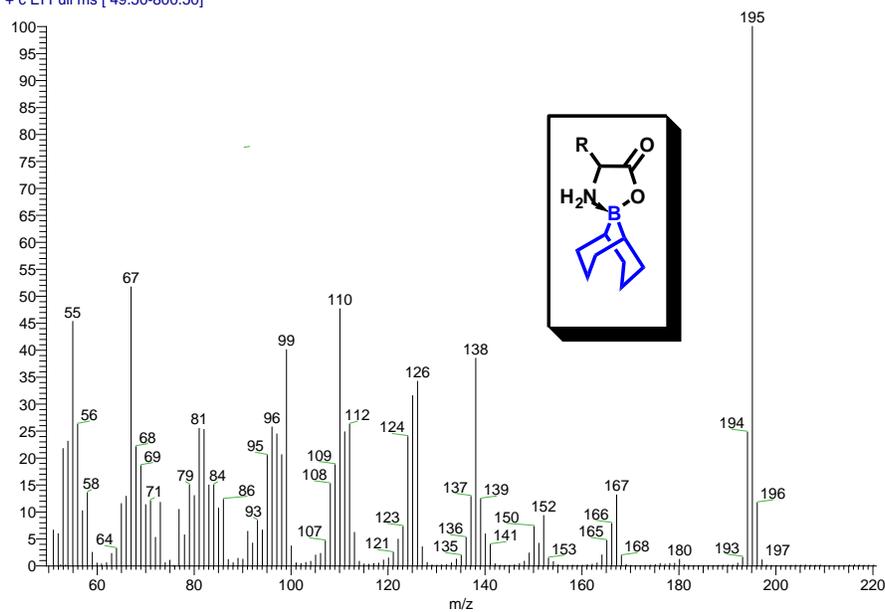
- [31] Farfán, N.; Silva D.; Santillan R. *Heteroatom Chem*, 4, **1993**, 533-536.
- [32] Krishnamurthy, S.; Brown, H. *J. Org. Chem.*, 42(7), **1977**
- [33] Brown, H. C.; Molander, G. A. *J. Org. Chem.* 51, **1986**,4512
- [34] Jacob, P.; Brown, H. C. *J. Org. Chem.* 42, **1977**, 579
- [35] Abe, S.; Miyaura, N.; Suzuki, A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 65, **1992**, 2863
- [36] Midland, M. M. *Ph. D. Thesis*, Purdue University, **1972**.
- [37] Contreras, R. Z. *Naturforsch. B* . **1980** , 35 , 1236.
- [38] Trujillo, J.; Höpfl H.; Castillo D.; Santillan R.; Farfán N. *J. of Organomet. Chem.* , 571 , **1998**, 21–29.
- [39] Syed, B. M. et al; *Tetrahedron*, 60, **2004**, 5571–5575.
- [40] Schade D. et al; *J. Org. Chem*, 73(3), **2008**, 1025-1030.
- [41] Dent III, W. H. et al; *Org. Lett.*, 4(8), **2002**, 1249-1251.
- [42] Ponsati, B.; Canas, M.; Jodes, G.; Clemente, J.; Barcadit, J. PCT Int. Appl. 2000, WO 2000071570 A1, 2000; *Chem. Abstr.* 134, 17728.
- [43] Chhabra, S. R.; Hothi, B.; Evans, D. J.; White, P. D.; Bycroft, B. W.; Chan, W. C. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 1603.
- [44] De Luca, S.; Della Moglie, R.; De Capua, A.; Morelli, G. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 6637.
- [45] DiMarchi, R. D.; Tam, J. P.; Merrifield, R. B. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1982**, 19, 270.

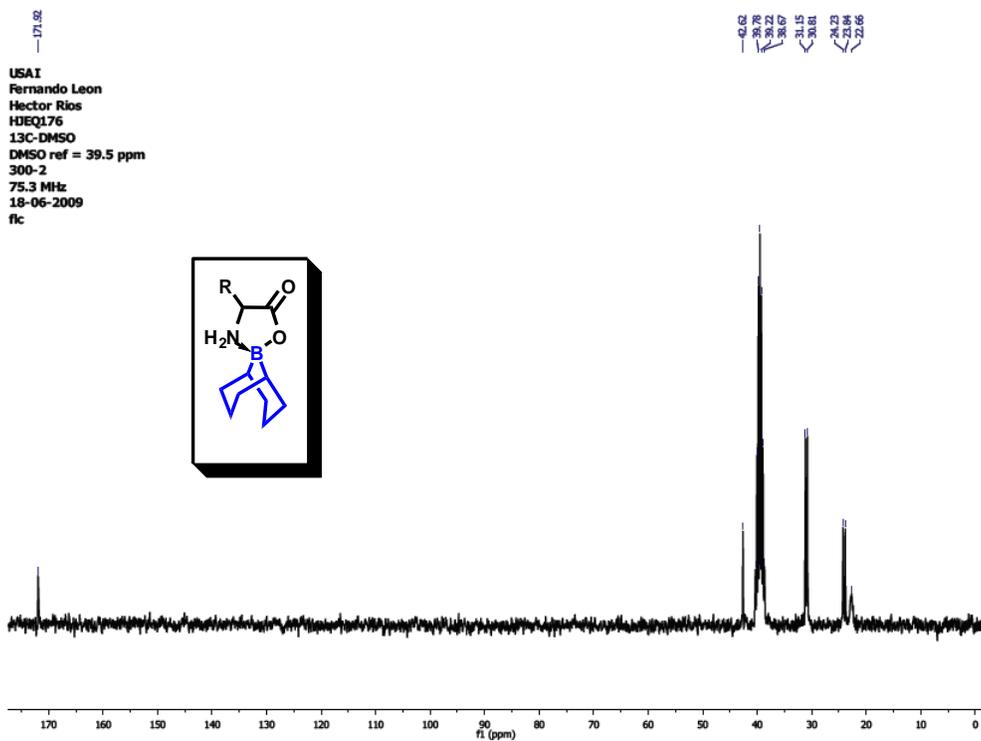
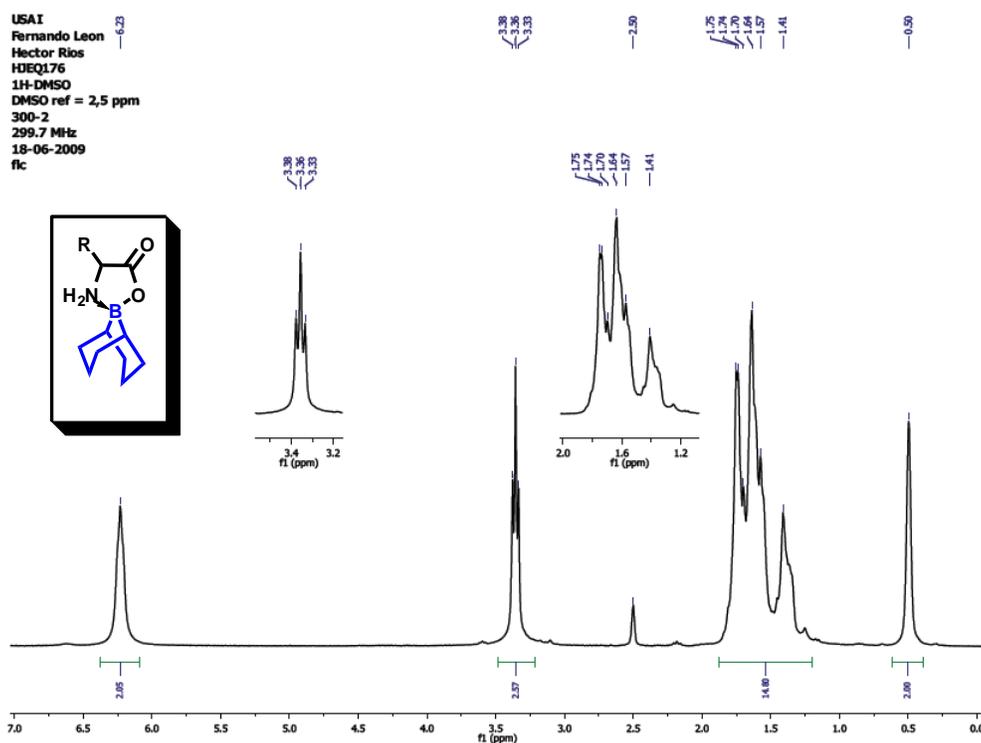
Espectroscopia

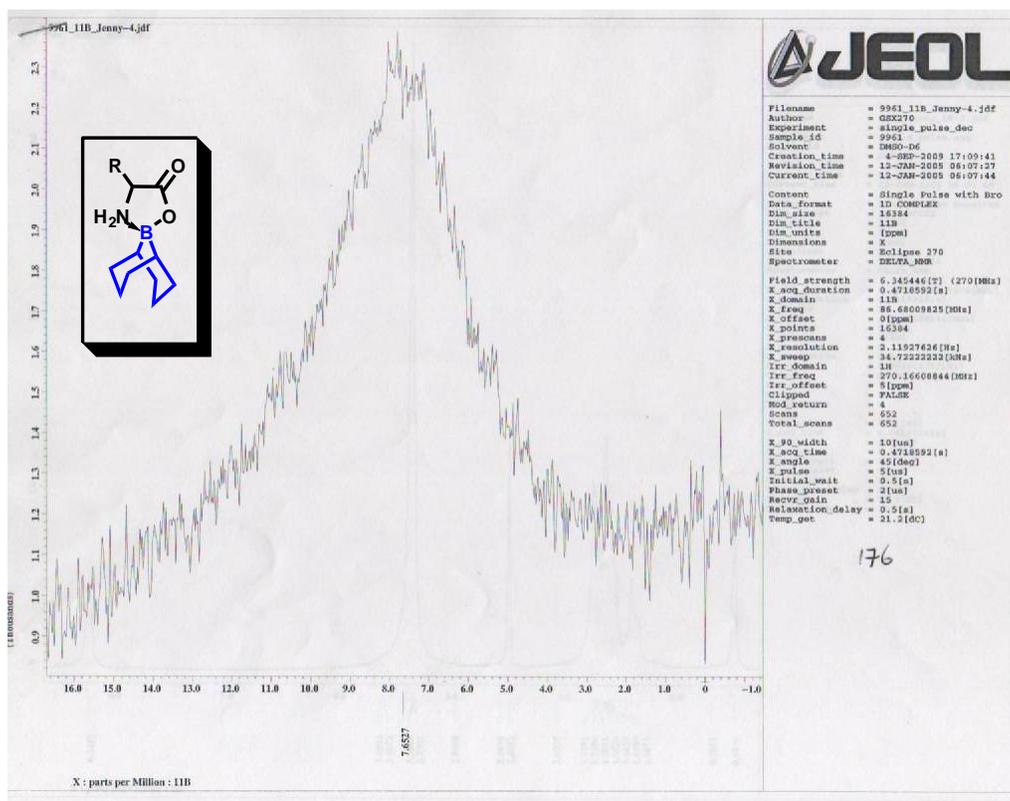
D:\xcalibur\data\USA\INDIOT3821_1

3/9/2010 7:47:12 PM

HJRQ176

OT3821_1 #11-12 RT: 2.05-2.26 AV: 2 SB: 3 0.00-0.41
T: + c EI Full ms [49.50-800.50]



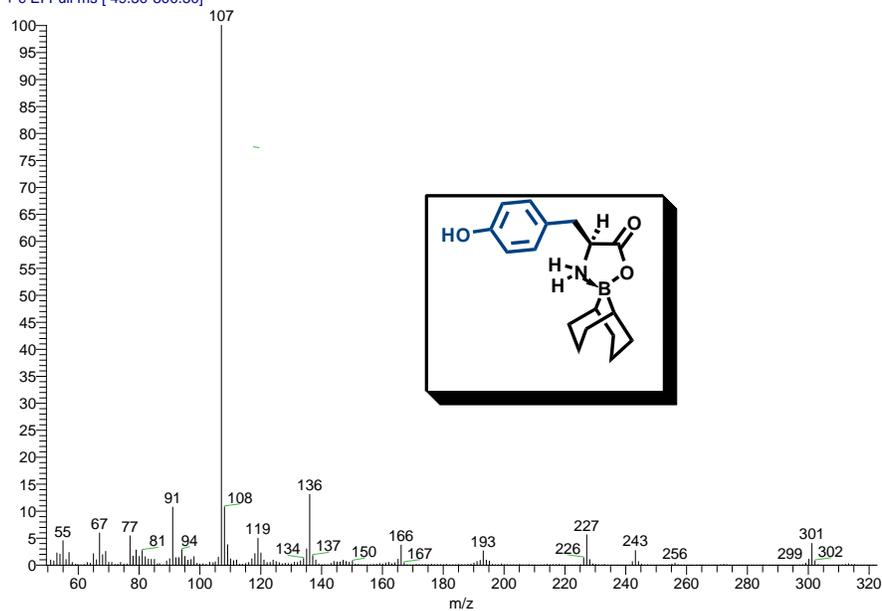


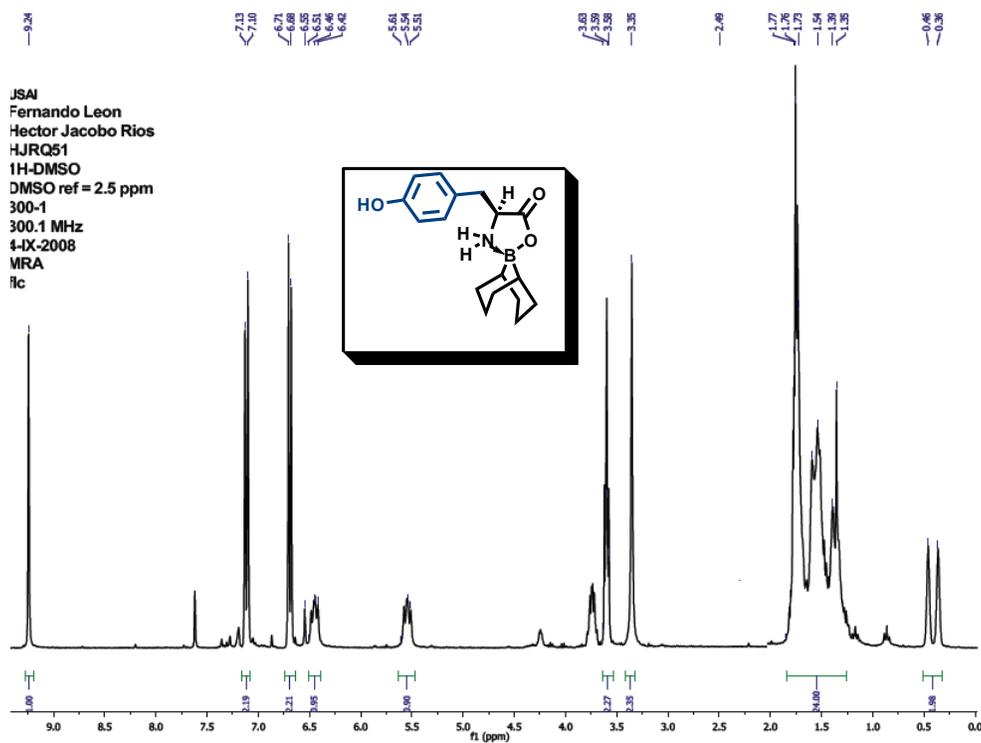
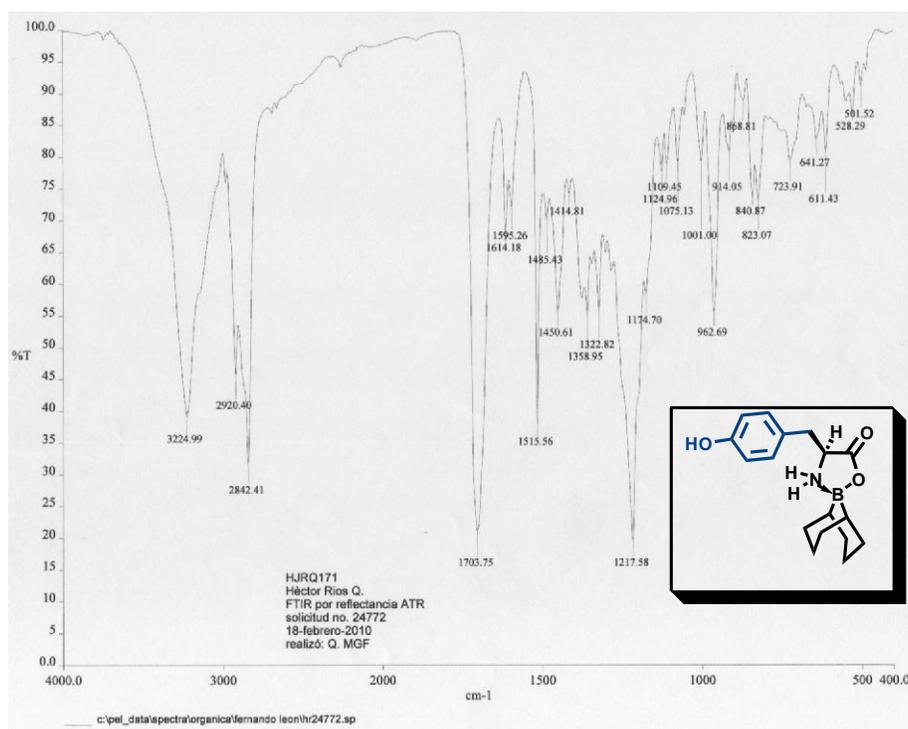
D:\Xcalibur\data\USAND\OT3824_1

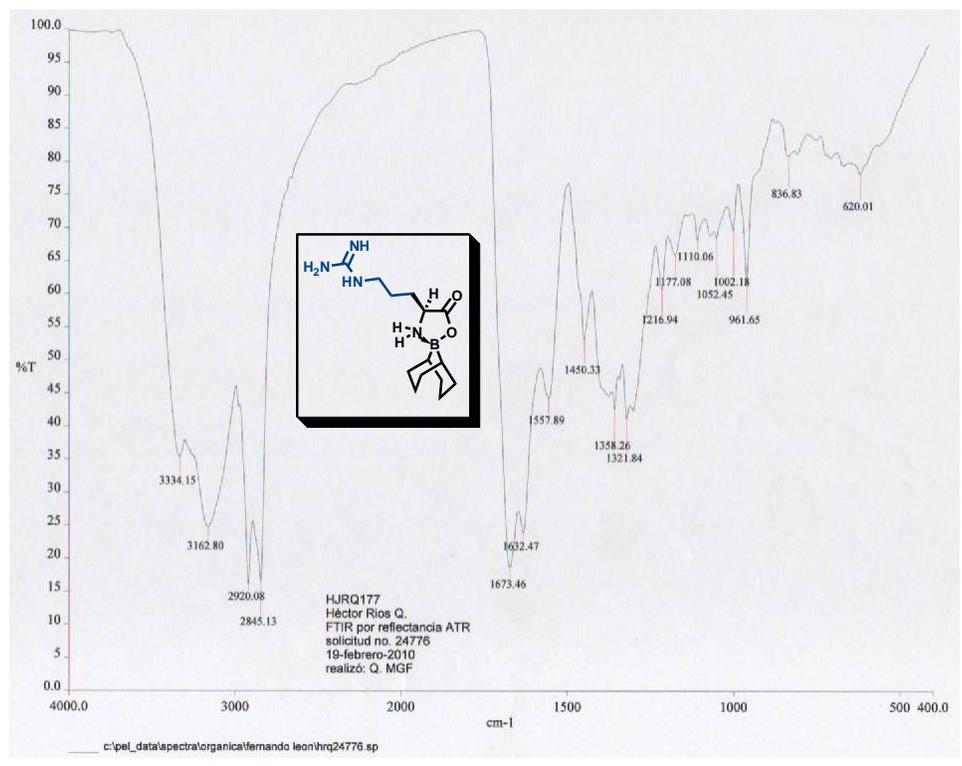
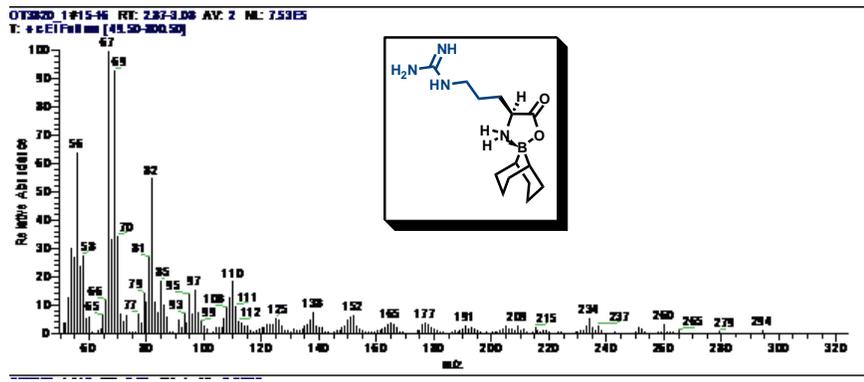
3/9/2010 7:28:06 PM

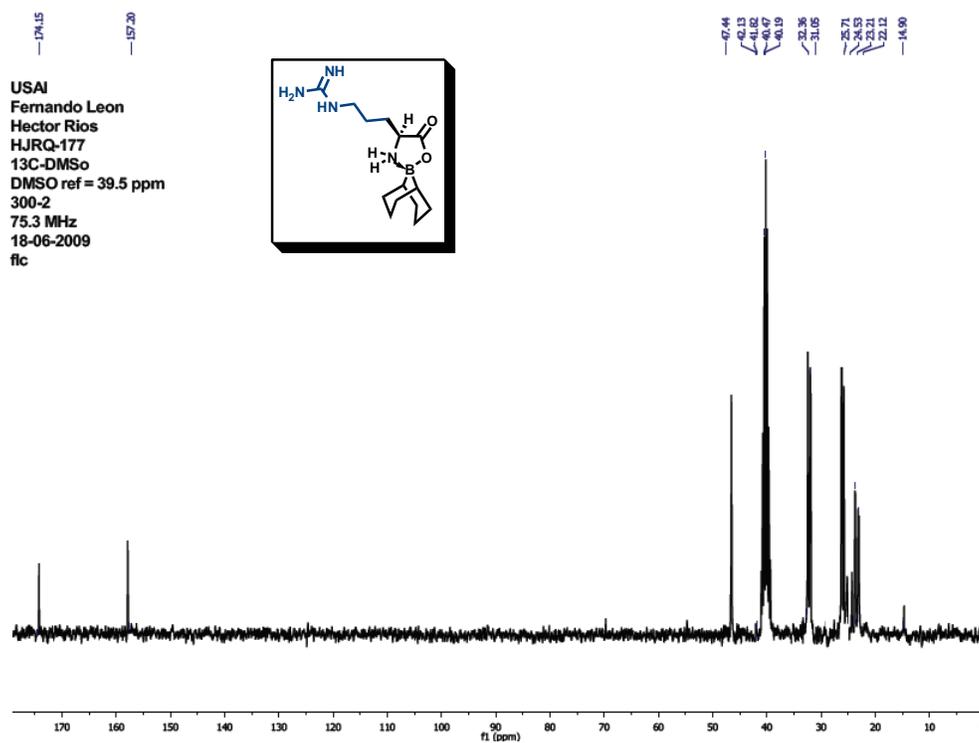
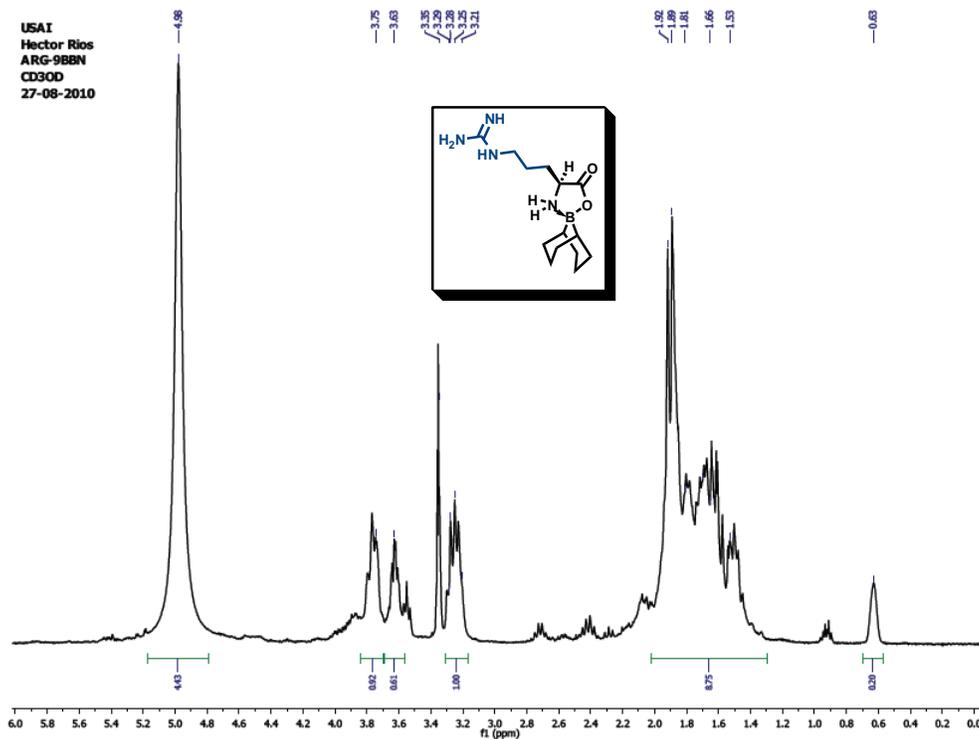
HJRQ171

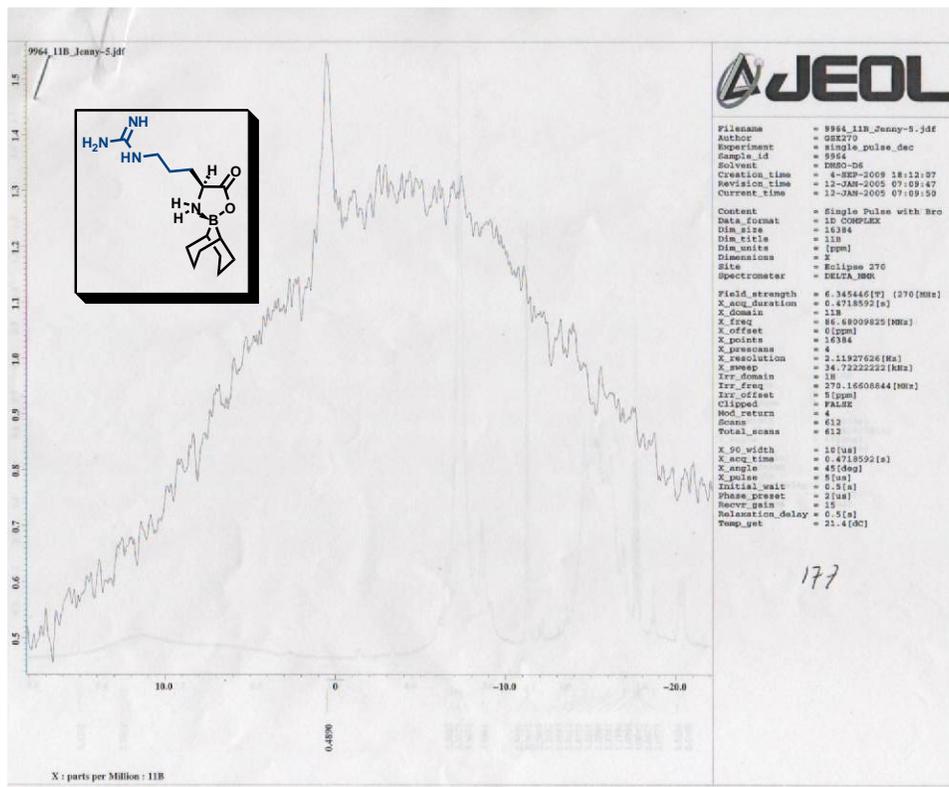
OT3824_1 #11-13 RT: 2.05-2.46 AV: 3 SB: 3 4.51-4.92
 T: + c EI Full ms [49.50-800.50]









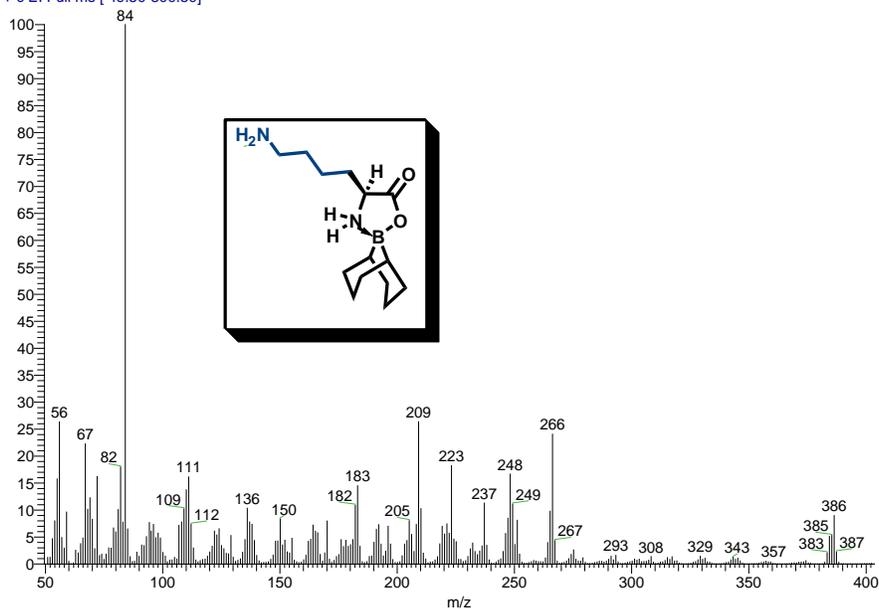


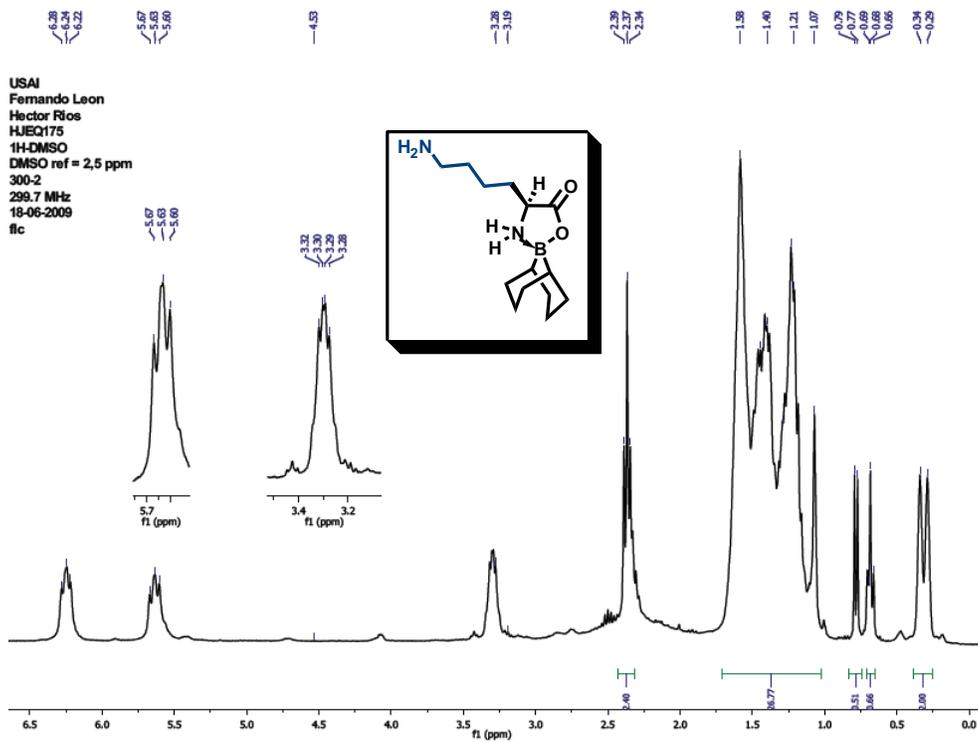
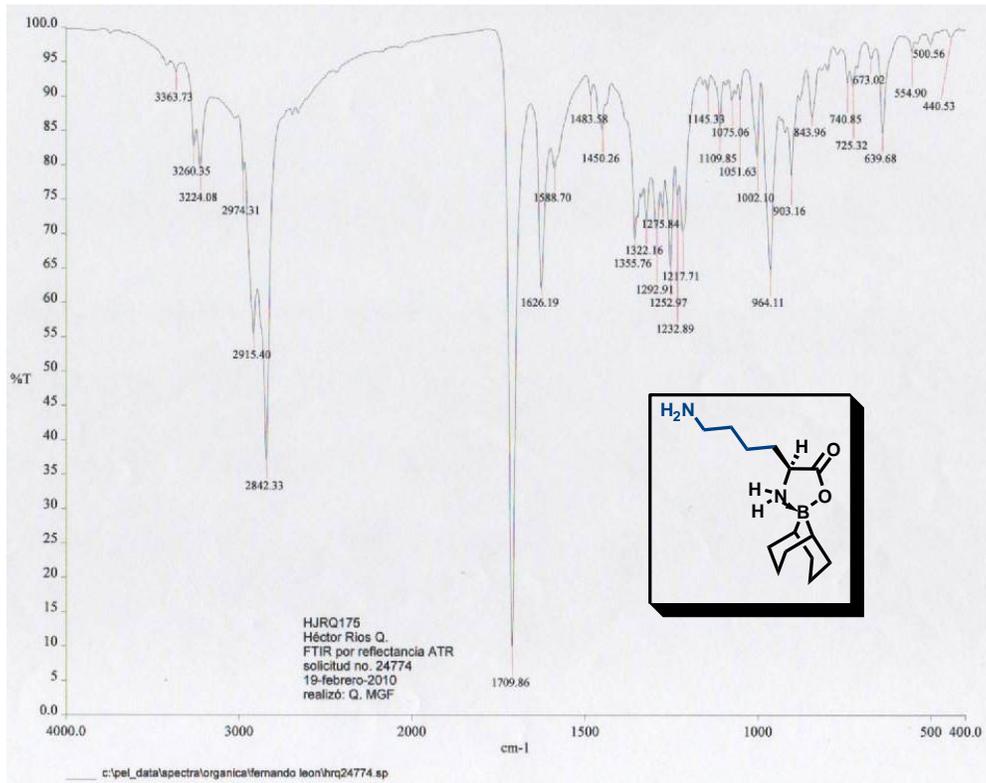
D:\xcalibur\data\USA\INDIOT3822_1

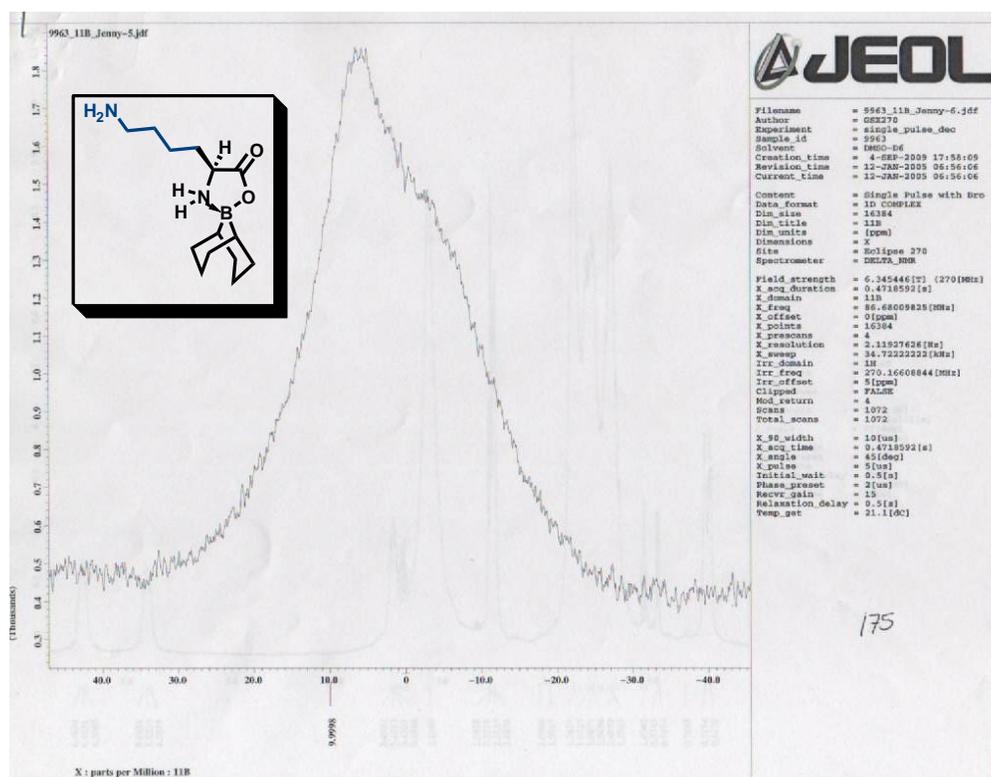
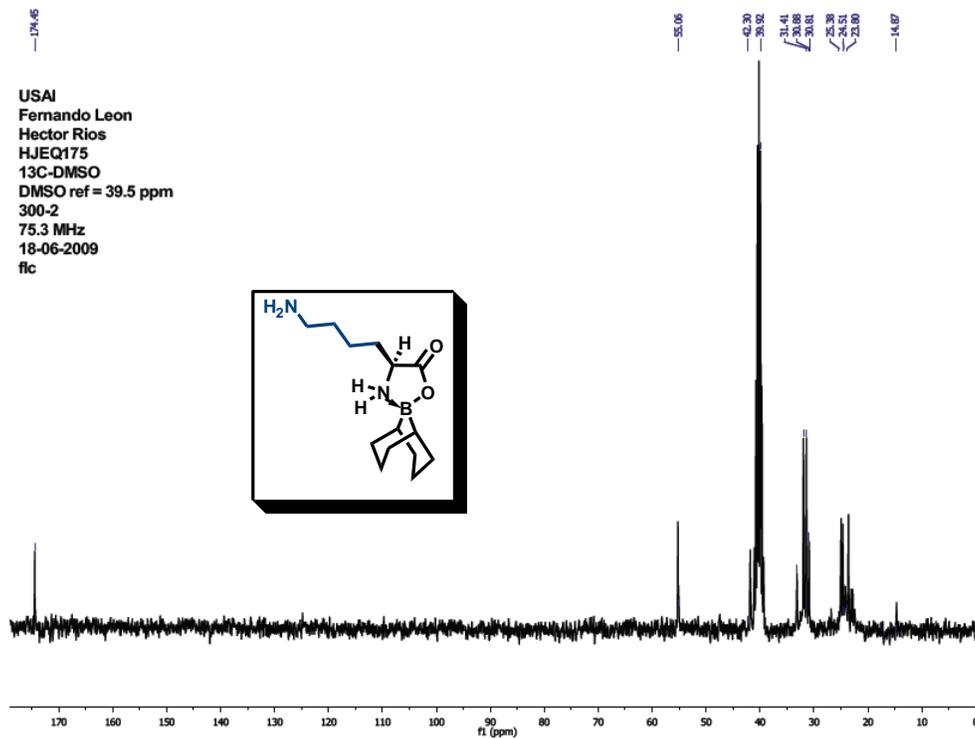
3/9/2010 7:36:53 PM

HJRQ175

OT3822_1 #13-17 RT: 2.46-3.28 AV: 5 SB: 6 0.62-1.64
 T: + c EI Full ms [49.50-800.50]





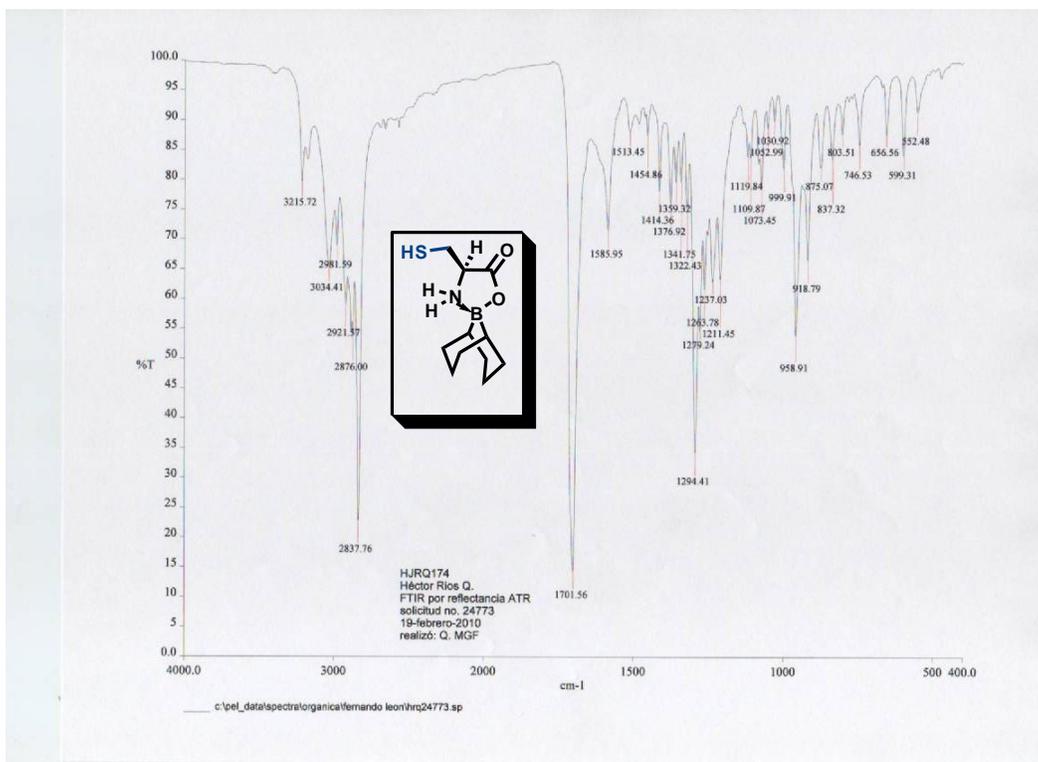
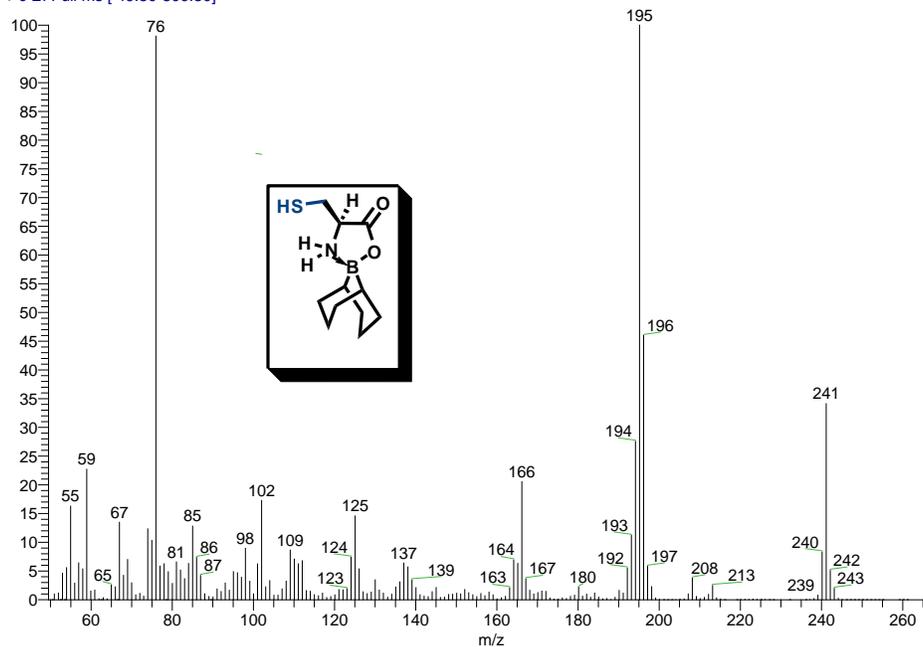


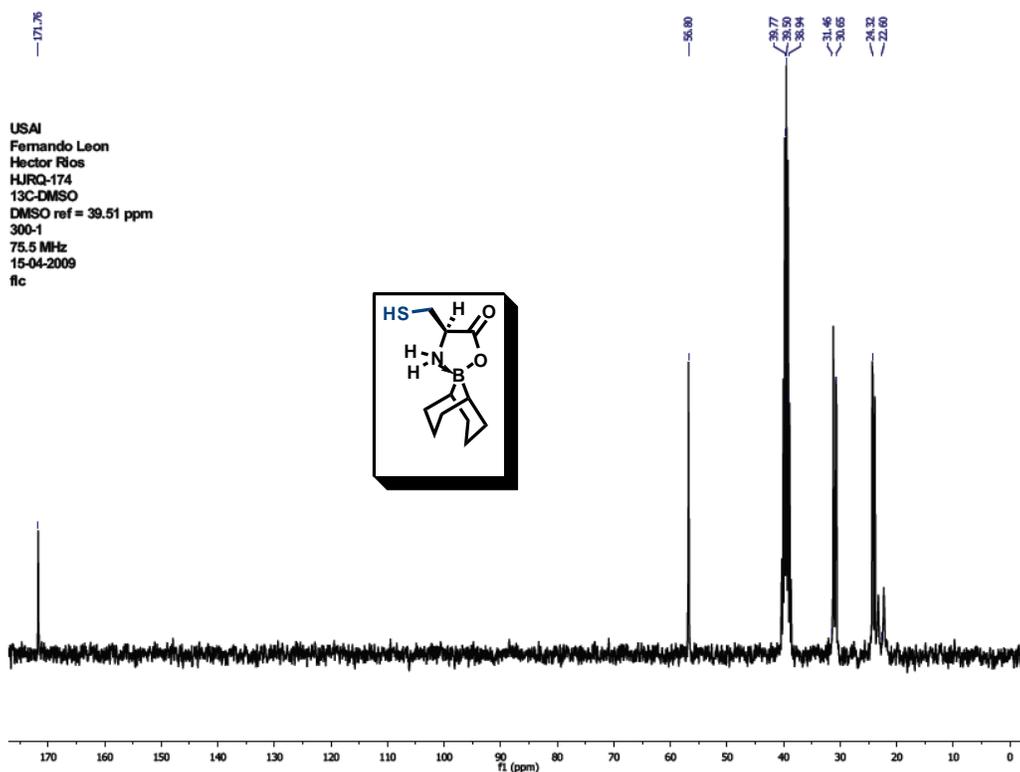
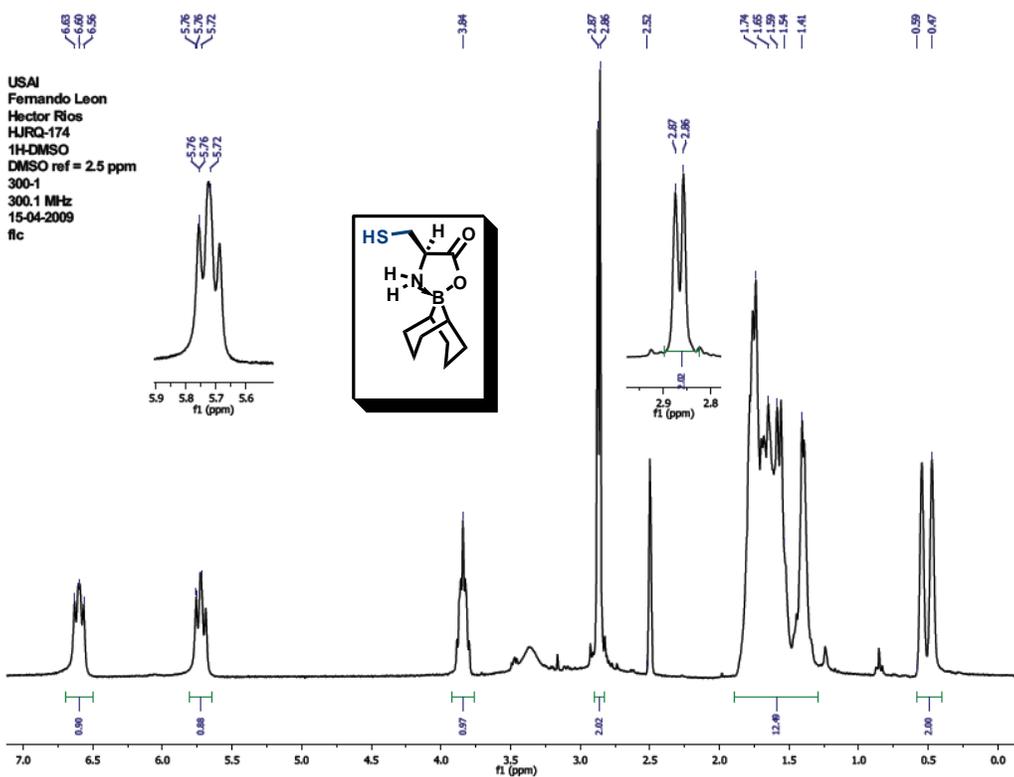
D:\Xcalibur\data\USA\INDIOT3823_1

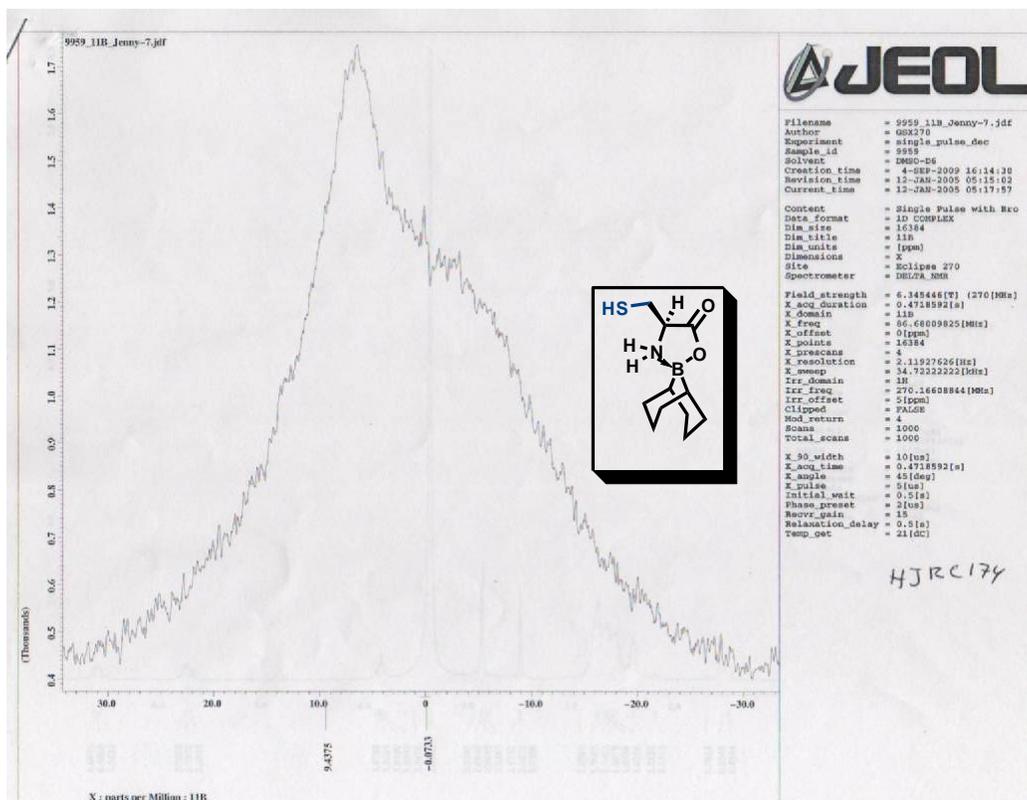
3/9/2010 8:17:52 PM

HJRQ174

OT3823_1 #7-9 RT: 1.23-1.64 AV: 3 SB: 3 3.28-3.69 NI
T: + c EI Full ms [49.50-800.50]





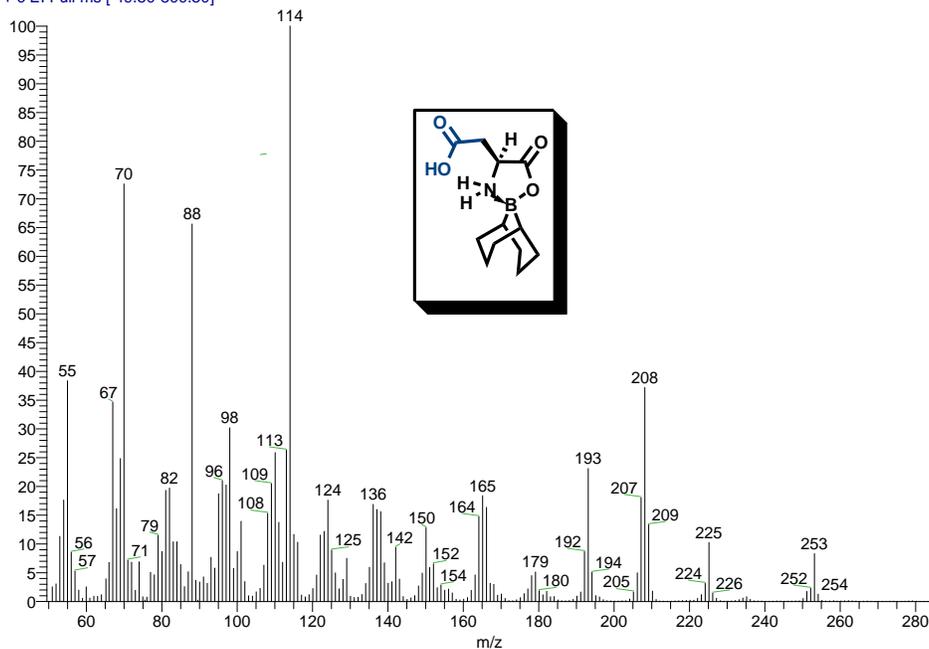


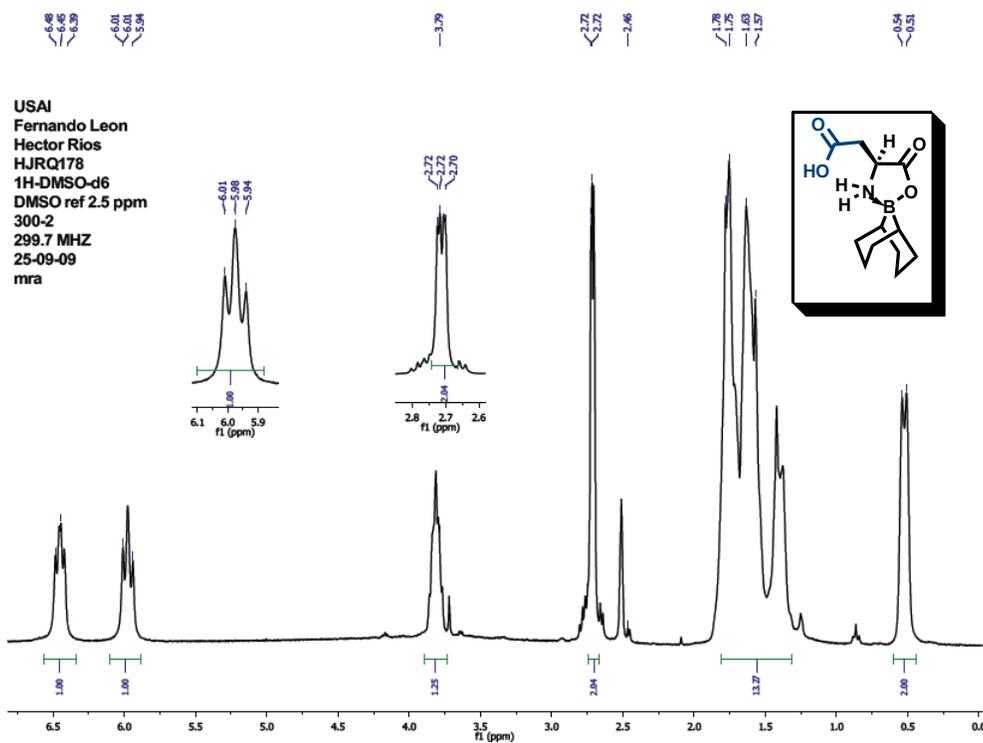
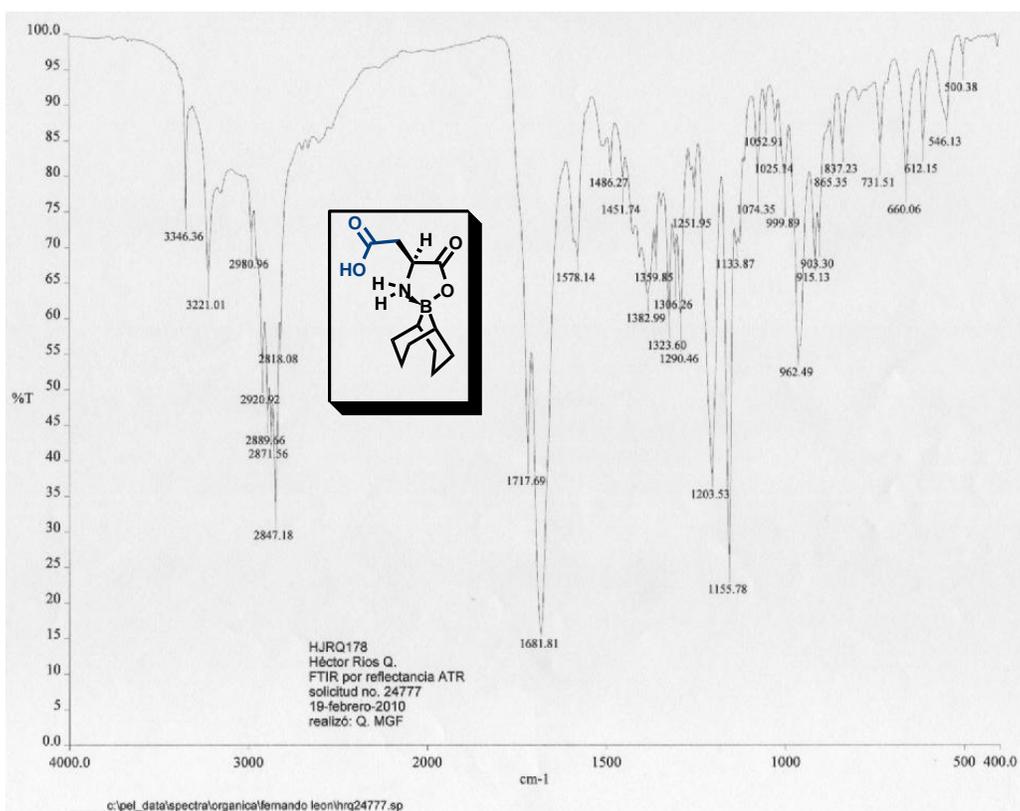
D:\Xcalibur\data\USANID\OT3819_1

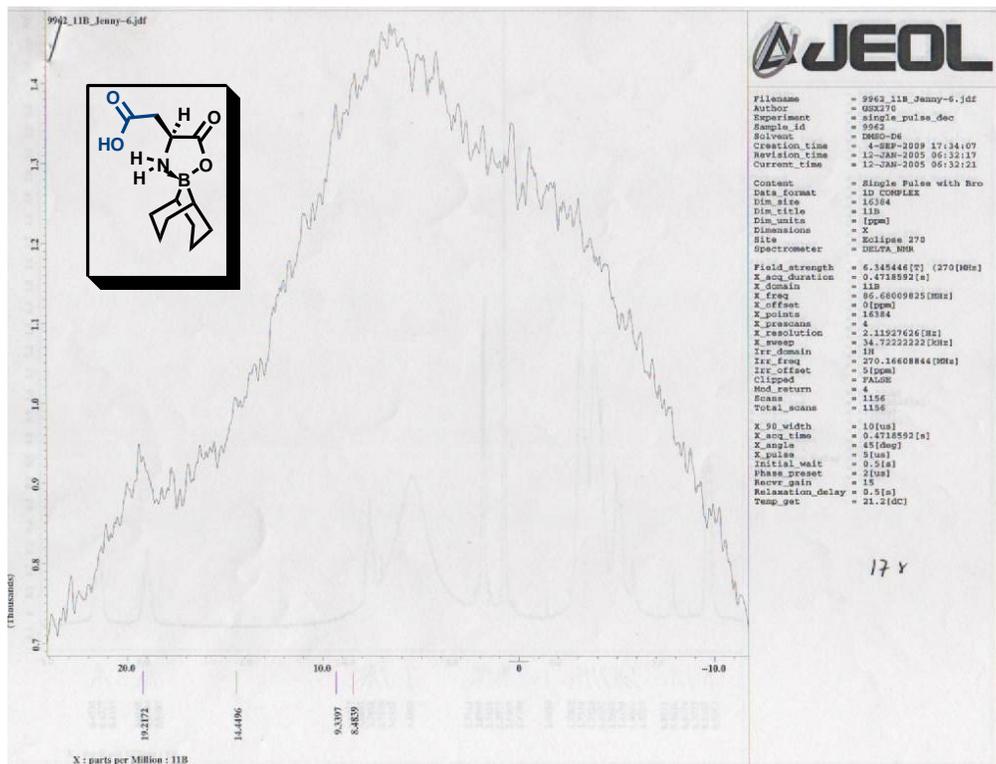
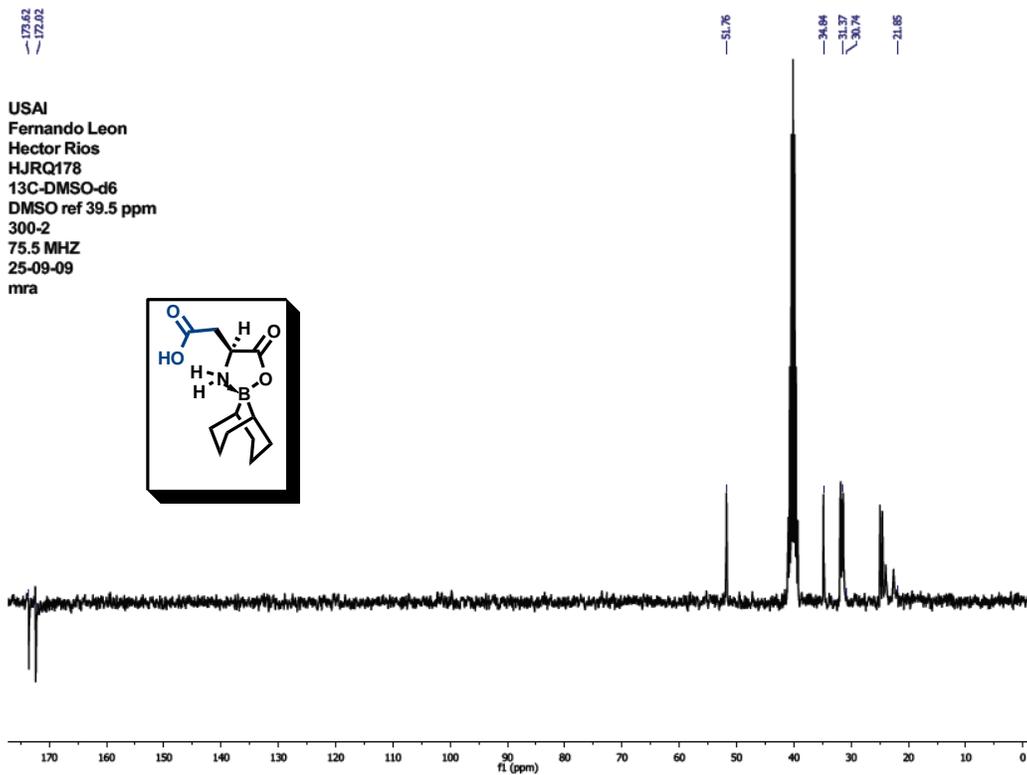
3/9/2010 8:07:52 PM

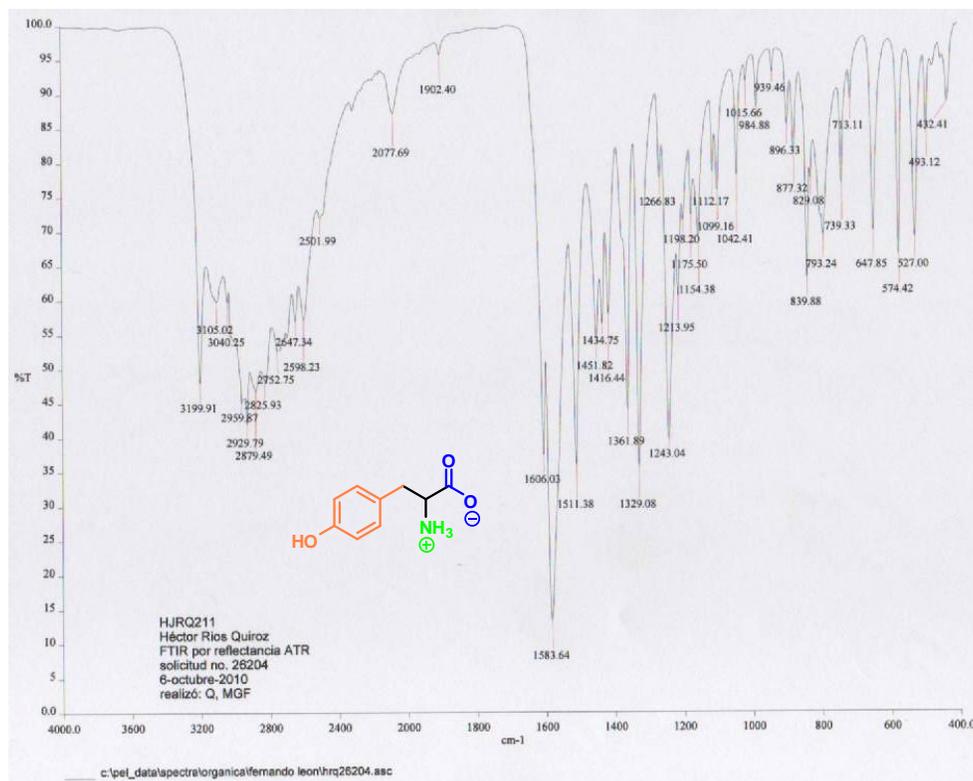
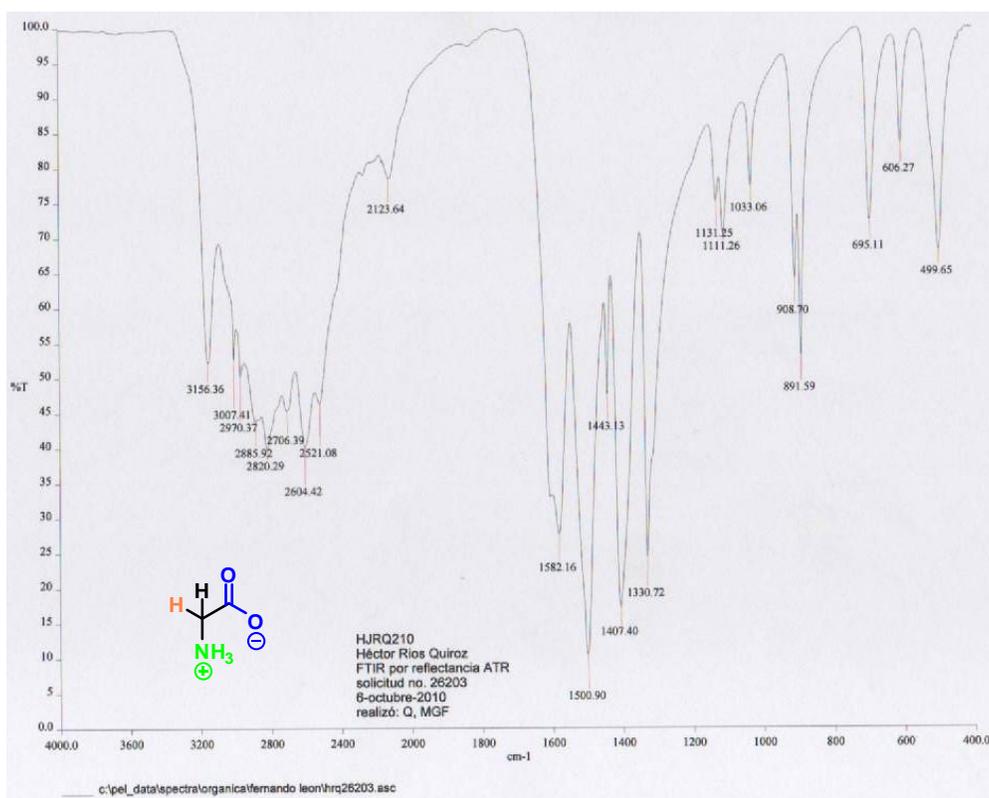
HJRC178

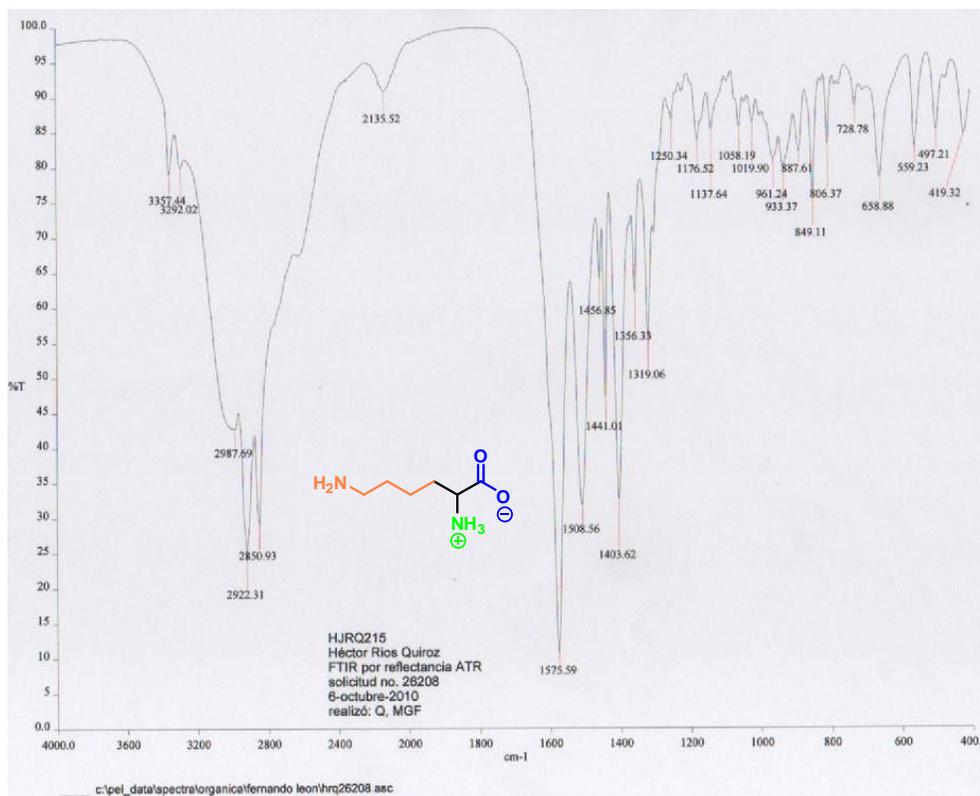
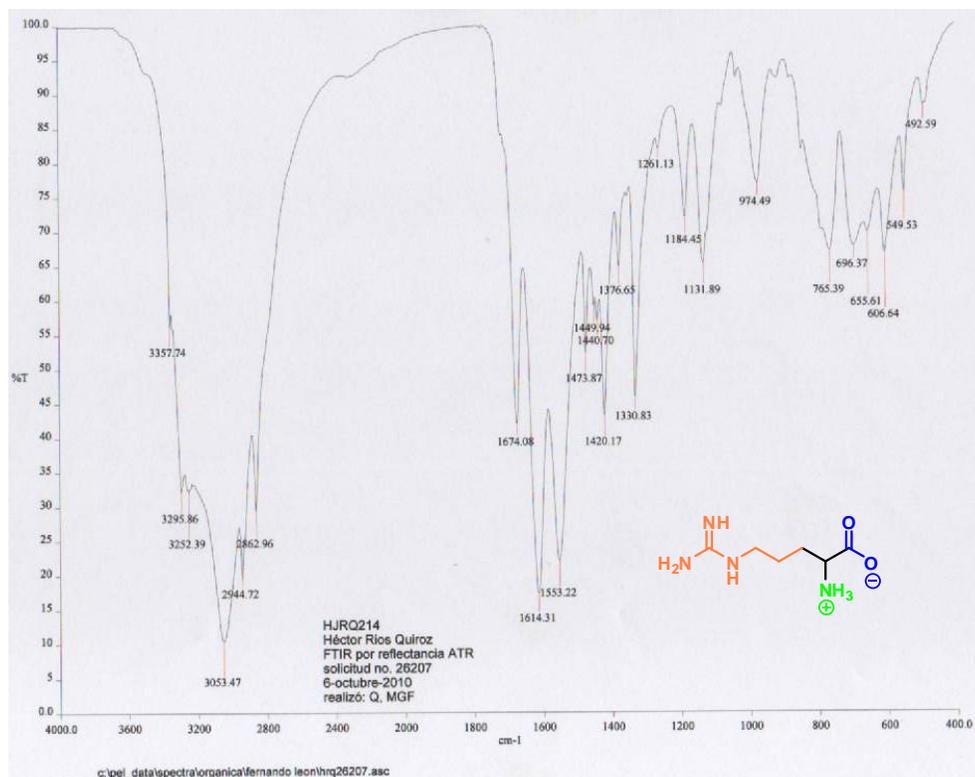
OT3819_1 #13 RT: 2.46 AV: 1 SB: 5 0.21-1.03 NL: 1.3
 T: + c EI Full ms [49.50-800.50]

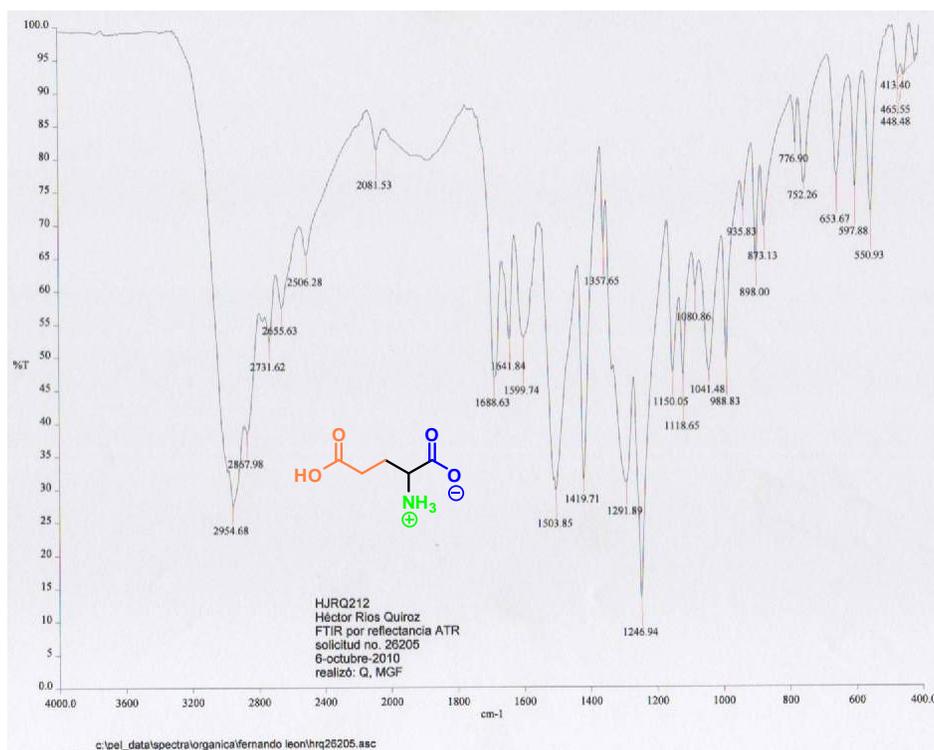
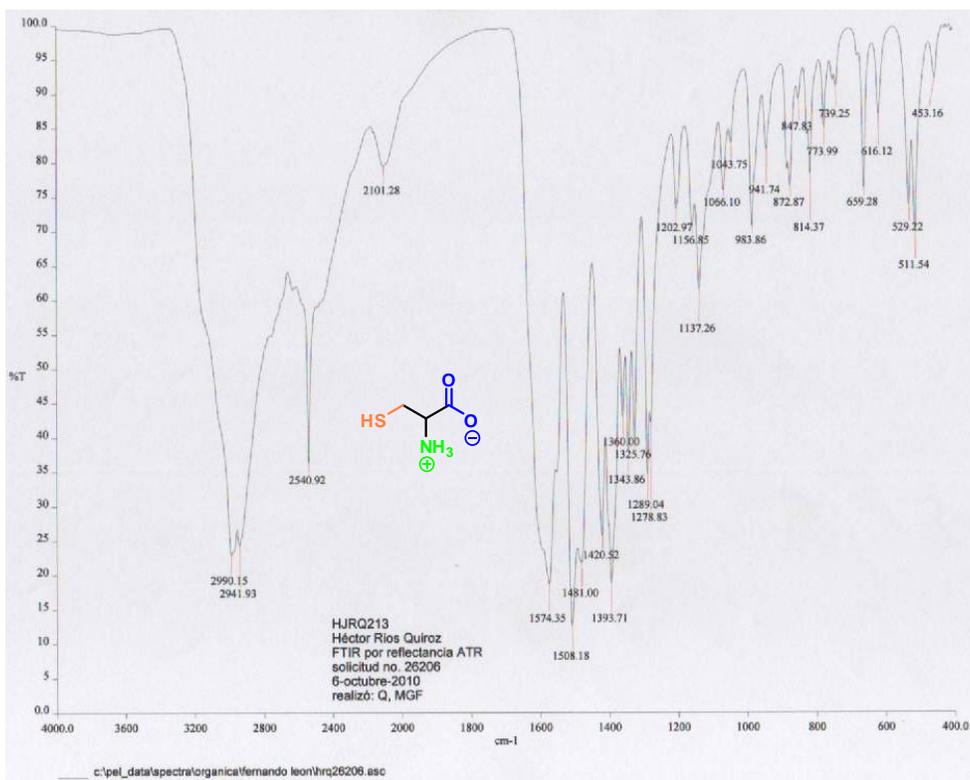












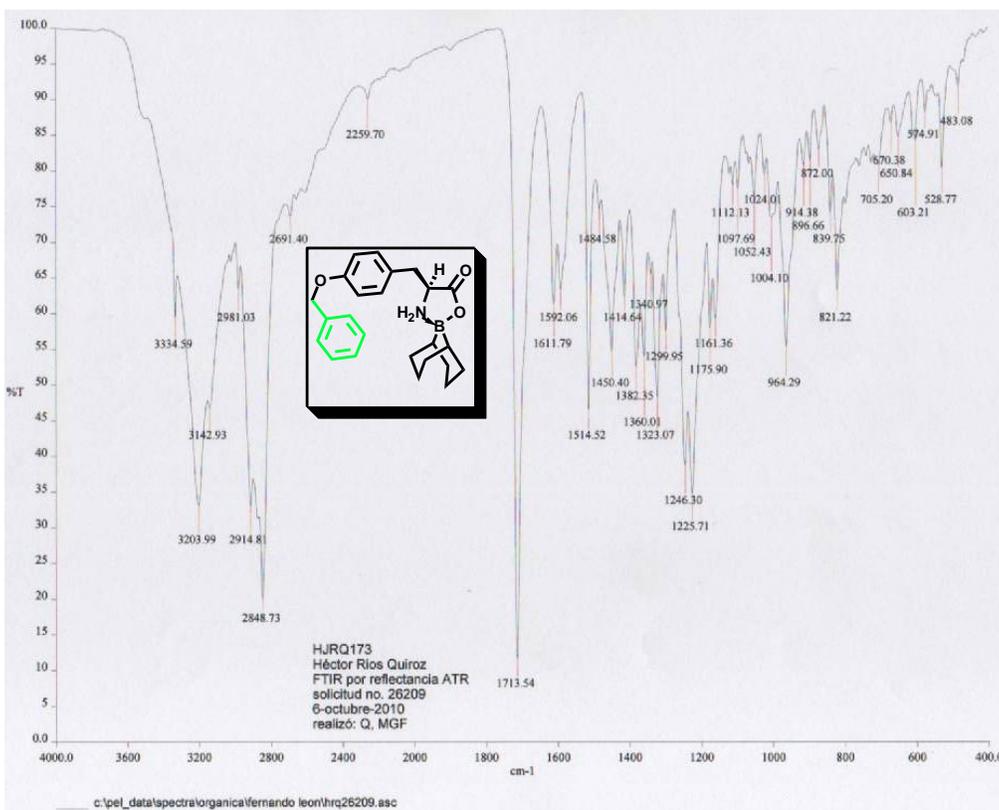
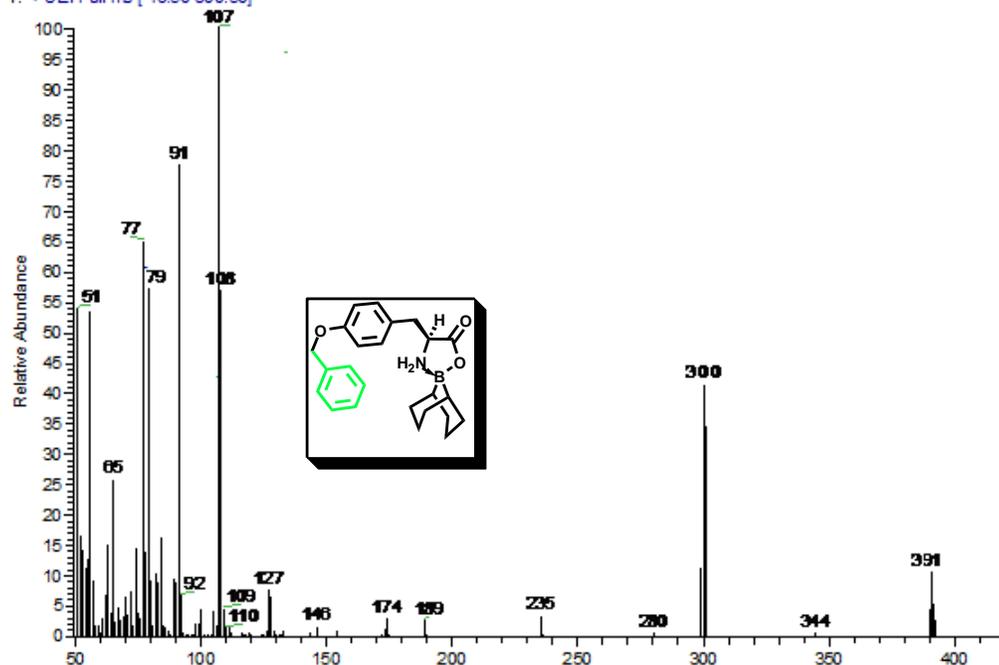
D:\Xcalibur\data\USA\ID\OT4227_1

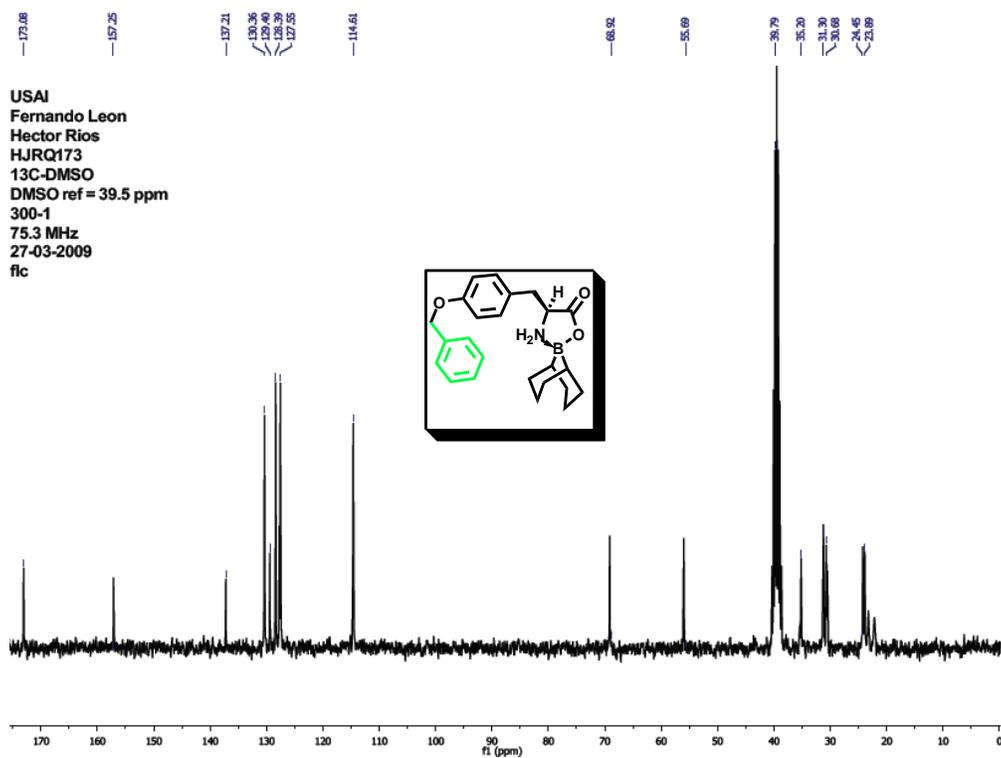
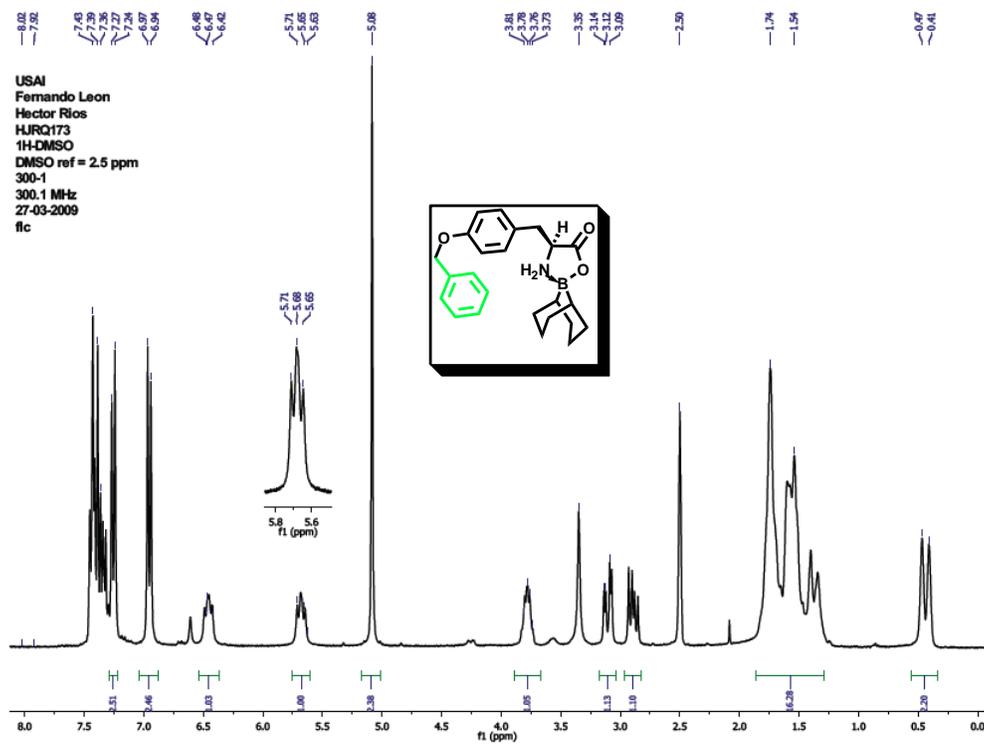
5/31/2010 6:21:40 PM

HJRQ191

OT4227 1#2-8 RT: 0.21-1.44 AV: 7 SB: 4 4.10-4.72 NL: 4.06E7

T: +cEI Full ms [49.50-800.50]



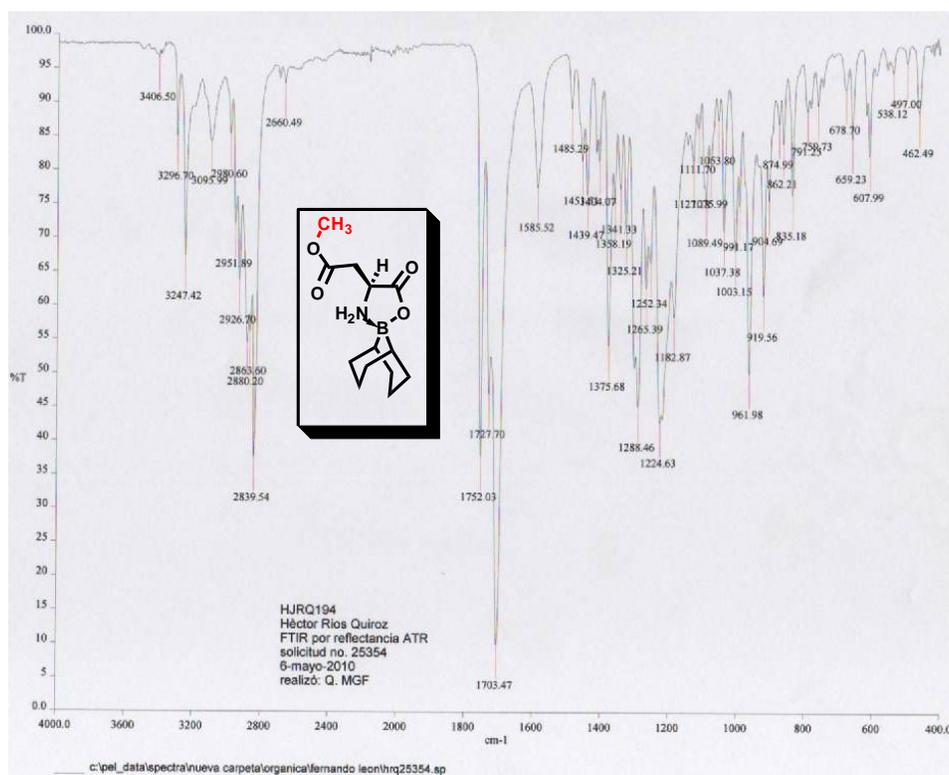
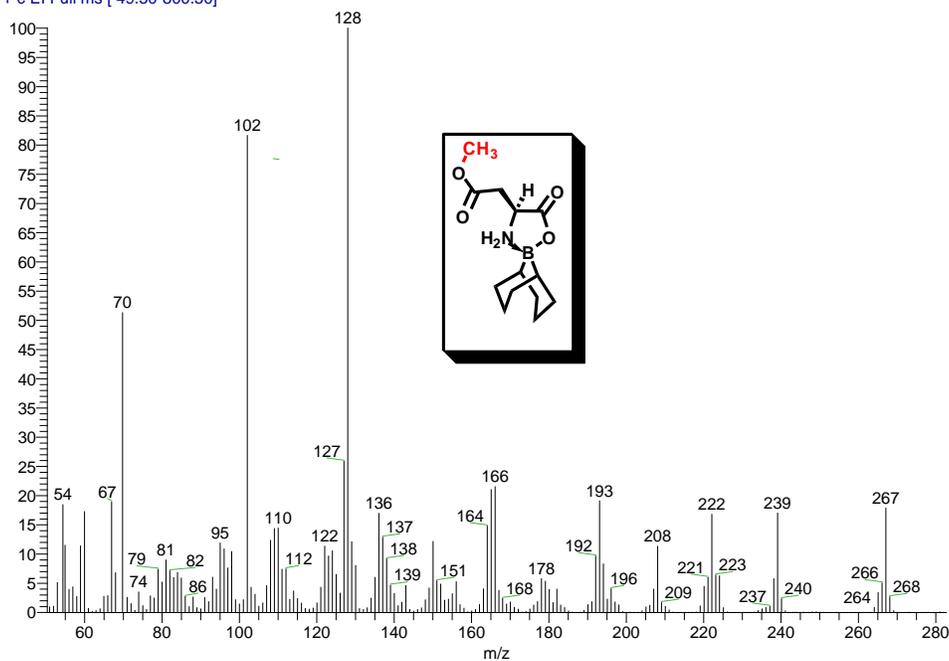


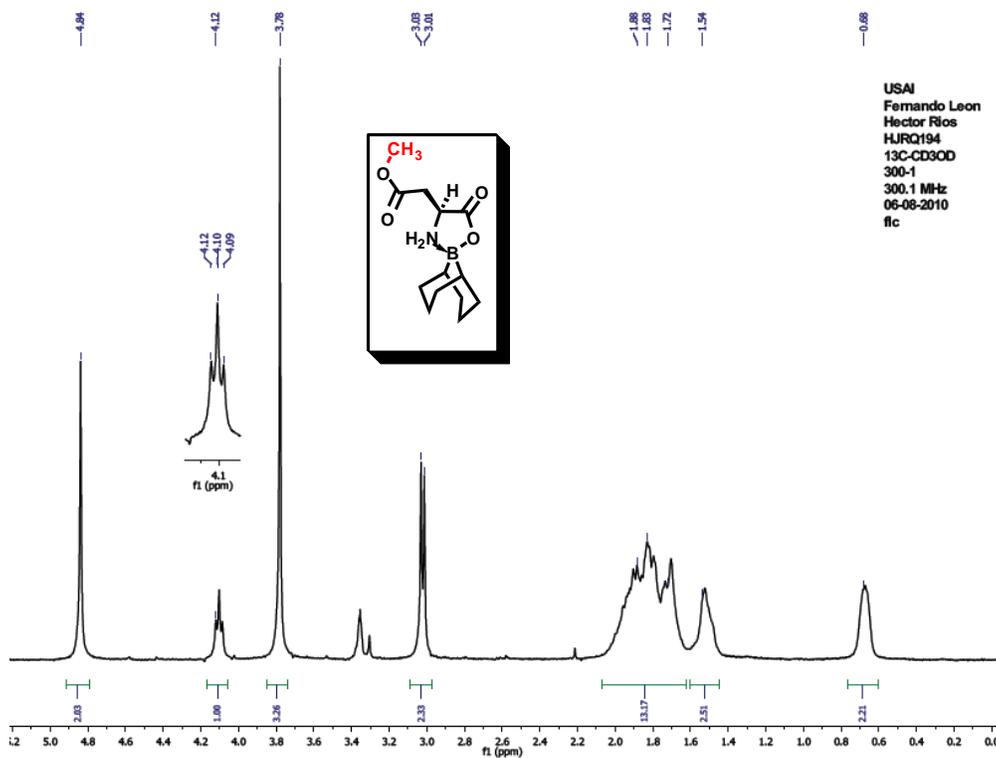
D:\Xcalibur\data\USAND\OT4174_1
szComment

5/21/2010 2:37:13 PM

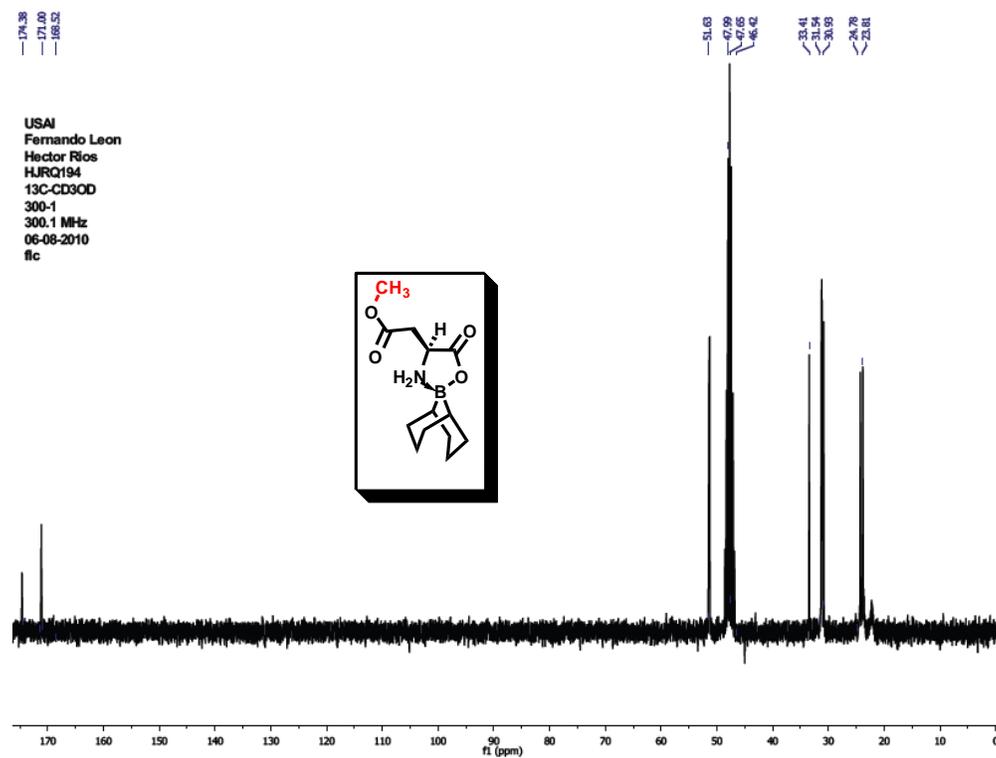
HJRQ194

OT4174_1 #9-10 RT: 1.64-1.85 AV: 2 SB: 2 2.46-2.67
T: + c EI Full ms [49.50-800.50]





USAI
 Fernando Leon
 Hector Rios
 HJRG194
 13C-CD3OD
 300-1
 300.1 MHz
 06-08-2010
 flc



USAI
 Fernando Leon
 Hector Rios
 HJRG194
 13C-CD3OD
 300-1
 300.1 MHz
 06-08-2010
 flc

D:\Xcalibur\data\USA\ND\OT4553_1
 szComment
 OT4553_1 #8-10 RT: 1.44-1.85 AV: 3 SB: 3 2.26-2.67
 T: + c EI Full ms [49.50-800.50]

8/17/2010 7:16:04 PM

HJRQ192

